

桑叶生物碱的活性炭脱色工艺优化及其 α -葡萄糖苷酶抑制活性

曹发昊¹, 张洁花^{2,*}, 王艳萍¹

(1.运城学院生命科学系, 山西运城 044000;

2.山西省蚕业科学研究所, 山西运城 044000)

摘要: 研究并优化桑叶生物碱的活性炭脱色工艺, 考察脱色处理对生物碱 α -葡萄糖苷酶抑制活性的影响。以桑叶生物碱提取液为研究对象, 利用加权评分法将脱色率和保留率归一化为Z值, 通过单因素和 $L_9(3^4)$ 正交试验考察四个因素对活性炭脱色效果的影响, 优化出最佳脱色条件; 通过体外实验, 测定脱色前后生物碱对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制率。结果表明, 最佳脱色条件: 桑叶生物碱提取液用4%活性炭在60℃脱色25min, 脱色2次, 脱色率和保留率分别为79.80%和78.52%, 其Z值为100; 2.0~8.0 mg/mL脱色后生物碱的 α -葡萄糖苷酶抑制率显著高于脱色前($P < 0.05$), 脱色前、后桑叶生物碱的最大抑制率分别为51.37%和63.06%, 脱色前、后生物碱对 α -葡萄糖苷酶的 IC_{50} 分别为7.75和4.27 mg/mL。本实验建立了桑叶生物碱活性炭的脱色方法, 脱色后生物碱对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性强于脱色前, 为桑叶生物碱提取和纯化提供了实验依据。

关键词: 桑叶, 生物碱, 活性炭, 脱色, α -葡萄糖苷酶

Optimization of Activated Carbon Decolorization Process of Mulberry Leaf Alkaloids and Its α -glucosidase Inhibitory Activity

CAO Fa-hao¹, ZHANG Jie-hua^{2,*}, WANG Yan-ping¹

(1. Department of Life Sciences, Yuncheng University, Yuncheng 044000, China;

2. Sericulture Science Research Institute of Shanxi Province, Yuncheng 044000, China)

Abstract: To optimize the decolorization process of alkaloids from mulberry leaf by activated carbon and effect of decolorization treatment on its α -glucosidase inhibition activity, alkaloid extract of mulberry leaf was taken as the research object. The decolorization rate and retention rate were normalized to Z value by weighted scoring method. The effects of four factors on the decolorization effect of activated carbon were investigated by single factor and $L_9(3^4)$ orthogonal test to optimize the decolorization process. The inhibition rate of decolorized and non-decolorized alkaloids on the activity of α -glucosidase was determined through *in vitro* experiment. The results showed that, the optimum decolorization conditions were screened as follows: The alkaloids extract of mulberry leaf was decolorized twice by 4% activated carbon at 60 °C for 25 min, and the decolorization rate and retention rate were 79.80% and 78.52%, respectively, and the Z value was 100. The inhibition rate of decolorized alkaloids with the concentration of 2.0~8.0 mg/mL on the α -glucosidase inhibitory activity was significantly higher than that of non-decolorized ($P < 0.05$). The maximum inhibitory rate of the alkaloids from mulberry leaf was 51.37% and 63.06%, respectively. And the IC_{50} concentration of decolorized and non-decolorized alkaloids were 4.27 and 7.75 mg/mL, respectively. The decolorization process of alkaloids from mulberry leaf by activated carbon is established in this paper, and the α -glucosidase inhibitory activity of decolorized alkaloids is stronger than that of non-decolorized, which provides an experimental basis for extraction and purification of alkaloids from mulberry leaf.

Key words: mulberry leaf; alkaloid; activated carbon; decolorization; α -glucosidase

中图分类号: TS201.2

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2020)13-0162-06

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020.13.026

引文格式: 曹发昊, 张洁花, 王艳萍. 桑叶生物碱的活性炭脱色工艺优化及其 α -葡萄糖苷酶抑制活性[J]. 食品工业科技, 2020, 41(13): 162-167.

收稿日期: 2019-08-23

作者简介: 曹发昊(1981-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 纳米药物和天然活性成分, E-mail: fahaocao@163.com。

* 通讯作者: 张洁花(1972-), 女, 本科, 高级农艺师, 研究方向: 桑树品种选育及栽培研究, E-mail: zhangjiehua@163.com。

基金项目: 山西省“1331”工程重点学科项目(098-091704); 山西省重点学科建设经费资助(FSKSC); 运城学院横向项目; 运城学院博士科研启动项目(YQ-2019012); 运城学院“特色农产品发展”学科群学科项目(XK-2019014); 运城学院“特色农产品发展”学科群大学生创新创业训练项目。

