

玛咖总生物碱检测方法的建立及提取优化

王 婧^{1,2}, 邓辰辰^{1,2}, 徐振秋^{1,2}, 毕宇安^{1,2}, 王振中^{1,2}

(1.江苏康缘药业股份有限公司, 江苏连云港 222001;

2.中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏连云港 222001)

摘 要:建立玛咖总生物碱含量的测定方法, 对不同产地的玛咖总生物碱含量进行比较研究。以氧化苦参碱作为对照品, 筛选酸性染料比色法条件, 并利用响应面分析法优化样品处理方法, 建立测定方法。结果酸性染料比色法的条件为缓冲液(pH=3.5)加入量3 mL, 溴甲酚绿加入量3 mL, 测定波长为412 nm; 最佳样品处理条件为液料比23:1(mL/g)、提取温度82 ℃、提取时间2.1 h。此条件下, 云南黄色玛咖的总生物碱含量为1.3 mg/g, 在五种玛咖中, 西藏黑玛咖的总生物碱含量最高为8.4 mg/g。此法操作简便、精密度高、稳定性好、具有良好的可重复性, 可用于玛咖中总生物碱的含量测定。

关键词:酸性染料比色法, 玛咖, 响应面, 总生物碱

Establishment of content determination and optimization extraction condition of total alkaloids in Maca

WANG Jing^{1,2}, DENG Chen-chen^{1,2}, XU Zhen-qiu^{1,2}, BI Yu-an^{1,2}, WANG Zhen-zhong^{1,2}

(1.Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China;

2.State Key Laboratory of New-tech for Chinese Medicine Pharmaceutical Process, Lianyungang 222001, China)

Abstract: To establish a method for the assay of the total alkaloids in Maca, and investigate the contents from different origins. With the oxymatrine as reference, the method was established by purified acid dye colorimetry and optimized the extraction condition by response surface method. Acid dye colorimetric conditions was as follows: adding pH3.5 buffer 3 mL and bromocresol green colour reagent 3 mL, then determining at the wavelength 412 nm. The optimal extraction conditions was found to be ratio of liquid to solid 23:1 (mL/g), temperature 82 ℃, time 2.1 h. The extraction efficiency of total alkaloids from Yunnan yellow Maca under these conditions was 1.3 mg/g compared to 8.4 mg/g from Tibet black Maca, highest among the five species investigated. This method was simple, highly sensitive, accurate and reproducible, which could be used for determination of the total alkaloids in Maca.

Key words: acid dye colorimetry; MACA; response surface; total alkaloids

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2016)02-0073-06

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2016.02.006

玛咖 (*Lepidium meyenii* Walp) 为十字花科草本植物, 原产于秘鲁, 现今西藏等高原地区已经成功引种玛咖。玛咖具有抗疲劳、抗氧化、减少前列腺增生、缓解更年期综合症、改善性功能等功效^[1]。玛咖中含有丰富的蛋白质、氨基酸、碳水化合物及微量元素, 还含有特有的玛咖酰胺、玛咖烯等酰胺类生物碱次生代谢物质^[2-3]。生物碱是多存在于植物体内的一类含氮的碱性有机物, 目前从玛咖中得到的生物碱主要有以下几类: 玛咖酰胺和玛咖烯、羟基吡啶衍生物类、B-咔琳生物碱、咪唑生物碱^[4-7]。玛咖生物碱是玛咖中主要功效物质之一, 研究表明, 玛咖生物碱能

全面调理人体机能, 平衡内分泌^[4,8], 具有抗氧化、抗肿瘤^[9-10]及提高动物成熟卵泡小体的数量和精子的质量, 从而可显著提高哺乳动物生育力^[11]。

常用的生物碱含量测定方法有酸碱滴定法、分光光度计法、比色法等。由于提取物中生物碱数目多, 结构复杂, 对其总生物碱含量测定较多使用酸碱滴定法或酸性染料比色法, 其中酸碱滴定法对含有一定色素的生物碱测定准确性欠缺, 酸性染料比色法近年来应用较多, 常用其测定总生物碱的含量, 结果较为准确^[12-15]。本实验以氧化苦参碱为对照品, 采用酸性染料比色法, 建立玛咖总生物碱含量测定方

