

陈皮复合固体饮料制备工艺及其对急性酒精性肝损伤小鼠的保护作用

Preparation technology of tangerine peel composite solid beverage and its protective effect on mice with acute alcoholic liver injury

雷 昌¹ 朱玲凤² 朱丽君¹ 欧飞麟¹ 毛颖超² 付复华²

LEI Chang¹ ZHU Lingfeng² ZHU Lijun¹ OU Feilin¹ MAO Yingchao² FU Fuhua²

(1. 湖南中医药大学科技创新中心, 湖南 长沙 410208; 2. 湖南省农产品加工研究所, 湖南 长沙 410125)

(1. *Science and Technology Innovation Center, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China*; 2. *Hunan Agricultural Product Processing Institute, Changsha, Hunan 410125, China*)

摘要:[目的]以药食同源的陈皮、山楂、葛根为主要原料,开发一种具有解酒功能的固体饮料,并探究其对急性酒精性肝损伤小鼠的保护作用。[方法]以浸膏得率和总黄酮含量为标准,采用正交试验选取最佳提取工艺;以感官评价、成型率、溶化性的综合评分为指标,采用单因素试验优化成型工艺。采用 52% 酒精灌胃的方法建立急性酒精性肝损伤小鼠模型,检测陈皮复合固体饮料对模型小鼠肝脏指数,血清中谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT),肝组织中总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽(GSH)及炎症因子白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素 6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的影响,苏木素—伊红(HE)染色分析各组肝脏病理变化。[结果]陈皮复合固体饮料最佳制备工艺:3 味药材浸泡 30 min 后提取 2 次,第一次料液比 1:12 (g/mL)、提取时间 2.0 h,第二次料液比 1:10 (g/mL)、提取时间 1.5 h;经浓缩、干燥、粉碎后得到干膏粉;干膏粉与麦芽糊精 1:1 混合,加入 1.0% 的罗汉果甜苷,并以 90% 乙醇作为润湿剂进行湿法制粒。动物试验表明:与模型组相比,陈皮复合固体饮料组的 AST、ALT、TG、TC、MDA、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平降低($P <$

0.01 或 $P < 0.05$),GSH、SOD 含量增加($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),且肝组织病理切片显示给药组小鼠肝损伤程度均有显著改善。[结论]陈皮复合固体饮料色泽均匀、溶解性好、甜度适中、口感细腻,对急性酒精性肝损伤具有良好的保护作用。

关键词:固体饮料;陈皮;山楂;葛根;工艺优化;急性酒精性肝损伤;保护作用

Abstract: [Objective] A solid beverage with antialcoholic function was developed by the raw materials of tangerine peel, hawthorn and *Pueraria lobata*, which had the same origin as food and medicine, and explore its protective effect on mice with acute alcoholic liver injury. [Methods] The dry paste rate and total flavone content were used as the indexes, the extraction process was selected by orthogonal test. The single factor method was used to optimize the forming process with the indexes of sensory evaluation, shaping rate and solubility. A mouse model of acute alcoholic liver injury was established by administering 52% alcohol. The liver index, aspartate aminotransferase (AST) and serum alanine aminotransferase (ALT) in serum, as well as total cholesterol (TC), triglyceride (TG), superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH), the inflammatory factor IL-1 β , IL-6, TNF- α in liver tissue were measured. The pathological changes of the liver were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining. [Results] The optimal preparation process of tangerine peel composite solid beverage: three herbs were soaked for 30 minutes and extracted twice. The first solid-liquid ratio was 1:12 (g/mL) and the extraction time was 2.0 h, and the second solid-liquid ratio was 1:10 (g/mL) and the extraction time was 1.5 h. And then combined the two extracts. After concentration, drying and crushing, dry paste powder was obtained, mixed with maltodextrin in a 1:1 ratio,

基金项目:湖南省农业科技创新资金项目(编号:2023CX30);湖南中医药大学大学生创新创业训练计划(编号:2023200);湖南中医药大学本科生科研创新基金计划(编号:2023BKS150)

作者简介:雷昌,男,湖南中医药大学高级实验师,硕士。

通信作者:毛颖超(1987—),女,湖南省农产品加工研究所助理研究员,硕士。E-mail: mycjgs@hunaas.cn

付复华(1978—),男,湖南省农产品加工研究所研究员,博士。E-mail: fhfu686@163.com

收稿日期:2024-04-24 **改回日期:**2024-06-27

added 1.0% mogroside, and used 90% ethanol as wetting agent for wet granulation. The results of animal experiments show that: compared with model group, the levels of AST, ALT, TG, TC, MDA, IL-1 β , IL-6, TNF- α were reduced ($P < 0.01$, $P < 0.05$) by the pretreatments with tangerine peel composite solid beverage, and the levels of GSH, SOD were increased ($P < 0.01$). The histopathological sections of the liver showed significant improvement in the degree of hepatic injury in the administered mice. [Conclusion] tangerine peel composite solid beverage has uniform color, good solubility, moderate sweetness and delicate taste, and has good protective effect on acute alcoholic liver injury.

Keywords: solid beverage; angerine peel; hawthorn; pueraria lobata; process optimization; acute alcoholic liver injury; protective effect

酒精性肝损伤(alcoholic liver disease, ALD)是临床上常见的肝脏疾病,其主要原因是长期大量饮酒^[1-2],严重者可导致慢性肝病致死^[3-4]。目前,临床针对 ALD 的主要治疗手段包括戒酒、营养治疗、药物治疗以及其他联合疗法^[5-6],其中药物治疗主要依赖于西药,但长时间使用会给患者带来毒性和副作用,而通常具有温和的特性和较少的不良反应,可通过多靶点、多途径发挥治疗 ALD 效果,特别是在改善肝脏功能、抗氧化、抗炎保肝、促进乙醇和脂质代谢等方面表现出显著疗效^[7]。由于较高的安全性,药食两用中草药已逐渐成为治疗 ALD 和研发解酒产品的新趋势^[8]。

