

响应面法优化碱蓬根总生物碱的提取工艺及其抑菌活性

吕梦迪¹, 郭斌^{1,*}, 韩冠英², 崔 璆²

(1. 锦州医科大学药学院, 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:为优化碱蓬根总生物碱的提取工艺,并研究其抑菌活性,以碱蓬根为原料,在单因素实验基础上,采用响应面法确定碱蓬根总生物碱的最佳提取条件,管碟法及两倍稀释法检测碱蓬根总生物碱提取物对三种常见致病菌(大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌)的抑制效果。结果表明,当料液比为1:25 g/mL,乙醇浓度86%,提取温度78℃,提取时间2.1 h时,总生物碱得率最高为0.521% ± 0.04%。碱蓬根总生物碱对大肠杆菌及金黄色葡萄球菌有一定的抑菌效果,最低抑菌浓度为0.4 mg/mL,对枯草芽孢杆菌无抑菌性。该提取工艺高效可行,可用于碱蓬根中总生物碱的提取,同时提取物具有一定的抑菌性。

关键词:碱蓬根,总生物碱,提取,抑菌活性

Optimization of the Extraction Technology of Total Alkaloids from the Roots of *Suaeda salsa* by Response Surface Method and Its Antibacterial Activity

LV Meng-di¹, GUO Bin^{1,*}, HAN Guan-ying², 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: To optimize the extraction process of total alkaloids from the roots of *Suaeda salsa* and study its antibacterial activity, based on the single-factor experiments, response surface method was used to determine the optimal extraction conditions of total alkaloids from the roots of *Suaeda salsa*. The cylinder-plate method and the two-dilution method were used to detect the inhibitory effects of the total alkaloid extract of the roots of *Suaeda salsa* on three common pathogenic bacteria (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*). The results showed that the highest yield of total alkaloids was 0.521% ± 0.04% when the ratio of material to liquid was 1:25 g/mL, the concentration of ethanol was 86%, the extraction temperature was 78℃, and the extraction time was 2.1 h. The total alkaloid of the roots of *Suaeda salsa* had a certain bacteriostatic effect on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The minimum bacteriostatic concentration was 0.4 mg/mL, and it had no bacteriostatic effect on *Bacillus subtilis*. The extraction process was efficient and feasible, and could be used for the extraction of total alkaloids from the roots of *Suaeda salsa*, and the extracts had certain bacteriostatic properties.

Key words: *Suaeda salsa* roots; total alkaloids; extraction; antibacterial activity

中图分类号: TS201.2

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2020)12-0121-06

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020.12.019

引文格式: 吕梦迪, 郭斌, 韩冠英, 等. 响应面法优化碱蓬根总生物碱的提取工艺及其抑菌活性[J]. 食品工业科技, 2020, 41(12): 121-125, 132.

藜科碱蓬属植物碱蓬(*Suaeda salsa*)又名翅碱蓬、黄须菜,为一年生草本植物,碱蓬在我国分布广泛,其根茎叶及种籽富含矿物质、脂肪、蛋白质和维生素等,是一种优质蔬菜、经济作物和具有医疗保健价值的植物资源^[1]。碱蓬的药用价值早在《本草纲

目拾遗》中就有记载,“盐蓬,味咸性寒,清热消积”^[2],具有抗氧化^[3]、抗炎^[4]、降糖^[5]、抗肿瘤^[6]、抗衰老等作用而被广泛应用于医药行业。公衍玲等^[7]研究了盐地碱蓬中成分的抗氧化、降糖及降脂活性;郝海燕等^[8]对硬枝碱蓬的成分定性并测定生物碱