桑叶是桑科植物桑树 (*Morus alba* L.) 的叶子, 是一类药食同源的植物资源。我国桑树资源丰富, 桑叶富含多种营养成分和活性物质, 具有天然无毒、药理作用广泛等优点, 引起了国内外学者研究开发的关注^[1-4]。生物碱是桑叶中一种重要的活性成分, 其中哌啶类生物碱是其主要成分, 特别是1-脱氧野尻霉素是桑叶的标志性生物碱, 具有降血糖、抗氧化、降血脂等功效^[5-8]。前期研究工作发现, 桑叶生物碱提取过程中, 色素等一些物质在溶剂或仪器的作用下会同时溶出, 加深提取液的颜色, 影响后续的含量检测分离和纯化工作, 因此有必要对提取液进行脱色处理。目前, 活性成分提取中常用的脱色方法有活性炭法、双氧水法和大孔树脂法。双氧水法是化学脱色方法, 利用其氧化性破坏色素结构进行脱色, 但同时活性成分也可能被破坏。大孔树脂脱色法成本相对较高, 后续处理工艺较复杂。活性炭是一种常用的物理吸附剂, 原料便宜, 工艺易操作, 脱色吸附效果较好, 不会影响目标提取物的活性, 广泛用于不同物质的脱色处理, 但活性炭在除去色素的同时, 可能会吸附一些活性成分, 造成活性成分得率下降, 这也是脱色工艺优化中要考虑的^[9-10]。目前有关桑叶生物碱脱色的相关研究较少。

目前, 临床用于治疗糖尿病的药物一大类就是作用于糖苷酶的抑制剂^[11]。桑叶生物碱是多羟基含氮的生物碱, 是一种重要的天然糖苷酶抑制剂, 其分子结构类似葡萄糖, 其中的氮元素能增强其取代二糖 (或低聚糖) 与糖苷酶结合, 从而竞争性抑制糖苷酶活性^[12]。采用4-硝基苯基- α -D-吡喃葡萄糖苷 (PNPG) 底物, 在糖苷酶作用下可以水解为葡萄糖和对硝基苯酚, 对硝基苯酚在 400 nm 左右有最大吸收峰, 当有糖苷酶抑制剂时, 就会减弱酶促反应, 产物浓度下降, 吸光度下降, 在一定浓度范围其下降程度和抑制剂活性呈正比关系, 基于该作用原理, 可以评价桑叶生物碱对糖苷酶的抑制作用^[13]。

本实验在前期桑叶生物碱提取研究工作的基础上, 通过单因素和正交试验优化桑叶生物碱的活性炭脱色工艺, 并对脱色后生物碱抑制 α -葡萄糖苷酶活性进行研究, 以期桑叶生物碱的开发利用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

鲁桑桑叶 2018 年 9 月采集于山西省蚕业科学院蚕桑基地; 4-羟基哌啶 武汉华翔科洁生物技术有限公司; 颗粒活性炭 唐山华能活性炭有限公司; 吐温-80、雷氏盐 上海研域化学试剂有限公司; 4-硝基苯基- α -D-吡喃葡萄糖苷 (PNPG)、 α -葡萄糖苷酶 (10 万 U/g) 上海宝曼生物科技有限公司; 阿卡波糖 上海赢瑞生物医药科技有限公司。

VS22-600C 数控超声清洗器 无锡沃信仪器制造有限公司; THZ-82 水浴恒温振荡器 常州国华电器有限公司; UV-5200 紫外可见分光光度计 上海元析仪器有限公司; HHS21-6 恒温水浴锅 常州金

坛精达仪器制造有限公司; BJ-800A 中药粉碎机 江阴市海鑫药化机械制造有限公司; WD-2102A 全自动酶标仪 上海茸研仪器有限公司; RE-5205 旋转蒸发仪 上海亚荣生化仪器厂。

1.2 实验方法

1.2.1 桑叶生物碱的提取 阴干的桑叶粉碎过 60 目筛, 将桑叶粉和酸性乙醇 (30% 乙醇-0.05 mol/L HCl) 按照料液比 1:30 g/mL 混合, 加入吐温-80 (4 mg/mL) 置于水浴温度 60 °C、功率 700 W 超声器中处理 30 min 后过滤, 保留滤液, 滤渣按照前述步骤再次提取 1 次, 合并滤液即得桑叶生物碱提取液。

1.2.2 生物碱含量测定

1.2.2.1 标准曲线制备 本研究选取 4-羟基哌啶作为标准品, 采用雷氏盐比色法建立测定生物碱的标准曲线^[14-15]。将 4-羟基哌啶标准品 2.0200 g 溶于 0.05 mol/L 盐酸溶液中, 得到 0.04 mol/L 标准品母液; 分别准确移取 2.00、3.00、4.00、5.00、6.00、7.00 mL 不同体积标准品母液于 10 mL 容量瓶中, 用 0.05 mol/L 盐酸溶液稀释定容得到浓度为 0.008、0.012、0.016、0.020、0.024、0.028 mol/L 待测标准溶液。取 2 mL 待测标准溶液, 加入 3 mL 2% 雷氏盐溶液, 混匀后冰浴 1.5 h, 抽滤得到沉淀, 蒸馏水冲洗抽滤沉淀, 然后用 70% 丙酮溶解定容至 10 mL, 于 523 nm 测定吸光度值 A^[16-17]。

