

葛根醇提工艺优化及醇提物体外降脂研究

Optimization of alcohol extraction process and *in vitro* lipid-lowering effects of *Puerariae lobata*

董红影

庞会娜

肖凤琴

邵 帅

严铭铭

DONG Hong-ying PANG Hui-na XIAO Feng-qin SHAO Shuai YAN Ming-ming

(长春中医药大学, 吉林 长春 130117)

(Changchun University of Chinese Medicine, Jilin, Changchun 130117, China)

摘要:目的:探究葛根醇提物体外降脂功效。方法:以油脂、胆固醇、甘胺胆酸钠及牛磺胆酸钠的吸附率为评价指标,采用多指标综合评价法,以提取时间、提取次数、乙醇浓度为影响因素,采用 Box-Behnken 响应面法优化葛根醇提工艺;通过比较由棕榈酸(PA)诱导的人肝癌细胞(HepG2)脂肪肝模型胞内甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)积累水平和胞内脂滴聚集程度,从而进一步验证其体外降脂活性。结果:葛根的最佳醇提工艺为乙醇体积分数 70%,提取时间 1 h,提取次数 3 次;葛根醇提物可明显降低细胞内 TG、TC 的含量,有效减少胞内脂滴聚集。结论:优化的葛根醇提工艺稳定可靠,可操作性好,且体外降脂活性较好。

关键词:葛根;醇提物;乙醇回流提取;降脂

Abstract: **Objective:** This study focused on exploring the *in vitro* lipid-lowering efficacy of *Pueraria lobata* extract. **Methods:** The adsorption ratios of oil, cholesterol, sodium glycocholate and sodium taurocholate were evaluated by a multi index comprehensive scoring method to optimize the *P. lobata* alcohol extraction process using Box-Behnken response surface methodology with extraction time, extraction times and ethanol concentration as influencing factors. *In vitro* lipid-lowering activity was further validated by comparing the levels of TG and TC accumulation and the extent of intracellular lipid droplet accumulation in a model of human hepatoma (HepG2) fatty liver cells induced by palmitic acid (PA). **Results:** The optimal alcohol extraction process of *P. lobata* was 70% by volume of ethanol, 1 h of extraction time and 3 times of extraction time; *P. lobata* extract could obviously re-

duce the contents of TG and TC in cells and effectively reduce the intracellular lipid droplet aggregation. **Conclusion:** The optimized *P. lobata* extraction process was stable and reliable, manipulable, and showed good lipid-lowering activity *in vitro*.

Keywords: *P. lobata*; alcohol extract; alcohol-reflux extraction; lipid-lowering

高血脂症主要是由于脂质代谢异常所引起。在机体脂类物质甘油三酯(TG)和总胆固醇(TC)偏高则会导致高血脂症^[1]。目前的降血脂药物通过与胆固醇结合为胆酸盐排出体外,起到降血脂作用^[2]。

葛根为豆科植物野葛 [*Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi] 的干燥根,含有黄酮类、三萜类、生物碱类等多种化合物^[3],其中葛根黄酮是其有效活性成分之一^[4]。研究^[5-6]表明,黄酮类化合物能够清除人类血液中的胆固醇与脂肪。目前黄酮类化合物的制备方法较多,包括水提法、有机溶剂萃取法、酸碱水解法等^[7],而乙醇提取法可克服水提物易霉变、其他有机溶剂毒性大等缺点,提取率高,后续的干燥及过滤等操作也比较容易进行,且有关葛根醇提物的降脂活性尚未见报道。

研究拟以胆固醇、油脂吸附量及胆酸盐结合量为评价指标优化葛根醇提工艺,并用棕榈酸诱导 HepG2 细胞构建脂肪肝细胞模型进一步验证,探究葛根醇提物体外降脂功效,以期为其进一步体内研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

葛根药材:长春市某药房;

无水乙醇:分析纯,无锡市晶科化工有限公司;

DMEM 高糖培养基(含双抗);美国 Gibco 公司;

油红 O 染色液:上海源叶生物科技有限公司;

棕榈酸(PA):美国 Solarbio 公司;

总胆固醇(TC)试剂盒以及甘油三酯(TG)检测试剂盒:南京建成生物工程研究所。

基金项目:吉林省中药保健食品科技创新中心项目(编号:YDZJ202102CXJD060)

作者简介:董红影,女,长春中医药大学在读硕士研究生。

通信作者:邵帅(1979—),女,长春中医药大学副教授,博士。

E-mail:36038612@qq.com

严铭铭(1968—),女,长春中医药大学教授,博士。

E-mail:yanmm595@126.com

收稿日期:2022-03-27 **改回日期:**2022-08-19

1.2 仪器与设备

紫外分光光度计:UV-1700 型,日本岛津(中国)有限公司;

恒温水浴锅:HH-6 数显型,金坛市佳美仪器有限公司;