收稿日期: 2019-10-22

作者简介: 吕梦迪(1993-),女,硕士,研究方向:植物活性成分的研究, E-mail: lmd190624@163.com。

* 通讯作者: 郭斌(1969-),男,博士,教授,研究方向:海洋药物资源的开发研究, E-mail: jyguobin@126.com。

基金项目: 国家科技型中小企业技术创新基金项目(14C26242100741)。

含量。

目前生物碱的提取方法有很多,溶剂提取法因成本低、操作简单而较为常用^[9]。梁艳妮等^[10]采用响应面法优选马齿苋中总生物碱的溶剂提取条件,陈效威等^[11]对止泻木种子中总生物碱的提取工艺进行优化。国内外对碱蓬已有诸多报道,付建鑫等^[12]、李煦等^[3]阐明了碱蓬中含有的蛋白质、黄酮、植物盐及多糖等成分,并研究了其具有的抑菌抗炎、调控血脂、调节糖代谢等功效,但有关碱蓬根生物碱的文献还较少。

本文以乙醇为溶剂提取碱蓬根总生物碱,通过单因素实验和响应面法优选最佳提取工艺,并对碱蓬根总生物碱的抑菌作用进行初步研究,以便更好地开发利用碱蓬资源。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

碱蓬 2019年5月中旬采自辽宁锦州市周边沿海地区,经锦州医科大学郭斌教授鉴定为藜科碱蓬属碱蓬,洗净后取其根,阴凉处自然风干,粉碎,碱蓬根粉末保存备用;95%乙醇、石油醚(沸点30~80℃)、二氯甲烷 天津永晟精细化工有限公司;氢氧化钠(NaOH)等其他试剂 均为国产分析纯;金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*) 均为本校微生物实验室提供。

FW-100 高速万能粉碎机 北京中兴伟业仪器有限公司;BP211D 型电子分析天平 德国 Sartorius 公司;RE-3000 旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂;恒温油水浴锅 上海腾方仪器设备有限公司;生物安全柜 青岛海尔特种电器有限公司;LDZM 立式压力蒸汽灭菌器 上海申安医疗器械;SPX-150B 生化培养箱 上海博泰实验设备有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 碱蓬根总生物碱的提取 准确称取碱蓬根粉末 10.0 g,按一定料液比加入一定浓度的乙醇,在一定温度下提取一定时间,且提取 2 次,合并提取液,旋转蒸发浓缩成浸膏,浸膏中加入 5% 盐酸溶液,调节 pH3~4,过滤,滤液与石油醚以料液比 1:2 除脂^[13],取水相并用 5% NaOH 调节 pH11~12,转入分液漏斗,等体积二氯甲烷萃取 3 次,每次 30 min,合并萃取液,减压回收二氯甲烷,得总生物碱提取物,烘干后称量。

1.2.2 单因素实验 称取碱蓬根粉末 10.0 g,以碱蓬根总生物碱得率为指标,考察料液比(1:10、1:15、1:20、1:25、1:30 g/mL)、乙醇浓度(55%、65%、75%、85%、95%)、提取温度(50、60、70、80、90℃)和提取时间(0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 h)四个因素对碱蓬根总生物碱得率的影响,其中固定因素为:料液比 1:25 g/mL、乙醇浓度 95%、提取温度 70℃、提取时间 2.0 h,每组设三次重复实验,取平均值。

1.2.3 响应面实验设计 根据 Box-Behnken 设计原理,在单因素实验基础上,选择对碱蓬根总生物碱得率有显著影响的因素料液比(A)、乙醇浓度(B)、

提取温度(C)和提取时间(D),进行四因素三水平的响应面实验,优化总生物碱的提取工艺。各因素水平如表 1。

表 1 响应面设计因素及水平表

Table 1 Factors and levels of the response surface design

因素	水平		
	-1	0	1
A 料液比(g/mL)	1:20	1:25	1:30
B 乙醇浓度(%)	75	85	95
C 提取温度(℃)	70	80	90
D 提取时间(h)	1.5	2.0	2.5

1.2.4 碱蓬根总生物碱得率的测定 参照文献[14]。

总生物碱得率(%) = 提取的碱蓬根总生物碱质量/碱蓬根粉末质量 × 100

1.2.5 抑菌活性实验

1.2.5.1 培养基的配制 LB 固体培养基:酵母提取物 5.0 g,蛋白胨 10.0 g,琼脂粉 20.0 g,NaCl 5.0 g,加水至 1000 mL,121℃ 灭菌 20 min;LB 液体培养基:酵母提取物 5.0 g,蛋白胨 10.0 g,NaCl 10.0 g,加水至 1000 mL,121℃ 灭菌 20 min。

