

藤茶解酒功能发酵乳的制备及功效评价

李冬梅¹, 李晴晖¹, 李宝玉¹, 郝志明¹, 梁锦钊¹, 文炎², 李春莲³

(1.广东农工商职业技术学院 热带农林学院, 广东 广州 510507; 2.江西省尚美生态农业有限公司, 江西 萍乡 337025;
3.江西富牛生态农业发展有限公司, 江西 赣州 342800)

摘要:以纯牛奶为主要原料, 添加藤茶 (*Ampelopsis grossedentata*) 提取液, 研制一款口味和解酒功效俱佳的藤茶功能发酵乳。通过单因素试验, 以二氢杨梅素 (DMY) 含量、乙醇脱氢酶 (ADH) 激活率、超氧化物歧化酶 (SOD) 活力和感官评价为综合评价指标, 筛选出最佳的发酵剂菌种和各成分最佳添加量; 在单因素试验基础上, 利用响应面法优化藤茶发酵乳的配方, 并采用体外和体内小鼠试验评价其解酒功效。结果表明, 藤茶发酵乳最佳制备工艺条件为采用66菌型发酵剂, 藤茶提取液添加量12%、纯牛奶添加量75%、木糖醇添加量6%、菌种添加量0.125%。在此最佳条件下, 藤茶发酵乳综合评价为68.33, 二氢杨梅素含量为0.62 mg/mL。藤茶解酒功能发酵乳对解酒酶乙醇脱氢酶和乙醛脱氢酶 (ALDH) 激活率分别为70.05%和82.38%、SOD酶活力达72.66 U/g; 且能极显著延长醉酒小鼠酒精耐受时间、缩短睡眠时间和醒酒时间 ($P < 0.01$)。藤茶发酵乳功能因子明确, 功效成分含量高, 解酒功效优良, 市场前景广阔。

关键词: 藤茶; 发酵乳; 配方优化; 响应面法; 解酒功能

中图分类号: TS252.54

文章编号: 0254-5071 (2025) 02-0128-08

doi:10.11882/j.issn.0254-5071.2025.02.019

引文格式: 李冬梅, 李晴晖, 李宝玉, 等. 藤茶解酒功能发酵乳的制备及功效评价[J]. 中国酿造, 2025, 44 (2): 128-135.

Preparation and efficacy evaluation of *Ampelopsis grossedentata* fermented milk with sobering function

LI Dongmei¹, LI Qinghui¹, LI Baoyu¹, HAO Zhiming¹, LIANG Jinzhao¹, WEN Yan², LI Chunlian³

(1. Institute of Tropical Agriculture and Forestry, Guangdong AIB Polytechnic College, Guangzhou 510507, China;

2. Jiangxi Shangmei Ecological Agriculture Co., Ltd., Pingxiang 337025, China;

3. Jiangxi Funiu Ecological Agriculture Development Co., Ltd., Ganzhou 342800, China)

Abstract: Using milk as the main raw material, the *Ampelopsis grossedentata* functional fermented milk with excellent taste and sobering function was prepared with *A. grossedentata* extract. Through single factor tests, using dihydromyricetin (DMY) content, ethanol dehydrogenase (ADH) activation rate, superoxide dismutase (SOD) activity and sensory evaluation as comprehensive evaluation indexes, the optimal fermentation agent strain and the optimal addition of each component were selected. On the basis of single factor tests, the formula of *A. grossedentata* fermented milk was optimized by response surface test, and its anti-alcohol effect was evaluated by in vitro and in vivo mouse tests. The results showed that the optimal preparation process conditions for *A. grossedentata* fermented milk were as follows: *A. grossedentata* extract addition 12%, milk addition 75%, xylitol addition 6% and fermentation starter "66 Junxing" addition 0.125%. Under the optimal condition, the comprehensive evaluation of *A. grossedentata* fermented milk was 68.33, and the dihydro- myricetin content was 0.62 mg/ml. Enzyme ethanol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase (ALDH) activity rates of *A. grossedentata* sobering functional fermented milk were 70.05% and 82.38%, respectively, and the SOD activity was 72.66 U/g. It could significantly prolong the alcohol tolerance time, shorten the sleep time and sober up time of drunken mice ($P < 0.01$). The function factor of *A. grossedentata* sobering functional fermented milk was clear, the content of effective ingredients was high, the effect of anti-alcohol effect was good, and the market prospect was broad.

Key words: *Ampelopsis grossedentata*; fermented milk; formula optimization; response surface methodology; sobering function

据世界卫生组织 (World Health Organization, WHO) 的最新报道, 2019年酒精造成大约300万人死亡, 占全球死亡人数的5.3%^[1]。酒文化贯穿于中华五千年的文明史, 是人们日常生活及社交中不可或缺的一部分^[2], 但长时间过量饮酒, 会对肝、肾以及肠胃等造成严重影响, 危害人类身体健康^[3]。随着人们健康意识的加强, 解酒产品市场需求逐年

增加; 近几年市场推出的解酒产品种类越来越丰富, 但存在口感欠佳、解酒功能有待考证等痛点, 因此, 研发口味和功能性俱佳的解酒食品有广阔的市场前景。酸奶是以牛奶为原料, 经过杀菌后再向牛奶中添加有益菌 (乳酸菌发酵剂), 经发酵后的一种牛奶制品^[4], 发酵乳以生牛 (羊) 乳或乳粉为原料, 经杀菌、发酵后制成的pH值降低的产品^[5], 其