离心机:Sigma 微型,德国 Sigma 公司;

电子天平:ME204E 型,梅特勒—托利多仪器(上海)有限公司;

酶标仪:Bio-red 550 型,上海领成生物科技有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 体外降脂指标测定

(1) 油脂吸附作用:根据文献[8]。按式(1)计算葛根醇提物结合油脂量。

$$O_A = \frac{W_2 - W_1}{W_1}, \quad (1)$$

式中:

O_A ——油脂吸附量, g/g;

W_1 ——称取葛根醇提物质量, g;

W_2 ——葛根醇提物吸油后质量, g。

(2) 胆固醇吸附作用:

① 胆固醇吸附标准曲线绘制:根据文献[9]并修改。按 0.05 的梯度分别精确吸取 0.1 mg/mL 胆固醇标准工作液 (0.00 ~ 0.40 mL) 于比色管中,加入冰醋酸至 0.40 mL,然后向各管中依次加入 0.2 mL 邻苯二甲醛 (1 mg/mL) 试剂及 4.0 mL 混合酸 ($V_{\text{浓硫酸}} : V_{\text{冰醋酸}} = 1 : 1$),混匀后 37 °C 水浴 10 min,于 550 nm 处测定各管的吸光度值,重复 3 次,将平均值进行线性回归,以胆固醇质量浓度为横坐标,吸光值为纵坐标,绘制标准曲线。

② 胆固醇吸附作用测定:根据文献[10]并修改。取 50 mL 10 mg/mL 样品与 100 mL 1 mg/mL 胆固醇溶液混合, pH 值调至 7, 80 r/min、37 °C 恒温振荡 2 h,取 0.4 mL 待测溶液加入 0.2 mL 邻苯二甲醛溶液和混酸 4 mL, 37 °C 水浴 10 min,在 4 000 r/min 离心 20 min,取上清液于 550 nm 处测定其吸光度。按式(2)计算胆固醇吸附率。

$$C_A = \frac{C_1 - C_2}{C_1}, \quad (2)$$

式中:

C_A ——胆固醇吸附率, %;

C_1 ——胆固醇加入量, mg/g;

C_2 ——胆固醇剩余量, mg/g。

(3) 胆酸盐结合能力:

① 绘制胆酸盐标准曲线:根据文献[11]并修改。配制甘氨酸胆酸钠与牛磺胆酸钠标准溶液 0.12 mmol/L (pH 6.3 的磷酸缓冲溶液),取 7 个 10 mL 的具塞试管,分别加入 0.0, 0.1, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mL 上述标准液,加入磷酸缓冲液补充至 2.5 mL,再加入 7.5 mL 60% H_2SO_4 , 70 °C 水浴 20 min,冰浴 5 min,在 387 nm 处测定吸光度。分别以甘氨酸胆酸钠和牛磺胆酸钠浓度为横坐

标,吸光度为纵坐标,绘制标准曲线。

② 胆酸盐结合试验:根据文献[12]。分别按(3)和式(4)计算剩余甘氨酸胆酸钠和牛磺胆酸钠含量。

$$S_G = \frac{c_0 - c_1}{c_0} \times 100\%, \quad (3)$$

式中:

S_G ——甘氨酸胆酸钠吸附率, %;

c_0 ——加入甘氨酸胆酸钠的量, mmol;

c_1 ——剩余甘氨酸胆酸钠的量, mmol。

$$S_T = \frac{c_2 - c_3}{c_2} \times 100\%, \quad (4)$$

式中:

S_T ——牛磺胆酸钠吸附率, %;

c_2 ——加入牛磺胆酸钠的量, mmol;

c_3 ——剩余牛磺胆酸钠的量, mmol。

1.3.2 葛根醇提物的提取工艺 将葛根饮片粉碎,过 100 目筛,称取干燥粉末,乙醇回流提取,合并滤液,浓缩,得葛根醇提物浸膏,将所得提取物干燥,粉碎,过 200 目筛,备用。

1.3.3 单因素试验

(1) 提取时间对体外降脂活性影响:固定乙醇体积分数为 70%,提取次数为 3 次,考察提取时间 (0.5, 1.0, 1.5, 2.0 h) 对体外降脂指标的影响。

(2) 提取次数对体外降脂活性影响:固定乙醇体积分数为 70%,提取时间为 1 h,考察提取次数 (1, 2, 3, 4 次) 对体外降脂指标的影响。

(3) 乙醇体积分数对体外降脂活性影响:固定提取次数 3 次,提取时间为 1 h,考察乙醇体积分数 (30%, 50%, 70%, 90%) 对体外降脂指标的影响。