1.2.5.2 菌悬液的制备 将各供试菌种接种于无菌平板上,37℃、24 h 培养后,获得活化的新菌种。接种环挑取少许典型菌落接种于液体培养基中,经 37℃、24 h 培养后,无菌生理盐水稀释成含菌 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ CFU/mL 的菌悬液备用^[15]。

1.2.5.3 抑菌效果的检测 采用管碟法^[16],无菌条件下向已灭菌的培养皿中加入 20 mL 培养基,凝固后,移液枪移取各供试菌悬液 100 μL 滴加到培养基上,均匀涂布。将预先灭菌的牛津杯放于含菌培养皿中,分别加入 240 μL 的药液(浓度为 0.2、0.4、0.8 mg/mL),以无菌水为对照,37℃ 下培养 24 h。进行三次重复实验并记录抑菌圈直径。

1.2.5.4 最低抑菌浓度(MIC) 采用两倍稀释法^[17],将碱蓬根生物碱分别稀释为 0.05、0.1、0.2、0.4、0.8 mg/mL,移取生物碱稀释液约 1 mL 于已灭菌试管并加入 1 mL 液体培养基和 100 μL 菌悬液,对照组只加入 1 mL 液体培养基 1 mL 无菌水和 100 μL 菌悬液,37℃ 下培养 24 h。观察试管的混浊程度,以试管澄清完全没有菌落生长的最低生物碱稀释浓度为菌的最低抑菌浓度(MIC)^[18]。

1.3 数据处理

实验数据以 Origin 8.5 软件作图,采用 Design Expert 8.0.6 软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 单因素实验结果

2.1.1 料液比对总生物碱得率的影响 由图 1 知,碱蓬根总生物碱得率随着料液比的不断增大呈先大幅度增加后逐渐减少的趋势。当料液比为 1:25 g/mL 时,总生物碱得率达到最大值;料液比继续增大,总生物碱得率降低。可能是因为一定范围内料液比的

增大利于提取溶剂与浸提物的接触,能提高得率,用量过多反不利于总生物碱的溶出,降低得率^[19]。料液比 1:25 g/mL 较为合适。

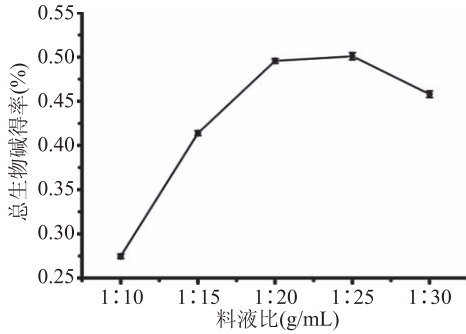


图1 料液比对总生物碱得率的影响
Fig.1 Effect of material liquid ratio on extraction yield of total alkaloids

2.1.2 乙醇浓度对总生物碱得率的影响 由图 2 可得出,随乙醇浓度的提高,总生物碱得率也在不断增加,乙醇浓度为 85% 时,总生物碱得率最高;乙醇浓度大于 85% 后总生物碱得率下降。是由于乙醇浓度的提高,脂溶性成分溶出,这些成分可能同乙醇-水分子结合,从而与碱蓬根生物碱形成竞争关系,导致总生物碱的得率降低^[20]。因此选择乙醇浓度为 85%。

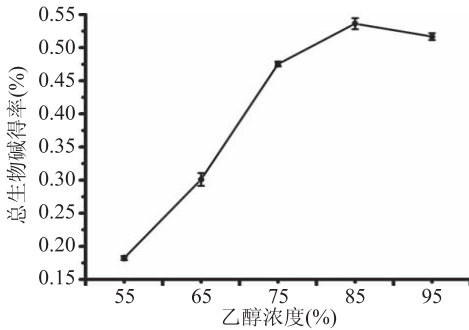


图2 乙醇浓度对总生物碱得率的影响
Fig.2 Effect of ethanol concentration on extraction yield of total alkaloids

