

黄精、陈皮、山楂提取液蒸制板栗的制备及其多糖对氧化应激小鼠血清抗氧化作用

檀兴慧, 王文义, 卢淑珍, 吴水生, 李德森, 周 奕

Preparation of Steamed Chestnut with Extract of *Polygonatum*, *Citrus reticulata* and *Crataegus pinnatifida*, and the Antioxidant Activity of Its Polysaccharide on Serum of D-Galactose Induced Mice

TAN Xinghui, WANG Wenyi, LU Shuzhen, WU Shuisheng, LI Desen, and ZHOU Yi

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023020194>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

龙须菜多糖对D-半乳糖及氯化铝致大鼠学习记忆障碍的影响

Effects of Polysaccharides from *Gracilaria lemaneiformis* on D-galactose and Aluminumchloride Induced Impairment of Learning and Memory in Rats

食品工业科技. 2020, 41(20): 290-294,302 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.20.048>

发酵麦麸多糖对氧化应激大鼠脾脏的保护作用研究

Protective Effects of Fermented Wheat Bran Polysaccharides against Oxidative Stress Induced by Diquat of Spleen in Weaned Rats

食品工业科技. 2021, 42(24): 327-333 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021030127>

葛仙米对高脂血症小鼠氧化应激的保护作用

Protective Effect of *Nostoc sphaeroides* Kütz on Oxidative Stress in Hyperlipidemic Mice

食品工业科技. 2021, 42(14): 320-327 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020090140>

人参多糖对氧化应激损伤肝细胞的保护作用机制研究

Mechanism of Protective Effect of Ginseng Polysaccharide on Hepatocytes Induced by Oxidative Stress

食品工业科技. 2020, 41(5): 280-285,292 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.05.046>

肠浒苔多糖降血糖活性研究

Hypoglycemic Activity of *Enteromorpha intestinalis* Polysaccharide

食品工业科技. 2021, 42(15): 321-326 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020090021>

氧化应激细胞模型建立的研究进展

Research Progress of Establishing Cellular Oxidative Stress Model

食品工业科技. 2019, 40(7): 341-345 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.07.059>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

檀兴慧, 王文义, 卢淑珍, 等. 黄精、陈皮、山楂提取液蒸制板栗的制备及其多糖对氧化应激小鼠血清抗氧化作用 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(24): 193–199. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023020194

TAN Xinghui, WANG Wenyi, LU Shuzhen, et al. Preparation of Steamed Chestnut with Extract of *Polygonatum*, *Citrus reticulata* and *Crataegus pinnatifida*, and the Antioxidant Activity of Its Polysaccharide on Serum of D-Galactose Induced Mice[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(24): 193–199. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023020194

· 工艺技术 ·

黄精、陈皮、山楂提取液蒸制板栗的制备及其多糖对氧化应激小鼠血清抗氧化作用

檀兴慧¹, 王文义², 卢淑珍¹, 吴水生¹, 李德森^{1,*}, 周奕^{1,*}

(1. 福建中医药大学药学院, 福建福州 350122;

2. 福建中医药大学科技创新与转化中心, 福建福州 350122)

摘要:目的: 获得易消化且具抗氧化作用的板栗蒸制品, 促进板栗药食功能的开发与利用。方法: 以黄精、陈皮、山楂提取液对板栗进行蒸制加工, 总多糖含量、感官评价为指标, 通过单因素实验和正交试验 $L_9(3^4)$, 优选陈皮、山楂、黄精三种药食两用中药辅料用量; 通过炭末推进法观察蒸制前后板栗对正常小鼠小肠运动的影响; 通过 D-半乳糖诱导小鼠产生氧化应激, 分离小鼠血清, 采用酶联免疫法 (ELISA) 检测各组小鼠血清中过氧化氢酶 (CAT)、血红素加氧酶 (HO-1)、超氧化物歧化酶 (SOD) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 及丙二醛 (MDA) 的含量。结果: 根据单因素和正交试验结果, 黄精、陈皮、山楂提取液蒸制板栗的配方为: 91.95% 板栗、陈皮 3.45%、山楂 2.30%、黄精 2.30%, 其总多糖含量为: 97.10 ± 0.16 mg/g; 炭末推进实验结果显示蒸制板栗组小鼠小肠炭末推进率高于板栗组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$); ELISA 检测结果显示与空白组相比, 模型组血清中 CAT、HO-1、SOD、GSH-Px 4 种抗氧化酶活性水平均降低 ($P < 0.05$), 且 MDA 含量增高 ($P < 0.05$); 维生素 C 组、板栗组、组血清中 CAT、HO-1、SOD、GSH-Px 水平升高 ($P < 0.05$), MDA 水平降低 ($P < 0.05$), 其中蒸制板栗多糖组较板栗多糖组的 CAT 水平更显著升高 ($P < 0.05$)。结论: 本研究提供一种药食两用板栗蒸制品, 较正常板栗更易消化且抗氧化抗衰老活性更强。

关键词:板栗, 药食两用, 多糖, 氧化应激, 抗氧化作用

中图分类号: TS201.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2023)24-0193-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023020194



本文网刊:

Preparation of Steamed Chestnut with Extract of *Polygonatum*, *Citrus reticulata* and *Crataegus pinnatifida*, and the Antioxidant Activity of Its Polysaccharide on Serum of D-Galactose Induced Mice

TAN Xinghui¹, WANG Wenyi², LU Shuzhen¹, WU Shuisheng¹, LI Desen^{1,*}, ZHOU Yi^{1,*}

(1. College of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China;

2. Innovation and Transformation Center, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China)

Abstract: Objective: To obtain easily digestible and antioxidant chestnut steamed products to promote the development and utilization of chestnut medicinal and edible functions. Method: Using extract solutions from *Polygonatum*, *Citrus reticulata* and *Crataegus pinnatifida* to steam and process chestnuts, total polysaccharide content and sensory evaluation as indicators. The quantities of three traditional Chinese medicine food additives, namely *Polygonatum*, *Citrus reticulata*, and *Crataegus*

