

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2019.01.030

祁白术多酚提取工艺及抗氧化、抑菌活性研究

Study on extraction process of polyphenols from *Atractylodes macrocephala* Koidz grown in Qimen and its antioxidant and antibacterial activities

胡长玉¹ 戴毅¹ 王雅群¹ 卢玮玮¹HU Chang-yu¹ DAI Yi¹ WANG Ya-qun¹ LU Wei-wei¹王卫东³ 吴永祥^{1,2}WANG Wei-dong³ WU Yong-xiang^{1,2}

(1. 黄山学院生命与环境科学学院, 安徽 黄山 245041; 2. 安东国立大学食品科学与生物技术学院, 韩国 安东 760749; 3. 黄山峰源生物科技有限公司, 安徽 黄山 245600)

(1. College of Life and Environment Science, Huangshan University, Huangshan, Anhui 245041, China; 2. Department of Food Science and Biotechnology, Andong National University, Andong 760749, Korea; 3. Huangshan Fengyuan Biological Science and Technology Co., Ltd., Huangshan, Anhui 245600, China)

摘要:为研究表面活性剂十二烷基苯磺酸钠(sodium dodecyl sulfonate, SDS)协同超声波提取祁白术多酚的工艺参数,以多酚含量为指标,在单因素试验的基础上,采用响应面法优化提取工艺条件,并对祁白术多酚的体外抗氧化、抑菌活性进行研究。结果表明,祁白术多酚的最优工艺条件为:SDS添加量0.47%,超声波功率150 W,超声温度48℃,乙醇浓度64%,超声时间15 min,料液比1:25(g/mL),该条件下提取的多酚含量高达(38.53±0.51) mg/g。祁白术多酚具有显著的抗氧化活性,其对DPPH、ABTS自由基清除作用的半数抑制浓度(IC₅₀)分别为0.056,0.050 mg/mL。祁白术多酚对4种受试菌均有显著的抑制作用,多酚的质量浓度与抑制作用呈量效关系,其对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌的最低抑制浓度(MIC)为0.25 mg/mL,对枯草芽孢杆菌的MIC为0.50 mg/mL。

关键词:祁白术;多酚;表面活性剂;超声波;抗氧化;抑菌

Abstract: The present study aimed to optimize the process parameters for the surfactant sodium dodecyl sulfonate (SDS)-ultrasonic extraction technology of polyphenols from *Atractylodes*

macrocephala Koidz grown in Qimen (Qi Baizhu). The effects of polyphenols from Qi Baizhu (QBP) on antioxidant and antibacterial activities were explored. The results showed that the optimal process conditions were as follows: SDS concentration 0.47%, extraction temperature 48 °C, ultrasonic power 150 W, ethanol concentration 64%, extraction time 15 min, and solid-liquid ratio 1:25 (g/mL). Under these conditions, the content of QBP was (38.53±0.51) mg/g. QBP exhibited strong DPPH and ABTS free radical scavenging capacities with IC₅₀ values of 0.056, 0.050 mg/mL, respectively. QBP also exerted the inhibition effects on four common bacterial strains. There was a good linear dependence between the antibacterial capacity and the concentration. Its minimum inhibitory concentration (MIC) against *E. coli*, *S. aureus* and *P. aeruginosa* was 0.25 mg/mL, while the MIC against *B. subtilis* was 0.50 mg/mL.

Keywords: Qi Baizhu; polyphenols; surfactant; ultrasonic; antioxidant; antibacterial

祁白术是特产于中国安徽祁门山区野生白术(*Atractylodes macrocephala* Koidz.)的干燥根茎,在安徽民间一直被视为珍贵补品,为安徽著名地道药材^[1]。郑丽^[2]对白术的种质资源遗传多样性进行了深入研究,表明祁白术拥有丰富的遗传多样性,在cpDNA和核基因水平上,都展现出特殊的群体结构。李云志等^[3-4]对祁白术的化学成分进行了分离鉴定,揭示了野生祁白术与栽培白术具有不同的药效物质基础。祁白术含有挥发油、内酯类物质、多糖、多酚等生物活性物质^[5-7],具有抗氧

基金项目:安徽省留学回国人员创新项目择优资助计划重点项目(编号:2017srst1);2018年度安徽省大学生创新创业训练计划项目(编号:201810375057);安徽省高校自然科学研究重点项目(编号:KJ2017A398)

作者简介:胡长玉,男,黄山学院副教授,硕士。

通信作者:吴永祥(1987—),男,黄山学院副教授,博士。

E-mail: wyx2009sun@aliyun.com

收稿日期:2018-09-06

化、抑菌、降血糖和降血脂等功效^[8-9]。祁白术道地性及优良品质的形成与当地生态大环境、群落微环境及遗传因子密切关系^[10-11]。本课题组前期^[8]研究了祁白术不同极性萃取物的多酚、黄酮含量及抗氧化、抑菌活性,采用 GC-MS 分析了其主要化学成分,表明多酚是祁白术的主要活性成分,是其发挥抗氧化、抑菌作用的药效物质基础。