1.2.2.2 桑叶生物碱含量测定 取 2 mL 桑叶生物碱提取液, 按“1.2.2.1”所述方法测定样品的吸光度值, 根据标准曲线计算提取液中生物碱含量。

1.2.3 桑叶生物碱提取液活性炭脱色工艺 通过预实验研究了活性炭和双氧水对桑叶生物碱提取液的脱色效果, 发现桑叶生物碱提取液中加入 10% 双氧水, 在 60 °C 恒温水浴中 45 min, 其脱色率为 41.50%, 保留率为 42.56%; 而桑叶生物碱提取液经活性炭处理后, 其脱色率和保留率可以达到 70% 以上, 综合考虑, 选用活性炭进行后续实验。

1.2.3.1 活性炭处理 活性炭浸泡于 5% 氢氧化钠溶液, 煮沸 20~30 min 后过滤, 去离子水冲洗至呈中性; 然后浸泡于 6 mol/L 盐酸溶液中, 煮沸 20~30 min 后过滤, 去离子水冲洗至中性, 120 °C 烘干备用。

1.2.3.2 桑叶生物碱提取液的活性炭脱色方法 移取生物碱提取液于锥形瓶中, 加入一定量活性炭, 置于速度 180 r/min 水浴恒温振荡器中, 在一定温度下振荡处理适当时间后, 抽滤 2 次, 除去活性炭, 保留滤液。

1.2.4 单因素实验 按照“1.2.3.2”所述方法, 通过单因素实验考察四个因素 (活性炭用量、脱色时间、水浴温度和脱色次数) 对活性炭脱色效果的影响, 测定脱色率和保留率, 以 Z 值 (脱色率和保留率加权归一化值) 为考察指标。单因素试验条件为: 固定水浴温度为 50 °C, 脱色时间为 20 min, 脱色次数为 1 次, 分别加入不同活性炭用量 (2%、3%、4%、5%、6%) 对提取液进行脱色; 固定活性炭用量为 4%, 水浴温度为 50 °C, 脱色次数为 1 次, 分别按不同脱色时间 (10、15、20、25、30 min) 对提取液进行脱色; 固定活性

炭用量为4%,脱色时间为20 min,脱色次数为1次,分别在不同温度(30、40、50、60、70℃)对提取液进行脱色;固定活性炭用量为4%,脱色时间为20 min,水浴温度为50℃,分别对提取液进行不同次数(1、2、3、4、5次)的脱色。

1.2.5 正交试验 在单因素实验基础上,确定了四个因素的最佳取值范围,利用 $L_9(3^4)$ 正交表进一步优化活性炭的最佳脱色条件,每个因素和水平设计见表1,测定脱色率和保留率,以Z为考察指标。

表1 $L_9(3^4)$ 正交试验设计Table 1 Design of $L_9(3^4)$ orthogonal experiment

水平	因素			
	A 活性炭用量(%)	B 脱色时间(min)	C 水浴温度(℃)	D 脱色次数(次)
1	3	15	40	1
2	4	20	50	2
3	5	25	60	3

1.2.6 脱色效果评价 分别取脱色前和脱色后的提取液于分光光度计波长523 nm处,测定其吸光度值,按照“1.2.2.2”所述方法测定相应的生物碱含量,利用下面两个公式计算脱色率和保留率。

$$\text{脱色率}(\%) = \frac{\text{脱色前 } A_{523} - \text{脱色后 } A_{523}}{\text{脱色前 } A_{523}} \times 100$$

$$\text{保留率}(\%) = \frac{\text{脱色后生物碱含量}}{\text{脱色前生物碱含量}} \times 100$$

以指标所测的最大值为参照将所得数据(脱色率和保留率)进行归一化为Z值,利用Z值评价活性炭的脱色效果^[18]。利用综合加权评分法^[19],考虑两个指标对脱色效果的贡献,赋予两个所测指标的权重系数均为0.5,将每个指标数据除以该指标的最大值再乘以100,打分结果分别记为 X_1 和 X_2 ,按照加权评分方法计算 $Z = 0.5 \times (X_1 + X_2)$ 。

