

# 雪菊乙醇提取物对丙烯酰胺所致肝损伤的保护作用

高娟娟, 李爽, 马瑞, 邵蕾, 谢艾迪, 王祯, 赵怡, 黎钰欣, 韩海霞\*

(新疆农业大学食品科学与药学院, 新疆乌鲁木齐 830052)

**摘要:** 该研究探讨雪菊乙醇提取物对 ACR 所致人肝癌 HepG<sub>2</sub> 细胞损伤及小鼠肝损伤的保护作用。以细胞存活率评价雪菊乙醇提取物对 HepG<sub>2</sub> 细胞损伤的保护作用, 以小鼠体重变化、肝功能和肝脏病理切片结果评价雪菊乙醇提取物对小鼠肝损伤的保护作用, 并测定氧化指标探讨保护作用机制。结果显示, 雪菊乙醇提取物(2.00 mg/mL)预孵育可使 ACR 致毒的 HepG<sub>2</sub> 细胞存活率增加 12.81%, 细胞内活性氧 (ROS) 和丙二醛 (MDA) 分别降低了 57.67%、4.68 nmol/mg, 超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性分别提高了 4.68、10.48、13.81 U/mg。雪菊乙醇提取物低 (0.25 g/kg)、中 (0.5 g/kg)、高剂量 (1.0 g/kg) 组小鼠体重增长率是 ACR 组的 2.2~2.5 倍。高剂量组小鼠血清谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST) 分别降低了 27.76、46.79 U/L, MDA 降低了 1.86 nmol/mg, SOD、GSH-Px 分别提高了 56.73、330.44 U/mg; 肝组织 HE 染色结果显示, 雪菊乙醇提取物可改善肝小叶结构和肝细胞形态, 减轻小鼠肝组织损伤。综上所述, 雪菊乙醇提取物能够阻止 ACR 对 HepG<sub>2</sub> 细胞和小鼠肝组织的损伤, 其作用机制与抗氧化能力有关。

**关键词:** 雪菊; 丙烯酰胺; HepG<sub>2</sub> 细胞; 肝毒性; 抗氧化机制

文章编号: 1673-9078(2022)08-17-26

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.8.0273

## Protective Effect of *Coreopsis tinctoria* Nutt. Ethanol Extract against Acrylamide-induced Liver Injury

GAO Juanjuan, LI Shuang, MA Rui, SHAO Lei, XIE Aidi, WANG Zhen, ZHAO Yi, LI Yuxin, HAN Haixia\*

(College of Food Science and Pharmacy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China)

**Abstract:** The ethanol extract of *Coreopsis tinctoria* Nutt. was applied to human hepatocellular carcinoma HepG<sub>2</sub> cells and mouse liver to evaluate its protective effect against acrylamide (ACR)-induced injury. Cell survival rate was used to evaluate the protective effect of *C. tinctoria* ethanol extract against HepG<sub>2</sub> cell injury, whereas body weight change, liver function, and liver pathological sections were used to evaluate the protective effect of *C. tinctoria* ethanol extract against mouse liver injury. Antioxidant indices were also determined to evaluate the underlying protective mechanisms. The results indicated that after preincubation with *C. tinctoria* ethanol extract (2.00 mg/mL), the survival rate of ACR-injured HepG<sub>2</sub> cells increased by 12.81%; intracellular reactive oxygen species (ROS) and malondialdehyde (MDA) decreased by 57.67% and 4.68 nmol/mg, respectively; and superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and glutathione peroxidase (GSH-Px) levels increased by 4.68, 10.48, and 13.81 U/mg, respectively. The weight gain of mice in the low-dose (0.25 g/kg), medium-dose (0.25 g/kg), and high-dose (0.25g/kg) groups of *C. tinctoria* ethanol extract were 2.2~2.5 times that of the ACR group. In the high-dose group (1.0 g/kg), serum alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) decreased by 27.76 and 46.79 U/L, respectively; MDA decreased by 1.86 nmol/mg, whereas SOD and GSH-Px increased by 56.73 and 330.44 U/mg, respectively. Hematoxylin and eosin staining results of liver tissue showed that the hepatic lobule structure and hepatocyte morphology of mice had improved to varying degrees with low, medium, and high doses of *C. tinctoria* ethanol extract, with significant alleviation of the injury to liver tissue. In conclusion, *C. tinctoria* ethanol extract could prevent the

引文格式:

高娟娟,李爽,马瑞,等.雪菊乙醇提取物对丙烯酰胺所致肝损伤的保护作用[J].现代食品科技,2022,38(8):17-26

GAO Juanjuan, LI Shuang, MA Rui, et al. Protective Effect of *Coreopsis tinctoria* Nutt. ethanol extract against acrylamide-induced liver injury [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(8): 17-26

收稿日期: 2022-03-13

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金项目 (2019D01A55)

作者简介: 高娟娟 (1999-), 女, 研究生在读, 研究方向: 食品营养, E-mail: 2451310861@qq.com

通讯作者: 韩海霞 (1979-), 博士, 副教授, 研究方向: 食品药品安全性评价, 体内药物代谢与转运, E-mail: 7939524@qq.com

ACR-induced injury of HepG<sub>2</sub> cells and mouse liver tissue, and the underlying mechanism was related to its antioxidant capacity.

**Key words:** *Coreopsis tinctoria* Nutt.; acrylamide; HepG<sub>2</sub> cells; hepatotoxicity; anti-oxidation mechanism

丙烯酰胺 (acrylamide, ACR) 由高脂肪、高淀粉食品在高温加工过程发生美拉德反应而产生<sup>[1]</sup>。目前, ACR 的神经毒性、遗传毒性、免疫毒性、肝毒性及潜在致癌性已被证实<sup>[2,3]</sup>。早在 1994 年, ACR 就被国际癌症研究机构认定为“2A 类可能致癌物”<sup>[4]</sup>。然而, 在某些食品加工过程中不可避免地产生 ACR, 并随食物一起被人们食用。因此寻找可拮抗 ACR 毒性的天然产物具有重要意义。有研究结果显示, 一些天然抗氧化剂可拮抗 ACR 诱发的神经、肝脏、肠组织细胞毒性, 如灵芝多糖、蓝莓花色苷、山药多糖、原花青素、矢车菊-3-葡萄糖、水飞蓟素、发酵火麻仁蛋白粉等, 其机制均与抗氧化应激有关<sup>[5-13]</sup>。由此可见, 利用天然抗氧化剂拮抗 ACR 引起的体内氧化应激损伤, 是拮抗食源性 ACR 的重要途径。

雪菊 (*Coreopsis tinctoria* Nutt.), 学名两色金鸡菊、蛇目菊, 为菊科金鸡菊属多年生草本植物的干燥头状花序, 可作为药食两用类原料用于食品和药物的开发与应用。研究发现, 雪菊富含总黄酮、蛋白质、酚类等多种活性物质, 具有抗炎、降脂、降压、降糖、抗凝血、抗氧化、抗病毒等生理活性<sup>[14]</sup>。研究表明雪菊乙醇提取物具有较强的抗氧化活性, 其中所含的奥卡宁和异奥卡宁对 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH) 自由基清除率的 EC<sub>50</sub> 分别为 6.2、10.6 μmol/L, 远远高于维生素 C 等阳性对照物<sup>[15]</sup>, 且有研究表明雪菊中原花青素对 CCl<sub>4</sub> 所致小鼠急性肝损伤有一定保护作用<sup>[16]</sup>。具有强抗氧化活性的雪菊乙醇提取物是否对 ACR 所致肝损伤有保护作用值得探讨。因此, 本实验利用 ACR 诱导人肝癌 HepG<sub>2</sub> 细胞毒性, 建立细胞损伤模型, 采用 MTT 法检测雪菊乙醇提取物对 ACR 致 HepG<sub>2</sub> 细胞损伤模型存活率的影响, 同时, 利用 ACR 诱导小鼠肝损伤, 探讨雪菊乙醇提取物对 ACR 诱导小鼠肝损伤的保护作用及机制。本研究为雪菊对 ACR 致肝损伤的保护作用的进一步研究以及雪菊利用价值的深度开发提供一定的理论依据。