收稿日期: 2024-10-03

修回日期: 2024-12-31

基金项目: 广东省普通高校重点领域专项 (乡村振兴) 项目 (2020ZDZX1094); 广东农工商职业技术学院技能大师工作室 (XJJN2306); 产学研合作项目 (2023年132号); 广东省教育厅特色创新项目 (2019GKTCX054); 广东省普通高校重点领域专项 (生物医药与健康) (2023ZDZX2081)

作者简介: 李冬梅 (1975-), 女, 副教授, 硕士, 研究方向食品加工与营养安全。

营养丰富、风味独特,深受消费者青睐。若在饮酒前喝酸奶,可以在胃黏膜表层形成保护膜,减少人体对酒精的吸收^[5];益生菌发酵乳可有效缓解醉酒现象^[6],具有解酒护肝的作用^[7]。乳酸菌(lactic acid bacteria, LAB)是一类可以利用可发酵的碳水化合物产生大量乳酸的革兰氏阳性菌的总称,越来越多的研究证明,乳酸菌可以通过调整肠道菌群、改善肠屏障功能、减弱肝脏氧化应激、抑制肝脏脂肪堆积和调节肝脏炎症水平来缓解酒精性肝病^[8-9]。

藤茶(*Ampelopsis grossedentata*),为葡萄科(Vitaceae)蛇葡萄属(*Ampelopsis Michx*)的显齿蛇葡萄叶,是原国家卫生和计划生育委员会认定、近年来研究较多的药茶两用新食品原料之一,其主要功效活性物质为二氢杨梅素(dihydromyricetin, DMY),藤茶水提物具有减轻氧化应激和肠道炎症的作用^[10],改善乙醇诱导的脂质积累和炎症^[11],DMY可通过Keap-1/Nrf2通路调节p62和自噬串扰,从而减轻酒精性肝病(alcoholic liver disease, ALD)病理进展中的肝脏脂肪变性和炎症反应^[12],是一种具有 γ -氨基丁酸A型受体(γ -aminobutyric acid A type receptor, GABAA)活性的天然生物活性黄酮类化合物,具有减轻乙醇中毒的作用机制^[13],具有良好的解酒防醉护肝作用^[14-15]。本研究以纯牛奶为主要原料,添加藤茶提取液,研制一款口味和解酒功效俱佳的藤茶解酒功能发酵乳。通过单因素试验,以二氢杨梅素(DMY)含量、乙醇脱氢酶(alcohol dehydrogenase, ADH)激活率、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活力和感官评价为综合评价指标,筛选出最佳的发酵剂菌种和各成分最佳添加量;在单因素试验基础上,利用响应面试验优化藤茶解酒功能发酵乳的配方,采用体外和体内相结合的方法评价其解酒功效。以期拓宽藤茶产品的应用领域,提高藤茶产品的附加值,为解酒功能食品的开发提供借鉴和参考。

1 材料和方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 原料和菌株

藤茶:江西省尚美生态农业有限公司;纯牛奶(每100 mL含蛋白质3.3 g、脂肪3.8 g、乳糖5.0 g):广东燕塘乳业股份有限公司;酸奶发酵剂(含保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌、嗜酸乳杆菌、植物乳植杆菌、干酪乳杆菌等5菌型、10菌型、30菌型、40菌型、66菌型益生菌)(直投式冻干菌):昆山佰生优生物科技有限公司;活菌型酸奶(5菌:嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌、嗜酸乳杆菌、双歧杆菌、干酪乳杆菌):市售;RU21解酒药(美国)(每1 g含维生素C 60 mg、维生素B 28.5 mg、维生素B 610 mg、丁二酸、谷氨酸250 mg、反丁烯二酸75 mg、硫基丙氨酸30 mg、硫辛酸20 mg):京东商城;56°红星二锅头:北京红星股份有限公司。

1.1.2 试剂

乙醇脱氢酶(ADH)(300 U/mg)、乙醛脱氢酶(acetalde-

hyde dehydrogenase, ALDH)(25 U/mg):美国Sigma公司;超氧化物歧化酶(SOD)活性检测试剂盒、氧化型辅酶I(烟酰胺腺嘌呤二核苷酸)(β -nicotinamide adenine dinucleotide trihydrate, NAD⁺)(纯度 $\geq 98\%$):北京索莱宝科技有限公司;二氢杨梅素标准品(纯度 $\geq 98\%$)、吡啶(分析纯):麦克林生物试剂有限公司;明胶、重磷酸钠、无水乙醇、磷酸氢二钠、磷酸二氢钾(均为分析纯):广东翁江化学试剂有限公司;清洁级无特定病原体动物(specific pathogen free, SPF)级雄性美国癌症研究所(institute of cancer research, ICR)小鼠:湖南斯莱克景达实验动物有限公司。

1.2 仪器与设备

ME104E电子天平:梅特勒托利多公司;SHJ-6AB磁力搅拌恒温水浴锅:常州金坛良友仪器有限公司;QQ-T2000CT超声波提取机:上海启前电子科技有限公司;FSH-2A可调高速均质机:常州市亿能实验仪器厂;SHP-360生化培养箱:上海森信实验仪器有限公司;5424 R台式冷冻离心机:德国Eppendorf公司;X-8S紫外-可见分光光度计:上海元析仪器有限公司;Multiskan FC酶标仪:美国Thermo赛默飞公司;LC-15C高效液相色谱仪:日本岛津制作所液体色谱株式会社。

1.3 方法

1.3.1 藤茶解酒功能发酵乳的加工工艺流程及操作要点

藤茶提取液

↓

牛乳标准化→均质→杀菌→冷却→接种→发酵→后熟→藤茶解酒功能发酵乳

操作要点:

藤茶提取液的制备^[16]:4%复合酶(W果胶酶:W纤维素酶=1:1、料液比1:30(g/mL)、pH 3.0、50℃下酶解50 min;在超声功率250 W、超声温度60℃下提取30 min,得到藤茶提取液。