2.1.3 提取温度对总生物碱得率的影响 由图 3 可看出,在一定温度范围内,总生物碱得率会随温度的上升而增高,温度的提升有利于加快活性成分的溶解及溶剂的渗透,所以提取效果较好;当温度超过 80 °C 时得率反而下降,可能是温度过高使生物碱结构发生变化^[21]。故提取温度为 80 °C。

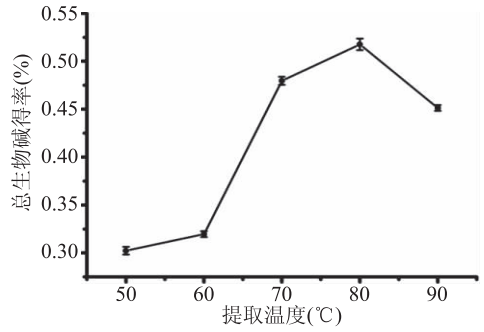


图3 提取温度对总生物碱得率的影响
Fig.3 Effect of extraction temperature on extraction yield of total alkaloids

2.1.4 提取时间对总生物碱得率的影响 由图 4 可知,在 0.5~2.0 h 范围内,碱蓬根总生物碱得率随时间的延长而不断提升,可能是由于提取时间的延长使原料药与溶剂完全混合^[22];2.0 h 后随着提取时间延长,提取率没有太大的变化。从资源节约上考虑,提取时间选择 2.0 h。

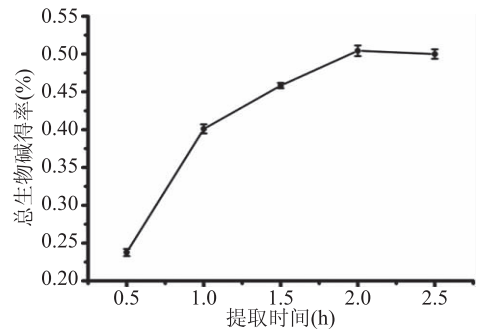


图4 提取时间对总生物碱得率的影响
Fig.4 Effect of extraction time on extraction yield of total alkaloids

2.2 响应面实验结果

2.2.1 响应面实验设计及结果 根据单因素实验,通过 Design Expert 8.0.6 软件建立四因素三水平的中心组合实验,形成以料液比(A)、乙醇浓度(B)、提取温度(C)及提取时间(D)为自变量,以碱蓬根总生物

碱得率为响应值的 29 个实验方案,进行响应面分析,实验结果见表 2。回归分析见表 3。

2.2.2 回归模型的建立及方差分析 采用 Design Expert 8.0.6 软件对表 2 实验结果进行回归分析。

可得回归方程: $Y = 0.52 - 0.00625A + 0.004417B - 0.016C + 0.010D + 0.015AB - 0.004AC + 0.0045AD - 0.012BC - 0.00253BD - 0.013CD - 0.027A^2 - 0.052B^2 - 0.050C^2 - 0.034D^2$

表 3 的方差分析结果表明,该回归模型具有显著性($P < 0.0001$),回归方程决定系数 $R^2 = 0.9508$,修正决定系数 $R^2_{Adj} = 0.9015$,表明该实验方法可行。失拟项 $P(0.1601 > 0.05)$ 不具显著性,说明该回归模型的拟合度较好。从表 3 可知,一次项 C(提取温度)、二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 、 D^2 对响应值影响极显著($P < 0.01$),一次项 D(提取时间)、交互项 AB 和 CD 对响应值影响显著($P < 0.05$),A(料液比)和 B(乙醇浓度)不显著。比较 F 值,可知各因素对响应值影响力度为: $C > D > A > B$ 。

