

益生菌发酵番茄汁对酒精中毒小鼠的解酒护肝作用

韩紫薇¹, 赵斗¹, 马自强², 仇燕^{1*}

(1. 河北科技大学食品与生物学院, 河北石家庄 050018)

(2. 新疆冠农股份有限公司技术中心, 新疆库尔勒 841000)

摘要: 研究益生菌发酵番茄汁 (Probiotic Fermented Tomato Juice, PFTJ) 的解酒护肝作用并揭示其作用机制。利用小鼠急性酒精中毒模型分析了不同剂量 PFTJ 对小鼠醒酒时间和乙醇脱氢酶 (Alcohol Dehydrogenase, ADH) 的影响, 利用慢性酒精中毒模型检测了其小鼠血清中肝功能指标、脂质代谢指标和肝组织中抗氧化指标的影响, 并进行了组织病理学分析。结果表明, PFTJ 能够有效缩短急性酒精中毒小鼠醒酒时间, 提高 ADH 活性; 与模型组相比, 高剂量组 (15 mL/kg) 小鼠谷草转氨酶 (Aspartate Transaminase, AST)、谷丙转氨酶 (Alanine Aminotransferase, ALT) 活性分别降低了 24.87% 和 26.65% ($P < 0.05$), 总胆固醇 (Triglyceride, TG)、甘油三酯 (Total Cholesterol, TC) 则分别降低至 0.58 mmol/L 和 1.21 mmol/L, 肝组织中过氧化氢酶 (Catalase, CAT)、超氧化物歧化酶 (Superoxide Dismutase, SOD) 活性分别提高了 17.05% 和 22.91% ($P < 0.05$), 丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 含量降低了 34.69% ($P < 0.05$)。灌胃 15 mL/kg PFTJ 能够显著抑制酒精损伤小鼠肝细胞肿大和脂肪变性。因此, PFTJ 可提高 ADH 活性增加乙醇代谢速率, 提高抗氧化酶活性清除肝脏自由基, 恢复脂质代谢水平, 有潜力成为一种新的解酒护肝功能性食品。

关键词: 益生菌发酵番茄汁; 解酒; 护肝; 小鼠

文章编号: 1673-9078(2024)07-35-43

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.7.0795

Effects of Probiotic Fermented Tomato Juice on Antialcoholism and Liver Protection in Alcohol-intoxicated Mice

HAN Ziwei¹, ZHAO Dou¹, MA Ziqiang², QIU Yan^{1*}

(1. College of Food Science and Biology, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang 050018, China)

(2. Technology Center of Xinjiang Guannong Co. Ltd., Korla 841000, China)

Abstract: The efficacy and mechanisms of probiotic fermented tomato juice (PFTJ) in mitigating the impact of alcohol, and its ability to protect the liver were examined. The effects of different doses of PFTJ on the time taken by mice to sober up and on the activity of alcohol dehydrogenase (ADH) in mice were analyzed using mouse models of acute alcohol intoxication. In the meantime, models of chronic alcohol intoxication were established to investigate the effects of PFTJ on the liver function indicators and lipid metabolism indicators in serum as well as the antioxidant indicators in liver tissue of mice. In addition, histopathological analysis was conducted. The results showed that PFTJ significantly shortened the time

引文格式:

韩紫薇, 赵斗, 马自强, 等. 益生菌发酵番茄汁对酒精中毒小鼠的解酒护肝作用 [J]. 现代食品科技, 2024, 40(7): 35-43.

HAN Ziwei, ZHAO Dou, MA Ziqiang, et al. Effects of probiotic fermented tomato juice on antialcoholism and liver protection in alcohol-intoxicated mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(7): 35-43.

收稿日期: 2023-07-02

基金项目: 新疆生产建设兵团中央引导地方科技发展资金项目 (2023); 河北省重点研发计划项目 (22322801D)

作者简介: 韩紫薇 (1998-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 功能性食品研究, E-mail: 3074161197@qq.com

通讯作者: 仇燕 (1977-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 天然产物及其生物学活性研究, E-mail: qiuyan2015@126.com

taken by mice to sober up and improved ADH activity in acute alcohol intoxication models. Compared with those of the model group, the activities of aspartate transaminase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) decreased by 24.87% and 26.65%, respectively ($P<0.05$), and the levels of triglyceride (TG) and total cholesterol (TC) reduced to 0.58 mmol/L and 1.21 mmol/L, respectively, in the high-dose group (15 mL/kg). The activities of catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) in liver tissue increased by 17.05% and 22.91%, respectively ($P<0.05$), while the content of malondialdehyde (MDA) declined by 34.69% ($P<0.05$). The administration of 15 mL/kg PFTJ remarkably relieved liver cell swelling and steatosis in the mouse models. In conclusion, PFTJ can increase ADH activity to accelerate ethanol metabolism and enhance activities of antioxidant enzymes to eliminate free radicals in the liver and restore lipid metabolism. Therefore, PFTJ has the potential to become a new functional food for sobering up and liver protection.

Key words: probiotic fermented tomato juice; sobering up; liver protection; mice

酒与人类文化密切相关,但长期过量饮酒会导致大脑,心脏,胃肠道和肝脏等多个器官的200多种疾病的产生。其中肝脏是体内酒精代谢的主要部位,极易受到损害。酒精性肝病初期为酒精性脂肪肝,其特征是肝脂肪变性(Alcohol-associated Liver Diseases, ALD)肝细胞中甘油三酯的积累,进一步可发展为肝炎和/或纤维化,最终导致肝硬化,肝坏死或肝癌^[1]。酒精在体内代谢过程中经乙醇脱氢酶(Alcohol Dehydrogenase, ADH)催化氧化产生乙醛。乙醛可直接作用于DNA导致点突变损伤染色体,另外,还可以与一些蛋白结合形成乙醛加合物而上调CYP2E1表达导致氧化应激,造成细胞内产生过量的活性氧自由基^[2]。绿豆甘草提取物^[3],葛根、枳椇子提取物^[4]和诺丽果发酵果汁^[5]等,均被证实具有提高机体抗氧化能力,减轻酒精导致的肝损伤。因此,天然膳食补充剂可以作为一种有效的抗氧化剂来抵抗饮酒引起的肝脏氧化应激。

