



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 113854447 B

(45) 授权公告日 2024.01.12

(21) 申请号 202110913300.9

A61K 36/815 (2006.01)

(22) 申请日 2021.08.10

A61P 19/06 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

A61P 1/16 (2006.01)

申请公布号 CN 113854447 A

A61P 13/12 (2006.01)

(43) 申请公布日 2021.12.31

A61K 35/747 (2015.01)

A61K 35/744 (2015.01)

(73) 专利权人 天津科技大学

(56) 对比文件

地址 300457 天津市滨海新区经济技术开发区第十三大街9号

CN 105167072 A, 2015.12.23

CN 113174341 A, 2021.07.27

(72) 发明人 罗学刚 李月婵 操俊 庄林
张同存

CN 106387572 A, 2017.02.15

CN 108902949 A, 2018.11.30

(74) 专利代理机构 天津盛理知识产权代理有限公司 12209

US 2011014168 A1, 2011.01.20

WO 2019203827 A1, 2019.10.24

专利代理师 韩晓梅

WO 2004112809 A1, 2004.12.29

CN 108703218 A, 2018.10.26

(51) Int. Cl.

汪云阳;单静博;陈亚楠;乔长晟;罗学刚.枸杞发酵饮料的工艺优化及其风味物质分析.食品研究与开发.2020,(18),第40-47页.

A23L 2/38 (2021.01)

A23L 2/52 (2006.01)

A23L 33/10 (2016.01)

A23L 33/135 (2016.01)

审查员 徐小青

权利要求书1页 说明书9页 附图4页

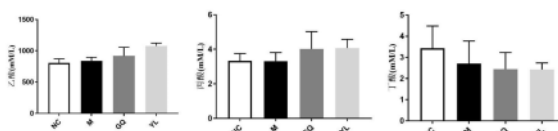
(54) 发明名称

健康食品的需求。

一种枸杞益生菌发酵饮料

(57) 摘要

本发明公开了一种可缓解高尿酸血症及痛风的枸杞益生菌发酵饮料,所述饮料的制备步骤如下:枸杞预处理;灭菌后,立刻冷却;给灭菌后的枸杞接种益生菌;将接种后的枸杞放入生化培养箱进行恒温发酵,即得成品饮料。本发明饮料综合了枸杞和益生菌的保健功能,发明出一种可有效缓解高尿酸血症及痛风症状的功能性饮品,具有广阔的应用前景。经过发酵转化后,枸杞原浆增添了独特的乳酸风味,分析表明饮料中活性益生菌以及短链脂肪酸等活性物质得以富集,细胞及动物水平的药理学评价显示能够显著改善高尿酸血症及痛风中的血清尿酸、肌酐、肝肾病理损伤、炎症及氧化应激等症状,且本发明不添加蔗糖等甜味剂,进一步满足了消费者对于低糖



1. 一种枸杞益生菌发酵饮料,其特征在于:所述饮料的制备步骤如下:

(1) 枸杞预处理:挑选无病虫害、无机械损伤的新鲜枸杞子,利用无菌水清洗干净并沥干水分,于-30℃至-25℃环境下破碎打浆,最后巴氏灭菌消毒并密封保存,即得到成品枸杞原浆;用去离子水将枸杞原浆稀释九倍,备用;

(2) 灭菌:灭菌条件为55-70℃、20-40min,灭菌后,立刻冷却至4-5℃;

(3) 接种:给灭菌后的枸杞接种益生菌;

(4) 恒温发酵:将接种后的枸杞放入生化培养箱进行恒温发酵,25-40℃、5-12h,即得成品饮料;

所述步骤(3)中益生菌为植物乳杆菌CGMCC8198、乳酸片球菌LTJ28、干酪乳杆菌YR2-2以体积比1:1:1的比例复配发酵,其中,各个菌的浓度不少于 10^8 CFU/mL;

所述步骤(3)中益生菌的接种量为3-6%。

一种枸杞益生菌发酵饮料

技术领域

[0001] 本发明属于生物与医药、食品技术领域,涉及饮料,尤其是一种可缓解高尿酸血症及痛风的枸杞益生菌发酵饮料及应用。

背景技术

[0002] 高尿酸血症(HUA)是一种由嘌呤代谢紊乱引起的、以血清尿酸水平升高为主要特征的代谢病。近年来,随着人们生活水平的不断提高及饮食结构的改变,特别是高嘌呤饮食的增加,HUA呈现年轻化趋势。截至2017年底,我国确诊病例已达1.7亿例。尽管HUA不属于致命性疾病,但是当血尿酸超过饱和浓度时,尿酸盐晶体析出可直接沉积在关节、软骨、输尿管等处,从而引起人体局部组织的无菌性炎症反应,进而引起痛风。此外,HUA还与糖尿病、高脂血症、非酒精性脂肪肝等多种高发性代谢疾病有关,最新研究表明,HUA还与多种癌症的发病率和死亡率相关。

[0003] 人体内的尿酸,约70%通过肾脏排泄,其余随粪便排出或经肠道菌群进一步分解代谢。少部分在人体肠道内排泄或由肠道内菌群分解。目前,传统的治疗高尿酸血症的药物主要为排尿酸药、抑制尿酸生成药和碱性药物,包括别嘌呤醇、苯溴马隆、非布司他等。但上述药物均存在副作用过多的问题,且代谢类疾病需要漫长的防控调理,在患者普遍存在肝肾功能衰退的情况下,长期用药无疑是“伤敌一千、自损八百”,因此,探究并发掘调理、改善肝肾功能的药食两用产品,具有重要的社会意义。

