DOI:10.3969/j.issn. 1673–1689.2017.05.013

蘘荷总黄酮的提取工艺及其体外抑菌活性研究

黄仁术[1,2]， 刘仁妮[2]， 钱艳琳[2]， 徐兴苗[2]， 项学伟[2]

（1. 植物细胞工程安徽省工程技术研究中心，安徽 六安 237012；2. 皖西学院 生物与制药工程学院，安徽 六安 237012）

摘要：利用响应面法确定蘘荷总黄酮的最佳提取工艺，并探讨其体外抑菌活性。在单因素实验的基础上，进行 4 因素 3 水平的 Box–Behnken 中心组合实验设计，利用响应面分析优化工艺条件；对此工艺下的提取液进行浓缩，通过牛津杯法和二倍稀释法探讨其抑菌活性。在优化工艺条件乙醇体积分数 94.75%、处理温度 100 ℃、液料比 85∶1 (mL∶g)、处理时间 70 min 时，蘘荷总黄酮得率为 39.87%，与预测值 40.79%的相对误差仅 2.26%；蘘荷总黄酮对大肠杆菌、酿酒酵母、黑曲霉没有抑制作用，对枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌有抑制作用，其 MIC 分别为 3.245 9、1.622 9 mg/mL，MBC 分别为 12.983 5、6.491 8 mg/mL。蘘荷总黄酮可作为一种新型抗菌药物开发，其提取工艺可用响应面法进行回归分析和参数优化。

关键词：总黄酮；蘘荷；响应面；提取工艺；体外抑菌

中图分类号：R 931.71　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1673—1689(2017)05—0524—07

Extraction of Total Flavonoids from *Zingiber mioga* and in Vitro Antibacterial Activities

HUANG Renshu[1,2]， *LIU Renni*[2]， *QIAN Yanlin*[2]， *XU Xingmiao*[2]， *XIANG Xuewei*[2]

（1. Plant Cell Engineering of Anhui Province Engineering Technology Research Center，Lu'an 237012，China；2. College of Biological and Pharmaceutical Engineering，West Anhui University，Lu'an 237012，China）

Abstract：To determine the optimal extraction of total flavonoids from *Zingiber mioga* by the response surface methodology and then to study the in vitro antibacterial activities. On the basis of single factor experiments，a 4-factor，3-level Box-Behnken center-united experiment was conducted. The Box-Behnken experiment optimized the processing conditions by response surface methodology. Then the extract from the optimal conditions was concentrated. Finally，the in vitro antibacterial activitie were determined by oxford plate tests and doubling dilution method. The optimal conditions were as follows：ethanol concentration 94.75%，treatment temperature 100 ℃，liquid-to-solid ratio 85∶1 (mL∶g)，treatment time 70 min. Under the optimal conditions，the extraction rate of total flavonoids was 39.87%，of which the relative error was only 2.26% compared with the predicted value of 40.79%；total flavonoids from *Zingiber mioga* had no inhibitory effects on *Escherichia coli*，

收稿日期：2015–12–12

基金项目：安徽省 2014 年高校优秀青年人才支持计划资助项目。

作者简介：黄仁术(1976—)，女，汉族，新疆阿克苏人，副教授，主要从事天然活性物质研究。E–mail：ahhrs@126.com

引用本文：黄仁术，刘仁妮，钱艳琳，等. 蘘荷总黄酮的提取工艺及其体外抑菌活性研究[J]. 食品与生物技术学报，2017，36(05)：524–530.

Saccharomyces cerevisiae and *Aspergillus niger*, but did inhibit the growth of *Bacillus subtilis* and *Staphyloccocus aureus* with the minimal inhibitory concentration (MIC) 3.245 9 mg/mL and 1.622 9 mg/mL and the minimal bactericidal concentration (MBC) 12.983 5 mg/mL and 6.491 8 mg/mL, respectively. CONCLUSION Total flavonoids from *Zingiber mioga* could be a new type of antibacterial agents and the extraction was suitable for the regression analysis and parameter optimization by response surface methodology.