番茄营养丰富,风味独特且含有多种生物活性物质,其中番茄红素和多酚等天然活性物质在治疗心血管疾病、抗氧化、降血压、降血糖、提高免疫力等方面具有显著效果^[6]。乳酸菌发酵后的番茄汁能够提高番茄汁的矿质营养元素和B族维生素含量,并且菌体发酵时分泌的一些蛋白酶会分解残余的多肽、蛋白质,形成了相应的游离氨基酸^[7]。利用益生菌发酵番茄汁,其营养成分和功能特性都会得到显著提高,同时改善番茄汁的口感^[8]。高丽芳等^[9]研究发现,番茄红素及姜黄素联用能够提高乙醇灌胃小鼠的红细胞SOD活力、血液GSH-Px活力和GSH含量,能够改善急性乙醇氧化损伤小鼠的氧化损伤。益生菌发酵番茄汁(Probiotic Fermented Tomato Juice, PFTJ)以番茄汁为原料通过植物乳杆

菌和嗜热链球菌发酵而制得,目前有关PFTJ的解酒护肝作用的研究缺乏。本研究系统地探讨了PFTJ的体外抗氧化能力,体内保护实验中利用小鼠急性和慢性酒精中毒肝损伤模型,通过分析PFTJ对小鼠血清和肝组织中ADH、AST、ALT、CAT和SOD活力,MDA、TG和TC含量,并结合肝组织病理学观察结果证实了其解酒护肝作用,这将为PFTJ的商业应用提供理论依据,进一步提高产品附加值。

1 材料与方法

1.1 动物、材料与试剂

实验动物:雄性昆明小鼠,体质量20g左右,购自河北医科大学。生产许可证号:SCXK(京)2019-0008。将小鼠进行1周的适应性培养,所有小鼠在温度25℃,相对湿度为50%~60%中培养,正常昼夜节律,自由饮水进食。动物实验的伦理审查单位为河北科技大学动物实验伦理审查委员会,批号:2023016。

益生菌发酵番茄汁(PFTJ):经生合生物SYNTEK®SH-470(植物乳杆菌和嗜热链球菌)充分发酵后超高温瞬时杀菌。制备工艺如下:

番茄酱→按比例加水稀释、调配→杀菌→冷却→加入发酵剂→发酵→发酵终点判定→后调配(根据需要)→脱气→均质→杀菌→灌装→杀菌→冷却→成品

PFTJ中含有的抗坏血酸(Vitamin C, Vc)质量浓度为53.67 μg/mL,番茄红素质量浓度为44.50 μg/mL,多酚质量浓度为27.71 μg/mL。白酒(52°),四川水井坊股份有限公司。

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH),日本和光纯化工业株式会社;

2,2'-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), ABTS), 南京奥多福尼生物科技有限公司; 水杨酸, 天津市标准科技有限公司。乙醇脱氢酶(ADH)试剂盒、谷丙转氨酶(ALT)试剂盒、谷草转氨酶(AST)试剂盒、总胆固醇(TC)试剂盒、甘油三酯(TG)试剂盒、丙二醛(MDA)试剂盒、过氧化氢酶(CAT)试剂盒、超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒, 南京建成生物科技有限公司。

1.2 主要仪器设备

SpectraMAX i3x 酶标仪, MolecularDevices 美国美谷分子仪器有限公司; E100 显微镜, Nikon 日本尼康仪器有限公司; RE-52 高速冷冻离心机, 赛默飞世尔科技有限公司; RM2255 全自动轮转切片仪, 德国徕卡公司。

1.3 实验方法

1.3.1 PFTJ体外抗氧化能力的测定

将PFTJ分别稀释2、4、6、8、10倍(即PFTJ中Vc的质量浓度为26.84、13.42、8.95、6.71和5.37 $\mu\text{g/mL}$), 以相同质量浓度的Vc作为阳性对照, 参照范莹莹等^[10]、Wang等^[11]、石玉平等^[12]、李启艳等^[13]的方法, 检测PFTJ对于DPPH自由基, ABTS⁺自由基, 羟自由基和超氧阴离子自由基的清除能力, 并计算其半数抑制浓度(EC_{50})。

1.3.2 小鼠急性酒精中毒模型解酒实验检测指标及方法

1.3.2.1 小鼠急性酒精中毒模型的建立与分组

将40只小鼠分为4组, 每组10只。各组小鼠按体质量分别灌胃8、10、12和14 mL/kg的52°白酒, 观察各组小鼠的醉酒状态以及入睡数量, 经实验发现当灌酒量为10 mL/kg时小鼠入睡率最高为80%且致死率最低为0, 因此选择该剂量作为本实验的最佳灌酒剂量。

急性酒精中毒模型建立方法参考文献^[14], 适应性培养后, 40只昆明小鼠随机分为空白对照组、酒精模型组、PFTJ低剂量组和高剂量组, 每组10只。每组小鼠禁食不禁水12 h, 空白对照组灌胃10 mL/kg(按体质量计)生理盐水, 其余3组灌胃10 mL/kg 52°白酒, 30 min后, 空白对照组与酒精模型组灌胃10 mL/kg(按体质量计)的生理盐水, 低剂量组和高剂量组分别灌胃5 mL/kg(按体质量计)和

15 mL/kg(按体质量计)的PFTJ。

1.3.2.2 醒酒时间测定

判断小鼠的醒酒时间以翻正反射的消失为准。翻正反射消失的时间以小鼠的背部向下平放30 s为标准; 若小鼠背部向下能持续保持30 s以上, 则小鼠醉酒(翻正反射消失); 若小鼠背部向下保持时间小于30 s, 则小鼠醒酒(翻正反射恢复)^[15]。

