

梓树根皮总黄酮分离纯化及其抑菌活性研究
Separation, purification and antibacterial activity of
total flavonoids from *Catalpa* root bark

邵金华 何福林 陈霞 谢雨

SHAO Jin-hua HE Fu-lin CHEN Xia XIE Yu

(湖南科技学院湖南省银杏工程技术研究中心湘南优势植物资源综合利用重点实验室, 湖南 永州 425199)

(Hunan University of Science and Technology, Engineering Technology Research Center on Ginkgo of Hunan, Key Laboratory of Comprehensive Utilization of Advantage Plants Resources in Hunan South, Yongzhou, Hunan 425100, China)

摘要:以吸附率和解析率为评价指标,用大孔树脂对梓树根皮总黄酮的分离纯化工艺进行优化,并研究纯化后梓树根皮总黄酮的抑菌活性。结果表明,梓树根皮总黄酮分离纯化最佳工艺条件为:采用 NKA-II 树脂,上样液质量浓度 0.538 mg/mL,上样液流速 1.66 mL/min,上样液 pH 值 4.01,洗脱剂乙醇浓度 70%,洗脱流速 2.5 mL/min。该条件下,梓树根皮总黄酮纯度为 $(77.43 \pm 0.23)\%$,吸附率为 $(93.36 \pm 0.25)\%$,解析率为 $(95.51 \pm 0.17)\%$ 。抑菌活性表明,梓树根皮总黄酮对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌抑菌作用为极敏,对青霉菌、酿酒酵母菌抑菌作用为高敏;金黄色葡萄球菌的 MIC 值为 (6.25 ± 0.25) mg/mL;枯草芽孢杆菌、大肠杆菌 MIC 值为 (12.50 ± 0.36) mg/mL;酿酒酵母、青霉菌, MIC 值为 (25.00 ± 0.27) mg/mL。

关键词:梓树;根皮;黄酮;大孔吸附树脂;分离纯化;抗菌活性

Abstract: Taking the adsorption rate and desorption rate as the evaluation indexes, macroporous resin was adopted to optimize the separation and purification technology of total flavonoids from *Catalpa* root bark, and the antibacterial activity of the purified total flavonoids from *Catalpa* root bark was investigated. The results indicated that the optimal technological conditions for the separation and purification of total flavonoids from *Catalpa* root bark were as follows: application of NKA-II resin; mass concentration, flow rate and pH value of loading buffer of 0.538 mg/mL, 1.66 mL/min and 4.01, respectively; concentration of eluant ethyl alcohol of 70%; and elution flow rate of 2.5 mL/min. Under such conditions, the purity,

adsorption rate and desorption rate of total flavonoids from *Catalpa* root bark were $(77.43 \pm 0.23)\%$, $(93.36 \pm 0.25)\%$ and $(95.51 \pm 0.17)\%$, respectively. Antibacterial activity indicated that total flavonoids from *Catalpa* root bark had extremely sensitive antibacterial activity to *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, and *Staphylococcus aureus*; and high antibacterial sensitivity to penicillium and *Saccharomyces cerevisiae*. MIC values of *S. aureus*, *Bacillus subtilis* and *E. coli*, as well as *S. cerevisiae* and penicillium were (6.25 ± 0.25) mg/mL, (12.50 ± 0.36) mg/mL and (25.00 ± 0.27) mg/mL, respectively.

Keywords: *Catalpa* root bark; flavonoid; macroporous resin; separation and purification; antibacterial activity

梓树 (*Catalpa ovata* G.Don) 为紫葳科梓属乔木植物,它的皮称为梓皮、梓根白皮、梓白皮、土杜促、梓木白皮;树皮的韧皮部(名梓白皮)或根皮可做药用,嫩叶可食^[1-2]。研究^[3-6]发现,梓树果实、叶、茎皮、根皮等部位都含有大量活性成分,如环烯醚萜类、黄酮类、生物碱等。

黄酮类化合物在保健、医药、食品等领域广泛应用,是天然产物领域的研究热点之一。黄酮类物质常用的分离纯化方法有金属试剂络合沉淀法^[7]、双水相萃取法^[8]、柱层析法^[9]、高效液相色谱法^[10]、膜分离法^[11]、薄层层析法^[12]、大孔树脂吸附法^[13]等。与其它纯化方法比较,大孔树脂吸附法具有选择性较好、理化性质稳定、机械强度高、不溶于酸、碱及有机溶剂、比表面积较大、易于再生、交换速度较快^[14]等优点,因此,其在黄酮类物质纯化中被广泛应用,效果也较好。抗生素的滥用,导致病原菌具有广泛的耐药性,新抗菌药物的研发亟待解决。大量的文献^[15-17]表明,自然界从低等到高等植物各部分提取的黄酮类化合物都有较好的抑菌作用。