1.3.4 Box-Behnken 响应面法优化提取工艺 根据单因素试验的结果,分别选择提取时间、提取次数和乙醇体积分数为自变量,以多个降脂指标作为响应值,采用多指标综合评分法优化葛根的醇提工艺。

综合评分:为使试验结果全面反映葛根醇提工艺,研究赋予 4 种降脂指标权重均为 0.25,根据式(5)计算综合评分。

$$W = (O_A \times 0.25 + C_A \times 0.25 + S_G \times 0.25 + S_T \times 0.25) \times 100\%, \quad (5)$$

式中:

W ——综合评分, %;

O_A ——油脂吸附量, g/g;

C_A ——胆固醇吸附率, %;

S_G ——甘氨酸胆酸钠吸附率, %;

S_T ——牛磺胆酸钠吸附率, %。

1.3.5 葛根醇提物棕榈酸诱导的人肝癌细胞 (HepG2) 脂肪肝模型影响

(1) 细胞培养:用 DMEM 高糖 (10% 胎牛血清, 1% 青霉素与链霉素双抗) 培养基培养 HepG2 细胞,置于含 5%

CO₂, 37 ℃ 的细胞培养箱生长,待细胞处于对数生长期时进行传代试验^[13]。

(2) 细胞毒性测定:采用 MTT 法对葛根醇提取物(AL)和棕榈酸(PA)进行细胞毒性试验。通过细胞计数使 96 孔板中每孔细胞密度为 1.5×10^4 个/100 μL ,放入 37 ℃,5% CO₂ 培养箱中培养。利用显微镜观察,待细胞长满 96 孔板板底后,加入不同浓度的药物,PA 以 50 的梯度设置(50~550 $\mu\text{mol/L}$)共 11 个浓度,AL 设置 0.5, 1.0, 10, 20, 50, 80, 100, 200, 500, 800, 1 000 $\mu\text{g/mL}$ 共 11 个浓度,继续培养 20 h 后,加 5 mg/mL MTT 溶液 20 μL 后继续培养 4 h,吸去溶液后加入 150 μL 二甲基亚砜,充分反应 10 min,使用酶联免疫检测仪在 490 nm 处测量各孔的吸光值。按式(6)计算细胞存活率。

$$C_v = \frac{A_2 - A_0}{A_1 - A_0} \times 100\%, \quad (6)$$

式中:

C_v ——细胞存活率, %;

A_0 ——调零组吸光度;

A_1 ——空白组吸光度;

A_2 ——样品组吸光度。

(3) 细胞内 TC、TG 水平测定:通过细胞计数调整细胞密度大约为 1.5×10^5 个/mL,待细胞 80% 融合后加药,共设 5 个试验组,每个试验组设置 3 个复孔。空白组加 DMEM 完全培养基,PA 组加 200 $\mu\text{mol/L}$ PA,3 个药物组分别加质量浓度为 100, 200, 300 $\mu\text{g/mL}$ 的 AL,继续培养 24 h。细胞培养 24 h 后,参照文献^[14]方法制备细胞匀浆上清,将其按照检测试剂盒的说明检测细胞中 TC 和 TG 含量。

(4) HepG2 细胞油红 O 染色:根据文献^[15]并修改。将 HepG2 细胞均匀接种在 6 孔板上,在恒温培养箱培养至细胞贴壁,吸去上清液,并用 PBS 洗涤孔板 2 次,加入 ORO Fixative 固定液固定 30 min,弃去固定液,用蒸馏水洗涤 2 次,加入 60% 异丙醇浸洗 5 min,弃去异丙醇后加入新配置好的 ORO Stain,浸染 10~20 min,弃去染色液,水洗 2~5 次,直到无多余染液,加入 Mayer 苏木素染色液,复染 1~2 min,弃去染色液后水洗 2~5 次,加入 ORO Buffer 1 min,弃去,加入蒸馏水覆盖细胞并在显微镜下观察。

1.4 数据处理

使用 SPSS 21.0 软件对试验数据进行统计学分析,试验图表均采用 Origin 2019 软件进行绘制,响应面试验使用 Design-Expert V8.0.6.1 进行试验设计和数据分析,每组试验均重复 3 次,试验结果以平均值±标准差表示。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

由图 1 和图 2 可知,随提取时间、提取次数增加,降脂活性先增加后减小,可能由于长时间的提取破坏了葛

根中异黄酮类物质转化^[16];当提取时间为 1 h、提取次数为 3 次时降脂活性指标均达最高值;因此,最佳提取时间应选择 1 h,最佳提取次数应选择 3 次。由图 3 可知,当乙醇体积分数达 70% 时降脂活性最强,可能由于此时溶液极性与其根中活性物质极性相似^[17];因此,最佳乙醇体积分数选取 70%。

