

[11] Wang R S, Zuo M, Ding S H, *et al.* Recovery of immune activity by administration of polysaccharides of *Toona sinensis* and its characterization of major component[J]. *Nat Prod Res*, 2020, 35(23): 1-5.

[12] Wang X L, Zhang Y F, Liu Z K, *et al.* Purification, characterization, and antioxidant activity of polysaccharides isolated from *Cortex Periplocae* [J]. *Molecules*, 2017, 22(11): 1866.

[13] Yang R, Meng D M, Song Y, *et al.* Simultaneous decoloration and deproteinization of crude polysaccharide from pumpkin residues by cross-linked polystyrene macroporous resin [J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(34): 8450-8456.

[14] Shi Y, Liu T, Han Y, *et al.* An efficient method for decoloration of polysaccharides from the sprouts of *Toona sinensis* (A. Juss.) Roem by anion exchange macroporous resins[J]. *Food Chem*, 2017, 217: 461-468.

[15] 敖 珍, 覃发玠, 罗迎春, 等. 红托竹荪菌托多糖中试提取工艺及抗氧化活性[J]. 中国调味品, 2022, 47(10): 179-183.

[16] 曾 杰, 房海灵, 梁呈元, 等. 无花果粗多糖脱色工艺优化及其吸附性能研究[J]. 中成药, 2022, 44(2): 537-542.

[17] 胡会刚, 赵巧丽, 庞振才. 菠萝皮渣多糖脱蛋白脱色方法研究及其抗氧化活性[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(24): 12-20.

[18] 马 铭, 白瑞斌, 刘景龙, 等. 3 种党参提取物抗氧化活性探究[J]. 中成药, 2020, 42(9): 2514-2517.

[19] 李国峰, 陈海芳, 郎一帆, 等. 诃子总黄酮提取工艺的优化及其体外生物活性研究[J]. 中成药, 2021, 43(11): 2945-2951.

[20] 李 伟, 叶嘉宜, 陈运娇, 等. 桉叶多酚提取物体内外抗氧化活性评价[J]. 食品科学, 2021, 42(5): 160-168.

[21] 王余宸铭, 黄快乐, 黄留瑶, 等. 蝉花孢梗束多糖的抗氧化及对环磷酰胺致肝损伤小鼠的保护作用[J]. 食品工业科技, 2019, 40(24): 45-50.

掌叶大黄地上茎提取工艺优化及其抑菌作用研究

仲楠, 魏家艳, 张国玉, 熊继东, 强宇靖, 李芸*
(甘肃中医药大学药产业创新研究院, 西北中藏药省部共建协同创新中心, 甘肃兰州 730000)

摘要: **目的** 优化掌叶大黄地上茎提取工艺, 并考察其抑菌活性。**方法** 在单因素试验基础上, 以乙醇体积分数、料液比、提取时间为影响因素, 总有机酸含量和出膏率的综合评分为评价指标, Box-Behnken 响应面法优化提取工艺。采用打孔法评价提取物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、变形杆菌、白色念珠菌、铜绿假单胞菌的抑制效果。**结果** 最佳条件为乙醇体积分数 80%, 提取时间 1 h, 料液比 1: 12, 综合评分为 78.57 分。提取物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、变形杆菌、白色念珠菌、铜绿假单胞菌的 MIC 值分别为 1 000、125、250、1 000、250 mg/mL。**结论** 该方法稳定可靠, 可用于提取掌叶大黄地上茎。该部位提取物对 5 种常见致病菌均有抑制活性, 其中对金黄色葡萄球菌的作用最强。

关键词: 掌叶大黄地上茎; 提取工艺; 抑菌作用; Box-Behnken 响应面法; 打孔法

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2024)12-4121-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2024.12.036

礼县掌叶大黄种植面积达 3 万亩, 产量巨大。大黄传统药用部位为根及根茎, 为了促进地下药用部位的生长, 需每年专门组织大量人工去摘除幼嫩的茎 (占大黄总资源 1/2 以上), 并进行废弃或焚烧, 导致其未得到有效利用, 造成资源的极大浪费和环境的严重污染^[1]。古籍记载及产

区调研发现, 大黄地上茎既可食用也可药用, 口感酸爽^[2]。《四部医典》^[3] 和《妙音本草》记载, 四川、西藏、甘肃、青海人民食用大黄地上部分的基生叶柄和幼嫩茎叶可用于解渴、除翳、治培根病等^[4-5]; 现代研究表明, 大黄非药用部位主要含有有机酸、蒽醌、黄酮等成分, 有着泻下、

收稿日期: 2023-08-29
基金项目: 甘肃省科技计划 (重点研发计划) 项目 (21YF5FA132)
作者简介: 仲楠 (1997—), 女, 硕士生, 从事中药炮制、制剂工艺研究。Tel: 17393107914, E-mail: zn766685158@163.com
*通信作者: 李芸 (1973—), 女, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药化学成分分离分析、中药加工炮制工艺研究及中药大健康产品开发工作。Tel: 13893362959, E-mail: liyunherb@163.com
网络出版日期: 2023-12-27
网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20231226.1710.012.html>.

