

# 红参-胶原蛋白肽复配饮品对小鼠造血能力和免疫调节功能的影响

刘会平<sup>1</sup>, 邓玉娣<sup>2</sup>, 涂亚莉<sup>2</sup>, 尹汉通<sup>2</sup>, 王琳清<sup>2</sup>, 魏茜<sup>2</sup>, 杨晓娜<sup>1</sup>, 廖文镇<sup>2\*</sup>, 蒋亮<sup>1\*</sup>

(1. 时代生物科技(深圳)有限公司, 广东深圳 518115) (2. 南方医科大学公共卫生学院, 广东广州 510515)

**摘要:** 该研究以红参、阿胶肽为主要功能原料, 添加胶原蛋白肽、酵母 $\beta$ 葡聚糖、*N*-乙酰神经氨酸、鸡肉蛋白肽、桂圆粉、红枣粉、 $\gamma$ -氨基丁酸等辅料, 根据国家固体饮料标准, 进行复配, 开发了一款复合功能饮品。应用试剂盒体外检测饮料的抗氧化作用, 构建气血双虚小鼠模型检测饮品对小鼠免疫功能的影响。研究表明, 自制研发的固体饮料在 100 mg/mL 浓度下, 总抗氧化能力可达 0.25 U/mL。此外, 它使气血双虚模型小鼠的白细胞、淋巴细胞、血小板的数目得到了恢复, 可明显改善脾脏损害, 降低 MDA 的含量及增强小鼠抗氧化酶 SOD、GSH-Px 的活性, 减少氧化损伤。该饮品具有一定的抗氧化能力, 改善造血系统及增强免疫力的作用, 有望开发成为一款多功能的食品投入市场。

**关键词:** 红参; 阿胶肽; 抗氧化; 免疫功能; 气血双虚

文章编号: 1673-9078(2022)08-27-34

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.8.1211

## Effects of a Red Ginseng and Donkey-Hide Gelatin Composite Beverage on Hematopoietic Ability and Immunomodulatory Function in Mice

LIU Huiping<sup>1</sup>, DENG Yudi<sup>2</sup>, TU Yali<sup>2</sup>, YIN Hantong<sup>2</sup>, WANG Linqing<sup>2</sup>, WEI Xi<sup>2</sup>, YANG Xiaona<sup>1</sup>, LIAO Wenzhen<sup>2\*</sup>, JIANG Liang<sup>1\*</sup>

(1. Time Biotechnology (Shenzhen) Co. Ltd., Shenzhen 518115, China)

(2. School of Public Health, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

**Abstract:** Red ginseng and donkey-hide gelatin peptide were used as the main functional raw materials to develop a functional composite beverage, into which auxiliary materials were added, including collagen peptide, yeast  $\beta$ -glucan, *N*-acetylneuraminic acid, chicken peptide, longan powder, red date powder, and  $\gamma$ -aminobutyric acid, according to the National Solid Beverage Standards. The antioxidant effects of the beverage were detected *in vitro*, and a mouse model of Qi and blood deficiency was constructed to determine the effect of the beverage on immune function. The results show that the total antioxidant capacity of the beverage at 100 mg/mL was 0.25 U/mL. In addition, the beverage restored the number of leukocytes, lymphocytes, and platelets in mice with Qi and blood deficiency. The beverage also significantly alleviated spleen damage, reduced MDA contents, and enhanced the activities of antioxidant enzymes (superoxide dismutase and glutathione peroxidase), thereby reducing oxidative damage. Furthermore, the beverage could significantly improve antioxidant capacity, hematopoietic ability, and immunomodulatory function in mice. Overall, the functional beverage had abundant beneficial effects and shows promise as a marketable multifunctional food in the future.

**Key words:** red ginseng; donkey-hide gelatin peptide; antioxidant effect; immune function; Qi and blood deficiency

引文格式:

刘会平, 邓玉娣, 涂亚莉, 等. 红参-胶原蛋白肽复配饮品对小鼠造血能力和免疫调节功能的影响[J]. 现代食品科技, 2022, 38(8): 27-34

LIU Huiping, DENG Yudi, TU Yali n, et al. Effects of a red ginseng and donkey-hide gelatin composite beverage on hematopoietic ability and immunomodulatory function in mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(8): 27-34

收稿日期: 2021-11-01

作者简介: 刘会平 (1978-), 男, 本科, 研究方向: 功能食品开发与功能评价, E-mail: 546033730@qq.com

通讯作者: 廖文镇 (1983-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 营养活性物质的开发与活性研究, E-mail: wenzhenliao@163.com; 共同通讯作者: 蒋亮 (1988-), 男, 硕士, 研究方向: 功能食品开发与功能评价, E-mail: 313517922@qq.com

随着社会经济水平升高、生活节奏不断加快,人们也追求更高的物质生活水平。目前市面上存在的饮料已经不能满足人们的需求,大部分人期望饮料具有较高的营养价值,如增强免疫力、美白等。因此,大量的功能性饮料也应运而生。查阅大量资料可知,人们已经研究出了各种各样的功能性饮品,这些饮品大多有抗氧化作用<sup>[1,2]</sup>,或有增强免疫功能<sup>[3,4]</sup>等效用。随着日益沉重的社会压力和残酷的社会竞争力,机体免疫能力低下已成为危害现代人健康的重大隐患之一。此外,受到2020年新冠肺炎疫情的影响,人们对自身健康越来越重视,“免疫力”一词也逐渐成为消费者关注健康的关键词。免疫健康将是功能性食品饮料未来的发展大趋势和重要增长动力。此外,目前市面上同时具有抗氧化、补气血和免疫调节作用的固体饮料极少,迫切需要研发和丰富此类饮料。