目前对梓树根皮总黄酮的分离纯化以及抗菌活性研究未见报道。本研究拟采用大孔树脂吸附法对梓树根皮中总黄酮进行分离纯化,以提高粗提取物中总黄酮的纯度,并研

基金项目:湖南省教育厅重点课题(编号:16A083)
作者简介:邵金华,女,湖南科技学院高级实验师,哈尔滨商业大学在读博士研究生。
通信作者:何福林(1967—),男,湖南科技学院教授,硕士。
E-mail: 2339695475@qq.com
收稿日期:2016—12—26

究纯化后梓树根皮总黄酮的抑菌活性,旨在为其综合利用以及开发具有保健功能的天然抗菌剂提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

1.1.1 试验材料

梓树根皮:采自湖南省永州市祁阳县白水镇,将梓树根皮用毛刷刷洗干净,再用剪刀将其剪碎,然后放入真空干燥箱中烘干至恒重,最后用植物粉碎机将其粉碎,过 100 目筛,室温保存于实验室备用。

1.1.2 试剂

槲皮素、山奈酚,纯度 $\geq 98\%$,上海源叶生物科技有限公司;

枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*):中国科学院成都生物研究所菌种保藏中心;

青霉菌(*Penicillium notatum*)、酿酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*):湖南科技学院微生物实验室;

AB-8、NKA-II、X-5、D3520、D101、ADS-7 大孔树脂:天津市光复精细化工研究所;

无水乙醇、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠、盐酸、乙酸铅、镁粉、甲醇、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠等:分析纯,上海国药集团化学试剂厂。

1.1.3 主要仪器

高效液相色谱:LC-20A 型,日本岛津制作所;

电子天平:JA3003 型,上海舜宇恒平科学仪器有限公司;

旋转蒸发仪:R201D-II 型,郑州长城科工贸易有限公司;

酸度计:PHS-802 型,贵阳学通仪器仪表有限公司;

电热恒温鼓风干燥箱:DHG-06 型,武汉海声达设备仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 总黄酮提取液的制备 称取 1 000 g 梓树根皮干粉,以料液比为 1:10(g/mL)加入体积分数为 95%的乙醇,回流提取 3 次,每次 3 h,过滤,合并提取液,75 ℃旋转蒸发后 60 ℃真空干燥,备用。

1.2.2 梓树根皮总黄酮含量的测定

(1) 标准品溶液配制:精密称取槲皮素标准品 3.7 mg,山奈酚标准品 5.4 mg,加 80%甲醇溶解并用容量瓶定容至 50 mL,摇匀,即得混合标准品储备液。

(2) 色谱条件:岛津 LC-20A 型高效液相色谱;Shimadzu C₁₈ 色谱柱(4.6 μm×250 mm,5 μm);以体积比为 1:1 的甲醇—0.4%磷酸为流动相;检测器紫外波长为 360 nm;进样量 10~20 μL;流速 1.0 mL/min;柱温箱 40 ℃。

(3) 总黄酮测定:根据文献[18]的方法,将总黄酮苷水解成为槲皮素和山奈酚,使用 HPLC 测定槲皮素和山奈酚的含量,根据式(1)计算总黄酮苷的含量。

$$m_{\text{总}}=(m_1\times 1.65+m_2\times 1.74),$$

式中:

$m_{\text{总}}$ ——总黄酮苷含量,mg/L;

m_1 ——槲皮素含量,mg/L;

m_2 ——山奈酚含量,mg/L。

1.2.3 静态吸附试验 将大孔吸附树脂 AB-8、NKA-II、X-5、D3520、D101、ADS-7 用乙醇浸泡 24 h,然后用乙醇继续洗涤至洗涤液加水稀释不浑浊,用蒸馏水洗至无醇味后抽滤。精确称取大孔树脂各 2.0 g 置于干燥锥形瓶中,各加入总黄酮浓度为 0.489 1 mg/mL 的提取液 20 mL,置于 25 ℃恒温摇床进行静态吸附,直至吸附平衡(10 h)。吸附后,按照 1.2.2 方法测定溶液中总黄酮含量。分别对各吸附后的树脂进行抽滤,并用蒸馏水洗涤 3 次,然后用 70%乙醇溶液(35 mL)于 25 ℃恒温摇床解析 10 h,按照 1.2.2 方法测定溶液中总黄酮含量。分别计算静态吸附时每种大孔树脂的吸附量和解析率。

$$Q=\frac{M-M_d}{M_r(1-\alpha)},$$

(2)

$$W_{\text{解}}=\frac{M_e}{M-M_d}\times 100\%,$$

(3)

式中:

Q ——树脂吸附量,mg/g·干树脂;

M_r ——湿树脂质量,g;

α ——树脂含水率,%;

M ——吸附前溶液中总黄酮质量,mg;

M_d ——吸附后溶液的总黄酮质量,mg;