抗氧化、降血脂等药理作用。目前，有关掌叶大地上茎利用的报道较少，而且尚未涉及提取工艺及抑菌作用。因此，本实验采用 Box-Behnken 响应面法对该部位提取工艺进行优化，并探索其抑菌作用，以期对相关资源充分利用和深度开发提供参考。

1 材料

1.1 试剂、药物与菌种 掌叶大地上茎购自甘肃省陇南市礼县，经甘肃中医药大学附属医院杨锡仓主任中药师鉴定为蓼科植物掌叶大黄 *Rheum palmatum* L. 的地上茎。氢氧化钠（批号 20220504，天津市大茂化学试剂厂）；酚酞（批号 20220606，上海中秦化学试剂有限公司）；邻苯二甲酸氢钾（批号 20220507，烟台市双双化工有限公司）；MH 琼脂培养基（MHA）（批号 1086721）、沙氏葡萄糖琼脂培养基（SDA）（批号 1090021）、LB 肉汤培养基（LB）（批号 1081481）（广东环凯微生物科技有限公司）；硫酸链霉素（批号 1119K051）、酮康唑（批号 420A054）均购自北京索莱宝科技有限公司。大肠杆菌（ATCC25922）、金黄色葡萄球菌（ATCC29213）、变形杆菌（ATCC49132）、白色念珠菌（CICC32819）、铜绿假单胞菌（ATCC27318）均由中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所提供。

1.2 仪器 DHG-9070A 型电热恒温鼓风干燥箱（上海齐欣科学仪器有限公司）；DZKW-S-6 型数显恒温水浴锅（常州市国旺仪器制造有限公司）；N-1210B 型旋转蒸发仪（上海爱朗仪器有限公司）；SB4200D 型超声波清洗器（宁波新芝生物科技股份有限公司）；JA3003N 型电子天平（1 mg，上海佑科仪器仪表有限公司）；JJ124BC 型电子天平（0.1 mg，江苏常熟市双杰测试仪器厂）；800Y 型小型粉碎机（永康市铂欧五金制品有限公司）；LDZF-50L 型立式高压蒸汽灭菌器（上海申安医疗器械厂）；Blue Pard 型隔水式培养箱（上海一恒科学仪器有限公司）；AlphaClean 1300 型超净工作台〔力康精密科技（上海）有限公司〕；DensiCHEK plus 型比浊仪（法国 Biomerieux 公司）；数显游标卡尺（0~150 mm，东阳市君德志工具有限公司）。

2 方法

2.1 总酸含量测定 采用国家标准^[6]测定，按文献〔7〕报道的方法进行标定，并计算氢氧化钠标准滴定溶液浓度。

2.2 出膏率测定 精密量取滤液 25 mL，置已干燥至恒重的蒸发皿（W₁）中，水浴蒸干后在 105 ℃下干燥 3 h，置于干燥器中冷却 30 min，迅速精密称定质量（W₂），计算出膏率，公式为出膏率 = [（W₁-W₂）×V] / （25×取样量）×100%，其中 V 为提取液体积。

2.3 提取方法考察 参考文献〔8〕报道。

2.3.1 冷浸提取 将干燥药材粉碎，过 2 号筛，精密称取粉末 5 g，按料液比 1：10 加入 95% 乙醇，冷浸提取 24 h，提取液减压抽滤，滤液定容至 100 mL，精密量取滤液 25 mL，计算出膏率和总酸含量。

2.3.2 加热回流提取 将干燥药材粉碎，过 2 号筛，精密称取粉末 5 g，按料液比 1：10 加入 95% 乙醇，加热回流提

取 1 h，共 2 次，提取液减压抽滤，合并滤液，定容至 100 mL，精密量取滤液 25 mL，计算出膏率和总酸含量。

2.3.3 超声提取 将干燥药材粉碎，过 2 号筛，精密称取粉末 5 g，按料液比 1：10 加入 95% 乙醇，超声提取 30 min，共 2 次，提取液减压抽滤，合并滤液，定容至 100 mL，精密量取滤液 25 mL，计算出膏率和总酸含量。