## 1 材料、仪器与方法

### 1.1 材料与试剂

雪菊购于新疆乌鲁木齐北园春干果市场, 源于和田皮山县, 由新疆农业大学食品科学与药学院朱金芳教授鉴定。

清洁级 ICR 雄性小鼠, 购于新疆医科大学实验动

物中心, 许可证号: SYXK (新) 2018-0003, 体重 18~22 g, 实验室条件下适应性喂养 4 d 后, 用于正式实验。

人肝癌细胞株 HepG<sub>2</sub>, 由新疆农业大学细胞与分子实验室包晓玮教授提供; 胎牛血清, 美国 Hyclone 公司; N-乙酰半胱氨酸 (N-acetyl-L-cysteine, NAC), 上海源叶生物科技有限公司; 丙烯酰胺, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 双抗 (青霉素和链霉素)、2',7'-二氢二氯荧光素二乙酸酯 (2',7'-Dichlorodihydrofluorescein diacetate, DCFH-DA)、色谱甲醇、色谱乙腈, 美国 Sigma 公司; 噻唑蓝 (methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide, MTT)、细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒、谷丙转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶 (aspartate aminotransferase, AST)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶 (catalase, CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶活性 (glutathione peroxidase, GSH-Px) 及 BCA 蛋白浓度测定试剂盒, 南京建成生物工程研究所; 其余试剂均为国产分析纯。

### 1.2 仪器设备

SW-CJ-2FD 型双人单面净化工作台, 中国苏州净化设备有限公司; ZWY-200D 型恒温培养振荡器, 上海智能分许仪器制造有限公司; BIONOON-VAC3 型低温冷冻浓缩机, 上海般诺生物科技有限公司; AE-31 型数码倒置显微镜, 中国厦门麦克奥迪公司; AL204-IC 型电子天平, 梅特勒-托多利仪器有限公司; Shellab 型二氧化碳培养箱, 美国希尔顿公司; xMark™ 型酶标仪, 伯乐生命医学产品有限公司厂; SF-GL-16A 型高速离心机, 上海菲恰尔分析仪器有限公司; KQ-250DE 型超声波清洗器, 昆山超声仪器有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 雪菊乙醇提取物的制备

准确称取 500 g 雪菊, 于 40 °C 干燥 4 h。加 10 L 70%乙醇, 常温浸泡 2 h, 过滤, 滤渣再加 7.5 L 70%乙醇浸提两次, 三次滤液合并后真空浓缩, 浓缩液经冷冻干燥后得雪菊乙醇提取物。参考文献方法<sup>[17]</sup>测得其中总黄酮含量为 18.3%。

#### 1.3.2 雪菊乙醇提取物对 ACR 致 HepG<sub>2</sub> 细胞损伤的保护作用

### 1.3.2.1 细胞培养、预处理及分组

按参考文献<sup>[7]</sup>方法并稍加改动,细胞预处理及分组如下:空白组(正常培养的 HepG<sub>2</sub> 细胞);ACR 损伤模型组(ACR 组, HepG<sub>2</sub> 细胞经 ACR 溶液孵育 24 h);阳性药对照组(NAC 组,即 HepG<sub>2</sub> 细胞先用 NAC 溶液孵育 6 h,再用 ACR 溶液孵育 24 h);雪菊低、中、高浓度组(HepG<sub>2</sub> 细胞先用不同浓度的雪菊溶液孵育 6 h,再用 ACR 溶液孵育 24 h)。

### 1.3.2.2 ACR 致 HepG<sub>2</sub> 细胞损伤模型的建立

按参考文献<sup>[7,13]</sup>并稍加改动,将处于对数生长期的 HepG<sub>2</sub> 细胞接种于 96 孔板,细胞密度为 1×10<sup>4</sup> cells/mL,过夜培养,分别向孔中加入用不含血清培养基配置的不同浓度的 ACR 溶液(1.25、2.50、5.00、10.00、20.00 mmol/L) 100 μL 作为 ACR 组,每个浓度平行 3 个孔,同时,留 3 个孔加 100 μL 不含血清的培养基作为空白组(不加 ACR 溶液的细胞),37 °C 孵育 24 h 后,各孔加 MTT 溶液 20 μL 继续孵育 4 h 后,吸出各孔溶液并弃去,加 DMSO 150 μL,避光条件下震荡 10 min (100 r/min),用酶标仪在 570 nm 处测定不同浓度模型组和空白组的 OD 值,将 OD 值代入公式(1)计算各组细胞存活率,根据细胞存活程度确定建立 HepG<sub>2</sub> 细胞损伤模型的 ACR 浓度。

$$\text{细胞存活率}/\% = \frac{\text{OD}_1}{\text{OD}_2} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

OD<sub>1</sub>——添加了不同浓度 ACR 溶液的各孔吸光度值;

OD<sub>2</sub>——空白对照组的吸光度值。

### 1.3.2.3 雪菊乙醇提取物对 HepG<sub>2</sub> 细胞增殖的影响

将处于对数生长期的 HepG<sub>2</sub> 细胞接种于 96 孔板,细胞密度为 1×10<sup>4</sup> cells/mL,过夜培养,分别向孔中加入用不含血清培养基配置的不同浓度的雪菊乙醇提取物溶液(0.125、0.25、0.50、1.00、2.00 mg/mL)作为实验组,每个浓度平行 3 个孔,同时,留 3 个孔加 100 μL 不含血清的培养基作为空白组(不加雪菊乙醇提取物),37 °C 孵育 24 h 后,按“1.3.2.2”项下 MTT 法测定不同浓度雪菊乙醇提取物实验组和空白组的 OD 值,并按公式(2)计算细胞存活率,根据细胞存活程度确定加入的雪菊乙醇提取物浓度。

$$\text{细胞存活率}/\% = \frac{\text{OD}_3}{\text{OD}_4} \times 100\% \quad (2)$$

式中:

OD<sub>3</sub>——添加了不同浓度雪菊乙醇提取物溶液的各孔吸光度值;

OD<sub>4</sub>——空白对照组的吸光度值。

### 1.3.2.4 雪菊乙醇提取物对 ACR 所致 HepG<sub>2</sub> 细胞损伤

模型存活率的影响

按“1.3.2.1”项下方法培养细胞以及进行细胞预处理和分组后,按“1.3.2.3”项下方法操作,采用 MTT 法测定空白组、ACR 组、NAC 组(浓度 1.50 mg/mL)和雪菊乙醇提取物低、中、高浓度组(0.50、1.00、2.00 mg/mL)的 OD 值,并按公式(3)计算细胞存活率,根据细胞存活率考察雪菊乙醇提取物对 ACR 诱导 HepG<sub>2</sub> 细胞毒性的保护作用。

$$\text{细胞存活率}/\% = \frac{\text{OD}_5}{\text{OD}_6} \times 100\% \quad (3)$$

式中:

OD<sub>5</sub>——ACR 组、NAC 组和雪菊低、中、高浓度组的吸光度值;

