赵玉霆, 王梦菡, 付坤丽, 等. 明日叶酵素对小鼠酒精性肝损伤的改善作用及机制 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(8): 32−42. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025030368

ZHAO Yuting, WANG Menghan, FU Kunli, et al. Improvement Effect and Mechanism of *Angelica keiskei* Enzyme on Alcoholic Liver Injury in Mice[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(8): 32−42. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025030368

·特邀主编专栏—果蔬基料制造:基础理论、新型加工、质量控制与智能制造(客座主编:徐贞贞、王永涛、李涛;产业顾问:李仁杰)·

明日叶酵素对小鼠酒精性肝损伤的改善作用及机制

赵玉霆[1], 王梦菡[1], 付坤丽[1], 赵胜男[1], 王宁宁[1], 高　翔[1,2], 李子超[1,*], 孙海新[1]
(1.青岛大学生命科学学院食品科学与工程系, 山东青岛 266071;
2.山东华涛食品有限公司, 山东潍坊 262100)

摘　要: 本研究利用植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*, LP)与酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*)协同发酵制备明日叶酵素(FAK), 探讨其对小鼠酒精性肝损伤的改善作用及机制。雄性昆明小鼠分为 7 组(n=12), 包括正常组、模型组、水飞蓟宾组、明日叶冻干粉组、明日叶酵素低剂量组、中剂量组和高剂量组, 进行 30 d 灌胃食用酒精建立酒精性肝损伤模型, 定期测量小鼠体重。实验结束后, 测定血清血脂水平、脏器变化及 FAK 对小鼠肠道菌群的影响。结果表明, FAK 能显著改善酒精诱导的肝损伤小鼠体重降低, 显著降低(P<0.05)其肝脏指数、血脂含量以及肝损伤标志酶水平, 还能够降低肝脏脂肪含量, 提高抗氧化酶含量以及降低炎症因子水平, FAK 干预后 GSH-Px 活性显著提高(P<0.05), MDA 浓度降低, 可以减轻酒精代谢引起的肝脏氧化损伤。机制研究结果显示, FAK 干预后 F/B 值降低恢复到接近正常水平, *Muribaculaceae* 等有益菌丰度升高, 通过减少 LPS 移位和促进 SCFAs 生成(如 *Muribaculaceae* 可产 SCFAs)增强肠道屏障, 改善了门水平和属水平上群落相对丰度的异常变化, 减少了内毒素的产生与释放, 本研究中的 FAK 主要通过调节菌群结构发挥作用, 体现了“以菌治菌”的独特性。推测 FAK 可能通过改变肠道菌群多样性以及群落结构修复肠道屏障, 维持酒精性肝损伤小鼠的肠道稳态。本研究为明日叶资源的高值化利用以及在保护酒精性肝损伤功能性食品中的开发与应用提供了理论支持。

关键词: 明日叶, 酵素, 酒精性肝损伤, 肠道菌群, 调节作用
中图分类号: R915　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)08−0032−11
DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025030368　　本文网刊:

Improvement Effect and Mechanism of *Angelica keiskei* Enzyme on Alcoholic Liver Injury in Mice

ZHAO Yuting[1], WANG Menghan[1], FU Kunli[1], ZHAO Shengnan[1], WANG Ningning[1], GAO Xiang[1,2], LI Zichao[1,*], SUN Haixin[1]
(1.Department of Food Science and Engineering, School of Life Sciences, Qingdao University, Qingdao 266071, China;
2.Shandong Huatao Food Co., Ltd., Weifang 262100, China)

Abstract: This study investigated the hepatoprotective effects and mechanisms of fermented *Angelica keiskei* (FAK), produced through synergistic fermentation using *Lactobacillus plantarum* and *Saccharomyces cerevisiae*, against alcohol-induced liver injury in mice. Male Kunming mice were randomly divided into seven groups (n=12 per group): normal control, model control, silibinin-treated, freeze-dried *Angelica keiskei* powder, and low-, medium-, and high-dose FAK groups. Alcohol-induced liver injury was established via 30-days intragastric administration of edible alcohol, with body

收稿日期: 2025−03−28
基金项目: 山东省自然科学基金(ZR2019PH020, ZR2023ME206)。
作者简介: 赵玉霆(1998−), 男, 硕士研究生, 研究方向: 功能食品开发, E-mail: syt18769162278@163.com。
*** 通信作者:** 李子超(1984−), 男, 博士, 教授, 研究方向: 药食同源资源高值化利用, E-mail: zichaoli@qdu.edu.cn。

weight monitored periodically. Post-intervention assessments included serum lipid profiles, organ indices, hepatic injury markers, antioxidant enzymes, inflammatory cytokines, and gut microbiota alterations. Results demonstrated that FAK significantly attenuated alcohol-induced weight loss (P<0.05) and reduced hepatic index, serum lipid levels, and hepatic injury markers. FAK intervention notably decreased hepatic lipid accumulation while enhancing antioxidant capacity, as evidenced by increased glutathione peroxidase (GSH-Px) activity and reduced malondialdehyde (MDA) concentrations (P<0.05), and could alleviate alcohol metabolism-induced hepatic oxidative damage. Mechanistic analyses revealed that FAK restored the *Firmicutes-Bacteroidetes* (F/B) ratio to near-normal levels and ameliorated alcohol-induced phylum- and genus-level dysbiosis, and the abundance of beneficial bacteria, such as *Muribaculaceae*, increased. This alleviated the abnormal changes in community relative abundance at the phylum and genus levels by strengthening the gut barrier, which was achieved by reducing LPS translocation and promoting SCFA production (e.g., *Muribaculaceae* could produce SCFAs), thereby reducing the production and release of endotoxins. In this study, FAK primarily exerted its effects by modulating the structure of the gut microbiota, reflecting the unique concept of "using bacteria to combat bacterial imbalance". It was speculated that FAK might repair the intestinal barrier and maintain intestinal homeostasis in mice with alcoholic liver injury by altering the diversity and community structure of the gut microbiota. This study provides a theoretical foundation for the high-value utilization of *Angelica keiskei* resources and its potential application in functional foods targeting alcohol-related hepatic disorders.

Key words: *Angelica keiskei*; Jiaosu; alcoholic liver injury; gut microbiota; regulatory effects

酒精性肝病(Alcoholic liver disease, ALD), 亦称酒精性肝损伤, 是因长期大量饮酒导致的中毒性肝损伤。目前 ALD 在全球的发病率逐年上升, 已成为除病毒性肝炎以外导致肝损伤的第二大诱因[1−2]。其初期表现为脂肪肝, 进而发展为肝炎、肝纤维化和肝硬化, 这三种形式可单独或混合存在。目前, 对于酒精性肝损伤的治疗包括戒酒、改善饮食或药物干预, 更严重者需进行肝移植[3−5], 但这些治疗方法存在着治疗周期过长、副作用大的弊端, 因此, 针对 ALD 研究更加有效且无副作用的干预策略, 开发具有有效改善作用的绿色功能食品具有重要意义。

明日叶(*Angelica keiskei*)是一种食药兼用的多年生草本植物, 富含类黄酮、查尔酮、香豆素等活性物质, 具有抗氧化、保护肝脏、降血糖、降血压、降血脂、抗菌以及抗炎作用等多重生物学活性。2019 年 5 月, 明日叶经国家卫生健康委员会审核, 正式批准成为我国新食品原料资源, 具有广阔的开发前景。酵素(Jiaosu)最早起源于日本, 后来发展到欧美、中国台湾等地区, 在我国大陆尚属新兴行业。2018 年 12 月, 我国轻工行业标准发布了《酵素产品分类导则》(QB/T 5324-2018)与《植物酵素》(QB/T 5323-2018), 其中将酵素明确定义为: 是以动物、植物、菌类等为原料, 添加或不添加辅料, 经微生物发酵制得的含有特定生物活性成分的产品[6]。研究证明, 利用微生物对植物进行发酵会产生大量酶类, 包括超氧化物歧化酶、蛋白酶及脂肪酶, 还有多酚、多糖、有机酸、磷脂类及皂苷类等有效成分[7], 具有抗氧化、抗肿瘤、解酒护肝的多重保健作用[8]。因此, 酵素作为一种纯天然开发的新型健康食品, 有益成分丰富, 保健功效多样, 近年来引起了研究者与消费者的广泛关注。