收稿日期: 2015-05-29

作者简介: 王婧(1984-), 女, 硕士, 中级工程师, 研究方向: 功能性保健食品研究与开发, E-mail: annaliliwin@163.com。

法,并比较了不同产地、不同品种玛咖中总生物碱的含量。

生物碱大多采用溶剂提取法,常用的提取方法主要有水或酸水提取法、醇类溶剂提取法等,其提取方式主要有浸渍法、煎煮法、热回流法、超声提取法等^[9]。目前玛咖总生物碱提取主要以醇类为提取溶剂,辅助超声波或回流等条件,现有文献缺乏对玛咖中总生物碱的提取工艺优化研究,本文采用响应面优化样品前处理方法,建立适宜的玛咖总生物碱提取方法。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

玛咖超微粉 西藏产黄色玛咖、紫色玛咖、黑色玛咖,云南产黄色玛咖,秘鲁产黑色玛咖;氧化苦参碱对照品 中国食品药品检定研究院;其他试剂 均为分析纯;水 超纯水。

UV-2700型紫外可见分光光度计 日本岛津;TDL-5-A型离心机 上海安亭科学仪器厂;MP511型pH计 上海三信仪表厂;FA1004电子天平 上海舜宇恒平科学仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 溶液的制备

1.2.1.1 玛咖总生物碱提取液的制备 称量玛咖超微粉2 g,加20倍量纯水,以80℃水浴提取2 h,提取液4000 r/min离心15 min,收集上清液减压浓缩至1/4体积得浓缩浸膏,以10 mL 2%的盐酸溶解,过滤,残渣用10 mL 2%的盐酸溶解,合并滤液。用浓氨水调节滤液pH至2~3,等体积氯仿萃取三次。将酸提取液用5 mol/L NaOH溶液调节pH至9~10,等体积氯仿萃取三次,合并萃取液,蒸发浓缩至10 mL,即得玛咖总生物碱提取液^[17]。

1.2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取干燥至恒重的氧化苦参碱对照品20.56 mg,置于200 mL容量瓶中,加氯仿稀释至刻度,摇匀,即得质量浓度为0.1028 mg·mL⁻¹的对照品溶液。

1.2.1.3 酸性染料的配制 取0.1 g溴甲酚绿粉末,于研钵中,加入2.8 mL的0.05 mol/L NaOH,研磨至粉末充分溶解后,加入200 mL的蒸馏水稀释,移入具塞的广口瓶中备用。

1.2.1.4 邻苯二甲酸盐缓冲液的配制 取邻苯二甲酸氢钾10 g,加水900 mL,搅拌使溶解,用NaOH溶液(或稀盐酸)调节pH,加水稀释至1000 mL,混匀,即得。

1.2.2 玛咖总生物碱检测——酸性染料比色法的建立

1.2.2.1 测定波长的选择 分别精密吸取氧化苦参碱对照品溶液0.50 mL和玛咖总生物碱提取液0.1 mL,加入邻苯二甲酸氢钾缓冲液(pH=4.0)5 mL,溴甲酚绿溶液2 mL于分液漏斗中,振摇1 min,以三氯甲烷10 mL萃取,静置1 h,使水层和三氯甲烷层分清后,向分出的氯仿层加入0.20 g无水硫酸钠,分别在300~600 nm进行扫描。

1.2.2.2 显色剂用量的选择 精密吸取氧化苦参碱对照品溶液0.50 mL,加入邻苯二甲酸氢钾缓冲液

(pH=4.0)5 mL,分别加入溴甲酚绿显色剂1、2、3、4、5、6、7 mL于分液漏斗中,其余步骤按1.2.2.1法操作,同时以三氯甲烷做为空白溶液,于412 nm处测定其吸光度值。

1.2.2.3 缓冲液pH的选择 精密吸取氧化苦参碱对照品溶液0.50 mL,分别加入pH为3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0的邻苯二甲酸氢钾盐缓冲液5 mL,及溴甲酚绿溶液3 mL于分液漏斗中,其余步骤按1.2.2.1法操作,同时以三氯甲烷做为空白溶液,于412 nm处测定其吸光度值。

1.2.2.4 缓冲液用量的选择 精密吸取氧化苦参碱对照品溶液0.50 mL,分别加入邻苯二甲酸氢钾缓冲液(pH=3.5)2、3、4、5、6、7、8 mL,及溴甲酚绿溶液3 mL于分液漏斗中,其余步骤按1.2.2.1法操作,同时以三氯甲烷做为空白溶液,于412 nm处测定其吸光度值。