1.2.7 α -葡萄糖苷酶活性测定 将脱色的和未脱色的桑叶提取液于旋转蒸发仪(转速180 r/min,水浴温度60℃)浓缩,得到浸膏,然后用0.1 mol/mL pH6.8磷酸盐缓冲液(PBS溶液)溶解得到待测样品溶液。在文献[20]方法基础上改进:在120 μ L不同浓度(0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 mg/mL)的样品溶液中分别加入50 μ L α -葡萄糖苷酶溶液(0.5 U/mL),混合后37℃孵育10 min,然后加入50 μ L反应底物PNPG溶液(5 mmol/L),37℃孵育30 min后,加入100 μ L碳酸钠溶液(0.2 mol/L),反应停止后于405 nm测定吸光度A。阴性对照组不加样品溶液,空白对照组不加样品溶液和酶液,背景对照组不加酶液,阳性对照组用阿卡波糖替换样品溶液。每孔溶液体积一样,不足者用PBS溶液补充。计算抑制率和半数抑制浓度 IC_{50} 。

$$\text{抑制率}(\%) = \left[\frac{(A_{\text{阴性对照组}} - A_{\text{空白对照组}}) - (A_{\text{样品实验组}} - A_{\text{背景对照组}})}{A_{\text{阴性对照组}} - A_{\text{空白对照组}}} \right] \times 100$$

1.3 数据处理

实验设三个平行处理,结果以平均值 \pm 标准偏差表示。WPS软件处理图和表,SPSS 20.0软件对数据进行方差显著性检验, $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 分别表

示数据间差异显著和极其显著。Graphpad prism 7.0软件计算桑叶生物碱对 α -葡萄糖苷酶半数抑制浓度 IC_{50} 。

2 结果与分析

2.1 标准曲线的绘制

以吸光度为纵坐标,以4-羟基哌啶溶液浓度C(mol/L)为横坐标,所得测定生物碱浓度的标准曲线方程 $A = 33.829C - 0.0316$ ($r = 0.9996$),在0.008~0.028 mol/L线性关系好。

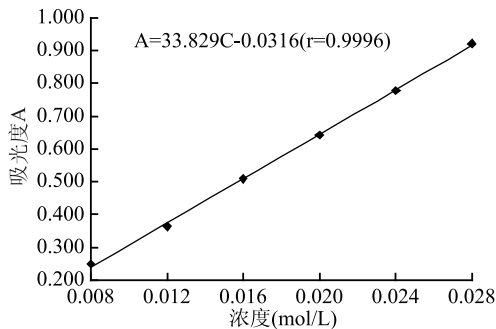


图1 4-羟基哌啶标准曲线

Fig.1 Standard curve of 4-hydroxypiperidine

2.2 桑叶生物碱提取液活性炭脱色单因素实验

2.2.1 活性炭用量的影响 桑叶生物碱提取液加入活性炭,在50℃脱色20 min、脱色1次,活性炭用量对脱色率和保留率的影响见图2。总体上随着活性炭用量的增加,脱色率逐渐变大,生物碱保留率逐渐减小。当活性炭用量小于4%时,脱色率增幅趋势较大,这可能是由于活性炭对不同物质吸附性不一样,提取液中色素含量可能高于生物碱,色素吸附作用较强;当活性炭用量大于4%,脱色率增幅趋势平缓,保留率持续下降,可能由于活性炭对色素的吸附和解吸达到平衡,生物碱的吸附作用增强^[21-22]。利用Z值评价活性炭用量的脱色效果见图3。活性炭用量2%~4%内Z值逐渐变大,4%~6%内Z值逐渐减小,选取3%~5%用于正交试验。

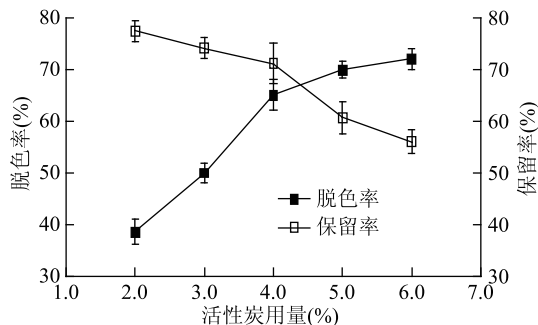


图2 活性炭用量对脱色率和保留率的影响

Fig.2 Effect of activated carbon dosage on decolorization rate and retention rate

2.2.2 脱色时间的影响 桑叶生物碱提取液加入4%活性炭,在50℃脱色1次,脱色时间对脱色率和保留率的影响见图4。总体上随着时间增加,脱色率逐渐变大,保留率逐渐减小。当脱色时间小于20 min时,脱色率增大幅度较大;当脱色时间大于20 min后,脱色率变化较平缓,而保留率继续减小,

