

DOI:10.13652/j.spjx.1003.5788.2023.80784

一种婴幼儿汁类罐装辅助食品对幼龄小鼠 急性炎症的影响及抗氧化活性评价

戴志勇^{1,2} 邓 斌^{1,3} 李佳妮^{1,3} 肖作为^{1,3} 周一苗^{1,3,4}

(1. 湖南中医药大学药食同源创新实验室, 湖南 长沙 410208; 2. 英氏控股集团股份有限公司, 湖南 长沙 410000;
3. 湖南中医药大学药学院, 湖南 长沙 410208; 4. 湖南中医药大学湘杏学院, 湖南 岳阳 414615)

摘要: [目的] 考察一种婴幼儿汁类罐装辅助食品对幼龄小鼠急性炎症的影响, 并评价其抗氧化活性。[方法] 将 70 只小鼠分为空白组、模型组、低剂量组 (8.697 9 g/kg)、中剂量组 (17.395 8 g/kg)、高剂量组 (34.791 6 g/kg)、超高剂量组 (69.583 2 g/kg) 和阳性药物对照组, 采用巴豆油致小鼠急性耳廓肿胀模型评价汁类罐装辅助食品对幼龄小鼠急性炎症的影响; 计算除空白组外其余各组小鼠的左耳耳廓肿胀率; 通过 ELISA 法检测其血清中 TNF- α 、IL-2、IL-6、IL-1 β 细胞因子含量; HE 染色检测小鼠肝脏组织病理形态; 通过电子舌进行滋味分析; 采用紫外分光光度法测定汁类罐装辅助食品的抗氧化能力 (DPPH 自由基清除能力和羟自由基清除能力)。[结果] 与空白组相比, 模型组小鼠左耳肿胀明显, 血清中 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 含量明显上升 ($P < 0.05$), IL-2 含量显著下降 ($P < 0.05$), 肝组织中炎性细胞浸润明显。与模型组相比, 低、中、高、超高剂量组小鼠左耳肿胀程度随剂量的升高而逐渐降低 ($P < 0.05$), 血清中 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 含量下降 ($P < 0.05$), 且随着剂量的升高, 下降程度增大。高剂量和超高剂量组小鼠的 IL-2 含量上升 ($P < 0.05$), 炎症症状得到缓解; 中、高、超高剂量组小鼠肝脏组织细胞核肿胀程度得到明显改善, 弥漫性的炎性细胞浸染情况减轻; DPPH 自由基清除率和羟自由基清除率的 IC₅₀ 分别为 0.023, 0.022 mg/mL (以样品中总酚计)。[结论] 该种婴幼儿汁类罐装辅助食品对由涂抹巴豆油引起的幼龄小鼠急性炎症具有良好的抗炎效果。

关键词: 婴幼儿罐装辅助食品; 急性炎症; 抗氧化活性评价

Effects of a canned infant juice auxiliary food on acute inflammation in young mice and antioxidant activity

DAI Zhiyong^{1,2} DENG Bin^{1,3} LI Jiani^{1,3} XIAO Zuowei^{1,3} ZHOU Yimiao^{1,3,4}

(1. Homologous Innovation Laboratory of Medicine and Food, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. Engnice Holding Group Co., Ltd., Changsha, Hunan 410000, China; 3. School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 4. Xiangyin Campus of Xiangxing College of Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Yueyang, Hunan 414615, China)

Abstract: [Objective] To investigate the effects of an infant juice canned auxiliary food on acute inflammation and antioxidant activity in young mice. [Methods] 70 mice were divided into blank group, model group, low dose group (8.697 9 g/kg), middle dose group (17.395 8 g/kg), high dose group (34.791 6 g/kg), high dose group (69.583 2 g/kg) and positive drug control group. Adopting croton oil-induced acute ear edema model in mice to evaluate the effects of juice canned supplementary food on acute inflammation in young mice; calculated the swelling rate of left ear in each group of mice except the blank group. The levels of TNF- α , IL-2, IL-6 and IL-1 β in serum were detected by ELISA. HE staining was used to detect the pathological morphology of liver tissue in mice. Electronic tongue for taste analysis. The antioxidant capacity (DPPH free radical scavenging ability, $\cdot$ OH free radical scavenging ability of infant canned auxiliary food was determined by ultraviolet spectrophotometry. [Results] Compared with the blank group, the left ear swelling of the model group was

基金项目: 天然药物资源与功能开发基金项目 (编号: 2022ZYYGN06); 湖南省中医药管理局重点项目 (编号: C2023005)

通信作者: 肖作为 (1981—), 男, 湖南中医药大学药学院副教授, 博士。E-mail: 574512660@qq.com

周一苗 (1981—), 女, 湖南中医药大学讲师, 硕士。E-mail: 15988874@qq.com

收稿日期: 2023-08-15 **改回日期:** 2024-06-01

obvious, the contents of TNF- α , IL-6 and IL-1 β in serum were significantly increased ($P<0.05$), the content of IL-2 was significantly decreased ($P<0.05$), and the infiltration of inflammatory cells in liver tissue was obvious. Compared with the model group, the swelling degree of the left ear of the mice in the low, medium, high and ultra-high dose groups gradually decreased with the increase of the dose ($P<0.05$), and the contents of TNF- α , IL-6 and IL-1 β in the serum decreased. The difference was statistically significant ($P<0.05$), and the degree of decrease increased with the increase of the dose. The content of IL-2 in the high-dose and ultra-high-dose groups of mice increased ($P<0.05$), and the inflammatory symptoms were alleviated. The results of HE staining showed that the degree of nuclear swelling in liver tissue of mice in the medium, high and ultra-high dose groups was significantly improved, and the diffuse inflammatory cell infiltration was reduced. The antioxidant results showed that the IC₅₀ of DPPH free radical scavenging rate and OH free radical scavenging rate were 0.023 mg/mL and 0.022 mg/mL (based on total phenols in the sample), respectively. [Conclusion] This kind of infant juice canned auxiliary food has a good anti-inflammatory effect on the acute inflammation of young mice caused by croton oil.