OD<sub>6</sub>——空白对照组的吸光度值。

### 1.3.2.5 雪菊乙醇提取物对 ACR 所致 HepG<sub>2</sub> 细胞损伤下氧化应激生物标志物的影响

按细胞密度为 5×10<sup>4</sup> cells/mL 将 HepG<sub>2</sub> 细胞接种于 12 孔板,每孔 1 mL,置于培养箱(37 °C、5% CO<sub>2</sub>)中培养 24 h 后,按“1.3.2.1”项下方法进行细胞预处理和分组,得到空白组、ACR 组、NAC 组(1.50 mg/mL)和雪菊低、中、高浓度组(0.50、1.00、2.00 mg/mL),各组 37 °C 孵育 24 h 后,移去培养基,用不含血清的培养基清洗 3 次,避光条件下每孔加入以不含血清的培养基配制的 DCFH-DA 溶液 1 mL,浓度为 10.00 μmol/L,避光孵育 30 min 后,移去孔中溶液,用不含血清的培养基充分清洗 3 次,再向各孔加 RIPA 缓冲液,反复吹打均匀后,收集细胞悬浮液,离心 15 min (13000 r/min),收集上清液后,采用酶标仪检测荧光强度,用 BCA 法测定每孔裂解液中蛋白总量,以每孔蛋白总量校正荧光强度,以各组荧光强度与空白对照组荧光强度比值考察细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)相对水平。

按上述方法,除不加荧光探针 DCFH-DA 外,同法操作如培养细胞、各组预处理与孵育、细胞裂解、收集细胞、离心后,按 MDA、CAT、SOD 和 GSH-Px 试剂盒操作说明测定 MDA、CAT、SOD 和 GSH-Px,用 BCA 法测定每孔裂解液中蛋白总量,以每孔蛋白总量校正各指标值。

### 1.3.3 雪菊乙醇提取物对 ACR 所致小鼠肝损伤的保护作用

#### 1.3.3.1 动物分组及给药方法

健康 ICR 小鼠分为 6 组,每组 10 只,分别为空白组(灌胃 0.5%羧甲基纤维素钠)、ACR 模型组(灌胃 25 mg/kg ACR)、雪菊低剂量组(灌胃 25 mg/kg ACR+0.25 g/kg 雪菊乙醇提取物)、雪菊中剂量组(灌

胃 25 mg/kg ACR+0.5 g/kg 雪菊乙醇提取物)、雪菊高剂量组(灌胃 25 mg/kg ACR+1.0 g/kg 雪菊乙醇提取物)、阳性药对照组(NAC 组,灌胃 25 mg/kg ACR+320 mg/kg NAC)。连续给药 28 d。

### 1.3.3.2 样品采集与处理

实验结束前禁食不禁水 12 h,摘眼球取血,常规分离制备血清,备用。同时快速剥离肝脏,称重记录,-80 °C 保存备用。

### 1.3.3.3 雪菊乙醇提取物对 ACR 所致小鼠肝损伤保护作用的指标测定

参照试剂盒说明书测定小鼠血清 ALT、AST 活力。肝脏组织匀浆后,参照试剂盒说明书检测 MDA 含量, SOD、GSH-Px 活性。

### 1.3.3.4 HE 染色法观察肝脏组织病理变化

将新鲜的肝脏组织取出后立即浸没在组织固定液内 24 h,无水乙醇脱水后,石蜡包埋并进行切片,HE 常规染色,显微镜观察肝脏组织的病理学变化。

### 1.3.4 数据处理

运用 GraphPad Prism 5.0 对实验数据进行单因素方差分析(One-way ANOVA),图表采用 GraphPad Prism 5.0 绘制,结果以平均值±标准误差(Mean±SD)表示。

## 2 结果与讨论

### 2.1 雪菊乙醇提取物对 ACR 所致 HepG<sub>2</sub> 细胞

#### 损伤的保护作用

#### 2.1.1 不同浓度 ACR 对 HepG<sub>2</sub> 细胞存活率的影响

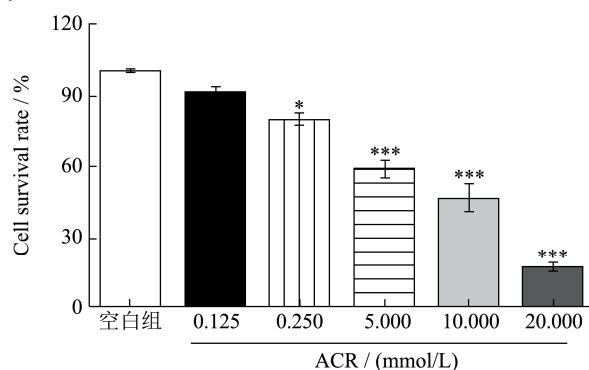


图 1 ACR 对 HepG<sub>2</sub> 细胞存活率的影响

Fig.1 Effect of ACR on the survival rate of HepG<sub>2</sub> cell

注:与空白组相比,“\*”为差异显著( $p < 0.05$ );“\*\*”为差异较显著( $p < 0.01$ );“\*\*\*”为差异极显著( $p < 0.001$ )。

HepG<sub>2</sub> 细胞经 1.25、2.50、5.00、10.00、20.00 mmol/L 的 ACR 孵育 24 h 后,细胞存活率结果如图 1 所示。由图可知,与空白组相比,当 ACR 浓度为

0.25~20.00 mmol/L 时,均对细胞产生毒性,且随着浓度的增加,HepG<sub>2</sub> 细胞存活率明显降低,尤其经 5.00、10.00 mmol/L ACR 处理以后,细胞死亡达 41.33%、53.97% ( $p < 0.001$ )。经计算,0.125~20.00 mmol/L 浓度范围内,ACR 处理 24 h 致 HepG<sub>2</sub> 细胞损伤的半数致死剂量(median lethal dose, LD<sub>50</sub>)为 8.00 mmol/L,对比李亮等<sup>[8]</sup>研究 ACR 对 HepG<sub>2</sub> 细胞的毒性作用选用剂量,故本实验选用 8.00 mmol/L ACR 诱导 HepG<sub>2</sub> 细胞建立细胞损伤模型。

#### 2.1.2 不同浓度雪菊乙醇提取物对 HepG<sub>2</sub> 细胞增殖的影响

本实验以雪菊乙醇提取物为研究对象,利用 MTT 法检测其对 HepG<sub>2</sub> 细胞增殖的影响,结果如图 2 所示。与空白组相比,HepG<sub>2</sub> 细胞在不同浓度(0.125、0.25、0.50、1.00、2.00 mg/mL)雪菊乙醇提取物的作用下,其存活率并未受到影响( $p > 0.05$ ),表明雪菊乙醇提取物在此范围内未对 HepG<sub>2</sub> 细胞产生细胞损伤,属于安全浓度范围,因此,选择 0.50、1.00、2.00 mg/mL 分别为雪菊乙醇提取物的低、中、高浓度,评价其对 ACR 诱导 HepG<sub>2</sub> 细胞损伤的保护作用。

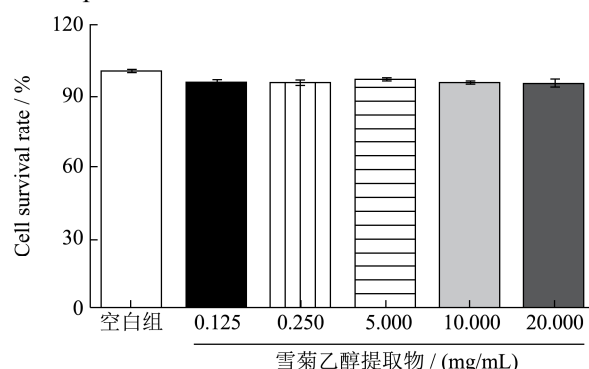


图 2 雪菊乙醇提取物对 HepG<sub>2</sub> 细胞存活率的影响

Fig.2 Effect of *C. tinctoria* ethanol extract on the survival rate of HepG<sub>2</sub> cells

注:与空白组相比, $p > 0.05$  为无显著差异。

#### 2.1.3 雪菊乙醇提取物对 ACR 所致 HepG<sub>2</sub> 细胞损伤的保护作用

由表 2 可知,各组细胞经 ACR 处理 4、8、16、24 h 后,与空白组相比,HepG<sub>2</sub> 细胞的存活率明显下降( $p < 0.05$ ),四个时间段下细胞损伤率分别为 11.20%、39.70%、46.70%、51.37%,提示随着与 ACR 共同孵育时间的延长,HepG<sub>2</sub> 细胞的损伤率也逐渐增加,尤其孵育 24 h 时,损伤率达到 50% 以上。而 NAC (1.50 mg/mL) 对 HepG<sub>2</sub> 细胞预处理 8 h,细胞存活率达到 70.67%,对 ACR 所致细胞损伤表现出明显的保护作用( $p < 0.05$ ),当预处理达 16 h,可使细胞存活率增加 20.37%,雪菊乙醇提取物高浓度组(2.00 mg/mL)预