$W_{\text{解}}$ ——树脂解析率,%;

M_e ——洗脱液中总黄酮质量,mg。

1.2.4 大孔树脂动态吸附试验 将预处理后的大孔树脂抽滤,准确称取树脂各 15.00 g,用蒸馏水湿法装柱。将 35 mL 总黄酮浓度为 0.538 mg/mL 的吸附液加入层析柱,流速为 1 BV/h,上样后,先用 1 BV 水洗,然后用 70%乙醇溶液洗脱 3 BV,收集洗脱液,65 ℃真空干燥成粉末状,按照 1.2.2 方法测定其中总黄酮含量。分别计算解析率、吸附率和纯度。

$$W_{\text{吸}}=\frac{M-M_d}{M}\times 100\%,$$

(4)

$$P=\frac{M_e}{M_{\text{烘干}}}\times 100\%,$$

(5)

式中:

$W_{\text{吸}}$ ——树脂吸附率,%;

M ——上样液中总黄酮,mg;

M_d ——流出液中总黄酮,mg;

P ——总黄酮纯度,%;

M_e ——洗脱液蒸干后测定总黄酮质量,mg;

$M_{\text{烘干}}$ ——溶液烘干后质量,mg。

1.2.5 NKA-II 大孔树脂纯化梓树根皮总黄酮条件的研究

(1) 上样液浓度:将预处理后的大孔树脂抽滤,准确称取树脂各 15.00 g,用蒸馏水湿法装柱。将 35 mL 总黄酮浓度分别为 0.302,0.538,0.893,1.285,1.594 mg/mL 的吸附液加入层析柱,流速为 1 BV/h,上样后,先用 1 BV 水洗,然后用 70%乙醇溶液洗脱 3 BV,收集洗脱液,65 ℃真空干燥成粉末状,按照 1.2.2 方法测定其中总黄酮含量,并计算各自的

吸附率,以确定最佳上样液浓度。

(2) 上样液 pH 值:将预处理后的大孔树脂抽滤,准确称取树脂各 15.00 g,用蒸馏水湿法装柱。将 35 mL 总黄酮浓度为 0.538 mg/mL、不同 pH(3.04,4.01,5.08,6.05,7.09)的吸附液加入层析柱,流速为 1.5 mL/min,上样后,先用 1 BV 水洗,然后用 70%乙醇溶液洗脱 3 BV,收集洗脱液,65 ℃真空干燥成粉末状,按照 1.2.2 方法测定其中总黄酮含量,并计算各自的吸附率,以确定最佳 pH。

(3) 上样液流速:将预处理后的大孔树脂抽滤,准确称取树脂各 15.00 g,用蒸馏水湿法装柱。将 35 mL 总黄酮浓度为 0.538 mg/mL、pH 4.01 的吸附液加入层析柱,流速分别为 1.38,1.66,1.90,2.18,2.40 mL/min,上样后,先用 1 BV 水洗,然后分别用 70%乙醇水溶液洗脱 3 BV,收集洗脱液,65 ℃真空干燥成粉末状,按照 1.2.2 方法测定其中总黄酮含量,并计算各自的吸附率,以确定最佳洗脱液浓度。

(4) 洗脱剂浓度:将预处理后的大孔树脂抽滤,准确称取树脂各 15.00 g,用蒸馏水湿法装柱。将 35 mL 总黄酮浓度为 0.538 mg/mL、pH 4.01 的吸附液加入层析柱,流速为 1.66 mL/min,上样后,先用 1 BV 水洗,然后分别用 40%,50%,60%,70%,80%乙醇水溶液洗脱 3 BV,收集洗脱液,65 ℃真空干燥成粉末状,按照 1.2.2 方法测定其中总黄酮含量,并计算各自的解析率,以确定最佳洗脱液浓度。

(5) 洗脱剂流速:将预处理后的大孔树脂抽滤,准确称取树脂各 15.00 g,用蒸馏水湿法装柱。将 35 mL 总黄酮浓度为 0.538 mg/mL、pH 4.01 的吸附液加入层析柱,上样流速为 1.66 mL/min,先用 1 BV 水洗,然后分别用 70%乙醇水溶液洗脱 3 BV,洗脱液流速分别为 1.6,1.9,2.2,2.5,2.8 mL/min 收集洗脱液,65 ℃真空干燥成粉末状,按照 1.2.2 方法测定其中总黄酮含量,并计算各自的解析率,以确定最佳洗脱液浓度。

1.2.6 NKA-II 大孔树脂最佳条件分离纯化梓树根皮总黄酮 NKA-II 大孔树脂 15.00 g,用蒸馏水湿法装柱,按照最佳吸附和洗脱条件,对梓树根皮总黄酮进行动态吸附,收集洗脱液,65 ℃真空干燥成粉末状,按照 1.2.2 方法测定其中总黄酮含量,计算解析率、吸附率和纯度。