1.3.2.3 小鼠血清中乙醇脱氢酶(ADH)活性的测定

解酒实验处理30 min后于眼眶静脉取血, 收集至EP管中, 4 $^{\circ}\text{C}$, 3 000 r/min离心15 min, 分离后取血清, 置于1.5 mL离心管, 于-20 $^{\circ}\text{C}$ 中保存待测。依据试剂盒说明书方法检测血清中ADH活性。

1.3.3 小鼠慢性酒精中毒模型解酒实验检测指标及方法

1.3.3.1 小鼠慢性酒精中毒模型的建立与分组

将40只小鼠适应性喂养1周, 随机分为4组, 每组10只。分别为: 空白对照组(生理盐水)、酒精模型组、PFTJ低剂量组和高剂量组。空白对照组与酒精模型组每天灌胃10 mL/kg(按体质量计)的生理盐水, PFTJ低剂量组和高剂量组分别灌胃5 mL/kg(按体质量计)、15 mL/kg(按体质量计)的PFTJ, 每次灌胃30 min后, 空白对照组灌胃10 mL/kg(按体质量计)的生理盐水, 其余三组灌胃10 mL/kg 52°白酒, 建立小鼠慢性酒精中毒模型^[16], 连续灌胃6周, 每7 d称取一次体质量, 按体质量变化量调整灌胃量。

1.3.3.2 动物样本的收集与处理

实验第6周末, 最后一次灌胃后禁食不禁水12 h, 小鼠进行称重, 按1.3.2.3方法分离血清备用。取小鼠心脏、肝脏、脾脏、肾脏和肺器官后在预冷的生理盐水中冲洗, 用滤纸擦干进行称重, 计算器官指数(器官质量占体质量的百分比)。取小鼠肝左叶, 取0.5 g的肝组织加入4.5 mL的生理盐水, 冰水浴条件下研磨匀浆, 制成10%(质量体积比)的组织匀浆液, 2 500 r/min下离心10 min, 取上清液待测。取肝右叶放于组织固定液中固定, 用于HE染色。

1.3.3.3 小鼠血清中AST、ALT、TC和TG的测定

肝功能指标AST和ALT活性及脂质代谢指标TC和TG含量按相关试剂盒说明书方法检测。

1.3.3.4 小鼠肝组织中抗氧化相关指标的测定

肝组织中CAT、SOD活性和MDA含量测定按相关试剂盒说明书方法检测。

1.3.3.5 小鼠肝脏组织病理学检测

取肝脏组织将其浸泡在通用型组织固定液中固定,用不同体积分数的乙醇溶液对肝脏组织进行梯度脱水,经过石蜡包埋、切片,苏木精和伊红(Haematoxylin & Eosin, HE)染色处理后,用光学显微镜观察肝细胞的病理变化。

1.3.4 数据分析

数据结果以“平均值±标准差”表示,数据统计分析采用SPSS 22.0软件,进行单因素方差分析和Duncan检验各组间差异显著性, $P<0.05$ 为显著性差异。

2 结果与讨论

2.1 PFTJ清除自由基的能力

在机体的新陈代谢过程中,会不断产生自由基,而过多的自由基会攻击细胞内的生物大分子,造成细胞损伤^[17],氧化应激是诱发酒精性肝病的重要原因。为了全面有效地评估PFTJ的体外抗氧化能力,本研究测定了其清除DPPH自由基,ABTS⁺自由基,羟自由基和超氧自由基的能力。由图1a可知,在质量浓度范围为5.37~26.84 μg/mL时,PFTJ对DPPH自由基的清除率为22.46%~70.68%,而Vc的清除率则为8.68%~38.50%。PFTJ和Vc对DPPH自由基的EC₅₀值分别为11.92 μg/mL和38.91 μg/mL。当质量浓度为26.84 μg/mL时,PFTJ和Vc对ABTS⁺自由基的清除率最大分别为74.30%和36.24%(图1b),PFTJ和Vc对ABTS⁺自由基的EC₅₀值分别为11.26 μg/mL和43.42 μg/mL。羟自由基是已知的活性最强的自由基,它可以攻击和损伤活细胞中的几乎所有大分子。PFTJ和Vc对ABTS⁺自由基的清除率最大值分别为82.60%和66.40%(图1c),二者对羟自由基EC₅₀分别为5.20 μg/mL和11.82 μg/mL。随着质量浓度的增大,PFTJ和Vc对超氧自由基清除率均呈现增大的趋势(图1d),PFTJ和Vc对超氧自由基的清除率最大分别为61.20%和56.70%,EC₅₀分别为15.98 μg/mL和18.80 μg/mL,二者对超氧自由基的清除能力相当。综上,PFTJ清除自由基的能力随着质量浓度的增加而增加,呈现一定的剂量-效应关系。PFTJ体外清除自由基的能力顺序为:羟自由基>ABTS⁺自由基>DPPH自由基