近年来,复配饮品作为一种饮料新产品逐渐被人们接受并受到广泛好评。复配饮品是将具有不同营养成分的物质进行不同比例的搭配,使其功能互补,进而提高饮品的营养价值。红参为人参常用炮制品之一,是一种新资源食品,含有皂苷类、挥发油类、糖类、氨基酸类、微量元素等,主要具有增强免疫、抗肿瘤、抗氧化、抗衰老和抗疲劳等作用<sup>[5]</sup>。阿胶肽具有抗氧化、增强免疫力、抗敏延衰、补水保湿和预防骨质疏松的作用<sup>[6]</sup>。除此之外,鱼胶原蛋白肽、酵母 $\beta$ 葡聚糖、N-乙酰神经氨酸、鸡肉蛋白肽、桂圆粉、红枣粉、 $\gamma$ -氨基丁酸等活性成分均有补血止血、提高免疫力等作用。针对当前市场需求,通过将以上具有不同营养成分的物质国家固体饮料标准 GB/T 29602,复配制成固体饮料。同时,验证其改善造血功能和提高机体免疫的效果,为其作为一款多功能的食品提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

复合固体饮料由时代生物科技(深圳)有限公司提供,主要成分为鱼胶原蛋白,是经过鱼皮预处理、煮胶、絮凝、棉滤、酶解等生产工艺获得,其主要成分经检测为小分子蛋白肽。当归补血口服液购自郑州市协和制药厂。总抗氧化能力(TAOC)检测试剂盒(FRAP法)、SOD试剂盒、抗氧化能力试剂盒(ABTS法)、GSH-Px试剂盒、MDA试剂盒等检测试剂购自南京生物。环磷酸胺购自上海源叶。

清洁级 C57BL/6 6 周龄雄性小鼠 60 只[许可证号: SCXK(粤)2018-0002],体质量 20~22 g,由广东省医学实验动物中心提供,实验过程中,所有的实验操

作均在《实验动物管理条例》<sup>[7]</sup>的规定下进行,并且符合规定。将实验室温度设置在 20~25 °C,湿度 60%~80%,让动物自由饮食。

### 1.2 仪器与设备

恒温水浴锅,扬州三发电子公司; Legend Micro17 低温离心机,美国 Thermo; UV-1800 可见分光光度计,日本岛津; ELX08 酶标仪,美国 Biotek; AA-160 电子天平,美国 DENVER; FCD-217SEN 冰箱,中国海尔。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 固体饮料配制

在净化条件下,将国家新批准的食品与具有抗氧化、增强免疫力作用的天然产物,经过粉碎、过筛和称量,并按照不同比例进行混合配制,配制完成后再进行灌装等工序,经检验合格。配方见表 1。

表 1 复合固体饮料的配方

| Table 1 Formula of composite solid beverage |                |       |
|---|----------------|-------|
| 原料  | 2.205 g 袋用量/mg | 占比/%  |
| 鱼胶原蛋白肽                                      | 1500           | 68.03 |
| 红参浸膏粉                                       | 300            | 13.61 |
| 红枣粉   | 150            | 6.80  |
| 桂圆粉   | 100            | 4.54  |
| 阿胶肽   | 50             | 2.27  |
| $\gamma$ -氨基丁酸                              | 50             | 2.27  |
| 酵母 $\beta$ 葡聚糖                              | 30             | 1.36  |
| N-乙酰神经氨酸                                    | 15             | 0.68  |
| 鸡肉蛋白肽                                       | 10             | 0.45  |

#### 1.3.2 食用方法

2.21 g 装复合固体饮料溶于 50 mL 水中,直接饮用。

#### 1.3.3 抗氧化作用评价

##### 1.3.3.1 ABTS 自由基清除率

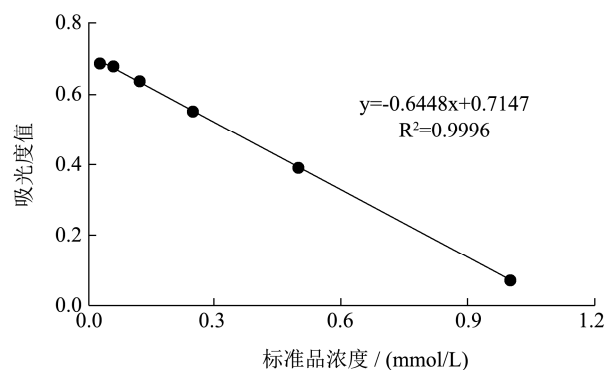


图 1 ABTS 标准曲线

Fig.1 The standard curve of ABTS

将标准品原液用蒸馏水分别稀释成 1、0.5、0.25、

0.13、0.062、0.031、0 mmol/L 浓度,取上述不同浓度的标准品稀释液(10  $\mu\text{L}$ )和不同浓度的样品溶液(10  $\mu\text{L}$ )分别加入含有 ABTS 自由基溶液的检测溶液(190  $\mu\text{L}$ )中,混匀之后室温反应 6 min,在 405 nm 波长下测定样品的吸光度值。同时用 10  $\mu\text{L}$  蒸馏水代替样品溶液,进行空白对照组实验,每个浓度重复 3 次。

### 1.3.3.2 总抗氧化能力 TAOC

标准曲线绘制:将 20  $\mu\text{mol/mL}$   $\text{FeSO}_4$  标准溶液等比稀释(0.4、0.2、0.1...),吸取 100  $\mu\text{L}$  标准溶液和蒸馏水(作空白),分别加入 100  $\mu\text{L}$  试剂盒检测试剂二,充分混匀,反应 10 min,用双蒸水调零,测定  $A_{593\text{nm}}$ ,计算  $\Delta A = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。