1.2.7 梓树根皮总黄酮进一步纯化 取 NKA-II 大孔树脂纯化后的样品 2 g(旋转蒸发、烘干后),一定量甲醇溶解,用 100~200 目硅胶混匀,通风橱挥干(备用)。称取 60 g 硅胶,干法装柱,装于 1.6 cm×400.0 mm 层析柱中,干法上样,分别用体积比为 10:1,9:1,8:1,7:1,6:1,5:1,4:1,3:1,2:1,1:1 的氯仿—甲醇溶液及纯甲醇进行梯度洗脱,收集各部分洗脱液,高效液相测定其含量,合并含总黄酮高的流分,稍微浓缩,放置析晶,再重复一次硅胶柱层析,合并总黄酮含量高流分,析晶,即得到较高纯度总黄酮。按照 1.2.2 方法测定其中总黄酮含量,经计算,总黄酮纯度达到(89.59±0.19)%。

1.2.8 梓树根皮总黄酮抗菌活性测定 将硅胶柱纯化后梓树根皮总黄酮用 75%乙醇配制成 8.25 mg/mL 溶液备用。采用纸片扩散法^[19]测定其抑菌圈直径;最小抑菌浓度(MIC)

的测定方法参照文献[20]进行。

2 结果与分析

2.1 大孔树脂对总黄酮静态吸附

由表 1 可知,6 种树脂中对总黄酮的吸附效果最大的为 ADS-7,其次为 NKA-II;解析率最大的为 NKA-II,最小为 ADS-7;综合考虑,静态吸附选择 NKA-II。

表 1 不同类型大孔树脂静态吸附对总黄酮吸附量和解析率
Table 1 Adsorption and analytical results of different types of macroporous resin

树脂类型	极性	吸附量/(mg·g ⁻¹)	解析率/%
AB-8	弱极性	31.01±0.23	70.03±0.21
ADS-7	强极性	54.91±0.18	26.49±0.32
D101	非极性	33.23±0.32	64.95±0.26
D3520	极性	13.75±0.24	41.52±0.33
NKA-II	极性	41.25±0.22	75.22±0.19
X-5	非极性	29.71±0.16	68.72±0.21

2.2 大孔树脂对总黄酮动态吸附

为了更全面研究各种大孔树脂对总黄酮的吸附性能,将 6 种大孔树脂都进行了动态吸附试验,结果见表 2。由表 2 可知,6 种大孔树脂对梓树根皮总黄酮都有不同程度纯化效果,其中 NKA-II 纯化效果最好,经 NKA-II 纯化后,总黄酮纯度由原来的 14.16%提高到 54.26%,吸附率为 89.37%,解析率为 90.16%。最终确定用 NKA-II 大孔树脂对梓树根皮总黄酮进行分离纯化。

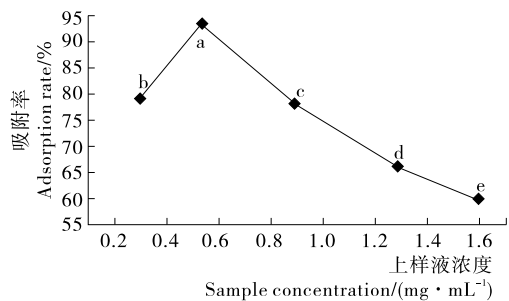
2.3 NKA-II 纯化梓树根皮总黄酮条件研究

2.3.1 上样液浓度 由图 1 可知,上样液浓度在 0.302~0.538 mg/mL 时,随着样品溶液浓度的增大,对总黄酮的吸附率增大;当上样液浓度为 0.538 mg/mL 时,总黄酮吸附率达到最大值,为(93.6±0.23)%;上样液浓度在 0.538~1.594 mg/mL 时,树脂吸附率随样品溶液浓度的增大而减小。可能是上样液浓度过大时会发生絮凝和沉淀,造成树脂堵塞使吸附率降低;浓度过低时,吸附率不高又容易造成树脂的浪费^[21]。所以确定 0.538 mg/mL 为最佳上样液浓度。

表 2 动态吸附中大孔树脂对黄酮吸附率、解析率及纯化效果

Table 2 Adsorption rate, desorption rate and purification effect of macroporous resin in dynamic adsorption

树脂类型	上柱前黄酮纯度	上柱后黄酮纯度	吸附率	解析率
AB-8	14.16±0.31	43.27±0.31	79.52±0.28	86.19±0.23
ADS-7	14.16±0.31	35.60±0.16	91.05±0.32	48.62±0.36
D101	14.16±0.31	49.55±0.27	81.13±0.24	77.35±0.27
D3520	14.16±0.31	31.51±0.33	67.97±0.29	63.52±0.31
NKA-II	14.16±0.31	54.26±0.36	89.37±0.31	90.16±0.33
X-5	14.16±0.31	29.59±0.32	75.38±0.19	81.65±0.25