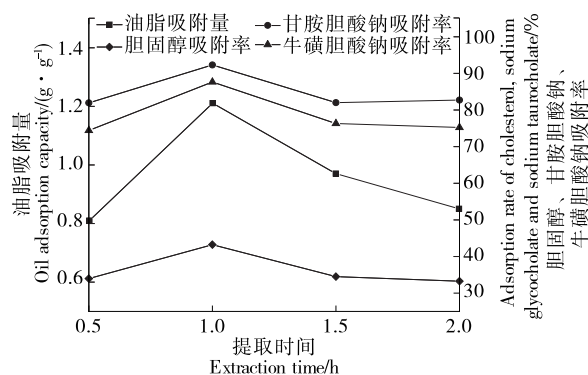


图 1 提取时间对降脂活性影响

Figure 1 Effects of extraction time on lipid-lowering activity

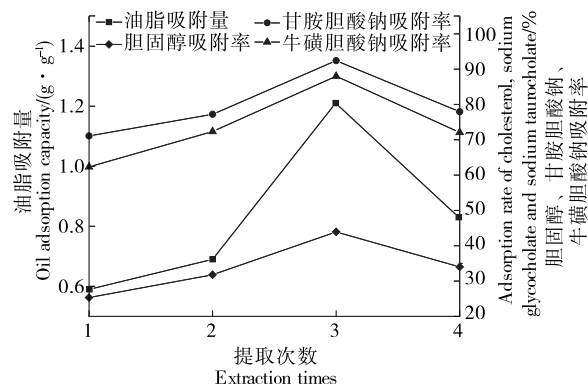


图 2 提取次数对降脂活性的影响

Figure 2 Effects of extraction times on lipid-lowering activity

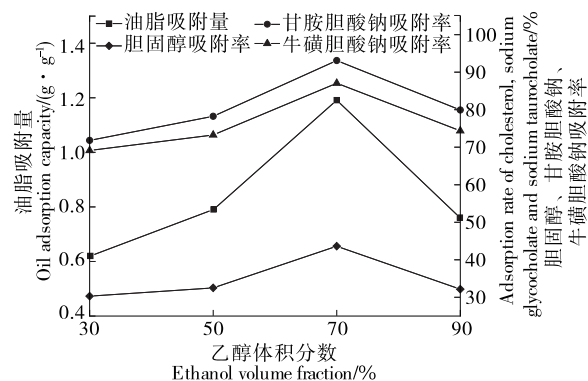


图 3 乙醇体积分数对降脂活性的影响

Figure 3 Effects of ethanol volume fraction on lipid-lowering activity

2.2 响应面分析结果

2.2.1 Box-Behnken 响应面法优化结果 根据单因素试验结果,以油脂吸附量、胆固醇吸附率、甘胺胆酸钠吸附率及牛磺胆酸钠吸附率的综合评分为评价指标,对提取时间、提取次数、乙醇体积分数 3 个因素进行三因素三水平响应面优化设计。试验因素水平取值见表 1,试验设计与结果见表 2。

2.2.2 回归模型的建立与数据分析 应用 Design-Expert.V8.0.6.1 软件对表 2 中 17 个试验点的响应值进行多元回归拟合,得到二次回归方程:

$$Y = 97.91 + 2.39A + 1.76B - 0.60C - 0.28AB - 1.40AC + 1.95BC - 9.80A^2 - 6.99B^2 - 13.87C^2.$$
 (7)

由表 3 可知,模型 $P < 0.000 1$,表明模型极显著,说明二次回归模型的选用有意义;失拟项 $P > 0.05$,表明失拟不显著,即模型与试验的差异较小,可以说明其他因素对试验结果的干扰较小;模型的相关系数 $R^2 = 0.989 6$,说明该回归方程的拟合程度较高,可用于葛根醇提物工艺的优化与分析。通过 P 值可以看出,A、 A^2 、 B^2 、 C^2 差异极显著,B、BC 差异显著。通过方差分析表可知影响综合评分的主次因素顺序为提取时间>提取次数>乙醇体积分数。

2.2.3 响应面分析 通过 Design-Expert.V8.0.6.1 软件得到提取时间、提取次数、乙醇体积分数的交互作用对葛根醇提物工艺综合评分影响的 3D 响应面图和等高线图,试验结果见图 4。3D 图倾斜度越大,等高线的形状越扁平说明二者交互作用越强^[18],由图 4 可以看出,AB 交互

作用不显著,AC、BC 交互作用较显著,与上述方差分析表结论一致。

2.2.4 工艺优选及验证 通过对回归模型方程求解,得出葛根最佳醇提工艺为提取时间 1.06 h,提取次数 3.13 次,乙醇体积分数 72.10%,在此条件下综合评分预计为 98.28%。为了便于试验,将提取工艺参数进行调整:提取时间 1 h,提取次数 3 次,乙醇体积分数 70%。

为了进一步验证所选工艺为最优且稳定性良好,重复进行 3 组验证实验,结果见表 4。由表 4 可知,各指标效果较好且 RSD 值均较小,综合评分较预测值高,说明响应面法优化后的工艺为最佳提取工艺,且工艺稳定性较好。