首先预热分光光度计或酶标仪 30 min 以上,将波长调至 593 nm,同时用蒸馏水调零。取混合检测试剂 180  $\mu\text{L}$ 、不同浓度的样品 6  $\mu\text{L}$ 、双蒸水 180  $\mu\text{L}$ ,充分混匀,反应 10 min,双蒸水调零,吸取 200  $\mu\text{L}$  于 96 孔板,测定 593 nm 吸光值。计算  $\Delta A' = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

以  $\text{Fe}^{2+}$  终浓度为横坐标,以  $\Delta A'$  为纵坐标绘制标准曲线,得到线性回归方程  $y = kx + b$ ,将  $\Delta A'$  带入方程求得  $x$  ( $\mu\text{mol/mL}$ )。计算公式(根据试剂盒说明书提供,按液体体积计算):

$$\text{总抗氧化能力}/(\mu\text{mol/mL}) = x \times v_{\text{反总}} \div v_{\text{样}} = 34 \times x。$$

式中:

$v_{\text{样总}}$ ——加入提取液的体积(1 mL);

$v_{\text{反总}}$ ——反应总体积(0.20 mL);

$v_{\text{样}}$ ——反应中样品体积(0.006 mL)。

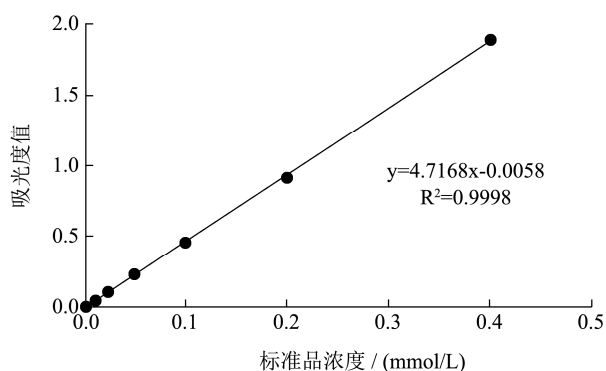


图2 抗氧化能力(TAOC)标准曲线

Fig.2 The standard curve of the antioxidant activity (TAOC)

### 1.3.4 免疫调节作用评价

#### 1.3.4.1 气血双虚模型建立与分组干预:

参考 Gao 等<sup>[8]</sup>的方法进行造模。从动物中心引进 60 只小鼠,适应性饲养 1 周后,随机选取 50 只用于造模,造模 4 d。造模第 1 d,造模组每只小鼠尾部放血 0.25  $\mu\text{L/g}$ ,在第 2 d 腹腔注射环磷酰胺 80  $\text{mg/kg}$ ,在第 4、6、8 天腹腔注射环磷酰胺 40  $\text{mg/kg}$ ,注射前禁食不禁水 12 h。剩余 10 只小鼠尾部不放血,腹腔注

射同等体积的生理盐水(作空白对照组)。

将随机选取的 50 只气血双虚模型小鼠随机分为 5 组,每组 10 只,高(400  $\text{mg/kg}$ )、中(200  $\text{mg/kg}$ )、低(100  $\text{mg/kg}$ )剂量组分别灌胃复配饮料,阳性对照组灌胃当归补血口服液(6.60  $\text{mL/kg}$ ),模型组仅灌胃同等体积的生理盐水(20  $\text{mL/kg}$ ),1 次/d,连续灌胃 15 d。于末次给药 2 h 后观察小鼠的整体情况,然后尾部取血进行相关指标检测。

#### 1.3.4.2 基本情况

观察小鼠的活跃度、毛发颜色光泽整齐度、鼠耳鼠尾等情况,记录小鼠体重变化。

#### 1.3.4.3 全血细胞检测

灌胃 15 d 后,禁食 12 h,称重。各组动物眼眶取血,随后使用全自动血液细胞分析仪(BC-2800vet)对小鼠全血进行分析。

#### 1.3.4.4 脏器指数与病理切片

解剖小鼠后,收集小鼠内脏先用生理盐水冲洗,再用滤纸吸干并称重,计算脏器指数。将一部分脏器用多聚甲醛溶液浸泡固定,用于制作病理切片,余下的部分则装入冻存管,贮存于  $-80\text{ }^\circ\text{C}$  冰箱中待用。

$$\text{胸腺指数} = \frac{\text{胸腺重量(g)}}{\text{小鼠重量(g)}} \times 100\%$$

$$\text{脾脏指数} = \frac{\text{脾脏重量(g)}}{\text{小鼠重量(g)}} \times 100\%$$

病理切片的制作过程<sup>[9]</sup>:样品浸泡在多聚甲醛中 48 h 后,修整组织,用无水乙醇脱水,二甲苯透明组织后,将组织进行浸蜡包埋处理。随后将蜡块切片,贴片,脱蜡,染色,中性树脂胶封存。最后使用显微镜观察切片,并拍照。

#### 1.3.4.5 氧化应激评价

用试剂盒测定小鼠血清中超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的活性以及丙二醛(MDA)的含量水平<sup>[10]</sup>。操作步骤和分析过程均按照相应试剂盒说明书进行。

## 1.4 统计学处理

采用 SPSS 25.0 软件完成统计工作,数据以  $\bar{X} \pm SD$  表示,多组之间采用方差分析比较,组间比较采用  $t$  检验,显著水平为  $p < 0.05$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 复合固体饮料的抗氧化作用

如图 1 所示,ABTS 标准曲线的决定系数  $R^2 = 0.9996$ ,表明标准曲线的相关性较高。ABTS<sup>+</sup>是一

种人工合成自由基,因其较稳定常用于检测抗氧化能力。该自由基在 414、645、734 和 805 nm 处可获得最大吸收峰。ABTS<sup>+</sup>与抗氧化剂反应之后变成无色的 ABTS,通过检测吸光度的变化测量抗氧化剂抗氧化作用的能力<sup>[11]</sup>。测得的结果以 trolox equivalent antioxidant capacity trolox 当量抗氧化能力表示,即被测抗氧化剂清除 ABTS<sup>+</sup>的能力(吸光度大小的变化)与标准抗氧化剂 trolox (VE 的水溶性类似物)清除 ABTS<sup>+</sup>的能力的比值。由图 3 可知,红参鱼胶原蛋白肽复配饮品均有比较高的 ABTS 清除能力,具有一定的体外抗氧化能力,并且,随着浓度增加,样品的 ABTS 自由基清除率也随之提高。