>超氧自由基,具有开发为解酒类功能性饮品的潜力。

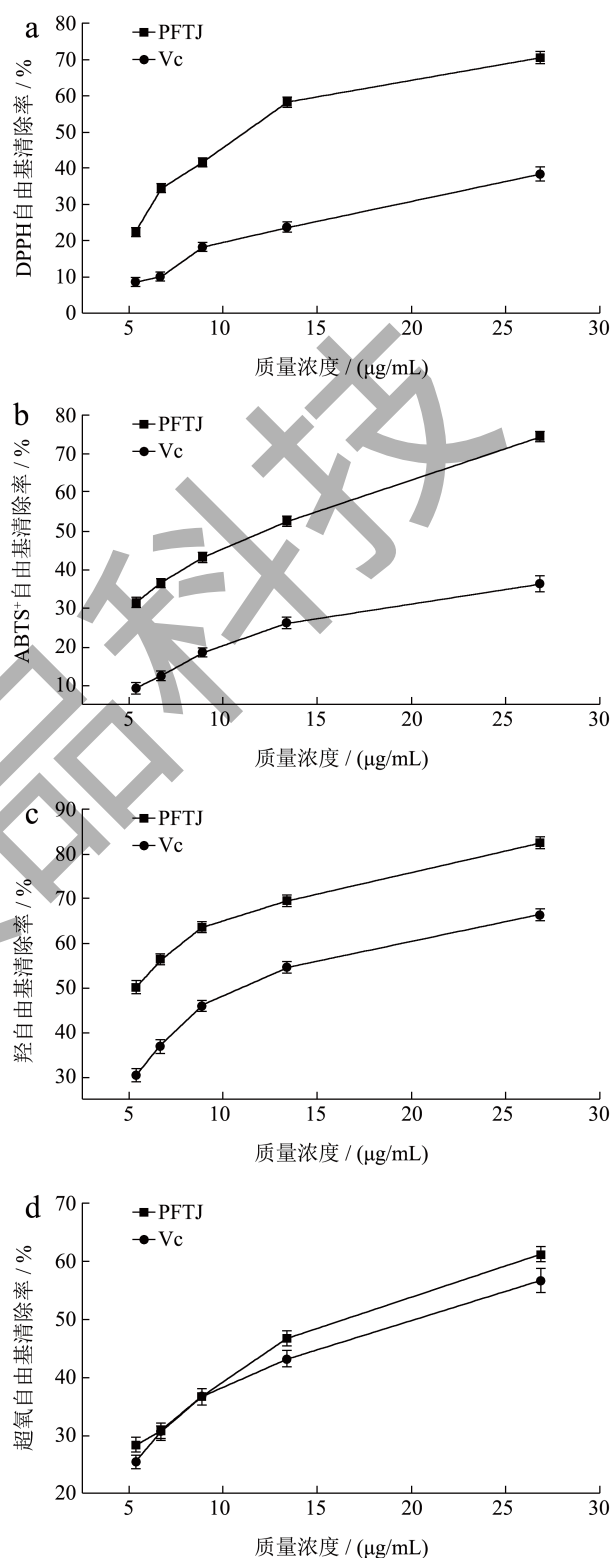


图1 PFTJ体外抗氧化能力的测定

Fig.1 Determination of antioxidant activities of PFTJ *in vitro*

表 1 PFTJ对小鼠醒酒时间的影响

组别	剂量	醒酒时间/min
空白对照组	10 mL/kg 生理盐水+10 mL/kg 生理盐水	0 ^d (不醉)
酒精中毒模型组	10 mL/kg 白酒+10 mL/kg 生理盐水	68.61±2.11 ^a
PFTJ 低剂量组	10 mL/kg 白酒+5 mL/kg PFTJ	46.83±3.43 ^b
PFTJ 高剂量组	10 mL/kg 白酒+15 mL/kg PFTJ	38.32±5.20 ^c

注: 同列中不同小写字母表示组间有显著性差异, $P<0.05$ 。表 2 同。

2.2 小鼠急性酒精中毒模型中PFTJ的解酒作用

2.2.1 PFTJ对小鼠醒酒时间的影响

醒酒时间是小鼠醉酒潜伏期和睡眠时间的综合反映。在急性酒精中毒模型的解酒实验中, 空白对照组的小鼠精神状态良好, 活泼好动, 毛发有光泽。在灌胃大量酒精后, 酒精模型组 and 不同剂量 PFTJ 处理组小鼠均出现了行动迟缓, 精神不振, 昏睡和食欲不振的症状。由表 1 可知, 酒精模型组小鼠的醒酒时间为 68.61 min, 随着 PFTJ 灌胃剂量的增加, 小鼠的醒酒时间显著缩短 ($P<0.05$)。与酒精模型组相比, 低剂量组和高剂量组的醒酒时间分别缩短了 31.74% 和 44.15%, 表明小鼠大量饮酒导致急性酒精中毒后, PFTJ 能够缓解因急性酒精中毒而引起的症状, 具有一定的解酒功效。

2.2.2 PFTJ对乙醇脱氢酶活性的影响

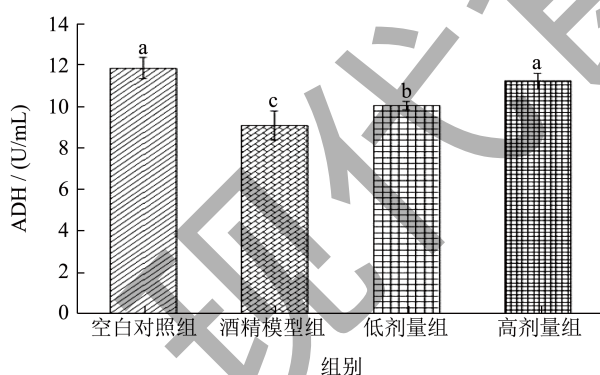


图 2 PFTJ对小鼠血清中ADH的影响

Fig.2 Effect of PFTJ on serum level of ADH in mice

注: 不同小写字母表示组间差异显著, $P<0.05$ 。图 2, 4~7 同。

乙醇脱氢酶 (ADH) 是肝脏分解代谢酒精的主要酶, 结合非蛋白酶而具酶活性, 可将乙醇转换成乙醛, 乙醛再由线粒体中乙醛脱氢酶氧化成乙酸^[18], 乙酰辅酶 A 水解酶将乙酸水解成乙酰辅酶 A 进入三羧酸循环, 经氧化反应生成水和二氧化碳排出体外。大量饮酒会降低体内的 ADH 活性, 导致酒精无