物料混合、均质、杀菌:将牛乳、木糖醇与藤茶提取液按照一定的比例混合均匀至完全溶解。混合后的料液在温度为75~80℃、压强为25~30 MPa条件下均质,均质后的物料在水浴锅中保持温度为60~65℃进行巴氏杀菌30 min。

冷却、接种、发酵:将均质杀菌后的物料降温至42℃,按照一定比例加入1.1.1中所述的乳酸菌发酵剂,于发酵箱中恒温发酵8 h,酸度为85°T左右。

后熟:将发酵乳移入冰箱中,2~5℃温度下冷藏后熟12 h,即得藤茶解酒功能发酵乳成品。

1.3.2 乳酸菌发酵剂的筛选

结合前期大量预试验,在感官评价的基础上,以DMY含量、乙醇脱氢酶(ADH)激活率和超氧化物歧化酶(SOD)活力为综合评价指标,综合评价=(DMY含量 $\times 100 \times 30\%$ +乙醇脱氢酶(ADH)激活率 $\times 100 \times 40\%$ +SOD活力 $\times 30\%$) $\times 100$ 。以5菌、10菌、30菌、40菌和66菌酸奶发酵剂作为单因

素变量,固定藤茶提取液添加量12%、纯牛奶添加量70%、木糖醇添加量6%、菌种添加量为0.150%为基础配方,42℃下发酵8 h,根据综合评价筛选出最优的发酵乳乳酸菌发酵剂。

1.3.3 藤茶解酒功能发酵乳配方优化

(1) 单因素试验

固定发酵乳发酵剂为66菌型,木糖醇添加量6%,发酵温度为42℃,发酵时间8 h,考察藤茶提取液添加量(8%、10%、12%、14%、16%)、牛奶添加量(60%、65%、70%、75%、80%)、66菌型发酵剂添加量(0.100%、0.125%、0.150%、0.175%、0.200%)对藤茶解酒功能发酵乳感官评分和综合评价的影响。

(2) 响应面试验设计

在单因素试验结果基础上,采用 Design Expert 13.0 的 Box-Behnken 中心组合设计原理,以藤茶提取液添加量(A)、牛奶添加量(B)和66菌型发酵剂添加量(C)为自变量,以综合评价(Y)为响应值,进行3因素3水平响应面试验,Box-Behnken 试验因素与水平见表1。

表1 藤茶解酒功能发酵乳配方优化Box-Behnken试验因素与水平
Table 1 Factors and levels of Box-Behnken experiments for formula optimization of *Ampelopsis grossedentata* fermented milk with sobering function

因素	水平		
	-1	0	1
A 藤茶提取液添加量/%	10	12	14
B 牛奶添加量/%	70	75	80
C 发酵剂添加量/%	0.100	0.125	0.150

1.3.4 分析检测

(1) 藤茶解酒功能发酵乳感官评价

参考前期相关产品研究^[7]略作改进,从色泽、风味、口感、组织状态4个方面进行评价,各占20%、20%、30%、30%权重,采用百分制,邀请本校食品专业背景10人(5男,5女)进行评分,具体感官评价标准见表2。

表2 藤茶解酒功能发酵乳感官评价标准

Table 2 Sensory evaluation standards of *Ampelopsis grossedentata* fermented milk with sobering function

项目	评分标准	评分/分
色泽 (20分)	浅黄色,色泽明亮,无杂色	15~20
	颜色过深或过浅	8~14
	颜色过深,无光泽,有杂色	0~7
风味 (20分)	具浓郁酸奶发酵风味和藤茶清香,无其他不良气味	15~20
	有较好酸奶发酵风味和藤茶清香,无其他不良气味	8~14
	有酸奶发酵风味,藤茶清香味较淡,有其他气味	0~7
口感 (30分)	口感爽滑,酸甜适中	22~30
	口感较爽滑,酸甜比较好	15~21
	口感粗糙,有颗粒,过酸或过甜	0~14

续表

项目	评分标准	评分/分
组织 状态 (30分)	组织均匀细腻,表面光滑,无气泡、无乳清析出	22~30
	组织均匀较细腻,无气泡,有少量乳清析出	15~21
	凝乳一般、组织粗糙,气泡,有明显乳清析出	0~14

(2) 活性成分指标

DMY含量:采用高效液相色谱法^[18]进行测定;ADH激活率:采用改良瓦勒-霍赫法(Valle & Hoch)^[19]进行测定;SOD活力:按照SOD酶活力检测试剂盒进行测定;ALDH激活率:采用改良瓦勒-霍赫法(Valle & Hoch)^[19]进行测定。

(3) 藤茶发酵乳解酒功能行为学指标

ICR小鼠24只,体质量18~22 g,随机分为酒精模型组、阳性对照组(RU21解酒药)和藤茶发酵乳组,每组8只,给样浓度如下:阳性对照组0.27 g/kg,藤茶发酵乳0.30 g/kg。小鼠适应性喂养1周后,禁食不禁水12 h,酒精模型组按照0.1 mL/10 g灌胃给予蒸馏水,RU21组、藤茶发酵乳组分别按0.1 mL/10 g灌胃,30 min后,酒精模型组、阳性对照组、藤茶发酵乳组按0.14 mL/10 g 56°红星二锅头灌胃。记录给酒、给药时间以及小鼠翻正反射消失时间和翻正反射恢复时间,计算酒精耐受时间(翻正反射消失时间-给酒时间)、睡眠时间(翻正反射恢复时间-翻正反射消失时间)、醒酒时间(翻正反射恢复时间-给酒时间)^[14]。

