

紫竹盐的抗炎作用及抗肝癌活性研究

季红福¹, 郑文豪¹, 肖竹钱^{1,2,3}, 毛建卫^{1,2,3,4}, 王永江^{1,2,3}

(1. 浙江科技学院 生物与化学工程学院, 杭州 310023; 2. 浙江省农产品化学与生物加工技术重点实验室, 杭州 310023;
3. 浙江省农业生物资源生化制造协同创新中心, 杭州 310023; 4. 浙江工业职业技术学院 黄酒学院, 浙江 绍兴 312000)

摘要: 为研究紫竹盐的抗炎和抗癌功效, 采用炎症因子试剂盒检测粗海盐、精制海盐和紫竹盐对小鼠单核巨噬细胞 RAW 264.7 的一氧化氮(NO), 以及炎症因子肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白细胞介素-1 β (IL-1 β)含量的影响, 并采用流式细胞仪测定3种盐对肝癌细胞 HepG2、正常肝细胞 WRL68 凋亡的影响。结果表明: 紫竹盐能显著抑制 NO 释放及降低 TNF- α 、IL-1 β 的分泌, 具有较好的抗炎活性; 在 0.6% 质量分数下, 紫竹盐对肝癌细胞的凋亡率高达 66.56% \pm 5.08%, 高于紫杉醇(41.16% \pm 3.68%)、粗海盐(31.02% \pm 4.18%)和精制海盐(29.32% \pm 5.13%); 在相同质量分数下, 紫竹盐对正常肝细胞的凋亡率为 8.56% \pm 0.41%, 低于紫杉醇(23.89% \pm 2.28%)、粗海盐(21.45% \pm 0.47%)和精制海盐(16.82% \pm 1.49%)。紫竹盐的抗炎和抗肝癌活性研究, 可为后续紫竹盐产品的开发提供理论依据。

关键词: 紫竹盐; 抗炎作用; 抗肝癌活性; 凋亡

中图分类号: TS312

文献标志码: A

文章编号: 1671-8798(2021)06-0482-07

Study on anti-inflammatory effect and anti-hepatoma activity of purple bamboo salt

JI Hongfu¹, ZHENG Wenhao¹, XIAO Zhuqian^{1,2,3}, MAO Jianwei^{1,2,3,4}, WANG Yongjiang^{1,2,3}

(1. School of Biological and Chemical Engineering, Zhejiang University of Science and Technology, Hangzhou 310023, Zhejiang, China; 2. Zhejiang Provincial Key Laboratory for Chemical and Biological Processing Technology of Farm Produce, Hangzhou 310023, Zhejiang, China; 3. Zhejiang Provincial Collaborative Innovation Center of Agricultural Biological Resources Biochemical Manufacturing, Hangzhou 310023, Zhejiang, China; 4. School of Rice Wine, Zhejiang Industry Polytechnic College, Shaoxing 312000, Zhejiang, China)

Abstract: In order to explore the effect of purple bamboo salt on anti-inflammatory and anticancer effects, the inflammatory factor kit was employed to detect the impacts of crude sea salt, refined sea salt and purple bamboo salt on the contents of nitric oxide (NO), inflammatory cytokines TNF- α and IL-1 β of mononuclear macrophage RAW 264.7 in mice. Then the flow cytometer was utilized to measure the impacts of those three kinds of salts on apoptosis of the hepatoma cells HepG2 and the

收稿日期: 2021-01-15

基金项目: 浙江省公益技术应用研究计划项目(LGC21B060001); 浙江省自然科学基金项目(LZY21E080002)

通信作者: 王永江(1965—), 男, 浙江省兰溪人, 教授, 博士, 主要从事农业生物资源生化制造研究。E-mail: yjwang@zust.edu.cn。

normal hepatocytes WRL68. The results show that purple bamboo salt boasts fairly good anti-inflammatory activity by significantly augmenting the inhibition of NO release and reducing the secretion of $\text{TNF-}\alpha$ and $\text{IL-1}\beta$; when the mass fraction of salt being 0.6%, the apoptosis rate of hepatoma cells induced by purple bamboo salt reaches up to $66.56\% \pm 5.08\%$, higher than that by paclitaxel ($41.16\% \pm 3.68\%$), crude sea salt ($31.02\% \pm 4.18\%$) and refined sea salt ($29.32\% \pm 5.13\%$); at the same mass fraction, the apoptosis rate of normal hepatocytes induced by purple bamboo salt is $8.56\% \pm 0.41\%$, much lower than that by paclitaxel ($23.89\% \pm 2.28\%$), crude sea salt ($21.45\% \pm 0.47\%$) and refined sea salt ($16.82\% \pm 1.49\%$). The anti-inflammatory and anti-hepatoma activities of purple bamboo salt could provide a theoretical basis for the subsequent development of purple bamboo salt products.

