

李小阳, 韩冠英, 闫松, 等. 碱蓬草总生物碱提取工艺优化及其对高脂饮食小鼠的体内抗氧化活性 [J]. 食品工业科技, 2021, 42(7): 188-194. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020060194

LI Xiaoyang, HAN Guanying, YAN Song, et al. Extraction of Total Alkaloids from *Suaeda salsa* and Its Antioxidant Activity in Mice Fed with High-fat Diet[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(7): 188-194. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020060194

· 工艺技术 ·

碱蓬草总生物碱提取工艺优化及其对高脂饮食小鼠的体内抗氧化活性

李小阳¹, 韩冠英^{2,*}, 闫松¹, 赵艳丹¹, 郭斌¹, 崔璆²

(1. 锦州医科大学, 辽宁锦州 121000;

2. 锦州医科大学附属第一医院, 辽宁锦州 121000)

摘要:目的: 优化碱蓬草总生物碱的提取工艺, 研究碱蓬草总生物碱对高脂饮食小鼠的体内抗氧化性。方法: 以碱蓬草总生物碱的提取量作为指标, 在单因素实验的基础上, 进行正交分析。利用碱蓬草的总生物碱对高脂饮食小鼠进行灌胃, 定期监测小鼠的衰老指标。结果: 碱蓬草总生物碱的最佳提取工艺: 超声时间 20 min、超声温度 45 ℃、乙醇浓度 85%、料液比 1:10, 在此条件下, 总生物碱的提取量为 (0.65±0.02) mg/g。抗氧化活性实验表明, 碱蓬草总生物碱的低 (2 mg/kg)、中 (4 mg/kg)、高剂量 (8 mg/kg) 组均可以显著降低小鼠肝脏中 MDA 的含量 ($P<0.05$), 同时碱蓬草总生物碱的低、中、高剂量组均可以显著增加肝脏中的 CAT 和 GSH-Px ($P<0.05$)。结论: 本实验的优化工艺具有良好的可行性, 碱蓬草总生物碱具有抗氧化活性, 可作为碱蓬草食品及医药方向的研究基础。

关键词: 碱蓬草, 总生物碱, 正交试验, 工艺优化, MDA, CAT, GSH-Px, 抗氧化活性

中图分类号: TS255.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2021)07-0188-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2020060194

Extraction of Total Alkaloids from *Suaeda salsa* and Its Antioxidant Activity in Mice Fed with High-fat Diet

LI Xiaoyang¹, HAN Guanying^{2,*}, YAN Song¹, ZHAO Yandan¹, GUO Bin¹, CUI Zan²

(1. School of Pharmaceutical Sciences, Jinzhou Medical University, Jinzhou 121000, China;

2. The First Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University, Jinzhou 121000, China)

Abstract: Objective: To optimize the extraction process of total alkaloids from *Suaeda salsa* L. and study the antioxidant activity of total alkaloids from *Suaeda salsa* on high-fat diet in mice. Methods: The yield of total alkaloids from *Suaeda salsa* was used as the index, and the orthogonal analysis was carried out on the basis of single factor experiment. The total alkaloids of *Suaeda salsa* were gavaged to high-fat diet mice, and the aging indexes of mice were monitored regularly. Results: The optimum extraction conditions were as follows: Ultrasonic time 20 min, ultrasonic temperature 45 ℃, ethanol concentration 85%, solid-liquid ratio 1:10. Under these conditions, the yield of total alkaloids was (0.65±0.02) mg/g. The antioxidant activity test showed that the low, medium and high dose groups of *Suaeda salsa* total alkaloids could significantly reduce the content of MDA in the liver of mice ($P<0.05$), and the low(2 mg/kg), medium(4 mg/kg) and high dose(8 mg/kg) groups of total alkaloids of *Suaeda salsa* could also significantly increase cat and GSH-Px in liver ($P<0.05$). Conclusion: The optimized process has good feasibility. *Suaeda salsa* alkaloids can be used as the basis for the study of the total antioxidant activity of *Suaeda salsa*.

收稿日期: 2020-06-16

作者简介: 李小阳 (1986-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 植物有效成分的研究, E-mail: lixiaoyang33_in@163.com。

* 通信作者: 韩冠英 (1980-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 海洋药物资源的开发研究, E-mail: hgy19800223@163.com。

Key words: *Suaeda salsa*; total alkaloids; orthogonal experiment; extraction process optimization; MDA; CAT; GSH-Px; antioxidant activity

碱蓬(*Suaeda salsa*)是藜科植物,为一年生叶肉质化真盐生草本植物^[1-2],营养丰富,是优质蔬菜和油料作物。碱蓬的嫩茎叶既可鲜食,又可干制,宋人曾巩在《隆平集西夏传》中有古人食用碱蓬的记载,因此碱蓬具有食用开发前景。碱蓬中含有丰富的生物碱、黄酮、蛋白质、酚醌、多糖类等化合物^[3-5],此外碱蓬草总生物碱具有药用价值,可以降糖、降压、防治心脏病、增强人体免疫力等^[6]。碱蓬籽生产出的“共轭亚油酸”,具有抗癌^[7]、降胆固醇、抗动脉粥样硬化等^[8]功效。