处理 4 h 起,即可使细胞存活率达到 98.77%,对 ACR 所致细胞损伤表现出较为明显的保护作用 ( $p<0.05$ ),且随着时间的延长,雪菊乙醇提取物中浓度 (1.00 mg/mL) 和高浓度 (2.00 mg/mL) 也逐渐表现出更加明显的保护作用 ( $p<0.01$ )。ACR 孵育 24 h, ACR 组 HepG<sub>2</sub> 细胞存活率降至 48.63%,而雪菊乙醇提取物中、高浓度组使细胞存活率分别维持在 60.37%、61.43%。郝瑞芳等<sup>[18]</sup>研究表明 ACR 对 HepG<sub>2</sub> 细胞的损伤作用与 ACR 浓度和孵育时间呈正相关性,用 ACR 对 HepG<sub>2</sub> 细胞孵育 0~12 h,细胞存活率也随孵育时间的延长而逐渐下降,本实验结果和“3.1.1”实验结果也表明随着 ACR 浓度和孵育时间的增加,细胞损伤率也呈上升趋势,与郝瑞芳等的结果一致。而雪菊乙醇提取物中、高浓度组可使细胞存活率明显提高,且随着孵育时间的增加,细胞存活率相比于 ACR 组,可增加 10%~15%,表明雪菊乙醇提取物对 ACR 诱导的 HepG<sub>2</sub> 细胞损伤具有一定保护作用。有文献表明<sup>[19]</sup>,黄酮类化合物对 ACR 的毒性有干预作用,沈洋等<sup>[20]</sup>证明黄酮类化合物杨梅素对 ACR 所致小肠上皮细胞的毒性有保护作用。雪菊总黄酮含量高,约为 11%~21%<sup>[21]</sup>,本文制得的雪菊乙醇提取物中总黄酮含量为 18.3%,提示雪菊乙醇提取物对 ACR 所致 HepG<sub>2</sub> 细胞损伤的保护作用可能与其中黄酮类化合物有关。另外,也有文献报道,ACR 通过氧化应激损伤产生细胞毒性<sup>[8,11]</sup>,雪菊提取物对细胞损伤的保护作用是否与阻断 ACR 引起的氧化损伤有关,有待进一步研究。

### 2.1.4 氧化指标的测定

#### 2.1.4.1 ROS 相对水平

当细胞内 ROS 积累到一定水平,可导致细胞发生氧化应激现象,导致细胞氧化损伤,因此,考察细胞是否发生了氧化损伤的首要指标就是检测细胞内 ROS 水平<sup>[22]</sup>。ROS 相对水平采用荧光探针 DCFH-DA

法测定,结果如图 3 所示。由图 3 可知,与空白组相比,ACR 可引起细胞内 ROS 相对水平显著增加 ( $p<0.001$ )。与 ACR 组相比,阳性药 NAC 显著降低 HepG<sub>2</sub> 细胞内 ROS 相对水平 ( $p<0.001$ ),雪菊乙醇提取物中浓度 (1.00 mg/mL)、高浓度 (2.00 mg/mL) 尤其高浓度能够使 HepG<sub>2</sub> 细胞内 ROS 相对水平显著降低 57.67% ( $p<0.01$ )。曹菲薇等<sup>[23]</sup>研究表明阿胶可通过抑制 ROS 的生成发挥对 ACR 诱导的斑马鱼胚胎损伤的保护作用。沈洋<sup>[20]</sup>实验也表明 ACR 使 Caco-2 细胞内 ROS 荧光强度急剧增加,而给予杨梅素处理,ROS 荧光强度降低 58%。本实验结果也证明 ACR 会刺激 HepG<sub>2</sub> 细胞内 ROS 大量增加,而雪菊乙醇提取物可大量减少因 ACR 导致的胞内 ROS 产生和积聚,提示雪菊乙醇提取物可能通过阻断 ACR 致胞内 ROS 水平的升高而发挥 HepG<sub>2</sub> 细胞保护作用。

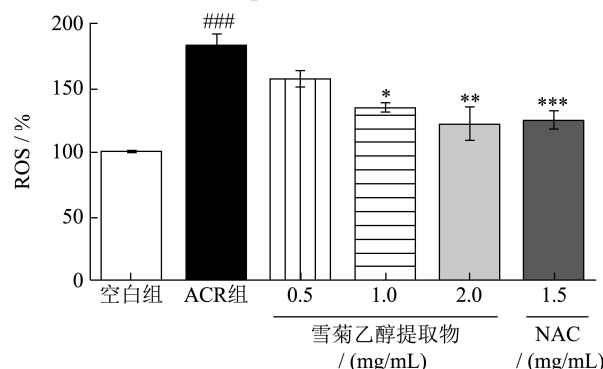


图 3 雪菊乙醇提取物对 ACR 所致 HepG<sub>2</sub> 细胞损伤下 ROS 相对水平的影响

Fig.3 Effect of *C. tinctoria* ethanol extract on ROS relative levels in ACR - induced HepG<sub>2</sub> cell

注:与空白组相比,“#”为差异显著 ( $p<0.05$ ),“###”为差异较显著 ( $p<0.01$ );“####”为差异极显著 ( $p<0.001$ );与模型组相比,“\*”为差异显著 ( $p<0.05$ );“\*\*”为差异较显著 ( $p<0.01$ );“\*\*\*”为差异极显著 ( $p<0.001$ ),下同。

表 1 雪菊乙醇提取物对 ACR 所致 HepG<sub>2</sub> 细胞损伤的保护作用

Table 1 Protective effects of *C. tinctoria* ethanol extract on ACR - induced HepG<sub>2</sub> cell

分组	HepG <sub>2</sub> 细胞存活率/%			
	4 h	8 h	16 h	24 h
空白组	99.87±0.58	100.17±0.58	99.97±0.78	100.20±0.36
ACR 组	88.80±5.55 <sup>#</sup>	60.30±4.65 <sup>####</sup>	53.30±3.29 <sup>####</sup>	48.63±2.44 <sup>####</sup>
NAC 组	95.23±2.10	70.67±4.47 <sup>*</sup>	73.67±1.46 <sup>***</sup>	65.57±5.17 <sup>***</sup>
雪菊乙醇提取物低浓度组	86.80±5.56	61.53±3.23	60.87±2.15	50.73±2.75
雪菊乙醇提取物中浓度组	94.20±2.99	68.27±1.20	62.93±1.98 <sup>*</sup>	60.37±1.06 <sup>**</sup>
雪菊乙醇提取物高浓度组	98.77±1.00 <sup>*</sup>	73.97±1.62 <sup>**</sup>	68.63±6.64 <sup>**</sup>	61.43±2.25 <sup>**</sup>

注:与空白组相比,“#”为差异显著 ( $p<0.05$ ),“###”为差异较显著 ( $p<0.01$ );“####”为差异极显著 ( $p<0.001$ );与模型组相比,“\*”为差异显著 ( $p<0.05$ );“\*\*”为差异较显著 ( $p<0.01$ );“\*\*\*”为差异极显著 ( $p<0.001$ )。