Keywords: purple bamboo salt; anti-inflammatory effect; anti-hepatoma activity; apoptosis

食盐是人类日常饮食中不可或缺的调料之一,它除了维持细胞渗透压之外,还与一些疾病如高血压、肥胖等密切相关^[1]。竹盐是将日晒海盐放入新鲜楠竹桶中,用黄土封盖,以松枝为燃料,在 $800 \sim 1\,300\text{ }^{\circ}\text{C}$ 高温下煅烧而成。经过 9 次煅烧的竹盐,因其颜色表现为蓝紫色,又称之为紫竹盐^[2]。

经过高温煅烧,竹盐与竹筒、黄土中的微量元素充分融合,使得其中金属元素(如钙、硅、钾、镁、铁、锌、硒等)的种类和含量均高于普通食盐;此外,高温煅烧还可以有效降低砷、铅和汞等重金属及有机污染物(二噁英和多氯联苯等)含量,因而具备了一些独特的功能。金属微量元素是人体所必需的矿物元素,对人体的生理健康起重要作用。人体的一些疾病与某些金属微量元素的失衡有关,一旦高于或者低于平衡水平,就可能会引发人体疾病^[3]。目前,对竹盐的研究主要集中在 1 次煅烧制得的竹盐上,且主要研究其抗氧化^[4-5]、抗炎^[6-7]、抑菌^[8]、保护肝脏、治疗胃肠道疾病^[9-10]、抑制肿瘤细胞增殖^[11-12] 及抗皮肤衰老^[13-14] 等方面。紫竹盐是经过 9 次煅烧工艺而制得的产品,其矿物元素含量多于 1 次煅烧竹盐、精制海盐和粗海盐,与 1 次煅烧竹盐相比,紫竹盐具有更好的生理活性和保健功效。目前关于紫竹盐对抗细胞炎症和抗肝癌的作用研究较少,因此,研究紫竹盐抗炎活性的功效及对肝癌细胞和正常肝细胞凋亡的影响,能为紫竹盐产品的进一步开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

紫竹盐、精制海盐、粗海盐,浙江临安三和园竹盐食品有限公司;鹰的最小培养基(minimum eagle's medium, MEM)、达尔伯克改良鹰的培养基(Dulbecco's modified eagle's medium, DMEM)、胎牛血清、紫杉醇、青霉素、链霉素、人肝癌细胞(HepG2)、人正常肝细胞(WRL68),武汉普诺赛生命科技有限公司;3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium-bromide, MTT),脂多糖(lightning protection system, LPS),赛国生物科技有限责任公司;格里斯试剂盒(Griess 试剂盒)、聚羧基丙烯酸正丁酯试剂盒(BCA 试剂盒)、肿瘤坏死因子- α 试剂盒($\text{TNF-}\alpha$ 试剂盒)、白细胞介素- 1β 试剂盒($\text{IL-1}\beta$ 试剂盒)、细胞凋亡检测试剂盒(Annexin V-FITC 试剂盒),武汉博士德生物工程有限公司;小鼠单核巨噬细胞(RAW 264.7),上海富衡生物科技有限公司;多功能酶标仪(SpectraMax iD3),美谷分子仪器有限公司;二氧化碳培养箱(BB150)、 A_2 型 II 级生物安全柜(MSC-AdvantageTM),美国赛默飞世尔科技公司;倒置显微镜(CKX53),日本奥林巴斯公司;CytoFLEX 流式细胞仪,美国贝克曼库尔特有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 紫竹盐、精制海盐和粗海盐对 RAW264.7 细胞炎症的影响的测定

1.2.1.1 RAW264.7 细胞传代培养 RAW264.7 细胞复苏后,用质量分数为 10% 的胎牛血清的 DMEM 培养液,于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、体积分数为 5% 的 CO_2 及饱和湿度的培养箱中培养。传至 3 代后,待细胞状态稳定后分组试验。

1.2.1.2 紫竹盐、精制海盐和粗海盐对 RAW264.7 细胞增殖的测定 试验分组:配制最终样品质量分数分别 0%、0.1%、0.2%、0.4%、0.6%和 0.8%的 DMEM 细胞培养液。在 96 孔板中加入混合均匀的细胞悬浮液 100 μ L(每孔 1×10^4 个细胞),培养 24 h 后弃培养液,按上述分组加入 100 μ L 盐样品培养基,于 37 $^{\circ}$ C、体积分数为 5%的 CO_2 及饱和湿度的培养箱中培养 24 h。采用 MTT 法^[11]测定不同质量分数样品对细胞存活率的影响。

