

苦菜叶干粉中 抑菌物质提取工艺优化研究

程 敏, 刘甜甜, 宫春波*

(青岛农业大学食品科学与工程学院, 山东青岛 266109)

摘 要:以微生物药敏实验为依据,采用超声波协同水、乙醇、丙酮、甲醇提取溶剂,筛选干苦菜叶干粉抑菌物质的最佳提取方法。单因素实验结果表明,70%乙醇为最佳提取溶剂,料液比在1:10~1:15范围内抑菌圈增大快速,料液比>1:15,提取率反而下降,最佳料液比为1:15;超声提取时间60min最优,超声强度360W时抑菌圈最大。正交实验表明,对苦菜抑菌物质提取因素的影响程度依次是:超声时间>料液比>超声功率。超声波提取苦菜中抑菌活性物质的最佳工艺参数为:70%乙醇作为提取溶剂,料液比1:20,超声时间60min,超声波功率360W。苦菜抑菌物质主要抑制金黄色葡萄球菌为代表的G⁺细菌,而对青霉、黑曲霉没有明显的抑制作用。

关键词:苦菜,抑菌圈,提取,工艺

Study on optimization of the extracting technology of antibacterial from ixeris chinensis powder

CHENG Min, LIU Tian-tian, GONG Chun-bo*

(Food Science and Engineering College, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China)

Abstract:In order to get optimizing technology of extracting antibacterial from ixeris chinensis powder, ultrasonic was used cooperated with water, ethanol, acetone and methanol to extract antibacterial from ixeris chinensis powder. One-at-time test results showed that 70% ethanol was the best solvent for extraction. The inhibition zone rapid increased when liquid ratio was from 1:10 to 1:15, but it reduced when liquid ratio was above 1:15. When ultrasonic power was 360W and extraction time was 60min, the inhibition zone was the biggest. The optimal strategy of extracting antibacterial from ixeris chinensis powder was 70% ethanol as solvent extraction, liquid ratio 1:20, ultrasonic time 60min, ultrasonic power 360W. The effect intensity of factors from strong to weak was extraction time, liquid ratio, ultrasonic power. Antibacterial substance extraction from ixeris chinensis powder mainly inhibited *Staphylococcus aureus*, which represented by G⁺ bacteria, while *Penicillium*, *Aspergillus niger* were not inhibited.

Key words: ixeris chinensis; inhibition zone; extraction; technology

中图分类号: TS255.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2010)05-0277-03

苦菜,学名败酱草(*Sonchus oleraceus* L.),在我国有广泛的分布,具有“药食同源”的功效。药用苦菜多为苦苣菜(*Bitter Vegetables*)和裂叶苣荬菜(*Sonchus arvensis* L.),而食用苦菜主要是苣荬菜(*Sonchus branchyotus* DC)^[1]。苦菜性寒、味苦、无毒,能清热凉

血,解毒消肿,治热毒、雍结、黄疸、下痢、血淋、疔肿、痔瘕等症^[2];近代中医学证实,苦菜对金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、福氏痢疾杆菌(*Shigella flexneri*)的抑菌作用较强^[3]。其抑菌物质的提取获得,对于苦菜天然抗菌剂、防腐剂的开发具有较好的经济、社会效益。超声波浸提法是利用超声波的机械破碎和空化作用,使细胞破碎,加速浸提物从原料向溶剂的扩散速率,具有提取效率高、不需高温、能耗低、提

收稿日期:2009-07-31 * 通讯联系人

作者简介:程敏(1985-),女,在读硕士研究生,研究方向:食品微生物及发酵工程。

参考文献

[1] 樊明涛.食品分析与检验[M].世界图书出版公司,1990:76-85.

[2] 李来好,等.正交设计法提取江蕨高活性膳食纤维[J].湛江海洋大学学报,1999(4):33-38.

[3] 明道绪.生物统计附实验设计[M].第三版.中国农业出版社,2004:35-92.

[4] 郑建仙,高孔荣.论膳食纤维[J].食品与发酵工业,1994(4):71-74.

[5] 李来好,等.用正交设计法提取马尾藻高活性膳食纤维[J].湛江海洋大学学报,1998(2):39-43.