2.2.3 响应面图分析 为了考察各因素对总生物碱得率的交互影响,利用 Design Expert 8.0.6 软件进行分析得到图 5 和图 6。图 5 中,料液比和乙醇浓度的等高线呈椭圆形表明两者对总生物碱的交互作用显著,料液比和乙醇浓度的响应曲面坡度陡峭说明两者对总生物碱得率有明显的交互影响。由图 6 可知,总生物碱得率随提取温度和提取时间的增加先上升后下降,提取温度的陡峭程度大于提取时间,说明提取温度的影响大于提取时间;提取温度与提取时间交互作用的曲面陡峭,等高线椭圆形,表明它们的交互

表2 响应面实验设计方案及结果
Table 2 RSM design scheme and results

编号	A	B	C	D	Y:总生物碱得率(%)	编号	A	B	C	D	Y:总生物碱得率(%)
1	1	0	0	-1	0.438	16	1	0	0	1	0.448
2	0	1	1	0	0.401	17	-1	0	-1	0	0.455
3	0	0	-1	-1	0.431	18	-1	0	0	-1	0.469
4	0	-1	0	-1	0.407	19	0	0	-1	1	0.484
5	-1	1	0	0	0.432	20	1	0	1	0	0.412
6	0	-1	0	1	0.445	21	1	0	-1	0	0.453
7	0	0	0	0	0.527	22	0	0	0	0	0.517
8	0	0	1	1	0.423	23	0	-1	1	0	0.399
9	-1	-1	0	0	0.464	24	0	0	0	0	0.508
10	0	1	0	-1	0.415	25	1	-1	0	0	0.429
11	0	0	0	0	0.524	26	0	0	0	0	0.513
12	0	1	0	1	0.443	27	1	1	0	0	0.456
13	-1	0	0	1	0.461	28	0	0	1	-1	0.422
14	0	1	-1	0	0.450	29	-1	0	1	0	0.430
15	0	-1	-1	0	0.400						

表3 回归方程模型及方差分析
Table 3 Variance analysis of regression equation

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
模型	0.038	14	2.744E-003	19.31	<0.0001	**
A	4.687E-004	1	4.687E-004	3.30	0.0908	
B	2.341E-004	1	2.341E-004	1.65	0.2202	
C	2.883E-003	1	2.883E-003	20.29	0.0005	**
D	1.240E-003	1	1.240E-003	8.73	0.0105	*
AB	8.702E-004	1	8.702E-004	6.12	0.0267	*
AC	6.400E-005	1	6.400E-005	0.45	0.5131	
AD	8.100E-005	1	8.100E-005	0.57	0.4628	
BC	5.760E-004	1	5.760E-004	4.05	0.0637	
BD	2.500E-005	1	2.500E-005	0.18	0.6813	
CD	6.760E-004	1	6.760E-004	4.76	0.0467	*
A ²	4.607E-003	1	4.607E-003	32.42	<0.0001	**
B ²	0.018	1	0.018	125.34	<0.0001	**
C ²	0.016	1	0.016	114.23	<0.0001	**
D ²	7.620E-003	1	7.620E-003	53.63	<0.0001	**
残差	1.989E-003	14	1.421E-004			
失拟	1.747E-003	10	1.747E-004	2.88	0.1601	
误差	2.428E-004	4	6.070E-005			
总和	0.040	28				

注: * $P < 0.05$ 为显著, ** $P < 0.01$ 为极显著。

作用显著,对总生物碱得率的影响具有显著性。

2.2.4 验证试验 根据 Design Expert 8.0.6 软件分析,得出最佳提取条件:料液比 1:24.626 g/mL,乙醇浓度 85.478%,提取温度 78.195 °C,提取时间 2.088 h,此条件下总生物碱得率为 0.520%。结合实际情况,调整提取条件为:料液比 1:25 g/mL,乙醇浓度 86%,提取温度 78 °C,提取时间 2.1 h。为进一步确定响应面法得到的工艺条件是否可行,现称取碱蓬根粉末 3 份,每份 10.0 g,按上述最佳提取工艺条件进行三次重复试验,总生物碱得率平均值为 0.521% ± 0.04%,