1.3.5 数据处理

采取SPSS 26.0软件和Design Expert 13.0软件进行数据处理及显著性差异分析,每组试验做3个平行,试验数据以“平均值”表示, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义, $P < 0.01$ 为差异有极显著统计学意义。

2 结果与分析

2.1 乳酸菌发酵剂对藤茶解酒功能发酵乳品质的影响

不同发酵剂对藤茶解酒功能发酵乳的感官评分和综合评价的影响结果分别见表3和图1。由表3可知,选用66菌型发酵剂制备的发酵乳色泽、风味、口感、组织状态均达最佳,感官评分最高,为92分。由图1可知,不同乳酸菌发酵剂对藤茶解酒功能发酵乳中DMY含量、ADH激活率和SOD酶活力均有影响,随着乳酸菌菌种类数量的增加,发酵乳中各指标呈现总体上升趋势;66菌型酸奶发酵剂制备藤茶解酒功能发酵乳中DMY含量、ADH激活率、SOD酶活力和综合评价均为最优,分别为0.571 5 mg/mL、60.04%、82.70 U/g、65.97。可能是因为藤茶提取液中多种活性成分,通过乳酸菌发酵,活性成分进行合成与转化^[20],以及提高酚类的生物利用度和保护细胞免受氧化应激来增强制品的抗氧化活性^[21]所致。与专利报道^[22]中藤茶在乳酸菌等复合菌发酵过程中,可溶性黄酮、多酚、茶色素等活性成分含量大幅度提高的研究结论相似。因此,确定藤茶解酒功能发酵乳最佳发酵菌种为66菌型发酵剂。

表3 不同乳酸菌发酵剂对藤茶解酒功能发酵乳感官评分的影响

Table 3 Effects of different lactic acid bacteria starter on sensory score of *Ampelopsis grossedentata* fermented milk with sobering function

乳酸菌发酵剂	色泽	风味	口感	组织状态	感官评分/分
5菌型	无色	酸奶发酵风味和藤茶清香均淡	口感较粗糙偏酸	组织较细腻少量乳清析出	73
10菌型	浅黄	较好酸奶发酵风味和藤茶清香淡	口感较爽滑酸甜适中	组织较细腻无乳清析出	81
30菌型	无色	酸奶发酵风味和藤茶清香均淡	口感较粗糙酸甜适中	组织较细腻少量乳清析出	78
40菌型	浅黄	较好酸奶发酵风味,藤茶清香浓郁	口感较爽滑酸甜适中	组织细腻无乳清析出	85
66菌型	浅黄	浓郁酸奶发酵风味和藤茶清香	口感爽滑酸甜适中	组织细腻无乳清析出	92

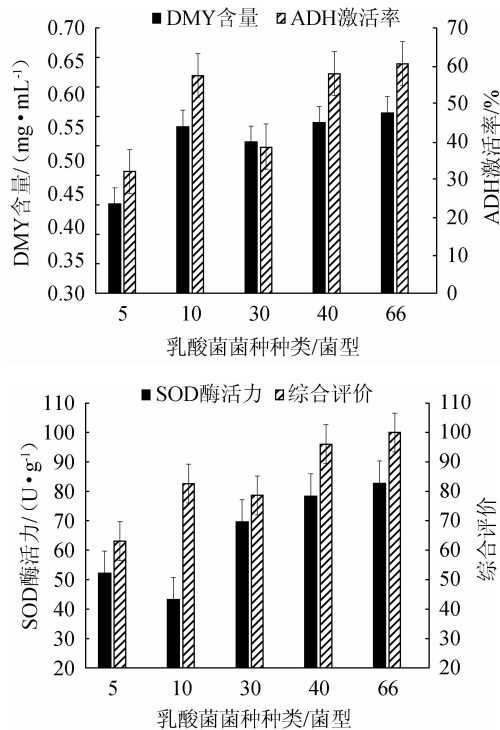


图1 不同乳酸菌发酵剂对藤茶解酒功能发酵乳中二氢杨梅素含量、乙醇脱氢酶激活率、超氧化物酶活力和综合评价的影响

Fig. 1 Effects of different lactic acid bacteria starter on dihydromyricetin contents, alcohol dehydrogenase activation rates, superoxide dismutase activities and comprehensive evaluation of *Ampelopsis grossedentata* fermented milk with sobering function

2.2 藤茶解酒功能发酵配方优化单因素试验结果与分析

2.2.1 藤茶提取液添加量对藤茶解酒功能发酵乳品质的影响

藤茶提取液添加量对藤茶解酒功能发酵乳DMY含量、ADH酶激活率、SOD酶活力及综合评价的影响见图2。由图2可知,随着藤茶提取液添加量的增加,藤茶解酒功能发酵乳的DMY含量、ADH酶激活率、SOD酶活力及综合评价呈现先升高后降低的趋势。当藤茶提取液添加量为10%~12%时,藤茶解酒功能发酵乳DMY含量、ADH酶激活率、SOD酶活力及综合评价随之升高;当藤茶提取液添加量为12%时,藤茶解酒功能发酵乳DMY含量、ADH酶激活率、SOD酶活力及综合评价最高,分别为0.712 8 mg/mL、64.75%、85.63 U/g、72.97;当藤茶提取液添加量>12%之后,藤茶解酒功能发酵乳DMY含量、ADH酶激活率、SOD酶活