1.2.3 酸性染料比色法的方法学考察

1.2.3.1 标准曲线的制备 分别准确吸取氧化苦参碱标准品溶液0.00、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00 mL,以氯仿定容至1 mL,分别取邻苯二甲酸氢钾缓冲液(pH=3.5)3 mL,及溴甲酚绿溶液3 mL于分液漏斗中,振摇1 min,以三氯甲烷10 mL萃取,静置1 h,使水层和三氯甲烷层分清后,取氯仿层加入0.20 g无水硫酸钠,同时以三氯甲烷做为空白溶液,于412 nm处测定其吸光度值。以氧化苦参碱含量为纵坐标,以吸光度值为横坐标作标准曲线。

1.2.3.2 精密度实验 分别精密吸取氧化苦参碱标准品溶液0.20、0.50、0.80 mL,以氯仿定容至1 mL,其余步骤按1.2.3.1法操作,平行测定6次吸光度值。

1.2.3.3 稳定性实验 精密吸取玛咖总生物碱提取液0.1 mL,分别于0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 h依法测定吸光度值。

1.2.3.4 重复性实验 精密称取玛咖超微粉6份各约2.0 g,按供试品制备项下方法制备,精确吸取供试液0.1 mL,其余按1.2.3.1操作,平行测定6次吸光度值。

1.2.3.5 加样回收率实验 精密称取玛咖超微粉6份各约1.0 g,分别加入氧化苦参碱对照品溶液适量,按供试品制备项下方法制备。精确吸取供试液0.1 mL,其余按1.2.3.1操作,于412 nm处测吸光度值,计算回收率。

1.2.4 玛咖生物碱的提取优化

1.2.4.1 单因素实验设计 按液料比20:1 (mL/g)取对应体积纯水、甲醇、乙醇分别加入玛咖超微粉中,水浴提取2 h,按照1.2.1.1项下方法制得供试品溶液,测定吸光度值。同时考察纯水液料比10:1、15:1、20:1、25:1、30:1 (mL/g)对玛咖中总生物碱得率的影响。

按液料比20:1 (mL/g)取对应体积纯水加入玛咖超微粉中,每次水浴提取2 h,分别考察提取温度50、60、70、80、90℃对玛咖中总生物碱得率的影响。

按液料比20:1 (mL/g)取对应体积纯水加入玛咖超微粉中,提取温度80℃,分别考察水浴提取1、2、3、4、5 h对玛咖中总生物碱得率的影响。

总生物碱得率(%)=[比色液生物碱含量(mg)×

供试品溶液体积 (10 mL) / [比色液中供试品溶液体积 (0.1 mL) × 供试品质量 (g) × 10³] × 100

1.2.4.2 响应面实验设计 根据Box-Behnken的中心组合实验设计原理和单因素实验, 确定各因素的取值水平范围, 响应面实验因素水平设置见表1。

表1 响应面实验因素水平表

Table 1 The experimental factors and levels of response surface methodology

因素	水平		
	-1	0	1
A 液料比 (mL/g)	10	20	30
B 提取温度 (°C)	70	80	90
C 提取时间 (h)	1	2	3

1.2.5 样品测定 取不同产地、不同种类5种玛咖超微粉, 每种平行操作3次, 以优化后的处理方法进行供试品制备, 分别精密吸取0.1 mL, 其余步骤按照1.2.3.1法测定, 记录吸光度值并计算总生物碱含量, 以氧化苦参碱计。以响应面实验得到的最优组合进行生物碱的提取, 比较5种玛咖的总生物碱含量。

总生物碱含量 (mg/g) = [比色液生物碱含量 (mg) × 供试品溶液体积 (10 mL) / 比色液中供试品溶液体积 (0.1 mL) × 供试品质量 (g)]

2 结果与分析

2.1 酸性染料比色法的确定

2.1.1 测定波长的确定 实验结果如图1所示, 发现在412 nm处溴甲酚绿与标准品溶液和供试品溶液中的总生物碱形成的络合物均具有稳定吸收, 故选412 nm为其检测波长。

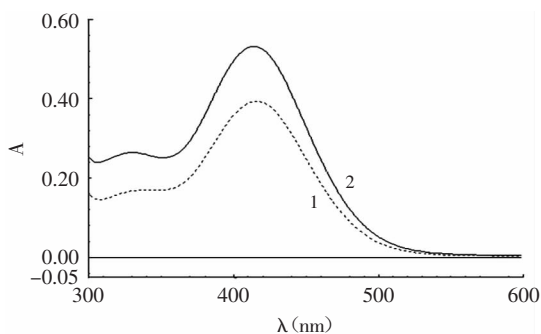


图1 紫外-可见吸收图谱

Fig.1 UV-Vis absorption spectra

注: 1. 氧化苦参碱对照品溶液; 2. 玛咖供试品溶液。

2.1.2 显色剂用量的确定 实验结果如图2所示, 显色剂用量为3 mL时, 氧化苦参碱对照品与显色剂形成的络合物有最大吸光度值, 因此确定溴甲酚绿显色剂用量为3 mL。