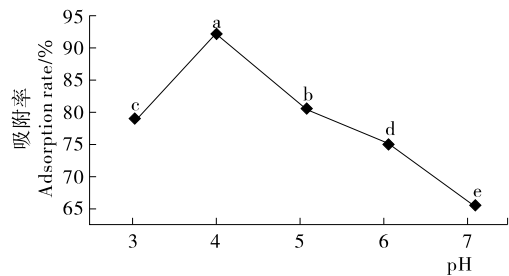


不同字母表示组间差异显著

图 1 上样液浓度对黄酮吸附率的影响

Figure 1 Effect of different sample solution concentration on the adsorption rate of flavonoids

2.3.2 上样液 pH 值 由图 2 可知,样品溶液在 pH 3.04~4.01 时,随着 pH 值的增大,黄酮的吸附率增大;在 pH 4.01 时黄酮吸附率达到峰值,为(92.5±0.22)%;在 pH 4.01~7.09 时,黄酮吸附率随着 pH 值的增大而减小。根据李淑珍等^[22]的研究,一般情况下,酸性化合物在酸性条件下更容易被吸附,碱性化合物在碱性条件下更容易被吸附,而黄酮类化合物具有酚羟基结构,呈现一定的酸性,它在弱酸条件下以分子状态存在,可以凭借范德华力和树脂发生吸附作用,但溶液酸性太强时会有少量沉淀析出,因此确定最佳 pH 值为 4.01。



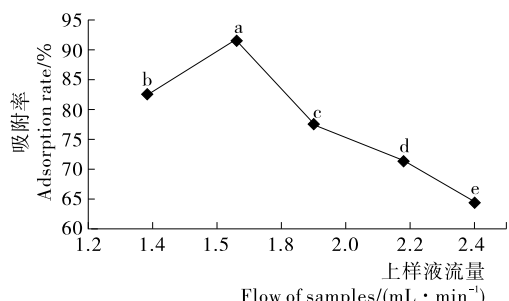
不同字母表示组间差异显著

图 2 上样液 pH 对黄酮吸附率的影响

Figure 2 Effect of different sample solution pH on the adsorption rate of flavonoids

2.3.3 上样液流速 由图 3 可知,上样液流速在 1.38~1.66 mL/min 时,随着流速的增大,黄酮的吸附率增大;当流速为 1.66 mL/min 时,黄酮吸附率达到最大值,为(91.59±0.35)%;当流速在 1.66~2.4 mL/min 时,随着流速的增大,黄酮吸附率减小。赵玉芬等^[23]研究表明,流速过低时溶液与树脂的接触时间虽长,但也会提高解吸率,适当增大流速可使吸附率提高,而流速过高时溶液与树脂的接触时间太短,有效成分不能完全吸附在树脂上,从而导致黄酮的泄漏量增加,吸附率降低。因此确定 1.66 mL/min 为最佳上样流速。

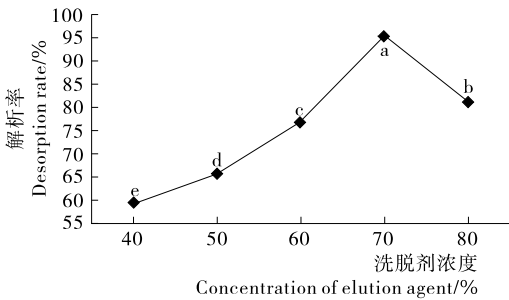
2.3.4 洗脱剂浓度 由图 4 可知,当乙醇体积分数为 40%~70% 时,随乙醇体积分数的增大解析率增大;当乙醇体积分数为 70% 时,解吸率达到最大值,为(95.46±0.26)%;当乙醇体积分数为 70%~80% 时,随乙醇体积分数的增大解吸率下降。乙醇体积分数过低时,解吸量较低,不能将吸附的黄酮完全解吸,当乙醇体积分数为 70% 时解吸率最高,根据相似相溶原理可能是梓树根皮中黄酮的极性和 70% 乙醇极性



不同字母表示组间差异显著

图 3 上样液流速对黄酮吸附率的影响

Figure 3 Effect of different sample liquid flow rate on the adsorption rate of flavonoids



不同字母表示组间差异显著

图 4 洗脱剂浓度对黄酮解析率的影响

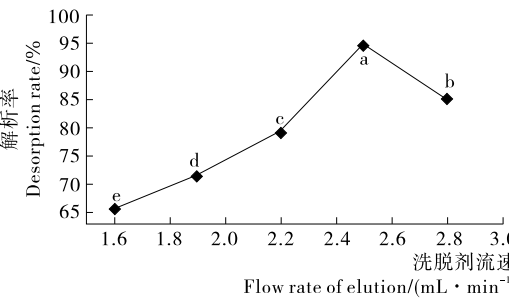
Figure 4 Effect of ethanol concentration on resin desorption rate

