

纳米二氧化硅抗结剂对 护胃固体饮料稳定性及功效的影响

袁尔东, 刘靛赞, 黄敏, 任娇艳

(华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

摘要: 本研究探讨抗结剂二氧化硅(SiO_2)与纳米二氧化硅(nSiO_2)在护胃固体饮料的抗结效果, 分析其对护胃固体饮料功效活性的影响, 以探讨纳米级食品添加剂在功能性食品中的应用可能性。在以黄芪、茯苓、葛根的提取物和猴头菇多糖为原料制备的护胃固体饮料中, 加入不同比例的 SiO_2 或 nSiO_2 , 通过加速保藏实验, 以休止角、堆积密度为指标, 评价固体饮料稳定性, 通过正常人胃黏膜上皮细胞(GES-1)以及乙醇损伤模型评价其护胃功效。结果表明, 在0~1.50%添加量范围内, 随着添加比例的增加, SiO_2 和 nSiO_2 的抗结效果逐渐增强, 表现在添加量为1.50%的 SiO_2 和 nSiO_2 的休止角分别为 152° 和 153° , 堆积密度分别为2.17 mg/mL和2.33 mg/mL, 与空白对照组存在显著差异($p<0.05$), 但是 SiO_2 和 nSiO_2 抗结效果没有显著性差异。以1.00 mol/L乙醇诱导2 h, 构建乙醇损伤细胞模型。结果表明, SiO_2 和 nSiO_2 的添加对于护胃固体饮料的功效并无不利影响, 在31.25 $\mu\text{g/mL}$ 的浓度条件下, nSiO_2 还有助于增强其促进GES-1细胞增殖以及对乙醇损伤GES-1细胞模型的预防作用, 表现为细胞存活率分别为166%和110%, 与空白对照组相比显著提高(100%; $p<0.05$)。因此 nSiO_2 在食品生产和功能性食品的开发中具有良好的应用前景。

关键词: 纳米二氧化硅; 护胃固体饮料; 稳定性; 护胃功效

文章编号: 1673-9078(2021)06-167-174

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.6.0612

Effect of Nano-silica on the Stability and Efficacy of a Stomach-protecting Solid Drink

YUAN Er-dong, LIU Liang-yun, HUANG Min, REN Jiao-yan

(School of Food Science and Technology South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: In order to explore the feasibility of applying nano-scale food additives in functional foods, this research studied the anti-caking effect of silica (SiO_2) and nano-silica (nSiO_2) in stomach-protecting solid drink, and analyzed their effects on the efficacy of the resultant beverages. Added different proportions of SiO_2 or nSiO_2 to the stomach-protecting solid beverage prepared with raw materials including the extracts of astragalus, poria and puerarialobata as well as the polysaccharides of *Hericium erinaceus*. Through accelerated storage experiments, the stability of the solid beverages was evaluated using angle of repose and bulk density as the indices. The gastric protection efficacy was evaluated using normal human gastric mucosal epithelial cells (GES-1) and ethanol injury model. The results showed that in the addition range of 0~1.50%, the anti-caking effects of SiO_2 and nSiO_2 gradually increased with the increase of addition proportion: the angles of repose of SiO_2 and nSiO_2 at 1.50% were 152° and 153° , respectively, and the bulk densities were 2.17 mg/mL and 2.33 mg/mL, respectively (which were significantly different from those of the blank control group ($p<0.05$)), although there was no significant difference in the anti-caking effect between SiO_2 and nSiO_2 . A 2-h induction with 1.00 mol/L of ethanol led to the construction of an ethanol-damaged GES-1 cell model. The

引文格式:

袁尔东,刘靛赞,黄敏,等.纳米二氧化硅抗结剂对护胃固体饮料稳定性及功效的影响[J].现代食品科技,2021,37(6):167-174

YUAN Er-dong, LIU Liang-yun, HUANG Min, et al. Effect of nano-silica on the stability and efficacy of a stomach-protecting solid drink [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(6): 167-174

收稿日期: 2020-07-02

基金项目: 广东省重点领域研发计划项目(2019B020210002); 国家重点研发计划项目(2018YFD0901101); 广东省自然科学基金面上项目(2019A1515012230); 中央高校基本科研业务费项目(2019KZ01); 国家自然科学基金面上项目(31671804)

作者简介: 袁尔东(1975-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品生物化学, 食品营养与健康

通讯作者: 任娇艳(1980-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 食品生物化学、食品营养与健康

results showed that the addition of SiO₂ and nSiO₂ has no adverse effect on the efficacy of stomach-protecting solid beverages. At the concentration of 31.25 μg/mL, nSiO₂ also helped to enhance its promoting effect on the proliferation of GES-1 cells and preventive effects on the ethanol-damaged GES-1 cells, with the cell survival rates as 166% and 110%, respectively (which were significantly higher than those of the blank control group (100%; $p < 0.05$)). Therefore, nano-silica has great application prospects in food production and the development of functional foods.

