

嗜酸乳杆菌对蒺藜黄酮作用的研究

吕嘉栎, 周文静

(陕西科技大学生命科学与工程学院, 陕西咸阳 712081)

摘要:以嗜酸乳杆菌为实验菌种,蒺藜药液为培养基对其进行培养,通过检测不同培养时间的药液中黄酮的含量和酸度,初步研究嗜酸乳杆菌对蒺藜黄酮的作用情况,为进一步研究其代谢机理奠定基础。

关键词:蒺藜, 黄酮, 嗜酸乳杆菌

Abstract:In this paper, lactobacillus acidophilus is cultured in the decoction of *Tribulus terrestris* L. to study the solubilization of flavonoids in *Tribulus terrestris* L. by lactobacillus acidophilus by determining the content and pH in the different culture, which establishes foundation for studying the mechanism.

Key words:*Tribulus terrestris* L.; flavonoids; lactobacillus acidophilus

中图分类号: TS201.2⁴ 文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2006)06-0079-03

蒺藜是一种食药同源的中草药,主要分布于两半球的干旱地区,在我国主要分布于西北和东北的荒漠和半荒漠地区,资源极为丰富。中国药典1995年版收载为蒺藜科(*Zygophyllaceae*)蒺藜属植物蒺藜(*Tribulus terrestris* L.)的干燥成熟果实,具有平肝解郁、活血祛风、明目、止痒的功效,主治头痛眩晕、胸肋胀痛、目赤翳障、风疹瘙痒等症状^[1,2]。而嗜酸乳杆菌是正常人体肠道中极为重要的优势菌群,担负着机体多种重要的生理功能,具有维持机体肠道微生态平衡的作用,与机体健康息息相关^[3,4]。因此,本文对中草药蒺藜果实进行煎煮,以其药液为培养基,对嗜酸乳杆菌进行培养,根据药液中黄酮含量的变化,初步研究嗜酸乳杆菌对蒺藜黄酮作用的情况,为进一步研究其代谢机理奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

收稿日期: 2005-09-26

作者简介: 吕嘉栎(1964-),女,教授,主要从事生物活性乳品和药品的研究。

嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)由陕西科技大学生命学院菌种室提供;蒺藜果实购于陕西咸阳民生大药房;芦丁(中国药品生物制品检定所提供,95%乙醇、甲醇、石油醚(沸程60~90℃)、正丁醇、NaNO₃、KNO₃)₃、NaOH均为分析纯。

756PC紫外可见分光光度计(上海光谱仪器有限公司);旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);TGL-16M高速台式冷冻离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司);隔水式电热恒温培养箱(上海跃进医疗器械厂)。

1.2 实验方法

1.2.1 测定方法 精密称取芦丁标准品100mg,置于50mL容量瓶中,加适量甲醇置水浴上微热使其溶解,放冷置室温后用甲醇定容至刻度。精密量取5mL,置25mL容量瓶中,用甲醇定容至刻度,得到0.4mg/mL的芦丁标准品溶液。分别取0.0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9mL芦丁标准品溶液与10支10mL具塞试管中,加甲醇补至2mL,分别加入0.2mL 5%的NaNO₂溶液,摇匀,静置6min后加入0.2mL 10%的K(NO₃)₃溶液,6min后再加入2mL 4% NaOH溶液,用甲醇定容至5mL,摇匀后40℃显色10min,以试剂空白为参比,在500nm处进行比色。回归方程为:相关系数r=0.9991。

1.2.2 中药蒺藜的煎制 称取蒺藜果实300g,加10倍水浸泡30min,煎煮两次,沸腾后文火持续30min,200目滤布过滤,合并两次滤液。调整体积至2520mL,分装(180mL/瓶),灭菌,备用。

1.2.3 嗜酸乳杆菌的培养 取经MRS培养基活化的嗜酸乳杆菌接入药液中,36℃恒温培养,以不加菌种的药液作为对照。

1.2.4 样品溶液的制备 取经不同时间培养的蒺藜药液1瓶浓缩至等倍量,加4倍体积95%乙醇溶液沉淀杂质,离心,取上清液,浓缩至浸膏状,加水溶解,用等倍量石油醚脱脂3次,再用3、2、2、1倍体积

正丁醇萃取4次,合并萃取相,浓缩至干。甲醇溶解并定容至25mL,备用。

2 结果与分析

2.1 显色剂对测定波长的影响

标准品溶液、加显色剂的标准品溶液、加显色剂的样品溶液在200~600nm进行扫描,结果见图1~图3。由图可见,不加显色剂的标准品溶液在500nm没有吸收峰;加显色剂的标准品溶液在500nm处产生黄酮与显色剂络和后的络和产物峰(峰值比较平缓);与加显色剂的标准品溶液的峰相同。故本实验采用加显色剂在500nm处测定总黄酮含量。