力及综合评价有所下降。这可能是随着藤茶提取液的增加,其二氢杨梅素过高会抑制菌种的发酵^[23]所致。因此,确定最适藤茶提取液添加量为12%。

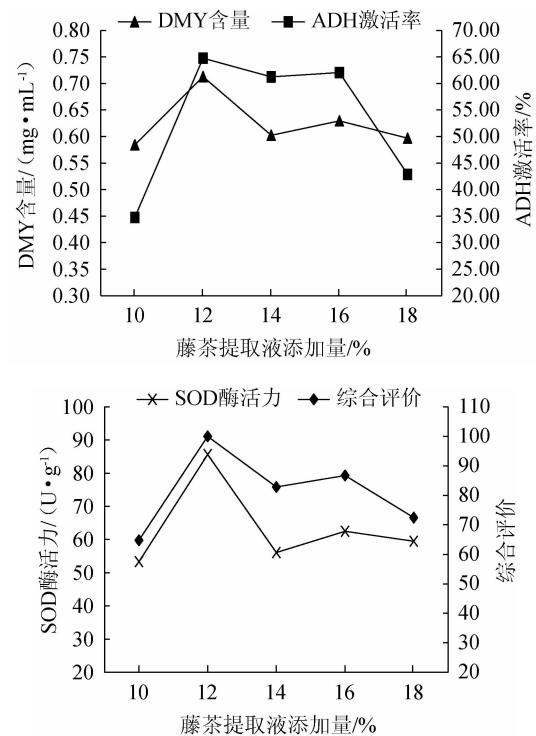


图2 藤茶提取液添加量对藤茶解酒功能发酵乳中二氢杨梅素含量、乙醇脱氢酶激活率、超氧化物酶活力和综合评价的影响

Fig. 2 Effects of *Ampelopsis grossedentata* extract addition on dihydromyricetin contents, alcohol dehydrogenase activation rates, superoxide dismutase activities and comprehensive evaluation of *Ampelopsis grossedentata* fermented milk with sobering function

2.2.2 牛奶添加量对藤茶解酒功能发酵乳综合品质的影响

牛奶添加量对藤茶解酒功能发酵乳DMY含量、ADH酶激活率、SOD酶活力及综合评价的影响见图3。由图3可知,牛奶添加量为60%~75%时,藤茶解酒功能发酵乳DMY含量、ADH酶激活率、SOD酶活力及综合评价随之升高;牛奶添加量75%时,藤茶解酒功能发酵乳DMY含量、ADH酶激活率、SOD酶活力及综合评价最优,分别为0.624 1 mg/mL、59.38%、72.77 U/g、64.31;牛奶添加量>75%之后,藤茶解

酒功能发酵乳DMY含量、ADH酶激活率、SOD酶活力及综合评价则相应降低。这可能是因为藤茶提取液中的黄酮活性物质二氢杨梅素与牛奶中的蛋白质之间会产生相互作用，在一定含量范围内，两者之间是相互协同的关系，超过一定的范围，两者之间发生相互拮抗所致。因此，确定最适牛奶添加量为75%。

用，在一定含量范围内，两者之间是相互协同的关系，超过一定的范围，两者之间发生相互拮抗所致。因此，确定最适牛奶添加量为75%。

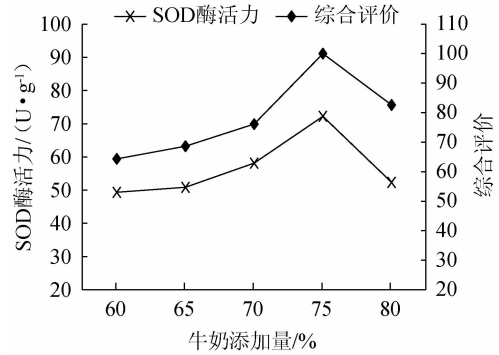
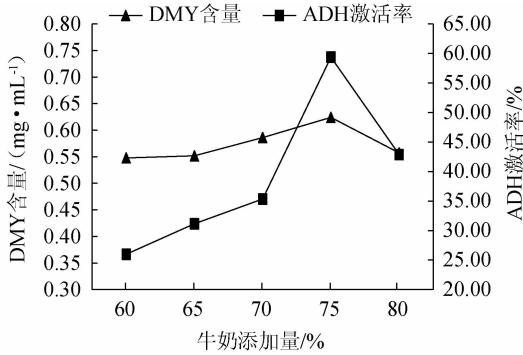


图3 牛奶添加量对藤茶解酒功能发酵乳中二氢杨梅素含量、乙醇脱氢酶激活率、超氧化物酶活力和综合评价的影响

Fig. 3 Effects of milk addition on dihydromyricetin contents, alcohol dehydrogenase activation rates, superoxide dismutase activities and comprehensive evaluation of *Ampelopsis grossedentata* fermented milk with sobering function

2.2.3 乳酸菌发酵剂添加量对藤茶解酒功能发酵乳综合品质的影响

乳酸菌发酵剂用量对发酵乳DMY含量、ADH酶激活率、SOD酶活力及综合评价的影响见图4。由图4可知，当发酵剂添加量为0.100%~0.125%时，藤茶解酒功能发酵乳DMY含量、ADH酶激活率、SOD酶活力及综合评价随之升

高；当发酵剂添加量为0.125%时，藤茶解酒功能发酵乳DMY含量、ADH酶激活率、SOD酶活力及综合评价最高，分别为0.6187 mg/mL、57.70%、74.40 U/g、63.96；当发酵剂添加量>0.125%之后，藤茶解酒功能发酵乳DMY含量、ADH酶激活率、SOD酶活力及综合评价则下降。因此，确定最适发酵剂添加量为0.125%。