生物碱是主要存在于植物中的一类含氮的碱性有机化合物,具有镇痛、抗炎、抗菌等^[9-11]药理活性。有研究发现生物碱还具有杀虫活性及抗氧化作用^[12-14]。目前尚未见对碱蓬草中生物碱提取工艺及体外抗氧化活性进行研究的相关报道。

普遍采用超声波辅助法、醇溶剂提取法、水或酸水等提取方法来提取植物中的生物碱^[15-16]。虽然水或酸水法提取生物碱简单经济,但提取液浓缩困难,而且耗时较长;醇类极性较大,穿透力强、溶出率高、沸点较低、容易回收^[17]。超声波辅助法可缩短提取时间,提高提取效率,应用广泛,不受分子质量大小、成分极性的限制,适用于绝大多数有效成分的提取^[18]。本实验采用乙醇作为溶剂,联合超声波辅助法,既可以达到理想的提取效果,又可以保证被提取物作为药用与食用的安全性。

本实验采用乙醇作为提取剂,在单因素实验的基础上,采用正交设计法研究碱蓬草中总生物碱的最佳提取工艺,并对其抗氧化活性进行了研究,以期为碱蓬草日后在食品及医药行业的研究应用提供了理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

碱蓬草 采自辽宁省锦州市沿海滩涂湿地,经锦州医科大学药学院郭斌教授鉴定为碱蓬属碱蓬草(*Suaeda salsa*);无水乙醇、三氯化铁、双氧水(H_2O_2)、硫酸亚铁($FeSO_4$)、二氯甲烷 天津永晟精细化工有限公司;氢氧化钠 天津市永大化学试剂有限公司;碘化铯钾 天津市光复精细化工研究所;硅钨酸 天津市科密欧化学试剂有限公司;胆固醇 安徽天启化工科技有限公司;猪油 自备;蛋黄粉 天津市永大化学试剂有限公司;胆酸钠 上海如吉生物有限公司;基础饲料 实验室自制;丙二醛 MDA 试剂盒、过氧化氢酶 CAT 试剂盒、谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-PX 试剂盒 南京建成生物工程研究所;其他试剂 均为国产分析纯;SPF 鼠 锦州医科大学

(许可证号:SCXK(辽)2017-0003)。

SHZ-D(111)恒温水浴锅 上海腾方公司;BP 211D 型电子分析天平 德国 Sartorius 公司;RE-3000A 旋转蒸发仪 上海广英公司;UP3200HE 数控超声波清洗器 南京垒君达超声电子设备有限公司;PHSJ-4A 实验室 pH 计 上海精密科学仪器有限公司;UV-2550 型紫外分光光度计 日本岛津;UP3200HE 数控超声仪 南京垒君达超声电子设备有限公司;80-1 离心机 常州天隧仪器有限公司;SCD-118TMPA 冰箱 海尔股份公司;DH-360(303-1)恒温培养箱 上海一恒科学仪器有限公司;680 型全自动酶标仪 美国 Bio-Rad 公司;WH-3 微型涡轮混合仪 上海精科实业有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 碱蓬草总生物碱的提取工艺 将新采得的碱蓬草放置阴暗处晒干,粉碎机打粉后 60 目过筛备用。分别称取碱蓬草粉 5 g,按照一定料液比加入一定浓度的乙醇溶剂,在一定的温度、一定时间下进行超声处理。超声后抽真空过滤,滤液旋干后加入 25 mL 1% HCl 超声 1 min 后加入 2 mol/L NaOH 约 3 mL 将 pH 调至 10~11,过滤后滤液加入 35 mL 二氯甲烷萃取 3 次,合并萃取液于 40 °C 旋转蒸发仪旋干,用 2 mL 乙醇将碱蓬草总生物碱溶解,乙醇自然蒸发后得橘黄色至黄褐色固体,即为碱蓬草总生物碱。

1.2.2 鉴别反应

1.2.2.1 碘化铯钾反应 取碘化铯钾 2 g,加冰醋酸 20 mL 后加 50 mL 蒸馏水稀释。取 1 mL 碱蓬草总生物碱溶液于试管中,加 1~2 滴碘化铯钾试剂,观察是否产生沉淀及沉淀颜色^[19]。

1.2.2.2 碘-碘化钾反应 取碘 0.5 g 与碘化钾 1.5 g,加蒸馏水 25 mL 蒸馏水稀释。取 1 mL 母液于试管中,加 2~3 滴碘化钾试剂。观察是否产生沉淀及沉淀颜色^[19]。