1.2.1.3 紫竹盐、精制海盐和粗海盐对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞因子的影响的测定 将 RAW264.7 细胞计数,在 24 孔板中加入混合均匀的细胞悬浮液 1 mL(每孔 1×10^5 个细胞),于 37 $^{\circ}$ C、体积分数为 5%的 CO_2 及饱和湿度的培养箱中培养 24 h,分组试验,每组 3 个复孔。试验分组:正常对照组、LPS 组(1 mg/L)、LPS(1 mg/L)+质量分数为 0.1%的粗海盐组、LPS(1 mg/L)+质量分数为 0.1%的精制海盐组、LPS(1 mg/L)+质量分数为 0.1%的紫竹盐组。弃培养液,按上述分组各孔加入 1 mL 盐样品培养基,于 37 $^{\circ}$ C、体积分数为 5%的 CO_2 及饱和湿度的培养箱中培养再 24 h,每组设置 3 个复孔,收集细胞上清液,采用 Griess 试剂盒测定不同盐样品对 RAW264.7 细胞的 NO 释放量,采用 $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 试剂盒测定上清液中 $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 的含量。收集上清液,采用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定每孔蛋白含量。

1.2.2 紫竹盐、精制海盐和粗海盐对 HepG2 细胞和 WRL68 细胞增殖及凋亡的影响的测定

1.2.2.1 HepG2 细胞和 WRL68 细胞传代培养 HepG2 和 WRL68 细胞复苏后,分别用质量分数为 10%的胎牛血清的 MEM 和 DMEM 培养液于 37 $^{\circ}$ C、体积分数为 5%的 CO_2 及饱和湿度的培养箱中培养。传至 3 代后,待细胞状态稳定后分组试验。

1.2.2.2 细胞存活率检测 分别在 96 孔板中加入 100 μ L 的 HepG2 和 WRL68 细胞悬液(每孔 1×10^4 个细胞),培养 24 h,弃培养液,加入 100 μ L 最终盐样品质量分数分别为 0.1%、0.2%、0.4%、0.6%和 0.8%的细胞培养液,每组设置 6 个复孔,于 37 $^{\circ}$ C、体积分数为 5%的 CO_2 及饱和湿度的培养箱中培养 24 h,采用 MTT 法测定不同质量分数样品对细胞存活率的影响。

1.2.2.3 流式细胞仪检测细胞凋亡 细胞培养和处理方法同 1.2.2.2 节,收集经 0.6%质量分数的盐样品处理过的细胞,磷酸缓冲盐溶液润洗 2 次后重悬细胞计数,取 1×10^5 重悬的细胞,1 000 g 离心 5 min,弃上清液,依次加入 195 μ L Annexin V-FITC 结合液、5 μ L Annexin V-FITC、10 μ L 碘化丙啶染色液,轻轻混匀,室温避光孵育 10~20 min,置于冰浴中备用。用流式细胞仪检测并记录数据。

1.2.3 数据统计学处理

试验数据采用平均值 \pm 标准差表示,用 SPSS19.0 软件进行统计学及显著性分析,用 Origin8.0 软件绘制图表。

2 结果与分析

2.1 紫竹盐、精制海盐和粗海盐对 RAW264.7 细胞的影响结果分析

2.1.1 紫竹盐、精制海盐和粗海盐对 RAW264.7 细胞增殖的影响结果分析

紫竹盐、精制海盐和粗海盐质量分数对 RAW264.7 细胞增殖的影响如图 1 所示。经 MTT 法检测发现,质量分数为 0.1%的盐样品作用于 RAW264.7 细胞 24 h 后,与对照组相比,细胞活力无显著性差异。而随着盐样品质量分数的增大,RAW264.7 细胞的存活率与盐样品质量分数呈负相关。这可能是随着盐质量分数的增大,细胞培养基中的渗透压也会增加,从而影响细胞生长,故我们选择质量分数为 0.1%的盐样品进行后续试验。

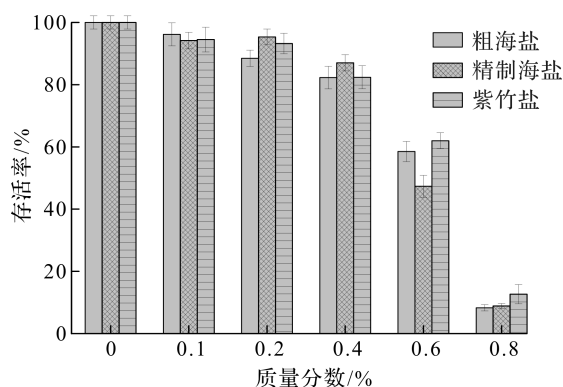


图 1 紫竹盐、精制海盐和粗海盐质量分数对 RAW264.7 细胞增殖的影响

Fig. 1 Effect of mass fractions of purple bamboo salt, refined sea salt and crude sea salt on proliferation of RAW264.7 cells