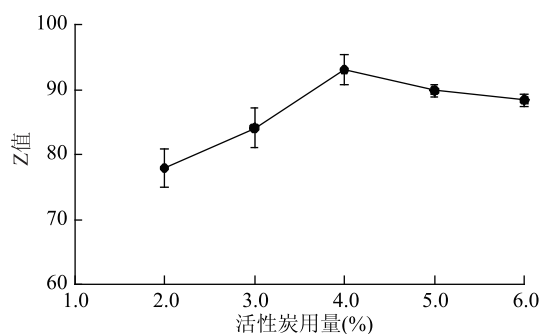


图3 活性炭用量对Z值的影响

Fig.3 Effect of activated carbon dosage on Z value

活性炭主要通过物理吸附发挥作用,存在吸附和解析的动态平衡,在20 min之前,活性炭对色素的竞争性吸附作用强于生物碱,故脱色率增加幅度较大,20 min之后,活性炭对色素吸附逐渐处于动态平衡,而对生物碱的吸附尚未达到平衡,转向吸附生物碱的作用逐渐增强^[23-24]。利用Z值评价脱色时间的脱色效果见图5。总体上随着脱色时间延长,Z值先增加后减小,其中脱色时间20 min的Z值较大,选取15、20、25 min用于正交试验。

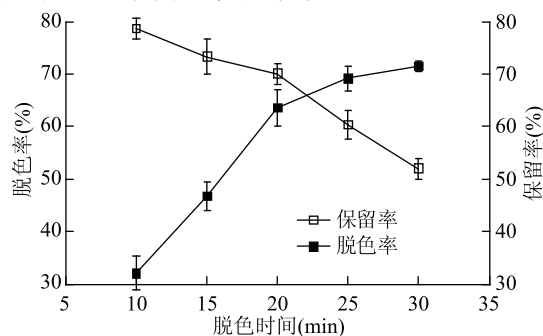


图4 脱色时间对脱色率和保留率的影响

Fig.4 Effect of decolorization time on decolorization rate and retention rate

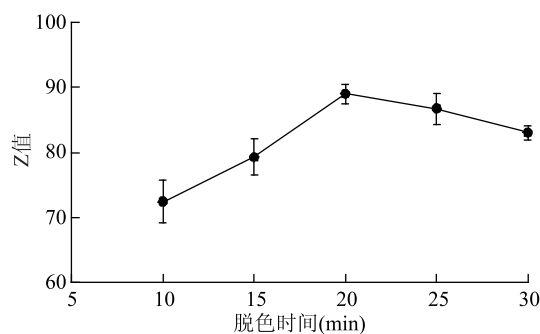


图5 脱色时间对Z值的影响

Fig.5 Effect of decolorization time on Z value

2.2.3 水浴温度的影响 桑叶生物碱提取液加入4%活性炭,脱色20 min,脱色1次,水浴温度对脱色率和保留率的影响见图6。总体上随着温度升高,脱色率先变大后减小,保留率持续下降,其中30~50℃内脱色率逐渐增加,50~70℃内脱色率逐渐下降,可能由于温度越高,溶液粘度下降,分子运动加快,有利于活性炭吸附,但是温度太高,就会造成活性炭的解吸作用大于吸附作用,另外高温可能影响生物碱

的稳定性,使保留率下降^[25]。利用Z值评价水浴温度的脱色效果见图7。总体上随着水浴温度升高,Z值先变大后减小,其中50℃的Z值最大,选取40、50、60℃用于正交试验。

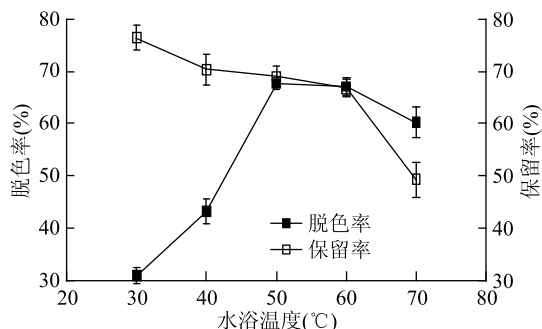


图6 水浴温度对脱色率和保留率的影响

Fig.6 Effect of water bath temperature on decolorization rate and retention rate

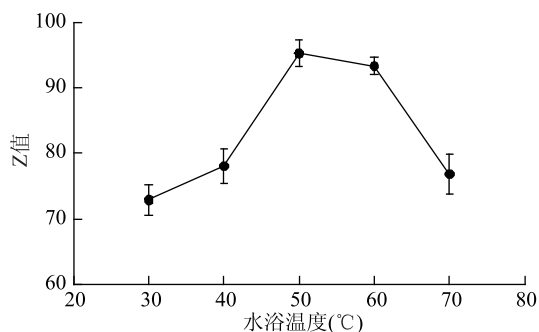


图7 水浴温度对Z值的影响

Fig.7 Effect of water bath temperature on Z value

2.2.4 脱色次数的影响 桑叶生物碱提取液加入4%活性炭,在50℃脱色20 min,脱色次数对脱色率和保留率的影响见图8。随着脱色次数增加,脱色率增加幅度不大,但保留率持续减小。活性炭对色素和生物碱的吸附可能存在竞争性,随着脱色次数增加,活性炭对色素的吸附先逐渐达到饱和,而后逐渐增强了对生物碱的吸附作用,导致保留率下降,另外,由于活性炭颗粒较小,超过3次处理后,发现部分微小活性炭颗粒进入提取液中,反而引起溶液颜色变暗,会影响脱色效果^[26]。脱色1次的Z值大于脱色2次和3次的,但是三者间没有显著性差异($P > 0.05$),选取1、2、3次用于正交试验。