2.1.3 缓冲液 pH的确定 实验结果如图3所示, 氧化苦参碱对照品在缓冲液pH3.5处有最大吸光度值, 因此选pH3.5为缓冲溶液的pH。

2.1.4 缓冲液用量的确定 实验结果如图4所示, 氧化苦参碱对照品在缓冲液用量为3 mL处有最大吸光

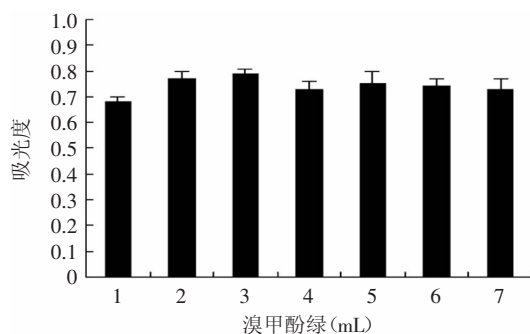


图2 不同显色剂用量下的吸光度

Fig.2 Absorbance of the different amount of reagent

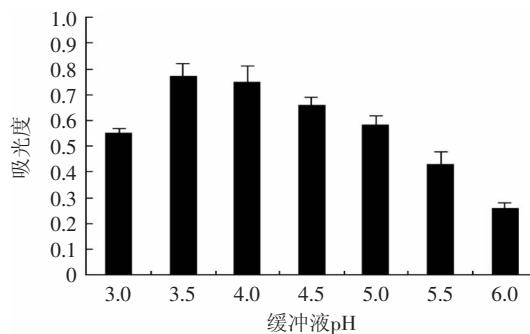


图3 不同缓冲液pH下的吸光度

Fig.3 Absorbance of the different amount of color buffer pH

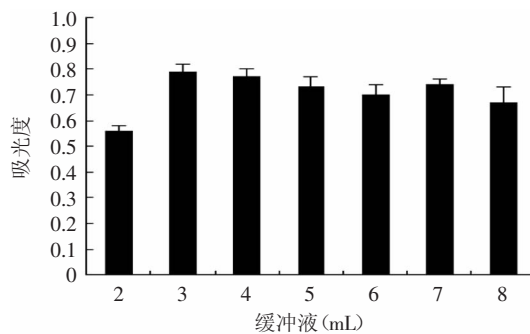


图4 不同缓冲液用量下的吸光度

Fig.4 Absorbance curve of different the amount of buffer

度值, 因此选缓冲液的用量为3 mL。

2.2 酸性染料比色法的方法学考察

2.2.1 标准曲线的制备 经实验数据处理, 得出回归方程 $y = 6.5695x - 0.0004$, $R^2 = 0.9996$ 。

2.2.2 精密度实验 采用同样方法连续测定同一浓度样品6次, 吸光度RSD为1.65% ($n=18$), 表明精密度符合要求。

2.2.3 稳定性实验 依法测得不同时间点吸光度值, 结果吸光度RSD为0.68%, 表明在3 h内吸光度值稳定。

2.2.4 重复性实验 结果见表2, 依法测得6批样品吸光度, 结果平均总生物碱含量为2.7 mg/g, RSD值为1.79%, 可知本法重复性良好, 符合含量测定的要求。

2.2.5 加样回收率实验 结果见表3, 平均回收率为95.67%, RSD为2.01%。

表2 重复性实验结果($n=6$)Table 2 Results of the reproducibility test($n=6$)

序号	样品量(g)	总生物碱含量(mg/g)	平均(mg/g)	RSD(%)
1	2.0012	3.0		
2	1.9885	2.3		
3	2.0156	2.8		
4	2.1260	2.2	2.7	1.79
5	2.0006	3.5		
6	2.0014	2.5		

表3 加样回收率实验结果($n=6$)Table 3 Results of the recovery test($n=6$)