目前国内外学者^[12-13]对白术化学成分及功效的研究都是基于栽培白术,祁白术多酚提取工艺优化的研究尚未见报道,对祁白术多酚的抗氧化、抑菌作用的研究仍然缺乏。本试验拟以祁白术为原料,采用表面活性剂 SDS 协同超声波提取祁白术多酚,在单因素试验的基础上,采用响应面优选提取工艺条件,同时研究祁白术多酚的抗氧化、抑菌活性,旨在为祁白术多酚的综合开发应用提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

祁白术:采自安徽省祁门县古溪乡,采样时间为 2017 年 8 月,由黄山学院植物学专家方建新老师鉴定为野生祁白术(*Atractylodes macrocephala* Koidz.)的干燥根茎;

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、绿脓杆菌(*Pseudomonas aeruginosa*):中国典型培养物菌种保藏中心(CCTCC);

Folin-Ciocalteu 试剂、丁基羟基茴香醚(butyl hydroxy anisid, BHA)、丹宁酸、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、对羟基苯甲酸丙酯(propylparaben, PP)、2,2-联氮二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS)、十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfonate, SDS):分析纯,美国 Sigma-Aldrich 公司;

营养琼脂培养基:生物试剂,北京奥博星生物技术有限责任公司。

1.1.2 主要仪器设备

全波长酶标仪: SpectraMax-190 型,美国 Molecular Devices 公司;

超净工作台: ZHJH-C2109B 型,上海智城分析仪器制造有限公司;

转蒸发仪: EV341 型,北京莱伯泰科仪器有限公司;

数控加热功率可调型超声波清洗器: SCQ-5201C 型,上海声彦超声波仪器有限公司;

高压灭菌器: SQ510C 型,重庆雅马拓科技有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 祁白术多酚的提取 将新鲜祁白术洗净晾干,于 60 °C 烘干至恒重,粉碎成粉末,过 80 目筛。取祁白术粉

末 3.0 g,按照设计安排选取相应的 SDS 质量分数、超声功率、超声温度、超声时间、乙醇浓度、料液比进行提取。抽滤后经旋转蒸发浓缩,得到祁白术多酚提取物。

1.2.2 多酚含量测定 采用 Folin-Ciocalteu 法^[14]。以吸光值 Y 为纵坐标,以标准品单宁酸(tannic acid, TA)浓度为横坐标,绘制标准曲线 $Y=0.001\ 4X+0.005\ 3$ ($R^2=0.996$)。根据上述标准曲线计算不同提取条件下祁白术多酚含量,结果以每克祁白术提取物中含有相当单宁酸毫克数表示,即 mg TA/g。

1.2.3 单因素试验

(1) SDS 质量分数:固定超声功率 180 W,超声温度 60 °C,超声时间 10 min,乙醇浓度 60%,料液比 1:20 (g/mL),考查 SDS 质量分数(0.0%,0.2%,0.4%,0.6%,0.8%,1.0%)对多酚提取量的影响。

(2) 超声功率:固定 SDS 质量分数 0.6%,超声温度 60 °C,超声时间 10 min,乙醇浓度 60%,料液比 1:20 (g/mL),考查超声功率(120,150,180,210,240 W)对多酚提取量的影响。

(3) 超声温度:固定 SDS 质量分数 0.6%,超声功率 180 W,超声时间 10 min,乙醇浓度 60%,料液比 1:20 (g/mL),考查超声温度(40,50,60,70,80 °C)对多酚提取量的影响。

(4) 超声时间:固定 SDS 质量分数 0.6%,超声功率 180 W,超声温度 60 °C,乙醇浓度 60%,料液比 1:20 (g/mL),考查超声时间(5,10,15,20,25 min)对多酚提取量的影响。

(5) 乙醇浓度:固定 SDS 质量分数 0.6%,超声功率 180 W,超声温度 60 °C,超声时间 10 min,料液比 1:20 (g/mL),考查乙醇浓度(40%,50%,60%,70%,80%)对多酚提取量的影响。

(6) 料液比:固定 SDS 质量分数 0.6%,超声功率 180 W,超声温度 60 °C,超声时间 10 min,乙醇浓度 60%,考查料液比[1:10,1:15,1:20,1:25,1:30 (g/mL)]对多酚提取量的影响。

1.2.4 响应面试验设计 采用 Box-Behnken 设计原理,根据单因素试验的结果设计响应面试验,以祁白术多酚提取量为响应值,以 SDS 质量分数、超声功率、超声温度和乙醇浓度为试验因子,建立响应面优化方案,进行二次多项回归方程拟合及其优化分析。