然而, 目前植物酵素产品的开发多以酵母菌、乳酸菌、醋酸菌以及霉菌等单一菌种进行发酵[9], 往往存在功能成分单一、风味欠佳或功效不显著等问题。课题组前期研究发现酵母菌单菌制备的明日叶酵素可通过调节肝脏脂肪代谢以及肠道菌群组成有效改善小鼠肥胖症状[10], 但存在着口味较差的缺陷。本研究则尝试采用益生菌(植物乳杆菌+酵母菌)协同发酵技术制备明日叶功能酵素, 以期利用植物乳杆菌可分解植物纤维释放活性成分、酵母菌可产生丰富酶系促进物质转化的不同菌种优势实现协同作用。本文通过建立酒精性肝损伤小鼠动物模型, 评价明日叶酵素对酒精性肝损伤的预防和改善效果, 基于“肝-肠轴”理论探索该酵素对酒精性肝损伤的作用机理, 同时通过肝脏病理、生化指标及肠道菌群分析评价其护肝功效, 旨在为新食品原料资源明日叶的高值化利用和改善酒精性肝损伤功能食品的开发提供理论基础及实验依据。

1　材料与方法

1.1　材料与仪器

SPF 级雄性昆明小鼠(6 周龄, 84 只, 体质量 38±2 g, 许可证号: SCXK(京)2019-0010)　北京斯贝福生物技术有限公司。饲养于单位动物房, 置于温度(22~25 ℃)和湿度(50%~60%)的环境中, 12 h 明暗循环, 自由进食、饮水。本动物研究经青岛大学伦理委员会批准, 动物伦理编号为 QDU-AEC-2023385; 明日叶冻干粉　山东明日叶生物科技有限公司; 植物乳杆菌 Bio-60181　北京百欧博伟生物技术有限公司; 高活性干酵母　安琪酵母股份有限公司; 水林佳水飞蓟宾胶囊　天津天力士制药集团股份有限公司; 红星二锅头(56%vol)　北京红星股份有限公司; 总超氧化物歧化酶(T-SOD)测定试剂盒　南京建成生物工程研究所有限公司; ELISA 试剂盒(EK297-01)　杭州联科生物技术有限公司; DNA 抽提试剂盒　广州飞扬生物工程有限公司; FastPfu 聚合酶　北京全式金生物技术股份有限公司; AxyPrep DNA 凝胶提取试剂盒　爱思进生物技术(杭州)有限公司; BecuNGS®

DNA&RNA 共建库试剂盒　美国柏尔生物科技公司; MiSeq 试剂盒　因美纳(中国)科学器材有限公司。

YXQ-LS-50SII 立式压力蒸汽灭菌器　上海博迅实业有限公司; DHP-9052 电热恒温培养箱、LTN2-16K 台式高速离心机、SHZ-D(Ⅲ)循环水式多用真空泵、DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器　青岛蓝特恩科教仪器设备有限公司; Practum 124-1CN 电子天平　赛多利斯科学仪器(北京)有限公司; UV-8000 紫外可见分光光度计　上海元析仪器有限公司; PHS-3E pH 计　上海仪电科学仪器股份有限公司。

1.2　实验方法

1.2.1　明日叶酵素(FAK)的制备　通过一系列前期试验对明日叶酵素的工艺参数进行了优化[11−12]。将高活性干酵母与无菌水按照 1∶10(g/mL)的比例混合溶解, 37 ℃ 活化 30 min, 备用。将 3% 植物乳杆菌种子液接种于 50 mL MRS 培养基中, 37 ℃ 培养 22 h, 备用。准确称量 13 g 明日叶冻干粉, 紫外灯照射灭菌 30 min, 溶于 100 mL 无菌水中(浓度为 0.13 g/mL)。根据预实验结果, 在无菌条件下, 接种 1.3%(V/V)的酵母菌液和 7.7%(V/V)的植物乳杆菌悬液, 于 37 ℃ 发酵 90 h, 12000 r/min 离心 4 min 得到上清液, 即 FAK。

1.2.1.1　FAK 活性成分检测　参照总黄酮检测试剂盒说明书, 采用紫外分光光度法测定 FAK 中总黄酮含量; 参照查尔酮检测试剂盒说明书, 采用高效液相色谱法(HPLC)测定查尔酮含量, 色谱条件: C_{18} 柱(250×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.1% 磷酸水(60∶40), 流速 1.0 mL/min, 检测波长 360 nm, 柱温 30 ℃。结果显示, FAK 中总黄酮含量为 12.5±0.8 mg/g, 查尔酮含量为 3.2±0.3 mg/g。

1.2.2　酒精诱导肝损伤小鼠模型的建立与给药　84 只 SPF 级雄性昆明小鼠, 适应性喂养 1 周后, 随机分成 7 组(n=12), 分别为正常组(N)、模型组(M)、水飞蓟宾组(P)(相当于小鼠每日摄入 100 mg/kg 体重)、明日叶冻干粉组(NF)(相当于小鼠每日摄入 16.64 mg/kg 总黄酮)、明日叶酵素低剂量组(FL)(相当于小鼠每日摄入 2.4 mg/kg 总黄酮、1125 U/kg SOD 酶、2.5×10^8 CFU/kg LP)、明日叶酵素中剂量组(FM)(相当于小鼠每日摄入 4.8 mg/kg 总黄酮、2250 U/kg SOD 酶、5×10^8 CFU/kg LP)、明日叶酵素高剂量组(FH)(相当于小鼠每日摄入 9.6 mg/kg 总黄酮、4500 U/kg SOD 酶、10^9 CFU/kg LP)。按表 1 进行干预, 持续 32 d 每天进行灌胃[13]。干预期间每 4 d测量小鼠体重, 根据体重变化及时调整灌胃量。末次灌胃结束后, 禁食 12 h, 收集小鼠粪便 2~3 粒, 立即放入液氮中, 随后转移到−60 ℃ 冰箱中。采用眼球摘除法取血, 3000 r/min 离心 15 min 后分离血清, 分装后置于−60 ℃ 冰箱中, 保存待测。处死小鼠后, 立即测量

表 1　各组小鼠分组与给药情况

Table 1　Grouping and administration of mice in each group

分组	上午10时		下午3时	
	干预物	剂量	干预物	剂量
正常组(N)	生理盐水	10 mL/kg/d	生理盐水	7 mL/kg/d
模型组(M)	生理盐水	10 mL/kg/d	50%酒精	7 mL/kg/d
水飞蓟宾组(P)	水飞蓟宾	100 mg/kg/d	50%酒精	7 mL/kg/d
明日叶冻干粉组(NF)	未发酵干预物	10 mL/kg/d	50%酒精	7 mL/kg/d
FAK低剂量组(FL)	FAK稀释4倍	10 mL/kg/d	50%酒精	7 mL/kg/d
FAK中剂量组(FM)	FAK稀释2倍	10 mL/kg/d	50%酒精	7 mL/kg/d
FAK高剂量组(FH)	FAK原液	10 mL/kg/d	50%酒精	7 mL/kg/d

小鼠肝脏重量, 并取肝左叶组织用 4% 多聚甲醛进行固定, 用于组织病理学分析; 将肝脏剩余部分迅速放入液氮中冷冻, 并于−60 ℃ 冰箱中保存, 直到进一步分析[14]。

1.2.3　肝脏指数的计算　测定各组小鼠体重及肝脏质量, 计算各组小鼠的肝脏指数, 计算如公式(1)[15]:

$$\text{肝脏指数}(\%)=\frac{\text{小鼠肝脏质量(g)}}{\text{小鼠体质量(g)}}\times100 \quad \text{式（1）}$$

1.2.4　肝脏组织病理分析　取固定后的肝脏组织, 常规石蜡包埋、切片(厚度 4 μm), 进行 H&E 染色和油红-O 染色。H&E 染色观察肝组织结构、细胞形态及炎性浸润情况; 油红-O 染色观察肝脏脂质沉积情况, 采用 Image-Pro Plus 6.0 软件定量分析脂滴面积占比[15−16]。

1.2.5　血清生化分析　血清中生化指标根据试剂盒说明书进行操作, 测定小鼠血清中的甘油三酯(Triglycerides, TG)、总胆固醇(Total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇(High-density lipoprotein cholesterol, HDL-c)、低密度脂蛋白胆固醇(Low-density lipoprotein cholesterol, LDL-c)、谷草转氨酶(Aspartate aminotransferase, AST)以及谷丙转氨酶(Alanine aminotransferase, ALT)的含量。

1.2.6　肝脏生化分析　取小鼠肝脏组织, 制备成 10% 的肝脏匀浆液, 离心后取上清液按照试剂盒说明书进行操作。采用全自动生化分析仪检测小鼠肝脏匀浆中的 TG、TC、谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione peroxidase, GSH-Px)、肝脏超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(Malondialdehyde, MDA)的水平。

1.2.7　酶联免疫检测法(ELISA)测定炎症指标　采用 ELISA 试剂盒测定小鼠血清中炎症相关细胞因子肿瘤坏死因子-α(Tumor necrosis factor-α, TNF-α)、白介素-6(Interleukin-6, IL-6)以及白介素-1β(Interleukin-1β, IL-1β)[17]。