Keywords: total flavonoids, *Zingiber mioga*, response surface methodology, extracting process, inhibitory bacteria experiment in vitro

蓑荷(*Zingiber mioga*(Thunb.) Rosc.),俗称阳荷、茗荷、观音花、莲花姜、野姜等,属药食两用的姜科多年生草本植物,广泛分布我国南方地区。而植物黄酮类物质具有抗氧化、抗肿瘤、降血糖,以及增强免疫力、保护心脑血管等多种功效[1]。但目前蓑荷黄酮的研究基本属于空白,仅张泽生报道蓑荷50%乙醇提取物具有明显的体外抗氧化活性,对DPPH、OH^-、O^{2-}、H_2O_2的清除率分别达到了70%、64%、77%、71%[2];马建苹等报道蓑荷根茎乙醇提取物及石油醚和氯仿萃取物能显著抑制金黄色葡萄球菌、地衣芽孢杆菌、无乳链球菌、大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌和铜绿假单胞菌的生长繁殖,具有明显的灭活作用[3]。故本文作者在响应面法优化蓑荷黄酮提取工艺的基础上,对其抗菌活性进行研究,以期为蓑荷资源的有效开发和新型抗菌药物的获得提供前期基础。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

SW-CJ-1C型洁净工作台:苏州安泰空气技术有限公司;YX-450型电热蒸汽压力消毒器:上海三申医疗器械有限公司;HH-S6型恒温水浴锅:金坛金城国胜实验仪器厂;UV-2102 PCS型紫外可见分光光度计:上海龙尼克仪器有限公司;SH2-DⅢ循环水式多用真空泵:郑州英峪予华仪器有限公司;FA1204N电子天平:上海民桥精密科学仪器有限公司;DHP-9272培养箱:浦东荣丰科学仪器有限公司;硝酸铝(质量分数≥99.0%):上海新宝精细化工厂;氢氧化钠(质量分数≥96.0%):西陇化工股份有限公司。实验菌株包括以枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、金黄色葡萄球菌(*Staphyloccocus aureus*)为代表的革兰阳性细菌,以大肠杆菌(*Escherichia coli*)为代表的革兰阴性细菌,以黑曲霉(*Aspergillus niger*)、酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)为代表的真菌:武汉大学中国典型微生物保藏中心;蓑荷来源于大别山区。

1.2 实验方法

1.2.1 总黄酮的测定方法 以芦丁为标准品,利用分光光度计可测定食品中的总黄酮含量[4]。故称取6.00 mg芦丁标准品,在10 mL的容量瓶中用体积分数70%乙醇充分溶解,并定容成质量浓度0.6 mg/mL的标准液。分别按体积梯度将标准液添加到10 mL的容量瓶中,再加入0.4 mL质量分数5%亚硝酸钠摇匀后静置6 min,加入0.4 mL质量分数10%硝酸铝,摇匀后再静置6 min,接着加入4 mL质量分数4%氢氧化钠,用蒸馏水定容至刻度,摇匀后静置15 min。以空白试剂作对比参照,在510 nm波长时测吸光度值,根据吸光度A,建立吸光度与总黄酮质量M(mg)的线性关系。

1.2.2 单因素范围试验

1)确定乙醇体积分数范围试验:称取3.0 g过80目筛的蓑荷粉末15份,分5组,每组3个重复;每组份按液料比15 mL/g分别以体积分数0%(蒸馏水)、20%、40%、60%、80%的乙醇浸溶于锥形瓶;回流冷凝装置下于60 ℃恒温水浴60 min,4 000转速离心10 min,抽滤。提取液用体积分数70%乙醇定容于50 mL的容量瓶中,用移液枪移取1 mL到10 mL的容量瓶中,按蓑荷总黄酮的测定方法测其吸光度,以确定乙醇体积分数。

2)确定处理温度范围试验:在确定乙醇浓度的基础上,分别以20、40、60、80、100 ℃水浴浸提,以确定处理温度。

3)确定液料比范围试验:在确定处理温度的基础上,分别以液料比为5:1、15:1、25:1、35:1、45:1(mL:g)的乙醇浸提,以确定液料比范围。

4)确定处理时间范围试验:在确定液料比的基

础上，在 20~100 min 范围内按 20 min 的梯度改变水浴处理时间，以确定处理时间范围。

1.2.3 响应面优化试验 响应面采用 Design-Expert.8.0.6 软件设计，乙醇体积分数(X_1)、处理温度(X_2)、液料比(X_3)和处理时间(X_4)为自变量，蘘荷总黄酮提取得率(Y)为响应值。