法代谢在体内大量堆积, 而引起酒精急性中毒。由图 2 可知, 空白对照组 ADH 活性为 11.85 U/mL, 酒精模型组为 9.09 U/mL, 显著低于空白对照组 ADH 活性 ($P<0.05$); 与酒精模型组相比, PFTJ 低剂量组和高剂量组血清中 ADH 活性分别提高了 10.72% 和 23.53% ($P<0.05$), 表明 PFTJ 能提高 ADH 活性, 加快酒精在体内的代谢。ADH 活性随着 PFTJ 剂量的增加而升高, 这与随剂量升高小鼠醒酒时间缩短的结果相互印证。Xie 等^[3]发现灌胃绿豆甘草汤剂后可提高急性酒精中毒模型小鼠 ADH 活性, 剂量越高效果越明显。

2.3 小鼠慢性酒精中毒模型中PFTJ的解酒作用

2.3.1 PFTJ对慢性酒精中毒小鼠体质量的影响

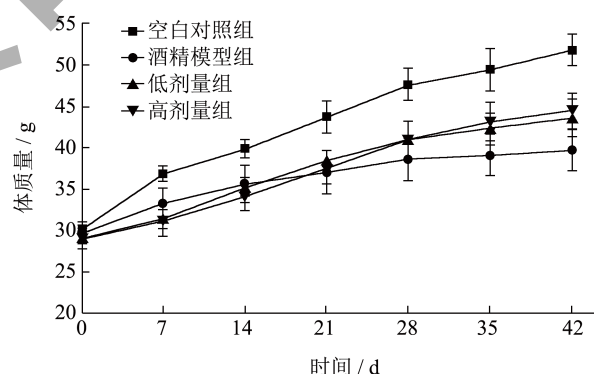


图 3 PFTJ对慢性酒精中毒模型小鼠体质量的影响

Fig.3 Effect of PFTJ on body weight of chronic alcohol toxicity model mice (n=10)

小鼠慢性酒精性肝损伤模型是通过长期酒精灌胃, 并随灌胃酒精剂量和周期增加, 使小鼠肝脏受到损伤。经过 6 周持续性地灌胃白酒, 建立小鼠慢性酒精中毒模型, 利用 PFTJ 进行灌胃干预。如图 3 所示, 6 周后空白对照组的小鼠体质量增加了 70.80% ($P<0.05$), 而酒精模型组的小鼠体质量仅增加了 33.81% ($P<0.05$), PFTJ 低剂量组和高剂量组小鼠体质量分别增加了 50.02% 和 52.59% ($P<0.05$), 增长率介于前二者之间。长期饮酒会降低糖类和蛋

白质的代谢,维生素和微量元素摄取不足,从而引起食欲不振和营养不良等症状。PFTJ在一定程度上改善了由于大量酒精摄入而引起的体质量降低的趋势,对慢性酒精中毒引起的营养不良起到缓解作用。

2.3.2 PFTJ对慢性酒精中毒小鼠器官指数的影响

肝脏指数是检测肝脏健康状况的标准,当肝脏发生水肿和肝窦扩张等病变时,肝脏指数会增加。由表2可知,与空白对照组比较,酒精模型组的肝脏指数增加了43.35% ($P < 0.05$);与模型组比较,PFTJ低剂量组和高剂量组的肝脏指数分别降低了16.11%和26.05% ($P < 0.05$)。PFTJ能明显逆转酒精造成的肝脏指数升高趋势且表现为一定的剂量效应,保护肝脏免受增生、充血和水肿等。脾脏指数、肾脏指数和肺指数方面,酒精模型组较空白对照组略有降低,PFTJ能一定程度提高这些器官指数,而心脏指数则无明显变化。

2.3.3 PFTJ对慢性酒精中毒小鼠血清中肝功能酶相关指标的影响

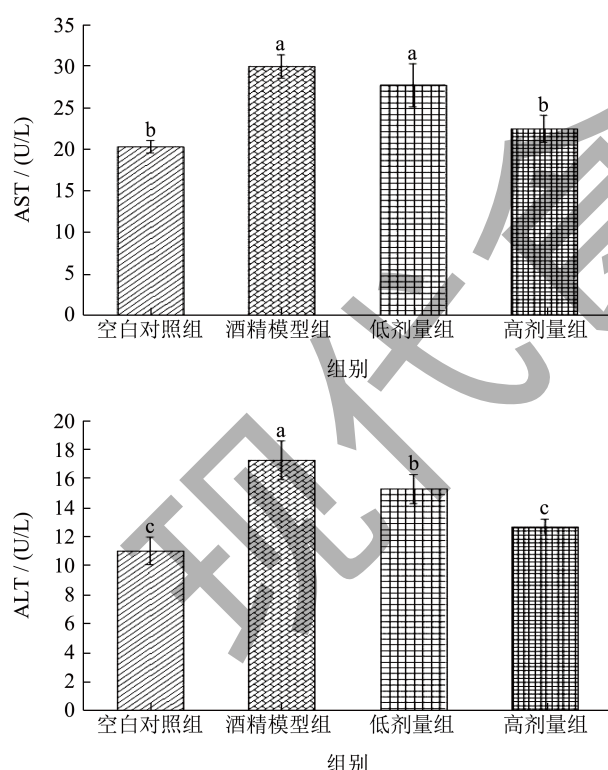


图4 PFTJ对小鼠血清中AST和ALT的影响

Fig.4 Effect of PFTJ on serum levels of AST and ALT in mice

谷草转氨酶(AST)和谷丙转氨酶(ALT)是诊断肝脏疾病时常用的非常灵敏的标志物。肝细胞

受损时,细胞膜的通透性增加,导致这两种酶大量进入血液,使得这两种酶活性提高,故可作为反映肝脏受损的血清学指标^[19]。如图4所示,与空白对照组比较,酒精模型组小鼠血清中AST和ALT显著升高($P < 0.05$)。与酒精模型组相比,PFTJ低剂量组和高剂量组的AST活性,分别降低了7.51%和24.87% ($P < 0.05$);低剂量组和高剂量组的ALT活性,则分别降低了11.45%和26.65% ($P < 0.05$)。以上结果表明,PFTJ能缓解酒精对小鼠的肝脏的损伤,且随着PFTJ剂量的升高,抑制ALT和AST活性的能力也有所提高。王楠等^[20]通过灌胃小鼠枳椇乳酸菌发酵饮料,能降低肝损伤小鼠血液中ALT和AST活性的实验结果与本文相似,表明PFTJ可能通过改善细胞膜通透性,调节细胞内的正常代谢,避免肝损伤的产生。