[0004] 枸杞是我国传统中药材和功能性食品添加剂,在中国食用枸杞已有2000多年的历史。《本草汇言》记载:“枸杞能使气可充,血可补,阳可生,阴可长,火可降,风湿可去,有十全之妙用焉”,意为枸杞用作中药时,具有滋补肝肾、益精明目的功效,主治目眩昏暗、肾虚腰痛等症状;《本草纲目》也记载:“久服坚筋骨”,表明长期服用枸杞,可以扶正固本、滋阴补肾。民间关于枸杞的传统中药验方包括金髓煎、四神丸、地杞沉香酒等,都具有补肾助阳的功效。现代医学研究表明,枸杞可降低血糖、胆固醇及甘油三酯水平,对脂肪肝、糖尿病和心血管疾病患者有一定的疗效,此外,枸杞还可治疗慢性肾衰竭。

[0005] 近年来,国内饮料市场蓬勃发展,茶饮料、果蔬汁原浆和功能性饮料占据较大比重。其中,为了迎合消费者的健康理念,发酵制品正在不断走向成熟。现如今,益生菌被广泛地应用于食品行业,其依靠对人体特殊的神奇功效,得到了广大消费者的普遍认可。采用益生菌生物发酵技术开发具有特殊营养保健功能的发酵饮料,特别是对于许多药食同源性、营养健康功效显著的果蔬或植物性材料,通过益生菌的发酵不但可以获得更加丰富的口感,而且可以获得比单纯的果蔬汁原浆更为理想的保健功能。

[0006] 通过检索,发现如下几篇关于制备染料分散剂方面的相关专利公开文献,具体如下:

[0007] 一种枸杞益生菌发酵饮料及其制备方法(CN110074299A),是由下列重量成分组成:大米120-180公斤,枸杞子30-50公斤,白糖30-70公斤,果糖40-60公斤,三氯蔗糖50-60克,山梨酸钾1-2公斤,柠檬酸0.1-1公斤,盐0.1-0.5公斤,嗜热链球菌100-300克,嗜酸乳杆

菌150-250克,两歧双歧杆菌150-200克。本发明具有如下优点:口感上佳,提高机体免疫功能,增强机体适应调节能力,具有抗癌作用,具有显著的明目作用,提升精力,增强学习记忆,提高肌体适应性,增强人体造血功能,延缓衰老,美容养颜,降血脂降血压,治疗男性不育,强身壮阳,缓解过敏性炎症,保肝、防脂肪肝,降血糖,治疗糖尿病,治疗慢性肝炎、肝硬化。

[0008] 通过对比,本发明专利申请与上述专利公开文献存在本质的不同。

发明内容

[0009] 本发明目的在于克服现有技术中的不足之处,提供一种可缓解高尿酸血症及痛风的枸杞益生菌发酵饮料及应用。

[0010] 本发明解决其技术问题所采用的技术方案是:

[0011] 一种可缓解高尿酸血症及痛风的枸杞益生菌发酵饮料,所述饮料的制备步骤如下:

[0012] (1) 枸杞预处理:挑选无病虫害、无机械损伤的新鲜枸杞子,利用无菌水清洗干净并沥干水分,于-30℃至-25℃环境下破碎打浆,最后巴氏灭菌消毒并密封保存,即得到成品枸杞原浆;用去离子水将枸杞原浆稀释九倍,备用;

[0013] (2) 灭菌:灭菌条件为55-70℃、20-40min,灭菌后,立刻冷却至4-5℃;

[0014] (3) 接种:给灭菌后的枸杞接种益生菌;

[0015] (4) 恒温发酵:将接种后的枸杞放入生化培养箱进行恒温发酵,25-40℃、5-12h,即得成品饮料。

[0016] 进一步地,所述步骤(1)中巴氏灭菌消毒灌装至密封袋中保存。

[0017] 进一步地,所述步骤(3)中益生菌为植物乳杆菌CGMCC8198、乳酸片球菌LTJ28和/或干酪乳杆菌YR2-2,均符合国家2010年发布的《可用于食品的菌种名单》要求的益生菌菌株。

[0018] 进一步地,所述步骤(3)中益生菌为植物乳杆菌CGMCC8198、乳酸片球菌LTJ28、干酪乳杆菌YR2-2以体积比1:1:2的比例复配发酵,其中,各个菌的浓度不少于 10^8 CFU/mL。

[0019] 进一步地,所述步骤(3)中益生菌的接种量为3-6%。

[0020] 进一步地,所述益生菌的接种量为4%。

[0021] 进一步地,所述益生菌菌株在-80℃保存后,须过夜活化8-15h,活菌数为 10^8 CFU/mL以上后,进行接种。

[0022] 如上所述的可缓解高尿酸血症及痛风的枸杞益生菌发酵饮料在制备用于改善肝肾功能损伤的药品或保健品方面中的应用。

[0023] 如上所述的可缓解高尿酸血症及痛风的枸杞益生菌发酵饮料在制备用于预防或治疗高尿酸血症的药品和保健品方面中的应用。

[0024] 如上所述的可缓解高尿酸血症及痛风的枸杞益生菌发酵饮料在制备用于预防或治疗痛风的药品和/或保健品方面中的应用。

[0025] 本发明取得的优点和积极效果为:

[0026] 1、本发明通过前期研究表明,所选取的三种不同来源的益生菌都具备较好的益生效果。从青贮饲料中筛选得到的植物乳杆菌8198,具有很强的耐酸耐胆盐能力,通过《植物

乳杆菌在降血脂和辅助减肥方面的应用》(CN103598594A)已经证实,植物乳杆菌8198在降血脂和降胆固醇方面有一定的效果,具有辅助减肥的功效;《一株具有优良抗酒精胁迫能力的乳酸片球菌和应用》(CN111944713A)公开了乳酸片球菌LTJ28优良的抗酒精胁迫能力,以及该菌株在食品加工领域深远的应用前景;干酪乳杆菌YR2-2来源于酸粥,《酸粥类食品中乳杆菌的药敏性分析及优势菌株的筛选》已经证实,干酪乳杆菌安全性相对较高,是一种理想的发酵剂。由于不同菌种之间存在共生作用,复合菌剂的抗氧化能力往往优于单菌种发酵,因此本发明融合了三种益生菌的不同功效,这对探究代谢病等慢性疾病的治疗大有裨益。

[0027] 2、本发明饮料使用的枸杞富含花青素、类胡萝卜素、多酚、黄酮和多糖等多种特殊成分,可提高机体抗氧化能力,具有滋阴补肾、延缓衰老等积极作用。本发明饮料综合了枸杞和益生菌的保健功能,发明出一种可有效缓解高尿酸血症及痛风症状的功能性饮品,具有广阔的应用前景。经过发酵转化后,枸杞原浆增添了独特的乳酸风味,分析表明饮料中活性益生菌以及短链脂肪酸等活性物质得以富集,细胞及动物水平的药理学评价显示能够显著改善高尿酸血症及痛风中的血清尿酸、肌酐、肝肾病理损伤、炎症及氧化应激等症状,且本发明不添加蔗糖等甜味剂,进一步满足了消费者对于低糖健康食品的需求。

[0028] 3、体外实验表明,经过发酵工艺单因素及响应面的优化,所制得的上述枸杞益生菌发酵饮料,其活性益生菌数量以及抗氧化性较发酵前得到明显提高,且该饮料富含活的益生菌,有广泛的接受度和市场前景,这为枸杞益生菌发酵饮料的工业化生产提供了最佳参数。

[0029] 4、体内实验表明,对小鼠腹腔注射氧嗉酸钾并辅以高嘌呤饮食建立高尿酸血症模型,经30d造模成功后,饮料组小鼠血尿酸、肌酐和尿素氮水平显著降低,同时观察小鼠的肾脏病理切片也发现,该饮料可改善高尿酸血症的肾脏组织和细胞形态,显示该饮料在一定程度上能缓解肝肾病理性损伤,且小鼠肠道短链脂肪酸丰度较对照组小鼠明显升高,这证明了该饮料起到了改善肠道功能、保护肠道健康的作用。这对减轻高嘌呤饮食引起的高尿酸血症、痛风等慢性代谢疾病具有重要的现实意义。

附图说明

[0030] 图1为本发明枸杞益生菌发酵饮料的一种工艺流程示意图;

[0031] 图2为本发明中维生素C的DPPH自由基清除能力标准曲线;

[0032] 图3为本发明中发酵条件的单因素实验结果图;其中,上方图片从左至右依次为发酵时间、发酵温度和发酵液料比的单因素实验结果图,下方图片中的左图为菌种接种量的单因素实验结果图,右图为菌种配比(植物乳杆菌8198:乳酸片球菌LTJ28:干酪乳杆菌YR2-2)的单因素实验结果图;

[0033] 图4为本发明中响应面试验结果图;其中,图片从前到后依次为发酵时间和接种量对评分影响的响应面与等高线图、发酵时间和液料比对评分影响的响应面与等高线图、接种量和液料比对评分影响的响应面与等高线图;

[0034] 图5为本发明中枸杞益生菌发酵饮料对小鼠肾功能的影响图;其中,图片从左到右依次为不同组小鼠尿酸水平结果图、不同组小鼠尿素氮水平结果图、不同组小鼠肌酐水平结果图;

[0035] 图6为本发明中不同组小鼠肾脏病理切片图;其中,图片从前到后依次为正常组(NC)、模型组(M)、枸杞组(GQ)、枸杞饮料组(YL);

[0036] 图7为本发明中枸杞益生菌发酵饮料对小鼠短链脂肪酸含量的影响图;其中,图片从左到右依次为不同组小鼠肠道乙酸含量图、不同组小鼠肠道丙酸含量图、不同组小鼠肠道丁酸含量图。

具体实施方式

[0037] 下面详细叙述本发明的实施例,需要说明的是,本实施例是叙述性的,不是限定性的,不能以此限定本发明的保护范围。

[0038] 本发明中所使用的原料,如无特殊说明,均为常规的市售产品;本发明中所使用的方法,如无特殊说明,均为本领域的常规方法。

[0039] 一种可缓解高尿酸血症及痛风的枸杞益生菌发酵饮料,所述饮料的制备步骤如下:

[0040] (1) 枸杞预处理:挑选无病虫害、无机械损伤的新鲜枸杞子,利用无菌水清洗干净并沥干水分,于-30℃至-25℃环境下破碎打浆,最后巴氏灭菌消毒并密封保存,即得到成品枸杞原浆;用去离子水将枸杞原浆稀释九倍,备用;