1.2.4 体外抑菌试验 纯化供试菌种制成菌悬液备用。蘘荷总黄酮浓缩物抑菌效果采用牛津杯法测定，蘘荷总黄酮最低抑菌浓度(MIC)采用二倍稀释法测定，进一步将有抑菌效果二倍稀释液移种到培养基上，根据培养皿中菌落生长情况测定蘘荷总黄酮最小杀菌浓度(MBC)[5]。

2 结果与分析

2.1 蘘荷总黄酮的测定

经测定，吸光度 A 与总黄酮质量 M 的线性关系为 A=0.113 8 M−0.001 5，R=0.999 5。相关系数符合国家标准高于 0.99 的要求，可作为测定依据[6]。

2.2 单因素范围试验

2.2.1 确定乙醇体积分数范围试验 经方差分析的 F 检验，F=391.38>$F_{0.01(4,10)}$=5.99，表明各处理间存在真实的差异，即乙醇浓度对蘘荷总黄酮有极显著的提取影响(P<0.01)。为进一步明确不同处理间的差异显著性，还必须对各均数进行两两比较，故通过 SSR 法检验(见表 1)可见，在乙醇体积分数升高时，蘘荷总黄酮的得率极显著提高(P<0.01)，当乙醇体积分数为 80%，蘘荷总黄酮的得率达到 10.28%，故确定适宜提取剂为高浓度乙醇。响应面法可进一步缩小乙醇浓度筛选范围，选择 75%~95%区间。

表 1 不同乙醇体积分数提取效果比较表

Table 1 Effects of different concentrations of ethanol on the extraction

乙醇体积分数/%	平均得率 $\overline{Y}_1$±SD/%	Y_1−1.22	Y_1−7.32	Y_1−8.13	Y_1−8.56
80	10.28±0.50	9.06**	2.96**	2.15**	1.72**
40	8.56±0.29	7.34**	1.24**	0.43	
60	8.13±0.33	6.91**	0.81**		
20	7.32±0.14	6.10**			
0	1.22±0.03				

注：处理间自由度 df_A=4，处理内自由度 df_e=10；处理间平方和 SS_A=143.787 4，误差平方和 SS_e=0.918 5；标准误 $S_{\bar{x}}$=0.175 0；** 表示组间差异极显著。

2.2.2 确定处理温度范围试验 经 F 检验，F=78.23>$F_{0.01(4,10)}$=5.99，表明处理温度对蘘荷总黄酮有极显著的提取影响(P<0.01)。进一步采用 SSR 法检验(见表 2)，发现较高温度(60~100 ℃)对蘘荷总黄酮的提取效果影响差异不显著(P>0.01)；但 60 ℃的提取效果与 40 ℃的差异不显著(P>0.01)，而 80 ℃与 40 ℃有极显著差异(P<0.01)，从而确定适宜处理温度为 80 ℃。响应面法优化可进一步缩小处理温度筛选范围，选择 60~100 ℃区间。

表 2 不同处理温度提取效果比较表

Table 2 Effects of different temperature treatments on the extraction

处理温度/℃	平均得率 $\overline{Y}_2$±SD/%	Y_2−7.51	Y_2−9.93	Y_2−10.35	Y_2−10.67
80	10.68±0.28	3.17**	0.75**	0.33	0.01
100	10.67±0.10	3.16**	0.74**	0.32	
60	10.35±0.23	2.84**	0.42		
40	9.93±0.32	2.42**			
20	7.51±0.31				

注：df_A=4，df_e=10；SS_A=21.213 8，SS_e=0.677 9；$S_{\bar{x}}$=0.150 3；** 表示组间差异极显著。

2.2.3 确定液料比范围试验 经 F 检验，F=933.71>$F_{0.01(4,10)}$=5.99，表明液料比对蘘荷总黄酮有极显著的提取影响(P<0.01)。进一步采用 SSR 法检验(见表 3)，发现随着液料比的升高，蘘荷总黄酮的得率极显著提高(P<0.01)，当液料比在 45:1 (mL:g)时，蘘荷总黄酮的得率达到 18.41%，故确定应用高液料比的乙醇浸提。响应面法可进一步增加液料比筛选范围，选择液料比 45:1~85:1 (mL:g)区间。