取时间短等特点^[4]。本实验以微生物药敏实验为依据,采用超声波协同水、乙醇、丙酮、甲醇提取方法,探索了苦菜叶干粉抑菌物质提取的影响因素,为苦菜抑菌物质的提取及其深加工提供理论数据支持。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、黑曲霉(*Aspergillus niger*)、青霉(*Penicillin ssp.*)均由青岛农业大学食品学院食品微生物实验室提供;新鲜苦菜采自青岛农业大学园艺教学农场;孟加拉红培养基、PDA培养基、平板计数琼脂均为北京陆桥技术有限公司干粉培养基;无菌生理盐水0.85%;乙醇、丙酮、甲醇等常规试剂均为分析纯。

SPX型智能生化培养箱,干燥箱,UH-1200B超声波细胞粉碎仪,超净工作台,台式离心机,旋转蒸发器RE-52B,植物粉碎机,鼓风干燥箱,万分之一电子天平。

1.2 实验方法

1.2.1 超声波提取苦菜抑菌物质工艺流程 新鲜苦菜→摊晾→去蒂、去杂物→洗净→晒至半干→烘箱内50℃烘干→植物粉碎机粉碎→密封保存→称定量苦菜粉末→装入烧杯→加入有机溶剂→超声波提取→离心→旋转蒸发浓缩→定容→粗提液→备用

1.2.2 抑菌实验(采用滤纸片法) 参考文献制备金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)菌悬浮液^[5],抑菌实验采用微生物药敏实验的滤纸片法^[6],无菌生理盐水(0.85%)作为空白对照,37℃下培养、24h测定抑菌圈直径,重复三次,取其平均值。

1.2.3 抑菌谱测定 以活化的菌种(金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、大肠杆菌、青霉、黑曲霉)为测试菌,无菌水作为对照,测定苦菜叶干粉提取物的抑菌谱^[5]。

1.3 实验设计

1.3.1 单因素实验 分别用水、乙醇、丙酮、甲醇四种溶剂作为提取溶剂,实验条件为:提取时间60min,料液比1:15,超声功率360W。以金黄色葡萄球菌为指示菌,通过比较四种溶剂提取苦菜抑菌成分的抑菌效果,确定适合的提取溶剂。其他条件不变,采用30%、50%、70%、80%、95%的乙醇提取确定适合的浓度。设定超声时间60min,超声功率为360W条件下,料液比为1:5、1:10、1:15、1:20、1:25以确定最佳料液比。设定超声功率为360W、料液比1:15的条件下,确定最佳超声时间。设定超声时间60min、料液比1:15条件下,超声功率分别为240、360、720W进行比较研究,以确定最佳超声功率。

1.3.2 正交实验 在单因素实验基础上,对料液比、超声时间和超声功率三个因素进行三水平的正交实验(表1),以期获得最佳提取工艺参数。

表1 正交实验因素水平表

水平	因素		
	A 超声时间 (min)	B 超声功率 (W)	C 料液比 (m/V)
1	50	320	1:10
2	60	360	1:15
3	70	400	1:20

2 结果与分析

2.1 溶剂种类对苦菜抑菌物质提取效果的影响

四种溶剂对苦菜抑菌物质的提取效果见图1。图1表明,乙醇、丙酮和甲醇的苦菜提取物抑菌性能高于水提取,即对苦菜干叶粉中抑菌物质而言,有机溶剂的提取效果好于水溶液的提取。乙醇、甲醇的提取效果接近,但乙醇最好,其抑菌圈直径达到了17mm,而且乙醇无毒无害、安全可靠,故选用乙醇作为苦菜抑菌物质提取的最佳溶剂。

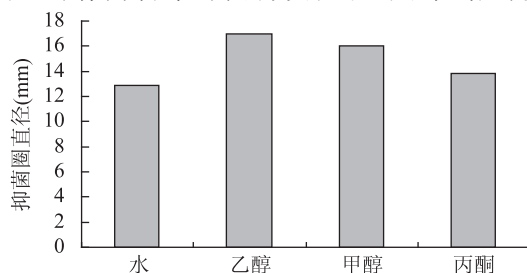


图1 不同溶剂提取的苦菜提取物对金黄色葡萄球菌的抑菌活性

2.2 乙醇浓度对苦菜抑菌物质提取效果的影响

不同浓度乙醇的苦菜抑菌物质粗提液对金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)抑菌圈直径见图2。随着乙醇浓度的增加,抑菌圈直径也随着增加,说明苦菜中抑菌物质随着乙醇浓度的增加而提取率提高,当乙醇浓度达到70%时,抑菌圈直径达最大,而后有所下降,故选用70%的乙醇作为苦菜抑菌物质提取剂的浓度。