相似^[24],因此选择乙醇体积分数为 70%。

2.3.5 洗脱剂流速 由图 5 可知,流速在 1.6~2.5 mL/min 时,黄酮解析率逐渐增大;流速为 2.5 mL/min 时,黄酮的解析率达到最高。可能是较低流速下洗脱剂能较充分地进入树脂空隙中将吸附在树脂表面上的黄酮溶解洗脱下来,而过高的流速使得洗脱剂尚未充分进入树脂空隙中就流出了树脂柱,造成黄酮类化合物未能被充分解吸^[25]。因此选择洗脱液流速为 2.5 mL/min。

2.4 NKA-II 大孔树脂最佳条件分离纯化梓树根皮总黄酮

NKA-II 大孔树脂在最优条件下对总黄酮进行动态吸附 3 次,平均吸附率为(93.36±0.25)%,解析率为(95.51±0.17)%,总黄酮纯度为(77.43±0.23)%。标准品、梓树根皮总黄酮上柱前以及二次纯化后 HPLC 图见图 6~8。由



不同字母表示组间差异显著

图 5 洗脱剂流速对黄酮解吸率的影响

Figure 5 Effect of different elution flow rate on the desorption rate of flavonoids

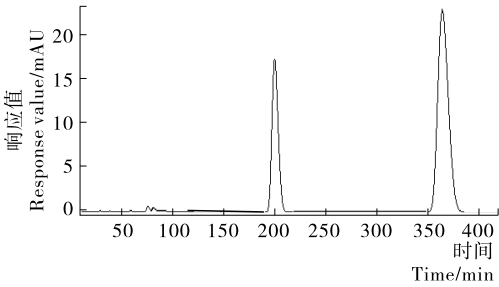


图 6 槲皮素和山奈酚标准品的 HPLC 图谱

Figure 6 The High Performance Liquid Chromatography of quercetin and kaempferol standard

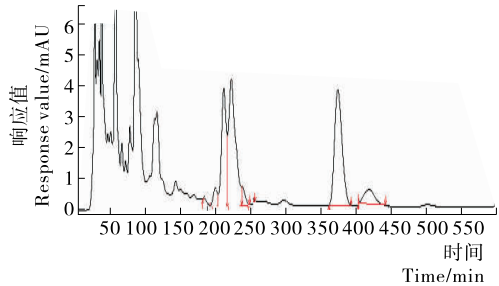


图 7 上柱前样品的 HPLC 图谱

Figure 7 High Performance Liquid Chromatography spectra of pre column samples

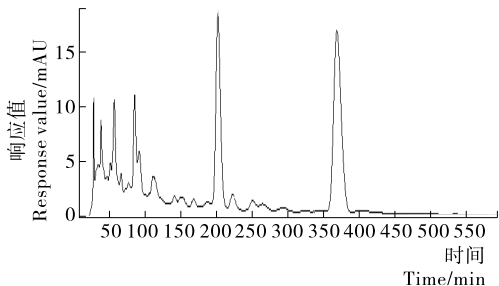


图 8 二次纯化后样品的 HPLC 图谱

Figure 8 High Performance Liquid Chromatography map of two purified samples

图 6~8 可知,大孔树脂纯化效果明显。

2.5 硅胶柱纯化后梓树根皮总黄酮抗菌试验

抑菌能力的强弱可以用抑菌圈直径大小表示,抑菌能力越强直径越大。以硅胶柱纯化后梓树根皮总黄酮进行抑菌试验,浓度为(8.25±0.15) mg/mL。由表 3 可知,其对金黄色葡萄球菌的抑菌能力最强,枯草芽孢杆菌、大肠杆菌、酿酒酵母、青霉菌次之。根据药敏试验判定标准,直径 20 mm 以上为极敏;15~20 mm 为高敏;10~14 mm 为中敏;10 mm 以下为低敏;0 mm 为不敏^[26]。梓树根皮总黄酮对细菌抑菌作用属于极度敏感,对真菌属于高度敏感。其对各供试菌种的 MIC 进行测定,金黄色葡萄球菌的 MIC 值最低,为(6.25±0.25) mg/mL;枯草芽孢杆菌、大肠杆菌 MIC 值为(12.50±0.36) mg/mL;酿酒酵母、青霉菌 MIC 值为(25.00±0.27) mg/mL。