2.1.4.2 MDA、CAT、SOD 和 GSH-Px 的测定

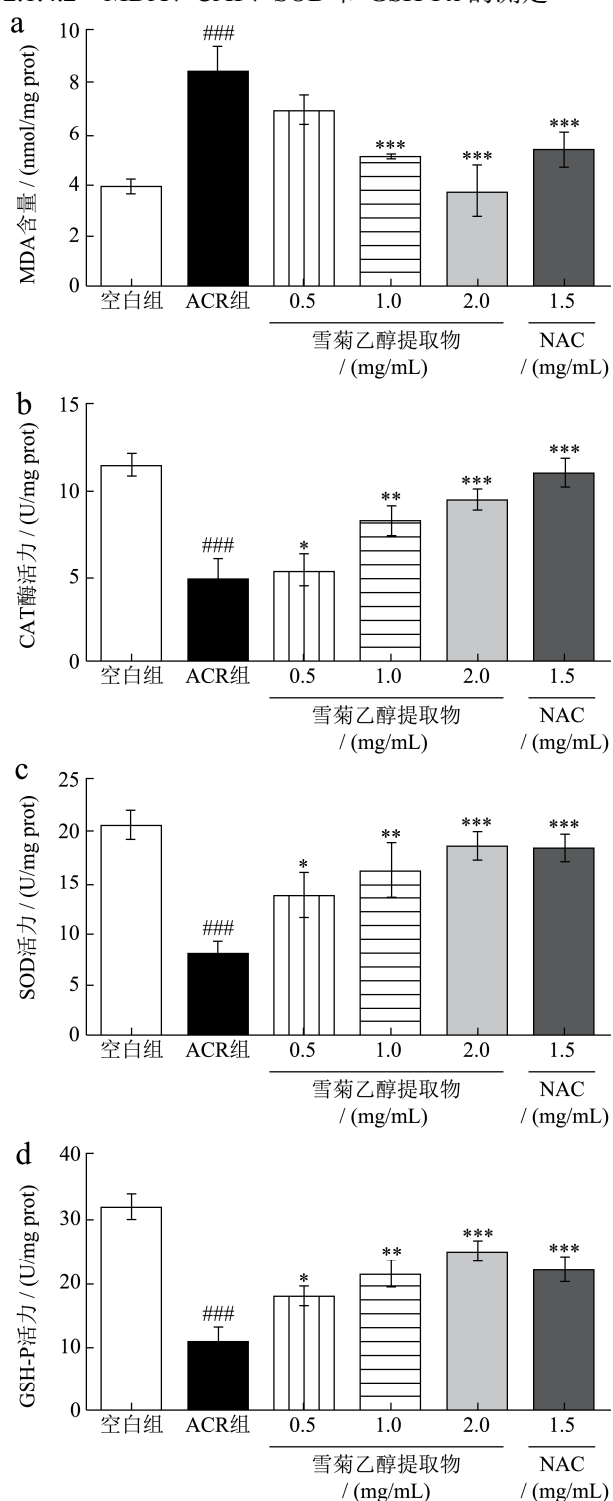


图4 雪菊乙醇提取物对 ACR 致 HepG<sub>2</sub> 细胞损伤下 MDA (a)、CAT (b)、SOD (c) 和 GSH-Px (d) 水平的影响

Fig.4 Effect of *C. tinctoria* ethanol extract on MDA (a), CAT (b), SOD (c) and GSH-Px (d) levels in ACR – induced HepG<sub>2</sub> cell

测定细胞内 MDA 含量，是为考察机体脂质过氧化程度，从而间接评价细胞氧化损伤程度。CAT、SOD 和 GSH-Px 是重要的抗氧化酶，因此，通过测定酶活力，可评价化合物的抗氧化能力<sup>[24]</sup>。雪菊乙醇提取物

对 ACR 所致 HepG<sub>2</sub> 细胞损伤后细胞内 MDA 含量，CAT、SOD 和 GSH-Px 活力的影响结果见图 4。由图 4 可知，与空白组相比，ACR 使 HepG<sub>2</sub> 细胞内 MDA 含量显著上升 ( $p<0.001$ )，CAT、SOD 和 GSH-Px 活力显著降低 ( $p<0.001$ )。与 ACR 组相比，NAC 和雪菊乙醇提取物均降低 HepG<sub>2</sub> 细胞内 MDA 含量，提高 CAT、SOD 和 GSH-Px 水平。雪菊乙醇提取物中浓度 (1.00 mg/mL)、高浓度 (2.00 mg/mL) 尤其高浓度能够使 HepG<sub>2</sub> 细胞内 MDA 由 8.38 nmol/mg 降低到 3.70 nmol/mg ( $p<0.001$ )，CAT、SOD 和 GSH-Px 分别由 4.73、8.07、10.64 U/mg 升高到 9.41、18.55、24.45 U/mg ( $p<0.001$ )，且雪菊乙醇提取物对四种酶水平的影响呈剂量依赖关系。吕珍珠<sup>[9]</sup>研究结果表明蓝莓花色苷能有效恢复 ACR 导致的 HepG<sub>2</sub> 细胞损伤，通过降低 MDA 含量、升高 SOD、CAT 酶活性抑制 ACR 对 HepG<sub>2</sub> 细胞的氧化损伤作用。蔡小华等<sup>[25]</sup>实验发现辣木叶水提物也通过降低 HepG<sub>2</sub> 细胞内 MDA 水平，提高 GSH-Px 和 SOD 等酶类的活力发挥对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 导致 HepG<sub>2</sub> 细胞损伤的保护作用。本实验结果也表明雪菊乙醇提取物可降低 HepG<sub>2</sub> 细胞内 MDA 含量，提高 CAT、SOD 和 GSH-Px 等酶活力，提示雪菊乙醇提取物可能通过抗氧化机制发挥 ACR 致 HepG<sub>2</sub> 细胞损伤的保护作用。

2.2 雪菊乙醇提取物对 ACR 所致小鼠肝损伤

的保护作用

2.2.1 小鼠体重变化

在适应性喂养期间，小鼠精神状态好、行动自如、进食量正常、毛发有光泽、无死亡现象。灌胃 ACR 造模后，小鼠出现精神不佳、活动减少、进食量减少、毛发粗糙等不良现象，推测可能是由于肝脏受到 ACR 损伤，肝功能不正常，导致小鼠体内代谢紊乱。雪菊提取物低、中、高剂量 (0.25、0.50、1.00 g/kg) 均可改善 ACR 引起的上述行为和体征。同时，每隔 3 d 测定各组小鼠体重，结果见图 5。小鼠喂养 28 d，空白组小鼠体重一直呈现增长的现象，体重变化率为 28.93%，而 ACR 组小鼠体重呈先下降后增长趋势，体重变化率为 10.25%，与空白组比较，有显著差异 ( $p<0.001$ )。与 ACR 组相比，NAC 和雪菊乙醇提取物低、中、高剂量可明显改善 ACR 引起的体重减少现象 ( $p<0.01$ ,  $p<0.01$ )，从第 7 d 开始，小鼠体重一直呈明显上升趋势，至第 28 d，NAC 组和雪菊乙醇提取物低、中、高剂量组小鼠体重分别升高了 27.45%、22.27%、25.86%、22.74%。李变平等<sup>[26]</sup>研究发现镉致小鼠肝损伤使小鼠的体质量呈下降趋势，桑葚多糖使

小鼠体质量下降的情况有所改善。本实验结果也表明雪菊乙醇提取物低、中、高剂量组可明显改善 ACR 引起的体重减少现象。

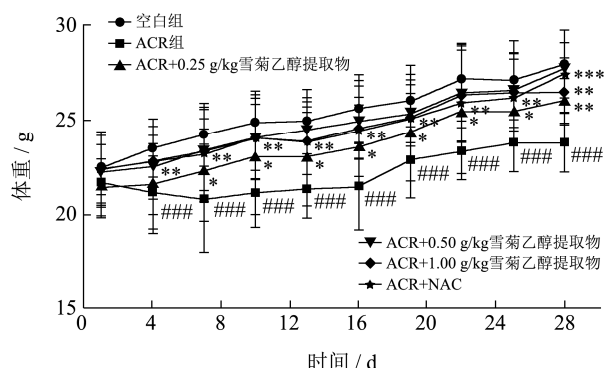


图5 雪菊乙醇提取物对 ACR 致毒小鼠体重的影响

Fig.5 Effect of *C. tinctoria* ethanol extract on body weight of ACR induced mice