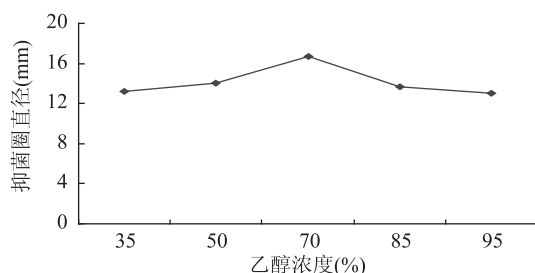


图2 不同乙醇浓度对苦菜抑菌物质提取效果的影响

2.3 不同料液比对苦菜抑菌物质提取效果的影响

图3表明,抑菌圈直径随着料液比的增加而扩大。料液比在1:10~1:15范围内抑菌圈扩大迅速,苦菜中抑菌物质提取效果良好;当料液比>1:15时,提取效果开始下降,料液比为1:15时,抑菌圈直径达最大。一般来说,增加溶剂的比例有利于传质扩散,但在实际操作中溶液体积过大不利于后续的浓缩。因此,应依据实验条件调整适合的溶剂用量,本实验确定苦菜抑菌物质提取的料液比为1:15。

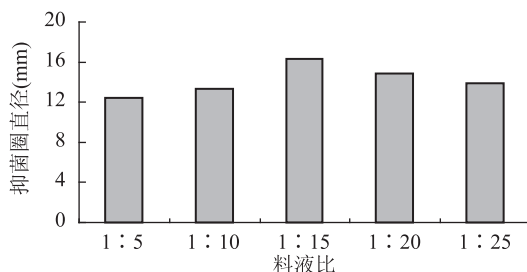


图3 料液比对苦菜抑菌物质提取效果的影响

2.4 超声时间对苦菜提取物抑菌效果的影响

物料与溶剂的接触时间和处理时间直接影响抑菌物质的提取率。通过超声提取时间对抑菌圈直径影响的实验发现,并非超声提取时间越长抑菌圈直径越大(图4),随着提取时间延长,直到60min,抑菌圈不断增大;随后提取时间延长,提取效果反而降低。

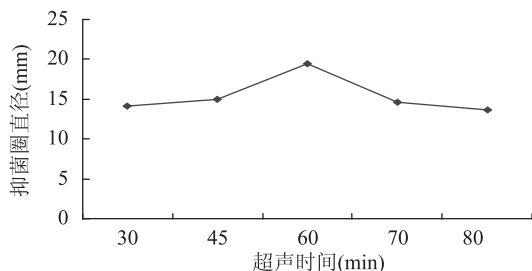


图4 超声时间对苦菜抑菌物质提取效果的影响

2.5 超声功率对苦菜提取物抑菌效果的影响

超声波是一种弹性波^[7],其作用机理是通过振动产生强大的能量,给与媒质点以很强大的速度和加速度,使浸提剂和提取物不断振荡,有助于溶质扩散。因此,超声波发生器的功率是影响提取效果的重要因素。

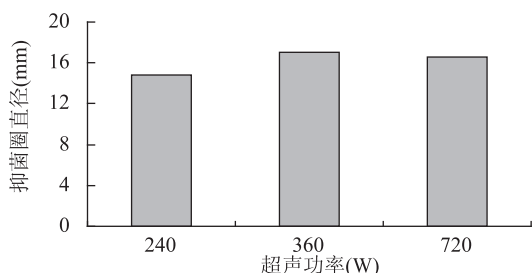


图5 超声功率对苦菜提取物抑菌效果的影响

从图5可以看出,随着超声强度的增大,抑菌圈直径不断变大,直到超声强度为360W时,抑菌圈最大。故苦菜抑菌物质超声提取功率为360W。

2.6 超声波提取苦菜抑菌成分正交实验结果分析

应用正交实验探讨超声波提取苦菜抑菌物质的影响因素,正交实验结果见表2。从正交结果和极差、方差分析可知,超声波提取苦菜抑菌物质的因素影响程度是:A>C>B,即超声时间>料液比>超声功率。