陈皮是芸香科橘(*Citrus reticulata* Blanco)及其栽培变种的成熟干燥果皮,具有理气健脾、燥湿化痰等多种功效,其主要药效成分陈皮苷可通过调控凋亡基因表达和抑制肝细胞脂质过氧化反应缓解小鼠急性酒精性肝损伤^[9-10]。山楂是蔷薇科植物山里红(*Crataegus pinnatifida* Bge. var. *major* N. E. Br.)或山楂(*Crataegus pinnatifida* Bge.)的干燥成熟果实,具有抗氧化、调节脂质代谢和保护肝脏等多种药理作用,其中,山楂黄酮和山楂酸可通过提高超氧化物歧化酶和谷胱甘肽的含量,同时改善肝组织的脂肪变性和炎症坏死,从而对酒精引发的急性肝损伤具有一定的保护效果^[11-12]。葛根是豆科植物野葛(*Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi)的干燥根,具有解酒、抗氧化、抗炎和保护心脑血管等多种功效^[13]。其主要成分异黄酮类化合物可与其他生物活性成分相互作用,从而减轻酒精导致的肝脏损伤^[14-16]。

固体饮料因便于携带、口感独特和速溶特性,在市场上的需求和生产量都呈现出强劲的增长趋势^[17]。研究拟以陈皮、山楂和葛根 3 种药食同源食品为主要原料,研发一种便于携带且口感上佳的固体饮料,并探讨其对急性酒精性肝损伤小鼠的保护效果,旨在为解酒和护肝功能

食品的研发提供新的思路 and 方向。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

葛根、山楂、陈皮:湖南新汇医药有限公司;

芦丁对照品(纯度 $\geq 97\%$):上海源叶生物科技有限公司;

小鼠总超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、谷胱甘肽(GSH)、白细胞介素 6(IL-6)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)试剂盒:江苏菲亚生物科技有限公司;

可溶性淀粉:食品级,安徽山河药用辅料股份有限公司;

麦芽糊精:食品级,山东西王糖业有限公司;

木糖醇、罗汉果甜苷:食品级,桂林莱茵生物科技有限公司;

白砂糖:食品级,湖南湘知湘豫食品贸易有限公司;

其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

紫外分光光度计:UV-1800 型,日本岛津公司;

高速冷冻离心机:5810R 型,德国 Eppendorf 公司;

酶标仪:ELX-800 型,美国 Bio-tek 公司;

电子天平:ME204 型,梅特勒-托利多仪器有限公司;

超声波清洗器:KQ-800B 型,昆山市超声仪器有限公司;

真空干燥箱:BZF-50 型,上海博讯仪器有限公司。

1.3 试验动物

昆明雄性小鼠:SPF 级 18~22 g,湖南斯莱克景达实验动物有限公司,生产许可证编号为 SCXK(湘)2021-0002。在(25 $\pm$ 3) °C 和(50 $\pm$ 20)%的温湿度条件下饲养动物,并进行为期 3 d 的适应性喂养。试验动物伦理编号:IACUC-SJA2023282。

1.4 提取工艺研究

1.4.1 提取工艺优化 在选择传统水煎法进行两次提取的基础上,以浸膏得率和总黄酮含量作为评价指标,选定浸泡时间、提取时间和料液比为试验因素,每个因素设定 3 个不同水平,根据表 1 进行提取工艺的优化试验。其中,浸膏得率和总黄酮含量的权重分别被设定为 30 和 70,总分为 100 分,即:

$$c = \frac{30Y}{Y_{\max}} + \frac{70X}{X_{\max}}, \quad (1)$$

式中:

c ——综合评分,分;

$Y_{\max}$ ——最大浸膏得率,%;

Y ——浸膏得率,%;

表 1 正交因素水平表

Table 1 Table of orthogonal factor levels

水平	A 浸泡时间/h	B 提取时间/h	C 料液比(g/mL)
1	0	1.5/1.0	1 : 12/1 : 10
2	30	2.0/1.5	1 : 12/1 : 8
3	60	2.0/1.0	1 : 10/1 : 8

$X_{\max}$ ——最大总黄酮含量, %;

X ——总黄酮含量, %。

1.4.2 总黄酮测定

(1) 标准曲线绘制:参考刘奇等^[18]的方法,配制得到 0.608 mg/mL 的芦丁标准液,分别精密吸取该标准液 0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 mL 置于 25 mL 容量瓶中,经显色后,采用紫外分光光度计于 510 nm 处测吸光度,以芦丁标准液进样量为横坐标(X),吸光度为纵坐标(Y)进行回归,得回归方程: $Y=0.010\ 9X-0.021\ 7, R^2=0.999\ 0$ 。

(2) 样品总黄酮含量测定:精密量取各提取液 0.1 mL,按 1.4.2(1)的方法测定吸光度,通过线性回归方程计算试样中总黄酮含量。

1.4.3 浸膏得率测定 根据李雨洋等^[19]的方法。

1.5 成型工艺研究

1.5.1 成型工艺优化 以上述最佳提取工艺为基准,固定浓缩、干燥、粉碎条件后得到干膏粉,分别考察辅料的种类(麦芽糊精、白砂糖、淀粉、木糖醇)、润湿剂乙醇体积分数(75%, 80%, 85%, 90%, 95%)、料辅比例($m_{\text{干膏粉}} : m_{\text{麦芽糊精}}$ 分别为 1 : 0.7, 1 : 0.8, 1 : 0.9, 1 : 1.1, 1 : 1.1)以及矫味剂罗汉果甜苷添加量(0.5%, 1.0%, 1.5%, 2.0%, 2.5%)对陈皮复合固体饮料的感官评分、成型率、溶化性的影响,筛选陈皮复合固体饮料的最佳成型工艺。

1.5.2 感官评价 按照 1 : 50 (g/mL)的比例,用温水冲调样品,选择 10 名从事食品及相关产品研发人员,分别按照表 2 进行感官评价。

1.5.3 成型率测定 根据伍国羽等^[20]的方法。

1.5.4 溶化率 根据伍国羽等^[20]的方法。

1.5.5 综合评分 以固体饮料的感官评价、成型率、溶化性为指标进行综合评分,其中三者的权重分相同,即:

$$M=\frac{A}{3}+\frac{100B}{3}+\frac{100C}{3}, \tag{2}$$

式中:

M ——综合评分;

A ——感官评价;

B ——成型率, %;