Keywords: canned complementary food for infants and young children; acute inflammation; antioxidant activity evaluation

婴幼儿时期是人体生长发育的一个重要时期,其间营养水平直接影响未来青少年和成年阶段的体格发展。母乳是保证婴幼儿营养水平最理想的食物,但少数乳母因患疾病、乳汁分泌不足或无乳汁分泌等原因不能进行母乳喂养时,需要通过配方奶粉和婴幼儿辅助食品提供婴幼儿生长发育所需要的营养物质^[1]。但因奶粉的营养组成及其消化性能与母乳有较大差异,婴幼儿容易出现腹痛、便秘等“上火”症状,服用含有“降火”功效的婴幼儿辅助食品可大大改善这一情况,同时世界卫生组织(World Health Organization,WHO)也建议6月龄以上的婴幼儿开始添加辅食^[2]。

研究选用市场上售卖的一种具有“降火”功效的婴幼儿汁类罐装辅助食品,分析其对幼龄小鼠急性炎症的影响并进行抗氧化评价,验证其是否具有“降火”功效。通过查询配方表得知其主要成分为雪梨汁(76.90%)、浓缩枇杷汁(20.00%)、柠檬汁(2.50%)、陈皮粉(0.24%)、莲子粉(0.24%)、余甘子粉(0.06%)和菊花粉(0.06%)。余甘子(*Phyllanthus emblica* L.)为大戟科叶下珠属植物,主要分布于印度、马来西亚等热带和亚热带国家,在中国主要分布于海南、福建、广东、广西、云南等地^[3];其富含酚类^[4]、维生素^[5]、氨基酸^[6]、黄酮^[7]等生物活性物质,具有很好的抗氧化^[8]、抗炎^[9]、抗肿瘤^[10]等药理作用。菊花为菊科植物菊(*Chrysanthemum morifolium* Ramat)的干燥头状花序,性微寒,味甘苦,具有散风清热、平肝明目、清热解毒的作用,是卫健委批准的药食同源药材之一^[11];其富含氨基酸类^[12]、黄酮类^[13]、挥发油类^[14]、三萜及甾体类^[15]等生物活性物质,具有抗炎^[16]、抑菌^[17]、降血糖^[18]、抗氧化^[19]、调节机体免疫力^[20]等药理作用。莲子(*Nelumbinis semen*)为睡莲科水生草本植物莲的果实或种子,其性味甘、平,入脾、肾、心经,主要含有蛋白质、维生素、荷叶碱以及钙、磷、铁等微量元素,具有养心安神、补脾止泻等功效^[21]。陈皮为芸香科植物橘(*Citrus reticulata* Blanco)的干燥成熟果皮,气香,味辛、苦,主要含有黄酮类、挥发油、生物碱、多糖等成分,具有抗炎、抗氧化、增强免疫力的作用^[22]。研究拟探

究该婴幼儿汁类罐装辅助食品对幼龄小鼠急性炎症的影响,并对其抗氧化活性进行评价,以期为婴幼儿罐装辅助食品的发展和药食同源资源的综合开发提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 试验动物

昆明种小鼠:70只,5周龄,质量为20~40g,质量合格证编号为ZS-202304110033,湖南斯莱克景达实验动物有限公司。

1.1.2 药物与试剂

婴幼儿汁类罐装辅助食品:市售;

巴豆油:上海麦克林生化科技有限公司;

阿司匹林肠溶片:沈阳奥吉娜药业有限公司;

生理盐水:江西科伦药业有限公司;

小鼠白细胞介素2(IL-2)、小鼠白细胞介素6(IL-6)、小鼠白细胞介素1 β (IL-1 β)、小鼠肿瘤坏死因子 α (TNF- α) ELISA试剂盒:江苏艾迪生生物科技有限公司;

4%多聚甲醛通用型组织固定液:兰杰柯科技有限公司;

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH):合肥巴斯夫生物科技有限公司;

无水乙醇:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

维生素C对照品:分析纯,西陇化工股份有限公司;

水杨酸:分析纯,上海麦克林生化科技股份有限公司;

FeSO₄·7H₂O:分析纯,台州市化工厂有限公司;

30%过氧化氢溶液:分析纯,湖南汇虹试剂有限公司。

1.2 主要仪器设备

多功能酶标仪:Synergy型,美国伯腾仪器有限公司;

电子分析天平:AE-2204型,湘仪天平仪器设备有限公司;

台式离心机:80-2型,金坛市大地自动化仪器厂;

紫外分光光度计:UV-1800型,日本岛津仪器有限公司。

公司;