表 3 梓树根皮总黄酮抑菌圈直径以及 MIC			
Table 3 Antibacterial activity of total flavonoids from <i>Catalpa</i> tree roots in vitro			
菌种	样品抑菌圈直径/mm	对照品抑菌圈直径/mm	样品 MIC/(mg·mL ⁻¹)
大肠杆菌	21.00±0.32	8.30±0.25	12.50±0.15
金黄色葡萄球菌	29.00±0.22	9.80±0.34	6.25±0.25
枯草芽孢杆菌	25.00±0.31	9.10±0.26	12.50±0.36
青霉菌	15.00±0.19	7.90±0.29	25.00±0.28
酿酒酵母	18.00±0.33	8.40±0.31	25.00±0.27

3 结论

本试验以吸附率和解吸率为评价指标,用大孔树脂对梓树根皮总黄酮的分离纯化工艺进行优化,并对纯化后梓树根皮总黄酮的抑菌活性进行研究。结果表明,梓树根皮总黄酮分离纯化最佳工艺条件为 NKA-II 树脂,上样液质量浓度 0.538 mg/mL,上样液流速 1.66 mL/min,上样液 pH 值 4.01,洗脱剂乙醇的浓度 70%,洗脱流速 2.5 mL/min。此条件下,梓树根皮总黄酮纯度为(77.43±0.23)%,吸附率为(93.36±0.25)%,解析率为(95.51±0.17)%。梓树根皮总黄酮对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌抑菌作用为极敏,对青霉菌、酿酒酵母菌抑菌作用为高敏;金黄色葡萄球菌的 MIC 值为(6.25±0.25) mg/mL;枯草芽孢杆菌、大肠杆菌 MIC 值为(12.50±0.36) mg/mL;酿酒酵母、青霉菌, MIC 值为(25.00±0.27) mg/mL。

本研究结果表明,梓树根皮总黄酮对细菌、真菌都有较好的抑菌作用,后续可对其结构、活性作用方式、构效关系、作用机制等进行研究,以更好地为天然抗菌药物的研发提供理论依据。

参考文献

[1] 新疆维吾尔自治区革命委员会卫生局. 新疆中草药[M]. 乌鲁木齐: 新疆人民出版社,1975: 318.

[2] 王奇志, 梁敬钰. 梓属植物化学成分研究进展[J]. 中草药, 2003, 34(27): 2-4.

[3] AN S J, PAE H O, OH G S, et al. Inhibition of TNF- α , IL- β , and IL-6 productions and NF-kB activation in lipopolysaccharide-activated RAW macrophages by catalposide, an iridoid glycoside isolated from *Catalpa ovata* G. Don (Bignoniaceae) [J]. Interne-tional Immunopharmacology, 2002(2): 1 173-1 181.

[4] PAE H O, OH G S, CHOU B M, et al. Inhibitory effects of the stern bark of *Catalpa ovata* G. Don. (Bignoniaceae) on the pro-ductions of tumor necrosis factor- α and nitric oxide by the lipop-olisaccharide-stimulated RAW macrophages[J]. Journal of Eth-nopharmacology, 2003(88): 287-291.

[5] 陈龙, 景丹龙, 王军辉. 6 个不同种源梓树叶片的总酚含量和抗氧化性能的比较[J]. 西北林学院学报, 2015, 30(6): 222-226.

[6] 邵金华, 李军艳, 刘欢, 等. 梓树根皮有效成分的初步研究[J]. 湖南科技学院学报, 2014, 35(10): 46-49.

(下转第 220 页)

信息窗

食品安全新规出台！“鲜榨”“现榨”等字样不能乱标

虚假标注“酿造”“纯粮”“固态发酵”“鲜榨”“现榨”等字样,属于食品标签、说明书欺诈;同时,利用网络等社交平台,编造、传播虚假食品安全信息将被列为食品安全欺诈行为,并被移交公安机关依法处理。近日,国家食品药品监督管理总局发布了《食品安全欺诈行为查处办法(征求意见稿)》(以下简称《办法》)。

“鲜榨”“现榨”等字样属于欺诈

《办法》规定,有下列情形之一的,属于产品欺诈:用非食品原料、超过保质期的食品原料、回收食品作为原料生产食品;在食品中添加食品添加剂以外的化学物质和其他可能危害人体健康物质;使用病死、毒死或者死因不明及其他非食用用途的禽、畜、兽、水产动物肉类加工食品;生产营养成分不符合食品安全标准的专供婴幼儿和其他特定人群的主辅食品;其他生产经营掺假掺杂、以假充真、以次充好的食品以及以不合格食品冒充合格食品。

《办法》还规定,虚假标注无公害食品、有机食品、绿色食品等标志,虚假标注“酿造”“纯粮”“固态发酵”“鲜榨”“现榨”等字样,属于食品标签、说明书欺诈。申请保健食品、特殊医学用途配方食品、婴幼儿配方乳粉产品配方注册时,提供虚假信息、数据、材料和样品等情形,则属于食