C ——溶化性, %。

1.6 功能性评价

1.6.1 动物分组与造模 48 只小鼠随机分为空白对照组,模型组(52%白酒),水飞蓟素阳性药组(100 mg/kg),

表 2 感官评定表

Table 2 Sensory evaluation

项目	标准	分值
色泽(20 分)	浅棕色,色泽均匀	14~20
	深棕色,色泽均匀	7~13
	暗棕色,色泽不均	0~6
气味(20 分)	香味协调,具有清香味	14~20
	香味一般,能闻到香气	7~13
	无清香或带刺激性气味	0~6
口感(30 分)	甜度适中,无明显涩味	21~30
	过甜或稍淡,较淡涩味	11~20
	入口涩味明显,口感不佳	0~10
组织形态(30 分)	颗粒均匀,无结块,细腻均匀	21~30
	颗粒细小,有少许结块,稍不均匀	11~20
	颗粒细小,有较多结块,不均匀	0~10

陈皮复合固体饮料低、中、高剂量组(90, 180, 360 mg/mL),每组 8 只。连续灌胃给药 10 d,每天 1 次。末次给药 4 h 后,空白对照组给予蒸馏水,其他组小鼠均给予两剂 52%白酒(10 mL/kg),两剂之间间隔 12 h,以构建急性酒精性肝损伤模型,对于空白对照组小鼠灌胃等容积蒸馏水。给予最后一剂 52%白酒约 1 h 后,小鼠眼眶采血,并脱颈处死,无菌摘取小鼠肝脏组织,称重并记录,取肝小叶放入 4%多聚甲醛中,确保每只小鼠的固定组织保持在相同的位置,另取部分组织制成 10%匀浆,剩余部分保存在-80℃环境中。

1.6.2 肝脏系数测定 根据九红等^[21]的方法。

1.6.3 肝功能生化指标测定 从小鼠眼球提取血液,保持 4℃静置 1 h,4 000 r/min 离心 15 min,收集上清液作为血清,并根据试剂盒的使用说明检测 ALT 和 AST 含量。

1.6.4 肝脏脂质水平测定 采用组织匀浆器将小鼠肝组织样本与生理盐水在冰上制备肝组织匀浆液,于 4℃、4 000 r/min 下离心 15 min,取上清液,按试剂盒使用说明检测 TG 和 TC 水平。

1.6.5 氧化应激指标测定 取 1.6.4 中的肝组织匀浆液,按试剂盒使用说明检测 SOD、MDA 和 GSH 含量。

1.6.6 炎症因子测定 取 1.6.4 中的肝组织匀浆液,按试剂盒使用说明检测 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 含量。

1.6.7 肝组织病理形态学观察 将肝小叶固定在 4%的多聚甲醛溶液中,并通过石蜡包裹切片和苏木素—伊红(HE)染色技术,对肝组织的病理形态进行观察。

1.7 数据处理

采用 GraphPad Prism9.0 软件对数据进行分析 and 绘图。

2 结果与分析

2.1 提取工艺优化

由表 3、表 4 可知,煎煮时间对试验结果有显著影响 ($P<0.05$),而浸泡时间、料液比对试验结果无显著影响

($P>0.05$),最佳提取工艺为:3 种药材浸泡 30 min 后,加水提取 2 次,第一次料液比 1 : 12 (g/mL)、提取时间 2.0 h,第二次料液比 1 : 10 (g/mL)、提取时间 1.5 h。在该提取工艺条件下进行 3 次重复验证实验,得到综合评分平均值为 97.26。

表 3 正交试验结果与分析

Table 3 Orthogonal test results and analysis

试验号	A	B	C	D(空白)	浸膏得率/%	总黄酮含量/%	综合评分
1	1	1	1	1	31.37	1.69	78.09
2	1	2	2	2	34.84	2.00	90.49
3	1	3	3	3	34.55	1.77	82.95
4	2	1	2	3	33.18	1.75	81.15
5	2	2	3	1	34.84	2.13	94.75
6	2	3	1	2	31.84	1.90	85.23
7	3	1	3	2	32.52	1.75	80.73
8	3	2	1	3	36.59	2.19	98.04
9	3	3	2	1	32.74	1.76	81.42
K_1	251.53	239.96	261.35	254.26			
K_2	261.13	283.28	253.06	256.45			
K_3	260.19	249.60	258.43	262.14			
R	9.60	43.32	8.30	7.88			

表 4 方差分析

Table 4 Results of the variance analysis

因素	离差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
A	18.66	2	7.67	1.69	>0.05
B	344.89	2	292.13	11.63	<0.05
C	11.81	2	1.33	1.07	>0.05
D(误差)	11.03	2	66.34		

2.2 成型工艺优化

2.2.1 辅料种类对陈皮复合固体饮料综合评分的影响

由图 1 可知,以麦芽糊精作为制粒辅料时,固体饮料的成型性好,颗粒更为均匀,其综合评分明显高于其他 3 种辅料。这与麦芽糊精具有溶解性好、不易吸湿、稳定性高等特点有关。因此,选择麦芽糊精作为制粒辅料。

2.2.2 乙醇体积分数对陈皮复合固体饮料综合评分的影响

由图 2 可知,随着乙醇体积分数的增加,固体饮料的综合评分呈先上升后下降趋势。这可能与乙醇含水量不同有关,乙醇含水量高,可能导致制粒过程中有少量的软质材料黏附在筛网上,得到的颗粒稍大或结块;乙醇含水量低,有可能导致固体饮料中粉末过多,影响其口感和溶解性。采用体积分数 90% 的乙醇进行制粒时,得到的固体饮料分布均匀,无结块,冲泡时溶解速度快,无沉淀,其综合评分最高。因此,乙醇的体积分数选择 90%。

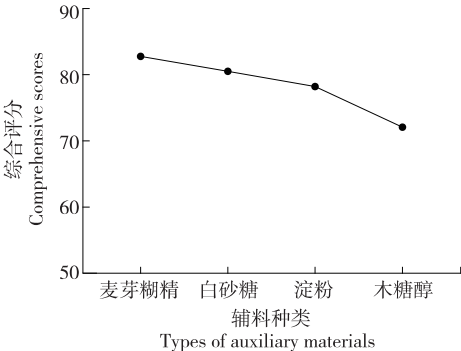


图 1 辅料种类对陈皮复合固体饮料综合评分的影响
Figure 1 Effects of auxiliary materials on comprehensive scores of tangerine peel composite solid beverage