1.2.2.3 硅钨酸反应 取硅钨酸 10 g 加蒸馏水稀释至 100 mL,取 1 mL 母液于试管中,加 1~2 滴硅钨酸试剂。观察是否产生沉淀及沉淀颜色^[19]。

1.2.2.4 碘化汞钾反应 取碘化钾 10 g,加水 10 mL 溶解后,缓缓加入二氯化汞的饱和水溶液,随加随搅拌,至生成的红色沉淀不再溶解加蒸馏水稀释至 200 mL。取 1 mL 母液于试管中,加 2~3 滴碘化汞钾试剂。观察是否产生沉淀及沉淀颜色^[19]。

1.2.3 碱蓬草总生物碱提取量的测定 参考文献^[20-22]的方法,采用无水乙醇为溶剂,精密配制 14.28、

12.50、11.11、10.00、9.09 $\mu\text{g/mL}$ 盐酸小檗碱标准品溶液。将得到的橘黄色至黄褐色固体定容至一定体积测出其吸光度值,利用紫外分光光度计在 272 nm 波长下测定溶液吸光度 A 值,根据吸光度值算出生物碱浓度。以盐酸小檗碱的质量浓度为横坐标,吸光度 A 值为纵坐标,绘制标准曲线,标准曲线方程为: $y=0.05603x+0.00205$, $R^2=0.99951$ 。按照绘制盐酸小檗碱标准曲线的方法,测定碱蓬草总生物碱的吸光度 A 值,根据式 1 得出碱蓬草总生物碱的提取量。

$$\text{碱蓬草总生物碱提取量}(\text{mg/g}) = C \cdot V / 1000M \quad \text{式(1)}$$

式中: C 为根据盐酸小檗碱标准曲线计算出碱蓬草总生物碱的质量浓度($\mu\text{g/mL}$); V 为碱蓬草总生物碱定容后的体积(mL); M 为实验用碱蓬草粉的质量(g)。

1.2.4 碱蓬草总生物碱单因素实验 以碱蓬草总生物碱提取量为指标,分别考察超声时间、超声温度、乙醇浓度、料液比 4 个因素对碱蓬草总生物碱提取量的影响。在每个因素中,设定 5 个水平进行单因素试验,每组实验重复三次,取平均值。

1.2.4.1 不同超声时间对碱蓬草总生物碱提取量的影响 固定料液比为 1:10(g/mL),超声温度为 40 $^{\circ}\text{C}$,乙醇浓度为 75%,采用 1.2.1 的方法提取碱蓬草总生物碱,评价不同的超声时间(10、15、20、25、30 min)对碱蓬草总生物碱提取量的影响。

1.2.4.2 不同超声温度对碱蓬草总生物碱提取量的影响 固定超声时间为 25 min,乙醇浓度为 75%,料液比为 1:10(g/mL),采用 1.2.1 的方法提取碱蓬草总生物碱,评价不同的超声温度(25、30、35、40、45 $^{\circ}\text{C}$)对碱蓬草总生物碱提取量的影响。

1.2.4.3 不同乙醇浓度对碱蓬草总生物碱提取量的影响 固定料液比为 1:10(g/mL),超声时间 25 min,超声温度为 40 $^{\circ}\text{C}$,采用 1.2.1 的方法提取碱蓬草总生物碱,评价不同的浓度的溶剂(55%、65%、75%、85%、95%)对碱蓬草总生物碱提取量的影响。

1.2.4.4 不同料液比对碱蓬草总生物碱提取量的影响 固定超声时间为 25 min,超声温度为 40 $^{\circ}\text{C}$,乙醇浓度为 75%,采用 1.2.1 的方法提取碱蓬草总生物碱,评价不同的料液比(1:8、1:10、1:12、1:14、1:16 g/mL)对碱蓬草总生物碱提取量的影响。

1.2.5 碱蓬草总生物碱的正交试验 根据单因素实验结果采用超声时间、超声温度、乙醇浓度、料液比为考察因素,每个因素选定三个水平,设计 $L_9(3^4)$ 正交试验以确定碱蓬草总生物碱的最优提取工艺。因素水平见表 1。

表 1 正交试验因素与水平设计

Table 1 Factors and levels of orthogonal experiment

水平	因素			
	A:超声时间(min)	B:超声温度($^{\circ}\text{C}$)	C:乙醇浓度(%)	D:料液比(g/mL)
1	20	35	65	1:8
2	25	40	75	1:10
3	30	45	85	1:12