表 3 不同液料比提取效果比较表

Table 3 Effects of different ratios of liquid to solid on the extraction

液料比(mL/g)	平均得率 $\overline{Y}_3$±SD/%	Y_3−3.17	Y_3−11.94	Y_3−14.74	Y_3−16.76
45:1	18.41±0.49	15.24**	6.47**	3.67**	1.65**
35:1	16.76±0.28	13.59**	4.82**	2.02**	
25:1	14.74±0.09	11.57**	2.80**		
15:1	11.94±0.50	8.77**			
5:1	3.17±0.04				

注：df_A=4，df_e=10；SS_A=432.794 3，SS_e=1.158 8；$S_{\bar{x}}$=0.196 5；** 表示组间差异极显著。

2.2.4 确定处理时间范围试验

经 F 检验，F=6.65>$F_{0.01(4,10)}$=5.99，表明处理时间对蘘荷总黄酮有极显著的提取影响(P<0.01)。SSR

法检验（见表 4）可见，在 60 min 时蘘荷总黄酮的得率最高，且与其他各组差异极显著（$P<0.01$），从而确定适宜的处理时间为 60 min。响应面法进一步确定处理时间的筛选范围为 50~70 min。

表 4　不同处理时间提取效果比较表

Table 4　Effects of different time treatments on the extraction

处理时间/min	平均得率 $\overline{Y}_4$±SD/%	Y_4–16.89	Y_4–17.13	Y_4–17.43	Y_4–17.48
60	18.85±0.06	1.96**	1.72**	1.42**	1.37**
20	17.48±0.61	0.59	0.35	0.05	
40	17.43±0.04	0.54	0.30		
100	17.13±0.70	0.24			
80	16.89±0.67				

注：$df_A=4$，$df_e=10$；$SS_A=6.972\ 7$，$SS_e=2.621\ 8$；$S_x=0.295\ 6$；** 表示组间差异极显著。

2.3　响应面优化试验

2.3.1　回归方程与统计检验　根据蘘荷总黄酮提取的响应面设计方案和结果（见表 5），采用设计软件二次回归分析，可以得到方程：

$$Y=-104.272\ 66+6.762\ 77X_1-2.615\ 14X_2-1.321\ 55X_3-1.337\ 32X_4+0.015\ 138X_1X_2+0.013\ 025X_1X_3+0.014\ 225X_1X_4+0.003\ 856\ 25X_2X_3+0.000\ 65X_2X_4+0.001\ 575X_3X_4-0.054\ 376X_1^2+0.007\ 0810\ 4X_2^2-0.000\ 147\ 083X_3^2+0.000\ 1616\ 67X_4^2。$$

从数字模型方差分析的结果来看（见表 6）：模型的 $F=14.42$，$(Prob>F)<0.000\ 1$，表明模型显著，实验设计可靠具有统计学意义；模型失拟项 $(Prob>F)=0.126\ 1>0.05$，表明模型失拟项不显著，模型与实验拟合程度高，各实验点均能用模型描述。此外，模型的相关系数 $R^2=0.935\ 2>0.9$，表明模型拟合程度好，可信度较高；变异系数（CV）=8.44%，信噪比 14.339>4，表明模型方程能够很好的反映真实的实验值。因此，蘘荷总黄酮的提取工艺可以用该模型预测。根据模型系数显著性检验的结果可知，该模型中 X_1、X_2、X_3、X_1X_2 的偏回归系数极显著（$P<0.01$），X_1X_3 的偏回归系数显著（$P<0.05$），说明乙醇体积分数、处理温度、液料比、乙醇体积分数和处理温度的交互项、乙醇体积分数和液料比的交互项对蘘荷总黄酮提取得率的影响显著或极显著。

表 5　蘘荷总黄酮提取响应面设计试验方案及结果

Table 5　Design of the response surface and results for the extraction of total flavonoids from *Zingiber mioga*