2.1.2 紫竹盐、精制海盐和粗海盐对 RAW264.7 细胞炎症的影响结果分析

当 LPS 对 RAW264.7 细胞产生刺激时,RAW264.7 细胞会被激活,产生炎症介质 NO 和炎症细胞因子 $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 等,故测定炎症细胞因子 $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 的含量是评价炎症严重程度的重要指标^[15-16]。根据林杨等^[17]的研究结果,选择质量浓度为 1 mg/L 的 LPS 进行后续试验。图 2 为盐样品对 LPS 诱导 RAW264.7 细胞炎症的影响,其中 a 表示在相同质量分数下与 LPS 组无显著性差异,b 表示在相同质量分数下与 LPS 组有显著性差异,c 表示在相同质量分数下与紫竹盐组有显著性差异。由图 2(a)可知,与对照组相比,LPS 组 RAW264.7 细胞的 NO 释放量提高极显著($p < 0.01$)。粗海盐组和精制海盐组与 LPS 组相比,RAW264.7 细胞的 NO 释放量均无显著性差异($p > 0.05$),而紫竹盐组可显著降低 RAW264.7 细胞的 NO 释放量($p < 0.05$),说明紫竹盐具有一定的抗炎作用。由图 2(b)和(c)可知,LPS 组中 $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 的含量显著高于对照组($p < 0.05$)。粗海盐组和精制海盐组与 LPS 组相比,RAW264.7 细胞中 $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 的含量均无显著性差异,而紫竹盐组可显著降低 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞中 $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 的含量($p < 0.05$)。上述试验结果表明:紫竹盐可通过下调 RAW264.7 细胞中 $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 的分泌而起到抗炎作用。尹湘君^[18]的研究表明石膏水煎液对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞炎症反应模型有一定的抗炎药效,其发挥抗炎药效的物质基础是有 Ca 元素,Ca 元素可以通过影响 $\text{TLR4/NF-}\kappa\text{B}$ 通路而发挥其抗炎作用。紫竹盐相比精制海盐和粗海盐,含有一定量的 Ca 元素,故能发挥一定的抗炎功效。