品生产经营许可申请欺诈。

个人传播虚假食品安全信息将追责

近几年,利用互联网和社交平台传播食品安全虚假信息的情况屡见不鲜。在征求意见稿中,单位和个人利用网络、媒体、移动社交平台等载体,编造、散布、传播虚假食品安全信息也被纳入食品欺诈范围之内,并明确指出,单位和个人编造、散布、传播虚假食品安全信息,构成违反治安管理行为的,应当移交公安机关依法处理。

征求意见稿特别指出,违反“食品宣传欺诈”规定,由县级以上食品药品监督管理部门给予警告,并处1万元以上3万元以下罚款,并对其法定代表人、主要负责人、直接负责的主管人员和其他直接责任人员处5千元以上1万元以下罚款。

与此同时,媒体或者媒体从业人员存在虚假新闻欺诈行为的,也将依法处理,并向社会公告。

中国政法大学传播法研究中心副主任朱巍表示,征求意见稿最大的亮点在于保障了消费者的知情权。上述欺诈行为是这几年来互联网行业中存在的共同现象。与其说这是一个新规,不如说是把已有新规在食品安全领域的强化。

(来源:www.foodmate.net)

(上接第 144 页)

[7] 张静, 张晓鸣, 佟建明, 等. 金属络合法纯化银杏黄酮的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2010, 22(5): 751-754, 756.

[8] 陈丛瑾, 屈丽娟, 陈东. 双水相萃取法分离纯化黄酮类化合物的研究进展[J]. 应用化工, 2010, 39(10): 1 587-1 590.

[9] 陈丛瑾. 柱色谱法分离纯化黄酮类化合物研究进展[J]. 西北药学杂志, 2011, 26(2): 150-153.

[10] CHEN Ming-lei, HU Wei, ZHANG Chao, et al. High performance liquid chromatography for the determination of flavonoids[J]. Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences, 2011 (20): 313-324.

[11] 许浮萍, 梁志家, 田娟娟. 应用膜分离结合醇沉法纯化大豆异黄酮[J]. 食品科学, 2009, 30(16): 78-82.

[12] 李升锋, 徐玉娟, 陈智毅, 等. 微乳薄层层析法分离桑叶中的黄酮类化合物[J]. 食品科学, 2008, 29(6): 87-89.

[13] 钟方丽, 王晓林, 王志敏, 等. 大孔吸附树脂纯化玉竹总黄酮工艺研究[J]. 食品与机械, 2013, 29(1): 131-134.

[14] 罗艳玲, 欧仕益. 大孔树脂在食品活性成分分离中的应用[J]. 食品与机械, 2005, 21(5): 81-83.

[15] 迟晓喆, 曹光群. 桑叶总黄酮的提取及其抑菌活性研究[J]. 林产化学与工业, 2012, 32(2): 163-166.

[16] 陈乃东, 周守标, 罗琦, 等. 不同提取剂对春花胡枝子黄酮含

量及抑菌活性影响的研[J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(2): 193-196.

[17] 李国章, 于华忠, 卜晓英, 等. 桑椹籽中黄酮的 CO₂ 超临界流体萃取及抑菌作用研究[J]. 现代食品科技, 2006, 22(2): 86-88.

[18] 任萍, 王齐伟, 武彩露, 等. 大孔吸附树脂对罗布麻叶中总黄酮的纯化研究[J]. 离子交换与吸附, 2016, 32(2): 141-153

[19] 萨茹丽, 木其尔, 王翠芳, 等. 沙葱总黄酮提取工艺优化及其体外抗氧化、抗菌作用[J]. 食品科学, 2014, 35(24): 1-8.

[20] 张婷婷, 郭夏丽, 黄学勇, 等. 辛夷挥发油 GC-MS 分析及其抗氧化、抗菌活性[J]. 食品科学, 2016, 37(10): 144-150.

[21] 王国军, 唐辉, 张淑兰, 等. 大孔树脂纯化核桃隔膜总黄酮的工艺研究[J]. 中草药, 2013, 44(19): 2 688-2 692.

[22] 李淑珍, 李进, 杨志江, 等. 大孔树脂分离纯化黑果枸杞总黄酮的研究[J]. 食品科学, 2009, 30(1): 19-24.

[23] 赵玉芬, 李佩艳, 郑小林, 等. 大孔树脂对红薯叶总黄酮的吸附及解吸特性研究[J]. 生物技术进展, 2013, 6(3): 433-438.

[24] 陈丽娜, 吴琼, 高长城. 大孔树脂分离纯化沙棘籽及果皮渣黄酮的工艺研究[J]. 农业机械, 2012(6): 146-148.

[25] 董江涛, 李燕, 徐慧强, 等. 大孔树脂纯化柿叶总黄酮的工艺研究[J]. 湖南农业科学, 2010(11): 85-89.

[26] 李国旺, 苗志国, 赵恒章. 大黄的体外抑菌实验[J]. 光谱实验室, 2011, 28(1): 66-68.