Key words: nano-silica; stomach-protecting solid drink; stability; stomach protection effect

二氧化硅是一种优良的流动促进剂,作为抗结剂在颗粒剂制造中可作内干燥剂,可以较好地改善颗粒流动性以维持产品的稳定性^[1],防止颗粒或粉状食品聚集结块、保持其松散或自由流动,在固体饮料中有着良好的应用^[2]。随着纳米技术和生产工艺的发展,食品添加剂二氧化硅已经达到了纳米尺寸。由于纳米颗粒特殊的理化特性,纳米级食品添加剂对食品的颜色、味道、质构、货架期等可能产生明显影响,例如纳米级食品添加剂可以通过增强食品中铁和锌的溶解性改善食品的感官品质^[3]。当将纳米级食品添加剂用于功能性食品中时对其功效活性发挥也可能产生影响。

研究表明,纳米级食品添加剂可以通过对食品成分的控制和释放来促进生物活性物质在食品中传递,改善功能成分的活性^[4]。Canham 研制了可用于功能性食品的纳米级硅,其可以提高加工和储存过程中特定营养素的稳定性,并且可以通过促进肠道中生物降解性物质原硅酸的释放来提高机体对营养物质的利用^[5]。纳米添加剂还可能影响营养成分在体内的吸收或代谢过程。Lee 等人研究发现,纳米二氧化硅可能通过与食品成分的结合,提高大鼠对糖类和蛋白的口服吸收量^[6]。

但目前针对纳米二氧化硅作为食品添加剂应用到功能性食品中的研究较少,为使其能够进行有效的推广应用,有必要对其有关生物性能进行深入研究。因此,本文以二氧化硅(SiO₂)和纳米二氧化硅(nSiO₂)为抗结剂,应用于以黄芪、茯苓、葛根、猴头菇多糖为原料制备的护胃功能固体饮料,分析对比这两种抗结剂对其稳定性及护胃功效的影响,探讨纳米级食品添加剂在功能性食品中应用的可行性。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞

人胃黏膜上皮细胞(GES-1),由南方医科大学友情提供。

1.1.2 主要实验材料

磷酸盐缓冲溶液(PBS, pH 7.4)、DMEM 培养基、胎牛血清(FBS)、0.25% EDTA-胰酶、青霉素和链霉素双抗溶液均购自美国 Gibco 公司;3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(MTT)购自美国 Sigma-Aldrich 公司;SiO₂和 nSiO₂,均购自广州新如荣生物科技有限公司;其余试剂均为国产分析纯。

茯苓、黄芪、葛根和猴头菇菌丝体多糖购自安国市一达药业有限公司。

1.1.3 主要实验仪器

恒温恒湿箱购自上海精密仪器仪表有限公司;多功能微孔板检测酶标仪购自美国伯腾仪器有限公司;二氧化碳细胞培养箱购自 Thermo Scientific;超净工作台购自苏州安泰空气技术有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 护胃固体饮料的制备

将黄芪、茯苓和葛根按照 1:1:1 的比例复配,热水提取 2 次。第一次提取,料液比 1:10(W/W),100 °C,2 h。过滤后的滤渣进行第二次提取,料液比 1:8(W/W),100 °C,1.50 h。合并两次提取液,浓缩、冷冻干燥后,与猴头菇菌丝体多糖按比例复配混匀,为具有护胃功效的复合提取物配料(CE)^[7]。最后,加入适量甜菊糖苷和果胶以及抗结剂,混匀,得到护胃固体饮料。

1.2.2 护胃固体饮料理化性质测定

1.2.2.1 总多糖含量测定

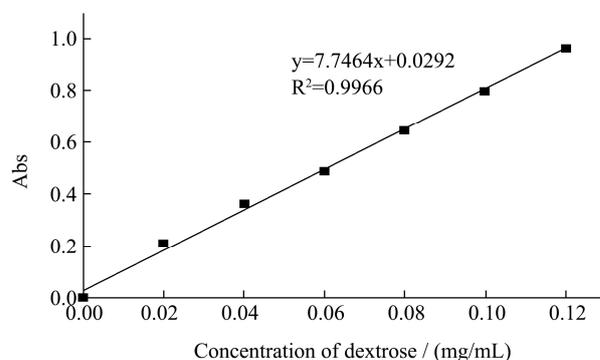


图1 葡萄糖标准曲线

Fig.1 Standard curve of dextrose

采用苯酚-硫酸法进行样品多糖含量的测定^[8]。具

体步骤是：称取 105 °C 干燥至恒重的无水葡萄糖标准品 20 mg，用蒸馏水溶解并定容于 100 mL 的容量瓶中，配制成葡萄糖标准溶液，其浓度为 0.20 mg/mL。分别取 0、1.00、2.00、3.00、4.00、5.00、6.00 mL 的葡萄糖标准液于 10 mL 容量瓶中，用蒸馏水定容，配成一系列浓度为 0、0.02、0.04、0.06、0.08、0.10、0.12 mg/mL 的标准使用液。移取不同浓度的标准使用液各 2 mL 于试管中，加 5% 的苯酚 2 mL 摇匀，缓慢加入 5 mL 浓硫酸摇匀，沸水浴显色 15 min，冷却至室温后，在波长为 490 nm 处测定吸光度值，每个浓度平行测定三次，以空白管调零，横坐标为葡萄糖标准溶液的浓度，纵坐标为吸光值，从而绘制成葡萄糖标准曲线。其线性方程为 $y=7.7464x+0.0292$ ，相关系数 $R^2=0.9966$ ，表明该标准曲线线性较好。

样品测定方式同上，将待测样品稀释成合适的倍数后，重复上述操作，将样品的吸光值代入葡萄糖标准曲线即可得到样品的多糖浓度。

1.2.2.2 总多酚含量测定

采用福林酚法进行样品多酚含量的测定^[9]。具体步骤为：采用没食子酸为标准物质，准确称量 0.10 g 没食子酸，蒸馏水定容于 100 mL 容量瓶中，配置成 1.0 mg/mL 的标准储备液。分别吸取 0、0.10、0.20、0.30、0.40、0.50 mL 的标准储备液定容于 100 mL 的容量瓶中，配制成浓度为 0、0.01、0.02、0.03、0.04、0.05 mg/mL 的标准使用液。分别吸取 0.50 mL 上述各浓度的标准使用液，加入 2.50 mL 福林酚溶液，室温下反应 3~5 min 后，加入 2 mL 7.50% Na_2CO_3 溶液，室温下反应 1 h 后，在波长为 760 nm 处测定吸光度值，每个浓度平行测定三次，以空白管调零，并以没食子酸溶液的浓度为横坐标，吸光值为纵坐标，绘制成标准曲线，其线性方程为 $y=13.735x+0.0187$ ，且相关系数 $R^2=0.9981$ ，表明此标准曲线线性较好。