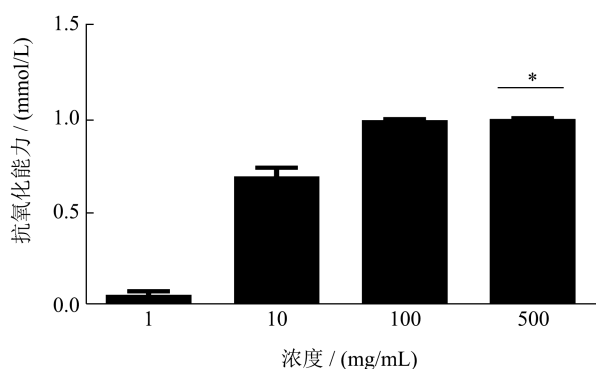


图 3 样品的 ABTS 自由基清除率

Fig.3 The ABTS free radical scavenging rate of the samples

注: \*表示 500 mg/mL 与 1 mg/mL 相比,  $p < 0.05$ 。

TAOC 是反映活性物质抗氧化性能的一个重要指标<sup>[12]</sup>。其检测原理是,  $Fe^{3+}$ 被还原后可与斐林类物质结合形成稳定的络合物,通过比色反应检测其抗氧化能力。由图 2 可知, TAOC 标准曲线的决定系数  $R^2=0.9998$ ,表明 TAOC 标准曲线的相关性较高。由图 4 可知,本复配饮品具有一定的抗氧化能力,在 100 mg/mL 浓度下,总抗氧化能力可达 0.25 U/mL;且在其他条件一致下,随着浓度升高,其抗氧化能力也逐渐增强。

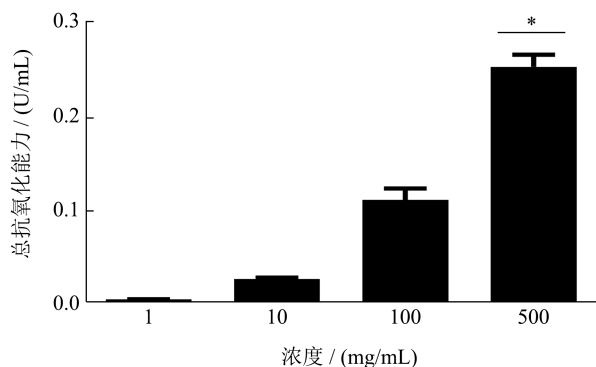


图 4 样品的抗氧化活性 (TAOC)

Fig.4 The antioxidant activity (TAOC) of the samples

注: \*表示 500 mg/mL 与 1 mg/mL 相比,  $p < 0.05$ 。

## 2.2 复合饮料对气血两虚模型小鼠基本情况的影响

实验期间,空白对照组小鼠活动及皮毛颜色均正常;而模型组小鼠活动减少,小鼠尾部和耳尖毛色明显变浅,被毛粗乱、蓬松、欠缺光泽;三种不同剂量(高、中、低)干预组与当归补血口服液(阳性)组小鼠的活跃度及精神状态随着时间的延长均有所好转。由图 5 和图 6 可知,实验初期,各组小鼠体重无明显差异,且小鼠体重随着时间的增长均有不同程度的增加,其中,对照组的体重有明显增加,  $p < 0.05$ ,差异有显著性,且增长速度较快。其他组小鼠,由于进行了放血和注射环磷酰胺的操作,比较虚弱,体重比对照组轻,一定剂量的饮品组干预后,体重有所上升。但在本实验中,差异不显著,这可能是由于干预时间较短。

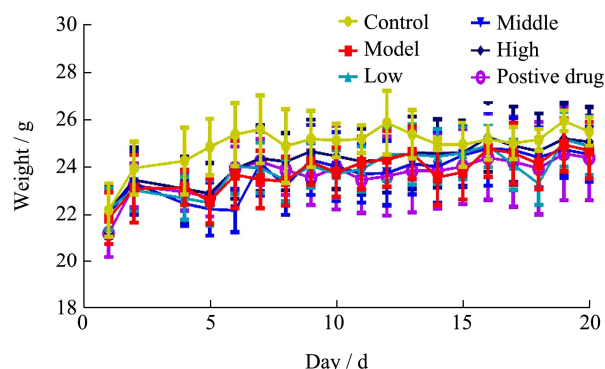


图 5 小鼠体重变化曲线

Fig.5 The change curve of mice body weight

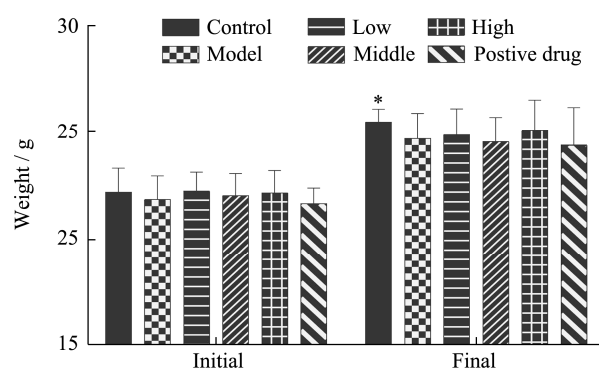


图 6 小鼠初始体重与最终体重

Fig.6 Initial and final body weight of mice

注: \*表示干预后对照组与干预前对照组体重相比,  $p < 0.05$ 。

## 2.3 复合饮料对气血两虚模型小鼠血常规的影响

表2 各组小鼠的血常规情况

Table 2 Blood routine conditions of mice in each group ( $\bar{X}\pm SD, n=5$ )

