

枳椇乳酸菌发酵饮料对小鼠酒精肝损伤的保护作用

王楠, 杜双奎, 冯宪超, 杨智, 薛凯利, 李志西

(西北农林科技大学食品科学与工程学院, 陕西杨凌 712100)

摘要: 本研究以 52°白酒灌胃小鼠, 建立酒精肝损伤模型, 以枳椇果梗为原料, 经乳酸菌发酵制成枳椇乳酸菌发酵饮料后灌胃小鼠, 然后通过测定小鼠血清和肝脏中特定酶的活性以及肝组织病理学显微切片评价枳椇乳酸菌发酵饮料对酒精肝损伤小鼠肝脏的保护作用。结果表明, 灌酒引起小鼠血清谷丙转氨酶 (ALT) 和谷草转氨酶 (AST) 活性升高, 灌胃枳椇饮料后小鼠血清 ALT 和 AST 活性显著降低。与模型组相比, 枳椇乳酸菌发酵饮料试验组的小鼠肝组织超氧化物歧化酶 (SOD)、乙醇脱氢酶 (ADH) 活性以及还原型谷胱甘肽 (GSH) 含量显著升高, 氧化产物丙二醛 (MDA) 含量显著降低。肝组织病理检查结果显示, 枳椇乳酸菌发酵饮料可明显抑制酒精肝损伤小鼠的肝肿大、脂肪变性。枳椇乳酸菌发酵饮料对酒精肝损伤小鼠肝脏有明显的保护作用, 其功效与阳性对照药物联苯双酯相当, 可作为一种解酒护肝健康饮品。

关键词: 枳椇; 乳酸菌发酵饮料; 酒精; 肝损伤

文章编号: 1673-9078(2016)8-28-33

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.8.005

Protective Effect of Lactic Acid-Fermented Beverage Prepared from the Peduncles of *Hovenia dulcis* on Alcohol-Induced Liver Damage in Mice

WANG Nan, DU Shuang-kui, FENG Xian-chao, YANG Zhi, XUE Kai-li, LI Zhi-xi

(College of Food Science and Engineering, Northwest A & F University, Yangling 712100, China)

Abstract: A model of alcohol-induced liver damage was established in this study by administering 52° liquor to mice orally. A lactic acid-fermented beverage was prepared with the peduncles of *Hovenia dulcis* as the raw material, and was also administered to mice by gavage. The hepatoprotective effect of this lactic acid fermented beverage from the peduncles of *Hovenia dulcis* (LBPHD) was evaluated by measuring the specific enzyme activities in the serum and liver of the mice and liver histopathological analysis with microscopic sections. The results showed that the serum alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) levels were substantially elevated by the administration of alcohol, and were significantly decreased by the gavage administration of LBPHD. Compared with the model group, LBPHD could also increase the levels of superoxide dismutase (SOD), alcohol dehydrogenase (ADH), and glutathione (GSH), and decrease the level of malondialdehyde (MDA)-the oxidation product-in the liver tissues of mice. Liver histopathology results indicated that LBPHD could effectively alleviate hepatomegaly and steatosis in mice with alcohol-induced liver damage. These results demonstrate that LBPHD exhibits a significant hepatoprotective effect, which is comparable to that of biphenyl dicarboxylate (the positive control). Therefore, LBPHD can be a healthy drink to counter the effect of alcohol and to protect liver tissue.

Key words: *Hovenia dulcis*; lactic acid fermented beverage; alcohol; liver injury

酒精在人体内的代谢主要依赖于肝脏, 过度饮酒易导致肝损伤。酒精性肝病(alcoholic liver disease, ALD)是临床中比较常见的现象。目前认为, 酒精性肝病是酗酒人群死亡的主要原因。根据病变的严重程度及形成过程, 可分为: 酒精性肝炎、酒精性脂肪肝、

收稿日期: 2015-09-25

基金项目: 陕西省农业科技创新项目 (2012NK02-02); 杨凌国家级农业高新技术试验示范区科技专项 (K33602140)