序号	乙醇体积分数 X_1/%	处理温度 X_2/℃	液料比 X_3(mL/g)	处理时间 X_4/min	平均得率 Y/%	序号	乙醇浓度 X_1/%	处理温度 X_2/℃	液料比 X_3(mL:g)	处理时间 X_4/min	平均得率 Y/%
1	85	100	85:1	60	33.22	16	85	80	65:1	60	25.61
2	85	100	65:1	50	31.64	17	95	80	65:1	50	18.86
3	75	60	65:1	60	18.48	18	85	60	65:1	50	25.61
4	75	80	45:1	60	13.44	19	85	80	85:1	70	27.04
5	85	60	45:1	60	22.66	20	85	80	65:1	60	25.17
6	95	80	85:1	60	31.36	21	75	80	65:1	50	15.15
7	95	80	65:1	70	24.1	22	85	60	65:1	70	24.38
8	85	80	65:1	60	22.98	23	75	100	65:1	60	15.57
9	85	80	65:1	60	23.23	24	75	80	85:1	60	16.13
10	95	80	45:1	60	18.25	25	85	80	45:1	50	21.99
11	85	60	85:1	60	28.27	26	85	80	85:1	50	25.1
12	95	100	65:1	60	30.85	27	95	60	65:1	60	21.65
13	85	80	65:1	60	24.94	28	85	100	45:1	60	21.44
14	85	100	65:1	70	30.93	29	75	80	65:1	70	14.7
15	85	80	45:1	70	22.67						

2.3.2　蘘荷总黄酮提取的响应面分析　处理温度与乙醇体积分数有交互作用（见图 1），随着乙醇体积分数的升高，蘘荷总黄酮提取得率升高至恒定或先升高后降低；在低乙醇体积分数时，提取得率随着处理温度的提升先缓慢降低，再缓慢升高，基本保持一个平衡状态；而在高乙醇体积分数时，提取得率随着处理温度的提升，保持一个增长性的提升速度。由图 2 可见，乙醇体积分数和液料比也有交

互作用,随着乙醇体积分数的升高,蘘荷总黄酮的提取得率先提高后降低;随着液料比的增加,蘘荷总黄酮的提取得率也随之增加,但在高体积分数乙醇时增加的更加明显。

表 6 蘘荷总黄酮提取工艺优化数学模型方差分析

Table 6 Variance analysis of the optimal mathematical model for the extraction of total flavonoids from *Zingiber mioga*

变异来源	平方和	自由度	均方	*F* 值	Prob>*F*
模型	780.64	14	55.76	14.42	<0.000 1
乙醇体积分数 X_1	221.88	1	221.88	57.39	<0.000 1
处理温度 X_2	42.56	1	42.56	11.01	0.005 1
液料比 X_3	137.84	1	137.84	35.65	<0.000 1
处理时间 X_4	2.49	1	2.49	0.64	0.435 3
X_1X_2	36.66	1	36.66	9.48	0.008 2
X_1X_3	27.14	1	27.14	7.02	0.019 0
X_1X_4	8.09	1	8.09	2.09	0.169 9
X_2X_3	9.52	1	9.52	2.46	0.139 0
X_2X_4	0.068	1	0.068	0.017	0.896 7
X_3X_4	0.40	1	0.40	0.10	0.753 4
X_1^2	191.79	1	191.79	49.61	<0.000 1
X_2^2	52.04	1	52.04	13.46	0.002 5
X_3^2	0.022	1	0.022	0.005 808	0.940 3
X_4^2	0.001 695	1	0.001 695	0.000 438 5	0.983 6
残差	54.12	14	3.87		
失拟项	48.39	10	4.84	3.38	0.126 1
纯误差	5.73	4	1.43		
总和	834.76	28			