2.3 桑叶生物碱提取液活性炭脱色正交试验

以Z值为评价指标,利用 $L_9(3^4)$ 正交试验优化活性炭脱色结果见表2。通过对比各因素R值,确定四个因素对脱色效果的影响顺序依次是:脱色次数 > 活性炭用量 > 脱色时间 > 水浴温度,优化出活性炭最佳脱色条件的组合为 $A_2B_3C_3D_2$,即桑叶生物碱提取液用4%活性炭在60℃脱色25 min,脱色2次。通过3组平行试验验证,所得脱色率为 $79.80\% \pm 5.08\%$,保留率为 $78.52\% \pm 4.75\%$,验证试验所得Z值为100,实验结果高于正交试验的其他组合,表明 $A_2B_3C_3D_2$ 可以作为活性炭脱色的最佳工艺条件,桑叶提取液在此条件下脱色后,其生物碱含量由28.02%提高到47.39%。

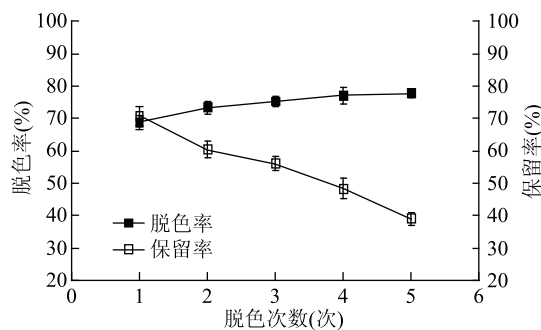


图8 脱色次数对脱色率和保留率的影响

Fig.8 Effect of decolorization frequency on decolorization rate and retention rate

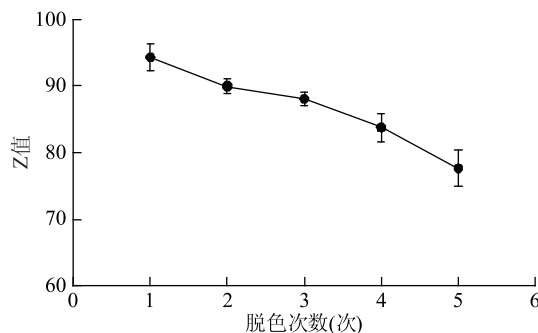


图9 脱色次数对Z值的影响

Fig.9 Effect of decolorization frequency on Z value

表2 活性炭脱色正交试验结果

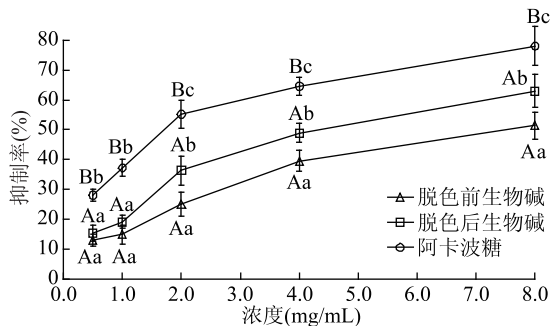
Table 2 Orthogonal experiment results of activated carbon decolorization

实验号	A	B	C	D	Z 值
1	1	1	1	1	68.92
2	1	2	2	2	79.57
3	1	3	3	3	80.60
4	2	1	1	3	73.30
5	2	2	2	1	77.15
6	2	3	3	2	95.99
7	3	1	1	2	75.37
8	3	2	2	3	66.87
9	3	3	3	1	63.06
k ₁	76.36	72.53	77.26	69.71	
k ₂	82.15	74.53	71.98	83.64	
k ₃	68.43	79.88	77.71	73.59	
R	13.72	7.35	5.73	13.93	

2.4 脱色处理对桑叶生物碱 α -葡萄糖苷酶抑制活性的影响

桑叶生物碱提取液经优化脱色条件处理后,对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制作用见图10。在0.5~8.0 mg/mL内,脱色前、后的生物碱对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制率随着浓度的增加而变大,且呈剂量依赖性,两者的最大抑制率分别为 $51.37\% \pm 4.58\%$ 和 $63.06\% \pm 5.38\%$,其中浓度2.0~8.0 mg/mL脱色后生物碱的抑制率显著高于相同浓度脱色前生物碱($P < 0.05$);通过处理浓度和抑制率的关系,阿卡波糖、脱色前、后的生物碱对 α -葡萄糖苷酶半数抑制浓度

IC_{50} 分别为1.72、7.75和4.27 mg/mL,表明脱色后生物碱对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制作用强于脱色前。