1.2.8　肠道微生物多样性分析　干预结束, 收集各组小鼠粪便样本(n=5)置于离心管中, −80 ℃ 超低温冰箱保存。采用 CTAB 法提取粪便微生物总 DNA, 使用引物 338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-

3') 和 806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 扩增 16S rRNA 基因的 V3~V4 区扩增产物。经 2% 琼脂糖凝胶电泳检测后，使用 AxyPrep DNA 凝胶提取试剂盒纯化，采用建库试剂盒构建文库，通过 Illumina MiSeq 平台进行高通量测序（2×300 bp）。测序数据经 QIIME2 软件处理，进行 α 多样性（Sobs、Simpson、Ace、Chao 指数）和 β 多样性（PLS-DA 分析）分析；在门水平和属水平统计物种相对丰度，并进行组间差异检验[18]。

1.3　数据处理

本研究所有实验数据均以平均值±标准差表示，数据使用 SPSS 26 进行单因素方差分析（one-way ANOVA）并使用 OriginPro 绘图，当 $P<0.05$ 时不同组之间有显著性差异，不同字母代表有显著性差异。

2　结果与分析

2.1　各组小鼠的体重和肝脏指数变化

本实验每 4 d 测量一次小鼠体重，小鼠在整个试验周期内的体重变化如图 1A 所示。各组小鼠体重发生明显变化，说明 32 d 的不间断酒精刺激对小鼠的体重产生了影响。随着酒精摄入时间的延长，小鼠的体重从第 4 d 开始产生变化。与 N 组相比，M 组小鼠精神状态为先亢奋继而萎靡，嗜睡，食欲缺乏，皮毛颜色暗淡且不顺滑，体重变化呈现降低的趋势。

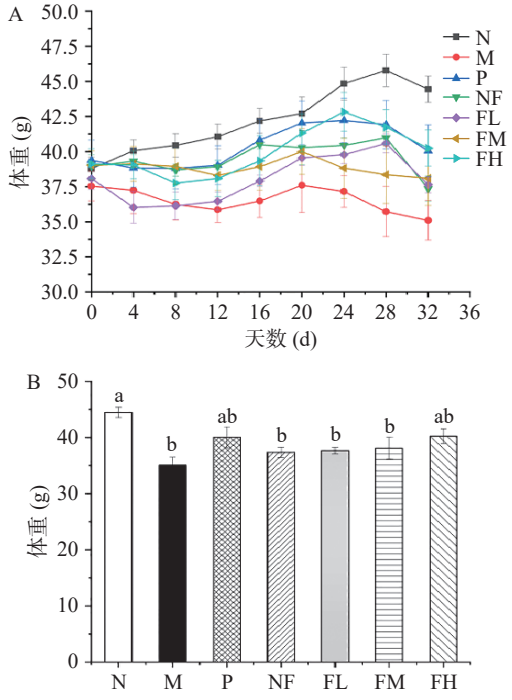


图 1　各组小鼠体重变化与最终体重

Fig.1　Body weight change and final body weight of mice in each group

注：A. 各组小鼠体重变化；B. 各组小鼠最终体重。N-空白对照组；M-模型组；P-阳性对照组；NF-未发酵对照组；FL-明日叶酵素低剂量组；FM-明日叶酵素中剂量组；FH-明日叶酵素高剂量组。相同字母表示组间没有显著差异（$P>0.05$），不同字母表示组间有显著差异（$P<0.05$），图 2、图 5~图 9、图 12~图 13 同。

干预结束后，称量小鼠最终体重，如图 1B 所示。与 N 组相比，M 组小鼠体重显著性降低（$P<0.05$）。与 M 组相比，P、FH 组干预效果优于 NF、FL、FM 组，前者更接近正常体重水平。结果表明，高剂量 FAK 干预效果更接近阳性组，对于酒精性肝损伤小鼠体重变化具有积极作用。

如图 2A，N 组小鼠肝脏形态正常，颜色鲜红且均匀，富有弹性，无病变。M 组小鼠肝脏颜色变浅，表层及边缘模糊，质地绵软，发生病变。而 FAK 干预后，ALD 小鼠的肝脏形态病变现象有所改善。肝脏指数如图 2B 所示，与 N 组相比，M 组小鼠的肝脏指数显著性升高（$P<0.05$），说明酒精诱导造成了 ALD 小鼠的肝脏肿胀[19]。与 M 组相比，FL 组、FM 组和 FH 组的肝脏指数均显著降低（$P<0.05$）。结果表明，明日叶酵素对酒精性肝损伤小鼠肝脏指数的降低有显著作用。

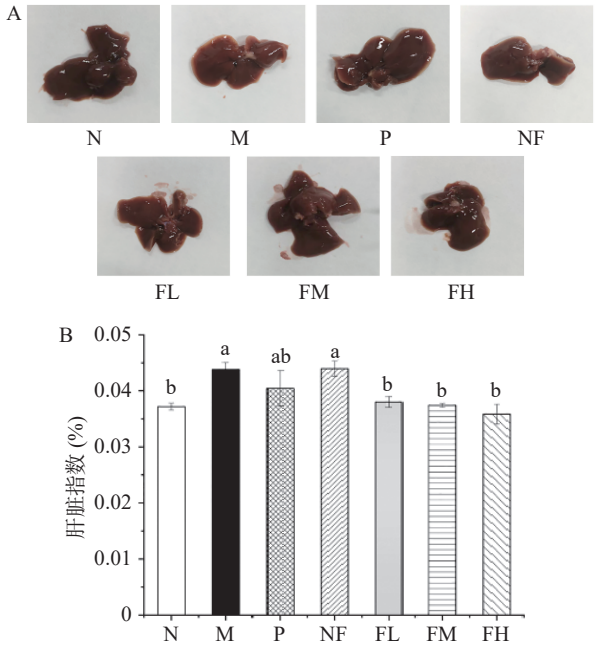


图 2　各组小鼠的肝脏宏观形态与肝脏指数

Fig.2　Liver morphology and liver index of mice in each group

注：A. 各组小鼠的肝脏宏观形态；B. 各组小鼠的肝脏指数水平。

2.2　明日叶酵素对各组小鼠肝脏和血清的影响

2.2.1　肝脏组织病理变化　小鼠肝脏组织的 H&E 和油红-O 染色结果如图 3 和图 4 所示。其中，H&E 染色结果（图 3）显示，N 组健康小鼠肝小叶结构清晰，肝索放射性排列，无典型坏死病变现象。M 组小鼠肝组织结构紊乱，细胞肿胀且边缘模糊，细胞核破裂，脂质异常积聚，出现明显炎性细胞浸润，发生严重病变。与 M 组相比，FL 组、FM 组和 FH 组的肝组织结构相对完整，排列相对整齐，细胞边缘比较清晰，但 FL 组仍存在少许肝细胞肿胀，无炎性细胞浸润现象，FM 组和 FH 组的组织形态与 P 组相当，接近于 N 组。然而 NF 组与 M 组相比，肝细胞结构形态有所改善，也无炎性细胞浸润，但其总体效果与明日叶

酵素干预组相比略差。油红-O 染色结果(图 4)显示, M 组肝组织内红色脂滴大量聚集, FAK 干预组脂滴面积明显减少, 且呈剂量依赖性。

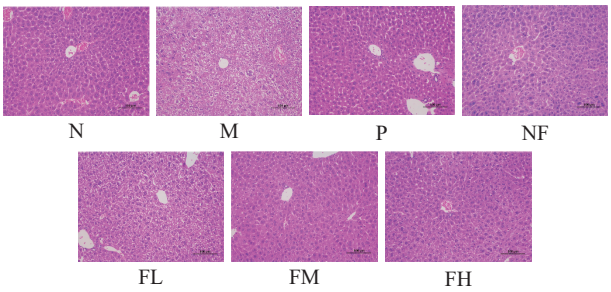


图 3　各组小鼠肝脏组织病理学切片(H&E, 200×)

Fig.3　Liver histopathology sections of mice in each group (H&E, 200×)

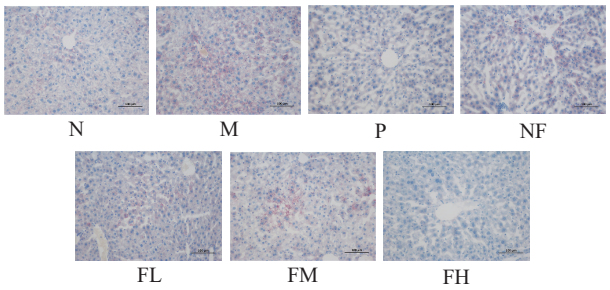


图 4　各组小鼠肝脏组织病理学切片(油红-O, 200×)