2.2.3 料辅比例对陈皮复合固体饮料综合评分的影响

由图 3 可知,随着麦芽糊精添加量逐渐增加,固体饮料的综合评分呈先上升后下降趋势。当 $m_{干膏粉} : m_{麦芽糊精}$ 为 1 : 1 时,制粒效果表现出色,得到的颗粒均匀,有良好的溶解性,综合评价最高;而当 $m_{干膏粉} : m_{麦芽糊精}$ 为 1 : 0.9, 1 : 0.8, 1 : 0.7 时,因辅料加入量逐渐降低,导致制粒过程中出现干膏粉粘网现象;当 $m_{干膏粉} : m_{麦芽糊精}$ 为 1 : 1.1 时,因辅料加入量稍大,使得部分辅料未与干膏粉充分融合,导致成品中含有过多的辅料细粉,对其口感和颜色产生了不良影响。因此, $m_{干膏粉} : m_{麦芽糊精}$ 选择 1 : 1。

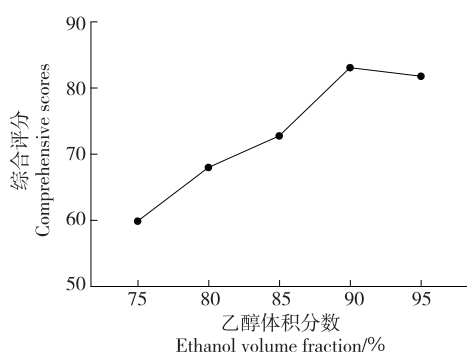


图 2 乙醇体积分数对陈皮复合固体饮料综合评分的影响

Figure 2 Effects of ethanol volume fraction on comprehensive scores of tangerine peel composite solid beverage

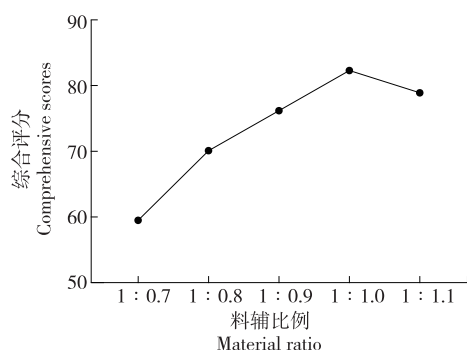


图 3 料辅比例对陈皮复合固体饮料综合评分的影响

Figure 3 Effects of material ratio on comprehensive scores of tangerine peel composite solid beverage

2.2.4 罗汉果甜苷添加量对陈皮复合固体饮料综合评分的影响 罗汉果甜苷作为一种天然甜味剂,不仅具有甜度高、热量低、安全性好等特点,还具有保肝、抗炎、抑菌等生物活性^[22],被广泛应用于食品的矫味,其添加量直接影响产品质量。由图 4 可知,当罗汉果甜苷添加量达到 1.0% 时,制成的固体饮料的甜度恰到好处,其综合评价最高;当罗汉果甜苷添加量为 0.5% 时,固体饮料的甜味并不突出,使得综合评价相对较低;当罗汉果甜苷添加量超过 1.0% 时,固体饮料过甜或齁甜,导致综合评分逐渐下降。因此,罗汉果甜苷添加量选择 1.0%。

2.3 功能性评价

2.3.1 陈皮复合固体饮料对急性酒精性肝损伤小鼠肝脏指数的影响 如图 5 所示,模型组与空白组相比,肝脏指数升高显著($P<0.01$),提示酒精代谢不畅造成小鼠肝细胞损伤,导致小鼠肝脏肿大;与模型组相比,阳性药组和陈皮复合固体饮料低、高剂量组均能显著降低肝脏指数($P<0.01$)。表明陈皮复合固体饮料能够减少小鼠的肝脏指数,并有效缓解由酒精引发的肝脏肿胀症状。

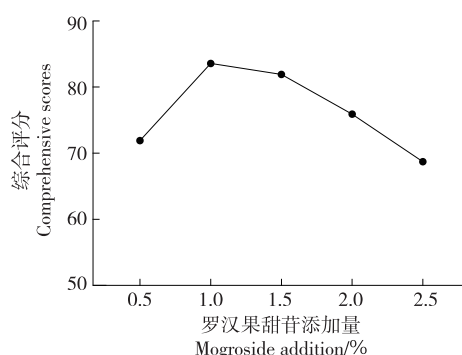
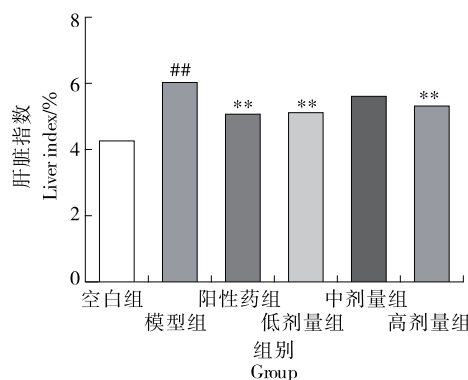


图 4 罗汉果甜苷添加量对陈皮复合固体饮料综合评分的影响

Figure 4 Effects of mogroside addition on comprehensive scores of tangerine peel composite solid beverage



与空白对照组相比## $P<0.01$;与模型组相比** $P<0.01$

图 5 各组小鼠肝脏指数比较

Figure 5 Comparison of liver index of mice in each group ($n=8$)

2.3.2 陈皮复合固体饮料对急性酒精性肝损伤小鼠血清 ALT、AST 的影响 当机体摄入的酒精不能被及时代谢时,会破坏肝细胞,释放大量 AST 和 ALT 入血,导致血清中 AST 和 ALT 含量增加明显。如图 6 所示,模型组与空白组相比,小鼠血清中 ALT、AST 含量升高显著($P<0.01$),与闫志芳等^[23]的研究结果一致。与模型组比较,阳性药组和陈皮复合固体饮料各剂量组 ALT 含量均明显下降($P<0.01$ 或 $P<0.05$),阳性药组与陈皮复合固体饮料中、高剂量组 AST 含量均明显下降($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。结果表明,陈皮复合固体饮料能有效减少氨基酸转移酶的含量。

2.3.3 陈皮复合固体饮料对急性酒精性肝损伤小鼠肝组织 TC、TG 的影响 酒精引起的肝损伤,能够引起脂质代谢紊乱,诱导脂肪变性,导致血脂转运受阻,TG 和 TC 水平显著增加^[24-25]。如图 7 所示,模型组与空白组相比,小鼠肝组织中 TC、TG 的含量显著增加($P<0.01$),提示造成了 TG 转运受阻,脂质代谢发生紊乱,肝细胞受损;与