超薄切片机:EM FC7型,徕卡显微系统(上海)贸易有限公司;

自动脱水机:HistoCore PEARL型,徕卡显微系统(上海)贸易有限公司;

自动包埋机:HistoCore ArcadiaC型,徕卡显微系统(上海)贸易有限公司;

数字玻片扫描仪:3D-Histech Panoramic M1D1型,匈牙利3Dhistech公司;

电子舌:SA-402B型,日本INSENT公司。

1.3 试验方法

1.3.1 小鼠急性耳廓肿胀炎症模型的建立 取小白鼠70只,随机分为空白对照组(药液为灭菌的生理盐水)、模型组、低剂量组(8.697 9 g/kg)、中剂量组(17.395 8 g/kg)、高剂量组(34.791 6 g/kg)、超高剂量组(69.583 2 g/kg)以及阿司匹林阳性药物对照组(300 mg/kg),每组10只,按剂量灌胃相应药液,每天1次,连续灌胃14 d。除空白组外,其他组于第1,3,5,7,9,11,13天在小鼠左耳上涂抹10 μ L巴豆油,随着给药时间的延长,小鼠左耳逐渐出现明显肿胀情况,说明造模成功。

1.3.2 小鼠左耳耳廓肿胀率计算 末次给药后,禁食24 h,处死小鼠,沿耳廓基线剪下两耳,用直径8 mm不锈钢镊沿耳廓相同部位镊下左右耳片,称重,以左、右耳片质量之差作为肿胀度,按式(1)计算耳廓肿胀率。

$$C = \frac{m_1 - m_2}{m_2} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

C——耳廓肿胀率,%;

m_1 ——左耳质量,g;

m_2 ——右耳质量,g。

1.3.3 小鼠血清TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、IL-2含量检测 采用酶联免疫吸附法(ELISA)。从室温平衡20 min后的铝箔袋中取出所需板条,剩余板条用自封袋密封放回4 $^{\circ}$ C,设置标准品孔和样本孔,标准品孔各加不同浓度的标准品50 μ L,样品孔先加待测样本10 μ L,再加样本稀释液40 μ L,空白孔不加。除空白孔外,标准品孔和样本孔每孔加入辣根过氧化物酶(HRP)标记的检测抗体100 μ L,用封板膜封住反应孔,37 $^{\circ}$ C恒温箱温育60 min,丢弃液体,用吸水纸拍干孔板,每孔加满洗涤液,静置1 min,甩去洗涤液,吸水纸拍干,重复洗板5次。洗完板后,每孔加入底物A、B各50 μ L,37 $^{\circ}$ C避光孵育15 min,每孔加入终止液50 μ L,15 min内,在450 nm处测定各孔的OD值。

1.3.4 小鼠肝组织病理形态学观察 末次给药后,禁食24 h,打开腹腔,取出肝脏,选用肝组织放入4%多聚甲醛中脱水,透明石蜡包埋,切片(5 μ m),常规HE染色,置于数字玻片扫描仪下观察肝组织病理形态学变化。

1.3.5 电子舌滋味分析 取本品30 mL并加入1倍体积的去离子水混匀,根据文献[23]对汁类罐装辅助食品的酸味、甜味、咸味、涩味、鲜味、回味、丰富度进行滋味品质测定,每个样品测定4次,选取后3次的测量数据进行分析。

1.3.6 多酚含量测定 按料液比1:5(g/mL)稀释样品,分别准确吸取1 mL不同质量浓度(0,0.2,0.4,0.6,0.8,1.0 mg/mL)的没食子酸标准液和稀释后的样品溶液,加入3 mL蒸馏水,分别加入0.5 mL Folin-Ciocalteu试剂,混匀,静置反应8 min,加入0.5 mL 10%的 Na_2CO_3 溶液,充分混合,室内静置显色1 h,以不加标准液为空白对照,测定765 nm处吸光值,每个样品平行测定3次。结合标准曲线计算多酚含量。

1.3.7 DPPH自由基清除率测定 准确称取19.72 mg DPPH,用无水乙醇定容得到浓度为0.05 mmol/L的DPPH溶液。根据文献[24]将样品配成0.2 mg/mL(以总酚计)的母液,梯度稀释配成质量浓度为0.200 0,0.100 0,0.050 0,0.025 0,0.012 5 mg/mL样液。分别取2 mL待测液和2 mL 0.05 mmol/L的DPPH溶液于具塞试管中,混匀,避光反应30 min,测定517 nm处吸光度,平行测试3次。以与待测液相同质量浓度的维生素C溶液作为阳性对照,按式(2)计算DPPH自由基清除率。

$$R = 1 - \left(\frac{A_1 - A_2}{A_0} \right) \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

R——自由基清除率,%;

A_0 ——以蒸馏水代替样液测得的吸光度值;

A_1 ——样液测得的吸光度值;