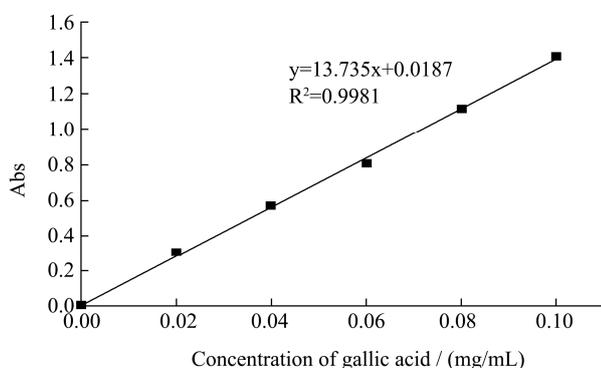


图2 没食子酸标准曲线

Fig.2 Standard curve of gallic acid

样品测定方式同上，将待测样品稀释成合适的倍数后，重复上述操作，将样品的吸光值代入标准曲线

即可得到样品的多酚浓度。

1.2.3 抗结剂对护胃固体饮料稳定性的影响

根据国家标准 GB 2760-2014 的规定，二氧化硅在固体饮料中的最大使用量为 15.00 g/kg，因此将护胃固体饮料中 SiO_2 或 $n\text{SiO}_2$ 的添加量设置为 0.30%、0.90%和 1.50%等低中高 3 个剂量。

按比例向护胃固体饮料中加入不同比例的 SiO_2 或 $n\text{SiO}_2$ ，灭菌、分装，放入温度 37 °C、湿度 75% 的恒温恒湿箱中加速保藏一个月^[10]。定期取样，检测休止角和堆积密度，分析对比 SiO_2 和 $n\text{SiO}_2$ 的抗结作用。

1.2.3.1 休止角的测定

通过休止角的大小来评估粉体的流动性，以评价抗结剂的抗结效果^[11]。当颗粒在重力作用下自由下落时，在平面上形成的堆积层斜面上的颗粒所受重力和颗粒之间摩擦力达到静止状态下测得的最大角度。保持的漏斗嘴（直径 1 cm）与桌面垂直，下端离桌面高度为 5 cm。在桌面上铺一张洁净的白纸，把 1 g 产品从漏斗口加入，测定产品粉末在白纸上形成锥形的斜面与桌面的角度^[12]，即为休止角。

1.2.3.2 堆积密度的测定

堆积密度是指产品粉末容易散开的程度，堆积密度越小，越容易散开，颗粒抱团情况越小，更易于溶解在水中。称量一定质量的产品粉末并记录下质量 M (mg)。从漏斗中散落到 5 mL 量筒中，测定产品在量筒中的高度 H (mL)^[13]。计算堆积密度：

$$\text{堆积密度} / (\text{mg} / \text{mL}) = \frac{M}{H}$$

1.2.4 抗结剂对护胃固体饮料护胃功效的影响

1.2.4.1 对正常 GES-1 细胞的影响

取对数生长期的 GES-1 细胞消化计数后，接种于 96 孔细胞培养板中，每孔 1×10^4 个。将 GES-1 细胞随机分为空白对照组及三个实验组（CE、CE+ SiO_2 、CE+n SiO_2 ），其中， SiO_2 和 $n\text{SiO}_2$ 的添加量均为 1.50%。每组设置 5 个复孔。待细胞完全贴壁后，更换培养基，空白对照组加入 DMEM 培养基 100 μL /孔，实验组则分别加入不同浓度（31.25、62.50、125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）的样品溶液 100 μL /孔，37 °C、5% CO_2 孵育 24 h 后进行 MTT 试验。

1.2.4.2 乙醇诱导 GES-1 细胞损伤模型构建

用乙醇进行 GES-1 细胞损伤模型的构建^[14]。取对数生长期的 GES-1 细胞消化计数后，接种于 96 孔细胞培养板中，每孔细胞数为 1×10^4 个，后放置于培养箱中培养 24 h 至细胞基本贴壁，培养条件为：37 °C、5% CO_2 。用 DMEM 培养基将无水乙醇稀释成 2.00、1.60、1.40、1.20、1.00、0.80、0.60、0.40、0.20、0.10

mol/L, 分别加入各孔中, 每孔 100 μ L。每一稀释浓度设置 5 个复孔, 同时设立空白对照组。37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 分别孵育 2、4、6 h 后进行 MTT 试验。

1.2.4.3 对乙醇损伤 GES-1 细胞模型的影响

取对数生长期的 GES-1 细胞消化计数后, 接种于 96 孔细胞培养板中, 每孔 1×10^4 个。将 GES-1 细胞随机分为 5 组, 空白对照组、模型组以及三个实验组 (CE、CE+ SiO_2 、CE+n SiO_2), 其中, SiO_2 和 n SiO_2 的添加量均为 1.50%。每组设置 5 个复孔。待细胞完全贴壁后, 更换培养基, 空白对照组和模型组加入 DMEM 培养基 100 μ L/孔, 实验组则分别加入不同浓度 (31.25、62.5、125 μ g/mL) 样品溶液 100 μ L/孔, 继续孵育 24 h。除空白对照组外, 其余各组加入 1.0 mol/L 乙醇溶液 100 μ L/孔进行造模, 37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 孵育 2 h 后进行 MTT 试验。