序号	样品量(g)	样品中的量(mg)	加入量(mg)	测得值(mg)	回收率(%)	平均(%)	RSD(%)
1	1.0005	2.7014	2.8000	5.3611	94.99		
2	1.0024	2.7065	2.8000	5.4505	98.00		
3	0.9999	2.6998	2.8000	5.2926	92.60		
4	1.0007	2.7019	2.8000	5.3787	95.60	95.67	2.01
5	0.9996	2.6989	2.8000	5.3701	95.40		
6	1.0010	2.7027	2.8000	5.4307	97.43		

2.3 玛咖总生物碱提取优化实验结果

2.3.1 单因素实验结果 比较不同提取方式对玛咖总生物碱得率的影响,由图5可见水>甲醇>乙醇。而后考察不同比例水对其影响,结果见图6~图8,液料比20(mL/g)纯水,80℃水浴2 h能最大限度提取玛咖超微粉中总生物碱。适量的提取溶剂充分保证总生物碱提取得率最高,而提取溶剂过多会增加后续萃取等处理步骤损失率。随着温度升高,分子热运动加

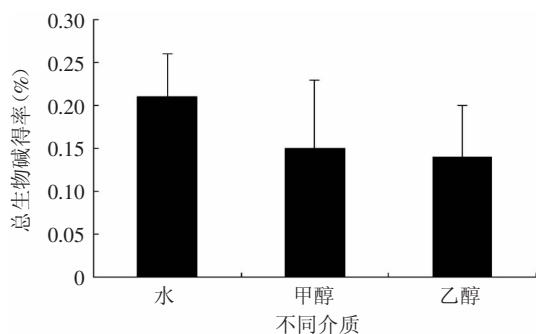


图5 不同介质对玛咖总生物碱提取量的影响

Fig.5 Effect of different medium on extraction rate

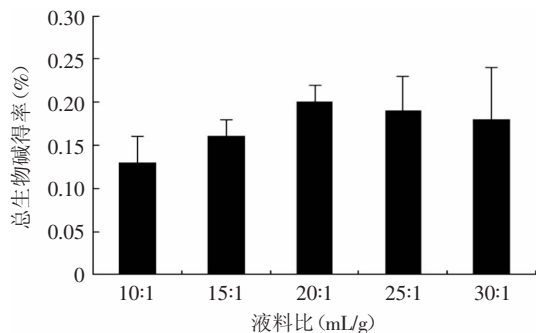


图6 液料比对玛咖总生物碱提取量的影响

Fig.6 Effect of liquid/solid ratio on extraction rate

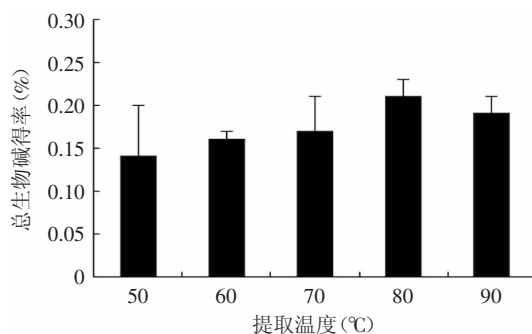


图7 提取温度对玛咖总生物碱提取量的影响

Fig.7 Effect of temperatures on extraction rate

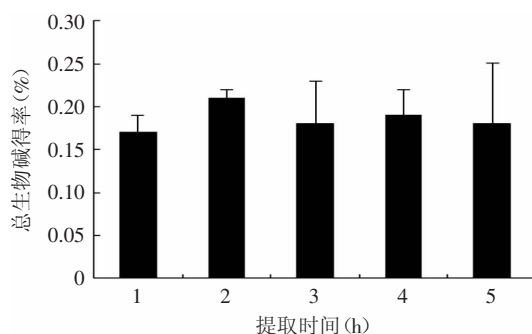


图8 提取时间对玛咖总生物碱提取量的影响

Fig.8 Effect of extraction time on extraction rate

快,从而提高提取得率,由于玛咖酰胺等生物碱在高温下不稳定,其结构可能会发生分解,因此随后继续增加温度,生物碱得率反而降低。随着提取时间的增加,提取率先上升后降低,其原因在于生物碱溶出量在一定时间点达到饱和状态,其提取率达到平衡,进一步增加提取时间,其生物碱发生分解变化。