A_2 ——阳性对照组的吸光度值。

1.3.8 羟自由基清除率测定 根据文献[25],按式(2)计算羟自由基清除率。

1.3.9 数据处理 使用SPSS26.0软件进行统计学分析, $P < 0.05$ 表明差异具有统计学意义,采用Graphpad Prism 9.0软件绘图。

2 结果与分析

2.1 小鼠左耳耳廓肿胀率分析

喂养过程中会出现老鼠死亡,所以个别组的小鼠数量不足10只,其中低剂量组小鼠死亡最多,死亡4只。其原因可能是涂抹巴豆油后,小鼠出现炎症,并造成小鼠免疫力下降。由表1可知,模型组小鼠左耳耳廓平均肿胀率最高为167.81%,阳性药物组小鼠左耳耳廓平均肿胀率最低为107.73%,说明服用阿司匹林肠溶片后能显著减弱由涂抹巴豆油引起的小鼠耳廓肿胀的效果。与模型组相比,低、中、高、超高剂量组小鼠耳廓肿胀率差异显著($P < 0.05$),随着服用剂量的升高,服用低、中、高、超高剂量的汁类罐装辅助食品组的小鼠耳廓肿胀率逐渐降低,但仍

高于阳性药物组,说明服用一定剂量的汁类罐装辅助食品对由涂抹巴豆油引起的小鼠耳廓肿胀情况有一定的抑制作用,且随着服用剂量的增加,抑制效果更加明显,但抗炎效果低于阿司匹林阳性药物。

表 1 小鼠左耳耳廓的肿胀率[†]
Table1 Results of swelling rate of left ear in mice

组别	动物数量/只	平均肿胀率/%
空白组	9	
模型组	8	167.81
阳性药物组	8	107.73 [*]
低剂量组	6	136.14 [*]
中剂量组	8	131.22 [*]
高剂量组	8	129.44 [*]
超高剂量组	10	127.10 [*]

[†] 与模型组相比,* $P<0.05$ 。

2.2 小鼠血清 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、IL-2 含量分析

IL-2 主要由 Th1 细胞产生,具有多向性作用,能够促进 B 细胞、淋巴细胞、T 细胞、NK 细胞等细胞的增殖活化,增强机体的免疫功能,是调控免疫应答的重要细胞因子^[26]。由表 2 可知,模型组小鼠 IL-2 的表达相比于空白组明显降低($P<0.05$),表明模型组小鼠免疫功能下降;高、超高剂量组小鼠 IL-2 的表达情况相比于模型组有显著提高($P<0.001$),表明高剂量和超高剂量的汁类罐装辅助食品能够提高幼龄急性炎症小鼠的免疫功能,改善小鼠体内的炎症水平。低、中剂量组小鼠 IL-2 的表达情况相比于模型组有所提高,但无统计学意义。IL-6 是由单核细胞、巨噬细胞、T 淋巴细胞及其他细胞类型产生的多效性细胞因子,在感染和炎症过程中显著上调,是宿主抵御环境压力(如损伤和感染)的核心细胞因子^[27]。模型组小鼠 IL-6 的表达情况相比于正常组明显上升($P<0.05$),说明

模型组小鼠相比于正常组小鼠炎症症状明显。低、中、高、超高剂量组小鼠 IL-6 的表达情况相比于模型组有不同程度的降低($P<0.001$),且随着剂量的增大,降低程度越大,说明低、中、高、超高剂量的汁类罐装辅助食品能够抑制幼龄急性炎症小鼠体内细胞因子 IL-6 水平升高,起到抗炎效果。IL-1 β 是由白细胞等受到应激刺激时分泌的一种小分子调节蛋白,与其靶细胞上的受体结合后激活并传递生物信号、介导 T、B 细胞增殖活化,是一种重要的细胞炎症因子^[28]。模型组小鼠 IL-1 β 的表达情况相比于空白组显著增加($P<0.05$),模型组小鼠炎症症状明显。低、中、高、超高剂量组小鼠 IL-1 β 的表达情况相比于模型组有不同程度的降低($P<0.05$),且随着剂量的增大,降低程度越大,说明服用低、中、高、超高剂量的汁类罐装辅助食品能够抑制幼龄急性炎症小鼠体内细胞因子 IL-1 β 含量的升高,有助于减轻炎症效应。TNF- α 是一种多效性促炎细胞因子,属于 TNF 配体超家族,在调节多种发育和免疫过程中发挥着不同作用,包括炎症、分化、脂质代谢和凋亡,与多种疾病有关^[29]。模型组小鼠 TNF- α 的表达情况相比于空白组显著增加($P<0.05$),模型组小鼠炎症症状明显。低剂量组小鼠 TNF- α 的表达情况相比于模型组有所降低,但无统计学意义。中、高、超高剂量组小鼠 TNF- α 的表达情况相比于模型组有不同程度的降低($P<0.001$),且随着剂量的增大,降低程度越大,说明服用中、高、超高剂量的汁类罐装辅助食品能够降低幼龄急性炎症小鼠体内 TNF- α 细胞因子含量水平,有助于减轻炎症效应。

2.3 小鼠肝组织病理形态学分析

由图 1 可知,空白组小鼠肝脏组织、肝小叶、肝细胞形态正常、排列规则,未见异常的病理变化;模型组小鼠肝脏组织细胞出现明显的肿胀现象,且肝小叶附近有弥漫性的炎性细胞浸染,说明模型组小鼠炎症症状十分明显;阳性药物组小鼠肝脏组织细胞肿胀程度得到明显改善,

表 2 小鼠血清中 IL-2、IL-6、IL-1 β 、TNF- α 含量[†]
Table 2 Content of IL-2, IL-6, IL-1 β and TNF- α in serum