[0041] (2) 灭菌:灭菌条件为55-70℃、20-40min,灭菌后,立刻冷却至4-5℃;

[0042] (3) 接种:给灭菌后的枸杞接种益生菌;

[0043] (4) 恒温发酵:将接种后的枸杞放入生化培养箱进行恒温发酵,25-40℃、5-12h,即得成品饮料。

[0044] 较优地,所述步骤(1)中巴氏灭菌消毒灌装至密封袋中保存。

[0045] 较优地,所述步骤(3)中益生菌为植物乳杆菌CGMCC8198、乳酸片球菌LTJ28和/或干酪乳杆菌YR2-2,均符合国家2010年发布的《可用于食品的菌种名单》要求的益生菌菌株。

[0046] 较优地,所述步骤(3)中益生菌为植物乳杆菌CGMCC8198、乳酸片球菌LTJ28、干酪乳杆菌YR2-2以体积比1:1:2的比例复配发酵,其中,各个菌的浓度不少于 10^8 CFU/mL。

[0047] 较优地,所述步骤(3)中益生菌的接种量为3-6%。

[0048] 较优地,所述益生菌的接种量为4%。

[0049] 较优地,所述益生菌菌株在-80℃保存后,须过夜活化8-15h,活菌数为 10^8 CFU/mL以上后,进行接种。

[0050] 如上所述的可缓解高尿酸血症及痛风的枸杞益生菌发酵饮料在制备用于改善肝肾功能损伤的药品或保健品方面中的应用。

[0051] 如上所述的可缓解高尿酸血症及痛风的枸杞益生菌发酵饮料在制备用于预防或治疗高尿酸血症的药品和保健品方面中的应用。

[0052] 如上所述的可缓解高尿酸血症及痛风的枸杞益生菌发酵饮料在制备用于预防或治疗痛风的药品和/或保健品方面中的应用。

[0053] 具体地,相关制备及检测实施例如下:

[0054] 实施例1

[0055] 如图1所示,制备一种可缓解高尿酸血症及痛风患者肾功能损伤的枸杞益生菌发酵饮料,包括以下步骤:

- [0056] 步骤一、枸杞预处理:用纯净水将枸杞原浆稀释,体积比为8:1;
- [0057] 步骤二、灭菌:巴氏灭菌条件为68℃、30min,灭菌后,立刻冷却至4-5℃;
- [0058] 步骤三、接种:给灭菌后的枸杞接种植物乳杆菌8198、乳酸片球菌LTJ28和干酪乳杆菌YR2-2;
- [0059] 步骤四、恒温发酵:将接种后的枸杞放入37℃生化培养箱恒温发酵7.5h,即得成品饮料。

[0060] 实施例2

[0061] 不同益生菌与枸杞的协同作用实验:

[0062] 配制0.2、0.4、0.6、0.8、1mmol/L的维生素C溶液,分别取0.2mL与2.8mL 0.2mmol/L DPPH工作液均匀混合,摇匀,避光静置30min,并在517nm处测其吸光值。以维生素C浓度为横坐标,测得的吸光值为纵坐标,制作维生素C标准曲线。结果如图2所示。图中 $R^2 > 0.99$,说明此标准曲线具有良好的线性关系,该测定方法具有可信度。

[0063] 为探索不同菌种发酵枸杞的抗氧化能力的差异,分别取0.2mL不同发酵液,按照上述实验方法并利用回归方程计算维生素C当量。结果如表1所示,未发酵枸杞的抗氧化能力相当于597.133 $\mu\text{mol/L}$ 的维生素C,经过植物乳杆菌8198发酵后,抗氧化性可提升25.12%;经过乳酸片球菌LTJ28发酵后,抗氧化性可提升18.24%;经过干酪乳杆菌YR2-2发酵后,抗氧化性可提升31.37%;而经过三种益生菌以体积比1:1:1的比例复配发酵后,其中,各个菌的浓度不少于 10^8cfu/ml ,其抗氧化性提升35.34%,可以看出,植物乳杆菌CGMCC8198、乳酸片球菌LTJ28、干酪乳杆菌YR2-2具有协同作用,复合菌剂的抗氧化能力显著优于单菌种发酵。可见利用三种复配菌株发酵枸杞具有一定的研究意义,对其发酵条件进行一系列的优化,并探究体内外的功效活性,都将为枸杞益生菌饮料的标准化生产提供理论支持。

[0064] 表1不同菌种发酵枸杞的维C当量

分组	VC($\mu\text{mol/L}$)
未发酵枸杞	597.133
植物乳杆菌 8198	747.133
乳酸片球菌 28	706.022
干酪乳杆菌 YR2-2	784.467
三菌株 1:1:1	808.133

[0066] 实施例3

[0067] 检测枸杞益生菌发酵饮料的抗氧化性和活菌数:

[0068] (1) 配置0.2mmol/L DPPH工作液,将1.0mL发酵液与1.0mL DPPH溶液以及3.0mL二级水加入同一试管中,摇匀,避光静置30min,并在517nm处测量其吸光值。并按下式计算其清除率:

[0069] 清除率 = $[1 - (A_x - A_{x0})] / A_0 \times 100\%$

[0070] A_x : 1.0mL发酵液+1.0mLDPPH+3.0mL蒸馏水

[0071] A_0 : 1.0mLDPPH+4.0mL蒸馏水

[0072] A_{x0} : 5.0mL无水乙醇

[0073] (2) 将发酵饮料以10的倍数依次递增稀释,取3个合适的稀释度(10^{-8} 、 10^{-9} 、 10^{-10}),吸取100 μ L稀释液于MRS培养基涂布均匀,每个稀释度做两平行,37 $^{\circ}$ C培养36h后计数。

[0074] 实施例4

[0075] 以表2中的评分细则为指标,分别以图2中的五个因素对枸杞益生菌发酵饮料进行优化。之后,在单因素实验的基础上,利用响应面法对液料比、发酵时间和接种量进行Box-BehnkenDesign设计,试验方案如表3所示。

[0076] 通过Design-Expert.10软件对得出的实验数据进行分析,建立了该工艺条件的模型。在保证发酵时间、接种量与液料比三个因素中一个因素不变的情况下,得到其他因素的三维响应面和等高线。不同因素之间的交互作用的响应面和等高线具体如图3所示。响应面越陡,等高线越密集,表明因素之间的交互作用越明显。从响应面曲线可以看出,交互作用为AC>AB>BC,说明发酵时间和液料比对枸杞益生菌发酵饮料的评分影响最为显著,而接种量和液料比对枸杞益生菌发酵饮料的评分影响相对较弱。此外,建立枸杞益生菌发酵饮料的二次多项式回归方程,模型回归系数显著性检验结果如表4所示,模型P<0.01,显著,失拟项P>0.05,不显著,表明该模型拟合程度较好,可以根据试验结果对最优条件进行预测,并运用该模型进行最优工艺条件预测。

[0077] 表2枸杞益生菌发酵饮料的评分细则

评价指标及分数	评价标准	分数
[0078] 活菌数 (50)	10^{10} CFU/mL < 活菌数 $\leq 5 \times 10^{10}$ CFU/mL	40-50
	5×10^9 CFU/mL < 活菌数 $\leq 10^{10}$ CFU/mL	30-40
	10^9 CFU/mL < 活菌数 $\leq 5 \times 10^9$ CFU/mL	20-30
	5×10^8 CFU/mL < 活菌数 $\leq 10^9$ CFU/mL	10-20
	10^8 CFU/mL < 活菌数 $\leq 5 \times 10^8$ CFU/mL	0-10
[0079] 抗氧化性 (50)	45% < 清除率 \leq 50%	40-50
	40% < 清除率 \leq 45%	30-40
	35% < 清除率 \leq 40%	20-30
	30% < 清除率 \leq 35%	10-20
	25% < 清除率 \leq 30%	0-10

[0080] 表3响应面试验设计及结果

试验号	因素			评分
	A 发酵 时间	B 接种 量	C 液料 比	
1	6	3	8	70.8
2	6	5	8	69
3	8	3	6	71
4	10	5	8	67.2
5	6	4	10	74.6
6	8	4	8	80
7	8	5	6	70.4
8	6	4	6	78.6
9	8	3	10	74.6
10	10	3	8	67
11	10	4	10	68
12	8	4	8	82.2
13	8	4	8	82
14	8	4	8	85
15	10	4	8	66
16	8	4	8	81
17	8	5	10	68.2

[0082] 表4响应面模型回归显著性检验结果

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	602.62	9	66.96	11.10	0.0022
A	76.88	1	76.88	12.74	0.0091
B	9.24	1	9.24	1.53	0.2557
C	0.045	1	0.045	7.457E-003	0.9336
AB	1.00	1	1.00	0.17	0.6961
AC	9.00	1	9.00	1.49	0.2615
BC	8.41	1	8.41	1.39	0.2763
A ²	172.19	1	172.19	28.53	0.0011
B ²	214.95	1	214.95	35.62	0.0006
C ²	62.25	1	62.25	10.32	0.0148
残差	42.24	7	6.03		
失拟项	28.21	3	9.40	2.68	0.1823
纯误差	14.03	4	3.51		
总离差	644.86	16			

[0085] 实施例5

[0086] 检测枸杞益生菌发酵饮料对小鼠肾功能的影响:

[0087] 动物实验:

[0088] 采用腹腔注射氧嗪酸钾并辅以高嘌呤饮食建立高尿酸血症小鼠模型,实验动物采用雄性昆明小鼠20只,在室温下饲养,自由饮食采食,经1周适应性饲养后,随机分成正常对照组(NC)、高尿酸血症模型组(M)、枸杞原浆治疗组(GQ)和枸杞益生菌发酵饮料治疗组(YL),每组5只。除正常对照组外,其他三组小鼠按300mg/kg·d标准腹腔注射氧嗪酸钾-羧甲基纤维素钠混悬液,并按照10g/kg·d标准进行酵母膏灌胃,此外NC和M组小鼠按照0.2mL/d标准灌胃生理盐水,GQ和YL组小鼠按照0.2mL/d标准灌胃枸杞原浆和枸杞益生菌发酵饮料,持续30d。

[0089] 如图5所示,实验数据表明,连续腹腔注射氧嗪酸钾并佐以高嘌呤饮食30d后,M组、GQ组和YL组小鼠血尿酸、肌酐和尿素氮含量较正常组小鼠均显著升高,而通过枸杞及枸杞饮料的干预,小鼠血尿酸水平明显下降,肌酐与尿素氮水平与M组小鼠相比也显著降低,且枸杞饮料的效果要优于单纯的枸杞原浆,这说明枸杞益生菌发酵饮料具有补肾益肾的效果。