收稿日期: 2023-02-20

基金项目: 福建中医药大学校管课题 (X2021008); 国家中医药管理局高水平重点学科建设项目 (915052315); 福建省大学生创新训练计划项目国家级 (202010393009)。

作者简介: 檀兴慧 (1995-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药药理与毒理, E-mail: 2538528694@qq.com。

* 通信作者: 李德森 (1982-), 男, 硕士, 副教授, 研究方向: 临床中药学, E-mail: 32134753@qq.com。

周奕 (1995-), 女, 硕士, 助教, 研究方向: 临床中药学, E-mail: 413381461@qq.com。

pinnatifida were optimized through single-factor experiments and orthogonal tests $L_9(3^4)$. The effects of chestnuts on the small intestine movement of normal mice before and after processing were observed using charcoal powder propulsion method. The mice were induced to produce oxidative stress by D-galactose and their serum was isolated. The content of catalase (CAT), hemeoxygenase-1 (HO-1), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), and malondialdehyde (MDA) in each group of mouse serum was detected using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Result: Based on single-factor and orthogonal experiment results, the optimal formula for steamed Chestnut with *Polygonatum*, *Citrusreticulata*, and *Crataegus pinnatifida* was determined as follows: 91.95% chestnut, 3.45% *Citrusreticulata*, 2.30% *Citrusreticulata*, and 2.30% *Polygonatum*, with a total polysaccharide content of 97.10 ± 0.16 mg/g. The charcoal powder propulsion experiment showed that the charcoal powder propulsion rate in the processed chestnut group was significantly higher than that in the chestnut group, with a statistically significant difference ($P < 0.01$). The ELISA detection results showed that compared to the blank group, the levels of CAT, HO-1, SOD, and GSH-Px activities in the serum of the model group decreased ($P < 0.05$), and the MDA content increased ($P < 0.05$). The levels of CAT, HO-1, SOD, and GSH-Px in the serum of the vitamin C group, chestnut group, and steamed chestnut group increased ($P < 0.05$), and the MDA levels decreased ($P < 0.05$). Among them, the CAT activity in the steamed chestnut polysaccharide group was significantly higher than that in the chestnut polysaccharide group ($P < 0.05$). Conclusion: This study provides a medicinal and edible processed chestnut that is easier to digest than regular chestnuts and exhibits stronger anti-aging properties.

Key words: chestnut; homology of medicine and food; polysaccharides; oxidative stress; antioxidant activity

衰老是医学史上一个重大的课题, 据统计, 2020 年中国老龄化人口约占比 18.73%, 2010~2022 年间, 65 岁及以上老年人每年约增加 717 万人, 年均增长率为 4.83%^[1]。现代医学研究表明, 衰老与自由基、端粒酶等关联^[2]。自由基学说指出机体衰老、脏器衰化会伴随集体防御系统中 CAT、HO-1、SOD、GSH-Px 等抗氧化酶的合成减少和活性降低, 代谢产物 MDA 过量生成, 机体产生和清除自由基的平衡被破坏, 自由基堆积^[3], 可见, 清除自由基是抗衰老的关键。

板栗在我国种植分布广、产量大^[4], 其产区北起辽宁、吉林, 南至广东、广西均有分布^[5]。板栗富含蛋白质、淀粉、多糖、维生素 C 等多种营养成分, 其皮、果实等部位均可作药用^[6], 具有药食两用价值, 长期食用板栗不仅养胃健脾、补肾养颜, 对老年慢性疾病, 如腰膝酸软、腿脚不遂、筋骨疼痛等也有良好的作用^[7]。此前, 学者多围绕板栗栽培^[8]、种资源^[9]、品质评价^[10] 等方面开展研究。而其药用价值开发与药理作用研究尚处于探索阶段, 已有研究表明板栗中的三萜、多糖、黄酮苷等成分具有抗菌、抗糖尿病、抗炎、抗凝血、抗癌、抗疲劳等多种生物活性^[6], 其中多糖、维生素 C 等成分抗氧化效果良好^[11]。多篇报道显示, 板栗有清除氧化自由基能力^[12-13], 具有潜在延缓氧化衰老的价值。

目前, 板栗主要加工产品包括板栗饮料、板栗酒、板栗糕点、板栗花纯露等, 但其易褐变、霉变, 难以长期保存及深加工^[14], 目前存在产品总量小, 市场上占有率低等劣势, 亟需加大板栗功能食品研发。板栗的加工工艺多样, 不同产地、不同加工方式、不同产地和不同加工方式的交互作用对板栗的营养成分和质构特性均有极显著影响^[15-16], 现有的板栗产品研发注重其风味口感, 对于其药用价值的挖掘尚不深入。因此, 如何改变加工方式保留其营养价值是开发板栗功能产品的关键。基于此, 在中医理论指导下,

本研究通过搭配药食两用中药(陈皮、黄精、山楂, 分别为芸香科植物橘 *Citrus reticulata* Blanco 的干燥成熟果皮、百合科黄精属植物黄精 *Polygonatum sibiricum* Red. 的根茎、蔷薇科山楂属植物山楂 *Crataegus pinnatifida* Bge. 的干燥果实), 辅以中药炮制技术蒸制加工, 获得新的板栗风味食品, 增强其入肾、抗氧化应激作用, 旨在获得具有更好的抗氧化抗衰老作用的板栗加工品, 为板栗开发利用提供参考, 促进板栗抗氧化抗衰老功能的开发与利用。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