1.2.5 数据处理

所有细胞实验均进行 3 次平行实验得出, 数据结果均采用平均值 \pm 标准差 (mean \pm SEM) 的形式展示。实验数据采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析, 采用单向方差分析 (ANOVA), 使用 Tukey 的分析比较所有组之间的显著差异, $p < 0.05$ 视为统计学意义上具有显著性差异。实验数据图表采用 Prism 6.0 和 Origin 8.5 进行绘制。

2 结果与讨论

2.1 护胃固体饮物理化性质

多糖和多酚被认为是胃黏膜保护的主要生物活性物质。已有研究表明多糖和多酚可以通过减少氧化应激、炎症和细胞损伤对胃黏膜损伤提供重要的保护作用^[15,16]。护胃固体饮料的三种中草药原料的主要活性成分为多糖或类黄酮。其中, 黄芪和茯苓的主要活性成分是多糖, 葛根的主要活性成分是多酚。所以此护胃固体饮料的物理性质主要是对总多糖和总多酚含量的测定。

表 1 护胃固体饮物理化性质测定结果

Table 1 Measurement results of physical and chemical properties of solid beverages

| | 总多糖/% | 总多酚/% |
|---------------------|------------------|-----------------|
| CE+ SiO_2 | 60.60 \pm 0.01 | 3.86 \pm 0.15 |
| CE+n SiO_2 | 61.07 \pm 0.09 | 4.06 \pm 0.09 |

如表 1 所示, 此护胃固体饮料的主要成分是多糖, 含量约为 60%, 同时含有约 4% 的多酚。且两种样品的总多糖和总多酚含量均无显著性差异。

许多研究表明, 类黄酮可以与多糖反应形成不同

的复杂微结构, 并可能影响多糖和类黄酮的理化性质和生物学活性。黄酮类化合物可能与多糖具有协同增效的作用^[17]等。Pirvu 等人^[18,19]研究发现, 由多糖和多酚组成的矢车菊提取物, 对氧化应激引起的中度和浅层胃黏膜损伤都具有较好的功效, 甚至比雷尼替丁这种药物具有更好的护胃效果。

2.2 抗结剂对护胃固体饮料稳定性的影响

如图 3 所示, 随着储藏时间的增加, 各组样品的休止角逐渐增加。其中, SiO_2 组和 n SiO_2 组休止角, 均比空白对照组小。且 SiO_2 和 n SiO_2 添加量越大, 休止角越小。当 SiO_2 和 n SiO_2 添加量达到 1.50% 时, 在第 28 d 时, SiO_2 组和 n SiO_2 组的休止角分别为 152 $^{\circ}$ 和 153 $^{\circ}$, 明显低于空白对照组 (162 $^{\circ}$) ($p < 0.005$)。在同等添加量的条件下, SiO_2 组休止角略低于 n SiO_2 组, 但无显著差异。Silverberg 等指出在贮存过程中物料晶体的交互生长引起的颗粒间粘连是物料结块的主要机理^[20], 而 SiO_2 则可以通过抑制颗粒间的粘连来改善物料的流动性。Tonglairoum 等人^[11]将 SiO_2 添加到粉末混合物中, 通过测定休止角来评估其抗结性能, 结果发现 SiO_2 可以改善混合物的流动性, 具有较好的抗结作用。

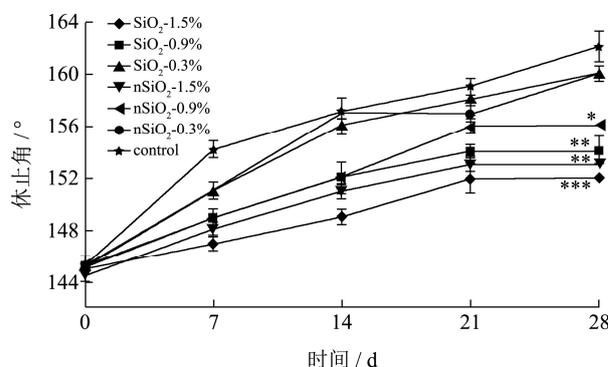


图 3 不同样品连续 4 周的休止角

Fig.3 Angle of repose of different samples for 4 weeks

注: 与空白对照组相比 (***) $p < 0.005$ 。图 4 同。

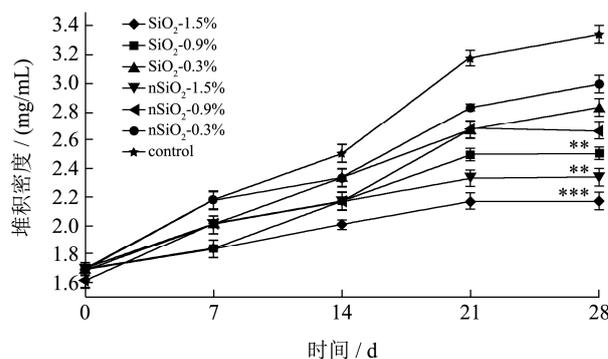


图 4 不同样品连续 4 周的堆积密度

Fig.4 Bulk density of different samples for 4 consecutive weeks.