2.2.2 血清 ALT、AST

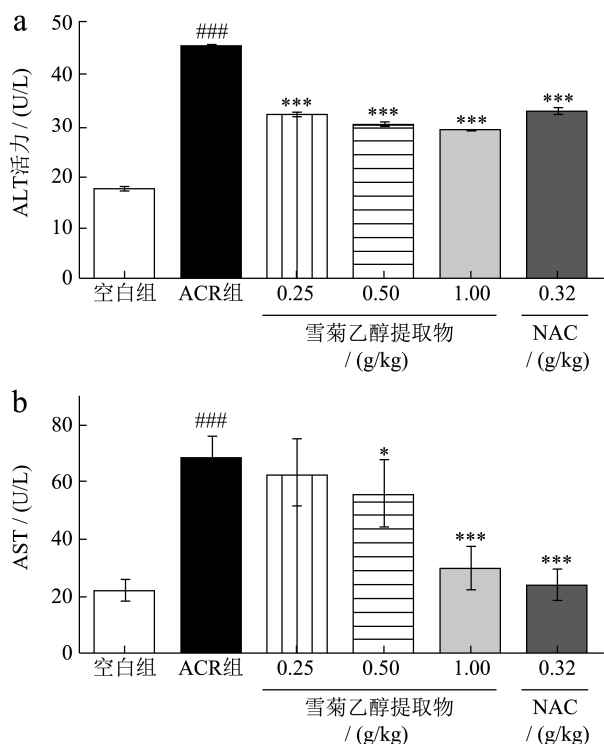


图6 雪菊乙醇提取物对 ACR 致毒小鼠血清 ALT (a)、AST (b) 的影响

Fig.6 Effects of *C. tinctoria* ethanol extract on serum ALT (a) and AST (b) of ACR induced mice

肝功能受损时，肝组织中 ALT、AST 等转氨酶进入到血液当中，导致血清中 ALT、AST 活力相对增加。因此，可通过检测血清中 ALT、AST 活力初步判断肝功能状况<sup>[27]</sup>。如图 6 所示，ACR 组小鼠血清中 ALT、AST 活力明显高于空白组，分别由 17.43、21.23 U/L 升高至 45.19、68.02 U/L，表明肝功能受到影响，造

模成功。与 ACR 组比较，NAC 组和雪菊乙醇提取物中、高剂量组 (0.50、1.00 g/kg) ALT、AST 活力显著下降 ( $p < 0.01$ )，尤其是雪菊乙醇提取物高剂量组使 ALT、AST 活力分别下降了 16.36、38.06 U/L。有研究表明昆仑雪菊原花青素<sup>[16]</sup>和蒲公英总黄酮<sup>[28]</sup>都能够降低四氯化碳致肝损伤小鼠血清中 ALT、AST 活力，对 CCl<sub>4</sub> 致肝损伤具有一定的保护作用。本实验结果也表明雪菊乙醇提取物能降低 ACR 所致肝损伤小鼠血清中的 ALT、AST 活力，表明雪菊乙醇提取物对 ACR 所致小鼠肝功能损伤有保护作用。

2.2.3 小鼠肝组织病理切片观察

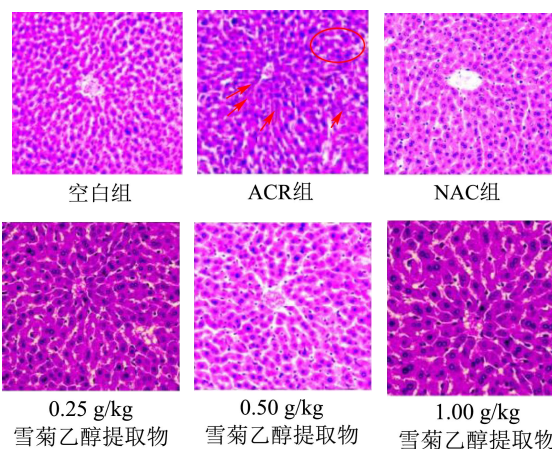


图7 ACR 致毒小鼠肝脏病理切片 (HE, 100×)

Fig.7 Pathological sections of liver of ACR - induced mice (HE, 100×)

注：部分肝细胞排列紊乱 (椭圆)，部分细胞核消失 (箭头)。

对肝脏组织的病理学切片进行 HE 染色可以清晰地反映肝脏病理变化情况。如图 7 所示，空白组小鼠肝组织中肝小叶具有结构完整，肝细胞结构完整，排列整齐，细胞核大小正常、清晰可见；ACR 组小鼠肝细胞破裂、排列紊乱，细胞核出现破裂、肿胀现象，部分细胞核消失；与 ACR 组相比，NAC 组和雪菊乙醇提取物各剂量组小鼠肝细胞排列整齐，肝小叶结构完整，细胞核无明显的破裂、肿胀现象，损伤程度明显减弱。王莉等<sup>[27]</sup>实验发现黑枸杞多糖对 ACR 致大鼠肝损伤的肝组织病变情况得到很好的改善，黑枸杞多糖能够改善 ACR 染毒大鼠的肝损伤。本实验结果显示雪菊乙醇提取物低、中、高剂量组小鼠肝组织的损伤程度均有减轻，其中以高剂量组最为明显，肝组织结构清晰、无明显损伤，与 NAC 组的效果相似，表明雪菊乙醇提取物可减轻 ACR 所致的肝脏组织损伤，起到保护肝脏的作用。

2.2.4 小鼠肝脏 MDA、SOD、GSH-Px 的测定

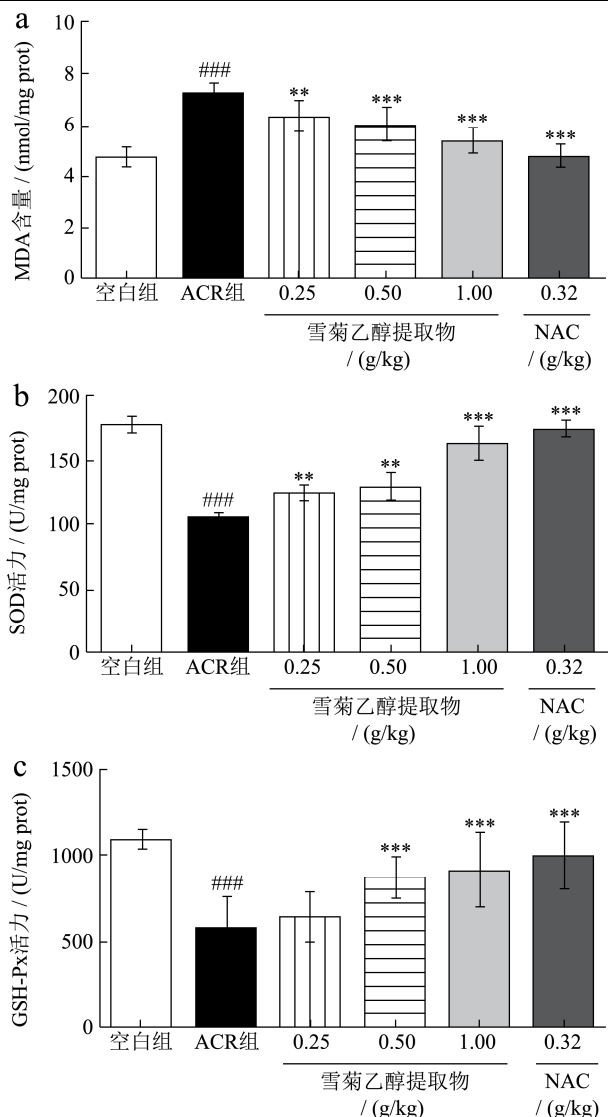


图8 雪菊乙醇提取物对ACR致毒小鼠肝脏MDA (a)、SOD (b)、GSH-Px (c) 水平的影响

Fig.8 Effect of *C. tinctoria* ethanol extract on MDA (a), SOD (b) and GSH-Px (c) level of liver injury in induced - ACR mice