[0090] 取新鲜小鼠肾脏组织,用10%多聚甲醛固定过夜,并进行脱水透明、浸蜡包埋、切片与贴片和脱蜡染色等步骤。观察发现,如图6所示,正常组小鼠肾小球结构完整,肾小管清晰可见,肾细胞排列较为整齐;模型组小鼠肾脏组织细胞核聚集,出现肾间质炎性细胞浸润,且远端肾小管扩张、管腔增大,并有肾小管上皮细胞空泡化的趋势;与模型组相比,枸杞及饮料组小鼠的空泡细胞显著减少,肾脏组织结构也基本趋于正常。这表明了枸杞及枸杞饮料均有不同程度的改善肾脏组织和细胞形态的作用。

[0091] 实施例6

[0092] 采用气相色谱法测定枸杞益生菌发酵饮料对小鼠肠道短链脂肪酸的影响:

[0093] 样品处理:

[0094] 取0.2g小鼠结肠内容物加1mL蒸馏水混匀,并以13000rpm的速度离心10min后取200 μ L上清液,在上清液中分别加入100 μ L10%硫酸溶液和1mL乙酸乙酯,并涡旋振荡5min,最后以13000rpm的速度离心10min,取上清液过0.22 μ m微孔滤膜后待用。

[0095] 气相色谱条件:

[0096] 进样量:1 μ L

[0097] 进样口温度(加热器):250 $^{\circ}$ C

[0098] 色谱柱:HP-5

[0099] 长度30cm \times 内径320 μ m \times 膜厚0.25 μ m

[0100] 柱流速:2mL/min

[0101] 柱温:初始柱温:90 $^{\circ}$ C,保持6min

[0102] 以10 $^{\circ}$ C/min的速度升温至200 $^{\circ}$ C,保留6min

[0103] 检测器:

[0104] 加热器:250 $^{\circ}$ C

[0105] H₂流量:30mL/min

[0106] 空气流量:300mL/min

[0107] 如图7所示,实验数据表明,通过30d枸杞益生菌发酵饮料的干预,小鼠肠道乙酸和

丙酸水平较正常组小鼠明显升高,而丁酸效果不明显。乙酸等短链脂肪酸是肠道菌群利用膳食纤维发酵而得的产物,枸杞益生菌发酵饮料能够提高肠道短链脂肪酸的丰度,说明了枸杞饮料具有保护肠屏障、改善肠道功能、维持肠道健康的作用。

[0108] 尽管为说明目的公开了本发明的实施例,但是本领域的技术人员可以理解:在不脱离本发明及所附权利要求的精神和范围内,各种替换、变化和修改都是可能的,因此,本发明的范围不局限于实施例所公开的内容。