如图 4 所示,随着储藏时间的增加,各组样品的堆积密度也逐渐增加。与空白对照组相比, SiO₂ 和 nSiO₂ 组的样品堆积密度增长较小。在第 28 d 时, 1.50% SiO₂ 和 1.50% nSiO₂ 组的堆积密度分别为 2.17 mg/mL 和 2.33 mg/mL, 均明显小于空白对照组 (3.33 mg/mL) ($p<0.005$)。在同等添加量情况下, SiO₂ 组堆积密度略低于 nSiO₂ 组, 但差异并不明显。这与 Nortuy 等人^[21]的研究结果一致, 他们发现通过增加 SiO₂ 的含量或增大粒径可以减少固体颗粒的聚集。

因此,综合休止角和堆积密度两个指标来看, SiO₂ 和 nSiO₂ 均有一定的抗结作用, 其中 SiO₂ 的抗结效果略高于 nSiO₂, 但二者并无明显差异。

2.3 抗结剂对固体饮料护胃功效的影响

2.3.1 促进 GES-1 细胞增殖

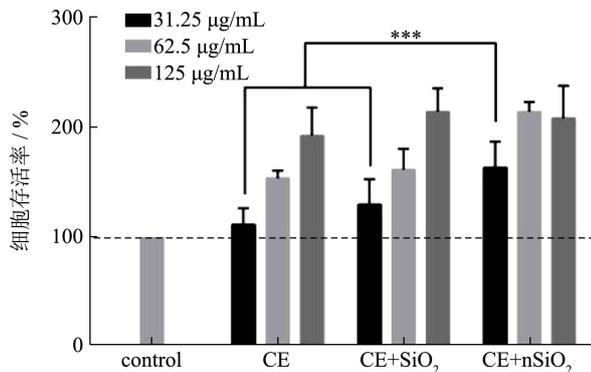


图 5 护胃固体饮料对正常 GES-1 细胞的影响

Fig.5 Effect of solid drinks on GES-1 cell

注: 所有数值均表示为平均值±SEM, (n=5); 相对于 CE+nSiO₂ (31.25 µg/mL), ** $p<0.005$ 。

如图 5 所示, CE、CE+SiO₂ 和 CE+nSiO₂ 均能促进 GES-1 细胞的增殖, 并呈现明显的剂量-效应关系。在 31.25 µg/mL 浓度条件下, CE+nSiO₂ 组的细胞存活率为 166%, 明显高于 CE (116%) 和 CE+SiO₂ (132%) 组 ($p<0.005$)。而在 62.5 µg/mL 和 125 µg/mL 的浓度条件下, 与 CE 组相比, 其余两个样品组并无显著差异。可见, SiO₂ 和 nSiO₂ 的添加, 对 CE 促进 GES-1 细胞增殖的功效并无不利影响, 其中较低浓度的 nSiO₂ 还有助于增强 CE 的功效。有研究也得到了类似的结果。Anja Wittig^[22]等人研究了不同粒径 SiO₂ 对人胃癌细胞的毒性影响, 表明 SiO₂ 能较好刺激细胞增殖, 在较低浓度时会增加的总细胞数和细胞活力, 但是随着浓度的增加, 则会有细胞毒性, 并且不同的粒径的 SiO₂ 对细胞毒性有不同的影响。Oberdörster 等人研究发现, nSiO₂ 不会造成胃黏膜细胞 GES-1 细胞膜损伤、形态改变、细胞的凋亡与坏死^[23]。Yixin Yang 等人^[24]研究 10~50 nm 范围内四种不同粒径的 nSiO₂

对 GES-1 细胞形态、生存力和膜完整性的影响, 发现在低于 100 µg/mL 的浓度下细胞存活率几乎没有变化, 甚至可以促进细胞增殖; 但若继续增加 nSiO₂ 浓度和延长作用时间, 细胞活力则会显著降低。

2.3.2 GES-1 细胞损伤模型

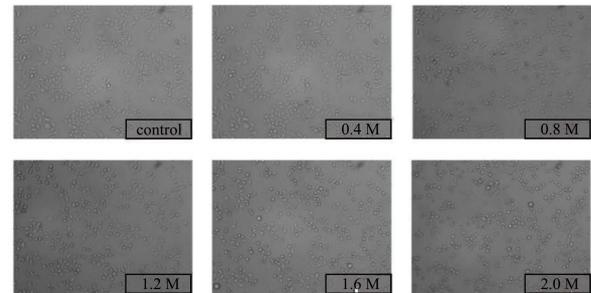


图 6 GES-1 细胞经不同浓度乙醇作用 4 h 的显微镜采集图像

Fig.6 Images of GES-1 cells treated with ethanol at different concentrations for 4 h using microscope

乙醇型胃黏膜损伤模型是一种急性胃黏膜损伤模型。乙醇能直接作用于胃黏膜, 导致胃黏膜出现糜烂、出血、穿孔等损伤^[25]。乙醇在引起胃黏膜氧化应激的同时, 伴随着胃黏膜细胞的坏死和凋亡^[26]。因此选择用乙醇对 GES-1 细胞进行造模, 在体外模拟乙醇造成的胃黏膜损伤。

图 6 为不同浓度的乙醇作用 4 h 后 GES-1 细胞的形态变化。GES-1 细胞是由人胎儿胃黏膜上皮细胞转染 SV-40 病毒后获得的永生化的细胞系, 可以在体外稳定传代, 但保留了正常的细胞骨架结构^[27]。正常 GES-1 细胞为梭形, 细胞之间排列稀疏, 贴壁正常, 漂浮的死亡细胞较少。与空白对照组相比, 乙醇高浓度模型组 (1.20、1.60、2.00 mol/L) 出现明显的细胞皱缩变小, 成圆形, 贴壁细胞数量减少, 漂浮的死亡细胞增多, 细胞间隙增大, 即发生细胞损伤。有研究观察到了同样的现象, 发现乙醇会引起 GES-1 细胞的细胞形态出现皱缩并形成凋亡小体^[28]。乙醇可在短时间内诱导 GES-1 细胞凋亡, 且多为早期凋亡, 随着作用时间的延长、乙醇浓度的增加, 细胞凋亡现象越为明显^[14]。