由图8可知,与空白组相比,ACR使小鼠肝脏中MDA含量显著上升( $p < 0.001$ ),SOD、GSH-Px活力显著降低( $p < 0.001$ ),而NAC组和雪菊乙醇提取物低、中、高剂量(0.25、0.50、1.00 g/kg)均能使小鼠肝脏内MDA含量显著降低( $p < 0.01$ ),SOD、GSH-Px活力显著上升( $p < 0.01$ ),雪菊乙醇提取物高剂量使MDA含量由7.21 nmol/mg降低到5.35 nmol/mg,SOD、GSH-Px由104.71、575.50 U/mg升高到161.44、905.94 U/mg,且雪菊乙醇提取物对MDA含量,SOD、GSH-Px活力的影响呈剂量依赖关系。有研究表明<sup>[29-31]</sup>,白藜芦醇、藏红花素、橙皮素等天然抗氧化剂均可缓解ACR对鼠的肝损伤,其机制与降低MDA,提高SOD、GSH-Px抗氧化酶活性有关。研究表明雪菊提取物具有较强的抗氧化活性<sup>[15]</sup>,且本文“2.2.2”和“2.2.3”实验

结果证明雪菊乙醇提取物可缓解ACR对小鼠的肝损伤,本节小鼠肝脏MDA、SOD、GSH-Px的测定结果提示,雪菊乙醇提取物可能通过抗氧化机制对ACR所致的小鼠肝损伤发挥保护作用。

### 3 结论

3.1 本文研究雪菊乙醇提取物对ACR所致HepG<sub>2</sub>细胞损伤及小鼠肝损伤的保护作用。HepG<sub>2</sub>细胞经ACR处理后,存活率下降为48.63%,而雪菊乙醇提取物可使细胞存活率上升至61.43%。雪菊乙醇提取物能够显著抑制细胞内ROS相对水平和MDA含量,显著增高SOD、CAT、GSH-Px活性。动物实验结果表明,雪菊乙醇提取物可拮抗ACR引起的小鼠体重增长缓慢现象,能降低小鼠血清ALT、AST活力,降低肝脏MDA含量,提高肝脏SOD和GSH-Px活性;小鼠肝组织HE染色结果显示,雪菊乙醇提取物各剂量不同程度地改善小鼠肝小叶结构和肝细胞形态,减轻小鼠肝损伤,对肝组织有显著的保护作用。

3.2 综上所述,雪菊乙醇提取物对ACR诱导的HepG<sub>2</sub>细胞损伤及小鼠肝损伤均具有保护作用,此作用可能与抗氧化机制有关,本研究将对雪菊提取物在食源性ACR防治应用方面提供一定的理论依据。

### 参考文献

- [1] 杨雪欣,陈可靖.食品中抑制丙烯酰胺的研究进展[J].食品研究与开发,2020,41(10):220-224  
YANG Xuexin, CHEN Kejing. Rerearch progress on the inhibition of acrylamide in food [J]. Food Research and Development, 2020, 41(10): 220-224
- [2] Zhang X, Cao J, Jiang L, et al. Protective effect of hydroxytyrosol against acrylamide-induced cytotoxicity and DNA damage in HepG<sub>2</sub> cells [J]. Mutation Research, 2009, 664(1-2): 64-68
- [3] 李治伟,罗美庄,许瓴捷,等.食品污染物丙烯酰胺毒性及其作用机制研究进展[J].中国酿造,2018,37(6):15-19  
LI Zhiwei, LUO Meizhuang, XU Lingjie, et al. Rerearch progress of toxicity and mechanism of acrylamide in food contaminants [J]. China Brewing, 2018, 37(6): 15-19
- [4] Medonald A. Some industrial chemicals: IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Vol 60 [J]. Occupational & Environmental Medicine, 1995, 52(5): 360
- [5] 陈媛媛,丁城,关亚飞,等.原花青素对食品中丙烯酰胺的抑制作用研究[J].食品科技,2017,42(8):257-261  
CHEN Yuanyuan, DING Cheng, GUAN Yafei, et al. Study on the inhibitory effect of proanthocyanidin on acrylamide in



- food [J]. Food Technology, 2017, 42(8): 257-261
- [6] 江国勇,雷艾彤,杨莹,等.黑灵芝多糖对丙烯酰胺致大鼠肝脏氧化损伤的保护作用[J].食品科学,2020,41(1):121-126  
JIANG Guoyong, LEI Aitong, YANG Ying, et al. Protective effect of *Ganoderma Atrum* polysaccharide against acrylamide-induced liver injury in rats [J]. Food Science, 2020, 41(1): 121-126
- [7] 李海枝,王曙宾,郭珊珊,等.发酵大麻仁蛋白粉对 HepG<sub>2</sub> 细胞氧化应激损伤的保护作用[J].食品与发酵工业,2021,47(15):84-89  
LI Haizhi, WANG Shubin, GUO Shanshan, et al. Effect of fermented hemp seed protein on cellular oxidative stress with HepG<sub>2</sub> cellular model [J]. Food and Fermentation Industry, 2021, 47(15): 84-89
- [8] 李亮,赵筱铎,刘巍,等.水飞蓟素对丙烯酰胺诱导人肝癌细胞氧化损伤的保护作用[J].食品科学,2018,39(1):238-242  
LI Liang, ZHAO Xiaoduo, LIU Wei, et al. Protective effect of silymarin on acrylamide-induced oxidative damage in HepG<sub>2</sub> cells [J]. Food Science, 2018, 39(1): 238-242
- [9] 吕玲珠.蓝莓品质评价及其花色苷对丙烯酰胺所致 HepG<sub>2</sub> 细胞损伤的保护作用研究[D].长春:吉林大学,2016  
LV Lingzhu. Blueberry quality evaluation of blueberry cultivars and the protection effect of anthocyanins from blueberry against acrylamide-induced damage in HepG<sub>2</sub> cells [D]. Changchun: Jilin University, 2016
- [10] 宋束,廖小军,胡小松,等.矢车菊素-3-葡萄糖苷干预丙烯酰胺细胞毒性的体外模型筛选[J].中国食品学报,2017,17(9): 11-19  
SONG Jian, LIAO Xiaojun, HU Xiaosong, et al. Screening *in vitro* model for acrylamide-induced cytotoxicity intervention by cyanidin-3-glucoside [J]. Chinese Food Journal, 2017, 17(9): 11-19
- [11] 王静,韩莹,连珺怡,等.山药多糖对丙烯酰胺诱导的巨噬细胞氧化损伤的保护作用[J].食品与发酵工业,2021,47(20): 52-59  
WANG Jing, HAN Ying, LIAN Junyi, et al. Protective effect of *Rhizoma dioscoreae* polysaccharides on oxidative damage induced by acrylamide in macrophages [J]. Food and Fermentation Industry, 2021, 47(20): 52-59
- [12] 张路路,石婷,朱梦婷,等.黑灵芝多糖对丙烯酰胺诱导小肠上皮细胞氧化损伤的保护作用[J].食品科学,2017,38(3): 170-175  
ZHANG Lulu, SHI Ting, ZHU Mengting, et al. Protective effect of *Ganoderma atrum* polysaccharides on oxidative damage induced by acrylamide in IEC-6 cells [J]. Food Science, 2017, 38(3): 170-175
- [13] 赵梦瑶.丙烯酰胺致小鼠神经毒性分子机制及蓝莓花色苷提取物对其解毒作用的研究[D].北京:中国农业大学,2017  
ZHAO Mengyao. Molecular mechanism of acrylamide-induced neurotoxicity and intervention of blueberry anthocyanins extract against acrylamide-induced toxicity *in vivo* [D]. Beijing: China Agricultural University, 2017
- [14] 张浦,何明,热沙来提·买买提土尔逊,等.维药昆仑雪菊的研究进展[J].仲恺农业工程学院学报,2020,33(4):60-64,70  
ZHANG Pu, HE Ming, Reshalaiti·Maimaitoulson, et al. Research status of the Uyghur medicine *Coreopsis tinctoria* Nutt. [J]. Journal of Zhongkai Agricultural College of Engineering, 2020, 33(4): 60-64, 70
- [15] Lam S C, Lam S F, Jing Z, et al. Rapid identification and comparison of compounds with antioxidant activity in *Coreopsis tinctoria* herbal tea by high-performance thin-layer chromatography coupled with DPPH bioautography and densitometry [J]. Journal of Food Science, 2016, 81(9): C2218
- [16] 翟红月,敬思群,柴文杰,等.昆仑雪菊原花青素对四氯化碳致小鼠肝损伤的保护作用[J].现代食品科技,2018,34(10): 22-28,48  
ZHAI Hongyue, JING Siqun, CHAI Wenjie, et al. Protection of liver injury induced by carbon tetrachloride of Kunlun *Coreopsis tinctoria* Nutt. by proanthocyanidin [J]. Modern Food Science and Technology, 2018, 34(10): 22-28, 48
- [17] 张可青,成瑞,王建华,等.蒙药麻花头中总黄酮的超声提取及含量测定[J].实用药物与临床,2021,24(12):1103-1106  
ZHANG Keqing, CHENG Rui, WANG Jianhua, et al. Ultrasound extraction and content determination of total flavonoids in Mongolian *Serratula* [J]. Practical Pharmacy And Clinical Remedies, 2021, 24(12): 1103-1106
- [18] 郝瑞芳,于蓉,张先平,等.葡萄原花青素和花青素对丙烯酰胺致细胞损伤的保护作用[J].黑龙江农业科学,2018,4:122-127  
HAO Ruifang, YU Rong, ZHANG Xianping, et al. Protective effects of grape procyanidine and anthocyanin on cell injuries induced by acrylamide [J]. Heilongjiang Agricultural Science, 2018, 4: 122-127
- [19] 高瑜悦,欧仕益,张延杰,等.黄酮类化合物对食品中丙烯酰胺的抑制和毒性干预作用[J].轻工科技,2021,37(1):9-14  
GAO Yuyue, OU Shiyi, ZHANG Yanjie, et al. Inpressive and toxic intervention effects of flavonoids on acrylamide in food [J]. Science and Technology of Light Industry, 2021, 37(1):