作者简介: 王楠 (1990-), 女, 硕士研究生, 主要从事乳酸菌发酵饮料及其功能性的研究

通讯作者: 李志西 (1958-), 男, 博士, 教授, 主要从事发酵技术创新研究

酒精性肝纤维化、酒精性肝硬化、肝癌^[1]。其主要形成原因有: 脂肪变性、氧化应激、炎症因子增加及线粒体功能障碍等。研究表明氧化应激在诱发酒精性肝病形成中起着重要作用^[2]。氧化应激的主要表现是机体内过氧化物与抗氧化物之间平衡关系的严重失调。酒精的摄入, 尤其是急性摄入, 使得保护肝脏免受活性氧自由基损伤的酶及非酶抗氧化系统不同程度破坏。提高抗氧化酶 (如超氧化物歧化酶) 的活性或增加机体抗氧化物质 (如还原性谷胱甘肽) 的含量都能对酒精引起的肝损伤起到一定的保护作用。

枳椇 (*Hovenia acerba*) 为鼠李科枳椇属植物, 是

一种珍贵的野生或半野生树种。枳椇可供食用的是肉质肥厚、外形扭曲、形似鸡爪的肉质果柄，故又俗称拐枣、鸡爪梨等。枳椇果梗含糖量极高，并富含多种营养成分，是良好的发酵原料^[3]。枳椇乳酸菌发酵饮料是以枳椇果梗为原料，通过微生态乳酸发酵制得的天然饮品。目前，关于枳椇天然提取物的保肝及抗氧化功能的研究已有报道^[4-7]，但对枳椇乳酸菌发酵饮料解酒保肝作用的研究尚未见报道。本研究利用高度白酒（52°红星二锅头）诱导小鼠肝损伤，建立酒精肝损伤模型，并对肝损伤小鼠血液AST、ALT和肝脏SOD、GSH、MDA、ADH进行分析，结合肝脏病理学显微观察，研究枳椇乳酸菌发酵饮料对肝损伤的保护功效，并对其可能的保肝作用机理做了初步分析。

1 材料与方法

1.1 实验样品

枳椇果梗：采自陕西临潼龙河西岸畔；52°北京红星二锅头白酒：北京红星股份有限公司生产。

1.2 乳酸菌发酵剂

乳酸菌发酵剂：主要由植物乳杆菌、干酪乳杆菌、米酒乳杆菌、发酵乳杆菌、短乳杆菌、德氏乳杆菌构成的复合乳酸菌菌液^[8]，也称其为微生态乳酸菌制剂，由西北农林科技大学发酵技术创新实验室培育和保藏。

1.3 实验动物

清洁级雄性昆明小鼠50只，体重18~20g，购自第四军医大学实验动物中心（动物生产许可证号：SCXK（军）2007-007）。

1.4 试剂

联苯双酯滴丸（保肝药）（万邦德制药集团股份有限公司）；天门冬氨酸氨基转移酶（AST）（测试盒、丙氨酸氨基转移酶（ALT）测试盒、乙醇脱氢酶（ADH）试剂盒、微量还原型谷胱甘肽（GSH）测试盒、丙二醛（MDA）测试盒（南京建成生物工程研究所）；BCA工作液（碧云天生物技术研究所）；DPPH（梯希爱化成工业发展有限公司）；ABTS（上海源叶生物有限公司）。

1.5 仪器与设备

150A型恒温培养箱，江苏常州；UV-1700型紫外分光光度计，日本岛津公司；M200 pro型酶标仪，奥

地利；800型台式离心机，上海手术仪器厂；Motic-BA300数码显微镜，麦克迪奥实业集团有限公司；德国IKA T18型匀浆机，上海书培实验设备有限公司；H2050R高速冷冻离心机，湘仪离心仪器有限公司。

1.6 实验方法

1.6.1 枳椇乳酸菌发酵饮料的制备

新鲜枳椇果梗洗净、破碎，按料液比1:4加水（*m/m*），接种4%微生态乳酸菌发酵制剂，37℃恒温发酵24h，分离渣液，调整发酵液糖酸比至酸甜适口，1%壳聚糖对其澄清，灭菌、灌装制成枳椇乳酸菌发酵饮料。