Fig.4　Liver histopathology slices of mice in each group (oil red-O, 200×)

2.2.2　肝脏及血清生化指标　如图 5 所示, M 组小鼠的 TC、TG 含量显著高于 N 组(P<0.05), 说明长期过量饮酒使 M 组小鼠肝脏的多余脂肪无法及时清除, 造成严重的脂肪堆积。与 M 组相比, 阳性对照组和 FAK 干预组的 TC、TG 含量均呈现下降的趋势, 以及 FM 组和 FH 组的 TG 含量显著性下降(P<0.05), NF 组的 TC 和 TG 含量均无显著变化, 表明经发酵得到的 FAK 在一定程度上缓解了 ALD 小鼠的肝脏脂肪堆积。

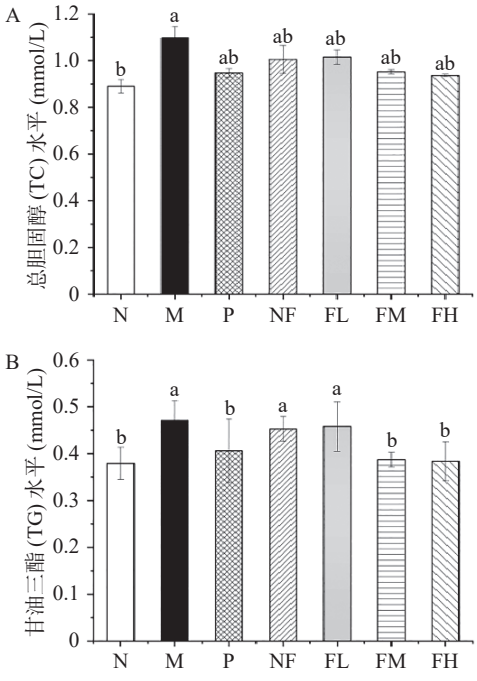


图 5　各组小鼠的肝脏 TC、TG 水平

Fig.5　Levels of TC and TG in liver of mice in each group

如图 6 所示, 与 N 组相比, M 组小鼠的血清 TC、TG 和 LDL-c 水平分别升高了 10.91%、62.43% 和 68.27%, 以及 HDL-c 水平显著降低了 36.87%(P<0.05), 血脂水平产生了显著性变化, 该结果证实对小鼠进行短期持续的酒精诱导会造成血脂水平异常。由图 6A 和图 6B可知, 与 M 组相比, FH 组小鼠

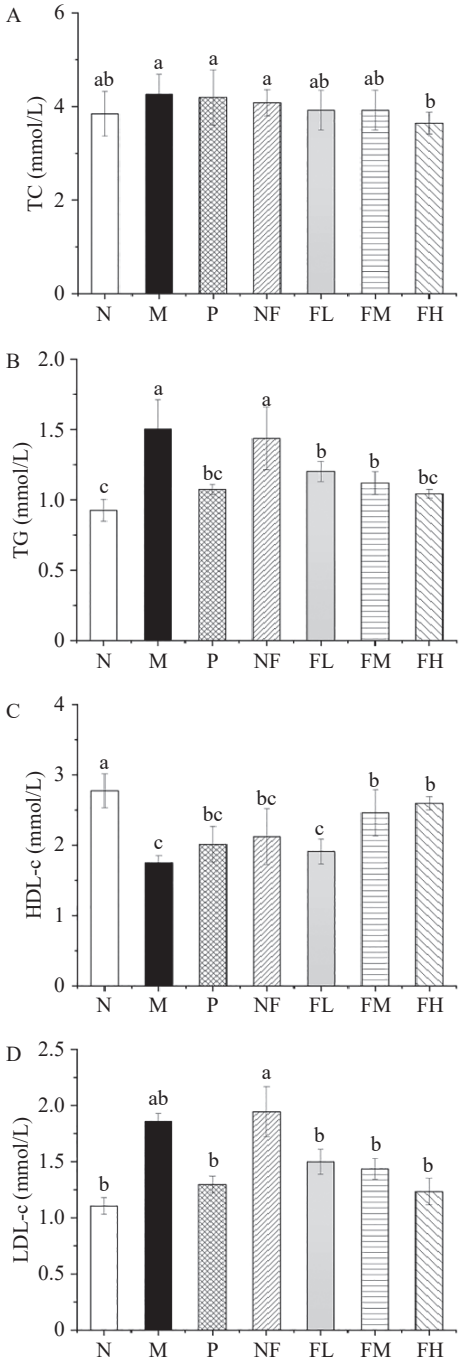


图 6　各组小鼠血清血脂水平

Fig.6　Blood lipid level of mice in each group

注: A. 各组小鼠血清 TC 水平; B. 各组小鼠血清 TG 水平; C. 各组小鼠血清 HDL-c 水平; D. 各组小鼠血清 LDL-c 水平。

的 TC 水平显著降低了 14.49%（P<0.05），FL 组和 FM 组也呈现降低的趋势，但无显著性差异；与 M 组相比，FL 组、FM 组和 FH 组的 TG 水平显著降低（P<0.05），分别降低了 20.07%、25.51% 和 30.59%，且呈剂量相关。由图 6C 可知，与 M 组相比，FM 组和 FH 组的 HDL-c 水平分别显著升高了 40.63% 和 48.25%（P<0.05），P 组、NF 组和 FL 组也呈现升高的趋势但不显著。由图 6D 可知，与 M 组相比，FL 组、FM 组和 FH 组的 LDL-c 水平分别降低了 19.43%、22.86% 和 33.71%，P 组降低了 30.29%，NF 组反而升高了 4.57%，但 6 组之间的差异不显著。上述结果共同表明明日叶酵素干预能够有效恢复酒精诱导的血脂水平异常，进而减轻过量酒精摄入引起的脂质积累，并且其改善效果优于未发酵组。

肝脏转氨酶（ALT 和 AST）是一种参与人体新陈代谢的酶，它可以对体内的蛋白质与氨基酸进行转化，在身体的各个组织、器官中都有大量的存在，但主要集中在肝脏细胞的胞浆中。当肝脏细胞受到炎症损伤时，转氨酶会从肝脏细胞释放到血液中。因此，血清转氨酶水平的高低是判断肝脏损伤程度的重要指标[20]。由图 7 可知，与 N 组相比，由于 M 组小鼠摄入过量酒精，其 ALT 和 AST 水平分别显著升高了 76.38% 和 55.61%（P<0.05），表明酒精性肝损伤小鼠模型建立成功，M 组小鼠肝脏已损伤。FAK 干预后，与 M 组相比，FL 组、FM 组和 FH 组的 ALT 和 AST 水平均显著性降低（P<0.05），并依次呈剂量相关。NF 组的 AST 水平也显著降低了 14.51%，而 ALT 水平则降低不显著。综上所述，明日叶酵素可以有效修复酒精诱导的肝细胞功能异常，从而改善 ALD 小鼠的肝细胞损伤。

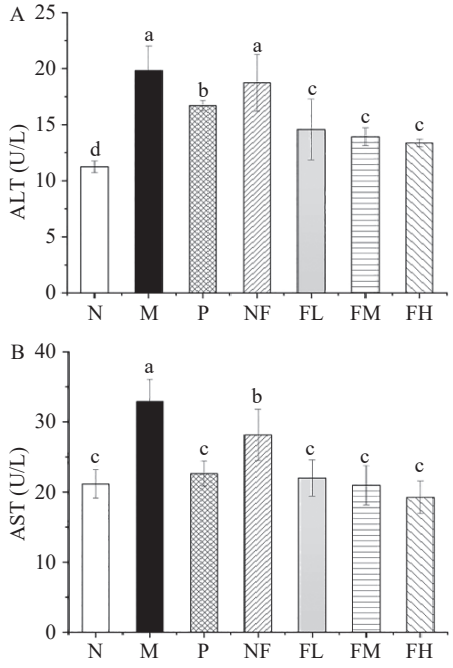


图 7　各组小鼠肝损伤标志酶水平

Fig.7　Levels of liver injury marker enzymes in each group

注：A. 各组小鼠 ALT 水平；B. 各组小鼠 AST 水平。

2.3　明日叶酵素对小鼠肝脏氧化应激和炎症的影响

2.3.1　肝脏氧化应激　小鼠肝脏匀浆中抗氧化酶活性和过氧化物产物含量如图 8A~图 8C 所示。与 N 组相比，M 组 SOD 和 GSH-Px 活性明显降低（P<0.05），MDA 过氧化物含量升高 72.98%（P<0.05），表明酒精干预导致小鼠肝脏过氧化物蓄积[21–22]。与 M 组相比，P 组 SOD 活性最接近正常水平，但仍与 N 组存在显著差异（P<0.05）。FL 和 FH 组 SOD 活性显著增强（P<0.05），NF 和 FM 组变化不明显（P>0.05）。FAK 干预后，GSH-Px 活性提高，MDA 浓度降低，表明 FAK 可以通过增强抗氧化酶活性和降低小鼠肝脏过氧化物的水平来减轻酒精代谢引起的肝脏氧化损伤。