1.2.5 抗氧化活性的测定

(1) DPPH 自由基清除能力:参考文献^[15],以 BHA 为阳性对照。

(2) ABTS 自由基清除能力:参考文献^[16],以 BHA 为阳性对照。

1.2.6 抑菌活性的测定

(1) 菌种活化与菌悬液制备:将 4 种供试菌接种到试

管营养琼脂培养基斜面进行活化,活化传代 2 次后,在无菌操作台内各挑取已活化好的菌种置于无菌生理盐水中,配置各菌悬液浓度约为 $10^6 \sim 10^7$ CFU/mL。

(2) 祁白术多酚的抑菌活性:根据文献[17]修改如下:吸取 100 μ L 供试菌悬液均匀涂布各平板上,用移液枪于无菌直径 6 mm 的滤纸片中央加入 10 μ L 祁白术多酚提取物,以对羟基苯甲酸丙酯(PP)为阳性对照,以二甲基亚砜(DMSO)为空白对照组,37 $^{\circ}$ C 倒置培养 24 h 后测量抑菌圈直径,结果重复 3 次,取平均值。

(3) 最小抑菌浓度的测定:用 DMSO 溶剂溶解祁白术多酚,配制成 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 mg/mL 的样品溶液,然后参照文献[18]的方法,观察各平板抑菌圈的有无,首次出现抑菌圈所对应的浓度即为祁白术多酚的 MIC。

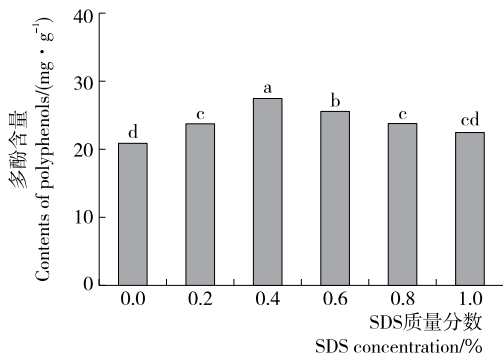
1.3 统计学分析

采用 SigmaPlot 10.0 软件处理单因素数据和作图。采用 Design-Expert 8.0.6 软件进行响应面分析。采用 SPSS 18.0 统计分析软件,利用单因素方差分析(One-way ANOVA)中的 Duncan's 多重比较法进行差异比较($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 祁白术多酚提取的单因素试验

2.1.1 SDS 质量分数对祁白术多酚提取量的影响 如图 1 所示,祁白术多酚提取量随着 SDS 质量分数的增加呈先增加后下降趋势。与未添加 SDS 组 [20.90 ± 0.95 mg/g]相比,当 SDS 添加量为 0.4% 时祁白术多酚提取量达到最大值,为 (27.55 ± 0.82) mg/g,多酚提取率提高了 31.34%,存在着显著性差异($P < 0.05$)。表明表面活性剂 SDS 的添加,增加了溶液中胶束数量,从而增强了溶解作用,有利于多酚类物质的溶出,但当 SDS 添加量达到临界胶束浓度后,形成的胶束数量不再增加,多酚提取量亦不再增加^[19-20]。因此,选取 SDS 质量分数为 0.2%~0.6%



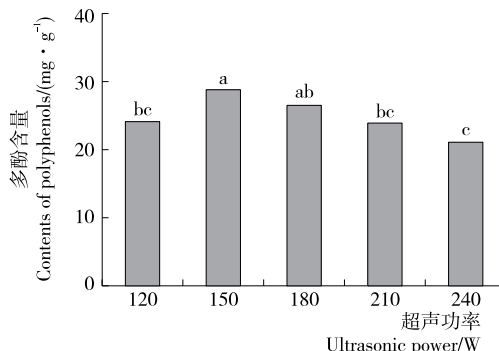
不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 1 SDS 质量分数对多酚提取量的影响

Figure 1 Effect of SDS concentration on the extraction efficiency of polyphenols

作为响应面考察条件。

2.1.2 超声功率对祁白术多酚提取量的影响 如图 2 所示,祁白术多酚提取量随着超声波功率的增加呈先增加后下降趋势。当超声功率为 150 W 时,多酚提取量达到最大值,为 (28.80 ± 1.04) mg/g。表明超声波可以破坏植物细胞壁,增加细胞膜通透性,利于胞内多酚物质的溶出,但功率过大可能会导致某些多酚物质结构被破坏,从而提取量下降^[21]。因此,选取超声功率 120~180 W 作为响应面考察条件。



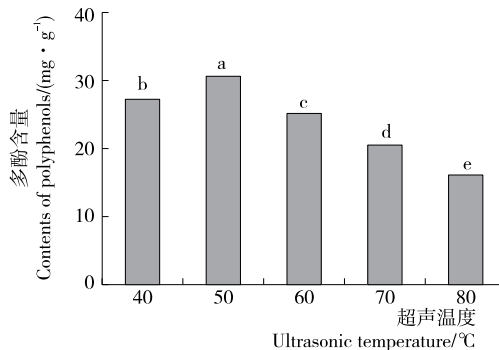
不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 2 超声功率对多酚提取量的影响