组别	动物数	IL-2 含量/ (pg·mL ⁻¹)	IL-6 含量/ (pg·mL ⁻¹)	IL-1 β 含量/ (pg·mL ⁻¹)	TNF- α 含量/ (pg·mL ⁻¹)
空白组	9	103.090 8 $\pm$ 2.664 0	46.001 3 $\pm$ 3.244 9	54.548 5 $\pm$ 3.536 7	53.851 4 $\pm$ 1.552 6
模型组	8	69.248 2 $\pm$ 4.659 0 [▲]	63.718 6 $\pm$ 0.396 6 [▲]	117.371 7 $\pm$ 3.664 8 [▲]	73.495 4 $\pm$ 4.105 3 [▲]
阳性药物组	8	90.714 5 $\pm$ 3.657 0 ^{***}	48.740 7 $\pm$ 5.521 3 ^{***}	70.586 2 $\pm$ 4.572 9 ^{***}	57.199 1 $\pm$ 12.050 0 ^{**}
低剂量组	6	70.345 7 $\pm$ 6.070 0	58.621 3 $\pm$ 0.185 3 ^{***}	115.907 2 $\pm$ 1.128 3 [*]	70.308 0 $\pm$ 11.515 5
中剂量组	8	73.285 5 $\pm$ 3.075 6	56.929 2 $\pm$ 0.365 4 ^{***}	105.970 7 $\pm$ 1.687 2 ^{***}	64.246 6 $\pm$ 2.962 1 ^{***}
高剂量组	8	78.262 6 $\pm$ 0.635 7 ^{***}	55.395 6 $\pm$ 0.536 8 ^{***}	92.872 9 $\pm$ 2.549 2 ^{***}	61.668 8 $\pm$ 0.857 1 ^{***}
超高剂量组	10	80.522 0 $\pm$ 6.119 3 ^{***}	53.876 3 $\pm$ 0.309 6 ^{***}	86.692 2 $\pm$ 8.374 3 ^{***}	59.933 1 $\pm$ 5.932 8 ^{***}

[†] 模型组与空白组相比,▲ $P<0.05$;低、中、高、超高剂量和阳性药物组与模型组相比,* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$ 。

大面积的弥漫性炎性细胞浸染较少,炎症症状得到明显改善;超高剂量组小鼠肝脏组织细胞肿胀程度得到明显改善,未发现大面积的弥漫性炎性细胞浸染,炎症症状得到相对改善,但相比于空白组仍存在肿胀现象;高剂量组小鼠肝脏组织细胞肿胀程度得到明显改善,但仍存在小

面积的弥漫性炎性细胞浸染,炎症症状得到相对改善;中剂量组小鼠肝脏组织细胞肿胀程度有所改善,炎症症状得到一定改善,但细胞仍存在肿胀现象;低剂量组小鼠肝脏组织细胞肿胀程度有轻微改善,炎症症状仍比较明显。

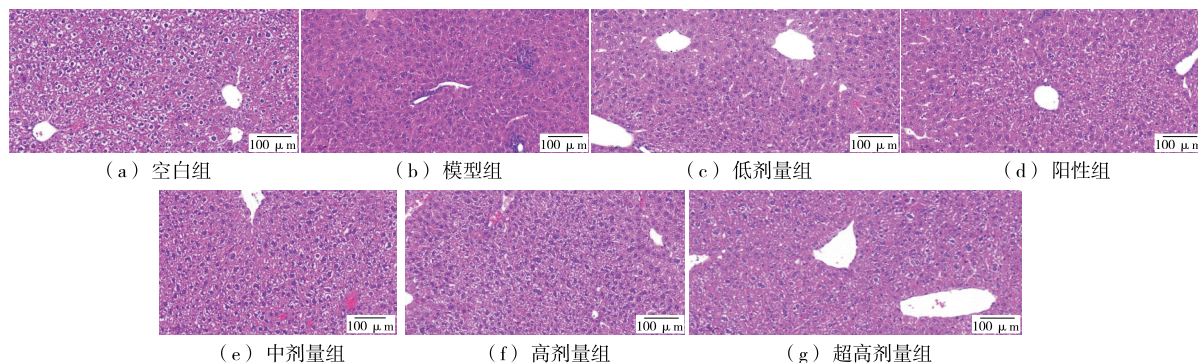


图1 各组小鼠肝脏HE染色切片图片

Figure 1 HE stained section of liver of mice in each group ($\times 9.4$)

2.4 总酚含量分析

没食子酸标准曲线回归方程为 $Y=3.553\ 4X+0.057\ 6$, $R^2=0.999\ 0$,说明在 $0\sim 1.0\ \text{mg/mL}$ 质量浓度范围内线性关系良好,稀释后样品溶液的3次平均吸光值为3.679,其多酚含量为 $1.019\ \text{mg/mL}$,未稀释样品的多酚含量为 $5.095\ \text{mg/g}$ 。

2.5 DPPH自由基清除能力分析

由图2可知,在 $0.012\ 5\sim 0.200\ 0\ \text{mg/mL}$ 质量浓度范围内,样品表现出较好的清除DPPH自由基活性,对DPPH自由基的清除能力随溶液中多酚质量浓度的增加而升高。当样品中多酚质量浓度 $> 0.1\ \text{mg/mL}$ 时,DPPH自由基清除能力趋于平稳。当样品中多酚和维生素C质量浓度 $< 0.2\ \text{mg/mL}$ 时,样品对DPPH自由基的清除率低于维生素C。根据计算得出该条件下样品中多酚和维生素C的 IC_{50} 值分别为 $0.023, 0.016\ \text{mg/mL}$,两者差距较小。