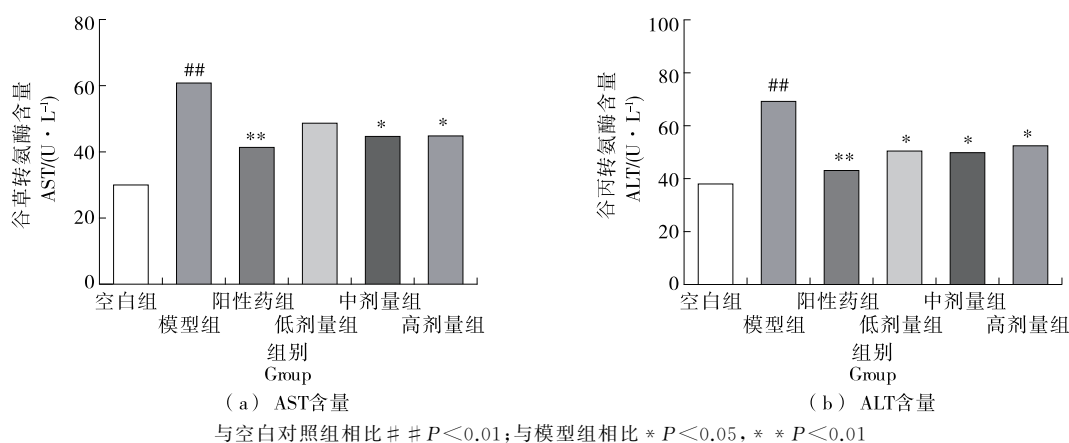


图 6 各组小鼠血清中 AST、ALT 含量比较

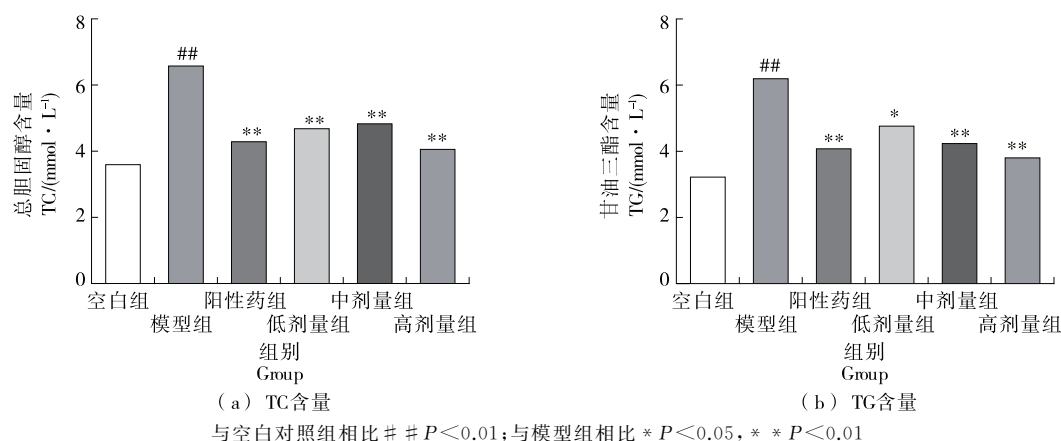
Figure 6 Comparison of AST and ALT contents in serum of mice in each group ($n=8$)

图 7 各组小鼠肝组织中 TC、TG 含量比较

Figure 7 Comparison of TC and TG contents in liver tissues of mice in each group ($n=8$)

模型组比较,阳性药组与陈皮复合固体饮料各剂量组均可以不同程度地降低小鼠 TC、TG 的水平($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。结果表明,陈皮复合固体饮料可以降低血液中的脂肪含量,具有较好的抗脂肪变性和脂肪沉积作用。

2.3.4 陈皮复合固体饮料对急性酒精性肝损伤小鼠肝组织中 SOD、GSH 及 MDA 的影响 GSH、SOD 是机体主

要的抗氧化酶,过量摄入酒精在体内代谢不充分会产生大量有害的活性氧(ROS),抑制 SOD 和 GSH 的生成,触发脂肪的过氧化和氧化应激反应,加剧肝细胞的损害;同时导致脂质过氧化产物 MDA 水平上升^[26]。如图 8 所示,模型组与空白组相比,小鼠肝组织中 SOD 和 GSH 含量降低显著($P < 0.01$),但 MDA 含量升高显著($P <$

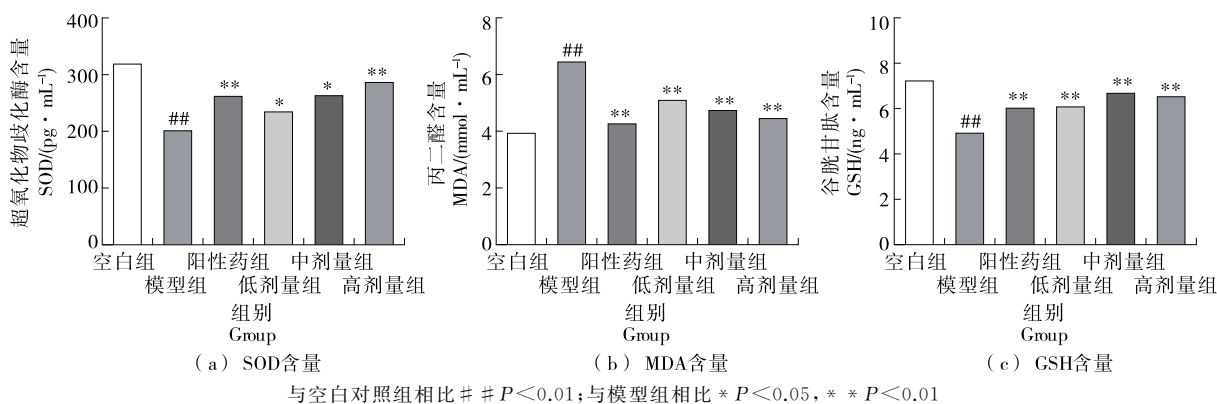
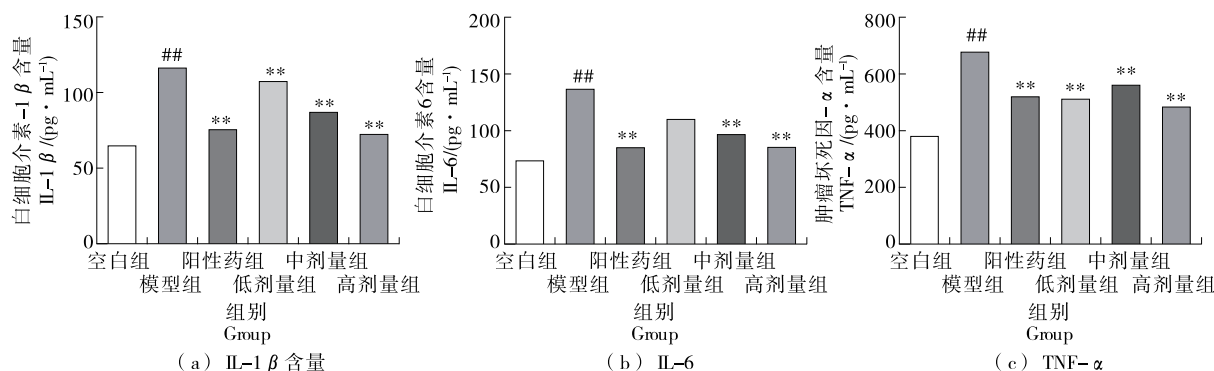