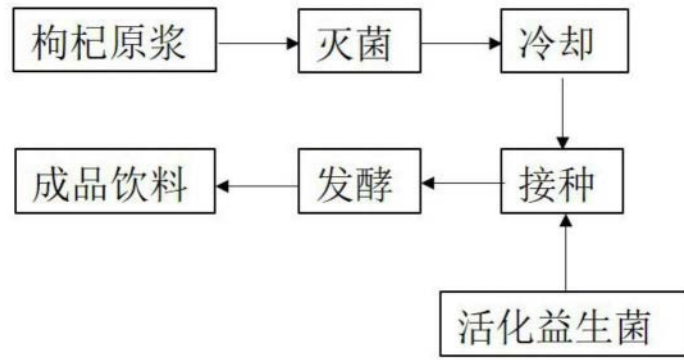


图1

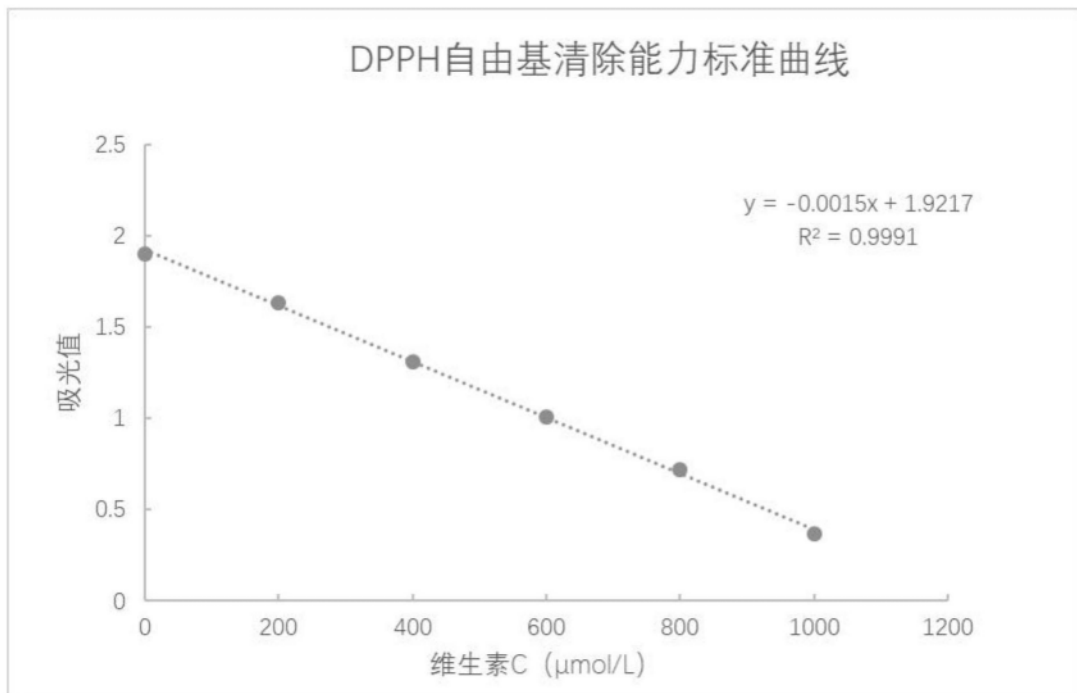


图2

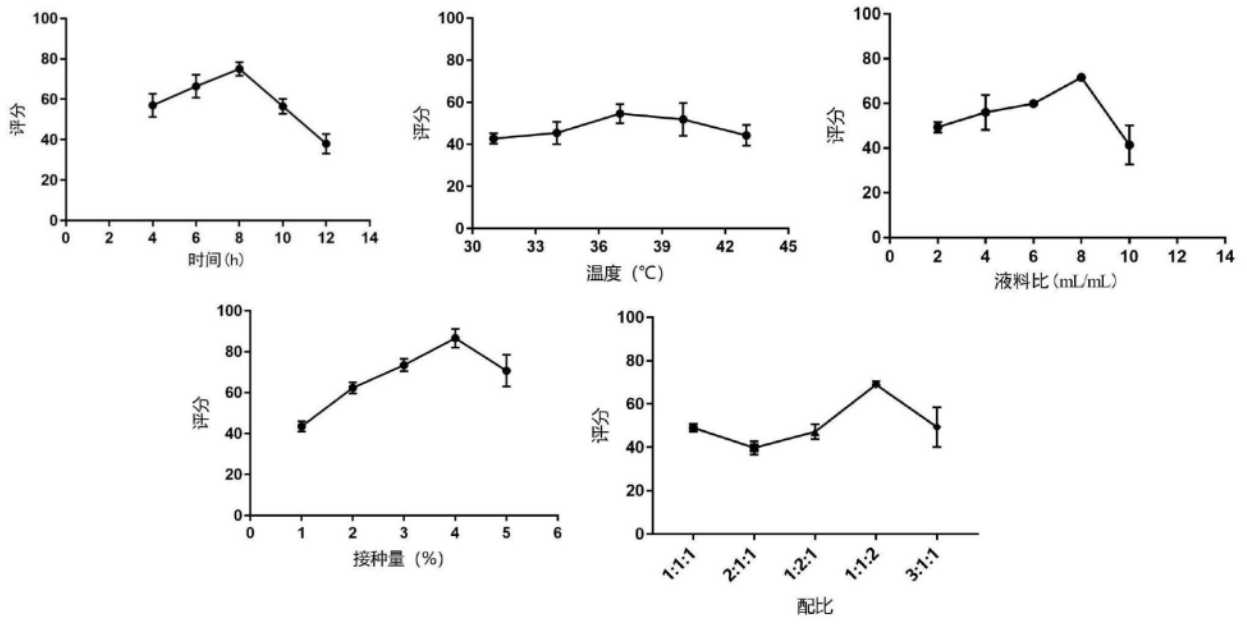


图3

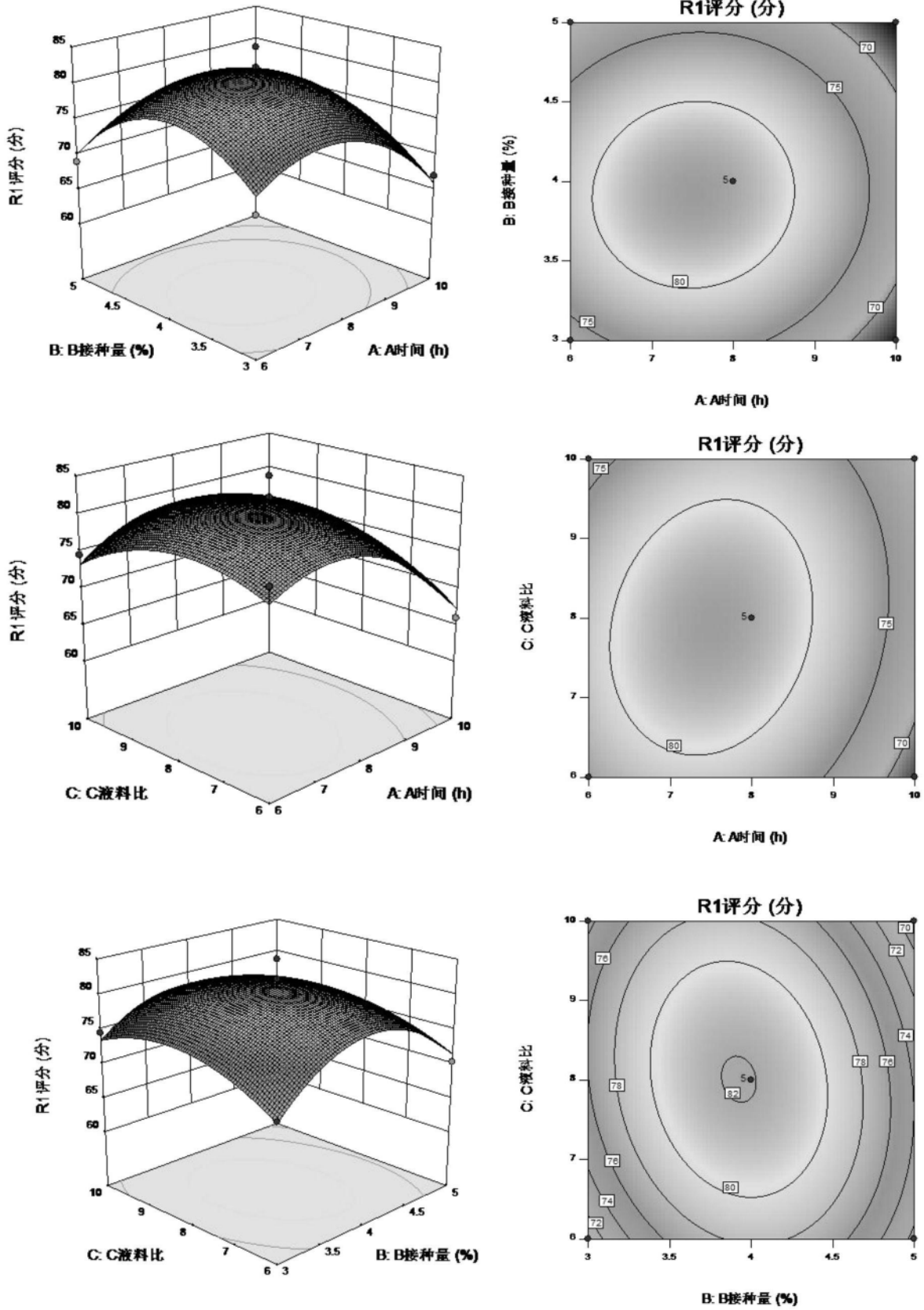