该优化工艺具有可行性。

2.3 抑菌活性实验结果

2.3.1 碱蓬根总生物碱抑菌效果 由表 4 可以看出,碱蓬根总生物碱对大肠杆菌及金黄色葡萄球菌有抑菌效果,且对金黄色葡萄球菌的抑菌活性强于大肠杆菌,对枯草芽孢杆菌无抑菌效果。碱蓬根总生物碱浓度的不同对致病菌的抑菌性也不同,浓度升高,抑菌性增强。由此表明,碱蓬根总生物碱具有抑菌活性。

2.3.2 碱蓬根总生物碱最低抑菌浓度(MIC) 由表 5 知,碱蓬根总生物碱对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌

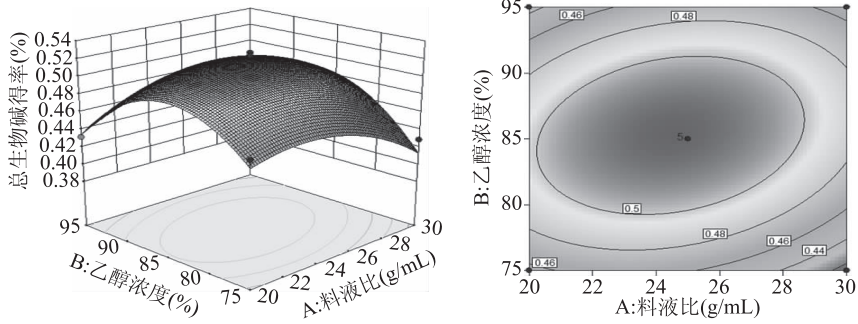


图5 料液比和乙醇浓度的交互影响

Fig.5 Interaction between the material liquid ratio and the ethanol concentration

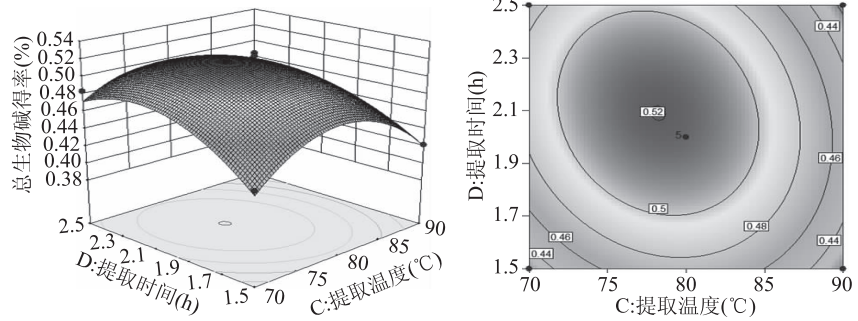


图6 提取温度和提取时间的交互影响

Fig.6 Interaction between the extraction temperature and the extraction time

表4 碱蓬根总生物碱不同浓度的抑菌性

Table 4 Antibacterial activity of total alkaloids from different concentrations of the roots of *Suaeda salsa*

总生物碱浓度 (mg/mL)	抑菌圈直径 (mm)		
	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌	枯草芽孢杆菌
0.8	14.26 ± 0.03	15.41 ± 0.02	6.00 ± 0.00
0.4	13.96 ± 0.05	14.13 ± 0.04	6.00 ± 0.00
0.2	10.06 ± 0.05	12.84 ± 0.03	6.00 ± 0.00
对照 (无菌水)	6.00 ± 0.00	6.00 ± 0.00	6.00 ± 0.00

注:牛津杯直径为6.00 mm,此时表示抑菌圈不明显。

表5 碱蓬根总生物碱的最低抑菌浓度(MIC)

Table 5 Minimum inhibitory concentration(MIC) of total alkaloids from the roots of *Suaeda salsa*

供试菌种	总生物碱浓度 (mg/mL)					对照
	0.05	0.1	0.2	0.4	0.8	
大肠杆菌	+++	+++	++	-	-	+++
金黄色葡萄球菌	+++	+++	+	-	-	+++