2.6 羟自由基清除能力分析

由图3可知,样品表现出较好的羟自由基清除能力。在 $0.1\sim 0.5\ \text{mg/mL}$ 质量浓度范围内,随着溶液中多酚质量浓度的增加,羟自由基清除能力逐渐升高。当样品中多酚和维生素C质量浓度 $< 0.5\ \text{mg/mL}$ 时,样品对羟自由基的清除率明显高于维生素C。当样品中多酚和维生素C质量浓度为 $0.5\ \text{mg/mL}$ 时,两者的清除率相近,均接近于80%。根据计算得出该条件下样品中多酚和维生素C的 IC_{50} 值分别为 $0.22, 0.28\ \text{mg/mL}$,多酚的 IC_{50} 值小于维生素C的,说明样品中含有大量的供氢体,使得溶液中的羟自由基被还原,达到清除自由基的目的。

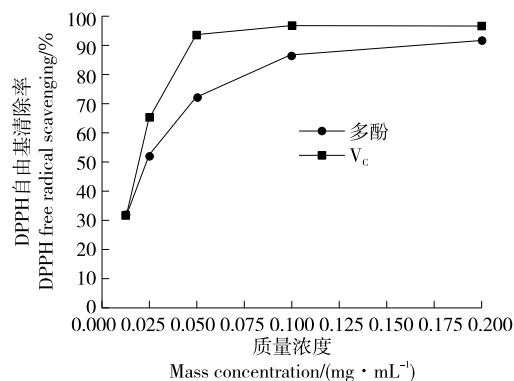


图2 多酚和维生素C的DPPH自由基清除能力

Figure 2 DPPH free radical scavenging ability of polyphenols and V_c

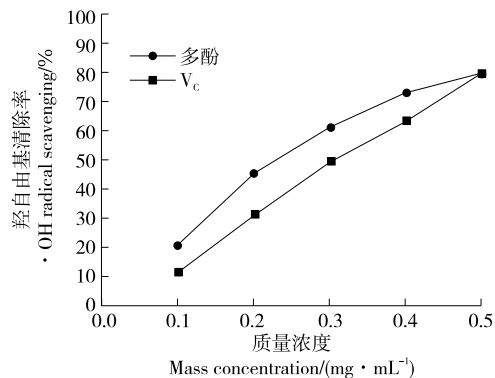


图3 多酚和维生素C对羟自由基的清除作用

Figure 3 Scavenging effects of polyphenols and V_c on OH free radical

3 结论

研究了一种婴幼儿罐装辅助食品对幼龄小鼠急性炎症的影响,并对其抗氧化活性进行了评价。结果表明,服用此种婴幼儿罐装辅助食品后,幼龄小鼠的耳廓肿胀率下降,且随着服用剂量的增大,小鼠耳廓肿胀率下降程度增大;小鼠血清中 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 含量相比于模型组小鼠有显著降低趋势,IL-2 含量相比于模型组小鼠有升高趋势,且随着服用剂量的增大,其趋势越明显。肝脏 HE 染色结果显示,服用中、高、超高剂量婴幼儿罐装辅助食品的小鼠肝脏组织细胞肿胀程度得到明显改善,大面积的弥漫性炎性细胞浸染较少,炎症症状得到明显改善;电子舌结果显示,其在丰富度、甜味和回味传感器上响应值较高;抗氧化试验表明该婴幼儿罐装辅助食品具有良好的抗氧化活性。参考相关文献^[30],其作用机制可能是通过降低活性氧(ROS)水平、抑制 MAPK 信号通路和减少炎症因子等途径发挥抗炎活性。由于该试验未进行蛋白免疫印迹和聚合酶链反应,无法得到婴幼儿汁类罐装辅助食品降低幼龄小鼠炎症效应的具体调控机制与通路,有待于进一步研究。

参考文献

- [1] 刘飒娜,王起赫,李国辉,等. 0~36 月龄婴幼儿配方食品及婴幼儿辅助食品中糖含量分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2023, 35(2): 248-253.
LIU S N, WANG Q H, LI G H, et al. Analysis of sugar content in infant formula and infant supplements for infants aged 0~36 months[J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2023, 35(2): 248-253.
- [2] 中国营养学会. 中国居民膳食指南(2022)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2022: 196-198, 221-227.
Chinese Nutrition Society. Dietary guidelines for Chinese residents (2022)[M]. Beijing: People's Health Publishing House, 2022: 196-198, 221-227.
- [3] VARIYA B C, BAKRANIA A K, PATEL S S. Emblica officinalis (AmLa): a review for its phytochemistry, ethnomedicinal uses and medicinal potentials with respect to molecular mechanisms[J]. Pharmacological Research, 2016, 111: 180-200.
- [4] SRIPANIDKULCHAI B, JUNLATAT J. Bioactivities of alcohol based extracts of *Phyllanthus emblica* branches: antioxidation, antimelanogenesis and anti-inflammation[J]. Journal of Natural Medicines, 2014, 68(3): 615.
- [5] 王建超,陈志峰,刘鑫铭,等. 不同品种余甘子果实营养成分分析与评价[J]. 果树学报, 2018, 35(1): 108-117.
WANG J C, CHEN Z F, LIU X M, et al. Nutritional analysis and evaluation of n fruits of *Phyllanthus emblica*[J]. Pomology Journal, 2018, 35(1): 108-117.
- [6] 赵琼玲,金杰,沙毓沧,等. 不同来源地的余甘子果实氨基酸