鲜品栗仁 唐山食栗派有限公司, 批号 2022 0219; 陈皮饮片、黄精饮片 均购自安国市一方药业有限公司, 批号分别为: 21080902、21060203; 山楂饮片 北京仟草中药饮片有限公司, 批号: 220217008; SPF 级 ICR 小鼠 78 只, 雄性, 6~8 周龄, 体质量 22~25 g, 购自上海斯莱克实验动物有限责任公司, 生产许可证号: SCXK(沪)2017-0005。饲养于 SPF 级动物实验室, 许可证号: SCXK(闽)2014-0005, 24 ± 2 °C 屏障环境中饲养, 本实验经福建中医药大学动物伦理委员会审核通过; 无水葡萄糖(批号: S22J12H137237)、D-半乳糖(批号: J07GS153840) 均购自上海源叶生物有限公司; 抗坏血酸(批号: J2112017) 阿拉丁试剂上海有限公司; 小鼠 HO-1 ELISA 试剂盒(批号: MH-55002M2)、小鼠 GSH-Px ELISA 试剂盒(批号: MH-44117M2)、小鼠 CAT ELISA 试剂盒(批号: MH-44125M2)、小鼠 SOD ELISA 试剂盒(批号: MH-0389M2)、小鼠丙二醛(MDA)ELISA 试剂盒(批号: MH-0897M2) 均购自江苏酶免实业有限公司; 苯酚、硫酸等 均为分析纯。

DTA-27F 型超声波清洗机 鼎泰(湖北)生化科技制造有限公司; TDL-40B 型低速离心机 上海安

亭科学仪器厂; UV-5200 型紫外-可见分光光度计上海元析仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 总多糖含量测定方法的建立

1.2.1.1 对照品溶液 精确称取 0.0100 g 无水葡萄糖于 100 mL 容量瓶中, 加超纯水溶解定容至刻度, 即得浓度为 0.1 mg/mL 的葡萄糖标准溶液。

1.2.1.2 供试品溶液 精密称定 1.000 g 板栗粉末于 50 mL 离心管中, 加入超纯水 30 mL, 室温下以超声波功率 100 W 提取 1 h, 3500 r/min 离心 10 min, 吸取上清液 0.5 mL 于 25 mL 容量瓶中, 加超纯水定容至刻度, 备用。

1.2.1.3 标准曲线的制备 精确量取 0.1、0.2、0.3、0.5、0.8 mL 葡萄糖标准溶液, 分别置 20 mL 具塞试管中, 加超纯水至 1 mL, 摇匀, 加入 5% 苯酚 1 mL, 后迅速加入浓硫酸 5 mL, 摇匀, 置冷水浴中降至室温后, 置沸水浴加热 15 min, 再置冷水浴中降至室温, 于 490 nm 测定吸光度^[17]。以葡萄糖溶液浓度(x)为横坐标, 吸光度值(Y)为纵坐标, 绘制葡萄糖标准曲线: $Y=0.01x-0.0232$, $R^2=0.9992$, x 的浓度单位为: $\mu\text{g/mL}$, 线性范围 10~80 $\mu\text{g/mL}$, 线性关系良好。

1.2.1.4 总多糖含量测定 分别准确量取各组供试品溶液 0.5 mL 于 20 mL 具塞试管中, 加水至 1 mL, 后续按照“1.2.1.3”方法进行检测, 平行测定数值 3 次。

总多糖含量(mg/g) = $\frac{(A+0.0232)}{0.01W_{\text{样}}} \times n$

注: A 为测得吸光度值; n 为稀释倍数: 3000。

1.2.2 正交试验优化板栗蒸制工艺

1.2.2.1 中药蒸制板栗的制备 将陈皮、山楂、黄精剪碎约 5 mm 大小, 称取适量, 加入 150 mL 20% 食用乙醇, 浸泡 16 h, 得药食两用中药药液; 将鲜品板栗仁, 洗净沥干, 称取 120 g 置于药液中, 以超声功率 700 W、35 ℃ 的条件超声 30 min^[18], 超声结束后再室温浸泡 60 min。参考中药熟地黄的加工方法, 将浸泡好的板栗仁取出, 平铺于蒸制器皿中, 待蒸锅“圆汽”后, 中火蒸制 30 min, 以上述方法重复浸泡、蒸制一次, 即得黄精、陈皮、山楂中药蒸制板栗。

1.2.2.2 对照组板栗的制备 以 20% 食用乙醇作为浸泡板栗的溶液, 按“1.2.2.1”中的浸泡、蒸制条件加工生品板栗作为对照组板栗。

1.2.2.3 单因素实验 按上述板栗蒸制工艺, 以山楂 3 g, 陈皮 6 g, 研究不同剂量黄精(1.0、2.0、3.0、4.0、5.0)制得的提取液蒸制对板栗感官评价的影响; 以黄精 2 g, 山楂 3 g, 研究不同剂量陈皮(1.5、3.0、4.5、6.0、7.5 g)制得的提取液蒸制对板栗感官评价的影响; 以黄精 2 g, 陈皮 4.5 g, 研究不同剂量山楂 1.5、3.0、4.5、6.0、7.5 g)制得的提取液蒸制对板栗感官评价的影响。

1.2.2.4 正交试验设计 采用陈皮、山楂、黄精用量为考察因素, 各取三个水平, 按 $L_9(3^4)$ 进行正交试验, 见表 1。评价指标: 以感官评价和总多糖含量为评价指标, 进行综合评价; 其中总多糖含量权重系数为 0.7, 感官评价权重系数为 0.3。

表 1 正交试验设计因素与水平

Table 1 Orthogonal experiment design factors and levels

水平	因素		
	A陈皮(g)	B山楂(g)	C黄精(g)
1	6.0	4.5	3.0
2	4.5	3.0	2.0
3	3.0	1.5	1.0

1.2.2.5 感官评价标准 本研究参考文献 [19] 制定感官评价标准见表 2, 分别对板栗的色泽、滋味与香气等感官指标进行分值评定。感官评定人员 20 名, 均为食品科学专业学生, 在评定前 12 h 饮食清淡, 每感官评定一个样品后用清水漱口再评另一样品, 评定过程中不允许相互交谈, 同时填好评分表并签名, 由试验人员收集评分表进行数据分析。