图4

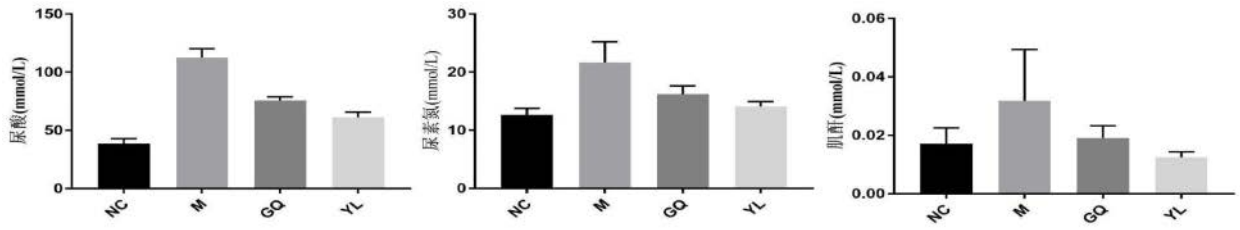


图5

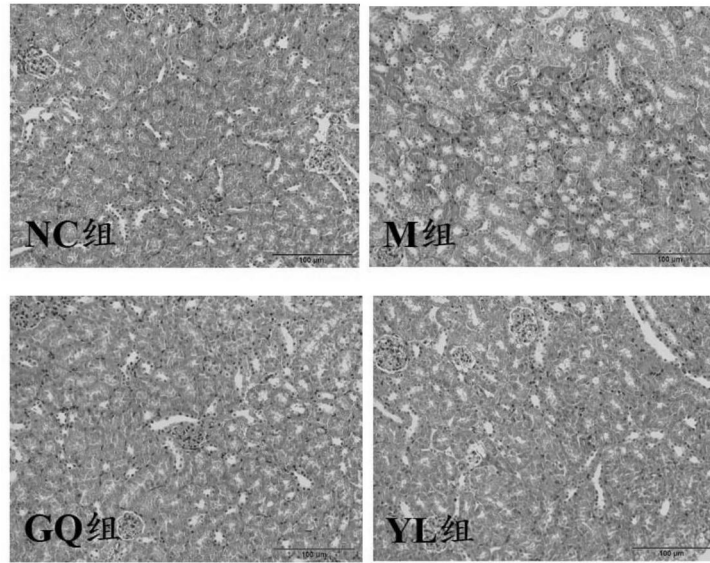


图6

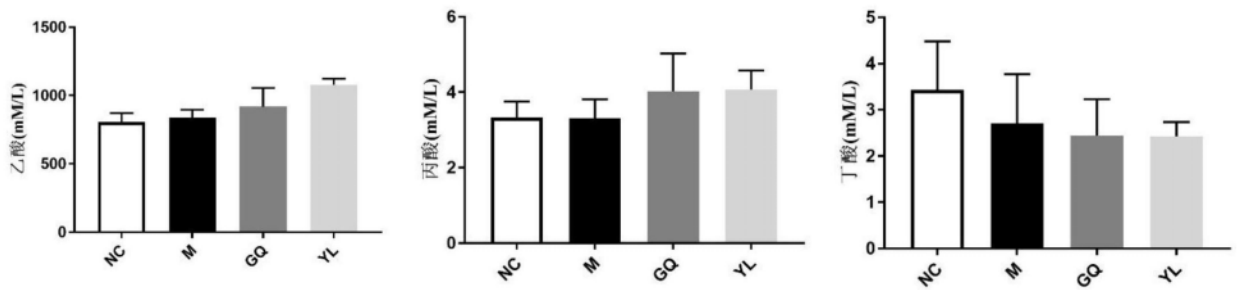


图7