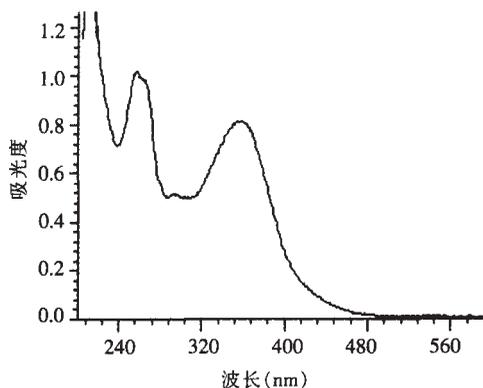


图1 芦丁标准品不加显色剂的紫外可见扫描图谱

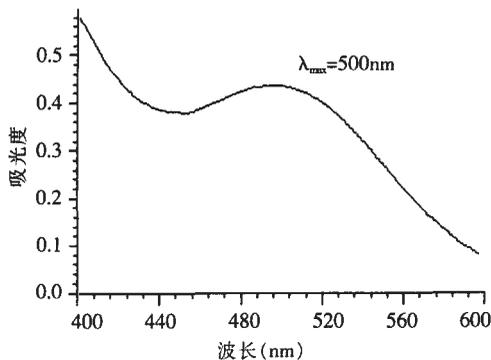


图2 芦丁标准品加显色剂的紫外可见扫描图谱

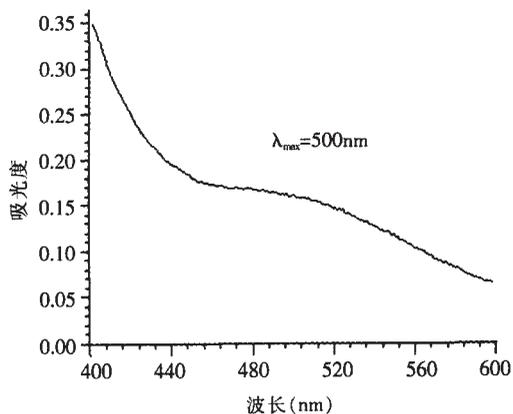


图3 蒺藜果实样品提取液加显色剂的紫外可见扫描图谱

2.2 显色温度

取样品液于10mL具塞试管中,按照1.2.1的方法操作,分别在10、20、30、40、50℃显色10min,在500nm处测其吸光度。由表1可知,样品液的吸光度在30、40、50℃基本不变,所以本文采用40℃显色。

表1 显色温度对样品吸光度的影响

温度(℃)	10	20	30	40	50
OD ₅₀₀	0.434	0.453	0.412	0.414	0.416

2.3 显色稳定性实验

取标准品溶液于10mL具塞试管中,按照1.2.1的方法操作,在500nm处进行吸光度-时间扫描。

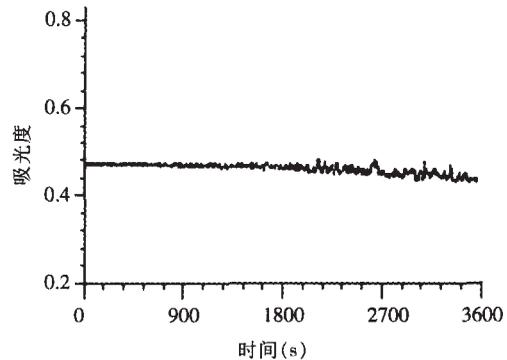


图4 吸光度-时间扫描图谱

图4表明,样品液显色后在30min其吸光度比较稳定。

2.4 回收率实验

精密吸取样品液0.5mL于10mL具塞试管中,按照1.2.1方法操作测定其吸光度;在上述溶液中,精密加入芦丁对照品溶液适量,同上法测定吸光度,并计算总黄酮含量,结果见表2。

表2 加样回收率测定结果

序号	样品中总黄酮含量(mg)	芦丁加入量(mg)	测定量(mg)	回收率(%)
1	0.3236	0.2125	0.5372	100.5
2	0.3451	0.2008	0.5428	98.5
3	0.4440	0.2102	0.6468	96.5
4	0.5203	0.2008	0.7138	96.4
5	0.3742	0.1980	0.5686	98.2
6	0.4294	0.1998	0.6271	98.9

2.5 样品测定

取不同培养时间的样品液0.5mL于10mL具塞试管中,按照1.2.1方法操作进行比色,由标准曲线计算黄酮含量。由图5可知,培养液中的黄酮含量在前48h明显上升,在培养48h时黄酮含量已达0.141%,48h以后培养液中黄酮含量逐渐下降;而不接菌种的对照药液中的黄酮含量在前24h内下降幅度较大,24h后基本不再变化,这是因为蒺藜药液是由水煎煮制成的,而黄酮类化合物在水中的溶解度不是很好,所以在培养的过程中,有部分析出,从而导致对照药液中黄酮含量下降。