1.2.6 碱蓬草总生物碱抗氧化活性的测定

1.2.6.1 实验分组和处理 将 100 只 4 周龄昆明 SPF 鼠(雌雄各半,体重 20 ± 2 g),随机分为 5 组(碱蓬草总生物碱低、中、高剂量组,高脂对照组,正常对照组)每组 20 只,5 只一笼。正常组给予小鼠基础饲料,高脂组对照组给予高脂饲料,碱蓬草总生物碱低、中、高剂量组给予高脂饲料。将实验室制得的碱蓬草总生物碱与蒸馏水根据小鼠体重(取 20 g)配制成 2、4、8 mg/kg,并对小鼠进行灌胃,试验期间小鼠行自由饮水和摄食,每天上午 9 点进行灌胃,连续 4、8、12、16 周。控制饲养室的温湿度控制在 22~25 $^{\circ}\text{C}$; 40%~60%。

按照高脂饲料配方^[23]的比例实验室自制高脂饮食。胆固醇含量为 1%;猪油含量为 10%;蛋黄粉含量为 10%;胆酸钠含量为 0.1%;基础饲料含量为 78.9%。

将实验小鼠禁食不禁水 12 h,用 20% 乌拉坦溶液 0.1 mL/20 g 将小鼠腹部内注射进行麻醉,腹主动脉取血置于含有肝素钠的真空取血管中。静置 30 min,3500 r/min 后离心 15 min,分离血清之后置于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 处保存。腹部取血完成后,摘取小鼠肝脏立即放入 4 $^{\circ}\text{C}$ 生理盐水中进行清洗,用滤纸吸干表面的水分。称取备用的肝脏 0.2 g,加入 4 $^{\circ}\text{C}$ 的生理盐水 1.8 mL 制成 10% 的肝匀浆,置于离心机中 3500 r/min 后离心 15 min。取上清液(肝匀浆上清液),保存于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 备用。

1.2.6.2 MDA 含量的测定 取 10% 的肝匀浆适量,按照试剂盒要求进行操作,3500 r/min,离心 15 min,取上清液,按照丙二醛(MDA)试剂盒说明书行测定。

1.2.6.3 CAT 含量的测定 取 10% 的肝匀浆适量,3500 r/min,离心 15 min,取上清液,按照过氧化氢酶(CAT)试剂盒说明书进行测定。

1.2.6.4 GSH-Px 含量的测定 取 10% 的肝匀浆适量,3500 r/min,离心 15 min,取上清液 1 mL 进行显色反应,按照谷胱甘肽过氧化物酶(GSH)试剂盒要求进行操作。

1.3 数据处理

实验数据以 $\bar{X} \pm S$ 表示,采用 Origin8 软件做图,SPSS22.0 软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 生物碱鉴别反应结果

通过表 2 可以看出, 在碘-碘化钾反应实验中产生褐色沉淀; 碘化铋钾反应实验中产生红棕色沉淀; 硅钨酸反应实验中产生黄色沉淀; 碘化汞钾反应实验中产生白色沉淀。以上实验均可证明被检测物中含有总生物碱^[19]。

表 2 生物碱鉴别反应
Table 2 Alkaloid identification reaction

反应名称	反应结果	沉淀颜色
碘-碘化钾反应	+	褐色
碘化铋钾反应	+	红棕色
硅钨酸反应	+	黄色
碘化汞钾反应	+	白色

注: “+”表示有沉淀产生。

2.2 单因素实验结果

2.2.1 超声时间对碱蓬草总生物碱提取量的影响 根据图 1 可以看出, 碱蓬草总生物碱的提取量随着超声时间的增长, 提取量也随之增长, 在超声时间为 25 min 时, 碱蓬草总生物碱的最高提取量为 0.58 mg/g。继续增加超声时间, 总生物碱提取量变化平稳稍有下降, 可能是在一定提取时间下随着超声时间增加, 一些生物碱被破坏^[24]。故选择超声时间为 25 min。

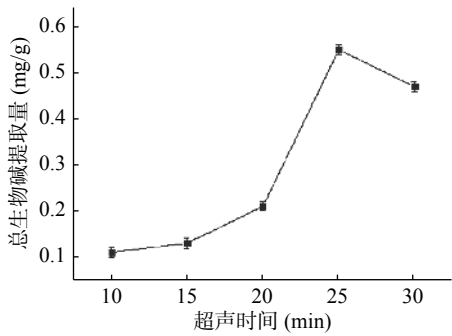


图 1 超声时间对总生物碱提取量的影响
Fig.1 Effects of ultrasonic time on the yield of total alkaloids

2.2.2 超声温度对碱蓬草总生物碱提取量的影响 根据图 2 可以看出, 碱蓬草总生物碱的提取量随着超声温度的升高, 提取量也随之升高, 当温度升高至 40 ℃ 时, 提取量出现最大值。超声温度继续升高时, 碱蓬草总生物碱提取量有所下降, 产生这种情况的原因可能是随着超声温度升高, 一些杂质析出影响了生物碱的提取^[25]。故选择超声温度为 40 ℃。