1.6.2 枳椇乳酸菌发酵饮料总酸度、总酚和自由基清除能力测定

枳椇乳酸菌发酵饮料总酸度测定采用NaOH滴定法。总酚含量采用福林酚比色法测定。取1ml枳椇饮料，加1.25mL福林酚试剂，充分摇匀。1min后，加入3.75mL 20%（*m/v*）Na₂CO₃溶液，混匀，在75℃下反应10min，冷却，于765nm处测定吸光值。枳椇饮料总酚含量以标准品没食子酸当量（mg/ml）表示。

枳椇乳酸菌发酵饮料DPPH自由基清除能力（Vc当量浓度表示法），参考吴琼英等^[9]的方法。ABTS自由基清除能力（Vc当量浓度表示法），参考Re等^[10]的方法。

1.6.3 酒精诱导肝损伤

50只健康昆明小鼠在23±2℃环境中饲养，每日12h循环光照，自由饮食。适应性喂养7d后随机分为空白对照组、酒精肝损伤模型组、枳椇乳酸菌发酵饮料低、高剂量组、联苯双酯（阳性对照）组，每组10只。枳椇乳酸菌发酵饮料低、高剂量组分别灌喂10mL/kg BW、20mL/kg BW枳椇饮料，联苯双酯组灌胃15mL/kg BW联苯双酯滴丸溶液（100mg联苯双酯滴丸溶于10ml纯净水中）。酒精肝损伤模型组和空白对照组小鼠以10mL/kg BW纯净水代替，4h后除空白对照组灌胃10mL/kg BW纯净水外其它各组均灌胃10mL/kg BW 52°红星二锅头白酒，每日一次持续4周。实验最后一天各组小鼠禁食12h，称重，摘眼球取血，离心（3500r/min，10min）分离制备血清，小鼠脱臼处死，取肝脏，称重，-80℃超低温冰箱保存，备用。

1.6.4 肝脏系数的测定

将摘取的新鲜肝脏用生理盐水漂洗，并用滤纸吸干水分后称重，肝脏系数按下式计算：肝脏系数=肝脏质量(mg)/体重(g)

1.6.5 血清指标测定

各组小鼠血清中 AST 和 ALT 活力按试剂盒操作说明书操作测定。

1.6.6 组织指标测定

将各组小鼠肝脏用生理盐水洗净,再加一定量生理盐水用高速匀浆机制成 10% 肝脏组织匀浆,组织中的 SOD、MDA、GSH、ADH 按试剂盒操作说明书操作测定。

1.6.7 肝组织病理学观察

将小鼠的肝组织在 10% 的福尔马林溶液中固定 24 h,然后用乙醇脱水后将肝组织包埋在石蜡中。将石蜡组织切为 4 μm 厚度,用苏木精和伊红 (H & E) 染色后在显微镜下进行组织病理观察。

表 1 枳椇乳酸菌发酵饮料总酸度、总酚含量、DPPH 自由基与 ABTS 自由基清除能力

Table 1 Total acidity, total phenols, and free radical scavenging capacities of LBPHD

总酸度 (g/100 mL)	总酚[没食子酸当 (mg/100 mL)]	DPPH 自由基清除能力 [VCEAC/(mg/100 mL)]	ABTS 自由基清除能力 [VCEAC/(mg/100mL)]
0.52	65.86	24.87	68.09

由表 1 可知:灌胃用枳椇乳酸菌饮料酸度为 0.52 g/100 mL(以乳酸计)。福林酚法测定没食子酸的标准曲线为: $y=0.079x+0.0142$ ($R^2=0.9924$),枳椇乳酸菌饮料总酚含量为 65.86 mg/100 mL。枳椇乳酸菌饮料的 DPPH 及 ABTS 自由基清除能力分别达到 24.87 mg/100 mL 和 68.09 mg/100 mL。枳椇乳酸菌饮料的总酚含量、DPPH 和 ABTS 自由基清除能力均比凌圣宝等^[11]研究的枳椇醋饮高。