2.3.2 响应面实验结果

2.3.2.1 响应面分析 采用Design-Expert 8.0软件进

表4 响应面分析方案及实验结果

Table 4 Box-Behnken experimental design and results

实验号	A	B	C	总生物碱得率(%)
1	1	-1	0	0.25
2	0	0	0	0.19
3	0	1	-1	0.27
4	1	0	-1	0.24
5	0	1	1	0.21
6	-1	-1	0	0.27
7	-1	0	-1	0.03
8	0	-1	-1	0.08
9	-1	0	1	0.07
10	1	0	1	0.09
11	0	-1	1	0.15
12	0	0	0	0.09
13	-1	1	0	0.04
14	0	0	0	0.13
15	0	0	0	0.09
16	0	0	0	0.27
17	1	1	0	0.15

表5 回归统计分析表

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	p值
模型	0.11	9	0.013	96.10	<0.0001
A	0.018	1	0.018	136.59	<0.0001
B	1.125E-004	1	1.125E-004	0.85	0.3869
C	0.012	1	0.012	90.91	<0.0001
AB	3.025E-003	1	3.025E-003	22.89	0.0020
AC	1.225E-003	1	1.225E-003	9.27	0.0187
BC	1.000E-004	1	1.000E-004	0.76	0.4132
A ²	0.027	1	0.027	203.93	<0.0001
B ²	0.019	1	0.019	145.18	<0.0001
C ²	0.025	1	0.025	191.38	<0.0001
失拟项	1.250E-004	3	4.167E-005	0.21	0.8859
纯误差	8.000E-004	4	2.000E-004		
合计	0.12	16			

行响应面分析,以总生物碱得率为响应值的回归方程: $Y=0.26+0.047A+3.750E-003B+0.039C+0.028AB+0.018AC-5.000E-003BC-0.080A^2-0.067B^2-0.078C^2$ 。模型方差分析结果表明(见表4、表5),该模型F值为96.10($p<0.0001$),说明回归模型极显著。失拟项 $p=0.8859>0.05$,表明该模型选择合理,可以用回归方程对配方进行预测和分析。该方程相关系数为0.11/0.12=91.67%,说明响应值的变化有91.67%来源于所选变量。综上说明该模型方程可以较好地描述各因素与响应值之间的真实关系,可以利用该回归方程确定最佳前处理工艺条件。

从三因素对玛咖总生物碱得率的影响来看,液料比(A)和提取时间(C)的影响极显著($p<0.01$),AB及AC的交互项回归系数均显著($p<0.01$ 或 $p<0.05$),表明液料比、提取温度及提取时间有一定的交互作用,而其他项之间的影响不显著除。由F值的大小可以推断,在所选择的实验范围内,3个因素对玛咖总生物碱得影响的排序为液料比(A)>提取时间(C)>提取温度(B)。从交互作用来看,AB>AC>BC。

比较三维响应面图(图9),液料比与提取温度的交互作用响应曲面图的等高线为椭圆形,说明因素间交互作用对玛咖总生物碱得率的影响极显著,其曲线较陡峭;液料比与提取时间的影响相比次之,其曲线较为平滑。比较响应面三维图可知,在所选范围内存在极值,即响应面最高点。通过以上分析发现,对于玛咖总生物碱得率,提取时间和提取温度的影响比较明显,当长时间提取及温度过高时,会破坏生物碱结构,从而使玛咖总生物碱得率下降。

2.3.2.2 验证实验 通过对回归方程取一阶偏导,对二次多项式数学模型的解逆矩阵,求出最佳提取条件:液料比23.38:1、提取温度81.69℃,提取时间2.11 h,此时生物碱含量可达0.27%。校正后的实验条件为液料比23:1、提取温度82℃,提取时间2.1 h,此时咖总生物碱的平均含量为0.29%±0.09%。与理论预测值基本吻合进行实验,优化效果显著,说明通过响应面优化得回归方程具有一定的实践指导意义。