- 组成及含量分析[J]. 中国农学通报, 2017, 33(36): 78-84.
ZHAO Q L, JIN J, SHA Y C, et al. Composition and content of amino acid of *Phyllanthus emblica* L. fruit from different sources[J]. China Agricultural Bulletin, 2017, 33(36): 78-84.
- [7] 杜丽娟,苏秀芳,黄成银. 余甘子叶总黄酮的超声波法提取工艺优化及其抗氧化能力研究[J]. 食品与机械, 2020, 36(3): 185-189, 193.
DU L J, SU X F, HUANG C Y. Optimization of ultrasonic extraction process of total flavonoids from *Phyllanthus emblica* leaves and its antioxidant capacity[J]. Food & Machinery, 2020, 36(3): 185-189, 193.
 - [8] 李晓强,胡坤,龚玉石,等. 不同产地、不同提取方法对余甘子多酚含量及抗氧化活性的影响[J]. 食品工业科技, 2023, 44(2): 317-323.
LI X Q, HU K, GONG Y S, et al. Effects of different habitats and different extraction methods on polyphenol content and antioxidant activity of *Phyllanthus emblica*[J]. Food Industry Science and Technology, 2023, 44(2): 317-323.
 - [9] 孟达,张雅琼,秦定梅,等. 余甘子的酚类成分及药理活性研究进展[J]. 中成药, 2022, 44(10): 3 269-3 274.
MENG D, ZHANG Y Q, QIN D M, et al. Research progress on phenolic components and pharmacological activities of *Phyllanthus emblica*[J]. Chinese Patent Medicine, 2022, 44(10): 3 269-3 274.
 - [10] 陈文雅. 余甘子叶总黄酮的抗肿瘤作用及其机制研究[D]. 南宁: 广西中医药大学, 2017: 1-3.
CHEN W Y. Study on the anti-tumor effect and mechanism of total flavonoids from *Phyllanthus emblica* leaves[D]. Nanning: Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, 2017: 1-3.
 - [11] 周衡朴,任敏霞,管家齐,等. 菊花化学成分、药理作用的研究进展及质量标志物预测分析[J]. 中草药, 2019, 50(19): 4 785-4 795.
ZHOU H P, REN M X, GUAN J Q, et al. Research progress on chemical constituents, pharmacological effects and predictive analysis of quality markers of chrysanthemum[J]. Chinese Herbal Medicine, 2019, 50(19): 4 785-4 795.
 - [12] 詹歌,孙梦媛,李军,等. 不同产地 5 种菊花氨基酸组成分析及营养价值评价[J]. 安徽农业大学学报, 2019, 46(6): 908-914.
ZHAN G, SUN M Y, LI J, et al. Amino acid composition analysis and nutritional value evaluation of five kinds of chrysanthemum from different producing areas[J]. Journal of Anhui Agricultural University, 2019, 46(6): 908-914.
 - [13] 丁云龙,王浩东,唐国玮,等. 5 种药食兼用菊花挥发性有机物的 HS-GC-IMS 与指纹图谱[J]. 食品与机械, 2022, 38(9): 52-58.
DING Y L, WANG H D, TANG G W, et al. HS-GC-IMS and fingerprint of volatile organic compounds in 5 kinds of medicinal and edible chrysanthemums[J]. Food & Machinery,