| 参数                         | 对照组            | 模型组            | 低剂量组                        | 中剂量组                   | 高剂量组                        | 阳性药物组                       |
|----------------------------|----------------|----------------|-----------------------------|------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 白细胞数目/( $10^9$ cells/L)    | 4.96±1.43      | 1.66±0.24*     | 2.14±0.35                   | 2.60±0.69 <sup>#</sup> | 2.58±0.86 <sup>#</sup>      | 3.06±0.52 <sup>#</sup>      |
| 淋巴细胞数目/( $10^9$ cells/L)   | 3.84±0.97      | 1.20±0.14*     | 1.54±0.48                   | 1.98±0.43              | 2.18±0.59 <sup>#</sup>      | 2.26±0.56 <sup>#</sup>      |
| 单核细胞数目/( $10^9$ cells/L)   | 0.10±0.06      | 0.04±0.05      | 0.08±0.12                   | 0.04±0.05              | 0.10±0.06                   | 0.18±0.10                   |
| 中性粒细胞数目/( $10^9$ cells/L)  | 1.02±0.46      | 0.42±0.12*     | 0.52±0.32                   | 0.58±0.28              | 0.64±0.34                   | 0.62±0.10                   |
| 红细胞数目/( $10^{12}$ cells/L) | 8.54±0.31      | 8.45±0.23      | 8.34±0.51                   | 7.98±0.46              | 7.76±0.82                   | 8.69±0.55                   |
| 血红蛋白/(g/L)                 | 150.40±9.62    | 146.40±5.43    | 150.20±4.53                 | 150.60±6.02            | 153.40±14.73                | 155.80±7.57                 |
| 血小板数目/( $10^9$ cells/L)    | 1090.60±395.47 | 949.20±159.93* | 1271.20±210.88 <sup>#</sup> | 977.40±191.83          | 1148.20±267.88 <sup>#</sup> | 1033.80±209.18 <sup>#</sup> |
| 平均血小板体积/fL                 | 6.08±0.20      | 5.94±0.27      | 5.60±0.23                   | 5.72±0.17              | 5.42±0.33                   | 5.72±0.44                   |
| 血小板分布宽度                    | 17.00±0.43     | 16.86±0.17     | 16.50±0.14                  | 16.78±0.16             | 16.60±0.23                  | 16.72±0.38                  |

注: \* $p<0.05$ , vs 对照组; <sup>#</sup> $p<0.05$ , vs 模型组。

血常规是目前临床上常用的基本检测指标,可以初步判断机体的生理及病理状态,其中,白细胞、淋巴细胞、单核细胞和中性粒细胞是机体白细胞的重要组成部分,在免疫系统中起着核心作用。红细胞、血红蛋白主要反映机体的造血功能,而血小板主要功能是止血。如表2所示,与对照组相比,模型组小鼠血常规指标(如淋巴细胞、血小板、白细胞和中性粒细胞)水平均显著降低, $p<0.05$ ,差异有显著性,说明复制气血双虚模型成功。这与刘培建等的动物造模结果基本吻合<sup>[13]</sup>。与模型组相比:高剂量饮料组能显著升高( $p<0.05$ )小鼠全血中的淋巴细胞、白细胞和血小板水平,使其趋近于正常水平,提示本复配饮品可以显著改善气血双虚小鼠的造血功能,同时对免疫功能也有较好调节作用。与模型组相比:阳性药物组(当归补血口服液)也能升高小鼠血常规指标(白细胞、淋巴细胞和血小板), $p<0.05$ ,差异结果具有显著性,使其趋近于正常水平。白细胞数目和淋巴细胞数目与免疫力相关,而血小板数目则与凝血功能有关。从以上结果可知,服用红参鱼胶原蛋白肽饮品的小鼠相比于气血双虚模型小鼠,白细胞、淋巴细胞和血小板的数目均得到了恢复,小鼠的免疫力和凝血功能也有所提高,可证明本复配饮品可以改善气血双虚所致的小鼠血常规指标降低和免疫力下降的现象,可增强气血双虚小鼠的血液系统和免疫系统能力,具有改善小鼠造血功能的效果。

#### 2.4 复合饮料对气血两虚模型小鼠脏器指数与脾脏病理的影响

免疫器官按其功能可分为中央免疫器官和外周免疫器官。中央免疫器官主要包括骨髓和胸腺,是免疫

细胞发生、分化和成熟的地方。外周免疫器官主要包括脾脏、淋巴结和其他淋巴组织,是免疫细胞沉降、增殖和发生免疫反应的场所<sup>[14]</sup>。脾脏和胸腺作为重要的免疫器官,复合饮料对脾脏指数和胸腺指数的影响可作为研究动物模型免疫机制的初步指标。由表3可知,模型组小鼠的胸腺指数与脾脏指数相比对照组均有显著降低( $p<0.05$ )。而一定剂量的复配饮品干预后,这两个脏器指数均有所增大。其中,中剂量组的小鼠胸腺指数相比模型组有所增大( $p<0.05$ );中、高剂量组小鼠脾脏指数相比模型组显著增大( $p<0.05$ )。6个组之间的肝脏指数差异无统计学意义。以上结果均说明,本复配饮品可有效调节气血双虚小鼠的免疫力。