2.4 单因素试验

2.4.1 乙醇体积分数 精密称取粉末 5 g，分别以 35%、50%、65%、80%、95% 乙醇为提取溶剂，按液料比 1：10 加热回流提取 1 h，共 2 次，提取液减压抽滤，合并滤液，定容至 100 mL，精密量取滤液 25 mL，计算出膏率和总酸含量。

2.4.2 提取时间 精密称取粉末 5 g，以 65% 乙醇为提取溶剂，按液料比 1：10 分别加热回流提取 0.5、1、1.5、2、2.5 h，共 2 次，提取液减压抽滤，合并滤液，定容至 100 mL，精密量取滤液 25 mL，计算出膏率和总酸含量。

2.4.3 料液比 精密称取粉末 5 g，以 65% 乙醇为提取溶剂，分别按液料比 1：6、1：8、1：10、1：12、1：14 加热回流提取 1 h，共 2 次，提取液减压抽滤，合并滤液，定容至 100 mL，精密量取滤液 25 mL，计算出膏率和总酸含量。

2.5 Box-Behnken 响应面法 在单因素试验基础上，以乙醇体积分数（A）、提取时间（B）、料液比（C）为影响因素，总酸含量、出膏率的综合评分（M）为评价指标，设计三因素三水平共 17 组试验，因素水平见表 1。

表 1 Box-Behnken 响应面法因素水平

因素	水平		
	-1	0	1
A 乙醇体积分数/%	65	80	95
B 提取时间/h	0.5	1	1.5
C 料液比	1：8	1：10	1：12

2.6 熵权法 按文献〔9-11〕报道的方法计算，对数据 X_{ij}根据式（1）进行归一化处理，得到归一化数据 X'_{ij}，根据式（2）得到标准化数据 p_{ij}，根据式（3）计算第 j 个指标的信息熵 H_j，根据式（4）转化为熵权 W_j，最后根据式（5）得到综合评分。

$$X'_{ij} = \frac{X_{ij} - \min(X_i)}{\max(X_i) - \min(X_i)}$$

(1)

$$p_{ij} = \frac{X'_{ij}}{\sum_{i=1}^m X'_{ij}} (i = 1, 2, \cdots, m; j = 1, 2)$$

(2)

$$H_j = -k \sum_{i=1}^m P_{ij} \ln(P_{ij}), k = \frac{1}{\ln(m)}$$

(3)

$$W_j = \frac{(1 - H_j)}{\sum_{j=1}^n (1 - H_j)}$$

(4)

$$M_i = \sum_{j=1}^n W_j X'_{ij}$$

(5)

其中，X_{ij}表示第 i 次试验时第 j 个评价指标的提取量值，min（X_i）为第 j 个评价指标的提取量最小值，max

(X_i) 为第 j 个评价指标的提取量最大值, X'_{ij} 表示第 i 次试验时第 j 个评价指标的归一化值, p_{ij} 表示第 i 次试验时第 j 个评价指标的标准化值, H_j 表示第 j 个评价指标的信息熵值, W_j 表示第 j 个评价指标的熵权值, M_i 表示第 i 个样本的综合得分。

2.7 抑菌作用研究

2.7.1 提取物制备 取药材粉末适量, 按料液比 1 : 12 加入 80% 乙醇, 加热回流提取 1 h, 共 2 次, 提取液减压抽滤后得到滤液, 合并滤液, 减压回收乙醇, 并浓缩至稠膏, 干燥, 即得。

2.7.2 药液制备 取药材粉末 6 g, 生理盐水充分溶解, 制成生药量为 1 g/mL 的药液, 再用生理盐水依次稀释至 1、0.5、0.25、0.125、0.062 5 g/mL。

2.7.3 液体培养基制备 称取 LB 肉汤 7 g, 加入去离子水 300 mL, 分装于三角瓶中, 在 121 ℃ 下高压灭菌 15 min, 冷却至 80 ℃ 左右, 取出三角瓶, 分装于 5 个离心管中, 冷却至室温, 将大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、变形杆菌、白色念珠菌、铜绿假单胞菌样本复苏后分别接种于液体培养基上, 置于 37 ℃ 隔水式培养箱中培养 12~24 h。