不同浓度的乙醇诱导的 GES-1 细胞损伤的存活率具有显著性差异 ($p<0.05$)。随着乙醇浓度的升高, 细胞的存活率逐渐降低, 呈现一定的剂量浓度效应。如图 7a~7c 所示, 当乙醇作用时间分别为 2、4、6 h、乙醇浓度为 1.00 mol/L 时, GES-1 细胞的存活率均为 50%~60%, 随着浓度继续增大, 细胞存活率继续降低, 当乙醇浓度超过 1.20 mol/L 时, 细胞存活率均小于 40%, 因此, 乙醇造模浓度为 1.00 mol/L。如图 7d 所示, 当乙醇浓度为 1.00 mol/L 时, 随着作用时间的增加, 细胞存活率逐渐降低, 为保证实验的结果可靠性,

应选择细胞存活率为 60%，相应的乙醇作用时间为 2 h。因此，选择以 1.00 mol/L 乙醇诱导 2 h，构建 GES-1 细胞损伤模型。刘翠玲^[29]的研究结果表明，细胞的存活率与乙醇浓度和造模时间密切相关，并且以 0.80 mol/L 乙醇作用 4 h 得到的细胞模型比较稳定。

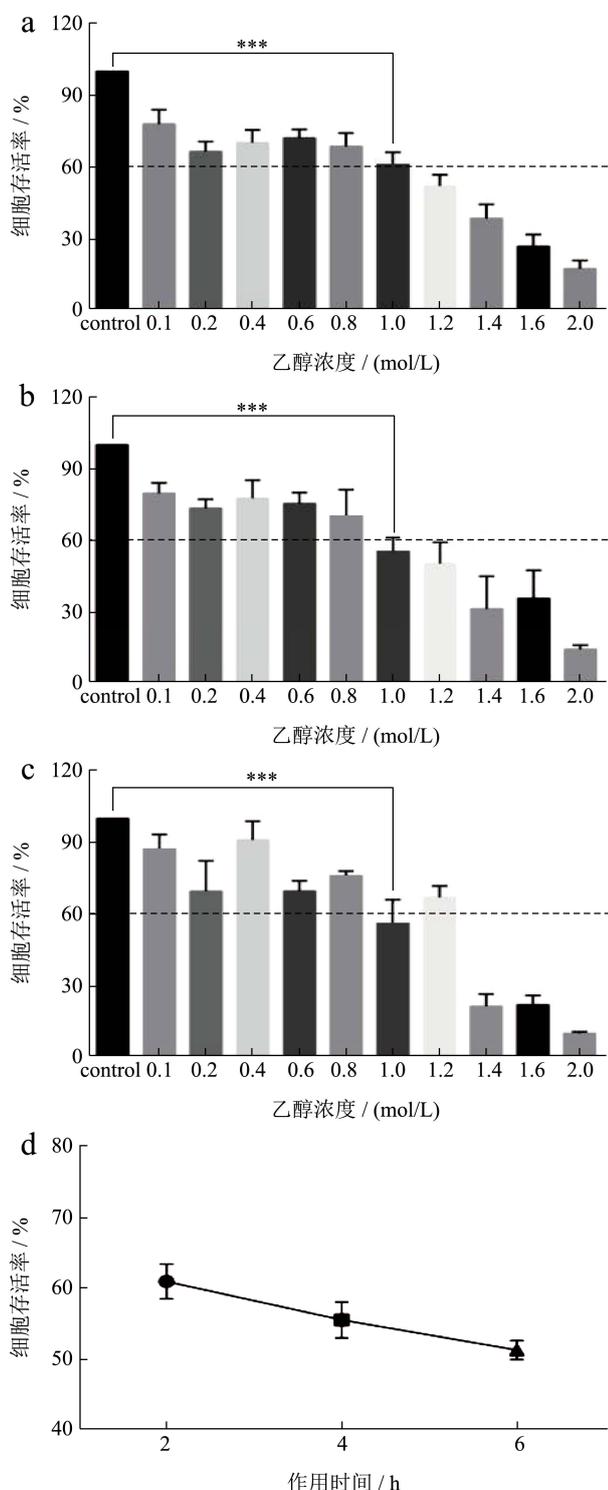


图7 不同乙醇浓度及不同作用时间对细胞存活率的影响

Fig.7 Effect of different ethanol concentrations and different action times on cell survival

注: a: 2 h; b: 4 h; c: 6 h. 所有数值均表示为平均值±SEM

(n=5); 与 control 相比, *** $p < 0.005$ 。

2.3.3 预防乙醇损伤

以样品作用 GES-1 细胞一段时间后以乙醇造模，分析对比细胞存活率的情况，可研究其对乙醇损伤胃黏膜细胞的预防作用，以此评价护胃功效^[28]。如图 8 所示，与空白对照组相比，模型组的细胞存活率明显下降至 55%，说明 1.00 mol/L 乙醇作用 2 h 对 GES-1 细胞具有明显的损伤作用，表明 GES-1 细胞损伤模型造模成功。以 CE、CE+SiO₂ 或 CE+nSiO₂ 作用 GES-1 细胞 24 h，可明显提高受损 GES-1 细胞的存活率 ($p < 0.005$)，并且呈现一定的剂量-效应关系，说明三种样品都具有明显的预防乙醇损伤 GES-1 细胞的作用。在 31.25 μg/mL 浓度下，CE+nSiO₂ 组的细胞存活率为 110%，明显比 CE (90%) 和 CE+SiO₂ (88%) 组更高 ($p < 0.005$)。而在 62.5 μg/mL 和 125 μg/mL 浓度条件下，三个样品组并无明显差异。由此可见，SiO₂ 和 nSiO₂ 对 CE 预防乙醇损伤胃黏膜细胞的功效并无不利影响，而较低浓度的 nSiO₂ 甚至还可增强 CE 对乙醇损伤胃黏膜细胞的预防作用。这与 Zhao Zh 等人^[30]的研究结论一致，表明可以通过样品对乙醇诱导的 GES-1 细胞显示出保护活性来评价样品的护胃功效。Zhang Y 等人研究发现，nSiO₂ 可以有效提高药物的跨膜率^[31]，这可能是 CE 对乙醇诱导胃黏膜细胞保护作用增强的机制之一。