Figure 2 Effect of ultrasonic power on the extraction efficiency of polyphenols

2.1.3 超声温度对祁白术多酚提取量的影响 如图 3 所示,随着温度的升高,祁白术多酚提取量增大,在温度 50 $^{\circ}$ C 时,多酚的提取量达到最大,为 (30.75 ± 1.39) mg/g。当超声温度继续升高,祁白术多酚提取量转而下降。这与多酚类物质的热稳定性有关,以及当温度接近乙醇沸点时,溶剂挥发加快,浸出过程难以稳定,从而造成提取量降低^[22]。因此,选取超声温度 40~60 $^{\circ}$ C 作为响应面考察条件。

2.1.4 超声时间对祁白术多酚提取量的影响 如图 4 所

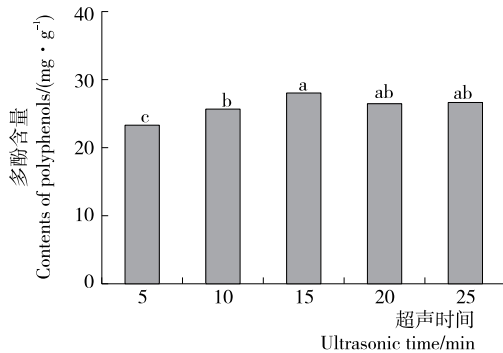


不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 3 超声温度对多酚提取量的影响

Figure 3 Effect of ultrasonic temperature on the extraction efficiency of polyphenols

示,在 5~15 min 时,祁白术多酚提取量随着超声时间的延长逐步提高。当超声时间为 15 min 时,多酚提取量达到最大值,为 (28.14 ± 0.79) mg/g。随着超声时间继续延长,祁白术多酚由于长时间受热及超声波处理导致多酚类物质被氧化而被破坏是其提取量下降的主要原因。因此,选取 15 min 作为后续试验的最佳提取时间。

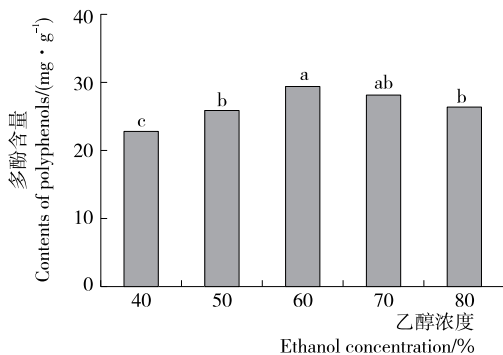


不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)
图 4 超声时间对多酚提取量的影响

Figure 4 Effect of ultrasonic extraction time on the extraction efficiency of polyphenols

2.1.5 乙醇浓度对祁白术多酚提取量的影响 如图 5 所示,乙醇浓度为 40%~80% 时,祁白术多酚提取量随着乙醇浓度的增加先增加后下降,在 60% 时多酚提取量达到最大值,为 (29.44 ± 0.93) mg/g。增大乙醇浓度可以降低溶剂体系的极性,使得溶剂更容易破坏祁白术多酚类物质与多糖、蛋白质等物质的氢键,利于胞内多酚物质的溶出,但当乙醇浓度较高时,脂溶性物质、糖类及黏性物质等大量渗出,影响多酚类物质的提取,同时破坏多酚的稳定性,导致多酚提取量下降。因此,选取乙醇浓度 50%~70% 作为响应面考察条件。

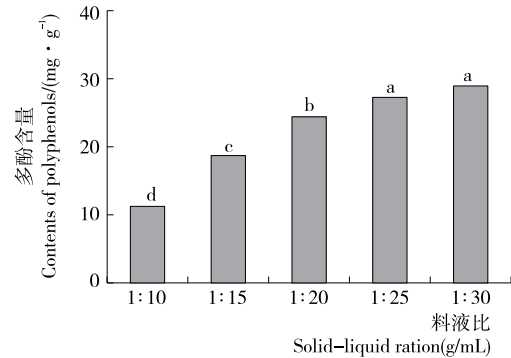
2.1.6 料液比对祁白术多酚提取量的影响 如图 6 所示,料液比在 1:10~1:25 (g/mL) 时,祁白术多酚提取



不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)
图 5 乙醇浓度对多酚提取量的影响

Figure 5 Effect of ethanol concentration on the extraction efficiency of polyphenols

量随着溶剂添加量的增加而增加,当料液比在 1:25~1:30 (g/mL) 时,多酚提取量变化不明显。可能是料液比在 1:25 (g/mL) 时,溶剂对祁白术多酚类物质溶解已达到平衡,增加溶剂量对增加多酚的提取量几乎无影响。因此,选取料液比为 1:25 (g/mL) 作为后续试验。



不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)
图 6 料液比对多酚提取量的影响

Figure 6 Effect of solid-liquid ration on the extraction efficiency of polyphenols