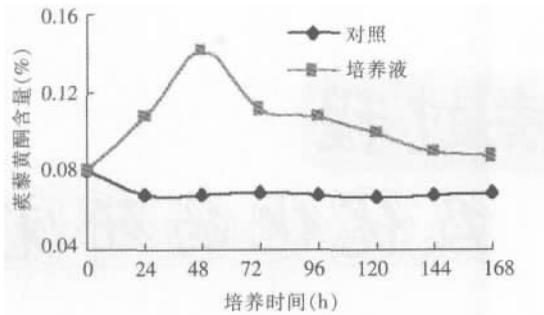


图5 培养时间对蒺藜黄酮含量的影响

2.6 产酸能力

取不同培养时间的培养液和对照液，用酸度计测其 pH。由图 6 可知，在培养过程中，不接菌种的对照药液的 pH 基本不变；接入菌种的培养液在前 24h 内 pH 明显下降，从 5.57 降至 4.20，说明嗜酸乳杆菌产生大量乳酸、丁酸等有机酸；但是当培养至 24h 以后，pH 变化趋于平缓，这可能是由于中草药中的有机酸均为弱酸，在培养液中起到缓冲作用，其缓冲作用能够部分中和乳酸菌生产过程中产生的酸，可在一定程度上维持培养液 pH 的稳定。

3 结论

3.1 以中草药为培养基对嗜酸乳杆菌进行培养，检测培养液中黄酮含量的变化。结果表明，培养液中的黄酮含量在前 48h 明显上升，在培养 48h 时黄酮含量已达 0.141%，48h 以后培养液中黄酮含量逐渐下降。

3.2 嗜酸乳杆菌培养液的 pH 在前 24h 明显下降，

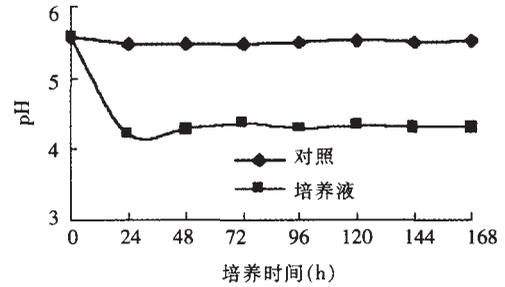


图6 培养液中 pH 的变化

从 5.57 降至 4.20，但是当培养至 24h 以后，pH 变化趋于平缓。

由于中草药成分的复杂性，嗜酸乳杆菌对蒺藜黄酮的作用受多种因素的影响，其机理还有待进一步研究。

参考文献：

- [1] 王艳. 蒺藜药理作用及化学成分的研究概述[J]. 北京中医学院学报, 1989, 12(6): 30~31
- [2] 周荣汉, 车镇涛. 中国蒺藜科植物黄酮类化学成分分析及其化学分类学意义[J]. 西北植物学学报, 1999, 19(4): 725~731.
- [3] Barbara Mombelli, Maria Rita Gismondo. The use of probiotics in medical practice[J]. International Journal of Antimicrobial Agents, 2000, 16: 531~536.
- [4] Maria Saraela, Gunnar MØgensen, et al. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties[J]. Journal of Biotechnology, 2000, 84: 197~215.

(上接第 78 页)

表5 高筋粉的粉质曲线和拉伸曲线的主要参数

测试粉样	湿面筋含量 (%)	形成时间 (min)	稳定时间 (min)	吸水率 (%)	粉力 (cm ²)	延伸性 (mm)	50mm 拉伸阻力 (BU)	拉力比数
特二粉	30.3	2.0	2.0	68.5	29.9	230	90	0.34
高筋粉	38.1	3.5	2.5	72.5	42.2	176	180	0.85

以看出，除了蛋白质含量大幅度提高以外，经过面粉分级机分级后所得到的高筋面粉的吸水率、形成时间和稳定时间也都有所提高，高筋粉品质也有了明显的改善，更加适合于蒸煮类食品的制作。

4 结论

通过对实验和现场测定结果的分析可以得出以下几点结论：

- 4.1 气流分级后的面粉颗粒的粒度均匀，粒径分布集中，一般情况下，得到的细粉中小于 25 μ m 的颗粒含量达 90% 以上。
- 4.2 用气流分级机对面粉进行分级，不仅可获得高蛋白面粉，而且可得到蛋白含量不同的产品。
- 4.3 通过分析测试数据可以看出，高筋粉提取率和湿面筋提高率与风机的风量和涡轮的转速有如下关系：在涡轮转速不变时，风量增大，高筋粉提取率变

大，但高筋粉中蛋白质提高率有所降低；在风量不变时，涡轮转速越高，则高筋粉的提取率下降，但高筋粉中蛋白质提高率上升。

4.4 面粉气流分级机分离出来的高筋粉，不仅湿面筋含量在 36% 以上，而且吸水率、形成时间和稳定时间也都有所提高，高筋粉的品质有明显的改善。

参考文献：

- [1] Klumpur Lvanv. Air Classifiers[J]. Chemical Engineering, 1985, 93(5): 77~89.
- [2] 王远成, 黄远东. 面粉分级处理的新法—气流分级[J]. 四川粮油科技, 1990, 2(2): 5~6.
- [3] 王远成, 任凌云, 等. 面粉气流分级机的研制与应用[J]. 郑州粮食学院学报, 1998, 19(1): 52~55.