2.7.4 固体培养基制备

2.7.4.1 MH 琼脂培养基 称取 MH 琼脂培养基 38 g, 加入去离子水 1 L, 搅拌加热煮沸至完全溶解, 分装于 1 000 mL 三角瓶中, 在 121 ℃ 下高压灭菌 15 min, 冷却至 80 ℃, 倾注等体积培养基至灭菌培养皿 (高度约 5 mm) 中备用。

2.7.4.2 沙氏葡萄糖琼脂培养基 称取沙氏葡萄糖琼脂培养基 32.5 g, 溶于 500 mL 去离子水中, 搅拌加热煮沸至完全溶解, 分装于 500 mL 三角瓶中, 121 ℃ 高压灭菌 15 min, 冷却至 80 ℃, 倾注等体积培养基至灭菌培养皿 (高度约 5 mm) 中备用。

2.7.5 菌悬液制备 吸取液体培养基 2 mL 至比浊管中, 再吸取生长在液体培养基上的菌落 100~400 μL 加入其中, 在麦氏比浊仪上调节菌液浓度, 多次稀释测量浊度至吸光度达到 0.5, 再吸取 50 μL 菌液至离心管中, 加入 5 mL 生理盐水, 使菌悬液浓度为 1.5×10^8 CFU/mL。

2.7.6 最小抑菌浓度 (MIC) 测定 采用打孔法^[12] 在含菌培养基上打出 3 个直径为 5 mm 的圆孔, 分别注射 100 μL 各浓度药液, 重复 3 次, 以硫酸链霉素溶液 (128、64、32 μg/mL)、酮康唑溶液 (128、64、32 μg/mL) 为阳性对照, 生理盐水为空白对照, 将培养皿置于 37 ℃ 隔水式培养箱中培养 24 h, 完全没有细菌生长的孔所对应的最低药物浓度即为 MIC。再用游标卡尺测量抑菌圈直径, 判定标准^[13] 为抑菌圈直径 ≥ 20 mm, 极度敏感; $15 \text{ mm} \leq$ 抑菌圈直径 < 20 mm, 高度敏感; $10 \text{ mm} \leq$ 抑菌圈直径 < 15 mm, 中度敏感; 抑菌圈直径 < 10 mm, 低度敏感。

3 结果

3.1 总酸含量 通过标定后, 氢氧化钠浓度为 0.132 2 mol/L, 即为总酸含量。

3.2 单因素试验

3.2.1 提取方法 由图 1 可知, 加热回流提取时提取量最大, 而冷浸提取、超声提取时提取量较小, 故最终确定为加热回流提取。

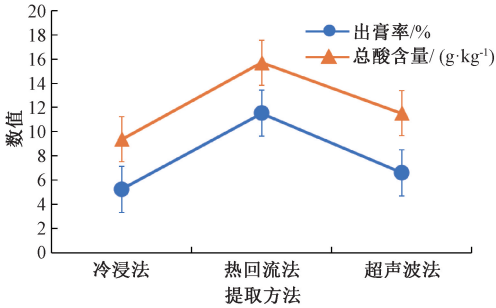


图 1 提取方法对掌叶大地上茎提取量的影响

3.2.2 提取溶剂 由图 2 可知, 随着乙醇体积分数增加总酸含量呈先降后升的趋势, 在 80% 时最高; 出膏率呈先升后降的趋势, 在 65%~80% 之间降低程度较小, 考虑实际生产效率, 最终确定为 80% 乙醇。

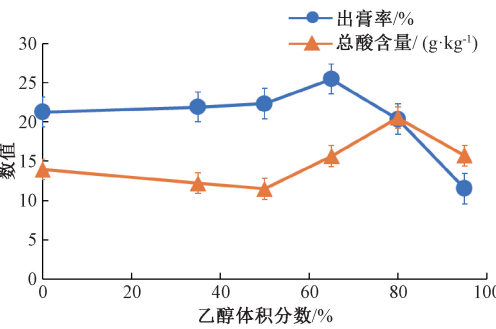


图 2 提取溶剂对掌叶大地上茎提取量的影响

3.2.3 提取时间 由图 3 可知, 随着提取时间延长总酸含量呈先升后降的趋势, 在 1 h 时最高; 出膏率呈先降后升的趋势, 但总体相差不大, 考虑实际生产效率, 最终确定为 1 h。