2.3 葛根醇提物体外降脂细胞试验

2.3.1 PA 及 AL 对细胞的毒性测定 如图 5 所示,用 0~550 $\mu\text{mol/L}$ PA 处理细胞 24 h,MTT 结果显示,当 PA 浓度达到 200 $\mu\text{mol/L}$ 时,细胞出现明显的损伤,存活率明显下降,故在建立脂肪堆积模型时,选用 100 $\mu\text{mol/L}$ 的 PA 诱导细胞并培养 24 h。

表 1 Box-Behnken 响应面试验因素水平表

Table 1 Box-Behnken response surface test factor level table

水平	A 提取时间/h	B 提取次数	C 乙醇体积分数/%
-1	0.5	2	50
0	1.0	3	70
1	1.5	4	90

表 2 响应面试验设计与结果

Table 2 Response surface test design and results

试验号	A	B	C	油脂吸附量/ ($\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	胆固醇吸 附率/%	甘胺胆酸钠 吸附率/%	牛磺胆酸钠吸 附率/%	综合评分
1	0	1	1	0.75	35.18	87.59	83.22	82.00
2	0	0	0	1.13	44.05	92.83	87.62	97.32
3	1	1	0	0.91	36.21	84.15	80.01	83.98
4	1	0	1	0.71	32.14	78.92	71.38	73.80
5	0	-1	1	0.69	31.77	77.21	72.34	73.01
6	-1	0	1	0.63	31.97	76.48	71.13	71.37
7	0	0	0	1.24	43.21	93.31	86.66	98.92
8	-1	0	-1	0.64	31.73	77.99	71.29	71.89
9	-1	-1	0	0.77	33.45	81.39	75.94	77.71
10	1	-1	0	0.96	34.71	82.46	76.11	82.58
11	1	0	-1	0.82	34.13	83.21	77.05	79.90
12	0	0	0	1.14	44.23	92.67	87.01	97.41
13	0	0	0	1.21	43.90	92.41	88.02	98.85
14	0	1	-1	0.83	33.98	77.94	72.08	77.20
15	0	-1	-1	0.79	32.52	78.25	73.26	75.99
16	-1	1	0	0.83	33.76	82.95	78.43	80.21
17	0	0	0	1.11	43.74	93.74	87.83	97.05

表 3 响应面二次回归方程模型方差分析结果[†]

Table 3 Response surface quadratic regression equation model variance analysis results

项目	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	1 667.23	9	185.25	74.03	<0.000 1	* *
A	45.54	1	45.54	18.20	0.003 7	* *
B	24.91	1	24.91	9.95	0.016 0	*
C	2.86	1	2.86	1.14	0.320 2	
AB	0.31	1	0.31	0.12	0.736 0	
AC	7.79	1	7.79	3.11	0.121 0	
BC	15.14	1	15.14	6.05	0.043 5	*
A ²	404.36	1	404.36	161.59	<0.000 1	* *
B ²	205.80	1	205.80	82.24	<0.000 1	* *
C ²	810.31	1	810.31	323.81	<0.000 1	* *
残差	17.52	7	2.50			
失拟项	14.27	3	4.76	5.85	0.060 4	不显著
纯误差	3.25	4	0.81			
总差	1 684.75	16				