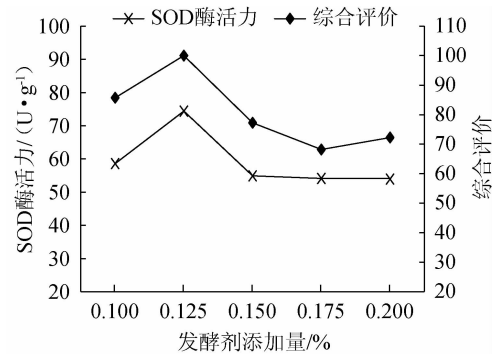
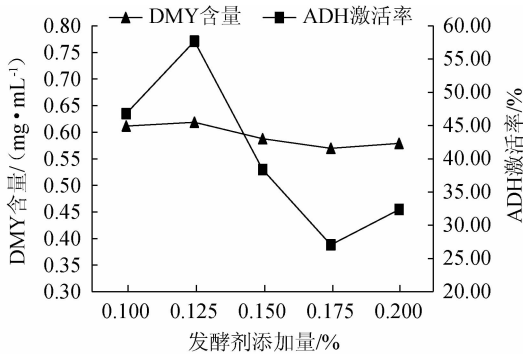


图4 发酵剂添加量对藤茶解酒功能发酵乳中二氢杨梅素含量、乙醇脱氢酶激活率、超氧化物酶活力和综合评价的影响

Fig. 4 Effects of starter addition on dihydromyricetin contents, alcohol dehydrogenase activation rates, superoxide dismutase activities and comprehensive evaluation of *Ampelopsis grossedentata* fermented milk with relieving alcoholism function

2.3 藤茶解酒功能发酵乳配方优化响应面试验

2.3.1 响应面试验结果及方差分析

在单因素试验结果基础上，以藤茶提取液添加量(A)、牛奶添加量(B)和66菌型发酵剂添加量(C)为自变量，以综合评价(Y)为响应值，进行3因素3水平响应面试验，Box-Behnken试验设计及结果见表4，方差分析见表5。

使用Design Expert 13.0软件对表4数据进行多元回归拟合，得到藤茶解酒功能发酵乳综合评价(Y)对藤茶提取液添加量(A)、牛奶添加量(B)和发酵剂添加量(C)3个自变量之间的二次多元回归方程为：

$$Y=68.45+1.95A-0.9825B+0.4263C-2.06AB-1.41AC+0.1675BC-16.08A^2-12.22B^2-12.22C^2。$$

由表5可知，模型P值<0.001，说明该模型高度显著，失拟项P值=0.1089>0.05，即模型失拟项不显著，说明该模型可用，与实际情况较吻合。同时，模型的决定系数R²=0.9759，校正决定系数R²_{adj}=0.9448，说明该模型能解释97.59%的响应值变化，模型拟合度好，可用该模型对藤茶解酒功能发酵乳配方进行优化。由F值可以看出，影响藤茶解酒功能发酵乳配方优化的主次关系为藤茶提取液添加量(A)>牛奶添加量(B)>发酵剂添加量(C)。由P值可知，因素的

一次项(A、B、C),交互项(AB、AC、BC)对结果的影响不显著($P>0.05$),二次项($A^2、B^2、C^2$)对结果影响高度显著($P<0.001$)。

表4 藤茶解酒功能发酵乳配方优化Box-Behnken试验设计及结果
Table 4 Design and results of Box-Behnken experiments for formula optimization of *Ampelopsis grossedentata* fermented milk with sobering function

试验号	A	B	C	二氢杨梅素含量/(mg·mL ⁻¹)	ADH 激活率/%	SOD活力/(U·g ⁻¹)	Y 综合评价
1	-1	-1	0	0.508 6	30.66	30.60	36.70
2	1	-1	0	0.510 2	31.24	28.08	48.02
3	-1	1	0	0.506 2	29.25	31.67	36.39
4	1	1	0	0.510 4	32.00	37.88	39.48
5	-1	0	-1	0.501 2	29.56	32.46	36.60
6	1	0	-1	0.511 6	33.18	38.02	40.03
7	-1	0	1	0.537 1	35.46	42.62	43.08
8	1	0	1	0.524 2	33.48	39.12	40.85
9	0	-1	-1	0.575 2	25.29	58.43	44.90
10	0	1	-1	0.531 6	37.11	47.57	45.06
11	0	-1	1	0.548 0	35.23	40.28	42.62
12	0	1	1	0.575 2	40.64	33.12	43.45
13	0	0	0	0.618 7	69.25	70.55	67.43
14	0	0	0	0.624 1	72.36	74.68	70.07
15	0	0	0	0.613 3	69.34	65.78	65.87
16	0	0	0	0.617 6	65.29	77.61	67.93
17	0	0	0	0.597 8	72.14	80.45	70.93

表5 回归模型方差分析

Table 5 Variance analysis of regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
模型	2 680.17	9	297.80	31.44	<0.000 1	***
A	30.46	1	30.46	3.22	0.116 0	
B	7.72	1	7.72	0.815 2	0.396 6	
C	1.45	1	1.45	0.153 4	0.706 9	
AB	16.93	1	16.93	1.79	0.223 0	
AC	8.01	1	8.01	0.845 5	0.388 4	
BC	0.112 2	1	0.112 2	0.011 8	0.916 4	
A ²	1 089.11	1	1 089.11	114.97	<0.000 1	***
B ²	628.29	1	628.29	66.32	<0.000 1	***
C ²	629.06	1	629.06	66.41	<0.000 1	***
残差	66.31	7	9.47			
失拟项	49.57	3	16.52	3.95	0.108 9	
纯误差	16.74	4	4.19			
总离差	2 746.48	16				

注：“*”表示对结果影响显著(0.01<P<0.05),“**”表示对结果影响极显著(0.001<P<0.01),“***”表示对结果影响高度显著(P<0.001)。