本试验采用 10 分制, 各感官指标权重分别为: 色泽 40%、滋味与香气 60%。各项评价之和为该样品的最终得分。感官评价分值采用算数平均值法进行。

表 2 板栗感官评价标准

Table 2 Sensory evaluation standard of chestnut

项目	品质	得分(分)
色泽	淡棕色, 色泽均匀	30~40
	色泽略微暗淡	15~29
	色泽暗淡, 表面颜色加深	0~14
滋味与香气	酸甜适中, 具有原料特有风味, 香气与原料无差异	40~60
	酸味、苦味过浓, 味道、香气与原料有轻微差异	20~39
	无甜味, 味道、香气与原料差异大	0~19

1.2.3 板栗蒸制前后对小鼠小肠运动的影响

1.2.3.1 板栗水溶液制备 取板栗与蒸制板栗 120 g, 分别加入 3 倍量水, 置料理机内打成糊状物, 加水定容, 制成 0.3 g/mL 的板栗水溶液, 备用。

1.2.3.2 分组及干预 取 SPF 级 ICR 小鼠 18 只, 雄性, 体质量 22~25 g。随机分为空白组、板栗组和蒸制板栗组, 每组 6 只。各给药组分别按体质量 10 mL/kg 灌胃板栗水溶液, 空白组灌胃生理盐水, 2 次/d, 给药间隔时间为 12 h, 同时将板栗组、蒸制板栗组饲料换成相对应的板栗, 连续灌胃 3 d。

1.2.3.3 炭末推进法 末次给药前, 禁食不禁水 12 h, 将含有 5% 炭末的板栗水溶液按体质量 10 mL/kg 灌胃, 30 min 后按“炭末推进试验法”, 脱颈椎处死小鼠, 剖开腹腔, 分离肠系膜, 剪取上端至幽门, 下端至回盲部的肠管, 以直尺测定肠管长度作为小肠总长度, 从幽门至炭末前沿的距离作为炭末在肠内推进距

离^[20], 计算炭末推进率。

$$\text{炭末推进率}(\%) = \frac{\text{炭末肠内推进距离}(\text{cm})}{\text{小肠总长度}(\text{cm})} \times 100$$

1.2.4 板栗总多糖抗氧化应激作用

1.2.4.1 板栗多糖的提取 分别称取板栗、蒸制板栗 240.0 g, 加超纯水 2400 mL(料液比 1:10), 以超声波提取功率 100 W, 常温常压超声提取 35 min, 再以 80 ℃ 水浴加热 1 h^[21], 离心, 取上清液, 旋蒸浓缩, 浓缩液加 95% 乙醇, 醇沉浓度 80%, 4 ℃ 静置 16 h, 沉淀抽滤、洗涤, 置蒸发皿冷冻干燥, 得板栗多糖 12.414 g, 得率 5.17%; 蒸制板栗多糖 18.735 g, 得率 7.81%。冻存至-20 ℃, 备用。

1.2.4.2 D-半乳糖诱导小鼠氧化应激及板栗多糖干预 取 6~8 周龄的 SPF 级 ICR 雄性小鼠 60 只, 体质量 22~25 g, 随机分为: 空白组、模型组、维生素 C 组、板栗多糖组、蒸制板栗多糖组, 每组 10 只。除空白组外, 其余各组每日按 10 mL/kg 腹腔注射 2.5%D-半乳糖(D-galactose, D-gal)溶液, 连续注射 5 周。空白组及模型组灌胃等体积生理盐水, 阳性对照组灌胃 100 mg/mL 维生素 C 溶液^[22], 板栗多糖组、蒸制板栗多糖组按剂量相当于 12 g/kg 生药材配成溶液灌胃给药, 以上各组均按体质量 10 mL/kg 进行干预, 1 d/次, 连续 5 周; 采用 1% 戊巴比妥钠溶液麻醉小鼠, 摘眼球取血, 血液经 3500 r/min、4 ℃ 离心 15 min, 取上清用于后续生化检测。

1.2.4.3 氧化应激小鼠血清抗氧化酶活性测定 采用酶联免疫法, 参照试剂盒说明书操作, 检测各组小鼠血清中 CAT、HO-1、SOD、GSH-Px 活性水平及 MDA 含量。

1.3 数据处理

采用 SPSS 23.0 软件对实验数据进行处理及统计学分析, 结果以 Mean±SD 表示。应用单因素方差分析(One-way ANOVA)进行组间比较, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 单因素实验结果

2.1.1 黄精用量对感官评价的影响 如图 1 所示, 蒸制板栗感官评价的得分随黄精的添加的增加呈先增加后下降趋势, 当添加量大于 2.0 g 后开始下降。这是由于中药黄精本身存在药味会干扰蒸制板栗的味道, 使药味掩盖板栗本身香味, 从而导致感官评价得分降低, 故选取黄精的添加量为 2.0 g 进行下一步试验。

2.1.2 陈皮用量对感官评价的影响 如图 2 所示, 蒸制板栗感官评价的得分随陈皮的添加的增加呈先增加后下降趋势, 当添加量大于 4.5 g 后开始下降。这是由于陈皮本身香气与板栗香气融合, 干扰蒸制板栗的味道, 且陈皮的风味会掩盖板栗的香味, 从而导致感官评价得分降低, 故选取陈皮的添加量为 4.5 g 进