2.2 响应面优化试验结果与分析

2.2.1 回归模型的建立 因素水平及编码见表 1。固定超声时间为 15 min,料液比为 1:25 (g/mL),以 SDS 质量分数、超声功率、超声温度和乙醇浓度为试验因子,祁白术多酚提取量为响应值,设计四因素三水平 Box-Behnken 试验,试验结果见表 2。表 2 的数据用 Design-Expert V8.0.6 分析可得回归方程:

$$Y = 36.94 + 2.13A + 1.07B - 1.31C + 1.14D + 0.68AB - 0.27AC + 0.21AD + 0.14BC + 0.24BD - 0.36CD - 3.50A^2 - 3.43B^2 - 3.99C^2 - 1.51D^2. \quad (1)$$

2.2.2 响应面试验的方差分析 由表 3 可知,本试验所选模型差异极显著 ($P < 0.0001$),说明回归模型对祁白术多酚提取量有很好的预测性。模型决定系数 ($R^2 = 0.9115$) 与模型修正决定系数 ($R_{adj}^2 = 0.8230$) 都接近于 1,说明模型与实际试验拟合度较好,SDS 质量分数、超声功率、超声温度和乙醇浓度与祁白术多酚提取量之间线性关系显著。变异系数 $CV = 4.51\% < 5\%$,说明模型试验操作可信,稳定性好。失拟误差 $P = 0.0587 > 0.05$,失

表 1 Box-Behnken 试验设计

Table 1 Experimental design of Box-Behnken

水平	A SDS 质量分数/%	B 超声功率/W	C 超声温度/℃	D 乙醇浓度/%
-1	0.2	120	40	50
0	0.4	150	50	60
1	0.6	180	60	70

表 2 响应面试验结果

Table 2 The results of response surface methodology

试验号	A	B	C	D	Y/(mg·g ⁻¹)
1	-1	0	1	0	26.68
2	0	-1	-1	0	30.23
3	1	1	0	0	35.87
4	0	1	1	0	27.98
5	0	-1	1	0	25.55
6	-1	0	-1	0	27.62
7	-1	0	0	-1	28.01
8	1	0	-1	0	32.36
9	-1	1	0	0	28.55
10	1	0	0	1	35.14
11	0	0	0	0	37.57
12	0	-1	0	-1	30.56
13	0	1	0	-1	31.42
14	-1	0	0	1	32.09
15	0	1	0	1	33.51
16	0	0	1	-1	31.21
17	0	-1	0	1	31.71
18	0	0	0	0	36.40
19	0	0	-1	1	33.89
20	0	0	1	1	31.22
21	0	0	0	0	37.73
22	0	1	-1	0	32.11
23	1	0	1	0	30.35
24	0	0	-1	-1	32.43
25	1	0	0	-1	30.22
26	-1	-1	0	0	26.99
27	1	-1	0	0	31.60
28	0	0	0	0	36.86
29	0	0	0	0	36.13

拟误差并不显著,说明除模型研究外的因素对祁白术多酚提取量的影响较小。因此,可用于回归方差代替试验真实点对结果进行分析。

从表 3 还可以得到各因素对祁白术多酚提取量影响的顺序为 SDS 质量分数(A)>超声温度(C)>乙醇浓度(D)>超声功率(B),其中 A 和 B 因素对祁白术多酚提取量的影响极显著,各因素交互作用影响不显著(P>0.05),A²、B²、C²对多酚提取量影响极显著(P<0.000 1),D²对多酚提取量影响显著(P<0.05)。剔除不显著交互项,得到祁白术多酚提取量对各自变量的标准回归方程为:

$$Y = 36.94 + 2.13A + 1.07B - 1.31C + 1.14D - 3.50A^2 - 3.43B^2 - 3.99C^2 - 1.51D^2 \quad (2)$$

表 3 回归模型方差分析[†]

Table 3 Analysis of variance (ANOVA) regression model

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P
模型	296.00	14	21.14	10.30	< 0.000 1**
A	54.61	1	54.61	26.60	0.000 1**
B	13.68	1	13.68	6.66	0.021 8*
C	20.44	1	20.44	9.96	0.007 0**
D	15.65	1	15.65	7.62	0.015 3*
AB	1.84	1	1.84	0.90	0.360 1
AC	0.28	1	0.28	0.14	0.715 6
AD	0.18	1	0.18	0.086	0.774 2
BC	0.074	1	0.074	0.036	0.852 4
BD	0.22	1	0.22	0.11	0.747 2
CD	0.52	1	0.52	0.26	0.621 4
A ²	79.62	1	79.62	38.78	< 0.000 1**
B ²	76.30	1	76.30	37.17	< 0.000 1**
C ²	103.08	1	103.08	50.21	< 0.000 1**
D ²	14.86	1	14.86	7.24	0.017 6*
残差	28.74	14	2.05		
总误差	26.77	10	2.68	5.43	0.058 7
总变异	1.97	4	0.49		