2.2 枳椇乳酸菌发酵饮料对酒精肝损伤小鼠体重及肝脏系数的影响

枳椇乳酸菌发酵饮料对酒精肝损伤小鼠体重及肝脏系数的影响结果见表 2。由表 2 可知:酒精肝损伤模型组小鼠体重增加显著低于空白对照组 ($p<0.05$),这一结果与 WON-SEOK^[12]报道的结果一致,说明摄入过量酒精抑制了小鼠体重增加。与酒精肝损伤模型组比,枳椇饮料低、高剂量组和联苯双酯组小鼠体重分别增加了 31.86%、31.79% 和 30.62%,说明枳椇饮料和联苯双酯可缓解酒精所致的小鼠体重增长缓慢 ($p<0.05$)。与正常对照组小鼠比较,酒精肝损伤小鼠的肝脏系数增加了 17.5%,达到 49.67 ± 2.21 ,具有统计学意义 ($p<0.05$),表明过量饮酒可导致小鼠肝脏肿大^[13]。而枳椇饮料组小鼠肝脏系数显著低于酒精肝损伤模型组 ($p<0.05$),表明枳椇乳酸菌发酵饮料有保护肝脏而降低小鼠肝脏系数的作用,以上结果说明枳椇乳酸发酵饮料在缓解酒精所致的体重增加缓慢和肝肿

1.6.8 数据分析

实验数据结果以平均值 \pm 标准差表示,用 DPS7.0 统计软件进行数据处理及分析,以 $p<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 枳椇乳酸菌发酵饮料总酸度、总酚及自由基清除能力

枳椇乳酸菌发酵饮料总酸度、总酚含量及自由基清除能力测定结果见表 1。

大中发挥积极作用。

表 2 枳椇乳酸菌发酵饮料对酒精肝损伤小鼠体重及肝脏系数的影响 (n=10)

Table 2 Effects of LBPHD on body weight and liver index in mice with alcohol-induced liver injury (n = 10)

组别	体重增加百分数/%	肝脏系数/(g/kg)
正常对照组	35.57 ± 8.24^a	42.29 ± 3.55^b
酒精肝损伤模型组	9.77 ± 3.30^b	49.67 ± 2.21^a
枳椇饮料低剂量组	31.86 ± 6.86^a	43.75 ± 5.46^b
枳椇饮料高剂量组	31.79 ± 5.26^a	41.37 ± 3.53^b
联苯双酯组	30.62 ± 5.91^a	45.93 ± 2.38^{ab}

注:同字母表示两组间无显著差异,异字母表示两组间有显著差异, $p<0.05$ 。

2.3 枳椇乳酸菌发酵饮料对酒精肝损伤小鼠血清 ALT 和 AST 的影响

ALT 和 AST 作为肝细胞内两种重要的酶,是诊断肝细胞受损程度最敏感的指标。正常情况下,血清中这两种酶的活性很低。当肝细胞受损时,膜通透性增加,这两种酶大量渗入血液,使血清中的酶活性显著增加,从而反映出肝细胞损伤程度^[14]。枳椇乳酸菌发酵饮料对酒精肝损伤小鼠血清 ALT 和 AST 活性的影响结果见表 3。

由表 3 可知,与正常对照组比较,酒精肝损伤模型组小鼠血清 ALT、AST 活性分别从 20.43 ± 2.56 U/L 和 18.16 ± 4.85 U/L 上升至 27.09 ± 5.06 U/L 和

46.37±8.25 U/L, 具有统计学意义 ($p<0.05$), 说明酒精肝损伤模型建模成功。与酒精肝损伤模型组比较, 枳椇饮料组及联苯双酯组小鼠血清 ALT 活性有一定程度的降低, 无显著性差异 ($p>0.05$)。但灌胃低、高剂量的枳椇饮料及联苯双酯均可显著降低小鼠血清 AST 活性 ($p<0.05$), 降低程度分别达到 37.11%、40.13% 和 34.91%。综上表明枳椇乳酸菌发酵饮料能改善过量酒精摄入所致的小鼠肝损伤。

表 3 枳椇乳酸菌发酵饮料对酒精肝损伤小鼠血清 ALT 和 AST 的影响 (n=10)

Table 3 Effects of LBPHD on serum AST and ALT in mice with alcohol-induced liver injury (n = 10)

组别	ALT/(U/L)	AST/(U/L)
正常对照组	20.43±2.56 ^b	18.16±4.85 ^c
酒精肝损伤模型组	27.09±5.06 ^a	46.37±8.25 ^a
枳椇饮料低剂量组	26.08±5.42 ^a	29.16±3.16 ^{bc}
枳椇饮料高剂量组	23.28±1.76 ^{ab}	27.76±4.06 ^{bc}
联苯双酯组	24.75±4.60 ^{ab}	30.18±5.53 ^b