- 2022, 38(9): 52-58.
- [14] 谢占芳. 八种菊花挥发性成分及其抑菌活性研究[D]. 郑州: 河南大学, 2016: 1-3.
- XIE Z F. Study on volatile components and antibacterial activity of eight *Chrysanthemums*[D]. Zhengzhou: Henan University, 2016: 1-3.
- [15] 苗苗, 杨立刚, 荣莹, 等. 12种市售食用花卉中总黄酮与总甾体的含量测定[J]. 食品研究与开发, 2009, 30(12): 122-125.
- YUN M, YANG L G, RONG Y, et al. Determination of total flavonoids and total steroids in 12 commercial edible flowers [J]. Food Research and Development, 2009, 30(12): 122-125.
- [16] COMALADA M, CAMUESCO D, SIERRA S, et al. *In vivo* quercitrin anti-inflammatory effect involves release of quercetin, which inhibits inflammation through down-regulation of the NF- κ B pathway[J]. European Journal of Immunology, 2005, 35(2): 584-592.
- [17] 冯金晓, 衣梦琦. 菊花提取物对金黄色葡萄球菌的抑菌作用研究[J]. 农产品加工, 2023(3): 23-24, 29.
- FENG J X, YI M Q. Antibacterial effect of chrysanthemum extract on *Staphylococcus aureus* [J]. Processing of Agricultural Products, 2023(3): 23-24, 29.
- [18] 尚翔. 菊花提取物对小鼠的降血糖作用及其机制研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2015: 1-2.
- SHANG X. Study on the hypoglycemic effect and mechanism of chrysanthemum extract in mice[D]. Suzhou: Suzhou University, 2015: 1-2.
- [19] 李雪晖, 王艺, 罗心雨, 等. 菊花黄酮化合物指纹图谱与抗氧化活性的相关性分析[J]. 粮食与油脂, 2023, 36(1): 148-151.
- LI X H, WANG Y, LUO X Y, et al. Correlation analysis between fingerprint and antioxidant activity of flavonoids from chrysanthemum[J]. Grain and Oil, 2023, 36(1): 148-151.
- [20] 范灵婧, 倪鑫炎, 吴纯洁, 等. 菊花多糖的结构特征及其对NF- κ B和肿瘤细胞的活性研究[J]. 中草药, 2013, 44(17): 2364-2371.
- FAN L J, NI X Y, WU C J, et al. Structural characteristics of chrysanthemum polysaccharide and its activity on NF- κ B and tumor cells[J]. Chinese Herbal Medicine, 2013, 44(17): 2364-2371.
- [21] 张超文, 谢梦洲, 王亚敏, 等. 药食同源莲子的应用研究进展[J]. 农产品加工, 2019(3): 80-82, 86.
- ZHANG C W, XIE M Z, WANG Y M, et al. Research progress on the application of medicinal and edible lotus seeds[J]. Agricultural Product Processing, 2019(3): 80-82, 86.
- [22] 罗春花, 莫斯锐, 黄杰连, 等. 陈皮的药理作用及产品开发生研究进展[J]. 亚太传统医药, 2023, 19(9): 229-234.
- LUO C H, MO S R, HUANG J L, et al. Research progress on pharmacological effects and product development of citri reticulatae pericarpium[J]. Asia-Pacific Traditional Medicine, 2023, 19(9): 229-234.
- [23] 杨成聪, 蔡宏宇, 王玉荣, 等. 基于电子舌技术的市售苏打水滋味品质评价[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(10): 134-137.
- YANG C C, CAI H Y, WANG Y R, et al. Taste quality evaluation of commercial soda water based on electronic tongue technology[J]. Food Research and Development, 2016, 37(10): 134-137.
- [24] 蒋鹏飞, 王赵改, 史冠莹, 等. 功能性复合多糖饮料的研制及其抗氧化和降糖活性研究[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(1): 197-203.
- JIANG P F, WANG Z G, SHI G Y, et al. Preparation of functional compound polysaccharide beverage and its antioxidant and hypoglycemic activities[J]. Food and Fermentation Industry, 2020, 46(1): 197-203.
- [25] 金永学, 文爱华, 范郁冰, 等. 蒸汽烫漂结合真空微波干燥工艺对龙牙百合粉品质的影响[J]. 食品工业科技, 2021, 42(6): 144-150.
- JIN Y X, WEN A H, FAN Y B, et al. Effect of steam blanching combined with vacuum microwave drying process on the quality of Longya lily powder[J]. Food Industry Science and Technology, 2021, 42(6): 144-150.
- [26] 涂园园, 朱曼辉. IL-6在眼部炎症性疾病中的作用[J]. 国际眼科杂志, 2023, 23(5): 774-777.
- TU Y Y, ZHU M H. The role of IL-6 in ocular inflammatory diseases[J]. International Journal of Ophthalmology, 2023, 23(5): 774-777.
- [27] 郭玉星, 朱珊莹, 康佩芝, 等. 痛风清热方对急性痛风性关节炎大鼠滑膜组织中TNF- α 、IL-1 β 、IL-18的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2021, 41(5): 673-677.
- GUO Y X, ZHU S Y, KANG P Z, et al. Effect of Tongfeng Qingre decoction on TNF- α , IL-1 β and IL-18 in synovial tissue of rats with acute gouty arthritis[J]. Journal of Hunan University of Traditional Chinese Medicine, 2021, 41(5): 673-677.
- [28] 包维莺, 施晴, 霍雨佳, 等. IL-2R、IL-6、IL-8、TNF- α 在弥漫性大B细胞淋巴瘤中的变化及其意义[J]. 临床血液学杂志, 2023, 36(1): 33-38.
- BAO W Y, SHI Q, HUO Y J, et al. The changes and significance of IL-2R, IL-6, IL-8 and TNF- α in diffuse large B-cell lymphoma[J]. Journal of Clinical Hematology, 2023, 36(1): 33-38.
- [29] 李慧, 王丙力, 毛一卿, 等. 匹多莫德对免疫功能缺陷小鼠脾组织TNF- α 和IL-6表达及相关免疫药理作用的研究[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2005(8): 857-862.
- LI H, WANG B L, MAO Y Q, et al. The effect of pidotimod on the expression of TNF- α and IL-6 in spleen tissue of immunodeficient mice and its related immunopharmacological effects[J]. Chinese Clinical Pharmacology and Therapeutics, 2005(8): 857-862.
- [30] 楚继敏, 孙素姣. 野菊花活性成分的抗炎机制研究进展[J]. 中医药临床杂志, 2021, 33(10): 2023-2026.
- CHU J M, SUN S J. Research progress on anti-inflammatory mechanism of active components of wild chrysanthemum[J]. Clinical Journal of Traditional Chinese Medicine, 2021, 33(10): 2023-2026.