注:+++表示菌大量生长; ++表示菌适量生长; +表示菌少量生长;-表示无菌生长。

的最低抑菌浓度(MIC)均为0.4 mg/mL;碱蓬根总生物碱对金黄色葡萄球菌的抑菌效果更强一些,对大肠杆菌的效果弱些。

3 结论

本实验通过有机溶剂提取法提取碱蓬根总生物碱,在单因素实验基础上采用响应面法优化提取工艺,确定最优工艺条件为料液比1:25 g/mL,乙醇浓度86%,提取温度78℃,提取时间2.1 h,此条件下碱蓬根总生物碱得率为0.521% ± 0.04%;实验发现碱蓬根总生物碱对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌有抑菌活性,其抑菌性由大到小为:金黄色葡萄球菌 > 大肠杆菌,对枯草芽孢杆菌无抑菌活性。从资源利用方

面看,本实验为开发和利用碱蓬及碱蓬根的潜在价值提供一定的参考依据。

参考文献

[1] 庞庭才,钟秋平,胡上英,等.响应面分析法优化碱蓬黄酮提取工艺[J].中国酿造,2016,35(11):140-144.
 [2] 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.
 [3] 李煦,徐美,吴玉文,等.超声波-微波协同辅助提取碱蓬多糖及抗氧化性分析[J].食品研究与开发,2019,40(15):43-49.

(下转第132页)

小鼠学习记忆能力和骨密度的影响[J].华中科技大学学报:医学版,2014,43(3):243-248.

[12]孙延娜,梁可,李阳,等.滋阴养血安神方对PCPA诱导失眠小鼠睡眠的影响[J].中华中医药学刊,2019,37(4):944-947.

[13]张晓红,陈正跃,邱培勇,等.鸡胚胎素对小鼠红细胞数量及免疫器官质量的影响[J].中国组织工程研究与临床康复,2007(28):5507-5510.

[14]潘静静,单利君,林勤保,等.石墨烯/聚乙烯复合食品包装膜中两种紫外吸收剂向食品模拟物的迁移研究[J].中国食品学报,2019,19(4):272-279.

[15]田娟娟,甘金华,彭婕,等.草鱼肌肉中吡喃唑酮代谢物AOZ检测能力验证样品的制备研究[J].淡水渔业,2018,48(5):3-10.

[16]赵金,刘育.超分子组装体在催化领域中的应用[J].化学进展,2015,27(6):687-703.

[17]张俊敏,乐辉,陈忻,等.响应面法优化微波固相合成鳕鱼皮胶原蛋白肽锌整合物的工艺[J].广东农业科学,2011,38(22):87-90.

[18] Rahimi M, Valeh-e-Sheyda P, Rashidi H. Statistical optimization of curcumin nanosuspension through liquid anti-solvent precipitation (LASP) process in a microfluidic platform: Box-Behnken design approach[J]. Korean Journal of Chemical Engineering, 2017, 34(11):3017-3027.

[19] George G, Ramalingam S, Periandy S, et al. Spectroscopic investigation and chemical properties analysis on anticancer compound; $\alpha, \alpha, \alpha, \alpha$ -Tetrabromo-p-Xylene with computational

analysis[J]. Journal of Molecular Structure, 2016, 1106:37-52.

[20]王虹玲,武婷茹,姜诗文,等.香蕉皮单宁的提取及其提取物的抑菌抗氧化活性[J].食品与发酵工业,2014,40(11):253-259.

[21] Zhang S, Sun H, Wang C, et al. Comparative analysis of active ingredients and effects of the combination of *Panax ginseng* and *Ophiopogon japonicus* at different proportions on chemotherapy-induced myelosuppression mouse[J]. Food & Function, 2019, 10(3):1563-1570.

[22] Guttman-Yassky E, Zhou L, Krueger J G. The skin as an immune organ: Tolerance versus effector responses and applications to food allergy and hypersensitivity reactions[J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2019, 144(2):362-374.