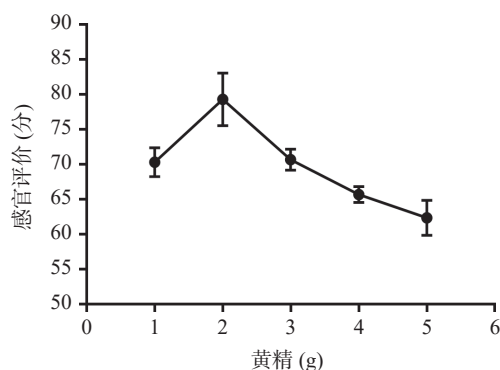


图 1 黄精用量对感官评价的影响

Fig.1 Effect of *Polygonatum* dosage on sensory evaluation

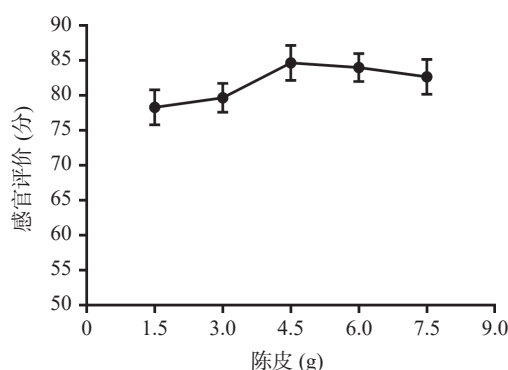


图 2 陈皮用量对感官评价的影响

Fig.2 Effect of *Citrusreticulata* dosage on sensory evaluation

行下一步试验。

2.1.3 山楂用量对感官评价的影响 如图 3 所示, 蒸制板栗感官评价的得分随山楂的添加的增加呈先增加后下降趋势, 当添加量大于 3.0 g 后开始下降。这是由于山楂带有酸味, 适当添加能解腻, 但添加量过多会导致蒸制板栗过酸, 影响口感, 从而导致感官评价得分降低, 故选取山楂的添加量为 3.0 g 进行下一步试验。

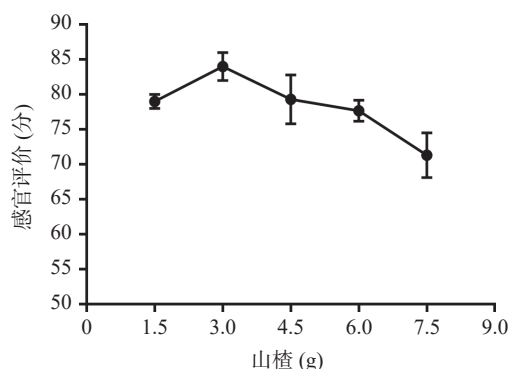


图 3 山楂用量对感官评价的影响

Fig.3 Effect of *Crataegus pinnatifida* dosage on sensory evaluation

2.2 正交试验优化板栗蒸制工艺

$L_9(3^4)$ 正交试验中各实验组板栗多糖含量, 蒸制工艺条件及正交实验结果见表 3, 方差分析见表 4。由直观分析可知, 影响蒸制板栗总多糖含量和感官评价效果的因素主次顺序为: A>B>C, 即陈皮>山楂>黄

精。经方差分析,最终确定最佳中药用量方案为 $A_2B_2C_1$,即蒸制 120 g 板栗需陈皮 4.5 g、山楂 3 g、黄精 3 g,测得对照组板栗多糖含量为 69.65 ± 0.98 mg/g;经药食两用中药制成的蒸制板栗,感官评价得分为: 89.2 ± 0.56 ;多糖含量为: 97.10 ± 0.16 mg/g。

表 3 正交试验设计方案与结果

Table 3 Scheme and results of orthogonal experiment design								
实验号	A	B	C	X1	X2	Y1	Y2	Y
1	6	4.5	3	66.96	80.3	48.63	27.01	75.64
2	6	3	2	77.76	80.7	56.47	27.14	83.61
3	6	1.5	1	69.24	81.6	50.28	27.44	77.73
4	4.5	4.5	1	91.39	85.8	66.31	28.66	95.17
5	4.5	3	3	93.99	89.2	68.26	30.00	98.26
6	4.5	1.5	2	96.39	84.5	70.00	28.42	98.42
7	3	4.5	2	74.09	81.3	53.81	37.34	81.15
8	3	3	1	82.85	80.5	60.17	27.07	87.24
9	3	1.5	3	70.20	78.6	50.98	26.43	77.42
K1	78.993	83.987	87.100					
K2	97.283	89.703	85.400					
K3	81.937	84.523	85.713					
R	18.290	5.716	1.700					

注: X1为总多糖含量(mg/g), X2为感官评价得分(分), Y1为总多糖加权评分, Y2为感官评价得分加权评分, Y为综合评分。总多糖含量加权评分 $Y1=(70/\text{最大总多糖含量})\times\text{总多糖含量}X1$;感官评价得分加权评分 $Y2=(30/\text{最大感官评价得分})\times\text{感官评价得分}X2$;综合评分 $Y=Y1+Y2$ 。

表 4 综合评分方差分析

Table 4 Comprehensive analysis of variance					
因素	偏差平方和	自由度	F比	F临界值	显著性
A	578.707	2	22.875	19.000	*
B	59.801	2	2.364	19.000	
C	4.911	2	0.194	19.000	

2.3 板栗对小鼠小肠运动的影响

与空白组相比,板栗组小鼠肠推进率小于空白组,但无显著性差异($P>0.05$),蒸制板栗组小鼠肠推进率显著提高($P<0.05$);与板栗组相比,蒸制板栗组肠推进率显著提高($P<0.01$),见图 4,表明经陈皮、山楂、黄精蒸制后的板栗可有效促进小鼠小肠运动。

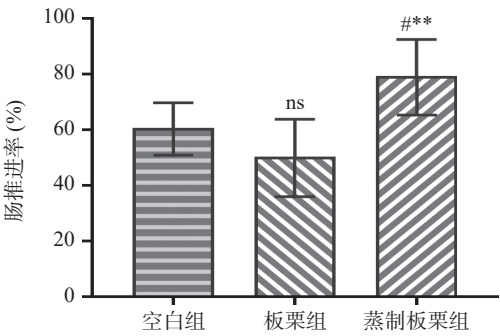


图 4 板栗对小鼠小肠运动的影响

Fig.4 Effect of Chestnut on small intestinal motility

注:与空白组对比, # $P<0.05$;与板栗组对比, ** $P<0.01$ 。

2.4 氧化应激小鼠血清抗氧化酶活性测定

由见图 5 可知,与空白组相比较,模型组小鼠血清中 SOD、GSH-Px、HO-1、CAT 活性明显降低,差异具有统计学意义($P<0.05$),MDA 活性明显提高,差异具有统计学意义($P<0.05$),表明 D-gal 诱导氧化应激成功;与模型组相比,蒸制板栗多糖组的 GSH-Px、HO-1、CAT 活性极显著提高,差异具有统计学意义($P<0.001$),SOD 也明显提高($P<0.05$),MDA 活性显著降低,差异具有统计学意义($P<0.01$),表明经陈