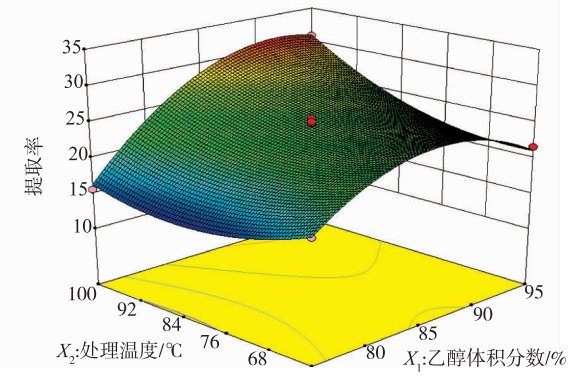


图 1 乙醇体积分数和处理温度的响应面

Fig. 1 Response surface of ethanol solution and treatment temperature

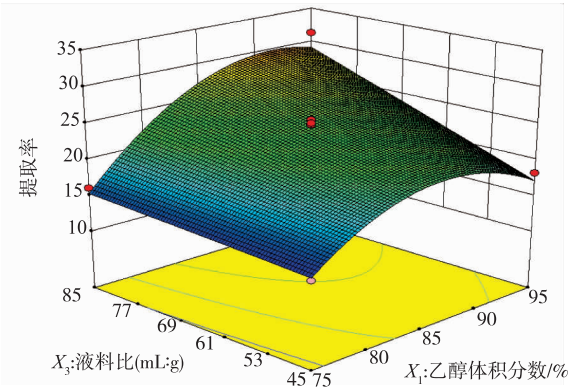


图 2 乙醇体积分数和液料比的响应面

Fig. 2 Response surface of ethanol solution and liquid–solid ratio

由图 3 可见,蘘荷总黄酮的提取得率随着乙醇体积分数的升高而先升高后降低,处理时间对其影响则不大。由图 4 可见,蘘荷总黄酮的提取得率随着液料比的增加而增加,随着处理温度的提升而先降低后增加。

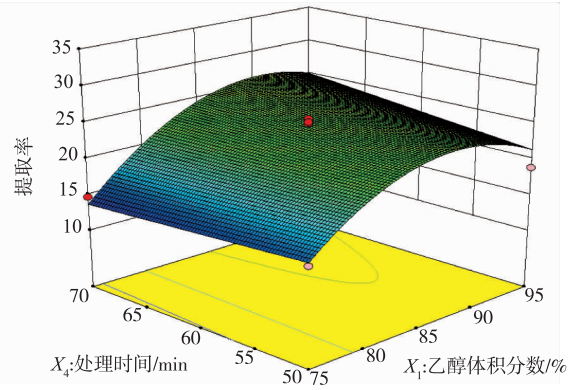


图 3 乙醇体积分数和处理时间的响应面

Fig. 3 Response surface of ethanol solution and treatment time

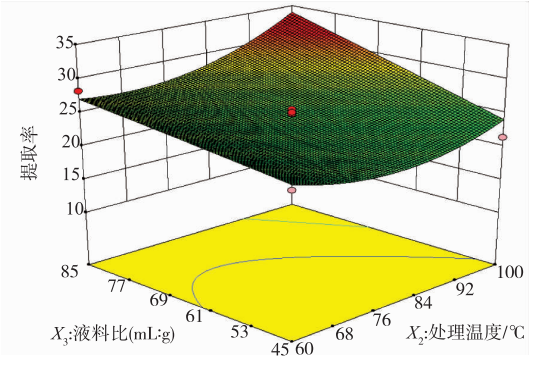


图 4 处理温度和液料比的响应面

Fig. 4 Response surface of liquid –solid ratio and treatment temperature

2.3.3 试验验证 经响应面优化计算,得出在乙醇体积分数 94.75%、处理温度 100 ℃、液料比 85:1 (mL/g)、处理时间 70 min 时,蕲荷总黄酮提取得率最大,达到 40.79%。该工艺条件下进行提取验证,蕲荷总黄酮平均得率为 39.87%,与预测值相对误差仅 2.26%。

2.4 体外抑菌试验

2.4.1 牛津杯法测定蕲荷总黄酮抑菌效果 由图 5、图 6 可知,蕲荷总黄酮浓缩液(质量浓度 25.967 mg/mL)对枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌有抑菌作用;但对大肠杆菌、酿酒酵母、黑曲霉未见抑菌作用。其中,蕲荷总黄酮对枯草芽孢杆菌的平均抑菌圈直径为 23.1 mm;对金黄色葡萄球菌的平均抑菌圈直径为 16 mm。

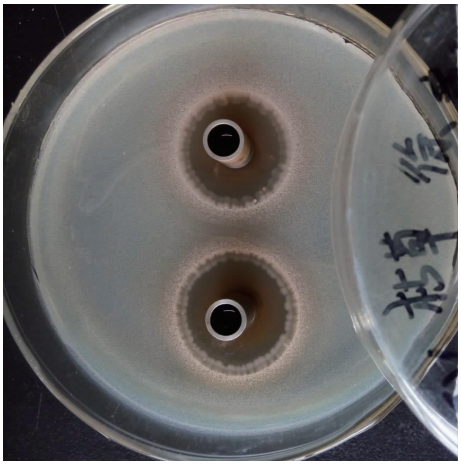


图 5 蕲荷总黄酮对枯草芽孢杆菌的抑制作用

Fig. 5 Inhibitory activity of total flavonoids from *Zingiber mioga* against *Bacillus subtilis*