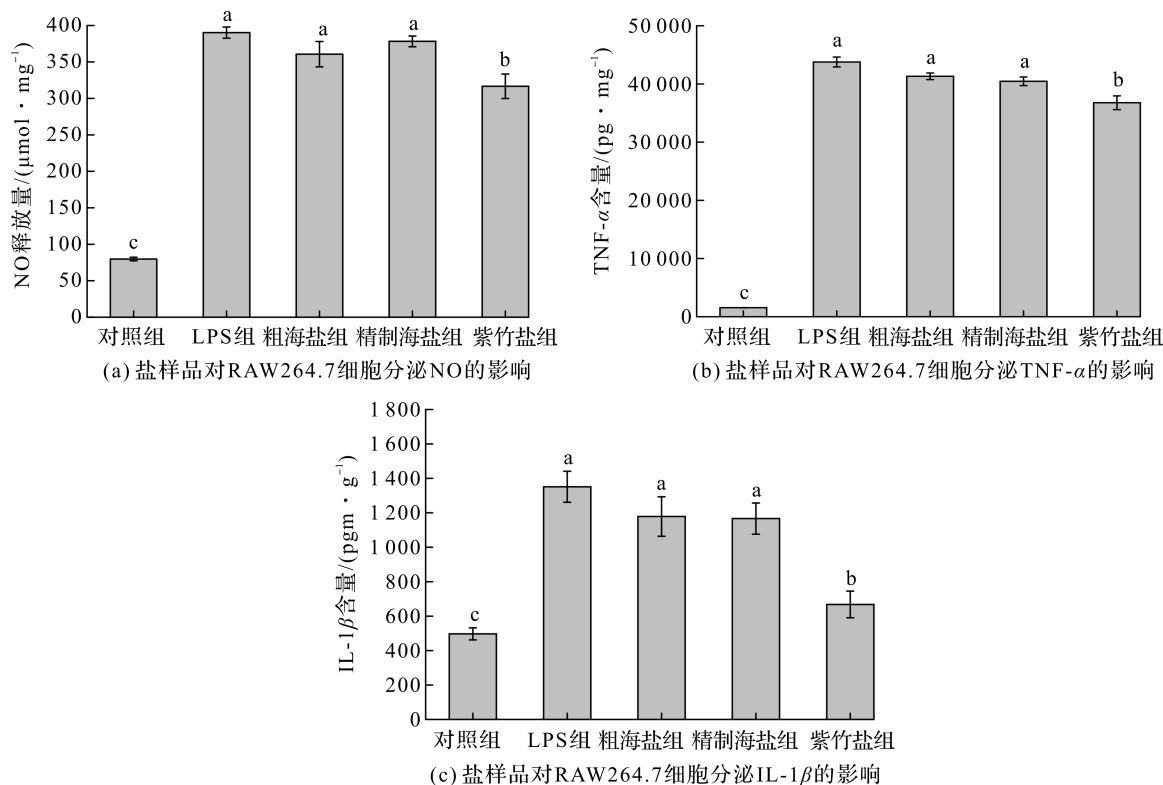


图2 盐样品对 LPS 诱导 RAW264.7 细胞炎症的影响

Fig. 2 Effect of salt samples on LPS induced inflammation of RAW264.7 cells

2.2 紫竹盐、精制海盐和粗海盐对 HepG2 细胞和 WRL68 细胞的影响结果分析

2.2.1 紫竹盐、精制海盐和粗海盐对 HepG2 细胞和 WRL68 细胞增殖的影响结果分析

紫竹盐、精制海盐和粗海盐对 HepG2 和 WRL68 增殖的影响如图 3 所示,从图中可以看出(H 代表 HepG2 细胞,W 代表 WRL68 细胞),在 0.1%~0.8% 的质量分数范围内,随着盐质量分数的增大,3 种盐样品对 HepG2 和 WRL68 细胞的抑制率呈质量分数依赖关系,在高质量分数下,其样品对 HepG2 和 WRL68 细胞有很大的毒性。对于 HepG2 细胞,在盐质量分数为 0.6% 时,粗海盐组和精制海盐组存活率为 75%,而紫竹盐组存活率为 63%。在盐质量分数为 0.8% 时,粗海盐组和精制海盐组存活率降至

30%,而紫竹盐组存活率降至 25%。对于 WRL68 细胞,在盐质量分数为 0.6%时,粗海盐组和精制海盐组存活率为 80%,紫竹盐组存活率为 95%;而在盐质量分数为 0.8%时,粗海盐组和精制海盐组存活率降至 65%,紫竹盐组存活率降至 75%。试验结果表明,紫竹盐抑制肝癌增殖效果优于粗海盐和精制海盐,而对 WRL68 细胞的损伤程度小于粗海盐和精制海盐。陈涓沁^[19]的研究表明竹盐和岩盐对正常人胃黏膜细胞(GES1)无明显影响,对人胃癌细胞(SGC7901 和 BGC823)和人肠癌细胞(Caco2)3 种胃肠道癌细胞具有较好的体外增殖抑制效果,且竹盐的抗癌效果优于岩盐;同时还表明细胞的耐酸性要强于耐碱性,甚至有一些细胞在偏酸环境中更易生长,癌细胞生长环境 pH 值一般为 6.85~6.95,癌细胞在酸性体液环境下很容易生长和扩散,而紫竹盐的 pH 值呈明显的弱碱性,可以推测紫竹盐可能通过调节体液酸碱度,诱导细胞凋亡。

2.2.2 紫竹盐、精制海盐和粗海盐对 HepG2 细胞凋亡影响的结果分析

由 2.2.1 节可知,在盐质量分数较高时(0.8%),3 种盐样品均对 HepG2 细胞产生较大毒性,细胞存活率低于 30%,坏死细胞过多,不易进行凋亡率测定;在盐质量分数较低时(0.1%~0.4%),3 种盐样品对 HepG2 细胞毒性较弱,细胞存活率均大于 80%,细胞凋亡区别不显著;而在盐质量分数为 0.6%时,3 种盐样品开始对 HepG2 细胞产生毒性,细胞存活率低于 70%,故选取质量分数为 0.6%的盐样品处理细胞。紫杉醇是世界公认的强活性广谱抗癌药物,研究表明其对多种肿瘤细胞具有抑制增殖,诱导凋亡的作用^[20],故选择 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的紫杉醇作为阳性对照组。图 4 为紫竹盐、精制海盐、粗海盐和紫杉醇对 HepG2 细胞凋亡的影响,其中红色表示凋亡细胞部分,紫色表示存活细胞和坏死细胞部分,Q1-UL 代表死细胞,Q1-UR 代表晚期凋亡细胞,Q1-LR 代表早期凋亡细胞,Q1-LL 代表正常细胞,FITC-A 代表指示剂 FITC,PE-A 代表 PE 通道信号。由图 4 可知,采用质量分数为 0.6%的盐样品作用于 HepG2 细胞 24 h 后,与对照组相比,紫竹盐组可显著促进 HepG2 细胞的凋亡,且促调效果优于粗海盐组、精制海盐组和紫杉醇组。紫竹盐、精制海盐、粗海盐和紫杉醇对 HepG2 细胞凋亡率的影响见表 1。由表 1 可知,质量分数为 0.6%的盐样品作用 HepG2 细胞 24 h 后,紫竹盐组的总凋亡率($66.56\% \pm 5.08\%$)高于粗海盐组($31.02\% \pm 4.18\%$)、精制海盐组($29.32\% \pm 5.13\%$)和紫杉醇组($41.16\% \pm 3.68\%$)。紫竹盐主要促进肝癌细胞的晚期凋亡,高达 $51.26\% \pm 3.28\%$ 。Yi 等^[12]的研究表明,不同煅烧次数的竹盐对抑制小鼠体内的肿瘤增殖效果存在显著差异,其中 9 烤竹盐对肿瘤增殖抑制效果优于 3 烤竹盐、1 烤竹盐,且不同煅烧次数的竹盐对抑制肿瘤增殖效果均优于精制食盐和原盐,与本试验的结果类似。紫竹盐是经过 9 次煅烧制得,紫竹盐里 K、Ca、Mg、Fe 等元素的含量随煅烧次数增多而增加,同时紫竹盐比精制海盐和粗海盐具有更多的羟基,故表现出一定的抗癌活性。