2.2.3 乙醇浓度对碱蓬草总生物碱提取量的影响 根据图 3 可以看出, 随着乙醇浓度的升高, 碱蓬草总生物碱提取量也随之升高。当乙醇浓度为 75% 时, 碱蓬草总生物碱提取量为 0.58 mg/g。随着乙醇浓度的继续增加总生物碱提取量下降至平稳, 这可能是由于

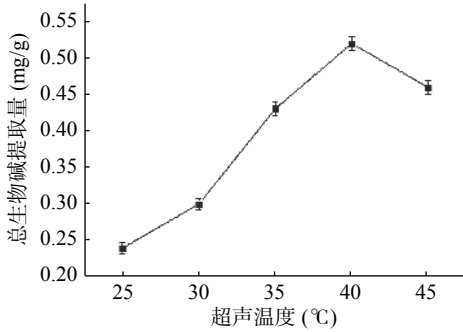


图 2 超声温度对总生物碱提取量的影响
Fig.2 Effects of ultrasonic temperature on the yield of alkaloid

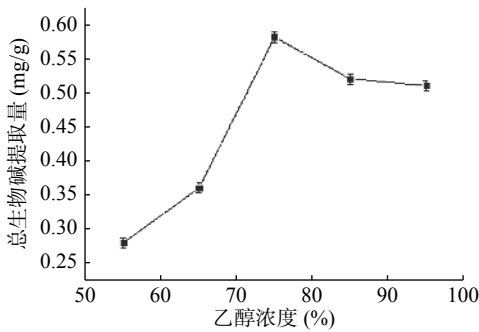


图 3 乙醇浓度对总生物碱提取量的影响
Fig.3 Effects of ethanol concentration on the yield of alkaloid

乙醇浓度继续增加时一些挥发油或糖类极性较低的物质被提取出来, 从而影响了生物碱溶出, 降低生物碱的提取量^[26], 故选择乙醇浓度为 75%。

2.2.4 料液比对碱蓬草总生物碱提取量的影响 根据图 4 可以看出随着提取溶剂量增加, 碱蓬草总生物碱的提取量随之增加。固定乙醇浓度为 75%, 当料液比为 1:10 时, 总生物碱提取量为 0.56 mg/g。继续增加料液比, 碱蓬草总生物碱提取量有所下降。可能是随着溶剂体积的增大导致对碱蓬草的超声不充分^[27], 故选择液料比为 1:10。

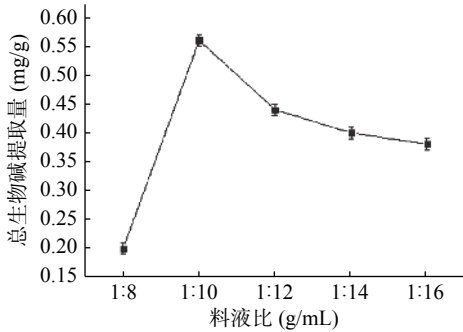


图 4 料液比对碱蓬草总生物碱提取量的影响
Fig.4 Effects of the ratio of material to liquid on the yield of alkaloids

2.3 正交设计试验及结果

由表 3 可知, 极差(R)值的大小反映了实验因素对考察指标的影响程度。R 值越大, 表示实验因素对碱蓬草总生物碱的提取量影响越大。在碱蓬草总生

物碱提取工艺实验中,对总生物碱提取量的影响因素依次为:料液比>超声温度>乙醇浓度>超声时间。可见,超声温度对碱蓬草总生物碱的提取量影响最大,超声时间对碱蓬草总生物碱的影响最小。碱蓬草总生物碱的最佳提取工艺为 $A_1B_3C_3D_2$,即超声时间为 20 min、超声温度 45 ℃、乙醇浓度 85%、料液比 (g/mL)为 1:10。

表 3 正交设计试验及结果
Table 3 Orthogonal test design and results

试验号	A	B	C	D	提取量(mg/g)
1	1	1	1	1	0.22±0.04
2	1	2	2	2	0.56±0.03
3	1	3	3	3	0.58±0.04
4	2	1	2	3	0.32±0.02
5	2	2	3	1	0.26±0.03
6	2	3	1	2	0.58±0.05
7	3	1	3	2	0.54±0.04
8	3	2	1	3	0.32±0.02
9	3	3	2	1	0.48±0.02
k_1	0.453	0.360	0.387	0.320	
k_2	0.400	0.380	0.453	0.573	
k_3	0.447	0.560	0.460	0.407	
R	0.053	0.200	0.073	0.253	