2.3.4 PFTJ对慢性酒精中毒小鼠血清中脂质代谢相关指标的影响

肝脏不仅能够代谢酒精,也是脂肪代谢的重要场所。乙醇衍生的乙醛等毒性代谢产物使肝脏脂质代谢失调,既可增加肝脏脂肪酸的摄取和新的脂质合成,又可降低脂肪酸氧化和脂质输出。这些作用汇聚在一起,导致肝细胞脂质积聚^[2]。当肝脏内存在大量的脂肪堆积后,胆固醇代谢变慢,致使血液中的胆固醇和甘油三酯显著提高。甘油三酯(TG)和总胆固醇(TC)是反映血脂水平的两个重要指标。如图5所示,与空白对照组比较,模型组小鼠血清中TG和TC含量分别提高了62.75%和104.32% ($P < 0.05$)。与酒精模型组相比,PFTJ低剂量组和高剂量组TG和TC含量则均呈现下降趋势且表现出剂量效应关系,高剂量组TG和TC质量浓度分别为0.58 mmol/L和1.21 mmol/L,与空白对照组相当。以上结果表明,饲喂PFTJ能够调节由于酒精导致的小鼠体内脂质代谢紊乱状态,对酒精性肝损伤具有一定的保护作用。灌胃小鼠枳椇乳酸菌发酵饮料后能降低酒精诱导肝损伤小鼠血液中TG和TC含量^[20]。PPAR α 转录因子能够调节线粒体中脂肪酸氧化相关的基因表达^[21],而乙醛能够抑制PPAR α 与DNA结合致使PPAR α 失活。PFTJ能够调节TG和TC,修复酒精中毒小鼠脂质代谢水平,这可能与PPAR α 的激活有关,需要进一步研究证实。

表 2 PFTJ对小鼠器官指数的影响

Table 2 Effect of PFTJ on organ indexes of mice (n=10)

组别	肝脏指数/%	脾脏指数/%	肾脏指数/%	肺指数/%	心脏指数
空白对照组	3.16 ± 0.43 ^c	0.27 ± 0.04 ^a	1.48 ± 0.02 ^a	0.48 ± 0.09 ^a	0.59 ± 0.11 ^a
酒精模型组	4.53 ± 0.55 ^a	0.19 ± 0.03 ^{ab}	1.36 ± 0.03 ^a	0.47 ± 0.12 ^a	0.61 ± 0.14 ^a
低剂量组	3.80 ± 0.36 ^b	0.22 ± 0.03 ^a	1.55 ± 0.09 ^a	0.53 ± 0.15 ^a	0.59 ± 0.18 ^a
高剂量组	3.35 ± 0.17 ^{bc}	0.25 ± 0.02 ^a	1.46 ± 0.17 ^a	0.52 ± 0.14 ^a	0.60 ± 0.10 ^a

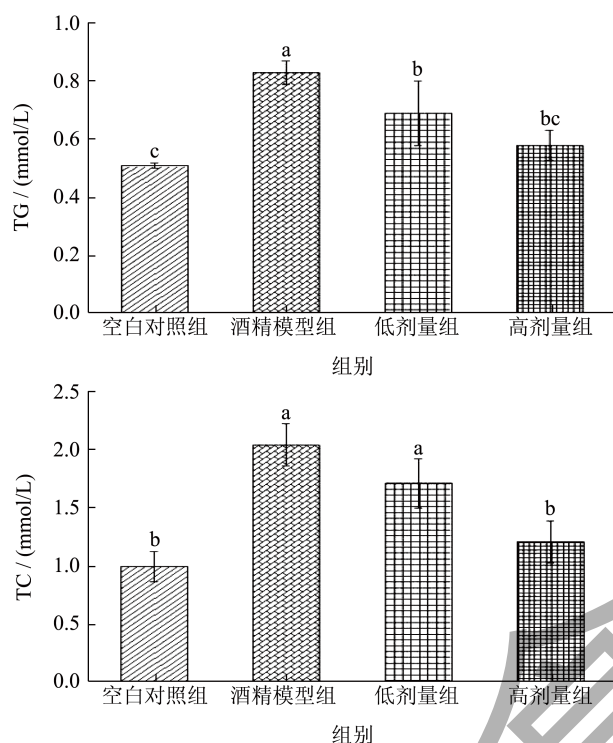


图 5 PFTJ 对小鼠血清中 TG 和 TC 的影响

Fig.5 Effect of PFTJ on serum levels of TG and TC in mice

2.3.5 PFTJ对慢性酒精中毒小鼠肝组织中抗氧化指标的影响

肝脏中的氧化应激被认为是 ALD 的标志性特征，由乙醇及其代谢物产生的高反应性自由基加剧了肝组织损伤^[22]。氧化应激和脂质过氧化可导致抗氧化系统失去平衡。SOD 和 CAT 是机体内主要的抗氧化酶，能清除大量自由基，SOD 将 ROS 转化为 H₂O₂，CAT 则将 H₂O₂ 分解成水^[23]。如图 6 所示，与空白对照组相比较，酒精模型组 CAT 和 SOD 活性分别降低了 16.35% 和 28.61% (P<0.05)；与酒精模型组相比，CAT 和 SOD 活性随 PFTJ 剂量升高而升高，高剂量组 CAT 和 SOD 活性分别提高了 17.05% 和 22.91% (P<0.05)。MDA 是脂质过氧化的主要产物，不仅会干扰抗氧化系统，还会造成细胞膜损伤，导致细胞凋亡，同时能够诱导肝细胞的活化，发展为酒精性肝炎^[24]。由图 7 可以看出，与空白对照组相比，酒精模型组 MDA 含量提高了