表3 各组小鼠的脏器指数

Table 3 Organ indices of mice in each group ( $\bar{X}\pm SD, n=5$ )

| 组别    | 胸腺指数/%                 | 脾脏指数/%                 | 肝脏指数/%    |
|-------|------------------------|------------------------|-----------|
| 对照组   | 0.38±0.48              | 0.31±0.06              | 3.64±0.32 |
| 模型组   | 0.22±0.01*             | 0.27±0.01*             | 3.97±0.25 |
| 低剂量组  | 0.23±0.03              | 0.31±0.02              | 3.95±0.18 |
| 中剂量组  | 0.23±0.02 <sup>#</sup> | 0.31±0.04 <sup>#</sup> | 3.86±0.27 |
| 高剂量组  | 0.22±0.02              | 0.32±0.02 <sup>#</sup> | 3.93±0.15 |
| 阳性药物组 | 0.22±0.03              | 0.31±0.02 <sup>#</sup> | 3.84±0.19 |

注: \* $p<0.05$ , vs 对照组; <sup>#</sup> $p<0.05$ , vs 模型组。

对小鼠脾脏行HE染色(图7),可以看到,正常对照组小鼠脾小结大且多、脾脏红润且白髓清晰,脾中央周围淋巴细胞密度较大。而模型组小鼠的脾脏结节数量和面积显著减小。复配饮品干预组与阳性药物组小鼠的脾脏形态与模型组相比,小鼠脾小结数目增多且面积增大,脾脏更为红润,白髓更清晰,且细胞密度显著增加,趋近于正常对照组脾脏形态。上述病理分析表明,本复配饮品可明显改善由气血双虚所致的脾脏损害。

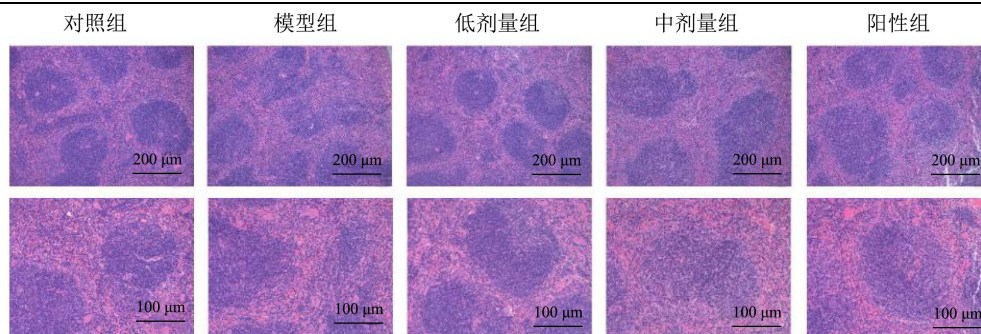


图7 各组小鼠的脾脏切片

Fig.7 Spleen sections of mice in each group

### 2.5 复合饮料对气血两虚模型小鼠氧化应激的影响

氧化应激是指机体在受到内外界有害刺激时，体内氧化系统和抗氧化系统失衡，导致其在体内大量积累超出组织负荷，从而引发组织发生氧化损伤的过程<sup>[15]</sup>。超氧化物歧化酶（SOD），在体内可与 $O_2^{\cdot-}$ 发生抗氧化反应，将对机体有害的物质转化为无害的物质，显著降低机体的氧化应激水平<sup>[16]</sup>。谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px）是机体内常见的一种重要的过氧化物分解酶。主要是催化谷胱甘肽（GSH）参与过氧化反应，促进游离过氧化氢和脂质过氧化物的分解，以及清除在细胞呼吸代谢过程中产生的过氧化物和羟自由基，减轻细胞膜多不饱和脂肪酸的过氧化作用<sup>[17]</sup>。在机体内，自由基可作用于脂质发生过氧化反应，产生丙二醛（MDA），而MDA又会引起蛋白质、核酸等生命大分子的交联聚合反应，且具有细胞毒性。据研究发现，MDA含量可通过机体脂质过氧化速率和强度直接反映机体潜在抗氧化能力，同时也能反映组织过氧化损伤程度<sup>[18]</sup>。而氧化应激与免疫功能存在关联<sup>[19,20]</sup>。免疫细胞的细胞膜中含有不饱和脂肪酸，所以对氧化应激十分敏感，在受到自由基攻击后，免疫功能极易受到影响<sup>[21]</sup>。在前述体外实验中，已证实复合饮料具有体外抗氧化作用。接下来，对其体内抗氧化作用进行研究。由图8可以看出，模型组相比于对照组，GSH-Px活性和SOD活性均显著降低，而MDA含量显著升高，差异有统计学意义（ $p < 0.01$ ），说明模型组小鼠处于氧化应激状态。低、中、高三组剂量小鼠与模型组相比，GSH-Px与SOD酶活性均有所升高，差异具有统计学意义（ $p < 0.05$ ）。此外，高剂量组的MDA含量显著低于模型组（ $p < 0.05$ ）。这提示，此饮品可显著增强气血两虚小鼠抗氧化酶SOD、GSH-Px的活性同时降低MDA的含量，具有提高气血两虚小鼠抗氧化能力的作用。