[†] * 表示差异显著(P<0.05); ** 表示差异极显著(P<0.01)。

将表 3 中数据进行响应面曲线分析,二者呈较好的二次抛物线关系,祁白术多酚提取量存在最大值。

2.2.3 最佳工艺提取条件的确定及验证实验 根据二次线性回归方程的分析结果,祁白术多酚提取的最优条件为:SDS 添加量 0.47%、超声功率 156.02 W、超声温度 48.08 ℃、乙醇浓度 64.39%,多酚提取量为 37.79 mg/g。在实际生产中,考虑到可操作性,确定祁白术多酚的提取的最优工艺为:SDS 添加量 0.47%,超声波功率 150 W,超声温度 48 ℃,乙醇浓度 64%。采用上述条件,进行验证实验(n=3),祁白术多酚提取量为(38.53±0.51) mg/g,与理论预测值 37.79 mg/g 的相对误差为 1.92%,说明回归模型与实际情况拟合良好。

2.3 祁白术多酚的抗氧化活性

2.3.1 对 DPPH 自由基的清除作用 由图 7 可知,祁白术多酚对 DPPH 自由基的清除作用呈明显的剂量效应,即随着多酚浓度的增加,DPPH 自由基清除作用随之增强。当祁白术多酚浓度为 0.2 mg/mL 时,对 DPPH 自由基的清除率为 94.37%。祁白术多酚和阳性对照 BHA 对 DPPH 自由基清除作用的 IC₅₀ 值分别为 0.056, 0.015 mg/mL,表明祁白术多酚具有显著的 DPPH 自由基清除能力。

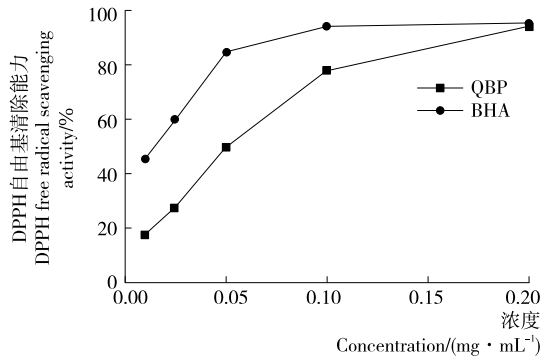


图7 祁白术多酚对DPPH自由基的清除作用

Figure 7 DPPH free radical scavenging ability of QBP

2.3.2 对ABTS自由基的清除作用 由图8可知,在0.01~0.20 mg/mL时,祁白术多酚和BHA对ABTS自由基清除作用随着浓度的增大先逐渐增强后趋向稳定。当QBP浓度为0.2 mg/mL时,对ABTS自由基的清除率为88.39%。祁白术多酚和阳性对照BHA对ABTS自由基的清除作用的 IC_{50} 值分别为0.05,0.02 mg/mL。以上结果显示,祁白术多酚对DPPH和ABTS自由基清除作用的变化规律具有较好的一致性,说明多酚类物质是祁白术主要的抗氧化活性成分。

2.4 祁白术多酚的抑菌活性

由表4可知,祁白术多酚对4种供试菌均有显著的抑制作用。当祁白术多酚质量浓度为1 mg/mL时,对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和绿脓杆菌的最

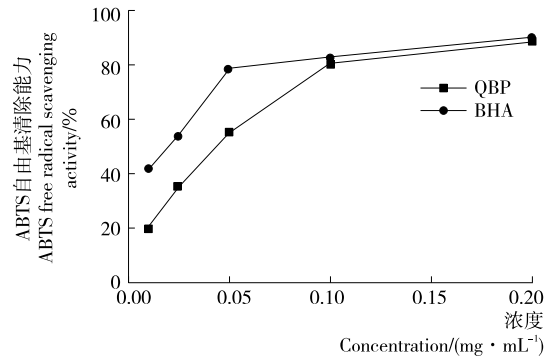


图8 祁白术多酚对ABTS自由基的清除作用

Figure 8 ABTS free radical scavenging ability of QBP

大抑菌圈直径分别为 (11.17 ± 0.22) , (11.83 ± 0.56) , (10.33 ± 0.22) , (11.33 ± 0.22) mm; 阳性对照对羟基苯甲酸丙酯(PP)质量浓度为1 mg/mL时,对上述4种菌的最大抑菌圈直径分别为 (11.67 ± 0.56) , (11.33 ± 0.22) , (12.17 ± 0.44) , (12.17 ± 0.22) mm。本试验进一步测定了祁白术多酚对4种供试菌的最低抑菌浓度(MIC)。由表4可知,在0.25~1.00 mg/mL时,QBP对4种供试菌的抑制作用呈现明显的剂量效应,即随着多酚浓度的增加,抑菌作用随之增强。祁白术多酚对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌的MIC为0.25 mg/mL,对枯草芽孢杆菌的MIC为0.50 mg/mL。结果表明,祁白术对4种供试的革兰氏阳性细菌和革兰氏阴性细菌都有显著的抑制作用,而多酚类物质是其主要的抑菌活性成分。