图 8 各组小鼠肝组织中 SOD、MDA 和 GSH 含量比较

Figure 8 Comparison of SOD, MDA and GSH contents in liver tissues of mice in each group ($n=8$)

0.01),提示小鼠肝脏发生氧化应激,肝细胞受损,进一步证明模型构建成功;与模型组比较,阳性药组和陈皮复合固体饮料各剂量组的小鼠肝组织中 MDA 含量显著降低($P<0.01$),SOD 和 GSH 含量显著升高($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。结果表明,陈皮复合固体饮料降低有害物 MDA 含量的同时,提高了 SOD 和 GSH 的活性或再生,从而增强了机体清除自由基的能力,减少氧化应激损伤从而达到保护肝脏的作用。



与空白对照组相比^{##} $P<0.01$;与模型组相比^{**} $P<0.01$

图9 各组小鼠肝组织中 IL-1β、IL-6 和 TNF-α 含量比较

Figure 9 Comparison of IL-1β, IL-6 and TNF-α contents in liver tissues of mice in each group ($n=8$)

2.3.6 陈皮复合固体饮料对急性酒精性肝损伤小鼠肝组织病理变化的影响 如图 10 所示,空白组中组织细胞染色均匀,结构清晰,形态正常;模型组肝细胞受到明细损害,可以观察到脂肪形成的空泡,胞质变得疏松,细胞核

2.3.5 陈皮复合固体饮料对急性酒精性肝损伤小鼠肝组织炎症因子的影响 如图 9 所示,模型组与空白组相比,小鼠肝组织中炎症因子水平显著升高($P<0.01$),表明模型组可能出现严重的炎症反应;与模型组比较,阳性药组和陈皮复合固体饮料中、高剂量组的 IL-1β、IL-6 和 TNF-α 水平明显下降($P<0.01$),陈皮复合固体饮料低剂量组 IL-1β 和 TNF-α 水平显著降低($P<0.01$)。结果表明,陈皮复合固体饮料可抑制炎症因子水平,发挥其肝保护作用。

的排列显得不太规则,并且有少数细胞出现了死亡的迹象;与模型组比较,陈皮复合固体饮料各剂量组小鼠肝损伤程度均有较明显改善。结果表明,陈皮复合固体饮料能够显著改善由急性酒精引发的小鼠肝组织的病理学改变。

3 结论

以药食同源的陈皮、山楂和葛根为主要原料,通过正交试验筛选陈皮复合固体饮料最佳提取工艺:3 种药材浸泡 30 min 后,加水提取 2 次,第一次料液比 1:12 (g/mL)、提取时间 2.0 h,第二次料液比 1:10 (g/mL)、提取时间 1.5 h;以感官评价、成型率、溶化性的综合评分为指标,通过单因素试验确定其最佳成型工艺:浸膏粉碎成细粉,与麦芽糊精按 1:1 的质量比混合,加入 1.0% 罗汉果甜苷,使用体积分数 90% 的乙醇作为湿润剂进行湿法制粒。此制备工艺下得到的陈皮复合固体饮料色泽均匀、香气协调、易于冲泡、适合饮用,且对急性酒精性肝损伤小鼠具有一定保护作用,其作用机制与调节肝细胞代谢失衡、减缓脂质代谢、提升机体抗氧化酶活性以及抑制炎症细胞因子表达相关。陈皮复合固体饮料所使用的原料来源广泛、制备工艺简单、成本相对较低,为其大规模生产创造了有利的条件,具有很大的市场潜力。后续将开展该产品的中试和质量标准研究,并借助多种生物学手段,从转录组、蛋白组、肠道菌群与代谢组等多个角度深入探讨陈皮复合固体饮料预防和改善急性

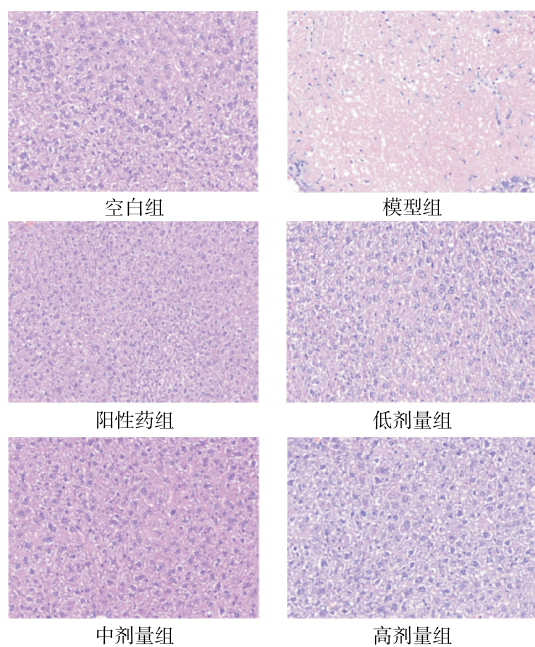


图 10 各组小鼠肝脏 HE 染色观察

Figure 10 Observation of HE staining in liver of mice in each group ($\times 200$)