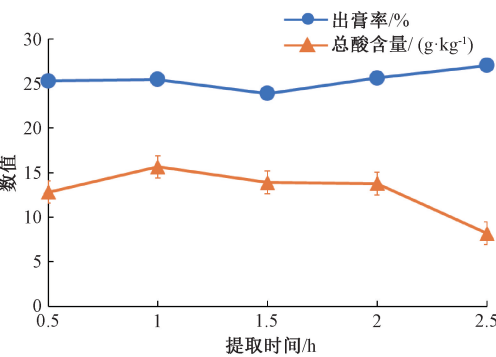


图 3 提取时间对掌叶大地上茎提取量的影响

3.2.4 料液比 由图 4 可知, 随着料液比增加总酸含量呈先升后降的趋势, 在 1 : 10 时最高; 出膏率呈升高趋势, 在 1 : 10 后趋于平缓, 考虑实际生产效率, 最终确定为 1 : 10。

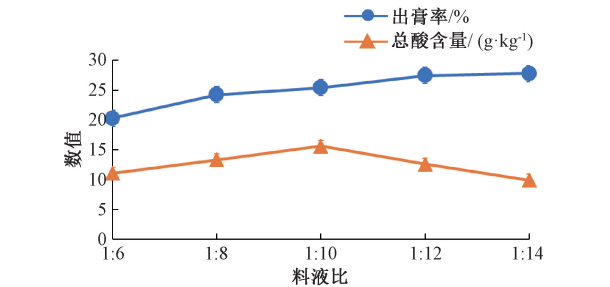


图 4 料液比对掌叶大黄地上茎提取量的影响

3.3 Box-Behnken 响应面法 设定出膏率、总酸含量权重值分别为 0.485 2、0.514 8，计算综合评分 M ，结果见表 3。

表 3 Box-Behnken 响应面法设计与结果

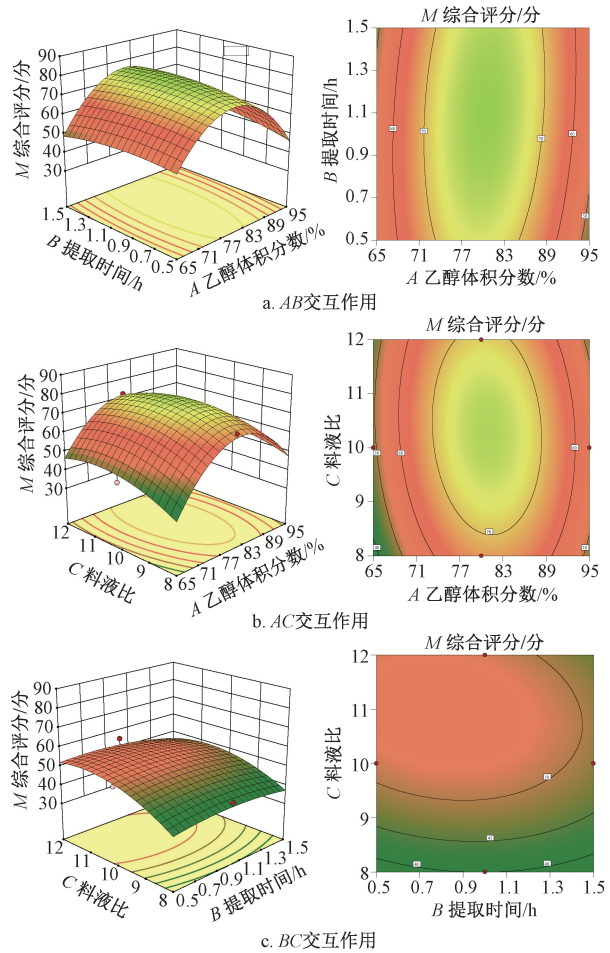
试验号	A	B	C	出膏率/%	总酸含量/ (g·kg ⁻¹)	M 综合 评分/分
1	-1	-1	0	24.15	6.46	50.11
2	1	-1	0	12.45	19.05	50.21
3	-1	1	0	23.80	5.05	44.55
4	1	1	0	15.84	17.18	55.71
5	-1	0	-1	23.51	4.53	41.97
6	1	0	-1	10.95	17.90	41.62
7	-1	0	1	25.47	6.72	55.33
8	1	0	1	11.52	18.61	45.73
9	0	-1	-1	17.00	17.70	61.21
10	0	1	-1	19.16	17.87	68.96
11	0	-1	1	19.81	17.42	69.73
12	0	1	1	22.97	14.80	72.13
13	0	0	0	20.90	21.07	84.73
14	0	0	0	22.47	17.13	77.71
15	0	0	0	20.97	18.10	75.72
16	0	0	0	20.92	18.60	77.09
17	0	0	0	21.02	16.81	71.85