表4 祁白术多酚对4种菌的抑菌圈直径[†]

Table 4 Diameter of inhibitory zone of the QBP against four common bacterial strains

样品	质量浓度/ (mg · mL ⁻¹)	抑菌圈直径/mm			
		大肠杆菌	金黄色葡萄球菌	枯草芽孢杆菌	绿脓杆菌
DMSO		—	—	—	—
QBP	0.25	7.50 ± 0.33 ^c	9.17 ± 0.22 ^c	—	7.00 ± 0.33 ^c
	0.50	9.67 ± 0.56 ^b	10.33 ± 0.44 ^b	7.50 ± 0.33 ^d	7.67 ± 0.56 ^c
	0.75	10.67 ± 0.56 ^{ab}	11.17 ± 0.22 ^{ab}	8.83 ± 0.22 ^c	9.50 ± 0.33 ^b
	1.00	11.17 ± 0.22 ^a	11.83 ± 0.56 ^a	10.33 ± 0.22 ^b	11.33 ± 0.22 ^a
PP	1.00	11.67 ± 0.56 ^a	11.33 ± 0.22 ^a	12.17 ± 0.44 ^a	12.17 ± 0.22 ^a

[†] 同列不同字母表示在统计学上具有显著差异(P<0.05)。

3 结论

祁白术多酚最佳提取工艺为:SDS添加量0.47%,超声波功率150 W,超声温度48℃,乙醇浓度64%,超声时间15 min,料液比1:25(g/mL)。在此条件下预测祁白术多酚提取量为37.79 mg/g,而经验证实验得到的实际值为 (38.53 ± 0.51) mg/g,预测值与实际值的吻合率为98.08%,说明回归模型与实际情况拟合良好,优化后的祁白术多酚提取工艺条件合理可行。本研究揭示了道地药材祁白术具有显著的抗氧化和抑菌活性,明确了多酚类物质是其发挥抗氧化、抑菌作用的药效物质基础。下一

步将对祁白术多酚做进一步的分离纯化,以鉴定出祁白术多酚抗氧化、抑菌的主要活性化合物。

参考文献

- [1] 胡长玉, 张慧冲, 陈爱珍, 等. 野生祁白术的营养成分分析[J]. 生物学杂志, 2005, 22(3): 37-38.
- [2] 郑丽. 苍术属系统发育及药用植物白术的群体遗传和栽培起源研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2013: 102-108.
- [3] 李云志, 刘兰花, 江洪波. 野生祁白术化学成分的HPLC-ESI-TOF/MS快速分离鉴别[J]. 时珍国医国药, 2013, 24(12): 2 931-2 932.

- [4] 李云志, 白雪. 祁白术半野生和野生品以及和栽培品化学成分相似性初步研究[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(9): 2 241-2 242.
- [5] LI Yun-zhi, DAI Min, PENG Dai-yin. New bissequiterpenoid lactone from the wild rhizome of *Atractylodes macrocephala* Koidz grown in Qimen[J]. Natural Product Research, 2017, 31(20): 2 381-2 386.
- [6] 卢玮玮, 郭孝成, 耿玉闯, 等. 地道药材祁白术的应用研究进展[J]. 安徽农学通报, 2018, 24(15): 35-36.
- [7] 胡长与, 徐有志. 祁白术多糖提取工艺研究[J]. 生物学杂志, 2010, 27(4): 57-59.
- [8] 吴永祥, 江海涛, 崔朋, 等. 祁白术生物活性物质及其抗氧化、抑菌能力研究[J]. 食品与机械, 2018, 34(1): 154-158.
- [9] 许长照, 张瑜瑤. 祁白术治疗脾虚证小鼠对消化器官组化和超微结构的影响[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2001, 9(5): 268-271.
- [10] WANG Ning. *Atractylodes macrocephala* Koidz resources in Anhui province and their development strategies[J]. Medicinal Plant, 2012, 3(10): 100-102.
- [11] ZHOU Jue, QU Fan, YU Yong-ping. Chemical and ecological evaluation of a genuine Chinese medicine: *Atractylodes macrocephala* Koidz[J]. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines, 2011, 8(4): 405-411.
- [12] 彭伟, 韩婷, 刘青春, 等. 白术地上部分化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(5): 578-581.
- [13] 石娜, 苏洁, 杨正标, 等. 白术多糖对 D-半乳糖致衰老模型小鼠的抗氧化作用[J]. 中国新药杂志, 2014, 23(5): 571-581.
- [14] 吴永祥, 毕淑峰, 姜薇, 等. 桑白皮多酚对 B16 细胞内黑色素生成的影响及其机制[J]. 中国药理学通报, 2018, 34(9): 1 296-1 301.
- [15] DAMIANO S, FORINO M, DE A, et al. Antioxidant and antibiofilm activities of secondary metabolites from *Ziziphus jujuba* leaves used for infusion preparation[J]. Food Chemistry, 2017, 230: 24-29.
- [16] BAQUEIRO-PENA I, GUERRERO-BELTRAN J A. Physicochemical and antioxidant characterization of *Justicia spicigera*[J]. Food Chemistry, 2017, 218: 305-312.
- [17] WILKINSON J M, HIPWELL M, RYAN T, et al. Bioactivity of *Backhousia citriodora*: antibacterial and antifungal activity[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 51(1): 76-81.
- [18] 吴永祥, 程满怀, 江海涛, 等. 白及萃取物的抑菌活性及其二氯甲烷萃取物化学成分分析[J]. 食品与机械, 2017, 33(12): 76-79.
- [19] 赵秀玲, 李慕原, 党亚丽. 杭白菊中多酚物质的提取及其抗氧化活性[J]. 精细化工, 2018, 35(6): 974-981.
- [20] 赵丽丽, 蔡露茜, 叶竞雄, 等. 表面活性剂 SDS 辅助微波提取金佛手总黄酮工艺及抗氧化活性评价[J]. 食品科学, 2014, 35(18): 47-51.
- [21] 项昭保, 刘星宇. 响应面法优化超声-微波协同辅助提取橄榄多酚工艺研究[J]. 食品工业科技, 2016, 37(1): 195-200.
- [22] 龙晓琴, 唐杰, 赵景芳, 等. 红油椿老叶中黄酮的酶法-超声波提取及 HPLC 测定[J]. 食品科学, 2017, 38(22): 256-262.