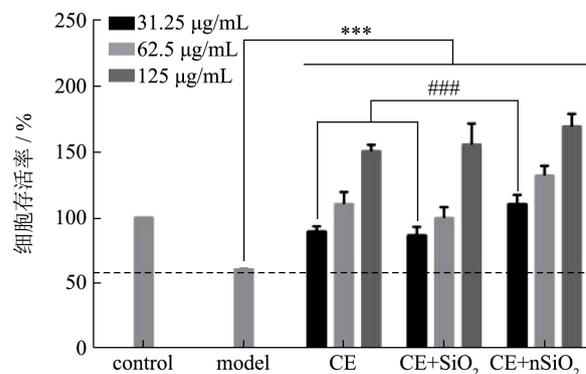


图8 护胃固体饮料对受损 GES-1 细胞存活率的影响

Fig.8 Effect of solid drinks on the cell viability of injured GES-1 cells

注: 所有数值均表示为平均值±SEM (n=5); 与模型组相比, *** $p < 0.005$; 与 CE+nSiO₂ (31.25 μg/mL) 相比, ### $p < 0.005$ 。

3 结论

综上所述，SiO₂ 和 nSiO₂ 均有一定的抗结作用，其中 SiO₂ 的抗结效果略高于 nSiO₂，但二者并无明显差异。SiO₂ 和 nSiO₂ 的添加，对固体饮料促进 GES-1 细胞增殖的功效并无不利影响，同时也不会影响其预防乙醇损伤胃黏膜细胞的功效，并且在浓度为 31.25

$\mu\text{g/mL}$ 时, nSiO_2 还可有助于增强固体饮料的护胃功效。该研究可以为 nSiO_2 的进一步研究及其在功能性食品中的应用提供参考。

参考文献

- [1] Juere E, Del Favero G, Masse F, et al. Gastro-protective protein-silica nanoparticles formulation for oral drug delivery: *in vitro* release, cytotoxicity and mitochondrial activity [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2020, 151: 171-80
- [2] Yu J, Kim Y H, Kim H M, et al. Determination of the fate and biological responses of food additive silica particles in commercial foods [J]. *Food Chem*, 2020, 331: 127304
- [3] Hilty F M, Arnold M, Hilbe M, et al. Iron from nanocompounds containing iron and zinc is highly bioavailable in rats without tissue accumulation [J]. *Nat Nanotechnol*, 2010, 5(5): 374-80
- [4] Magnuson B A, Jonaitis T S, Card J W. A brief review of the occurrence, use, and safety of food-related nanomaterials [J]. *J Food Sci*, 2011, 76(6): 126-33
- [5] Canham L T. Nanoscale semiconducting silicon as a nutritional food additive [J]. *Nanotechnology*, 2007, 18(18): 185704
- [6] Lee J A, Kim M K, Song J H, et al. Biokinetics of food additive silica nanoparticles and their interactions with food components [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2017, 150: 384-92
- [7] Wang Y, Huang M, Sun R, et al. Extraction, characterization of a ginseng fruits polysaccharide and its immune modulating activities in rats with Lewis lung carcinoma [J]. *Carbohydr Polym*, 2015, 127: 215-21
- [8] 杨勇杰,姜瑞芝,陈英红,等.苯酚硫酸法测定杂多糖含量的研究[J].*中成药*,2005,27(6):706-708
YANG Yong-jie, JIANG Rui-zhi, CHEN Ying-hong, et al. Determination of sugars in heteropolysaccharide by phenol-sulfuric acid method [J]. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2005, 27(6): 706-8
- [9] 卜彦花,周娜娜,王春悦,等.福林酚试剂法和紫外分光光度法测定冬枣多酚含量的比较研究[J].*中国农学通报*,2012,1: 212-217
BU Yan-hua, ZHOU Na-na, WANG Chun-yue, et al. Comparative study on determination of total phenolics content of jujube fruit with FC and UV-spectrophotometric method [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2012, 1: 212-217
- [10] 俞卓萍.一款免疫增强型保健饮料的研发及其功能学评价[D].杭州:浙江大学,2015
YU Zhuo-ping. Development and functional evaluation of an immune-enhanced health drink [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2015
- [11] Tonglairoum P, Ngawhirunpat T, Rojanarata T, et al. The utilization of surface free energy for predicting flowability of filler-lubricant or filler-glidant mixtures [J]. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2017, 78(6): 834-839
- [12] 薛少.石榴沙棘复合果粉食品开发及其工厂设计[D].西安:陕西师范大学,2016
XUE Shao. Food development and plant design of pomegranate sea buckthorn compound fruit powder [D]. Xi'an: Shanxi Normal University, 2016
- [13] 磨正遵.山楂果粉固体饮料的工艺研究[D].大连:大连工业大学,2018
MO Zheng-zun. Study on the technology of hawthorn fruit powder solid beverage [D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2018
- [14] 刘翠玲,黄可儿,陈柏书.乙醇诱导人胃上皮细胞株凋亡的研究[J].*中药新药与临床药理*,2014,25(1):101-106
LIU Cui-ling, HUANG Ke-er, CHEN Bai-shu. Study on ethanol-induced apoptosis of human gastric epithelial cell lines [J]. *Traditional Chinese Drug Research and Clinical Pharmacology*, 2014, 25(1): 101-106
- [15] Pirvu L, Bubueanu C, Panteli M, et al. *Centaurea cyanus* L. polysaccharides and polyphenols cooperation in achieving strong rat gastric ulcer protection [J]. *Open Chemistry*, 2015, 13(1): 910-921
- [16] Zhang C, Gao F, Gan S, et al. Chemical characterization and gastroprotective effect of an isolated polysaccharide fraction from *Bletilla striata* against ethanol-induced acute gastric ulcer [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2019, 131: 110539
- [17] Fu J, Wang Z, Huang L, et al. Review of the botanical characteristics, phytochemistry, and pharmacology of *Astragalus membranaceus* (Huangqi) [J]. *Phytother Res*, 2014, 28(9): 1275-1283
- [18] Kolodziejczyk-czepas J, Bijak M, Saluk J, et al. Radical scavenging and antioxidant effects of *Matricaria chamomilla* polyphenolic-polysaccharide conjugates [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2015, 72: 1152-1158
- [19] Ni W H, Zhang X, Wang B, et al. Antitumor activities and immunomodulatory effects of ginseng neutral polysaccharides in combination with 5-fluorouracil [J]. *J Med Food*, 2010, 13(2): 270-277
- [20] Silverberg J, Lehr J R, Hoffmeister G. Fertilizer