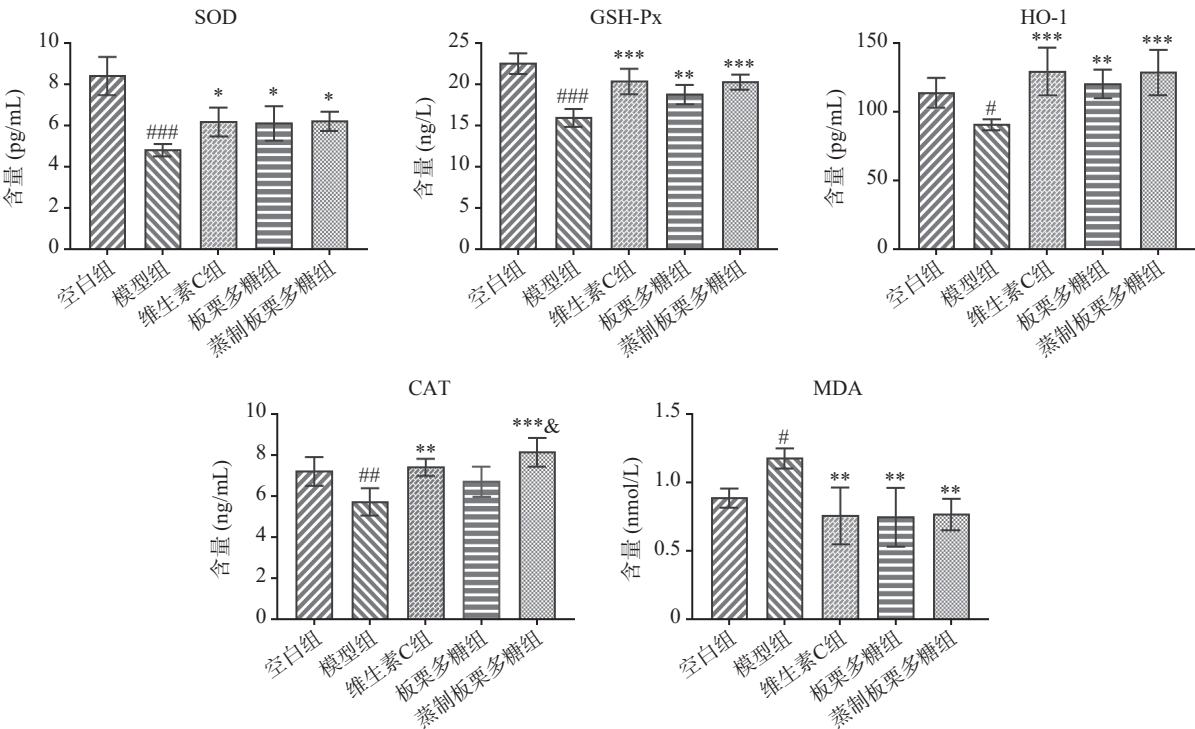


图 5 血清中 SOD、GSH-Px、HO-1、CAT、MDA 含量

Fig.5 Content of SOD, GSH-Px, HO-1, CAT, and MDA in the serum

注:与空白组对比, # $P<0.05$, ### $P<0.01$, **** $P<0.001$;与模型组对比, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$;与板栗多糖组对比, & $P<0.05$ 。

皮、山楂、黄精蒸制后的板栗具有良好的抗氧化效果,可有效改善 D-gal 诱导的小鼠衰老,此外,与板栗多糖组对比,蒸制板栗组 CAT 显著提高($P<0.05$),提示板栗多糖、蒸制板栗多糖均有抗氧化活性,蒸制板栗组整体抗氧化活性较板栗多糖组高($P<0.01$)。

3 讨论与结论

中医药在改善机体免疫能力,抗氧化应激和衰老有其独特的优势。多糖广泛存在于药用植物及微生物的细胞壁、动物细胞膜中,其可通过提高机体抗氧化、调节免疫作用、对应激反应的影响及延长生长期等方面对机体起到延缓衰老的作用^[23-24]。从食用安全性和保健功效两角度考量,药食两用中药是开发保健食品和寻找抗氧化抗衰老药物的潜在资源。板栗风味良好,具有补肾、抗衰老的作用,多糖是其有效物质之一,然而板栗生吃不易消化,熟吃又滞气^[25]。黄精^[26-27]、山楂^[28]、陈皮^[29-30]消食健胃、行气化痰,富含多糖和黄酮,且具有抗氧化自由基损伤的活性。为进一步增强板栗抗氧化功效、改善其消化不良消化的弊端,本研究参考中药熟地黄、黄精等炮制工艺,提取中药活性成分对板栗进行蒸制加工;基于感官评价和多糖含量,以总多糖为主要评价指标,采用苯酚-浓硫酸法测定板栗蒸制前后总多糖含量^[31],优选黄精、山楂、陈皮提取液蒸制板栗的工艺为:每 100 g 蒸制板栗含板栗 91.95%,陈皮 3.45%、山楂 2.30%、黄精 2.30%,对照组板栗多糖含量为:69.65±0.98 mg/g;经药食两用中药提取液蒸制板栗中多糖含量为:97.10±0.16 mg/g。