采用 Design-Expert 12.0.3.0 软件，对表 3 数据进行多元二次回归拟合，得方程为 $M = 77.42 + 0.1637A + 1.26B + 3.65C + 2.77AB - 2.31AC - 1.34BC - 24.56A^2 - 2.71B^2 - 6.70C^2$ ($R^2 = 0.9502$)，方差分析见表 4。由此可知，模型 $P < 0.01$ ，具有高度显著性；一次项、交互项均不显著 ($P > 0.05$)；二次项 A^2 、 C^2 有显著影响 ($P < 0.05$)；失拟项 $P > 0.05$ ，表明模型拟合度良好；各因素影响因素依次为 $C > B > A$ 。

响应面分析见图 5。最终确定，最佳条件为乙醇体积分数 80.01%，料液比 1:10.51，提取时间 1.09 h，综合评分为 77.99 分，考虑生产中的实际操作，将其修正为乙醇体积分数 80%，料液比 1:12，提取时间 1 h。

取药材粉末 5 g，按上述优化工艺进行验证试验，结果见表 5。由此可知，平均综合评分与预测值 77.99 分接近（相对误差为 0.74%），表明模型预测效果较好，参数稳定可靠。

3.4 抑菌作用 结果见表 6~7。



注：左图为三维曲线图，右图为等高线图。

图 5 各因素响应面图

表 4 方差分析结果

来源	离均差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	3 071.60	9	341.29	14.84	0.000 9
A	0.214 5	1	0.214 5	0.009 3	0.925 8
B	12.73	1	12.73	0.553 4	0.481 2
C	106.29	1	106.29	4.62	0.068 6
AB	30.58	1	30.58	1.33	0.286 7
AC	21.39	1	21.39	0.930 1	0.367 0
BC	7.16	1	7.16	0.311 1	0.594 4
A ²	2 539.76	1	2 539.76	110.44	<0.000 1
B ²	31.04	1	31.04	1.35	0.283 4
C ²	188.87	1	188.87	8.21	0.024 1
残差	160.98	7	23.00	—	—
失拟项	73.44	3	24.48	1.12	0.440 5
净误差	87.54	4	21.89	—	—
总误差	3 232.58	16	—	—	—

表 5 验证试验结果 (n=3)

试验号	出膏率/%	总酸含量/(g·kg ⁻¹)	综合评分/分
1	21.10	19.10	79.00
2	21.09	19.30	79.57
3	21.07	18.52	77.15
平均值	21.09	18.97	78.57
RSD/%	0	0.02	0.02

表 6 掌叶大黃地上莖提取物抑菌圈直径测定结果

样品	质量浓度/(mg·mL ⁻¹)	抑菌圈直径/mm				
		大肠杆菌	变形杆菌	金黄色葡萄球菌	白色念珠菌	铜绿假单胞菌
掌叶大黃地上莖提取物	1 000	11. 17	11. 79	13. 11	8. 24	11. 14
	500	—	8. 00	10. 73	—	8. 18
	250	—	6. 94	8. 85	—	6. 17
	125	—	—	7. 79	—	—
	62. 5	—	—	—	—	—
阳性对照 硫酸链霉素	0. 128	16. 70	15. 00	7. 12	—	9. 62
	0. 064	12. 77	10. 59	—	—	7. 46
	0. 032	12. 37	9. 50	—	—	—
	0. 128	—	—	—	26. 46	—
	0. 064	—	—	—	22. 91	—
酮康唑	0. 032	—	—	—	18. 22	—
	—	—	—	—	—	—

注：—表示无抑菌圈。

表 7 掌叶大黃地上莖提取物 MIC 测定结果

样品	MIC/(mg·mL ⁻¹)				
	大肠杆菌	变形杆菌	金黄色葡萄球菌	白色念珠菌	铜绿假单胞菌
掌叶大黃地上莖提取物	1 000	250	125	1 000	250
阳性对照 硫酸链霉素	0. 032	0. 032	0. 128	—	0. 064
酮康唑	—	—	—	0. 032	—
空白对照	—	—	—	—	—

注：—表示无抑菌作用。

4 讨论与结论

目前常用于中药组分提取的实验方法主要有均匀设计法、正交设计法、星点设计-效应面法等，其中星点设计-效应面法因其较高的实验精度、直观的因素相互作用分析及较少的试验次数被广泛用于处方优化和工艺研究^[14]。本研究在单因素试验的基础上，采用熵权法结合 Box-Behnken 响应面法得到掌叶大黃地上莖最佳提取工艺为乙醇体积分数 80%，料液比 1：12，提取时间 1 h，实测值与预测值的相对误差较小（0. 74%），表明该提取工艺稳定可行。