注: 同字母表示两组间无显著差异, 异字母表示两组间有

表 4 枳椇乳酸菌发酵饮料对酒精肝损伤小鼠肝脏 SOD、MDA、GSH 的影响 (n=10)

Table 4 Effects of LBPHD on liver SOD, MDA, and GSH in mice with alcohol-induced liver injury (n = 10)

组别	SOD/(U/mg prot)	GSH/(μ mol/g prot)	MDA/(nmol/mg prot)
正常对照组	189.87±6.30 ^b	4.10±1.53 ^a	0.72±0.19 ^b
酒精肝损伤模型组	164.96±4.17 ^b	2.17±0.52 ^b	1.15±0.20 ^a
枳椇饮料低剂量组	180.83±1.30 ^{ab}	4.33±1.30 ^a	0.75±0.27 ^b
枳椇饮料高剂量组	188.63±15.93 ^a	4.47±0.59 ^a	0.68±0.33 ^b
联苯双酯组	185.11±10.78 ^a	2.99±0.79 ^{ab}	0.74±0.34 ^b

注: 同字母表示两组间无显著差异, 异字母表示两组间有显著差异, $p<0.05$ 。

由表 4 可知: 与正常对照组相比, 酒精肝损伤模型组小鼠肝脏 SOD 活力降低了 13.1%, 在 $p<0.05$ 水平上具有统计学意义, 说明摄入过量酒精使小鼠肝脏处于氧化应激状态。枳椇饮料组小鼠肝脏 SOD 活力高于酒精肝损伤模型组, 特别是高剂量组小鼠肝脏 SOD 活力是模型组的 1.14 倍 ($p<0.05$), 接近正常对照组。就 GSH 含量而言, 酒精肝损伤模型组小鼠肝脏 GSH 含量显著降低 ($p<0.05$), 仅为正常对照组的 53%。姚平等^[17]研究发现, 肝组织中 GSH 含量降低 20% 就会破坏细胞防御体系导致肝损伤。而枳椇饮料组小鼠肝脏 GSH 含量显著高于模型组 ($p<0.05$), 略高于联苯双酯组, 说明枳椇饮料对抑制酒精引起的小鼠肝脏 GSH 含量下降具有良好的效果, 甚至优于保肝药物联苯双酯。由 MDA 测定结果可知, 酒精肝损伤模型组小鼠肝脏 MDA 含量显著高于正常对照组 ($p<0.05$), 与正常组比较增加了 59.7%, 说明过量酒精摄入导致小鼠肝脏内发生了脂质过氧化反应。枳椇

显著差异, $p<0.05$ 。

2.4 枳椇乳酸菌发酵饮料对酒精肝损伤小鼠肝脏 SOD、MDA、GSH 的影响

人体摄入的酒精 90% 在肝脏内分解代谢, 这一过程会产生大量的 NADH, 增加了呼吸链中的电子流, 导致 ROS 的大量产生。SOD 是体内清除 O_2^- 自由基的唯一酶, 能够催化 O_2^- 自由基歧化反应生成氧气和活性较弱的 H_2O_2 ^[15], 从而保护过氧化应激产生的超氧阴离子对肝组织的损伤。SOD 活力的高低间接反映了机体清除氧自由基的能力。GSH 是细胞膜内最丰富的含巯基的微量抗氧化物质, 在保持细胞完整性方面起着重要作用, 是抵御机体氧化应激的一道重要防线。MDA 作为脂质过氧化的终产物, 其含量可反映机体内脂质过氧化的程度并间接反映机体细胞受自由基攻击的严重程度^[16]。枳椇乳酸菌发酵饮料对酒精所致肝损伤小鼠肝脏 SOD 活力, MDA、GSH 含量的影响结果见表 4。

饮料低、高剂量组均能显著降低小鼠肝脏 MDA 含量, 且与正常组和联苯双酯组比较无显著性差异 ($p>0.05$)。上述结果表明, 枳椇乳酸菌发酵饮料对小鼠酒精肝损伤具有一定的抗氧化保护作用。