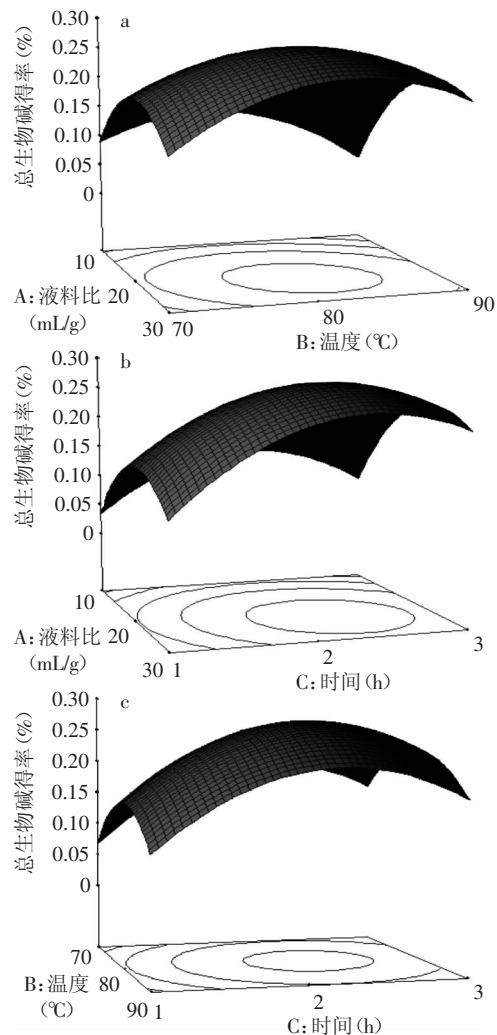


图9 各两因素交互作用的响应面

Fig.9 Response surface of all two factor interactive effects on extraction yield of total alkaloids

2.4 不同产地玛咖中总生物碱含量测定

取不同产地、不同种类的玛咖测定含量,表6结果显示,各产地玛咖总生物碱质量分数均有一定差异,西藏黑玛咖含量最高,云南黄玛咖含量最低。

表6 不同产地、不同品种玛咖总生物碱含量

Table 6 Maca total alkaloid content of different regions, different varieties

产地	总生物碱含量(mg/g)	RSD(n=3)
西藏黄色玛咖	2.9	1.1
西藏紫色玛咖	4.5	1.4
西藏黑色玛咖	8.4	1.5
云南黄色玛咖	1.3	1.2
秘鲁黑色玛咖	7.1	1.8

3 结论

本实验对酸性染料比色法和样品前处理进行了比较详细的研究,确定了最佳比色条件为缓冲液(pH=3.5)加入量3 mL,溴甲酚绿加入量3 mL,测定波

(下转第81页)

的抗氧化能力随其添加浓度的增加而增强,呈现良好的剂量-效应关系。藜麦作为最适宜人类的全营养食品,应当进一步分离和鉴定其抗氧化活性成分,确定藜麦抗氧化作用的物质基础;还应进一步深入探讨藜麦体内抗氧化作用及抗氧化机理,从而为藜麦资源的深层次综合利用提供科学理论依据。

参考文献

- [1] Jacobsen SE. The worldwide potential for quinoa(*Chenopodium quinoa* Willd.)[J]. Food Reviews International, 2003, 19(1-2): 167-177.
- [2] 王晨静, 习武, 陆国权, 等. 藜麦特性及开发利用研究进展[J]. 浙江农林大学学报, 2014, 31(2): 296-301.
- [3] 王黎明, 马宁, 李颂, 等. 藜麦特性及开发利用研究进展[J]. 食品工业科技, 2014, 35(1): 381-385.
- [4] 黄杰, 杨发荣. 藜麦在甘肃的研发现状及前景[J]. 甘肃农业科技, 2015(1): 49-52.
- [5] 周海涛, 刘浩, 么杨, 等. 藜麦特性及开发利用研究进展[J]. 植物遗传资源学报, 2014, 15(1): 222-227.
- [6] 陆敏佳, 蒋玉蓉, 陆国权, 等. 利用SSR标记分析藜麦品种的遗传多样性[J]. 核农学报, 2015, 29(2): 260-269.
- [7] Gupta RK, Patel AK, Shah N, et al. Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer: a review[J]. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 2014, 15(11): 4405-4409.
- [8] Navarro-Yepes J, Burns M, Anandhan A, et al. Oxidative stress, redox signaling, and autophagy: cell death versus survival[J]. Antioxidants & Redox Signaling, 2014, 21(1): 66-85.
- [9] Pisoschi AM, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: a review[J]. European Journal of Medicinal

Chemistry, 2015, 97: 55-74.