表2 超声波提取苦菜抑菌物质的

$L_9(3^3)$ 正交实验设计及结果

实验号	A	B	C	抑菌圈直径(mm)
1	1	1	1	14.5
2	1	2	2	15.9
3	1	3	3	16.9
4	2	2	3	18.7
5	2	3	1	16.4
6	2	1	2	15.5
7	3	3	2	14.4
8	3	1	3	15.3
9	3	2	1	13.9
K_1	15.78	15.10	14.93	
K_2	16.88	16.12	15.28	
K_3	14.53	15.90	16.97	
R	2.33	1.07	2.03	

超声时间影响显著,主要原因可能在于超声能够使溶液温度升高,而高温可能影响抑菌物质的组分。超声提取苦菜抑菌物质的最佳工艺参数组合为: $A_2B_2C_3$,即超声时间60min,超声功率360W,料液比1:20。

表3 方差分析表

因素	偏差平方和	自由度	F比	F临界值	显著性
A	8.17	2	21.75	19.00	* 显著
B	1.85	2	4.92	19.00	
C	7.14	2	18.98	19.00	
误差	0.38	2		$\alpha = 0.05$	

2.7 苦菜抑菌物质抑菌谱测定结果

由表4可知,苦菜提取物对金黄色葡萄球菌(*S.aureus*)具有明显的抑制作用,对枯草芽孢杆菌也有一定的抑制作用。由此推测,苦菜提取物对G⁺细菌具有抑制作用。但由于枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)在不良环境中会产生芽孢,具有抗逆性,因此苦菜提取物对枯草芽孢杆菌的抑制作用弱于金黄色葡萄球菌。供试细菌中,对金黄色葡萄球菌的抑制作用最明显,对大肠杆菌(*Escherichia coli*)的抑制作用相对较弱;而对青霉、黑曲霉等的抑制作用不明显。

表4 苦菜对5种微生物的抑菌圈直径

菌种名	抑菌圈直径(mm)
金黄色葡萄球菌(<i>Staphylococcus aureus</i>)	15.60
枯草芽孢杆菌(<i>Bacillus subtilis</i>)	13.00
大肠杆菌(<i>Escherichia coli</i>)	13.50
青霉(<i>Penicillin sp.</i>)	8.50
黑曲霉(<i>Aspergillus niger</i>)	9.00
空白(0.85% 无菌生理盐水)	8.00

3 结论

单因素实验和正交实验结果表明:超声波协同乙醇提取苦菜中抑菌活性物质的最佳工艺参数是:70%乙醇作为提取溶剂、料液比1:20、超声时间60min、超声波功率360W。该工艺条件下得到的苦菜抑菌物质对以金黄色葡萄球菌(*S.aureus*)为代表的G⁺细菌抑制作用较强,对大肠杆菌等细菌也有较明显的抑制作用,而对青霉、黑曲霉等霉菌的抑制作用很弱。

参考文献

- [1] 张有林,陈锦屏,张宝善.我国苦菜资源及其应用[J].西北植物学报,1997,17(6):169-172.
- [2] 顾观光,等.神农本草经[M].哈尔滨:哈尔滨出版社,2007.
- [3] 黄晓敏,郑秋桦,廖玲军,等.粤北山区14种中草药抗菌效能的实验研究[J].陕西中医,2005,26(9):963-965.
- [4] 赵兵,王玉春,欧阳藩,等.超声波在植物提取中的应用[J].中草药,1999,30(9):1-3.
- [5] 俞树荣.微生物学和微生物学检验[M].第二版.北京:人民卫生出版社,1997:458.
- [6] 姚树敏.芦荟提取物抑菌作用的研究[J].食品科学,2002,23(4):137-139.
- [7] 郑志远,王亚芳,高华,等.在物理实验中引入超声波系列实验的探索[J].实验技术与管理,2008,25(11):39-40,52.