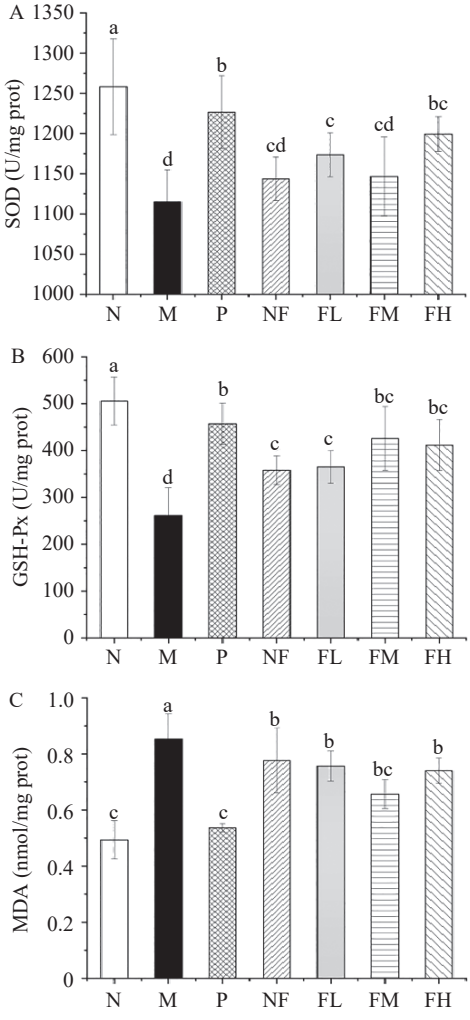


图 8　各组小鼠的肝脏抗氧化酶和氧化产物水平

Fig.8　Levels of antioxidant enzymes and oxidation products in liver of mice in each group

注：A. 各组小鼠的肝脏 SOD 水平；B. 各组小鼠的肝脏 GSH-Px 水平；C. 各组小鼠的肝脏 MDA 含量。

2.3.2　肝脏炎症因子　如图 9 可知，与 N 组相比，M 组小鼠的 TNF-α、IL-6、IL-1β 分别显著（P<0.05）升高了 42.10%、48.00% 和 73.93%，表明过量饮酒破坏了 ALD 小鼠的免疫系统，促进炎症因子的释放，

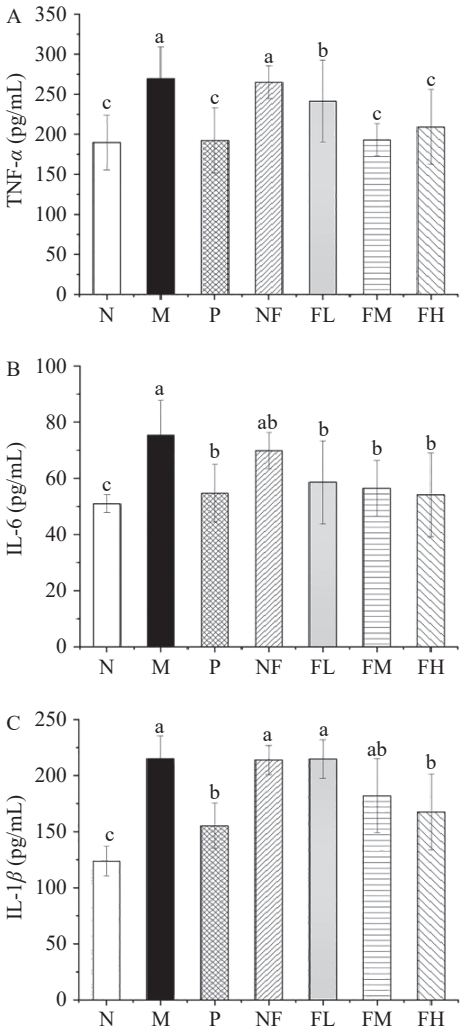


图 9 各组小鼠肝脏组织内炎症因子水平

Fig.9 Levels of inflammatory factors in liver tissue of mice in each group

注: A. 各组小鼠的肝脏 TNF-α 水平; B. 各组小鼠的肝脏 IL-6 水平; C. 各组小鼠的肝脏 IL-1β 水平。

激活炎症因子通路, 进而造成肝脏的炎症损伤。与 M 组相比, P 组、FL 组、FH 组、FM 组炎症因子水平显著(P<0.05)下降。FH 组的 TNF-α、IL-6、IL-1β 分别降低了 22.49%、28.24% 和 22.15%, FM 组的 TNF-α、IL-6、IL-1β 分别降低了 28.39%、25.19% 和 15.42%; FL 和 NF 组的改善效果略微。综上所述, 明日叶酵素能有效抑制酒精诱导的小鼠肝脏炎症因子释放, 改善肝脏炎症。

2.4 ALD 小鼠肠道菌群分析

本研究利用 16S rRNA 基因测序技术探讨了 FAK 对 ALD 小鼠肠道菌群的影响。Rank-Abundance 曲线主要用于说明样品的丰富度, 曲线下降越平缓, 表明物种多样性越高。曲线的形状反映群落的均匀度, 曲线的突然下降表明优势菌群落比例越高, 群落均匀度越低。如图 10A 所示, M 组的物种丰富度最高, NF 组的物种丰富度最低。图 10B 和图 10C显示, 当提取序列超过 2000 时, Sobs 和 Shannon指数的稀释曲线已趋于平坦, 即操作分类单元

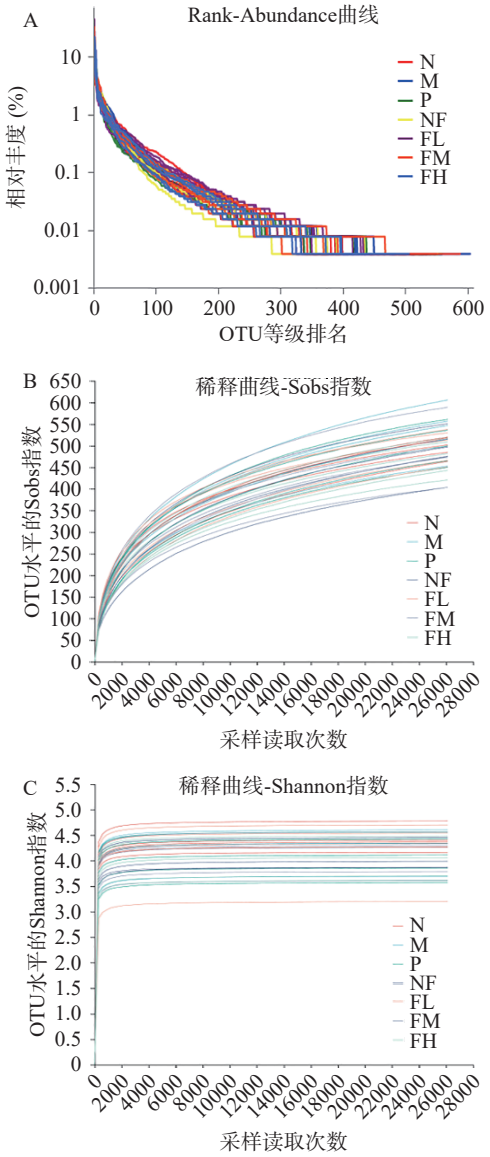


图 10 小鼠肠道菌群的物种多样性相关曲线

Fig.10 Correlation curve of species diversity of intestinal microbiota in mice

注: A. Rank-Abundance 曲线; B. 稀释曲线-Sobs 指数; C. 稀释曲线-Shannon 指数。

(OTU)趋向于饱和, 说明本实验的样品测量数据足以捕捉大部分微生物多样性。各组小鼠肠道菌群共有及特有 OTU 数目分析结果显示, 如图 11A, 各组共有 OTU 数目为 479 个, 其中, N 组 860 个, M 组 937 个, FL、FM 和 FH 组分别有 863、846 和 824 个, 表明摄入酵素后, OTU 数量出现明显变化。图 11B 显示, N、M、P、NF 等组和 FAK 干预组的样本分离良好, 而 FL、FM 和 FH 组相对接近, 推断酒精或明日叶酵素是影响分区的主要因素。通过构建基于 OTU 水平的层级聚类分析, 图 11C 反映出 FH 组与 M 组距离较远, 表明 FAK 干预对酒精诱导小鼠的肠道菌群产生了影响, 且与模型组有较大差异。图 11D 中 X 轴为组内或者组间的距离值, Between 对应的箱子代表组间差异距离值, 其余箱子代表组内差异距离值, 结果显示组间差异大于或与组内差异相当, 因