酒精性肝损伤的作用机理。

参考文献

- [1] 张浩然, 李清安. 中草药对酒精性肝损伤保护作用的研究进展[J]. 时珍国医国药, 2021, 32(6): 1 449-1 451.
ZHANG H R, LI Q A. Research progress on the protective effect of Chinese herbal medicine on alcoholic liver injury [J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2021, 32(6): 1 449-1 451.
- [2] 郑义, 李诗颖, 糜心怡, 等. 银杏肽对急性酒精性肝损伤小鼠的保护作用[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(21): 109-114.
ZHENG Y, LI S Y, MI X Y, et al. Protective effect of *Ginkgo biloba* peptides on acute alcoholic liver injury in mice [J]. Food and Fermentation Industry, 2021, 47(21): 109-114.
- [3] 伏秀, 马佳怡, 朱思婷, 等. 中药解酒机制研究进展[J]. 吉林医药学院学报, 2023, 44(6): 458-461.
FU X, MA J Y, ZHU S T, et al. Research progress on mechanism of traditional Chinese medicine to cure alcohol [J]. Journal of Jilin Medical University, 2023, 44(6): 458-461.
- [4] 邓斌, 陈洁, 李想, 等. 基于网络药理学探讨沙棘治疗酒精性肝损伤的作用机制[J/OL]. 食品工业科技. (2024-01-16) [2024-03-26]. <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023100057>.
DENG B, CHEN J, LI X, et al. To explore the mechanism of *Hippophae fructus* in the treatment of alcoholic liver injury based on network pharmacology [J/OL]. Science and Technology of Food Industry. (2024-01-16) [2024-03-26]. <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023100057>.
- [5] 申绪芹, 李亚萍, 殷晓轩. 酒精性肝病诊疗的新进展[J]. 中西医结合肝病杂志, 2020, 30(3): 278-282.
SHEN X Q, LI Y P, YIN X X. New progress in the diagnosis and treatment of alcoholic liver disease [J]. Journal of Integrative Chinese and Western Hepatology, 2020, 30(3): 278-282.
- [6] 栗雯华, 王强, 郭晓彤, 等. 异甘草素对小鼠酒精性肝损伤的影响[J]. 中国兽医学报, 2023, 43(11): 2 314-2 320.
SU W H, WANG Q, GUO X T, et al. Effects of isoglycyrrhizin on alcoholic liver disease in mice [J]. Chin J Vet Sci, 2023, 43(11): 2 314-2 320.
- [7] 向琴, 张国泰, 芦润青, 等. 基于文献计量分析药食同源物质缓解酒精性肝损伤研究进展[J]. 食品工业科技, 2024, 45(2): 1-11.
XIANG Q, ZHANG G T, LU R Q, et al. Research progress on the alleviation of alcoholic liver injury based on bibliometric analysis of medicinal and food homologous substances [J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(2): 1-11.
- [8] 赵先银, 刘梦扬, 王丹, 等. 药食两用中草药防治酒精性肝病的研究进展[J]. 中草药, 2021, 19(2): 231-237.
ZHAO X Y, LIU M Y, WANG D, et al. Research progress in medicinal and edible Chinese herbal medicine for alcoholic liver disease [J]. Central South Pharmacy, 2021, 19(2): 231-237.
- [9] 姚晓敏, 曲均革, 凌庆枝, 等. 黄芩苷与橙皮苷对顺铂所致小鼠肝损伤的保护作用比较[J]. 辽宁中医药大学学报, 2011, 13(6): 59-61.
YAO X M, QU J G, LING Q Z, et al. Comparative effects of baicalin and hesperidin on hepatotoxicity induced by cisplatin in mice [J]. Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, 2011, 13(6): 59-61.
- [10] 陈秀娟, 王超, 舒克钢, 等. 橙皮苷预处理对 APAP 诱导小鼠急性肝损伤的保护作用及凋亡相关基因的影响[J]. 世界华人消化杂志, 2013, 21(14): 1 278-1 285.
CHEN X J, WANG C, SHU K G, et al. Protective effects of hesperidin pretreatment on APAP-induced acute liver injury and apoptosis-related genes in mice [J]. World Journal of Chinese Digestion, 2013, 21(14): 1 278-1 285.
- [11] 张德馨, 王淑华, 孙仟, 等. 山楂叶总黄酮提取工艺与药理作用研究进展[J]. 食品与药品, 2021, 23(4): 380-385.
ZHANG D X, WANG S H, SUN Q, et al. Research progress on extraction technology and pharmacological effects of total flavonoids from *Crataegi folium* [J]. Food and Drug, 2021, 23(4): 380-385.
- [12] 魏蕾, 卫倩倩, 李思维, 等. 山楂酸对急性酒精肝损伤小鼠部分生化指标的影响[J]. 临床医学研究与实践, 2020, 5(33): 4-6.
WEI L, WEI Q Q, LI S W, et al. Effects of *Crataegi fructus* acid on partial biochemical indexes in mice with acute alcoholic liver injury [J]. Clinical Medical Research and Practice, 2020, 5(33): 4-6.
- [13] 王艳丽, 宁宇, 丁莹. 中医药治疗酒精性肝病研究进展[J]. 中医药信息, 2022, 39(9): 80-84.
WANG Y L, NING Y, DING Y. Research progress in TCM treating alcoholic liver disease [J]. Information on Traditional Chinese Medicine, 2022, 39(9): 80-84.
- [14] 张国哲, 季建伟, 刘平平, 等. 葛根、葛花及其总黄酮对酒精性肝病大鼠防治作用研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2020, 22(11): 29-32.
ZHANG G Z, JI J W, LIU P P, et al. Comparison effects of radix *Puerariae lobatae* and *Puerariae lobatae* flos and their total flavonoids on prevention and treatment of ALD in rats [J]. Journal of Liaoning University of TCM, 2020, 22(11): 29-32.
- [15] 吴名草, 郁星, 沈旭丹, 等. 葛根枳椇子植物饮料对小鼠酒精性肝损伤的保护作用研究[J]. 粮油食品科技, 2022, 30(4): 157-163.
WU M C, YU X, SHEN X D, et al. Research on the protective effect of botanical beverage with *Puerariae lobatae* radix and *Hovenia dulcis* Thunb. extract on alcoholic liver injury in mice [J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2022, 30(4): 157-163.
- [16] 高慧艳, 袁鹏, 李江敏, 等. 葛根沙棘颗粒对急性酒精性肝损伤小鼠的护肝作用研究[J]. 现代疾病预防控制, 2024, 35(1): 39-42.
GAO H Y, YUAN P, LI J M, et al. Study on the protective effect of *Puerariae lobatae* radix and *Hippophae fructus* granules on acute alcohol-induced liver injury [J]. Modern Disease Control and