- [10] 马婷婷, 田呈瑞, 马锦锦, 等. 黄参茎叶中酚类提取物的抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(8): 109-113.
- [11] Vulic JJ, Cebovic TN, Canadanovic-Brunet JM, et al. *In vivo* and *in vitro* antioxidant effects of beetroot pomace extracts[J]. Journal of Functional Foods, 2014, 6: 168-175.
- [12] Wang K, Zhang JL, Ping S, et al. Anti-inflammatory effects of ethanol extracts of Chinese propolis and buds from poplar (*Populus x canadensis*) [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2014, 155(1): 300-311.
- [13] Zozio S, Servent A, Casal G, et al. Changes in antioxidant activity during the ripening of jujube (*Ziziphus mauritiana* Lamk) [J]. Food Chemistry, 2014, 150: 448-456.
- [14] Kawai Y, Fujii H, Okada M, et al. Formation of N^ε-(succinyl) lysine *in vivo*: a novel marker for docosa-hexaenoic acid-derived protein modification[J]. Journal of Lipid Research, 2006, 47(7): 1386-1398.
- [15] Xiang QS, Liu Q, Xu L, et al. Carnosic acid protects biomolecules from free radical-mediated oxidative damage *in vitro* [J]. Food Science and Biotechnology, 2013, 22(5): 1381-1388.
- [16] 相启森, 孟旭, 乔燕, 等. 鼠尾草酸对自由基诱导蛋白质氧化损伤的保护作用[J]. 食品科学, 2013, 34(15): 281-284.
- [17] Benzie IFF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay [J]. Analytical Biochemistry, 1996, 239(1): 70-76.
- [18] Dalle-Donne I, Rossi R, Giustarini D, et al. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress[J]. Clinica Chimica Acta, 2003, 329(1-2): 23-38.

(上接第77页)

长为412 nm; 确定了最佳样品处理条件为液料比23:1 (mL/g)、提取温度82℃、提取时间2.1 h。此方法快速简单, 准确易行, 可用于玛咖中总生物碱的含量测定。

参考文献

- [1] 孙晓东, 唐辉, 杜萍, 等. 丽江玛咖的营养成分分析及多糖体外的抗氧化作用[J]. 光谱实验室, 2013, 30(5): 2365-2371.
- [2] 冯颖, 何钊, 徐琬峰, 等. 云南栽培玛咖的营养成分分析与评价[J]. 林业科学研究, 2009, 22(5): 696-700.
- [3] 甘瑾, 冯颖, 何钊, 等. 云南栽培3种颜色玛咖中总生物碱含量分析[J]. 食品科学, 2010, 31(24): 415-419.
- [4] 金文闻, 余龙江. 药食两用植物玛咖(*Lepidium meyenii*)的 功效物质研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2006.
- [5] Muhammad I, Zhao J P, Dunbar D C, et al. Constituents of *Lepidium meyenii*-Maca[J]. Phytochemistry, 2002, 59(1): 105-110.
- [6] Piacente S, Carbone V, Plaza A, et al. Investigation of the tuber constituents of Maca (*Lepidium meyenii* Walp.) [J]. Agric Food Chem, 2002, 50(20): 5621-5625.
- [7] Cui B, Zheng BL, He K, et al. Imidazole alkaloids from *Lepidium meyenii* [J]. J Nat Prod, 2003, 66(8): 1101-1103.

- [8] Denominacin Botanica dela. Maca: *Lepidium meyenii* Walpers [R]. Dra. Magdalena Pavlich Herrera Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima-Per, 2002.
- [9] 尹子娟, 杨成金, 尹品耀, 等. 玛咖的营养成分及功效研究进展[J]. 云南农业科技, 2012(5): 61-64.
- [10] 杜广香. 玛咖生物碱的分离纯化及抗氧化活性研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2011.
- [11] Zheng B L, He K, Kim C H, et al. Effect of a lipidic extract from *Lepidium meyenii* on sexual behavior in mice and rats[J]. Urology, 2000, 55(4): 598-602.
- [12] 徐东升, 高言明, 杨春, 等. 贵州钩藤总生物碱含量测定研究[J]. 微量元素与健康研究, 2015, 32(2): 34-35.
- [13] 王锐, 张泽俊, 陈光全, 等. 紫外分光光度法测定狼牙刺花中生物碱含量[J]. 广东化工, 2015, 42(6): 166-167.
- [14] 张伟, 何尚映. 颠茄合剂中生物碱的含量测定[J]. 海峡医药, 2014, 26(12): 91-94.
- [15] 刘喜纲, 刘翠哲, 常金花. 应用酸性染料比色法测定总生物碱的含量[J]. 中国药房, 2007, 18(11): 875-876.
- [16] 胡志国. 卵叶娃儿藤生物碱的提取及其活性功能研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2007.
- [17] 曾常青, 罗北亮. 酸性染料比色法测定钩藤的总生物碱含量[J]. 中药材, 2007, 30(8): 1021-1024.