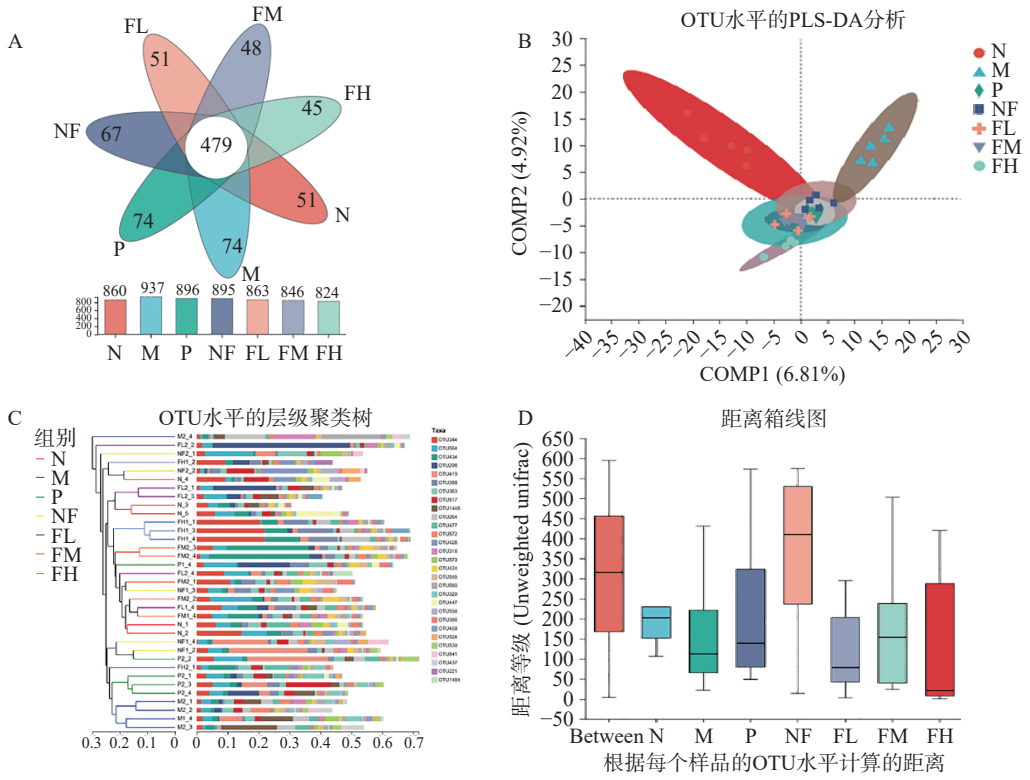


图 11　小鼠肠道菌群相似性分析

Fig.11　Between-group similarity analysis of intestinal microbiota in mice

注：A. 小鼠肠道菌群 OTU 数目的 Venn 图；B. PLS-DA 分析；C. 基于 OTU 水平的样本层级聚类；D. 基于 Unweighted unifrac 距离算法的 ANOSIM/Adonis 分析。

此判断分组具有意义。

图 12 展示各组肠道菌群的 Alpha 多样性分析结果。Simpson 指数是目前广泛接受的生态多样性衡量指标，与评价物种丰富度的 Sobs、Ace、Chao 指数一样，均出现了明显的变化。M 组的 Sobs 和 Ace 指数相较于 N 组明显升高，Chao 指数也相较于 N 组呈现上升趋势，而 Simpson 指数则明显下降，说明酒精诱导小鼠的肠道菌群丰富度增加，但多样性

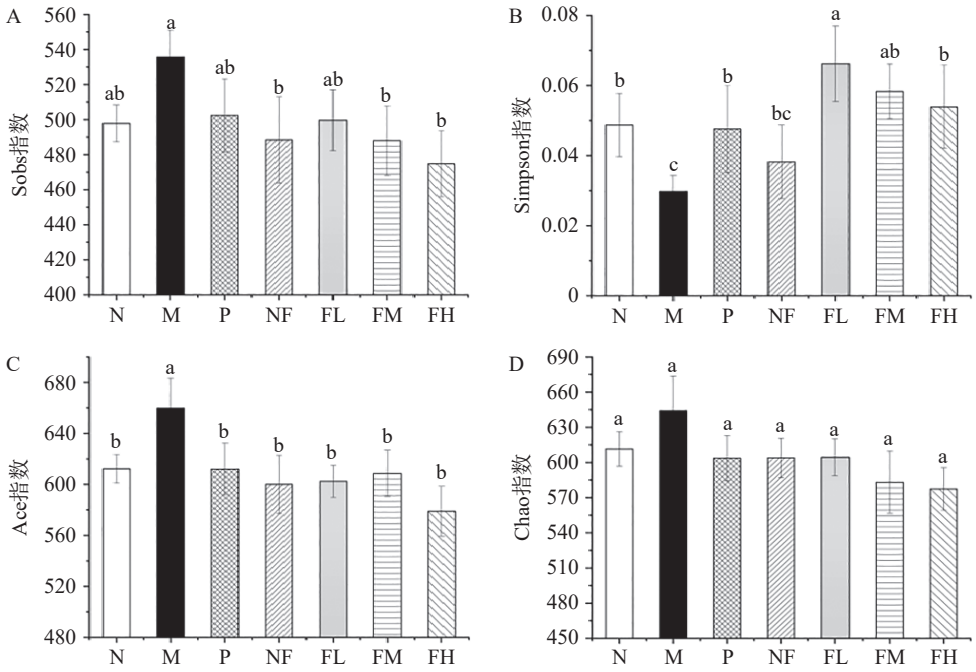


图 12　小鼠肠道菌群 Alpha 多样性分析

Fig.12　Alpha diversity analysis of intestinal microbiota in mice

注：A. Sobs 指数；B. Simpson 指数；C. Ace 指数；D. Chao 指数。Alpha 多样性指数间差异检验采用单因素方差分析（one-way ANOVA）。