图10 脱色前、后的桑叶生物碱对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制率Fig.10 The inhibition rate of decolorized and non-decolorized alkaloids from mulberry leaf on the α -glucosidase activity

注:相同浓度条件下抑制率比较,不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),不同大写字母表示差异极其显著($P < 0.01$)。

3 讨论和结论

刘率男等^[27]研究了生物碱含量53.4%的桑叶生物碱体外对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制作用。本研究桑叶生物碱提取液用4%活性炭在60℃脱色25 min,脱色2次,其生物碱含量由脱色前的28.02%提高到脱色后的47.39%,并且脱色后生物碱对 α -葡萄糖苷酶半数抑制浓度 IC_{50} (4.27 mg/mL)小于脱色前的(7.75 mg/mL),后续工作有必要进一步对桑叶生物碱进行加工处理,并研究其单体化学成分组成。

本研究采用超声波加表面活性剂法提取桑叶生物碱,通过在提取液中加入4%活性炭在60℃脱色25 min,脱色2次取得较好的脱色效果,其脱色率和保留率分别为79.80%和78.52%,其Z值可达100;浓度2.0~8.0 mg/mL脱色后桑叶生物碱的抑制率显著高于相同浓度脱色前生物碱($P < 0.05$),脱色前、后桑叶生物碱的最大抑制率分别为51.37%和63.06%,脱色前、后生物碱对 α -葡萄糖苷酶的 IC_{50} 分别为7.75和4.27 mg/mL,脱色可以提高桑叶生物碱对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制作用,为桑叶生物碱提取和纯化提供了理论支持。

参考文献

- [1] 张立雯,季涛,宿树兰,等.桑叶黄酮类和生物碱类成分在正常和糖尿病大鼠体内的药代动力学研究[J].中国中药杂志,2017,42(21):4218-4225.
- [2] Kemsawasd V, Chaikham P. Survival of probiotics in soyoghurt plus mulberry (c.v. Chiang Mai 60) leaf extract during refrigerated storage and their ability to tolerate gastrointestinal transit [J]. LWT, 2018, 93: 94-101.
- [3] Peng C H, Lin H T, Chung D J, et al. Mulberry leaf extracts prevent obesity-induced NAFLD with regulating adipocytokines, inflammation and oxidative stress [J]. Journal of Food and Drug Analysis, 2018, 26(2): 778-787.
- [4] Li Y Z, Zhang X P, Liang C L, et al. Safety evaluation of mulberry leaf extract: Acute, subacute toxicity and genotoxicity studies [J]. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2018, 95:

220-226.

[5] 郝蒙蒙, 崔汉钊, 韩爱芝, 等. 药桑叶中活性物质的提取及对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用[J]. 食品科学, 2018, 39(19): 19-23.

[6] Eruyur N, Dural E. Determination of 1-deoxynojirimycin by a developed and validated HPLC-FLD method and assessment of in-vitro antioxidant, α -amylase and α -glucosidase inhibitory activity in mulberry varieties from Turkey [J]. Phytomedicine, 2019, 53: 234-242.

[7] 杨忠敏, 王祖文, 沈以红, 等. 食源性桑叶生物碱在模拟胃肠消化过程中的抗氧化及抗蛋白、DNA 氧化损伤[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(8): 36-43.

[8] Li Y G, Zhong S, Sun Y Q, et al. The mulberry-derived 1-deoxynojirimycin (DNJ) inhibits high-fat diet (HFD)-induced hypercholesterolemia and modulates the gut microbiota in a gender-specific manner [J]. Journal of Functional Foods, 2019, 52: 63-72.

[9] 刘富岗, 冯素香, 张杰, 等. 白屈菜多糖果胶酶提取及脱色工艺的优化[J]. 中成药, 2018, 40(7): 1622-1626.

[10] 李芙蓉, 李鑫. 维药小茴香中总黄酮的活性炭脱色工艺研究[J]. 食品工业, 2018, 39(12): 54-58.

[11] Kim J H, Kim H Y, Jin C H, et al. Mechanistic investigation of anthocyanidin derivatives as α -glucosidase inhibitors [J]. Bioorganic Chemistry, 2019, 87: 803-809.

[12] Wen P, Hu T G, Linhardt R J, et al. Mulberry: A review of bioactive compounds and advanced processing technology [J]. Trends in Food Science & Technology, 2019, 83: 138-158.

[13] Wang B H, Cao J J, Zhang B, et al. Structural characterization, physicochemical properties and α -glucosidase inhibitory activity of polysaccharide from the fruits of wax apple [J]. Carbohydrate Polymers, 2019, 211: 227-236.

[14] 贺胜, 周杏子, 何海, 等. 响应面法优化桑叶总生物碱超声提取工艺[J]. 中国药房, 2015(25): 3537-3540.