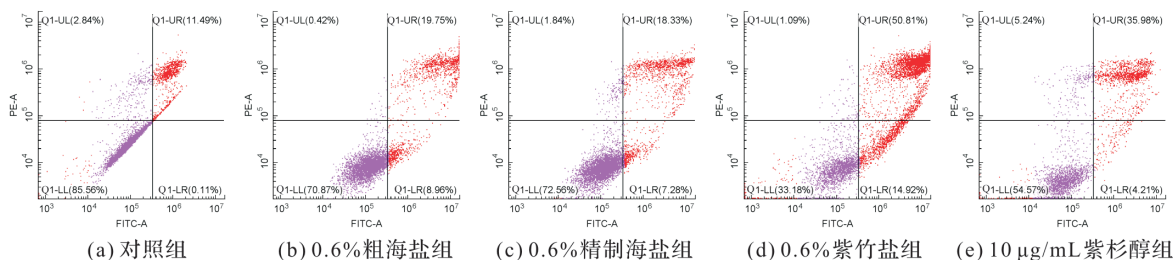


图 4 紫竹盐、精制海盐、粗海盐和紫杉醇对 HepG2 细胞凋亡的影响

Fig. 4 Effect of purple bamboo salt, refined sea salt, crude sea salt and paclitaxel on apoptosis of HepG2 cells

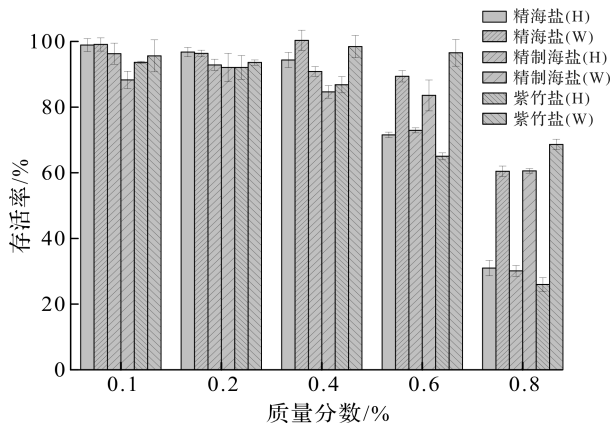


图 3 紫竹盐、精制海盐和粗海盐对 HepG2 和 WRL68 增殖的影响

Fig. 3 Effect of purple bamboo salt, refined sea salt and crude sea salt on proliferation of HepG2 and WRL68 cells

表 1 紫竹盐、精制海盐、粗海盐和紫杉醇对 HepG2 细胞凋亡率的影响

Table 1 Effect of purple bamboo salt, refined sea salt, crude sea salt and paclitaxel on apoptosis rate of HepG2 cells

盐样品	早期凋亡率	晚期凋亡率	总凋亡率
对照组	0.15 ± 2.39	10.48 ± 2.39	10.63 ± 2.14
粗海盐组	10.56 ± 2.03	20.46 ± 3.17	31.02 ± 4.18
精制海盐组	9.87 ± 4.57	19.45 ± 1.87	29.32 ± 5.13
紫竹盐组	15.30 ± 1.07	51.26 ± 3.28	66.56 ± 5.08
紫杉醇组	4.87 ± 2.11	36.29 ± 1.79	41.16 ± 3.68