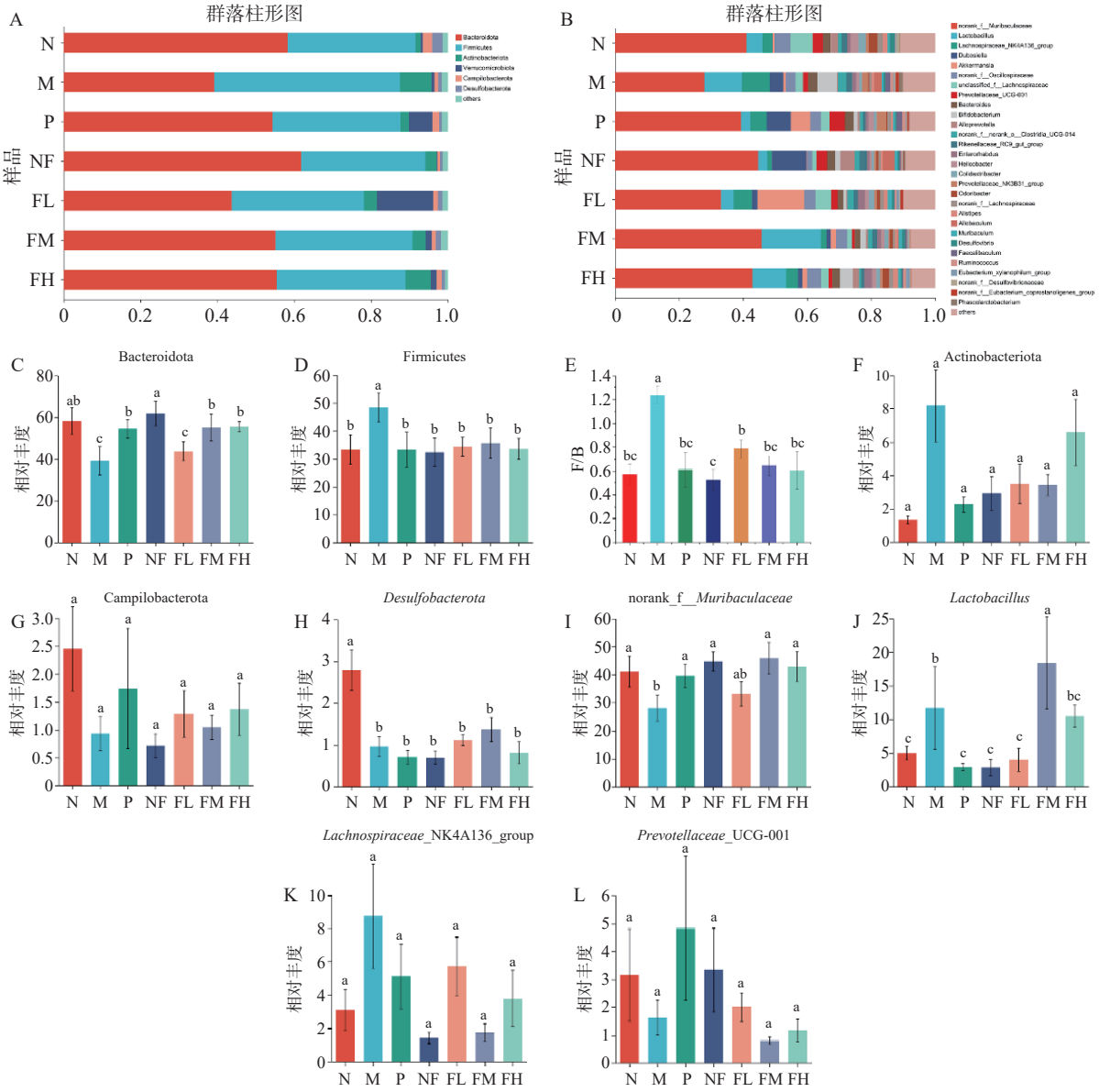


图 13　各组小鼠肠道门水平和属水平群落组成分析

Fig.13　Diversity and similarity analysis of gut microbiota in mice

注: A、B: 群落柱状图分析; C~G: 门水平上肠道菌群的相对丰度; H~L: 属水平上肠道菌群的相对丰度。

降低。FAK 干预后, 4 个多样性指数均较 M 组有所改善。

由图 13A 可知, 所有小鼠组别的肠道菌群主要优势菌为拟杆菌门(Bacteroidota)和厚壁菌门(Firmicutes), 两者所占比例之和约为菌种总数的 80%~90%。由图 13C、图 13D 可知, 与模型组相比, FAK 干预组的 Bacteroidota 的相对丰度明显增加, Firmicutes 的相对丰度显著降低(P<0.05)。图 13E 展示了门水平的 Firmicutes/Bacteroidetes(F/B)比值。有研究表明 F/B 值较高可能与脂肪肝有关, F/B 比值越低则反映肠道菌群状态越优[23]。模型组的 F/B 比值显著高于正常组(P<0.05), FAK 干预使 F/B 比值明显降低。如图 13F~图 13H 所示, 与 M 组相比, FAK 干预组的 Campilobacterota 和 Desulfobacter 的相对丰度呈增加趋势, Actinobacteriota 的相对丰度则呈降低趋势。

由图 13B 可知, 小鼠肠道中的优势属为 norank_f_*Muribaculaceae* 和 *Lactobacillus*。如图 13I~图 13L 所示, 与 N 组相比, M 组的 norank_f_*Muribaculaceae* 和 *Prevotellaceae*_UCG-001 均呈下降趋势, *Lactobacillus* 和 *Lachnospiraceae*_NK4A136-group 呈上升趋势。与 M 组相比, NF、FM 和 FH 组的 norank_f_*Muribaculaceae* 相对丰度显著(P<0.05)升高。*Lactobacillus* 的相对丰度在 NF 和 FL 组显著(P<0.05)降低, 而在 FM 和 FL 组则有所升高。FAK 干预导致 *Lachnospiraceae*_NK4A136 的相对丰度下降, *Prevotellaceae*_UCG-001 在 NF 组中呈现增加趋势。

3　讨论

本研究探究了协菌发酵制备明日叶酵素(FAK)对酒精诱导的小鼠肝损伤的改善作用, 并分析了其潜在的作用机制。

体重变化是反映机体健康程度最直接的指标之

一，而体重降低则是 ALD 的主要标志之一[24]。研究结果显示酒精干预结束后，M 组小鼠体重显著性降低，小鼠精神状态先亢奋继而萎靡，表明其健康程度与情绪状态因干预而变差。肝脏脂质沉积及脂代谢紊乱也是 ALD 的主要标志之一[25]。此外，TG 和 TC 被认为是诊断脂肪变性的重要指标，肝脏中脂肪过度堆积会导致 TG 和 TC 的含量升高，影响肝细胞功能，并使机体对肝毒素敏感[26]。本研究发现 M 组小鼠肝脏中多余的脂肪无法及时清除，造成了严重的脂肪堆积。且肝脏组织切片的油红-O 染色结果进一步证实了该推论，酒精会造成 ALD 小鼠的肝脏脂肪堆积以及脂肪变性，而 FAK 的干预则可以缓解该病理变化。

正常情况下，血清转氨酶（ALT 和 AST）分布在肝脏细胞质和线粒体中，血清中的含量很低，而肝脏受到损伤或者坏死时，ALT 和 AST 就会渗入血液中。因此，血清中 ALT 和 AST 水平升高提示肝细胞通透性增高、损伤或坏死，是肝损伤最显著的指标[27]。本文结果显示，M 组小鼠的 ALT、AST 水平显著升高，表明 M 组小鼠肝脏受到损伤而造模成功。FAK 的干预显著抑制了这种变化，且呈剂量效应关系，表明 FAK 可以有效逆转酒精诱导的小鼠肝细胞功能异常，从而缓解其肝脏损伤。

伴随大量酒精在肝脏内的代谢，机体氧化应激及炎症状态也会随之改变。酒精性肝损伤往往伴随肝脏抗氧化能力下降，脂质过氧化，诱发肝脏氧化应激及慢性炎症。TNF-α、IL-6 等促炎症因子是肝慢性炎症反应的关键产物，其水平升高直接导致促炎性巨噬细胞肝脏迁移增加，从而加速肝脏 NF-κB、JNK 炎症细胞通路级联，进一步加剧肝脏氧化损伤[28]。本研究显示，FAK 干预显著抑制了酒精引起的肝脏氧化应激及慢性炎症，提示 FAK 可能通过抗氧化、抗炎发挥保肝作用。

肝脏通过肝门和胆汁分泌系统直接与肠道相互作用，肠道的不同状态如菌群紊乱、小肠蠕动受损、胆汁流量减少等均会对肝功能产生影响，造成肝功能障碍[29–30]。反之，肠道菌群是门静脉 LPS 的主要来源，是慢性肝损伤中肝纤维化发展的重要先决条件[31]。本实验通过群落柱形图（Bar 图）更直观的可视化分析了各组在门水平和属水平上的群落物种组成。研究表明 F/B 值与脂肪代谢有关，F/B 值越高越容易吸收热量。F/B 的低比值被认为是胃肠道健康的指示[32]。然而，模型组的 F/B 值显著干预其他组，提示模型组的肠道健康状态较差。经过 FAK 的干预，高、中、低剂量组的 F/B 值均显著降低，但与干预剂量成反比，提示肠道菌群的健康程度可能与干预剂量密切相关。

综上所述，FAK 对缓解酒精性肝损伤具有潜在的积极作用，以上证据为进一步研究明日叶的保肝作用提供了重要理论依据。

4　结论

本研究通过建立酒精性肝损伤小鼠动物模型，结果显示，明日叶酵素能显著改善酒精诱导的 ALD 小鼠体重降低，显著降低 ALD 小鼠的肝脏指数、血脂含量以及肝损伤标志酶水平，推测明日叶酵素可能通过抑制肝脏肿胀、脂肪蓄积等途径来改善酒精诱导的肝脏损伤。

小鼠肝脏生化指标以及病理学检测结果显示，明日叶酵素还能够降低肝脏脂肪含量，提高抗氧化酶含量以及降低炎症因子水平，推测明日叶酵素还可能通过抑制肝脏脂肪堆积，提高抗氧化酶水平与减少炎症因子的释放等途径缓解 ALD 小鼠的肝脏炎症状态。

小鼠肠道菌群检测结果显示，酒精与明日叶酵素均能显著影响肠道菌群多样性。明日叶酵素的干预使 ALD 小鼠肠道菌群的 F/B 值恢复到接近正常水平，并改善了门水平和属水平上群落相对丰度的异常变化，减少内毒素的产生与释放，推测明日叶酵素通过改变肠道菌群多样性以及群落结构修复肠道屏障，维持 ALD 小鼠的肠道稳态。综上所述，明日叶酵素作为基于新食品原料资源开发的绿色功能食品，未来在保健食品乃至生物医药领域具有广阔应用前景。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] LOGGE W B, MORLEY K C, HABER P S, et al. Executive functioning moderates responses to appetitive cues: a study in severe alcohol use disorder and alcoholic liver disease[J]. Alcohol Alcohol, 2019, 54(1): 38−46.

[2] BYUN J S, YI H S. Hepatic immune microenvironment in alcoholic and nonalcoholic liver disease[J]. Biomed Res Int, 2017, 2017: 6862439.

[3] WANG J W, CHEN X Y, HU P Y, et al. Effects of linderae radix extracts on a rat model of alcoholic liver injury[J]. Exp Ther Med, 2016, 11(6): 2185−2192.