2.5 枳椇乳酸菌发酵饮料对酒精肝损伤小鼠肝脏 ADH 的影响

肝脏中的 ADH 是机体分解代谢酒精的重要酶之一, 提高它的活性可以减轻酒精对肝组织的损伤作用^[18]。枳椇乳酸菌发酵饮料对酒精肝损伤小鼠肝脏 ADH 活力的影响结果如表 5 所示。

由表 5 可知, 摄入酒精刺激了小鼠肝脏中 ADH 活性, 使其升高。而枳椇饮料和联苯双酯可进一步提高小鼠肝脏 ADH 的活性 ($p<0.05$), 特别是低剂量组和联苯双酯组较模型组小鼠肝脏 ADH 活性分别提高了 33% 和 34%, 使小鼠肝脏分解代谢酒精的速度更快。

上述结果表明,枳椇乳酸菌发酵饮料能通过提高 ADH 活性使肝脏代谢酒精的速度加快,进而减轻酒精对机体的损伤。

表 5 枳椇乳酸菌发酵饮料对酒精肝损伤小鼠肝脏 ADH 的影响
(n=10)

Table 5 Effects of LBPHD on liver ADH in mice with alcohol-induced liver injury (n = 10)

组别	ADH/(U/mg prot)
正常对照组	3.67±0.57 ^b
酒精肝损伤模型组	3.95±0.66 ^b
枳椇饮料低剂量组	5.25±0.52 ^a
枳椇饮料高剂量组	4.05±0.47 ^b
联苯双酯组	5.29±0.29 ^a

注:同字母表示两组间无显著差异,异字母表示两组间有显著差异, $p < 0.05$ 。

2.6 枳椇乳酸菌发酵饮料对酒精肝损伤小鼠

肝脏组织形态学的影响

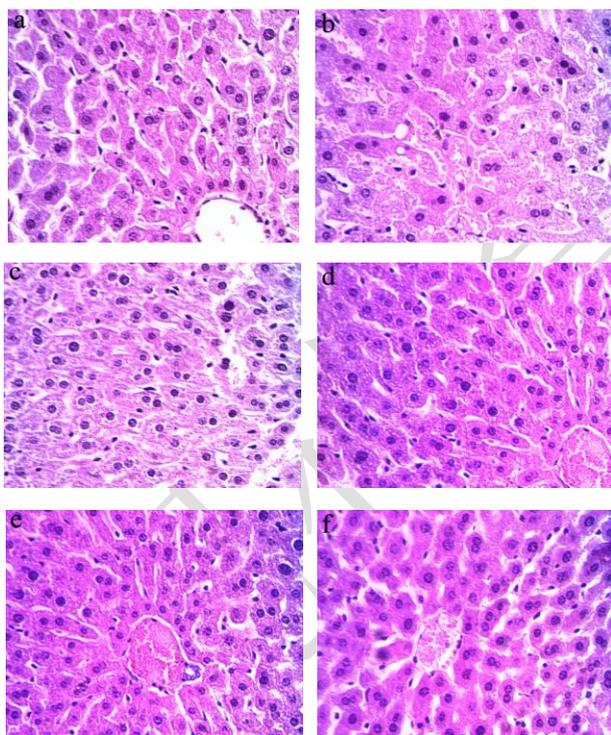


图 1 小鼠肝脏病理组织学观察

Fig.1 Histopathological observations of mouse liver tissue

注: a、b、c、d、e、f 分别为正常对照组、酒精肝损伤模型组、酒精肝损伤模型组、枳椇饮料低剂量组、枳椇饮料高剂量组和联苯双酯组 400 倍的小鼠肝细胞。

肝组织 H&E 染色后在 400 倍显微镜下观察其损伤程度,进一步研究枳椇乳酸菌发酵饮料对酒精肝损伤小鼠肝脏组织的保护作用,结果如图 1 所示。正常

组小鼠肝小叶结构清晰,肝细胞索排列整齐且以中央静脉放射排列,细胞核位于细胞中央,大而圆,细胞质丰富、均匀,无水肿和脂肪变性(图 1-a)。酒精损伤模型组小鼠肝细胞索排列紊乱,间距变大、肿胀,部分肝细胞核溶解、固缩,颜色变深。肝细胞界限不清,部分肝细胞呈水样、气球样变性(图 1-b、图 1-c)。与酒精损伤模型组相比,枳椇饮料低、高剂量组小鼠肝细胞排列较整齐,仅有轻度的脂肪变性,肝小叶周围几乎无坏死区域(图 1-d 和 1-e)。联苯双酯组小鼠由于联苯双酯滴丸的作用,肝组织结构较为完整(图 1-f)。肝脏组织切片结果表明枳椇乳酸菌发酵饮料对酒精肝损伤小鼠有明显的保护作用。