- 9-14
- [20] 沈洋, 杨梅素对丙烯酰胺致细胞损伤的保护作用及其机理研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2015  
SHEN Yang. Studies on Caco-2 cell protective effects of myricetin after on acrylamide induced [D]. Hangzhou: Zhejiang Technology and Business University, 2015
- [21] 过灵敏, 张平, 张谦, 等. 雪菊化学成分分析、提取、鉴定及其生物活性研究进展[J]. 食品科学, 2014, 35(7): 298-304  
GUO Limin, ZHANG Ping, ZHANG Qian, et al. Recent advances in the analysis, extraction, characterization and biological activities of chemical substances of Kunlun chrysanthemum (*Coreopsis tinctoria*) [J]. Food Science, 2014, 35(7): 298-304
- [22] 任嫦娥, 郭惠萍. 姜黄素对肝癌 HepG<sub>2</sub> 和 Bel-7404 细胞增殖的抑制作用[J]. 中国生化药物杂志, 2012, 33(3): 251-253  
REN Chang'e, GUO Huiping. Anti-proliferative effect of curcumin on human hepatocellular carcinoma HepG<sub>2</sub> and Bel-7404 cells [J]. Chinese Journal of Biochemical Drugs, 2012, 33(3): 251-253
- [23] 曹菲薇, 汝文文, 和嫋嫋, 等. 阿胶对丙烯酰胺诱导的斑马鱼胚胎氧化应激损伤的保护作用[J]. 中国食品学报, 2020, 20(11): 35-44  
CAO Feiwei, RU Wenwen, HE Xianian, et al. Protective effects of colla corii asini against acrylamide induced oxidative stress in zebrafish embryos [J]. Chinese Journal of Food Science, 2020, 20(11): 35-44
- [24] 张璐璐, 陈震东, 袁媛. 预防和降低丙烯酰胺毒性的几种抗氧化剂[J]. 食品工业科技, 2012, 33(8): 395-397  
ZHANG Lulu, CHEN Zhendong, YUAN Yuan. Several antioxidants that prevent and reduce acrylamide toxicity [J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(8): 395-397
- [25] 蔡小华, 李小伟, 李国坤, 等. 辣木叶水提物对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 致 HepG<sub>2</sub> 细胞氧化损伤的保护作用[J]. 现代食品科技, 2021, 37(10): 62-69, 111  
CAI Xiaohua, LI Xiaowei, LI Guokun, et al. Protective effects of an aqueous extract of *Moringa oleifera* leaves against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative damage in HepG<sub>2</sub> cells [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(10): 62-69, 111
- [26] 李变丽, 陈华国, 赵超, 等. 桑葚多糖对镉源性肝损伤小鼠的保护作用[J]. 食品科学, 2022, 43(1): 135-141  
LI Bianli, CHEN Huaguo, ZHAO Chao, et al. Protective effect of *Mori fructus* polysaccharide on liver injury induced by cadmium in mice [J]. Food Science, 2022, 43(1): 135-141
- [27] 王莉, 叶维佳, 吴红静, 等. 黑果枸杞多糖对大鼠肝损伤的保护研究[J]. 食品工业科技, 2020, 41(14): 287-290, 296  
WANG Li, YE Weijia, WU Hongjing, et al. Protective effect of *Lycium barbarum* polysaccharide on hepatic injury by acrylamide in rats [J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(14): 287-290, 296
- [28] 朱正望, 付双楠, 薛宁, 等. 蒲公英总黄酮对 CCl<sub>4</sub> 致大鼠肝损伤的保护作用[J/OL]. 中成药: 1-8[2021-12-23]  
ZHU Zhengwang, FU Shuangnan, XUE Ning, et al. Protective effect of *Taraxacum mongolicum* Hand.-Mazz total flavonoids on CCl<sub>4</sub>-induced liver injury in rats [J/OL]. Chinese Traditional Patent Medicine: 1-8[2021-12-23]
- [29] Aa Alturfan, A Tozan Beceren, Aö Şehrili, et al. Resveratrol ameliorates oxidative DNA damage and protects against acrylamide-induced oxidative stress in rats [J]. Molecular Biology Reports, 2012, 39(45): 89-96
- [30] Gedik S, Erdemli M E, Gul M, et al. Hepatoprotective effects of crocin on biochemical and histopathological alterations following acrylamide-induced liver injury in Wistar rats [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2017, 95: 764-770
- [31] Sadhana S, Chhavi U, Mohd S R, et al. Protective effect of hesperetin against acrylamide induced acute toxicity in rats [J]. Indian Journal of Experimental Biology, 2018, 56(3): 164-170

---

(上接第 360 页)

- [66] Augustin M A, Sanguansri L. Challenges in developing delivery systems for food additives, nutraceuticals and dietary supplements [J]. Encapsulation Technologies and Delivery Systems for Food Ingredients and Nutraceuticals, Woodhead Publishing Limited, 2012: 19-48
- [67] Salvia-Trujillo L, Rojas-Graü A, Soliva-Fortuny R, et al. Physicochemical characterization and antimicrobial activity of food grade emulsions and nanoemulsions incorporating essential oils [J]. Food Hydrocolloids, 2015, 43: 547-556