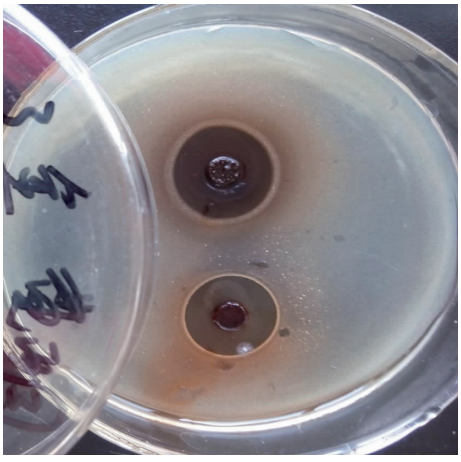


图 6 蕲荷总黄酮对金黄色葡萄球菌的抑制作用

Fig. 6 Inhibitory activity of total flavonoids from *Zingiber mioga* against *Staphyloccocus aureus*

2.4.2 蕲荷黄酮的 MIC、MBC 测定 通过蕲荷总黄酮对枯草芽孢杆菌的 MIC、MBC 测定结果来看(见图 7),蕲荷总黄酮的浓缩液在 1/8 倍稀释前,试管中的枯草芽孢杆菌生长受抑制、培养液清亮,之后枯草芽孢杆菌生长、培养液混浊;其 1/2 倍稀释液转种于培养皿后,未见有枯草芽孢杆菌菌落出现,而 1/4 倍稀释液转种于培养皿后,枯草芽孢杆菌生长且菌落数多于 5 个。说明蕲荷总黄酮对枯草芽孢杆菌的 MIC 为其浓缩液的 1/8 倍稀释液,即质量浓度 3.245 9 mg/mL;MBC 为其浓缩液的 1/2 倍稀释液,即质量浓度 12.983 5 mg/mL。

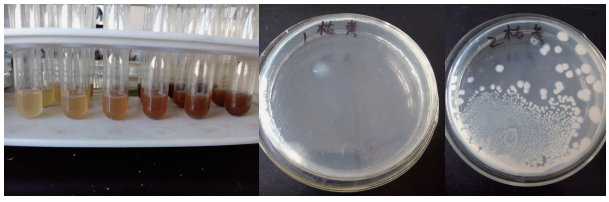


图 7 蕲荷总黄酮对枯草芽孢杆菌的 MIC、MBC 测定

Fig. 7 MIC and MBC of total flavonoids from *Zingiber mioga* against *Bacillus subtilis*

通过蕲荷总黄酮对金黄色葡萄球菌的 MIC、MBC 测定结果可知(见图 8),蕲荷总黄酮的浓缩液在 1/16 倍稀释前,试管中的金黄色葡萄球菌生长受抑制、培养液清亮,之后金黄色葡萄球菌生长、培养液混浊;其 1/4 倍稀释液转种于培养皿后,金黄色葡萄球菌菌落数生长但总数小于 5 个,而 1/8 倍稀释液转种于培养皿后,菌落出现大片生长。说明蕲荷总黄酮对金黄色葡萄球菌的 MIC 为其浓缩液的 1/16 倍稀释液,即质量浓度 1.622 9 mg/mL;MBC 为其浓缩液的 1/4 倍稀释液,即质量浓度 6.491 8 mg/mL。

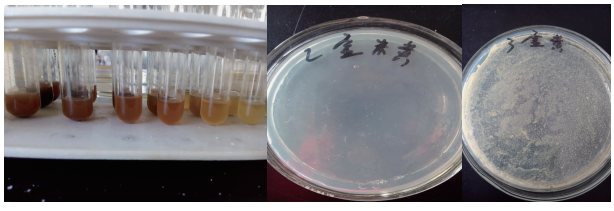


图 8 蕲荷总黄酮对金黄色葡萄球菌的 MIC、MBC 测定

Fig. 8 MIC and MBC of total flavonoids from *Zingiber mioga* against *Staphyloccocus aureus*