3 结论

3.1 枳椇属植物干燥成熟的肉质果梗和种子在中国作为解酒防醉的中药使用已有上千年的历史。近年来,枳椇果梗活性成分的解酒护肝功能已成为研究热点。王明春等^[4]研究发现枳椇多糖可降低 AST、ALT 活性,提高 SOD、GSH-Px 活性以及降低 MDA 含量而实现对酒精肝损伤小鼠肝脏的保护。向进乐等^[6]报道枳椇果梗多酚具有体外抗氧化活性。Du 等^[9]通过测定肝脏和血清中 AST、ALT、MDA、GSH 等指标证实枳椇提取物能缓解小鼠急性酒精肝损伤。邹礼根等^[7]也发现枳椇水提液对酒精肝损伤小鼠肝脏具有一定的预防作用。目前,关于枳椇果梗果醋饮品功能性已有研究^[20],但枳椇乳酸菌发酵饮料对酒精肝损伤小鼠的保护功能尚未见报道。

3.2 本研究以枳椇乳酸菌发酵饮料为对象,探讨了其对小鼠酒精肝损伤的保护作用。结果表明:枳椇乳酸菌发酵饮料能够缓解小鼠体重减轻和肝脏肿大;低剂量组和高剂量组以及联苯双酯组小鼠血清 ALT、AST 活性均有所降低;枳椇乳酸菌发酵饮料对 AST 活性的作用较对 ALT 更明显;枳椇乳酸菌发酵饮料能显著提高小鼠肝脏 SOD、ADH 活性和 GSH 水平,并显著降低小鼠肝脏 MDA 含量;小鼠肝组织 H&E 染色显微观察结果显示,枳椇乳酸菌饮料的摄入在一定程度上抑制了小鼠肝脏脂肪变性,保护了小鼠肝细胞的完整性。综上所述,枳椇乳酸菌饮料可以抑制长期摄入酒精引起的肝细胞肿胀、脂肪变性,对酒精肝损伤具有显著的预防功效。枳椇乳酸菌发酵饮料对小鼠肝损伤的保护作用,可能与枳椇饮料具有一定的抗氧化潜力有关,但其抑制酒精肝损伤的具体物质及作用机制尚不明确,有待进一步研究。