为明确蒸制前后机体对板栗的消化情况,本研究借助肠推进实验,通过每天 2 次,连续 3 d 给正常小鼠灌胃板栗,模拟板栗多食造成消化不良的情况,在末次灌胃半小时后进行肠道推进检测,结果显示,连续 3 d,每天 2 次给予板栗会造成小鼠肠道推进减慢,与板栗组对比,药食两用中药蒸制后的板栗促进肠推进具有显著差异($P<0.01$),表明板栗借助山楂、陈皮消食的功效改善自身消化不良的弊端;为进一步明确药食两用中药蒸制板栗对小鼠血清氧化应激的影响,本研究采用 D-gal 诱导,构建氧化应激衰老动物模型^[32],发现 D-半乳糖诱导的小鼠相较空白组更明显出现氧化应激,氧化应激产物 MDA 含量显著升高($P<0.05$),经板栗经中药蒸制前后,其多糖均可有效促进体内防御系统中抗氧化酶系 SOD、GSH-Px、HO-1、CAT 的合成或活性增强,降低代谢产物 MDA 的活性,防止自由基堆积。

本研究借鉴中药炮制,提出板栗新的加工方法,提供了一种新的板栗加工品,可为同类食药两用中药的开发利用提供参考,可促进板栗资源的利用,利于多种类板栗保健品的开发,提升板栗在抗氧化抗衰老研究方面的附加值。本研究不足之处在于,尚未完全阐明板栗补肾机制,仅从血清水平阐明其具有抗氧化作用,未能在更深的作用机制层面阐明板栗通过何种

途径补肾,从而抗氧化抗衰老,这亦是现代研究的不足之处。板栗作为一种风味良好的食品,在中医药领域亦是补肾佳品,如何实现中医药学与食品科学的有机结合,一直是中医药学者研究的热点,本研究仅提供一点微薄思路,供做参考。在本研究水平上,药食两用中药蒸制的板栗可改善板栗本身不易消化的缺点,且其多糖在抗氧化抗衰老作用。然而板栗中营养成分含量丰富,对板栗中是否还存在其他具有显著抗氧化、抗抗衰老作用的成分及板栗抗衰老作用机制还需进一步深入研究。

参考文献

- [1] 杨涵墨. 中国人口老龄化新趋势及老年人口新特征[J]. 人口研究, 2022, 46(5): 104-116. [YANG H M. Dynamic trend of china's population ageing and new characteristics of the elderly[J]. Population Research, 2022, 46(5): 104-116.]
- [2] 单思, 严小军, 刘红宁. 衰老病机研究进展[J]. 新中医, 2020, 52(7): 12-15. [SHAN S, YAN X J, LIU H N. Research progress of pathogenesis of aging[J]. Journal of New Chinese Medicine, 2020, 52(7): 12-15.]
- [3] ALKADI H. A. Review on free radicals and antioxidants[J]. Infect Disord Drug Targets, 2020, 20(1): 16-26.
- [4] 阙黎娜, 李倩, 谢爽爽等. 我国板栗种质资源分布及营养成分比较[J]. 食品工业科技, 2016, 37(20): 396-400. [KAN L N, LI Q, XIE S S, et al. Resource distribution and nutritional quality difference of Chinese chestnuts[J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(20): 396-400.]
- [5] 郑玉梅, 战红英, 毕磊. 7 种板栗的营养成分比较研究[J]. 食品安全导刊, 2021(7): 45-47. [ZHENG Y M, ZHAN H Y, BI L. Comparative study on nutritional components of seven kinds of chestnut[J]. China Food Safety Magazine, 2021(7): 45-47.]
- [6] 刘桂娟, 崔恩姬, 郑昌吉. 板栗化学成分与药理作用的研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(10): 1843-1847. [LIU G J, CUI E J, ZHENG C J. Advances on chemical constituents and pharmacological effects of *Castanea mollissima* blume[J]. Natural Product Research and Development, 2018, 30(10): 1843-1847.]
- [7] 徐志祥, 高绘菊. 板栗营养价值及其养生保健功能[J]. 食品研究与开发, 2004(5): 118-119. [XU Z X, GAO H J. The nutritional value of Chinese chestnut and its health care function[J]. Food Research and Development, 2004(5): 118-119.]
- [8] 刘迎春. 板栗和茶树混交栽培技术要点[J]. 特种经济动植物, 2023, 26(1): 140-142. [LIU Y C. Key points of mixed cultivation techniques of Chinese chestnut and tea tree[J]. Special Economic Animal and Plants, 2023, 26(1): 140-142.]
- [9] 张力思, 洪坡, 王甲威, 等. 板栗种质资源果实性状的遗传多样性分析[J]. 安徽农业科学, 2023, 51(1): 39-41. [ZHANG L S, HONG P, WANG J W, et al. Genetic diversity analysis of fruit characters in *Germplasm* resources of *Castanea mill*[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2023, 51(1): 39-41.]
- [10] 肖丽静, 王东升, 魏源, 等. 基于主成分分析的板栗坚果品质评价研究[J]. 河北果树, 2023(1): 18-23. [XIAO L J, WANG D S, WEI Y, et al. Study on chestnut nut quality evaluation based on principal component analysis[J]. Hebei Fruits, 2023(1): 18-23.]
- [11] 李妍馥, 梅小龙, 骆安琪, 等. 板栗及其加工副产物的活性物质研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(24): 9490-9498. [LI Y F, MEI X L, LUO A Q, et al. Research progress on active substances of Chinese chestnut and processing by-products[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2021, 12(24): 9490-9498.]