[15] Vichasilp C, Nakagawa K, Higuchi O, et al. Development of high 1-deoxynojirimycin (DNJ) content mulberry tea and use of

response surface methodology to optimize tea-making conditions for highest DNJ extraction [J]. LWT - Food Science and Technology, 2012, 45(2): 226-232.

[16] 刘芳. 中药桑叶中主要成分的含量测定的研究进展[J]. 天津药学, 2018(2): 53-57.

[17] 沈维治, 邹宇晓, 刘凡, 等. 桑叶总生物碱含量的变化规律[J]. 蚕业科学, 2018(5): 783-786.

[18] 张婷婷, 李艺丹, 郑凯旋, 等. 多指标综合加权评分法结合 D-最优设计响应面法优选酒川芎的炮制工艺[J]. 中草药, 2018, 49(15): 3639-3644.

[19] 木合塔尔·吐尔洪, 楚刚辉, 陈义磊, 等. “一标多测”多指标综合加权评分法优选牛舌草有效成分的提取工艺[J]. 南开大学学报: 自然科学版, 2017, 50(6): 90-94.

[20] Shao J H, Chen J, Zhao C C, et al. Insecticidal and α -glucosidase inhibitory activities of chemical constituents from viburnum fordiae hance [J]. Natural Product Research, 2019, 33(18): 2662-2667.

[21] 张明均, 李坚斌, 朱静. 雪莲果低聚果糖粗提液的活性炭脱色研究[J]. 食品工业, 2018(7): 58-62.

[22] Qu W Y, Yuan T, Yin G J, et al. Effect of properties of activated carbon on malachite green adsorption [J]. Fuel, 2019, 249: 45-53.

[23] 胡会刚, 赵巧丽, 鹿振才, 等. 芒果皮渣多糖脱蛋白和脱色工艺研究[J]. 食品工业科技, 2018, 39(1): 183-188.

[24] 张丽红, 谢三都, 徐芳, 等. 紫苏叶多糖活性炭脱色工艺优化[J]. 食品与机械, 2015, 31(3): 224-231.

[25] Zheng Y, Li Q Z, Yuan C C, et al. Influence of temperature on adsorption selectivity: Coal-based activated carbon for CH₄ enrichment from coal mine methane [J]. Powder Technology, 2019, 347: 42-49.

[26] 薛丁萍, 徐斌, 韩及华, 等. 玉米胚脱色用活性炭的筛选及其脱色工艺的优化[J]. 中国粮油学报, 2014, 29(8): 11-16.

[27] 刘率男, 刘泉, 孙素娟, 等. α -葡萄糖苷酶抑制剂桑枝总生物碱的抗糖尿病作用研究[J]. 药学学报, 2019, 54(7): 1225-1233.

(上接第 161 页)

[22] Wang Z, Jie Xu Y L, Li Z, et al. Arsenic speciation of edible shrimp by high-performance liquid chromatography-inductively coupled plasma-mass spectrometry (HPLC-ICP-MS): Method development and health assessment [J]. Analytical Letters, 2019, 52(14): 2266-2282.

[23] Zhang L, Ding L, Shi H, et al. Eicosapentaenoic acid in the form of phospholipid exerts superior anti-atherosclerosis effects than its triglyceride form in ApoE^{-/-} mice [J]. Food & Function, 2019, 10(7): 4177-4188.

[24] 刘菁. 芝麻油脚综合利用研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2014.

[25] 沈虹力, 邓尚贵, 方国宏, 等. 响应面法优化冷冻即食鱿鱼的加工工艺研究[J]. 食品工业, 2018, 39(10): 132-136.

[26] 曹春艳. 响应面法优化银杏叶黄酮提取工艺[J]. 中国食品学报, 2014, 14(4): 78-86.

[27] 曹玮珈, 包海蓉, 潘镜, 等. 罗非鱼下脚料中鱼油的提取工艺研究进展[J]. 食品工业, 2015, 36(2): 217-222.

[28] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. GB 2762-2017 食品安全国家标准 食品中污染物限量[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017: 4-11.

[29] Li D, Liu P, Wang W, et al. An efficient upgrading approach to produce n-3 polyunsaturated fatty acids-rich edible grade oil from high-acid squid visceral oil [J]. Biochemical Engineering Journal, 2017, 127(5): 167-174.

[30] 张蒙娜. 沙丁鱼油中 EPA 和 DHA 富集工艺的研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2019.

[31] 国林青. 油酸对 3T3-L1 脂肪细胞脂联素表达的调节及 CDK5/PPAR γ 介导的机制研究[D]. 广州: 南方医科大学, 2017.

[32] El-moghazy M, Zedan N S, El-atrsh A M, et al. The possible effect of diets containing fish oil (ω -3) on hematological, biochemical and histopathological alterations of rabbit liver and kidney [J]. Biomedicine & Preventive Nutrition, 2014, 4(3): 371-377.