[†] * * 为差异极显著($P<0.01$); * 为差异显著($P<0.05$)。

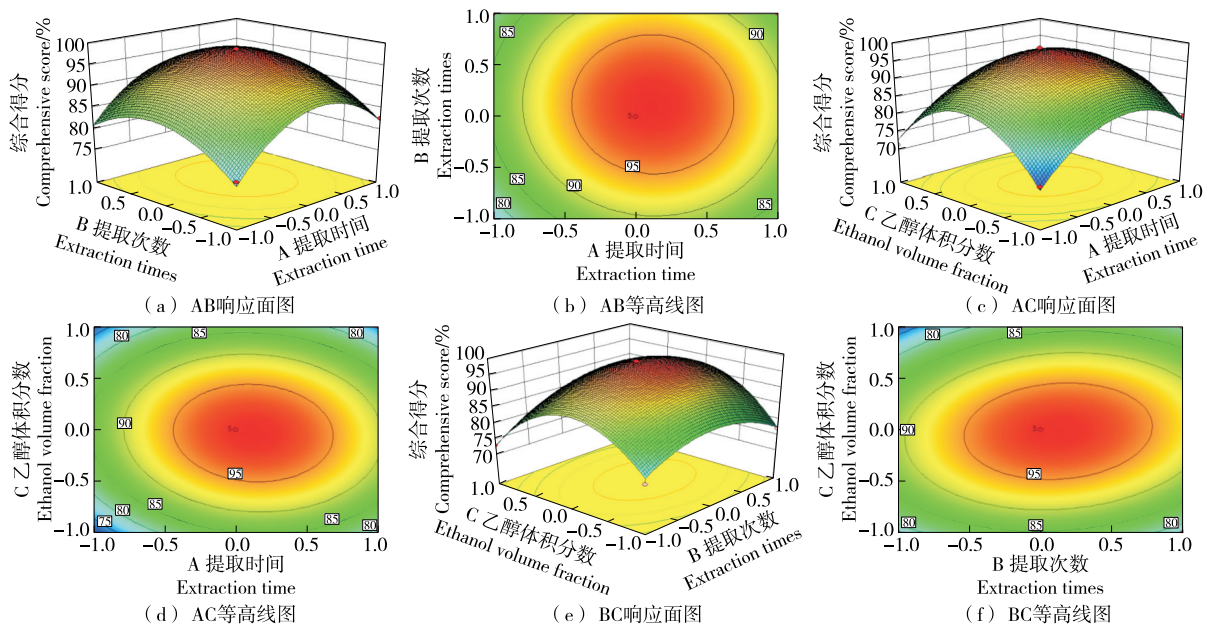


图 4 响应面分析图

Figure 4 Response surface analysis diagram

表 4 提取工艺验证实验结果

Table 4 Extraction process validation test results

编号	油脂吸附量/ ($\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	胆固醇吸附 率/%	甘胺胆酸钠 吸附率/%	牛磺胆酸钠 吸附率/%	综合评分
1	1.19	44.27	91.54	88.25	98.75
2	1.23	43.81	92.66	87.38	99.36
3	1.20	43.39	93.17	86.84	98.49
平均值	1.21 ± 0.02	43.82 ± 0.44	92.46 ± 0.83	87.49 ± 0.71	98.87 ± 0.45
RSD/%	1.73	1.00	0.90	0.81	0.45

如图6所示,用0~1 000 $\mu\text{g/mL}$ AL处理细胞24 h,MTT结果显示,在0~500 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内的AL对细胞生长无显著影响,当样品质量浓度达到800 $\mu\text{g/mL}$ 时,表现出明显的细胞毒性,细胞活力降至69.91%,故在给药时,选取的样品最高质量浓度为500 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.3.2 葛根醇提物对棕榈酸诱导 HepG2 细胞内 TG、TC 含量的影响 PA 能够诱导胞内的 TC 含量提升,胆固醇代谢和脂质代谢的关系密不可分,Fungwe 等^[19-20] 研究发现摄入胆固醇的同时 TG 含量也会随之升高,胆固醇还可以通过抑制脂肪酸的氧化分解从而增加 TG 水平。由图7可知,PA 处理 HepG2 细胞后,使得细胞内 TG、TC 含量明显升高,在给予 AL 干预后能够降低细胞内 TG、TC 含量,且呈剂量依赖,AL 高剂量组 TG 和 TC 含量分别降至 1.24,0.89 mmol/L,几乎与空白组的含量持平。说明 AL 可能是通过胆固醇代谢进而影响脂质代谢,降低 TG 和 TC 的含量,进一步验证了葛根醇提物有较好的体外降脂活性。

2.3.3 HepG2 细胞油红 O 染色 如图8所示,未经 PA 处理的空白对照组的细胞形态正常,细胞轮廓清晰可见,未见明显脂滴聚集。经过 24 h PA 处理后的细胞,黄色脂滴量明显增加,而与 PA 组相比,AL 和 PA 共同作用组随着 AL 浓度的增加其细胞内脂滴量逐渐减少,细胞周围