- caking, microscope study of the mechanism of caking and its prevention in some granular fertilizers [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1958, 6(6): 442-448
- [21] Nortuy N, Suthapakti K, Utama-ang N. Effects of maltodextrin and silicon dioxide added as anticaking agents on the properties of instant date palm (*Phoenix dactylifera* L.) powder using spray drying [J]. Journal of Advanced Agricultural Technologies, 2018, 5(2): 86-92
- [22] Wittig A, Gehrke H, Del Favero G, et al. Amorphous silica particles relevant in food industry influence cellular growth and associated signaling pathways in human gastric carcinoma cells [J]. Nanomaterials (Basel), 2017, 7(1): 18
- [23] 王雯. 纳米颗粒的细胞毒性实验研究[D]. 长春: 吉林大学, 2009.
- WANG Wen, Study on cytotoxicity of nanoparticles [D]. Changchun: Jilin University, 2009
- [24] Yang Y X, Song Z M, Cheng B, et al. Evaluation of the toxicity of food additive silica nanoparticles on gastrointestinal cells [J]. Journal of Applied Toxicology, 2014, 34(4): 424-435
- [25] 邵梦茹. 猴头菇多糖对胃肠黏膜保护作用的实验研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2014
- SHAO Meng-ru. Experimental study on protective effect of *Hericium erinaceus* polysaccharide on gastrointestinal mucosa [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2014
- [26] Garewal H, Payne S M C, Bernstein C, et al. Bile acids as carcinogens in human gastrointestinal cancers [J]. Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology, 2005, 589(1): 47-65
- [27] 孙向红, 戚欣. MNNG 诱导 GES-1 细胞恶性转化细胞模型的建立[J]. 齐鲁医学杂志, 2013, 28(2): 115-116, 120
- SUN Xiang-hong, QI Xin. Creation of nitrosamine compounds MNNG induced GES-1 cell model of malignant transformation [J]. Qilu Medical Journal, 2013, 28(2): 115-116, 120
- [28] 秦书敏. 黄芪甲苷对乙醇诱导的大鼠胃粘膜损伤的保护作用及机制研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2017
- QIN Shu-min. Study on the Protective effect and mechanism of astragaloside IV on gastric mucosal injury induced by alcohol in rats [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2017
- [29] 刘翠玲. 黄芪苷类对乙醇诱导 GES-1 细胞株损伤的保护及机制研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2014
- LIU Cui-ling. Astragaloside's protection and mechanism of ethanol-induced GES-1 cell line damage [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2014
- [30] Zhao Z, Gong S, Wang S, et al. Effect and mechanism of evodiamine against ethanol-induced gastric ulcer in mice by suppressing Rho/NF-small ka, CyrillicB pathway [J]. Int Immunopharmacol, 2015, 28(1): 588-595
- [31] Zhang Y, Wang J, Bai X, et al. Mesoporous silica nanoparticles for increasing the oral bioavailability and permeation of poorly water soluble drugs [J]. Mol Pharm, 2012, 9(3): 505-513

(上接第 128 页)

- [16] GE Ge, HAN Yu-wei, ZHENG Jia-bao, et al. Physicochemical characteristics and gel-forming properties of myofibrillar protein in an oxidative system affected by partial substitution of NaCl with KCl, MgCl₂ or CaCl₂ [J]. Food Chemistry, 2020, 309: 125614
- [17] Hayakawa S, Nakai S. Relationships of hydrophobicity and net charge to the solubility of milk and soy protein [J]. Journal of Food Science, 1985, 50(2): 486-491
- [18] 许晶, 齐宝坤, 赵青山, 等. 大豆分离蛋白结构特性与表面疏水性关系[J]. 中国粮油学报, 2015, 30(8): 32-41
- XU Jing, QI Bao-kun, ZHAO Qing-shan, et al. Relationship between structural properties and surface hydrophobicity of soybean protein isolate [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2015, 30(8): 32-41