参考文献

- [1] Altamirano J, Bataller R. Alcoholic liver disease: pathogenesis and new targets for therapy [J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2011, 8: 491-501
- [2] Leung T M, Nieto N. CYP2E1 and oxidant stress in alcoholic and nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Journal of Hepatology*, 2013, 58: 395-398
- [3] Hyun T, Eom S, Yu C, et al. *Hovenia dulcis*-an Asian traditional herb [J]. *Planta Medica*, 2010, 76: 943-949
- [4] Ming-chun Wang, Pei-lei Zhu, Chang-xing Jiang, et al. Preliminary characterization, antioxidant activity in vitro and hepatoprotective effect on acute alcohol-induced liver injury in mice of polysaccharides from the peduncles of *Hovenia dulcis* [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2012, 50: 2964-2970
- [5] Ming-chun Wang, Chang-xing Jiang, Li-ping Ma, et al. Preparation, preliminary characterization and immunostimulatory activity of polysaccharide fractions from the peduncles of *Hovenia dulcis* [J]. *Food Chemistry*, 2013, 138: 41-47
- [6] 向进乐,李志西,李欢,等.枳椇果梗不同极性多酚及抗氧化活性研究[J].*食品科学*,2011,32(15):25-29
XIANG Jin-le, LI Zhi-xi, LI Huan, et al. Separation and antioxidant activity of polyphenols with different polarities from *Hovenia acerba* fruit [J]. *Food Science*, 2011, 32(15): 25-29
- [7] 邹礼根,李峰,赵芸,等.拐枣水提液对嗜酒大白鼠体重增加和血液中乙醇、丙二醛含量及乙醇脱氢酶活性的影响[J].*食品研究与开发*,2010,31(9):181-184
ZOU Li-gen, LI Feng, ZHAO Yun, et al. Effect of the water extract from *Hovenia dulcis* thunb on the weight gain, content of alcohol and MDA activity of ADH in blood of alcohol preferring rats [J]. *Food Research and Development*, 2010, 31(9): 181-184
- [8] 杨智.天然乳酸菌液微生物多样性分析及应用研究[D].陕西:西北农林科技大学,2015
YANG Zhi. Study on microblal analysis and application in natural lactic acid bacteria liquid [D]. Shanxi: Northwest A & F University, 2015
- [9] 吴琼英,贾俊强.柚皮黄酮的超声辅助提取及其抗氧化性研究[J].*食品科学*,2009,30(2):29-30
WU Qiong-ying, JIA Jun-qiang. Study on ultrasonic-assisted extraction and antioxidation of pomelo peel flavonoids [J]. *Food Science*, 2009, 30(2): 29-30
- [10] Re R, Pellegrini N, Proteggente A, et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay [J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 1999, 26: 1231-1237
- [11] 凌圣宝,向进乐,李志西,等.拐枣醋饮加工工艺及其抗氧化活性分析[J].*食品工业科技*,2012,15(33):254-262
LING Sheng-bao, XANG Jin-le, LI Zhi-xi, et al. Antioxidant activity and processing technology of vinegar drink from *Hovenia dulcis* [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2012, 15(33): 254-262
- [12] Won-Seok Chung, Jing-hua Wang, Shambhunath Bose, et al. Hepatoprotective effect of lentinus edodes mycelia fermented formulation against alcoholic liver injury in rats [J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2014, 39: 251-262
- [13] 向进乐,李晨露,郭帅,等.红枣醋对慢性酒精肝损伤的保护作用[J].*现代食品科技*,2015,31(10):40-44
XIANG Jin-le, LI Chen-lu, GUO Shuai, et al. Effect of fermented vinegar from Chinese jujube on chronically alcohol-induced liver damage in mice [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2015, 31(10):40-44
- [14] 全美平,马婷婷,康丽娜,等.茜草精油的保肝作用[J].*现代食品科技*,2015,31(5):12-17
QUAN Mei-ping, MA Ting-ting, KANG Li-na, et al. Hepatoprotective effect of essential oil from *rubia cordifolia* [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2015, 31(5): 12-17
- [15] McCord J M, Fridovic I. Superoxide dismutase, An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein) [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1969, 244: 6049-6055
- [16] Chun-yan Gao, Cheng-rui Tian, Rui Zhou, et al. Phenolic composition, DNA damage protective activity and hepatoprotective effect of free phenolic extract from *Sphallerocarpus gracilis* seeds [J]. *International Immunopharmacology*, 2014, 20: 238-247
- [17] Yao P, Nussler A, Liu L, et al. Quercetin protects human hepatocytes from ethanol-derived oxidative stress by inducing heme oxygenase-1 via the MAPK/Nrf2 pathways [J]. *Journal of Hepatology*, 2007, 47(2): 253-261
- [18] 宋宇.生物体内乙醇脱氢酶(ADH)的活力测定、分布及其与乙醇代谢动力学关系[D].成都:四川大学,2007
SONG Yu. An assay and distribution for alcohol dehydrogenase (ADH) activity in creature and relationship with pharmacokinetics of alcohol [D]. Chengdu: Sichuan University, 2007
- [19] Du J, He D, Sun L N, et al. Semen *hoveniae* extract protects against acute alcohol-induced liver injury in mice [J]. *Pharm. Biol.*, 2010, 48: 953-958

[20] 杜双奎,赵晓野,李志西.枳椇醋解酒护肝、减肥降脂作用研究[J].食品科学,2012,33(1):235-328

DU Shuang-kui, ZHAO Xiao-ye, LI Zhi-xi. Hepatoprotective, weight-reducing and hypolipidemic effects of hovenia thunb,

fruit vinegar [J]. Food Science, 2012, 33(1): 235-32

现代食品科技