2.2.3 紫竹盐、精制海盐和粗海盐对 WRL68 细胞凋亡的影响结果分析

根据 2.2.2 节,采用质量分数为 0.6% 的盐样品处理 WRL68 细胞。图 5 为紫竹盐、精制海盐、粗海盐和紫杉醇对 WRL68 细胞凋亡的影响,其中红色表示凋亡细胞部分,蓝色表示存活细胞和坏死细胞部分,Q1-UL 代表死细胞,Q1-UR 代表晚期凋亡细胞,Q1-LR 代表早期凋亡细胞,Q1-LL 代表正常细胞,FITC-A 代表指示剂 FITC,PE-A 代表 PE 通道信号。由图 5 可知,与对照组相比,紫竹盐组 WRL68 细胞的凋亡率远低于粗海盐组、精制海盐组和紫杉醇组,说明紫竹盐对 WRL68 细胞凋亡的影响较小。紫竹盐、精制海盐、粗海盐和紫杉醇对 WRL68 细胞凋亡率的影响见表 2。由表 2 可知,质量分数为 0.6% 的盐样品作用于 WRL68 细胞 24 h 后,与对照组相比,紫竹盐组的细胞凋亡率为 $8.56\% \pm 0.41\%$,远低于紫杉醇组 ($23.89\% \pm 2.28\%$)、粗海盐组 ($21.45\% \pm 0.47\%$) 和精制海盐组 ($16.82\% \pm 1.49\%$)。试验结果表明,紫杉醇作为抗癌药物,诱导 HepG2 细胞凋亡的同时也会诱导 WRL68 细胞凋亡。而在盐质量分数较高时,紫竹盐对 WRL68 细胞的损伤程度低于粗海盐、精制海盐和紫杉醇。Zhao 等^[21]的研究表明,竹盐可以显著降低肝损伤的大鼠血清中天门冬氨酸氨基转移酶和谷氨酸氨基转移酶的活性,降低大鼠肝脏组织的受损程度,表明竹盐对正常组织和细胞具有一定的保护作用,与本试验的结果类似。

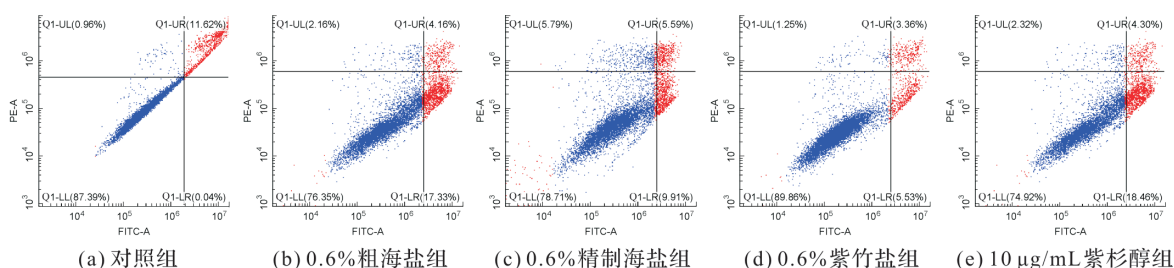


图 5 紫竹盐、精制海盐、粗海盐和紫杉醇对 WRL68 细胞凋亡的影响

Fig. 5 Effect of purple bamboo salt, refined sea salt, crude sea salt and paclitaxel on apoptosis of WRL68 cells

表 2 紫竹盐、精制海盐、粗海盐和紫杉醇对 WRL68 细胞凋亡率的影响

Table 2 Effect of purple bamboo salt, refined sea salt, crude sea salt and paclitaxel on apoptosis rate of WRL68 cells

盐样品	早期凋亡率	晚期凋亡率	总凋亡率
对照组	0.08 ± 0.93	12.80 ± 2.33	12.88 ± 0.82
粗海盐组	16.42 ± 1.56	5.03 ± 1.48	21.45 ± 0.47
精制海盐组	11.25 ± 2.24	5.57 ± 1.75	16.82 ± 1.49
紫竹盐组	4.87 ± 1.53	3.69 ± 2.53	8.56 ± 0.41
紫杉醇组	19.24 ± 1.95	4.65 ± 2.73	23.89 ± 2.28

3 结 论

本研究对比分析了粗海盐、精制海盐和紫竹盐对 LPS 诱导 RAW264.7 细胞的炎症和肝癌细胞增殖的影响,试验结果表明:紫竹盐能显著抑制 RAW264.7 细胞的 NO 释放及降低 $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 分泌,显著抑制肝癌细胞的增殖。在盐质量分数为 0.6% 时,紫竹盐对肝癌细胞的凋亡率高达 $66.56\% \pm 5.08\%$,高