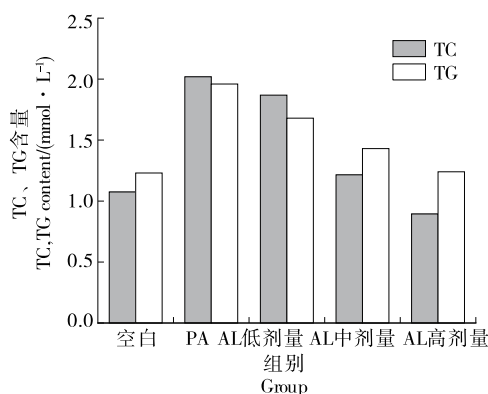


图7 HepG2 细胞内 TC、TG 含量

Figure 7 Contents of TC and TG in HepG2 cells

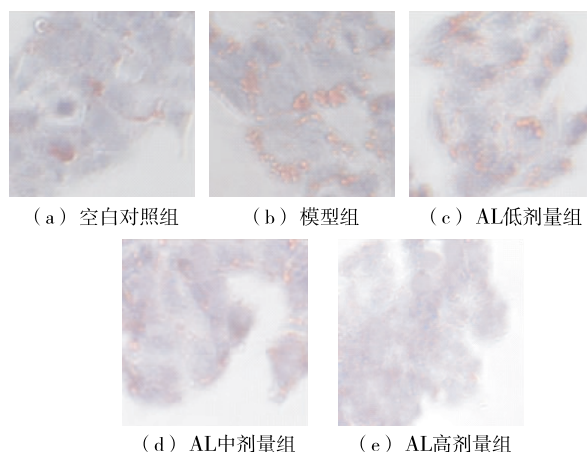


图8 对 HepG2 细胞脂质积累的影响

Figure 8 Effects of lipid accumulation in hepatoma cells

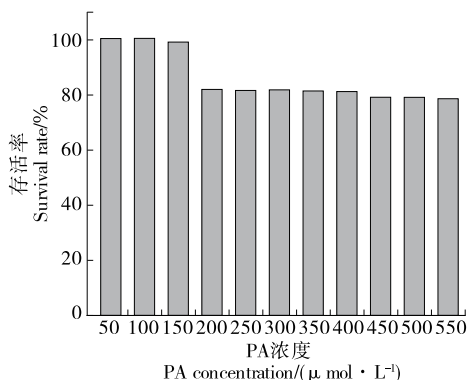


图5 PA 对 HepG2 细胞活力影响

Figure 5 Effects of PA on the viability of HepG2 cells

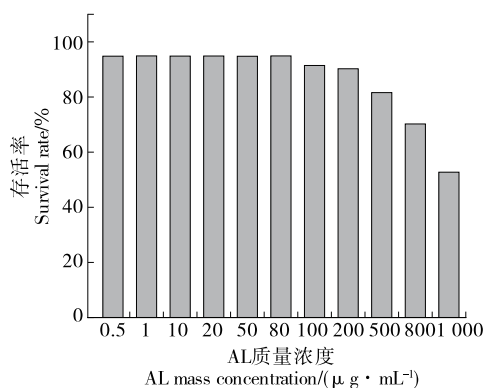


图6 AL 对 HepG2 细胞活力影响

Figure 6 Effects of AL on the viability of HepG2 cells

脂质积累也有所降低。由此表明,AL 可抑制 HepG2 细胞周围脂滴聚集。

3 结论

以油脂吸附量、胆固醇及胆酸盐吸附率进行综合评价,在前期单因素试验的基础上,确定试验水平后通过响应面法并结合回归模型方程,得出葛根醇提物最佳提取工艺为提取时间 1 h,提取次数 3 次,乙醇体积分数 70%。随后测定了棕榈酸诱导的人肝癌细胞细胞内甘油三酯、总胆固醇含量并对其进行油红 O 染色,结果显示,人肝癌细胞中的甘油三酯、总胆固醇含量明显下降及胞内脂滴聚集逐渐减少,葛根醇提物体外降脂作用较好。

参考文献

- [1] 龚受基, 蒙彦妃, 曹惠怡, 等. 凡纳滨对虾蛋白体外降脂作用分析[J]. 食品工业科技, 2020, 41(11): 316-321.
- LONG S J, MENG Y F, CAO H Y, et al. Hypolipidemic effects of protein from *Penaeus vannamei* in vitro[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(11): 316-321.