《新修本草》^[15]记载“其茎味酸，堪生啖，亦以解热”；课题组前期研究发现大黃茎中含有丰富的有机酸类成分（主要包括苹果酸和琥珀酸等成分）^[16]，有研究表明有机酸是酸味成分的主要呈味物质基础^[17]，具有广泛的抗菌活性^[18]。本研究采用打孔法对不同浓度提取物进行体外抑菌试验，此方法简单、易操作、方便快捷、成本低廉，且重复性好、灵敏度高，抑菌圈清晰规则^[19-21]。抑菌试验结果表明，掌叶大黃地上莖提取物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、白色念珠菌（真菌）、变形杆菌、铜绿假单胞菌等 5 种常见致病菌均具有不同程度的抑制作用，并呈浓度依赖性，且对金黄色葡萄球菌的抑菌效果最好，对大肠杆菌和白色念珠菌、变形杆菌和铜绿假单胞菌的抑菌作用相当。

可知掌叶大黃地上莖对细菌（尤其对金黄色葡萄球菌）和真菌都有一定的抑制作用，可作为天然抑菌剂应用于食品、保健品及口腔产品等行业，开发前景广阔。同时，本研究也存在一定的局限性，未确定掌叶大黃地上莖提取物主要抑菌成分及其抑菌机理，且未评价其体内抑菌作用，后续可进一步深入研究。

参考文献：

[1] 黄 剑,刘卫国,范巧佳,等. 掌叶大黃叶资源的开发与利用[J]. 资源开发与市场, 2004, 20(4): 271-272.

[2] 张文广,王 丹,贾春艳,等. 大黃非药用部位化学成分、药理作用及资源利用研究进展[J]. 中国中医药信息杂志, 2022, 29(9): 139-144.

[3] 宇妥·元丹贡布.四部医典[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1987.

[4] 熊辉岩,张晓峰,谭大风,等. 大黃属三种植物不同部分提取物清除羟基自由基的体外实验研究[J]. 食品科学, 2003, 24(1): 128-130.

[5] 熊辉岩,王振辉,杨淳斌,等. 大黃属植物资源及其地上生物资源的开发利用简述[J]. 青海科技, 2003, 10(5): 29-31.

[6] GB/T 12456-2008, 食品中总酸的测定[S].

[7] 付 强,马 丽,赵壮志,等. 饲料氨基酸检测[J]. 饲料与畜牧, 2013(10): 40-41.

[8] 张丹丹,姜修婷. 乌梅有机酸的提取工艺及其抑菌活性[J]. 生物加工过程, 2018, 16(3): 47-52.

[9] 林建潮. 熵权法确定评价指标权重在 Excel 中的实现[J]. 中国医院统计, 2020, 27(4): 362-364.

[10] 刘路路,李 可,韦智江,等. 基于响应面法和熵权法优化连翘叶中连翘酯苷 A、连翘苷和芦丁提取工艺[J]. 食品工业科技, 2022, 43(2): 166-173.

[11] 雷欣荷,陈 昕,孟 江,等. 熵权法结合星点设计-响应面法优化橘核的盐炙工艺[J]. 中国药房, 2022, 33(2): 165-171.

[12] 刘梦茵, 刘芳, 周涛, 等. 乌梅乙醇提取物抑菌作用及其抑菌成分分析[J]. 食品科学, 2011, 32(17): 190-193.

[13] 晋鹏飞, 张浩然, 王婷婷, 等. 5 种中草药的不同溶剂提取物对嗜水气单胞菌抑菌活性的研究[J]. 水产科技情报, 2022, 49(4): 212-218.

[14] 朱志军, 陈耀升, 张楠楠, 等. 中药有效成(组)分提取试验研究方法及其特点的探讨[J]. 中华中医药学刊, 2014, 32(1): 190-192.

[15] 苏敬. 新修本草[M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1981.

[16] 熊辉岩, 张晓峰. 唐古特大黄叶柄的营养成分分析[J]. 天然产物研究与开发, 2003, 15(6): 515-517.

[17] 曹煌, 张静雅, 龚苏晓, 等. 中药酸味的药性表达及在临证配伍中的应用[J]. 中草药, 2015, 46(24): 3617-3622.