[23] Mahaki H, Jabarivasal N, Sardarian K, et al. The effects of extremely low-frequency electromagnetic fields on c-Maf, STAT6, and ROR α expressions in spleen and thymus of rat[J]. Electromagnetic Biology and Medicine, 2019, 38(2):1-7.

[24] Hu X, Chi Q, Liu Q, et al. Atmospheric H₂S triggers immune damage by activating the TLR-7/MyD88/NF- κ B pathway and NLRP3 inflammasome in broiler thymus[J]. Chemosphere, 2019, 237:124427.

[25] Wang R, Su C, Wang X, et al. Global gene expression analysis combined with a genomics approach for the identification of signal transduction networks involved in postnatal mouse myocardial proliferation and development[J]. International Journal of Molecular Medicine, 2018, 41(1):311-321.

(上接第125页)

[4] Zhao H, Wang Q L, Hou S B, et al. Chemical constituents from the rhizomes of *Polygonatum sibiricum* Red. and anti-inflammatory activity in RAW264.7 macrophage cells[J]. Natural Product Research, 2018, 8(6):1.

[5] Liu L, Tang D, Zhao H, et al. Hypoglycemic effect of the polyphenols rich extract from *Rose rugosa* Thunb on high fat diet and STZ induced diabetic rats[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2017, 200(3):174-181.

[6] Zhou J, Zhao R, Ye T, et al. Antitumor activity in colorectal cancer induced by hinokiflavone[J]. Journal of Gastroenterology and Hepatology, 2019, 34(9):1571-1580.

[7]公衍玲,刘菲,金宏.响应面法优化盐地碱蓬总黄酮乙醇萃取工艺及其抗氧化、降糖、降脂活性(英文)[J].食品科学,2016,37(8):1-7.

[8]郝海燕,沙爱龙.硬枝碱蓬化学成分的定性分析及生物碱含量的测定[J].食品科技,2013,38(1):244-247

[9]高齐,段欢,赵盼登,等.生物碱提取方法的研究进展[J].杭州化工,2014,44(2):12-14,28.

[10]梁艳妮,李若岚,唐志书,等.响应曲面法优化马齿苋中总生物碱的提取工艺[J].中国现代中药,2019,21(3):342-346,364.

[11]陈效威,杨中锋,孙建慧,等.响应面法优化止泻木子总生物碱的提取工艺[J].食品工业科技,2017,38(10):253-256,264.

[12]付建鑫,张桂香,张炳文,等.碱蓬的营养价值及开发利用[J].中国食物与营养,2019,25(4):59-63.

[13]王琴,刘祎帆,梁嘉熹,等.一种生物碱的提取方法:中国,109293668A[P].2019-02-01.

[14]孔越,郭斌,韩冠英,等.罗种子生物碱提取工艺优化及其抑菌活性[J].食品工业科技,2019,40(16):176-180.

[15]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.

[16]冉棋,赵卓卓,刘秀琨,等.天然药物抑菌活性实验方法的研究概述[J].中国实验方剂学杂志,2019,25(20):214-221.

[17]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.

[18]张媛媛.五味子抗菌物质的提取、抑菌机理及在食品中的应用研究[D].石家庄:河北科技大学,2016.

[19] Luo M, Yang L Q, Yao X H, et al. Optimization of enzyme-assisted negative pressure cavitation extraction of five main indole alkaloids from *Catharanthus roseus* leaves and its pilot-scale application[J]. Separation and Purification Technology, 2014, 125:66-73.

[20]刘倩芬,李昌高,邓丹雯,等.响应面法优化超声波辅助提取百合花秋水仙碱工艺[J].食品工业科技,2015,36(10):284-287,292.

[21]马涛,张秋龙,丁晨曦,等.响应面法优化假北紫堇总生物碱提取工艺[J].中药材,2015,38(8):1736-1740.

[22]刘家水,李世杰,张丹雁,等.响应曲面法优化南板蓝根中总生物碱的提取工艺[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(9):41-44.