- [2] 杜令娟, 康宁, 李德海, 等. 粗毛纤孔菌三萜初级纯化及体外降血脂研究[J]. 森林工程, 2017, 33(5): 29-34.
- DU L J, KANG N, LI D H, et al. Primary purification and in vitro hypolipidemic activity of triterpenoid from *Inonotus hispidus*[J]. Forest Engineering, 2017, 33(5): 29-34.
- [3] 任正肖, 车萍, 李紫薇, 等. 葛根素药理作用的研究进展[J]. 山东化工, 2019, 48(19): 74-75.
- REN Z X, CHE P, LI Z W, et al. Research progress on pharmacological action of puerarin[J]. Shandong Chem Ind, 2019, 48(19): 74-75.
- [4] 魏述永. 葛根及葛根素脑保护作用的研究进展[J]. 食品科学, 2015, 36(17): 259-263.
- WEI S Y. Progress in cerebral protection of *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi (Fabaceae) and puerarin[J]. Food Science, 2015, 36(17): 259-263.
- [5] WANG S, YANG F J, SHANG L C, et al. Puerarin protects against high-fat high-sucrose diet-induced non-alcoholic fatty liver disease by modulating PARP-1/PI3K/AKT signaling pathway and facilitating mitochondrial homeostasis[J]. Phytother Res, 2019, 33(9): 2347-2359.
- [6] 王苗, 张红印, 范琳, 等. 葛根蛋白提取工艺及其体外抗氧化性研究[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(1): 73-79.
- WANG M, ZHANG H Y, FAN L, et al. Study on extraction technology of *Pueraria lobata* protein and its antioxidant activity in vitro[J]. Food Research and Development, 2021, 42(1): 73-79.
- [7] 罗秋水, 杜华英, 熊建华, 等. 葛根异黄酮类化合物提取工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 中国食品学报, 2015, 15(2): 104-110.
- LUO Q S, DU H Y, XIONG J H, et al. Extraction process optimization of pueraria isoflavones and studies on its antioxidant activity[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2015, 15(2): 104-110.
- [8] SANGNARK A, NOOMHORM A. Effect of particle sizes on functional properties of dietary fibre prepared from sugarcane bagasse[J]. Food Chem, 2003, 80(2): 221-229.
- [9] 钟希琼, 胡文娥, 林丽超. 膳食纤维对油脂、胆固醇、胆酸钠和亚硝酸根离子吸附作用的研究[J]. 食品工业科技, 2010, 31(5): 134-136.
- ZHONG X Q, HU W E, LIN L C. Study on the adsorption of dietary fiber for oil and fat, cholesterol, sodium cholate and NO_2^- [J]. Science and Technology of Food Industry, 2010, 31(5): 134-136.
- [10] 孙凯峰, 包怡红. 微生物发酵对黑木耳总糖含量和体外调脂活性的影响[J]. 中草药, 2018, 49(16): 3781-3787.
- SUN K F, BAO Y H. Effect of microbial fermentation on total sugar content and in vitro hypolipidemic effect of *Auricularia auricula*[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2018, 49(16): 3781-3787.
- [11] 邓雪, 黄惠华. 茶花水溶性蛋白的分离纯化及其体外吸附胆酸盐能力的研究[J]. 现代食品科技, 2013, 29(1): 63-67.
- DENG X, HUANG H H. In vitro binding of bile salts by water-soluble protein extract from tea flower[J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(1): 63-67.
- [12] 钱雅雯, 魏佳, 张政, 等. 籽瓜多糖提取工艺的响应面优化及其体外降血脂活性[J]. 食品工业科技, 2020, 41(2): 101-107.
- QIAN Y W, WEI J, ZHANG Z, et al. Optimization of polysaccharides extraction from seed melon by response surface methodology and its hypolipidemic effects in vitro[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(2): 101-107.
- [13] WINBERG M E, MOTLAGH M K, STENKULA K G, et al. Adiponutrin: A multimeric plasma protein[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2014, 446(4): 1114-1119.
- [14] 陶嘉, 唐超, 孟凡强, 等. 黑木耳多肽对棕榈酸诱导的脂肪肝细胞的降脂作用[J]. 食品科学, 2022, 43(3): 106-113.
- TAO J, TANG C, MENG F Q, et al. Lipid-lowering effects of *Auricularia auricula* peptides on palmitic acid-induced non-alcoholic fatty acid liver[J]. Food Science, 2022, 43(3): 106-113.
- [15] 陈龙云, 刘笑珂, 师晓华, 等. 油红 O 染色法在 2D 和 3D 细胞培养原代胰腺星形细胞鉴定中的应用[J]. 诊断病理学杂志, 2020, 27(12): 877-880.
- CHEN L Y, LIU X D, SHI X H, et al. Application of oil red O staining in identification of primary pancreatic stellate cells cultured in 2D and 3D medium[J]. Chinese Journal of Diagnostic Pathology, 2020, 27(12): 877-880.
- [16] 李少华, 高愿军, 李翠翠, 等. 微波辅助酶法提取葛根黄酮的工艺优化及抗氧化活性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(1): 217-222.
- LI S H, GAO Y J, LI C C, et al. Optimization of extraction process of *Radix puerariae* flavonoids by microwave-assisted enzymatic method and study on its antioxidant activity[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2022, 13(1): 217-222.
- [17] 于文杰, 赵宁, 张筠. 响应面法测定葛根中葛根素的提取工艺[J]. 粮食与油脂, 2021, 34(12): 108-111, 116.
- YU W J, ZHAO N, ZHANG J. Determination the extraction process of puerarin from *pueraria lobata* by response surface methodology[J]. Cereals & Oils, 2021, 34(12): 108-111, 116.
- [18] 颜飞翔, 朱丹, 牛广财, 等. 秋香梨果醋醋酸发酵工艺优化及抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2021, 37(4): 184-188, 225.
- YAN F X, ZHU D, NIU G C, et al. Optimization of acetic acid fermentation process and antioxidant activity of Qiuxiang pear vinegar[J]. Food & Machinery, 2021, 37(4): 184-188, 225.
- [19] FUNGWE T V, CAGEN L M, COOK G A, et al. Dietary cholesterol stimulates hepatic biosynthesis of triglyceride and reduces oxidation of fatty acids in the rat[J]. Journal of Lipid Research, 1993, 34(6): 933-941.
- [20] IBRAHIM A, SHAFIE N H, MOHD ESA N, et al. *Mikania micrantha* extract inhibits HMG-CoA reductase and ACAT2 and ameliorates hypercholesterolemia and lipid peroxidation in high cholesterol-fed rats[J]. Nutrients, 2020, 12(10): 3077.