- Prevention, 2024, 35(1): 39-42.
- [17] 刘星, 杨钰昆, 秦楠, 等. 连翘叶固体饮料的研制及活性成分测定[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(6): 2 125-2 130.
- LIU X, YANG J K, QIN L, et al. Study on processing technology of *Forsythiae fructus* leaves solid beverage and determination of its active ingredients[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2021, 12(6): 2 125-2 130.
- [18] 刘奇, 章越, 盛燕, 等. 基于层次分析法—熵权法—独立性权法结合正交设计法优选胃病 1 号提取工艺[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(21): 2 998-3 004.
- LIU Q, ZHANG Y, SHENG Y, et al. Optimization of extraction process of gastropathy oral thick paste 1 by orthogonal design based on analytic hierarchy process method-entropy weight method-independent weight method[J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2023, 40(21): 2 998-3 004.
- [19] 李雨洋, 覃柳馨, 陈卫卫, 等. 星点设计—效应面法优选黄精固体饮品中黄精多糖的提取工艺[J]. 中国食品添加剂, 2021, 32(8): 44-50.
- LI Y Y, QIN L X, CHEN W W, et al. Optimization of polygonatum sibiricum polysaccharide extraction process by central composite design-response surface method in *Polygonati rhizoma* solid beverage[J]. China Food Additives, 2021, 32(8): 44-50.
- [20] 伍国羽, 林榆子, 潘育方. 白藜多糖颗粒剂的制备工艺研究[J]. 广东药科大学学报, 2024, 40(1): 14-21.
- WU G Y, LIN Y Z, PAN Y F. Study on preparation process of *Acanthopanax trifoliatum* (L.) Merr polysaccharides granules[J]. Journal of Guangdong Pharmaceutical University, 2024, 40(1): 14-21.
- [21] 九红, 付满玲, 刘洪盛, 等. 赶黄草醇提物和赶黄草总黄酮对小鼠亚急性酒精性肝损伤保护作用的比较研究[J]. 食品工业科技, 2023, 44(3): 391-397.
- JIU H, FU M L, LIU H S, et al. Comparative study on hepatoprotective effects of alcohol extract and total flavonoids of *penthorum chinense* pursh against alcoholinduced subacute liver injury in mice[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(3): 391-397.
- [22] 戴胜, 汪惠丽. 天然甜味剂罗汉果甜苷的研究进展[J]. 中成药, 2023, 45(2): 503-509.
- DAI S, WANG H L. Research progress of natural sweetener momoside[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2023, 45(2): 503-509.
- [23] 闫志芳, 任可乐, 孟祥龙, 等. 决明子水提物对急性酒精性肝损伤小鼠的保护作用研究[J]. 食品与药品, 2023, 25(5): 440-445.
- YAN Z F, REN K L, MENG X L, et al. Protective effect of water extract of *Cassiae semen* on acute alcoholic liver injury in mice[J]. Food and Drug, 2023, 25(5): 440-445.
- [24] 郭子雨, 赵军, 姚雨含, 等. 睡莲酚对小鼠酒精性肝损伤的保护作用[J]. 药学研究, 2023, 42(9): 668-672.
- GUO Z Y, ZHAO J, YAO Y H, et al. Protective effect of isostrictinin on alcoholic liver injury in mice [J]. Journal of Pharmaceutical Research, 2023, 42(9): 668-672.
- [25] TESCHKE R. Alcoholic liver disease: alcohol metabolism, cascade of molecular mechanisms, cellular targets, and clinical aspects[J]. Biomedicines, 2018, 6(4): 106.
- [26] 张瞭飞, 姜欣, 李一澍, 等. 4-甲基愈创木酚对酒精性肝损伤小鼠的保护作用[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(18): 92-98.
- ZHANG L F, JIANG X, LI Y S, et al. Protective effect of 4-methylguaiaicol on alcohol-induced liver injury in mice[J]. Food and Fermentation Industry, 2021, 47(18): 92-98.
-
- (上接第 87 页)
- [10] 荀春林. 智能碾米机结构设计及碾米特性仿真[D]. 南京: 东南大学, 2020: 35-59.
- XUN C L. Structure design of intelligent rice milling machine and simulation of rice milling characteristics[D]. Nanjing: Southeast University, 2020: 35-59.
- [11] 雷庆明. 自助碾米机的控制系统设计及碾白特性研究[D]. 南京: 东南大学, 2020: 35-58.
- LEI Q M. Study on the control system and the whitening characteristics of self-service rice mill [D]. Nanjing: Southeast University, 2020: 35-58.
- [12] LI A Q, JIA F G, WANG Y L, et al. Numerical analysis of the rice transport uniformity in vertical friction rice mill based on discrete element method [J]. Computers and Electronics in Agriculture, 2022, 202: 107398.
- [13] ZENG Y, JIA F G, MENG X Y, et al. The effects of friction characteristic of particle on milling process in a horizontal rice mill[J]. Advanced Powder Technology, 2018, 29(5): 1 280-1 291.
- [14] CERQUEIRA R F L, PALADINO E E, YNUMARU B K, et al. Image processing techniques for the measurement of two-phase bubbly pipe flows using particle image and tracking velocimetry (PIV/PTV) [J]. Chemical Engineering Science, 2018, 189: 1-23.
- [15] CHEN B, LI X J, ZHU Z C. Investigations of energy distribution and loss characterization in a centrifugal impeller through PIV experiment[J]. Ocean Engineering, 2022, 247: 110773.
- [16] LIU Z X, YU Z X, CHEN X X, et al. An investigation on external airflow around low-rise building with various roof types: PIV measurements and LES simulations[J]. Building and Environment, 2020, 169: 106583.
- [17] GRANT I. Particle image velocimetry: a review[J]. Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part C: Journal of Mechanical Engineering Science, 1997, 211(1): 55-76.
- [18] THIELICKE W, STAMHUIS E. PIVlab-towards user-friendly, affordable and accurate digital particle image velocimetry in MATLAB[J]. Journal of Open Research Software, 2014, 2(1): 30.