[4] 蒋文浩. 紫锥菊多糖对小鼠肠道微生物及酒精性肝损伤的干预作用研究[D]. 无锡：江南大学, 2022. [JIANG W H. Study on the intervention effect of polysaccharides from *Echinochloa purpurea* on gut microbiota and alcoholic liver injury in mice[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2022.]

[5] 孟文文, 刘慧茹, 张文光, 等. 中药防治酒精性肝病作用机制的研究进展[J]. 中草药, 2022, 53(3): 868−881. [MENG W W, LIU H R, HANG W G, et al. Research progress on the mechanism of traditional Chinese medicine in preventing and treating alcoholic liver disease[J]. Chinese Herbal Medicine, 2022, 53(3): 868−881.]

[6] 中国生物发酵产业协会. 酵素产品分类导则[Z]. 中华人民共和国工业和信息化部, 2018: 1−6. [China Biological Fermentation Industry Association. Guidelines for the classification of enzyme products[Z]. Ministry of Industry and Information Technolo-

gy of the People's Republic of China, 2018: 1−6.]
[7] 殷小菊, 吴静, 苏少朋, 等. 果蔬微生物酵素的功能与应用研究进展[J]. 当代化工研究, 2022(10): 71−73. [YIN X J, WU J, SU S P, et al. Advances in the function and application of fruit and vegetable microbial enzyme[J]. Modern Chemical Research, 2022 (10): 71−73.]
[8] 田文静, 武亚帅, 王俊山, 等. 果蔬酵素的研究进展[J]. 食品科技, 2021, 46(12): 116-22. [TIAN W J, WU Y S, WANG J S, et al. Research progress on fruit and vegetable enzymes[J]. Food Technology, 2021, 46(12): 116-122.
[9] 索婧怡, 朱雨婕, 陈磊, 等. 食用酵素的研究及发展前景分析[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(19): 271−83. [SUO J Y, ZHU Y J, CHEN L, et al. Research and development prospects analysis of edible enzymes[J]. Food and Fermentation Industry, 2020, 46(19): 271−283.]
[10] FU K, GAO X, HUA P, et al. Anti-obesity effect of *Angelica keiskei* Jiaosu prepared by yeast fermentation on high-fat diet-fed mice[J]. Front Nutr, 2022, 9: 1079784.
[11] 杨培青, 李斌, 颜廷才, 等. 蓝莓果渣酵素发酵工艺优化[J]. 食品科学, 2016, 37(23): 205−210. [YANG P Q, LI B, YAN T C, et al. Fermentation of blueberry pomace for the production of biomass and protease activity[J]. Food Science, 2016, 37(23): 205−210.]
[12] 曲佳乐, 赵金凤, 皮子凤, 等. , 植物酵素解酒护肝保健功能研究[J]. 食品科技, 2013, 38(9): 51−55. [QU J L, ZHAO J F, PI Z F, et al. The health care function for antialcoholism and liver protection of plant enzyme[J]. Food Science and Technology, 2013, 38 (9): 51−55.]
[13] 赵敏, 池莉平, 王凤岩, 等. 小鼠急性酒精性肝损伤模型的建立及应用[J]. 华南预防医学, 2005(1): 14−17. [ZHAO M, CHI L P, WANG F Y, et al. Establishment of mice acute liver injury model induced by alcohol and its application[J]. South China Journal of Preventive Medicine, 2005(1): 14−17.]
[14] 姜悦航, 张越, 王妍妍, 等. 茯苓多糖提取物调控 CYP2E1 及 NF-κB 炎症通路改善小鼠酒精性肝病[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(1): 134−140. [JIANG Y H, ZHANG Y, WANG Y Y, et al. Extracts of *Poria cocos* polysaccharides improves alcoholic liver disease in mice via CYP2E1 and NF-κB inflammatory pathways[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2022, 47(1): 134−140.]
[15] 沙爱龙, 吴瑛, 盛海燕, 等. 昆仑雪菊黄酮对衰老模型小鼠脑及脏器指数的影响[J]. 动物医学进展, 2013, 34(7): 66−68. [SHA A L, WU Y, SHENG H Y, et al. Effects of coreopsis tinctoria flavonoids on cerebral index and viscera index in the aging model mice[J]. Progress in Veterinary Medicine, 2013, 34(7): 66−68.]
[16] CHAN J K, The wonderful colors of the hematoxylin-eosin stain in diagnostic surgical pathology[J]. Int J Surg Pathol, 2014, 22 (1): 12−32.
[17] ANDRÉS-MANZANO M J, V ANDRÉS, B DORADO. Oil Red O and Hematoxylin and eosin staining for quantification of atherosclerosis burden in mouse aorta and aortic root[J]. Methods Mol Biol, 2015, 1339: 85−99.
[18] TABATABAEI M S, M AHMED. Enzyme-Linked immunosorbent assay (ELISA)[J]. Methods Mol Biol, 2022, 2508: 115−134.
[19] 任静, 马利, 覃绛雪, 等. 枸杞叶黄酮压片糖果的制备及对高果糖诱导小鼠肝损伤的保护作用[J]. 食品工业科技, 2025, 46(21): 278−289. [REN J, MA L, QIN J X, et al. Preparation of lycium barbarum leaf flavonoids tablet candy and its protective effect on high fructose induced liver injury in mice[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(21): 278−289.]
[20] WANG K, SHI J, GAO S, et al. Oyster protein hydrolysates alleviated chronic alcohol-induced liver injury in mice by regulating hepatic lipid metabolism and inflammation response[J]. Food Res Int, 2022, 160: 111647.
[21] ZHOU J, PENG Z, WANG J. Trelagliptin alleviates lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammation and oxidative stress in acute lung injury mice[J]. Inflammation, 2021, 44(4): 1507−1517.
[22] JI Y, GAO Y, CHEN H, et al, Indole-3-acetic acid alleviates nonalcoholic fatty liver disease in mice via attenuation of hepatic lipogenesis, and oxidative and inflammatory stress[J]. Nutrients, 2019, 11(9): 2062.
[23] MISHRA S. P, WANG B, JAIN S, et al., A mechanism by which gut microbiota elevates permeability and inflammation in obese/diabetic mice and human gut[J]. Gut, 2023, 72(10): 1848−1865.
[24] YANG J, WANG H, LIN X, et al, Gut microbiota dysbiosis induced by alcohol exposure in pubertal and adult mice[J]. Systems, 2024, 9(12): e0136624.
[25] ZHOU, C, LAI W, HUANG P, et al. Naringin attenuates alcoholic liver injury by reducing lipid accumulation and oxidative stress[J]. Life Sci, 2019, 216: 305−312.
[26] 李亚婷, 李强, 李娜, 等. 牛油果油对肥胖小鼠体重、血清生化指标和肝脏中胆固醇代谢相关基因表达的影响[J]. 动物营养学报, 2023, 35(11): 7389−7400. [LI Y T, LI Q, LI N, et al. Effects of avocado oil on body weight, serum biochemical indexes and expression of genes related to cholesterol metabolism in liver of obese mice[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2023, 35(11): 7389−7400.]
[27] DONG X, YANG H, LI C, et al, Triiodothyronine alleviates alcoholic liver disease injury through the negative regulation of the NLRP3 signaling pathway[J]. Exp Ther Med, 2018, 16(3): 1866−1872.
[28] LIU C, CAI T, CHEN Y, et al, Postbiotics prepared using *Lactobacillus reuteri* ameliorates ethanol-induced liver injury by regulating the FXR/SHP/SREBP-1c Axis[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2024, 68(14): e2300927.
[29] 许文涛, 郭星, 罗云波, 等. 微生物菌群多样性分析方法的研究进展[J]. 食品科学, 2009, 30(7): 258−265. [XU W T, GUO X, LUO Y B, et al. Research progress on analysis methods of diversity of microbial flora[J]. Food Science, 2009, 30(7): 258−265.]
[30] 蔡中梅, 杨海明, 谢燕娟, 等. 家禽肠道微生物菌群多样性的研究进展[J]. 中国饲料, 2014(15): 11−13,20. [CAI Z M, YANG H M, XIE Y J, et al. Research advance of poultry intestinal microflora diversity[J]. China Feed, 2014(15): 11−13,20.]
[31] LIU Y, JIN Y, LI J, et al. Small bowel transit and altered gut microbiota in patients with liver cirrhosis[J]. Front Physiol, 2018, 9: 470.
[32] WANG S, CUI K, LIU J, et al. Mogroside-Rich extract from siraitia grosvenorii fruits ameliorates high-fat diet-induced obesity associated with the modulation of gut microbiota in mice[J]. Front Nutr, 2022, 9: 870394.