(上接第 123 页)

20.9%, 溶液平均含气率稳定在 21.4% 左右, 计算得到发酵罐的初始装料液位高在 6.3 m 左右, 同时仿真结果说明抛物线式圆盘涡轮桨能在一定程度上抑制“气穴”的形成。本研究对苏氨酸发酵过程中发酵罐内几种工艺状况进行了搅拌流场仿真模拟, 由于模型巨大, 研究偏向于整体性, 未对罐内局部区域流场进行研究, 这在之后的工作中会有体现。

参考文献

- [1] 宋金礼. 发酵罐内搅拌过程的数值模拟与参数优化[D]. 大连: 大连理工大学, 2015: 1-6, 54.
- [2] 黄金, 徐庆阳, 陈宁. L-苏氨酸的生产方法及研究进展[J]. 河南工业大学学报: 自然科学版, 2007(5): 88-92.
- [3] 徐庆阳, 冯志彬, 孙玉华, 等. 溶氧对 L-苏氨酸发酵的影响[J]. 微生物学通报, 2007(2): 312-314.
- [4] 厉鹏, 刘宝庆, 金志江. 搅拌釜内流场实验研究与数值模拟的进展[J]. 化工机械, 2010, 37(6): 799-804, 822.
- [5] WANG Xu, DING Jie, GUO Wan-qian, et al. A hydrodynamics-reaction kinetics coupled model for evaluating bioreactors derived from CFD simulation[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(24): 9 749-9 757.
- [6] HOUARI Ameer. Energy efficiency of different impellers in stirred tank reactors[J]. Energy, 2015, 93: 1 980-1 988.
- [7] 倪伟佳. 不同搅拌桨叶组合条件下的 CFD 数值模拟及头孢菌素 C 发酵性能比较[D]. 无锡: 江南大学, 2012: 37-38.
- [8] 黄男男, 石秀东, 张建华, 等. 导流筒对搅拌槽流场的影响[J]. 食品与机械, 2009, 25(1): 93-96.
- [9] 刘庭耀. 气-液两相搅拌釜流体行为的数值模拟研究[D]. 北京: 北京科技大学, 2018: 20-27.
- [10] SOMMERFELD M, DECKER S. State of the art and future trends in CFD simulation of stirred vessel hydrodynamics[J]. Chemical Engineering & Technology, 2004, 27(3): 215-224.
- [11] 王蒙. 气液反应器中两相流实验研究与数值模拟[D]. 西安: 西安理工大学, 2016: 54-57.
- [12] 谢明辉. 多层搅拌式生物反应器内溶液流变性质对流场特性影响的研究[D]. 上海: 华东理工大学, 2013: 98-115.
- [13] BACH C, YANG J, LARSSON H, et al. Evaluation of mixing and mass transfer in a stirred pilot scale bioreactor utilizing CFD[J]. Chemical Engineering Science, 2017, 171: 19-26.
- [14] 郝志刚, 包雨云, 高正明. 多层组合桨搅拌槽内气-液分散特性的研究[J]. 高校化学工程学报, 2004(5): 547-552.
- [15] 黄金, 徐庆阳, 温廷益, 等. 不同溶氧条件下 L-苏氨酸生物合成菌株的代谢流量分析[J]. 微生物学报, 2008(8): 1 056-1 060.