93.57% (P<0.05)；与酒精模型组相比，PFTJ 低剂量组和高剂量组 MDA 含量分别降低了 12.55% 和 34.69% (P<0.05)，随着剂量的升高效果越明显。黄颖等^[25]研究刺梨解酒口服液对肝损伤大鼠的解酒作用，发现刺梨解酒口服液能显著增加小鼠 SOD 活力，显著降低 MDA 含量，这与本文研究结果相同。

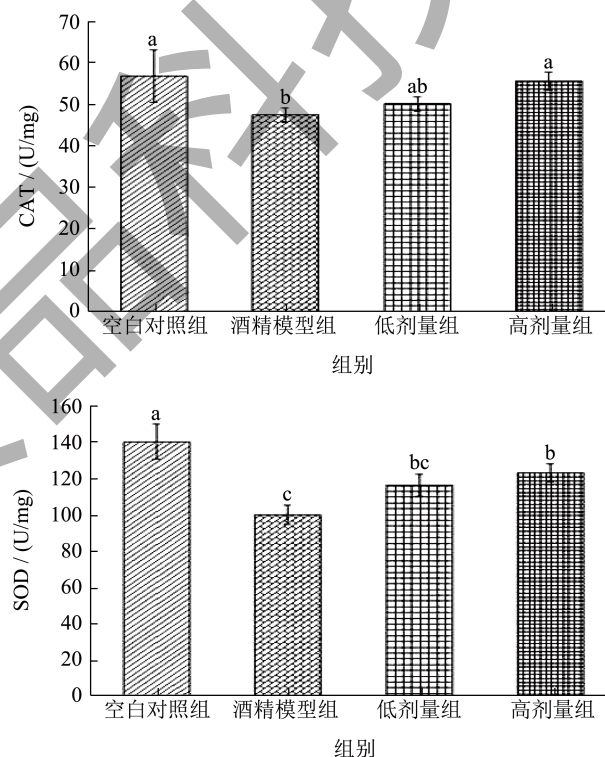


图 6 PFTJ 对小鼠肝组织中 CAT 和 SOD 的影响

Fig.6 Effects of PFTJ on CAT and SOD activity in liver of mice

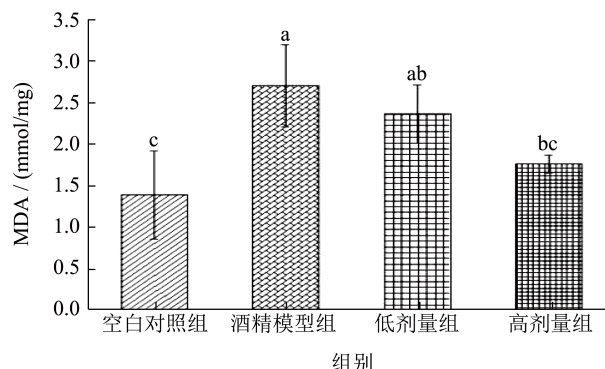


图 7 PFTJ 对小鼠肝组织中 MDA 含量的影响

Fig.7 Effect of PFTJ on MDA content in liver of mice

2.3.6 PFTJ对慢性酒精中毒小鼠肝脏显微结构的保护作用

为进一步研究 PFTJ 对慢性酒精中毒小鼠肝脏组织的保护作用, 对小鼠肝组织进行 HE 染色后观察其结构, 结果如图 8 所示。空白对照组小鼠肝细胞形态结构完整, 肝细胞索排列规则, 胞浆内无脂滴, 肝窦无扩张及炎症浸润。酒精模型组小鼠肝细胞肿胀, 胞浆内有大量脂滴存在, 细胞核固缩、颜色变深, 肝窦扩张有炎症。PFTJ 低剂量组小鼠肝细胞肿胀程度较模型组降低, 胞浆内无脂滴存在, 肝窦扩张无明显炎症; PFTJ 高剂量组肝细胞形态结构完整, 无水肿, 肝索排列规则, 胞浆内无脂滴。肝组织病理切片结果表明, PFTJ 可以减轻长期饮酒引起的小鼠肝细胞肿胀和微泡样脂肪变性, 对小鼠肝细胞有明显的保护作用。

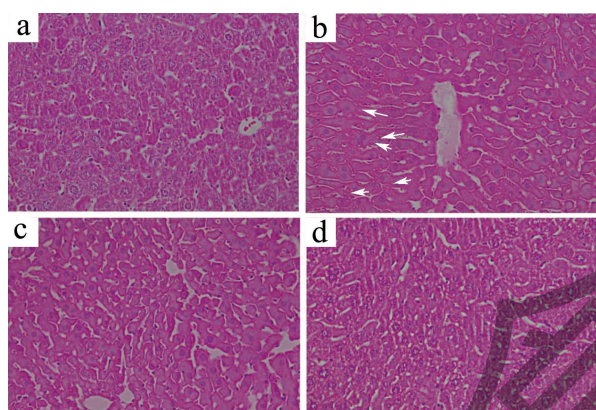


图 8 小鼠肝组织病理学观察

Fig.8 Histopathological observations of mouse liver tissue (200×)