3 结 语

本研究中以蕲荷为原料,利用响应面法建立了蕲荷总黄酮提取工艺条件的数学回归模型:$Y=-104.272\ 66+6.762\ 77X_1-2.615\ 14X_2-1.321\ 55X_3-$

1.337 $32X_4$ +0.015 $138X_1X_2$ +0.013 $025X_1X_3$ +0.014 $225X_1X_4$ +0.003 8562 $5X_2X_3$ +0.000 $65X_2X_4$ +0.001 $575X_3X_4$−0.054 $376X_1^2$+0.007 0810 $4X_2^2$−0.000 1470 $83X_3^2$+0.000 161 $667X_4^2$。通过二次回归方程得到蘘荷总黄酮最佳提取工艺条件为：乙醇体积分数94.75%、处理温度 100 ℃、液料比 85:1（mL:g）、处理时间 70 min 时，此工艺条件下蘘荷总黄酮提取得率为39.87%，与预测值 40.79%的相对误差仅 2.26%。说明建立的模型与实际情况拟合很好，响应面法适用于对蘘荷总黄酮提取工艺进行回归分析和参数优化。对此工艺下提取的蘘荷总黄酮的体外抑菌试验表明，蘘荷总黄酮浓缩液在质量浓度 25.967 mg/mL 时，对枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌有抑菌作用，对大肠杆菌、酿酒酵母、黑曲霉没有抑制作用；蘘荷总黄酮对枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌的 MIC 分别为3.245 9、1.622 9 mg/mL，MBC 分别为 12.983 5、6.491 8 mg/mL。

参考文献：

[1] HUANG Renshu，HU Xiaomeng，HE Huili. Optimization of ultrasonic-assisted extraction techniques of isoflavones from Pueraria lobata（wild）ohwi in dabie mountain by response surface methodology and reducing power measurement [J]. **Chin Pharm J**，2015，50(1)：51-57.(in Chinese)

[2] ZHANG Zesheng，WANG Yuben，HUANG Chuang，et al. Study on antioxidant activity of extract from Zingiber mioga rose in vitro[J]. **Science and Technology of Food Industry**，2010，31(12)：282-283，286.(in Chinese)

[3] MA Jianping，HU Zhiming，ZHANG Yunding，et al. Experimental study on in vitro antibacterial effect of extract from Rhizoma Zingiber striolatum [J]. **Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae**，2012，18 (18)：206-209.(in Chinese)

[4] HU Zhijun，HAO Lijun，WANG Nanxi，et al. Purification of crude total flavonoids extracted from citrus peel using D-101 macroporous adsorption resin[J]. **Food Science**，2010，31(8)：65-69.(in Chinese)

[5] HUANG Renshu，YI Fan. Inhibiting bacteria experiment in vitro of epicatechin activity substances in fagopyrum dibotrys[J]. **Jiangsu Agricultural Sciences**，2015，43(1)：308-310.(in Chinese)

[6] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局，中国国家标准化管理委员会. GB/T 27404-2008 实验室质量控制规范一食品理化检测[S]. 北京：中国标准出版社，2008.

会　议　消　息

会议名称(中文)：第九届全国冷冻冷藏产业创新发展年会

所属学科：农作物、林木果实产品贮藏、保鲜与安全,工程热物理

开始日期：2017-09-01　　所在城市：湖南省　长沙市

主办单位：中国制冷学会、国内贸易工程设计研究院

全文截稿日期：2017-07-31　　联系人：王 丹、尹从绪、曹 阳

联系电话：010-68457336、010-83516760、010-63565523　　E-MAIL：coldchain@car.org.cn

会议网站：http://www.car.org.cn/index.php?s=/articles_923.html

会议背景介绍：为了进一步促进我国冷链行业发展，“第十二届全国食品冷藏链大会和第九届全国冷冻冷藏产业创新发展年会”计划于 2017 年 9 月中下旬在长沙召开。

会议主题：“技术创新，产业升级”。围绕这一主题，会议致力于搭建冷链“产、学、研、用”交流平台，从技术、管理、运营等多角度探讨冷链行业发展所关注的问题。

大会将邀请国内外著名专家、学者、企业家就食品冷链的政策、标准、关键技术及产业升级、安全生产和运营管理等方面进行广泛交流与研讨。