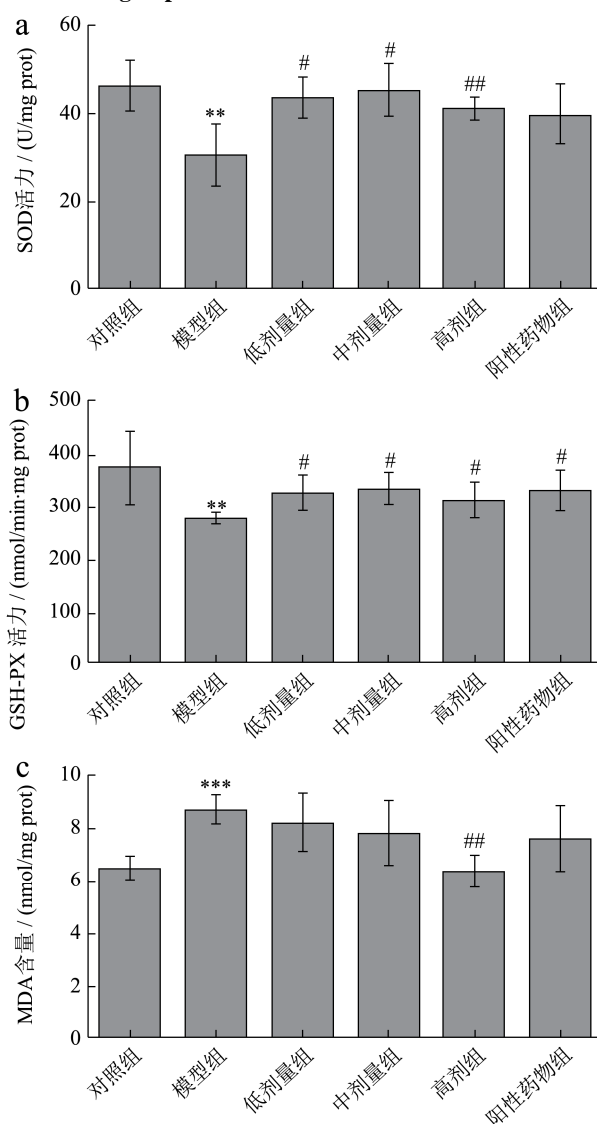


图8 饮料对小鼠氧化应激指标的影响

Fig.8 The effect of beverages on oxidative stress indicators in mice

注：a：超氧化物歧化酶（SOD）的活性；b：谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-PX）的活性；c：丙二醛（MDA）的含量。\*\* $p < 0.01$ ，vs 对照组；\*\*\* $p < 0.001$ ，vs 对照组；# $p < 0.05$ ，vs 模型组；## $p < 0.01$ ，vs 模型组。

### 3 结论

本研究结合当前市场需求,以红参、阿胶肽为主要原料,以鱼胶原蛋白肽、酵母 $\beta$ 葡聚糖、*N*-乙酰神经氨酸、鸡肉蛋白肽、桂圆粉、红枣粉、 $\gamma$ -氨基丁酸为辅料,开发出了一种复合功能饮料,同时考察该饮料的抗氧化能力、对机体免疫功能的影响。结果证明,此固体饮料具有清除自由基的能力,在100 mg/mL浓度下,总抗氧化能力可达0.25 U/mL,显著增强了小鼠的抗氧化能力,减轻氧化损伤。红参中含有皂苷、糖类、氨基酸类等营养物质,具有较强的抗氧化活性,而其总抗氧化能力与红参中的皂苷和还原糖显著相关,因此本饮品具有较好的抗氧化能力很可能与其将红参作为主要原材料有关。此外,阿胶肽具有预防骨质疏松、增强免疫力和抗氧化等功能;鱼胶原蛋白肽、酵母 $\beta$ 葡聚糖、*N*-乙酰神经氨酸、鸡肉蛋白肽、桂圆粉、红枣粉、 $\gamma$ -氨基丁酸等成分均具有补血止血、提高免疫力的作用。在本实验中,增强了气血双虚模型小鼠的免疫力和凝血功能,对脾脏损伤有改善作用,可降低MDA的含量及增强小鼠抗氧化酶SOD、GSH-Px的活性。在本次实验中,模型组小鼠的胸腺指数与脾脏指数与对照组相比均显著降低( $p<0.05$ )。而一定剂量的饮品干预后,这两个指数均有所增大。其中,中剂量组的小鼠胸腺指数显著大于模型组( $p<0.05$ );中、高剂量组的小鼠脾脏指数显著大于模型组( $p<0.05$ )。此外,该饮品对气血双虚小鼠的血液系统也有一定的增强作用,起到了改善造血功能的效果。该复合饮料不仅风味独特,而且还具有抗氧化,改善造血功能和增强免疫功能的功效。综上所述,这款复合饮料携带服用方便,配方科学合理,制造方法容易,是一款极具开发潜力的食品,在食品行业有着广阔的应用前景。后续可以就该功能饮料在调节免疫功能及其作用机理上作更深入的研究。

### 参考文献

- [1] 张萌.山楂黄芪复合固体饮料的研制及体外抗氧化性研究[D].扬州:扬州大学,2020  
ZHANG Meng. Preparation of hawthorn and astragalus compound solid beverage and its antioxidant activity *in vitro* [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2020
- [2] 苏永昌,刘淑集,王茵,等.罗非鱼多肽饮料的制备及抗氧化抗疲劳作用[C]//福建省海洋学会2016年学术年会论文摘要集,2016  
SU Yongchang, LIU Shuji, WANG Yin, et al. Preparation and anti-oxidation and anti-fatigue effect of tilapia polypeptide beverage [C]// 2016 Annual Meeting of Fujian Ocean Society, Xiamen, Fujian, China, 2016
- [3] 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 Zhuoping. Development and functional evaluation of an immune-enhancing health drink [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2015
- [4] 邓茉香.增强免疫力、缓解体力疲劳保健饮料的研究与开发[D].成都:四川大学,2006  
DENG Moxiang. Research and development of health drinks for enhancing immunity and relieving physical fatigue [D]. Chengdu: Sichuan University, 2006
- [5] 樊伟旭,詹志来,侯芳洁,等.红参的化学成分及药理作用研究进展[J].天然产物研究与开发,2021,33(1):137-149  
FAN Weixu, ZHAN Zhilai, HOU Fangjie, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of red ginseng [J]. Natural Products Research and Development, 2021, 33(1): 137-149
- [6] 翟逸,刘孟刚,张艳艳,等.鱼胶原蛋白肽功能活性研究进展[J].食品安全导刊,2018,21:133  
ZHAI Yi, LIU Menggang, ZHANG Yanyan, et al. Research progress on the functional activity of fish collagen peptides [J]. Food Safety Guide, 2018, 21: 133
- [7] 实验动物管理条例[J].实用器官移植电子杂志,2016,4(2):66-67  
Regulations on the management of experimental animals [J]. Practical Electronic Journal of Organ Transplantation, 2016, 4(2): 66-67
- [8] Gao X, Qu H, Gao Z, et al. Protective effects of *Ulva pertusa* polysaccharide and polysaccharideiron (III) complex on cyclophosphamide induced immunosuppression in mice [J]. Int J Biol Macromol, 2019, 133: 911-919
- [9] Larsen S E, Reese V A, Pecor T, et al. Subunit vaccine protects against a clinical isolate of *Mycobacterium avium* in wild type and immunocompromised mouse models [J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 9040
- [10] Ammar A, Turki M, Hammouda O, et al. Effects of pomegranate juice supplementation on oxidative stress biomarkers following weightlifting exercise [J]. Nutrients, 2017, 9(8): 819
- [11] 李华,李勇,吴莹,等.ABTS-(+)法测定葡萄酒抗氧化活性的研究[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2009,37(11):90-96  
LI Hua, LI Yong, WU Ying, et al. Study on the ABTS-(+) method to determine the antioxidant activity of wine [J].

- Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry (Natural Science Edition), 2009, 37(11): 90-96
- [12] 温先勇,薛莉,邓正华.老年心肌缺血/再灌注的氧化损伤与抗氧化能力的检测[J].中原医刊,2004,3:2-3  
WEN Xianyong, XUE Li, DENG Zhenghua. Detection of oxidative damage and antioxidant capacity in elderly myocardial ischemia/reperfusion [J]. Zhongyuan Medical Journal, 2004, 3: 2-3
- [13] 刘培建,苗明三,高渐联.熟地黄多糖对气血双虚小鼠全血细胞及血清粒-巨噬细胞集落刺激因子水平的影响[J].中国组织工程研究与临床康复,2008,38:7543-7546  
LIU Peijian, MIAO Mingsan, GAO Jianlian. Effects of *Rehmannia glutinosa* polysaccharides on whole blood cells and serum granule-macrophage colony-stimulating factor levels in mice with deficiency of both qi and blood [J]. Chinese Tissue Engineering Research and Clinical Rehabilitation, 2008, 38: 7543-7546
- [14] Morsink M, Willems N, Leijten J, et al. Immune organs and immune cells on a chip: an overview of biomedical applications [J]. Micromachines (Basel), 2020, 11(9): 849
- [15] Sohal R S, Allen R G. Oxidative stress as a causal factor in differentiation and aging: a unifying hypothesis [J]. Exp Gerontol, 1990, 25(6): 499-522
- [16] Alscher R G, Erturk N, Heath L S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants [J]. J Exp Bot, 2002, 53(372): 1331-1341
- [17] Djordjevic A, Spasic S, Jovanovic-Galovic A, et al. Oxidative stress in diabetic pregnancy: SOD, CAT and GSH-Px activity and lipid peroxidation products [J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2004, 16(6): 367-372
- [18] Pirinccioglu A G, Gokalp D, Pirinccioglu M, et al. Malondialdehyde (MDA) and protein carbonyl (PCO) levels as biomarkers of oxidative stress in subjects with familial hypercholesterolemia [J]. Clin Biochem, 2010, 43(15): 1220-1224
- [19] Wojcik P, Gegotek A, Zarkovic N, et al. Oxidative stress and lipid mediators modulate immune cell functions in autoimmune diseases [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(2): 723
- [20] Li S, Hong M, Tan H Y, et al. Insights into the role and interdependence of oxidative stress and inflammation in liver diseases [J]. Oxid Med Cell Longev, 2016: 4234061
- [21] De la Fuente M. Effects of antioxidants on immune system ageing [J]. Eur J Clin Nutr, 2002, 56(Suppl 3): S5-S8

---

(上接第 259 页)

- [25] Kirimura J, Shimizu A, Kirimura A, et al. Contribution of peptides and amino acids to the taste of foods [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1969, 17(4): 689-695
- [26] 侯娜,赵莉莉,魏安智,等.不同种质花椒氨基酸组成及营养价值评价[J].食品科学,2017,38(18):113-118  
HOU Na, ZHAO Lili, WEI Anzhi, et al. Amino acid composition and nutritional quality evaluation of different germplasms of Chinese prickly ash (*Zanthoxylum bungeanum* Maxim) [J]. Food Science, 2017, 38(18): 113-118
- [27] 陈青,姚蓉君,张前军.固相微萃取气质联用分析野茉莉花的香气成分[J].精细化工,2007,24(2):159-161  
CHEN Qing, YAO Rongjun, ZHANG Qianjun. Analysis of volatile components from flowers of *Styrax japonicus* Sieb by GC-MS with solid-phase microextraction [J]. Fine Chemicals, 2007, 24(2): 159-161
- [28] Edris A E, Chizzola R, Franz C. Isolation and characterization of the volatile aroma compounds from the concrete headspace and the absolute of *Jasminum sambac* (L.) Ait. (Oleaceae) flowers grown in egypt [J]. European Food Research and Technology, 2008, 226(3): 621-626
- [29] Chen M C, Zhu, Y J, Liu B, et al. Changes in the volatiles, chemical components, and antioxidant activities of Chinese jasmine tea during the scenting processes [J]. International Journal of Food Properties, 2017, 20(3): 681-693
- [30] Gu X, Sun Y, Tu K, et al. Predicting the growth situation of *Pseudomonas aeruginosa* on agar plates and meat stuffs using gassensors [J]. Scientific Reports, 2016, 6(1): 38721
- [31] Pei F, Yang W, Ma N, et al. Effect of the two drying approaches on the volatile profiles of button mushroom (*Agaricus bisporus*) by headspace GC-MS and electronic nose [J]. LWT - Food Science and Technology, 2016, 72: 343-350