2.3.2 响应面交互作用分析

根据响应面的陡峭程度、等高线的形状及稀疏程度,

可以推测各因素之间的交互作用。藤茶解酒功能发酵乳综合评价影响的响应面及等高线结果见图5。由图5可知,响应面等高线图呈圆形,3D图中曲面的倾斜度较为平坦,表示藤茶提取液添加量与牛奶添加量的交互项(AB)、藤茶提取液与发酵剂添加量的交互项(AC)、牛奶添加量与发酵剂添加量(BC)对结果影响较小。与表5的方差分析结果吻合。

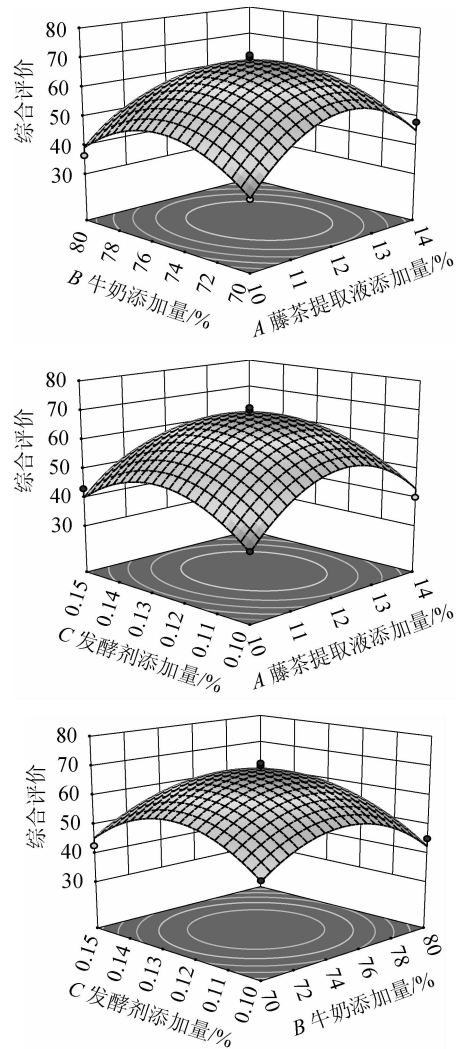


图5 各因素间交互作用对藤茶解酒功能发酵乳综合评价影响的响应面及等高线

Fig. 5 Response surface plots and contour lines of effect of interaction between various factors on the comprehensive evaluation of *Ampelopsis grossedentata* fermented milk with sobering function

2.3.3 验证试验

使用Design Expert 13.0软件分析得到藤茶解酒功能发酵乳的最优配方为:藤茶提取液添加量12.125%、牛奶添加量74.772%、乳酸菌发酵剂添加量0.125%。在此条件下模型预测藤茶功能发酵乳的综合评价为68.53。考虑到实际操作的可行性,将以上配方调整为:藤茶提取液添加量12%、牛奶添加量75%、发酵剂添加量0.125%。在此最佳配

方条件下进行3次平行验证试验,藤茶解酒功能发酵乳综合评价实际值为68.33,与预测值接近,说明该模型参数准确可靠。

2.4 藤茶解酒功能发酵乳体外解酒活性测定结果分析

采取未添加藤茶提取液(12%藤茶提取液以纯牛奶代替),其他配方与藤茶发酵乳配方一致为空白对照发酵乳,探究藤茶解酒功能发酵乳的体外解酒效果,同时与相同浓度的12%藤茶提取液、市售普通酸奶(5菌)和美国解酒药RU21作对比,测定结果见表6。由表6可知,相较于单纯的藤茶提取液、未添加藤茶提取液发酵的空白发酵乳和普通酸奶而言,藤茶解酒功能发酵乳对解酒关键酶ADH、ALDH激活率和抗氧化能力SOD酶活力及DMY含量均有大大的提高,分别为70.05%、82.38%、72.66 U/g、0.617 0 mg/mL,与RU21解酒药相当。藤茶解酒功能发酵乳具有较好的解酒作用,其解酒的作用机制是提高了ADH和ALDH酶的活性,加速乙醇和乙醛的分解;同时提高了抗氧化能力,通过改善氧化应激状态从而达到解酒作用,因为乙醇在体内分解为乙醛的过程中会产生大量自由基,超氧化物歧化酶(SOD)等抗氧化酶可有效清除体内具有毒性的自由基^[24]。现有研究表明,药食两用资源添加到乳酸菌中发酵的葛根酸奶^[25]、胡柚葛根乳酸菌发酵饮料^[26]、枸杞酸奶^[27]和乳杆菌发酵葛根水提液^[28]等,其解酒功能均有较大提高。本研究与这些研究结果类似。

表6 藤茶解酒功能发酵乳体外解酒活性测定结果

Table 6 Determination results of *in vitro* detoxification activity of *Ampelopsis grossedentata* fermented milk with sobering function

测定指标	藤茶发酵乳	对照发酵乳	藤茶提取液	市售普通酸奶	RU21
DMY含量/(mg·mL ⁻¹)	0.617 0	0.000 0	0.310 3	0.000 0	0.000 0
ADH激活率/%	70.05	28.64	15.33	3.13	24.34
ALDH激活率/%	82.38	18.68	8.76	0.68	80.09
SOD活力/(U·g ⁻¹)	72.66	33.18	3.00	11.06	69.88