[18] 李曼玲. 抗菌消炎中草药的研究 I 活性成分—有机酸类[J]. 中药通报, 1986(6): 57-60.

[19] 潘晓倩, 成晓瑜, 张顺亮, 等. 不同检测方法在抗菌肽抑菌效果评价的比较研究[J]. 肉类研究, 2014, 28(12): 17-20.

[20] 谭才邓, 朱美娟, 杜淑霞, 等. 抑菌试验中抑菌圈法的比较研究[J]. 食品工业, 2016, 37(11): 122-125.

[21] 田双娥. 三种不同抑菌圈试验法在牛至油抑菌评价中的应用研究[J]. 香料香精化妆品, 2019(1): 37-41.

不同炮制方法对草果挥发油成分的影响

朱新文^{1,2}, 徐东川^{2,3}, 王建刚⁴, 高奇^{2,3}, 王变利^{2,3}, 杨青^{2,3*}, 周倩^{2,3*}
(1. 山东中医药大学药学院, 山东 济南 250355; 2. 山东省中医药研究院, 山东 济南 250014; 3. 传统中医芳疗的现代化研究与开发山东省工程研究中心, 山东 济南 250014; 4. 山东博康中药饮片有限公司, 山东 潍坊 262500)

摘要: **目的** 探讨不同炮制方法对草果挥发油成分的影响。**方法** 分别制备草果仁(直接去壳法和药典法)和姜草果仁, 电子鼻和 GC-MS 法分析其所含挥发油的种类及组成, 主成分分析、正交偏最小二乘法判别分析考察差异性成分。**结果** 在 3 种炮制品中分别鉴定出 87、57、62 种成分。直接去壳法、药典法所得草果仁可明显区分开。2 种方法所得草果仁的差异成分有 5 种(桉油精、橙花醇、反式-2-癸烯醛、4-丙基苯甲醛、 β -柠檬烯), 草果仁(药典法)与姜草果仁的差异性成分有 4 种(2-十五炔-1-醇、乙酸香叶酯、柠檬烯、月桂烯醇)。**结论** 该方法稳定可靠, 可为草果炮制品质量评价和药效物质基础研究提供数据支持。

关键词: 草果; 挥发油; 炮制方法; 化学成分; 电子鼻; GC-MS; 主成分分析; 正交偏最小二乘法判别分析

中图分类号: R283 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2024)12-4126-08

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.12.037

草果为姜科植物草果 *Amomum tsao-ko* Crevost et Lemaire 的干燥成熟果实, 具有燥湿温中、截疟除痰功效, 可用于治疗寒湿内阻、脘腹胀痛、痞满呕吐、疟疾寒热、瘟疫发热等症。该药材主要成分为挥发油, 具有抗炎^[1]、抑菌^[2]、抗氧化^[3]、抗肿瘤、调节肠道菌群^[4]等多种药理作用。

虽然古代本草中草果的炮制方法多有记载, 如《本草蒙筌》《本草从新》等, 但发展至今除了清炒去壳法(草果仁)和姜制法(姜草果仁)外, 其余工艺均已不再广泛应用。草果经炮制后药性和功效会发生变化, 如炒制去壳

收稿日期: 2024-01-02

基金项目: 山东省重点研发计划(2020CXGC010505); 山东省自然科学基金联合基金(ZR2022LZY015); 济南市“新高校 20 条”引进创新团队项目(20228026, 202333089)

作者简介: 朱新文(1996—), 男, 硕士, 研究方向为中药炮制学。Tel: 17864183499, E-mail: xw251812@163.com

*通信作者: 杨青(1980—), 女, 硕士, 副研究员, 研究方向为中药药理学。Tel: 13905318124, E-mail: 13905318124@163.com

周倩(1982—), 女, 博士, 研究员, 研究方向为中药炮制学。Tel: 13589044563, E-mail: zhouqian0126@126.com

后可降低挥发性成分含量, 从而使其燥烈之性降低, 而姜制可增强温胃止呕功效。目前, 对不同炮制工艺下草果挥发油成分的研究大多集中在炮制前后其含量变化, 尚未涉及成分组成, 并且炮制后其药性、功效变化的物质基础仍不明晰。

因此, 本实验以草果及其炮制品为对象, 采用电子鼻和 GC-MS 法分析其挥发油成分变化, 并通过主成分分析和正交偏最小二乘法判别分析筛选差异性成分, 以期为探究炮制过程中加热、辅料姜汁对该成分的影响, 以及解析其药效物质基础提供一定的数据支持。