由表 4 可知,料液比与超声温度对碱蓬草总生物碱的提取量具有显著性影响($P<0.05$),超声时间和乙醇浓度对碱蓬草总生物碱的提取量影响不大。

2.4 验证试验

按照 1.2.1 的方法进行验证试验,碱蓬草总生物碱平均提取量为 0.65 mg/g,结果高于正交试验其它组合结果,表明该提取工艺稳定可行。

2.5 碱蓬草总生物碱抗氧化活性实验结果

2.5.1 碱蓬草总生物碱对小鼠体重的影响 在高脂饮食饲养小鼠 4 周时,体重出现显著性差异($P<0.05$),

表 4 正交试验方差分析

Table 4 Analysis of variance of orthogonal test

因素	偏差平方和	自由度	均方	F值	显著性
A	0.005	2	0.0025	0.500	
B	0.073	2	0.0365	7.300	*
C	0.010	2	0.005	1.000	
D	0.099	2	0.0495	9.900	*
误差	0.17	4			

注: * $P<0.05$ 表示具有显著性。

高脂饮食组小鼠体重超过正常组小鼠体重约 8%,高脂饮食饲养小鼠 16 周时小鼠体重出现极显著差异($P<0.01$),高脂饮食组小鼠体重超过正常组小鼠体重约 20%。

2.5.2 碱蓬草总生物碱对小鼠肝脏中 MDA 含量的影响

从表 6 中可知,小鼠的肝脏正常组 MDA 值含量在 2.15~2.70 U/mg Prot 的范围内变化。正常对照组 MDA 含量到 12 周时出现峰值,之后基本处于稳定状态,可能是随着小鼠的年龄增长其抗氧化能力也随之减弱。高脂对照组的小鼠,随着饲养时间的增加,其肝脏中的 MDA 含量与正常组有显著差异($P<0.05$)。与正常对照组及高脂饮食对照组比较,碱蓬草总生物碱的低、中、高剂量组均可以降低小鼠肝脏中 MDA 的含量($P<0.05$),且除高脂饮食组外其余组 MDA 值均在试剂盒说明书的参考范围内。

2.5.3 碱蓬草总生物碱对小鼠肝脏中 CAT 含量的测定

从表 7 中可知,正常组小鼠的肝脏 CAT 值含量在 12.44~16.68 U/mg Prot 的范围内变化。CAT 是生物防御体系中重要的末端氧化酶,其主要是清除体内的过氧化氢,从而对机体有害物质羟基自由的形成^[28]。高脂对照组的小鼠,随着饲养时间的增加,其肝脏中的 CAT 含量与正常组比较显著降低($P<0.05$)。

表 5 喂养高脂饮食小鼠的体重变化(g)

Table 5 Body weight changes of mice fed high-fat diet (g)

组别	4周	8周	12周	16周
正常组	21.7±1.1	23.1±0.9	24.2±0.8	25.1±0.5
高脂饮食组	23.4±1.2 [*]	25.4±1.0 [*]	27.6±1.2 [*]	30.1±0.7 ⁺

注:与正常组比较,*表示 $P<0.05$;与正常组比较,⁺表示 $P<0.01$ 。

表 6 碱蓬草总生物碱对高脂饮食小鼠肝脏 MDA 含量的影响(U/mg Prot)

Table 6 Effects of total alkaloids of *Suaeda salsa* on MDA content in liver of mice fed with high-fat diet(U/ Mg prot)

组别	4周	8周	12周	16周
正常组	10.25±0.10 [#]	10.66±0.04 [#]	10.80±0.13 [#]	10.67±0.04 [#]
高脂对照组	10.62±0.08 [*]	11.02±0.07 [*]	11.17±0.13 [*]	10.99±0.22 [*]
碱蓬草总生物碱低剂量组	10.10±0.06 ^{*#}	9.89±0.10 ^{*#}	9.83±0.12 ^{*#}	9.77±0.16 ^{*#}
碱蓬草总生物碱中剂量组	9.98±0.08 ^{*#}	9.71±0.04 ^{*#}	9.66±0.09 ^{*#}	9.58±0.09 ^{*#}
碱蓬草总生物碱高剂量组	9.62±0.07 ^{*#}	9.47±0.11 ^{*#}	9.44±0.07 ^{*#}	9.38±0.12 ^{*#}

注:与正常对照组比较,*表示 $P<0.05$;与高脂对照组比较,[#]表示 $P<0.05$ 。

表 7 碱蓬草总生物碱对高脂饮食小鼠肝脏 CAT 含量的影响

Table 7 Effects of total alkaloids of *Suaeda salsa* on cat content in liver of mice fed with high-fat diet

组别	4周	8周	12周	16周
正常组	12.44±0.73 ⁺	16.09±0.38 ⁺	16.13±0.08 ⁺	16.68±0.57 ⁺
高脂对照组	10.90±0.92 [*]	12.05±0.41 [*]	13.31±0.44 [*]	13.94±0.45 [*]
碱蓬草总生物碱低剂量组	15.03±0.60 ⁺⁺	17.50±0.41 ⁺⁺	17.51±0.23 ⁺⁺	18.40±0.59 ⁺⁺
碱蓬草总生物碱中剂量组	16.28±0.80 ⁺⁺	17.53±0.51 ⁺⁺	19.54±0.54 ⁺⁺	20.05±0.55 ⁺⁺
碱蓬草总生物碱高剂量组	16.54±0.75 ⁺⁺	20.57±0.83 ⁺	20.75±0.48 ⁺⁺	21.20±0.90 ⁺⁺