于紫杉醇($41.16\% \pm 3.68\%$)、粗海盐($31.02\% \pm 4.18\%$)和精制海盐($29.32\% \pm 5.13\%$);在相同质量分数情况下,紫竹盐对正常肝细胞的凋亡率为 $8.56\% \pm 0.41\%$,远低于紫杉醇($23.89\% \pm 2.28\%$)、粗海盐($21.45\% \pm 0.47\%$)和精制海盐($16.82\% \pm 1.49\%$)。因此,紫竹盐抗炎活性优于粗海盐和精制海盐,对肝癌细胞的抑制作用优于紫杉醇、粗海盐和精制海盐,它对正常肝细胞的损伤程度低于紫杉醇、粗海盐和精制海盐。紫竹盐作为一种功能性盐,可以作为功能性食品添加剂代替部分普通食盐,具有较好的应用前景。

参考文献:

- [1] BREY C W, AKBARI-ALAVIJEH S, LING J, et al. Salts and energy balance: a special role for dietary salts in metabolic syndrome[J]. *Clinic Nutrition*, 2018, 38(5):1.
- [2] 张建民. 一种紫竹盐的制备方法:CN104783125A[P]. 2015-05-08.
- [3] 朱磊. 微量元素在骨质疏松防治中的作用[J]. *上海医药*, 2012, 33(8):43.
- [4] 陈亮. 竹盐传统工艺改良及新品护肝功效研究[D]. 杭州:浙江大学, 2019.
- [5] 骞宇, 赵欣. 竹盐的碱性特性和抗氧化效果[J]. *中国调味品*, 2014, 39(2):28.
- [6] LEE H J, CHOI C H. Anti-inflammatory effects of bamboo salt and sodium fluoride in human gingival fibroblastse: an in vitro study[J]. *Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, 2015, 31(6):303.
- [7] YOOU M S, NAM S Y, YOON K W, et al. Bamboo salt suppresses skin inflammation in mice with 2,4-dinitrofluorobenzene-induced atopic dermatitis[J]. *中国天然药物(英文版)*, 2018(2):97.
- [8] RYU E H, LEE S J, SHIN D, et al. Study on mineral concentration changes and anticariogenic effects of organic bamboo salt with different number of baking times[J]. *Journal of Agriculture ang Life Science*, 2018, 52(1):61.
- [9] JEONG J H, NOH M Y, CHOI J H, et al. Neuroprotective and antioxidant activities of bamboo salt soy sauce against H_2O_2 -induced oxidative stress in rat cortical neurons[J]. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2016, 11(1):1201.
- [10] 陈亮, 周沫希, 严雅丽, 等. 植物功能盐对小鼠急性化学性肝损伤的防护实验研究[J]. *中国调味品*, 2019, 44(5):33.
- [11] JU J, LEE G Y, KIM Y S, et al. Bamboo salt suppresses colon carcinogenesis in C57BL/6 mice with chemically induces colitis[J]. *Journal of Medical Food*, 2016, 19(11):1015.
- [12] YI R, QI Y C, ZHAO X, et al. Anti-tumor activities of bamboo salt on sarcoma 180 tumor-bearing BALB/c mice [J]. *Biomedical Research-India*, 2017, 28(9):4043.
- [13] ZHAO X, QI Y C, YI R, et al. Anti-ageing skin effects of Korean bamboo salt on SKH1 hairless mice[J]. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 2018, 103(7):1.
- [14] 严雅丽, 周沫希, 姜春鹏, 等. 新型功能性植物盐美白功效的体外评价[J]. *精细化工*, 2020, 37(5):1002.
- [15] 毛超一, 郭丛, 王跃生. 早小洋菊和射阳大白菊对脂多糖诱导 RAW 264.7 细胞炎症反应影响的差异[J]. *中医杂志*, 2020, 61(8):711.
- [16] 王萌, 郭泽, 周鸿缘, 等. 黄芪总黄酮对巨噬细胞 RAW 264.7 抗炎免疫的双向调节研究[J]. *中国预防兽医学报*, 2020, 42(8):822.
- [17] 林杨, 杨平, 张琦, 等. 蓝莓花色苷对脂多糖诱导 RAW 264.7 细胞炎症及结肠癌细胞增殖、凋亡的影响[J]. *食品科学*, 2020, 41(13):133.
- [18] 尹湘君. 基于 Ca 等无机元素探讨石膏抗炎作用机制研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2019.
- [19] 陈湄沁. 竹盐和岩盐的生物学功效研究[D]. 杭州:浙江大学, 2015.
- [20] 徐雅玲, 梁菁. 紫杉醇对肝癌细胞 HepG2 和大鼠原代培养肝细胞增殖抑制和诱导凋亡作用的研究[J]. *中国药理学通报*, 2018, 34(7):993.
- [21] ZHAO X, JU J H, KIM H M. Antimutagenic activity and in vitro anticancer effects of bamboo salt on HepG2 human hepatoma cells[J]. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, 2013, 32(1):9.