- [12] 戴成国. 板栗多糖的分离纯化、结构分析及体外抗氧化研究[D]. 西安: 陕西师范大学, 2011. [DAI C G. Studies on the isolation, purification, structure and antioxidant activity of polysaccharide from *Castanea mollissima* blume[D]. Xi'an: Shaanxi Normal University, 2011.]
- [13] 李清宇, 杨颖, 贾琳斐, 等. 板栗多糖的分离纯化、结构分析及抗疲劳作用的研究[J]. *食品与生物技术学报*, 2013, 32(7): 767–772. [LI Q Y, YANG Y, JIA L F et al. Purification, structural analysis and antifatigue assay of polysaccharide from *Castanea mollissima* blume[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2013, 32(7): 767–772.]
- [14] 王晓东, 赵薇, 王梦雅, 等. 1-甲基环丙烯协同壳聚糖处理对板栗贮藏期品质的影响[J]. *食品研究与开发*, 2023, 44(10): 70–76. [WANG X D, ZHAO W, WANG M Y, et al. Effect of 1-methylcyclopropene (1-MCP) combined with chitosan on quality of Chestnut during storage[J]. *Food Research and Development*, 2023, 44(10): 70–76.]
- [15] 阚黎娜. 我国六个产地板栗质量差别及热加工对其品质的影响[D]. 北京: 北京林业大学, 2018. [KAN L N. Quality differentiation of chestnuts from six different origins of China and effect of thermal processing on their quality[D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2018.]
- [16] LIU F, CHANG X, HU X, et al. Effect of thermal processing on phenolic profiles and antioxidant activities in *Castanea mollissima*[J]. *International Journal of Food Science and Technology*, 2017, 52(2): 439–447.
- [17] 刘培, 王伊楠, 张莉丹, 等. 四君子汤中总多糖、总黄酮和总皂苷的纯化工艺研究[J]. *山西中医药大学学报*, 2020, 21(2): 124–128. [LIU P, WANG Y N, ZHANG L D, et al. Study on purification process of total polysaccharides, total flavonoids and total saponins from Sijunzi decoction[J]. *Journal of Shanxi College of Traditional Chinese Medicine*, 2020, 21(2): 124–128.]
- [18] 周礼娟, 芮汉明, 郭凯. 低糖板栗果脯加工关键技术研究进展[J]. *食品研究与开发*, 2009, 30(1): 172–175. [ZHOU L J, RUI H M, GUO K. Advanced study on the key technology of the low sugared chestnut in process[J]. *Food Research and Development*, 2009, 30(1): 172–175.]
- [19] 韩晓东. 板栗脆片增香的工艺技术研究[J]. *辽宁林业科技*, 2019(1): 10–16. [HAN X D. Researches on aroma enhancing process of chestnut chips[J]. *Liaoning Forestry Science and Technology*, 2019(1): 10–16.]
- [20] 孙建辉, 唐纯玉, 霍海如, 等. 小儿扶脾颗粒对小儿功能性消化不良的实验研究[J]. *中医药导报*, 2018, 24(21): 71–74. [SUN J H, TANG C Y, HUO H R, et al. Effects of Xiaoler Fupi granule on functional dyspepsia of young mice[J]. *Guiding Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy*, 2018, 24(21): 71–74.]
- [21] 杨芳, 曹银, 廖绪标, 等. 板栗多糖的超声波辅助提取技术[J]. *湖北农业科学*, 2012, 51(12): 2552–2555. [YANG F, CAO Y LIAO X B, et al. Study on ultrasonic-assisted extraction technology of polysaccharides from chestnut fruits[J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2012, 51(12): 2552–2555.]
- [22] 高志清, 海春旭, 秦绪军等. 维生素 C 对 D-半乳糖致亚急性衰老小鼠模型的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2007(7): 637–639. [GAO Z Q, HAI C X, QIN X J, et al. Effect of vitamin C on a d-galactose-induced subacute aging mouse model[J]. *Chinese Journal of Gerontology*, 2007(7): 637–639.]
- [23] MU S, YANG W, HUANG G. Antioxidant activities and mechanisms of polysaccharides[J]. *Chem Biol Drug Des*, 2021, 97(3): 628–632.
- [24] GUO X, LUO J, QI J, et al. The role and mechanism of polysaccharides in anti-aging[J]. *Nutrients*, 2022, 14(24): 5330.
- [25] 寇秋爱. 养肾吃什么宜忌速查[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2015. [KOU Q A. Avoid a kidney to eat what appropriate quick[M]. Beijing: China Light Industry Press, 2015.]
- [26] MA W, WEI S, PENG W, et al. Antioxidant effect of *Polygonatum sibiricum* polysaccharides in d-galactose-induced heart aging mice[J]. *Biomed Res Int*, 2021, 2021: 6688855.
- [27] WANG S, LI G, ZHANG X, et al. Structural characterization and antioxidant activity of polygonatum sibiricum polysaccharides[J]. *Carbohydr Polym*, 2022, 291: 119524.
- [28] WANG X, LI X, LI L, et al. Hawthorn fruit extract ameliorates h(2)o(2)-induced oxidative damage in neuronal pc12 cells and prolongs the lifespan of *Caenorhabditis elegans* via the is signaling pathway[J]. *Food Funct*, 2022, 13(20): 10680–10694.
- [29] 何露, 胡璐曼, 邓健善, 等. 陈皮黄酮提取工艺优化及抗氧化活性检测[J]. *基因组学与应用生物学*, 2021, 40(3): 1316–1323. [HE L, HU L M, DENG J S, et al. Optimization of extraction process and tests of antioxidant activity of flavonoids from citrus *Reticulata blanco*[J]. *Genomics and Applied Biology*, 2021, 40(3): 1316–1323.]
- [30] YUE F, ZHANG F, QU Q, et al. Effects of ageing time on the properties of polysaccharide in tangerine peel and its bacterial community[J]. *Food Chem*, 2023, 417: 135812.
- [31] 张松柏, 陈磊, 许文, 等. 优化苯酚硫酸法测定金线莲中多糖含量[J]. *福建中医药*, 2019, 50(4): 58–60. [ZHANG S B, CHEN L, XU W, et al. Optimize phenol sulfuric acid method to determine polysaccharide content in lotus[J]. *Fujian Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2019, 50(4): 58–60.]
- [32] AZMAN K F, ZAKARIA R. D-galactose-induced accelerated aging model: An overview[J]. *Biogerontology*, 2019, 20(6): 763–782.