注: 与正常对照组比较, *表示 $P<0.05$; 与高脂对照组比较, +表示 $P<0.05$; 表8同。

表 8 碱蓬草总生物碱对高脂饮食小鼠肝脏 GSH-Px 含量的影响

Table 8 Effects of total alkaloids of *Suaeda salsa* on GSH-Px content in liver of mice fed with high-fat diet

组别	4周	8周	12周	16周
正常组	669.74±4.40 [*]	673.86±2.96 [*]	680.31±3.09 [*]	774.19±2.41 [*]
高脂对照组	602.31±1.68 [*]	618.22±2.97 [*]	621.92±2.40 [*]	743.27±2.17 [*]
碱蓬草总生物碱低剂量组	733.95±3.33 ⁺⁺	860.77±3.76 ⁺⁺	980.38±5.91 ⁺⁺	982.94±2.53 ⁺
碱蓬草总生物碱中剂量组	818.57±2.43 ⁺⁺	894.53±3.12 ⁺⁺	980.08±3.03 ⁺⁺	1004.07±2.05 [*]
碱蓬草总生物碱高剂量组	852.56±2.87 ⁺⁺	1012.56±3.09 ⁺⁺	1025.49±3.11 ⁺⁺	1078.09±3.02 ⁺⁺

与正常对照组及高脂饮食对照组比较, 碱蓬草总生物碱的低、中、高剂量组均可以增加小鼠肝脏中 CAT 的含量, 并且出现了剂量效应的关系($P<0.05$)。通过分析表 7 可知, 碱蓬草总生物碱对减少高脂饮食小鼠的肝脏中 CAT 含量有效, 随着饲养时间的增加, 小鼠肝脏中的 CAT 含量也随之增加。

2.5.4 碱蓬草总生物碱对小鼠肝脏中 GSH-Px 含量的测定 GSH-Px 是一种非常重要的催化氧化酶, 广泛分布在细胞内, 不仅能够清除体内的自由基, 还能保护细胞膜的功能与结构不被破坏^[29-30]。由表 8 可知, 正常组小鼠肝脏中 GSH-Px 指标随着饲养时间的延长 GSH-Px 值也随之增加, 高脂对照组与正常对照组比较 GSH-Px 显著降低($P<0.05$), 可知高脂饮食对小鼠的活性可以造成影响。饲喂高、中、低 3 个剂量的碱蓬草总生物碱与正常组及高脂对照组相比, 随着饲养时间的增加, 肝脏中的 GSH-Px 值显著性增加($P<0.05$), 高剂量组效果最好。说明碱蓬草总生物碱能够提高小鼠肝脏中 GSH-Px 的活性。

3 结论

碱蓬草总生物碱的最佳提取工艺为: 超声时间 20 min、超声温度 45 ℃、乙醇浓度 85%、料液比 1:10(g/mL), 在此条件下, 碱蓬草总生物碱的提取量为 0.65 mg/g。抗氧化活性实验表明, 碱蓬草总生物碱通过显著减少小鼠肝脏中 MDA 含量, 增大小鼠肝脏中 CAT 及 GSH-Px 的活性 ($P<0.05$), 进而达到了抗氧化的目的, 抗氧化的效果随着碱蓬草总生物碱剂量的增大而增加。本实验为进一步开发与利用碱蓬草资源提供了一定的理论依据, 可作为碱蓬草食品方向的研究基础。

参考文献

[1] 李雪. 碱蓬草在盘锦红海滩公园建设工程中的应用[J]. 中国园艺文摘, 2017, 33(1): 113-114.

[2] 薛菲, 刘顺刚, 张祥胜, 等. 盐地碱蓬叶中可溶性膳食纤维的提取与抗氧化活性[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(1): 175-178.

[3] 崔洋洋, 郭庆梅, 赵金凤, 等. 中药碱蓬的文献考证与研究进展[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(10): 2645-2646.

[4] 钟尉方, 王岳鸿, 刘红英. 响应面法优化盐地碱蓬草总黄酮提取工艺研究[J]. 核农学报, 2015, 29(6): 1135-1141.

[5] 张泽生, 王丽, 杨建波, 等. 盐地碱蓬的化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 2012, 12(24): 775-776, 813.

[6] 刘欣鑫, 韩冠英, 郭斌, 等. 响应面分析法优化碱蓬多糖的脱色工艺[J]. 食品工业科技, 2018, 39(4): 131-136.

[7] Su-Qiu Pang, Guo-Quan Wang, Jun-Sheng Lin, et al. Cytotoxic activity of the alkaloids from *Broussonetia papyrifera* fruits[J]. Pharmaceutical Biology, 2014, 52(10): 1-5.