注: a. 空白对照组; b. 酒精模型组; c. PFTJ 低剂量组; d. PFTJ 高剂量组。白色箭头所指为脂滴。

3 结论

PFTJ 对 DPPH 自由基、ABTS⁺ 自由基、羟自由基和超氧阴离子自由基具有较强的清除能力。PFTJ 显著降低急性酒精中毒小鼠的解酒时间, 提高 ADH 活性; 能够降低慢性酒精中毒小鼠血清中 AST、ALT、TC、TG 的含量; 提高小鼠肝组织中 SOD 和 CAT 活性, 降低 MDA 含量。PFTJ 可提高酒精损伤小鼠的体重, 降低肝脏指数, 抑制肝细胞肿胀, 减少脂肪变性。综上所述, 一定剂量的 PFTJ 能够通过提高小鼠 ADH 活性加快乙醇代谢速率, 提高体内抗氧化酶活力, 减少氧化应激反应, 缓解脂质过氧化程度, 以改善酒精中毒引起的肝损伤, 恢复肝功能, 具有很好的解酒保肝作用, 这可能与 PFTJ

具有很好的抗氧化能力有关, 本文为益生菌发酵番茄汁的保健应用价值提供理论依据。

参考文献

- [1] ZHAO L, WANG Y, LIU J, et al. Protective effects of genistein and puerarin against chronic alcohol-induced liver injury in mice via antioxidant, anti-inflammatory, and anti-apoptotic mechanisms [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, 64(38): 7291-7297.
- [2] JEONGEUN H, JINSOL H, CHANBIN L, et al. Pathophysiological aspects of alcohol metabolism in the liver [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(11): 5717.
- [3] XIE L, HUANG W G, LI J L, et al. The protective effects and mechanisms of modified Lv dou Gancao decoction on acute alcohol intoxication in mice [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2022, 282: 114593.
- [4] 侯景龙,毛跟年,胡媛,等.葛根、枳椇子解酒组合物体外抗氧化活性的研究[J].*动物医学进展*,2020,41(2):63-69.
- [5] GUO M, MAO B Y, SADIQ F A, et al. Effects of noni fruit and fermented noni juice against acute alcohol induced liver injury in mice [J]. *Journal of Functional Foods*, 2020, 70: 103995.
- [6] MASAKI H, KAZUYA M, KOHEI I, et al. Enriched (Z)-lycopene in tomato extract via co-extraction of tomatoes and foodstuffs containing Z-isomerization-accelerating compounds [J]. *Multidisciplinary Digital Publishing Institute*, 2021, 11(4): 462-473.
- [7] 唐柳,陈秀为.番茄制品及番茄汁发酵技术的研究进展[J].*保鲜与加工*,2004,4(1):15-16.
- [8] 马自强,李应彪,王陈强.复合乳酸菌发酵番茄汁菌种鉴定及发酵工艺优化[J].*现代食品*,2020,3(5):100-105,115.
- [9] 高丽芳,郜文.番茄红素与姜黄素联用对急性乙醇氧化损伤小鼠的抗氧化作用[J].*首都医科大学学报*,2021,42(1): 89-93.
- [10] 范莹莹.蒜蓉和蒜米发酵工艺及抗氧化活性研究[D].郑州:河南农业大学,2022.
- [11] WANG Y X, GU D Y, LIU C, et al. Enrichment, analysis, identification and mechanism of antioxidant components in *Toona sinensis* [J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2022, 11: 100198.
- [12] 石玉平,卢挺,王永宁.油菜蜂花粉中黄酮类物质清除羟基自由基的研究[J].*食品科学*,2004,25(11):300-302.
- [13] 李启艳,祝清芬,刘春霖,等.党参多糖分离纯化及抗氧化活性研究[J].*中草药*,2017,48(5):907-912.
- [14] 居金明.胡柚葛根发酵饮料加工工艺及其解酒功效研究[D].南京:南京农业大学,2020.
- [15] 高景莘,余涛.复芳葛根散对急性酒精中毒小鼠的解酒作用研究[J].*成都中医院大学学报*,2010,33(2):74-76.

- [16] 曲佳乐,赵金凤,皮子凤,等.植物酵素解酒护肝保健功能研究[J].食品科技,2013,38(9):51-54.
- [17] BARKARI M O, BATIONO J H, MARTIN K, et al. Evaluation of acute toxicity, antioxidant and antibacterial potential of leaves extracts from two anacardiaceae species: *Lannea microcarpa* Engl & *K. krause* and *Mangifera indica* L [J]. Journal of Biosciences and Medicines, 2022, 10(10): 125-134.
- [18] ZHAO R Z, JIANG S, ZHANG L, et al. Mitochondrial electron transport chain, ROS generation and uncoupling (Review) [J]. International Journal of Molecular Medicine, 2019, 44(1): 3-15.
- [19] 南瑛,张薇,常晋瑞,等.绞股蓝皂苷通过Nrf2/NF- κ B信号通路发挥抗小鼠急性酒精性肝损伤作用[J].中国药理学通报,2019,35(1):40-45.
- [20] 王楠,杜双奎,冯宪超,等.枳椇乳酸菌发酵饮料对小鼠酒精肝损伤的保护作用[J].现代食品科技,2016,32(8):28-33,41.
- [21] KERSTEN S. Integrated physiology and systems biology of PPAR α [J]. Molecular Metabolism, 2014, 3(4): 354-371.
- [22] YANG Y M, CHO Y E, HWANG, S. Crosstalk between oxidative stress and inflammatory liver injury in the pathogenesis of alcoholic liver disease [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(2): 774.
- [23] WANG K, ZHAO Z G, JI W. Bisphenol A induces apoptosis, oxidative stress and inflammatory response in colon and liver of mice in a mitochondria-dependent manner [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2019, 117: 109182.
- [24] 胡滨,李康林,吴桥,等.猪血蛋白酶解物对小鼠急性酒精性肝损伤的保护作用[J].食品科学,2018,39(11):185-190.
- [25] 黄颖,谭书明,陈小敏.刺梨解酒口服液对急性醉酒小鼠的解酒护肝作用[J].现代食品科技,2019,35(7):18-23.

现代食品科技