[8] Zhang J, Chen X, Hu Z, et al. Quantification of noradrenaline and dopamine in *Portulaca oleracea* L. by capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection[J]. Analytica Chimica Acta, 2002, 471(2): 203-209.

[9] 曹明哲, 季宇彬, 辛国松, 等. 天然植物中生物碱类抗肿瘤药物研究进展[J]. 亚太传统医药, 2015, 11(7): 59-61.

[10] 薛梦莹, 李璐, 张华峰, 等. 3 种小檗科植物类黄酮、生物碱含量与抑菌活性的季节变化规律[J]. 草业科学, 2018, 35(11): 80-87.

[11] Tadaaki Satou, Masataka Koga, Rinako Matsushashi, et al. Assay of nematocidal activity of isoquinoline alkaloids using third-stage larvae of *Strongyloides ratti* and *S. venezuelensis*[J]. Veterinary Parasitology, 2002, 104(2): 131-138.

[12] Neganova M, Afanas S, Klochkov G, et al. Mechanisms of antioxidant effect of natural sesquiterpene lactone and alkaloid derivatives[J]. Bulletin of Experimental Biology and Medicine,

2012, 152(6): 720–722.

- [13] Korotkov A, Li H, Chapman C W, et al. total syntheses and biological evaluation of both enantiomers of several hydroxylated dimeric nuphar alkaloids[J]. *Angewandte Chemie*, 2015, 54(36): 10604–10607.
- [14] 田文月, 王珊, 时伟朋, 等. 不同产地莲子心及其部分化学成分抗氧化活性研究[J]. *中华中医药学刊*, 2018(11): 2694–2697.
- [15] 李璐, 安叶娟, 乔春雷, 等. 淫羊藿生物碱的超声波-微波协同提取及其对Hela细胞的抑制作用[J]. *植物学报*, 2018, 53(3): 56–67.
- [16] Warashina T, Noro T. Steroidal glycosides from the roots of *Asclepias curassavica*[J]. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 2008, 56(3): 315–322.
- [17] 杨旭. 桑叶中总生物碱提取工艺优化及降血糖活性研究[D]. 南京: 南京理工大学, 2012.
- [18] 冯霞, 孙鹏, 易若琨, 等. 巴莲莲子生物碱提取物对CCl₄诱导小鼠肝损伤的预防效果[J]. *食品科学*, 2017(17): 216–222.
- [19] 王瑞洲. 民族药老瓜头总生物碱的镇痛活性研究[D]. 宁夏: 宁夏医科大学, 2019.
- [20] 杨雅欣, 冯小翠, 徐仕娟, 等. 紫金龙总生物碱回流提取工艺的优化[J]. *中成药*, 2018, 40(8): 1859–1861.
- [21] 李杰, 李斌, 许彬, 等. 艾草生物碱提取工艺优化研究[J]. *食品研究与开发*, 2018, 39(13): 59–64.
- [22] 杨园园, 史娟, 徐添鑫. 如意草生物碱提取及抑菌活性研究[J]. *食品工业科技*, 2017, 38(2): 277–281.
- [23] Giardino R, Giavaresi G, Fini M, et al. The role of different chemical modifications of superoxide dismutase in preventing a prolonged muscular ischemia/reperfusion injury[J]. *Arit Cells Blood Substit Immobil Biotechnol*, 2002, 30(3): 189–198.
- [24] 尚潇潇, 朱琳, 罗孝菁, 等. 喜树叶中生物碱成分提取工艺优化及抗菌抗氧化活性研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2018, 30(12): 2150–2156.
- [25] 商小金, 钱俊青, 郭辉. 响应面法优化延胡索生物碱乙醇提取工艺研究[J]. *林产化学与工业*, 2010, 30(2): 32–36.
- [26] 郑永清, 曾凡杰, 单虹宇, 等. 响应面法优化玛咖生物碱提取工艺[J]. *食品与发酵科技*, 2017, 53(3): 33–38.
- [27] 潘方方, 李秀梅, 张海英, 等. 响应面法优化长裂苦苣菜总生物碱提取工艺[J]. *食品工业科技*, 2018, 39(19): 200–205.
- [28] Nordgren M, Fransen M. Peroxisomal metabolism and oxidative stress[J]. *Biochimie*, 2014, 98(3): 56–62.
- [29] Meigs J B, Larson M G, Fox C S, et al. Association of oxidative stress, insulin resistance, and diabetes risk phenotypes: The framingham offspring study[J]. *Diabetes Care*, 2007, 30(10): 2529–2535.
- [30] Chung S S, Kim, Youn B S, et al. Glutathione Peroxidase 3 mediates the antioxidant effect of Peroxisome Proliferator-activated receptor γ in human skeletal muscle cells[J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2009, 29(1): 20–30.