2.5 藤茶解酒功能发酵乳解酒防醉测定结果分析

藤茶解酒功能发酵乳对醉酒小鼠行为学指标的影响见表7。由表7可知,与酒精模型组相比,阳性对照组、藤茶解酒功能发酵乳组小鼠的酒精耐受时间均能延长,睡眠时间、醒酒时间均能缩短,差异均极显著($P<0.01$),藤茶发酵乳组与阳性对照组效果相当,说明藤茶发酵乳组可改善醉酒小鼠的行为学指标,有较好的解酒防醉效果。藤茶发酵乳中含有包括鼠李糖乳杆菌、53种复合乳酸菌等66种乳酸菌组成,对人体胃肠道、免疫健康和代谢健康起着重要的作用;且富含活性成分DMY和高含量的SOD。已有研究表明,鼠李糖乳杆菌联合二氢杨梅素(DMY)对急性酒精暴露所致肝损伤的有缓解作用^[29],本研究也证实了乳酸菌与

二氢杨梅素结合,对醉酒小鼠行为学指标有较好的效果,说明其解酒作用优良。

表7 藤茶解酒功能发酵乳对醉酒小鼠行为学指标的影响

Table 7 Effects of *Ampelopsis grossedentata* fermented milk with sobering function on behavioral indicators of drunk mice

组别	酒精耐受时间/min	睡眠时间/min	醒酒时间/min
酒精模型组	13.68±3.88	186.93±7.26	204.12±10.08
阳性对照组	34.22±3.68 ^{###}	150.08±6.88 ^{###}	176.24±9.33 ^{###}
藤茶发酵乳组	33.06±4.36 ^{###}	152.36±8.22 ^{###}	177.22±8.48 ^{###}

注:“##”表示与模型组比较,差异极显著($P<0.01$)。

3 结论

本研究以藤茶为原料,通过复合酶酶解得藤茶提取液,添加木糖醇为甜味料,经乳酸菌发酵,研制藤茶解酒功能发酵乳。在感官评价的基础上,以酸奶中功效成分DMY含量、对酒精代谢关键酶ADH激活率和抗氧化功能指标SOD酶活力为综合评价指标,筛选出最佳的乳酸菌发酵剂66菌型。通过单因素试验及响应面试验对配方进行优化,得到藤茶解酒功能发酵乳的最佳配方为:藤茶提取液添加量12%、纯牛奶添加量75%、木糖醇添加量6%、菌种添加量0.125%。在此优化条件下,藤茶解酒功能发酵乳色泽浅黄、风味独特、口感爽滑、酸甜适口、组织细腻;其DMY含量高达0.617 0 mg/mL、ADH激活率70.05%、SOD酶活力72.66 U/g,综合评价为68.33。藤茶解酒功能发酵乳能显著延长醉酒小鼠酒精耐受时间,缩短睡眠时间和醒酒时间。藤茶解酒功能发酵乳不仅富含标志性功效成分DMY,且含有种类丰富的乳酸菌活菌,配方科学合理、口感佳、制备工艺简单,易规模化生产、解酒功能优良,是一款新型功能型发酵乳,市场前景广阔,值得开发。

参考文献:

- [1] World Health Organization. Global status report on alcohol and health and treatment of substance use disorders[R]. Geneva: WHO, 2024.
- [2] 谢子军. 乳酸菌发酵夏茶解酒保肝功能研究及产品研发[D]. 南昌: 南昌大学, 2023.
- [3] 张亚娟. 中药材果蔬混合发酵解酒保肝饮品的研究[D]. 洛阳: 河南科技大学, 2022.
- [4] 中华人民共和国卫生部. GB 19302—2010发酵乳[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [5] 赵慧芳, 张旭, 邢叶妮, 等. 柚子-魔芋解酒型功能酸奶的研制[J]. 农产品加工, 2022(9): 20-23.
- [6] 吴博. 益生菌发酵乳解酒护肝功效评价[D]. 哈尔滨: 黑龙江大学, 2022.
- [7] 商学凯, 冯昊天, 李亚兰, 等. 3种发酵乳制品对斑马鱼解酒保肝作用研究[J]. 中国乳品工业, 2023, 51(3): 23-26.
- [8] 李慧臻, 史佳鹭, 占萌, 等. 乳酸菌缓解酒精性肝病的研究进展[J]. 食品科学, 2020, 41(7): 306-314.
- [9] LI F Y, DUAN K M, WANG C L, et al. Probiotics and alcoholic liver dis-

- ease: treatment and potential mechanisms[J]. *Gastroent Res and Pract*, 2016, 2016(1): 5491465.
- [10] WANG Z J, JIANG Q, LI P P, et al. The water extract of *Ampelopsis grossedentata* alleviates oxidative stress and intestinal inflammation[J]. *Antioxidants*, 2023, 12(3): 547.
- [11] JANILKARN-URENA I, IDRISOVA A, ZHANG M, et al. Dihydromyricetin supplementation improves ethanol-induced lipid accumulation and inflammation[J]. *Front Nutr*, 2023, 10: 1201007.
- [12] QIU P, DONG Y, LI B, et al. Dihydromyricetin modulates p62 and autophagy crosstalk with the Keap-1/Nrf2 pathway to alleviate ethanol-induced hepatic injury[J]. *Toxicol Lett*, 2017, 274: 31-41.
- [13] CARRY E, KSHATRIYA D, SILVA J, et al. Identification of dihydromyricetin and metabolites in serum and brain associated with acute anti-ethanol intoxicating effects in mice[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(14): 7460.
- [14] 李冬梅, 李宝玉, 郝志明, 等. 藤葛复合固体饮料对急性酒精中毒小鼠的解酒护肝作用[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(24): 7919-7926.
- [15] LIU L, SUN S, RUI H B, et al. *In vitro* inhibitory effects of dihydromyricetin on human liver cytochrome P450 enzymes[J]. *Pharm Biol*, 2017, 55(1): 1868-1874.
- [16] 李冬梅, 杨洁, 李宝玉, 等. 藤葛复合解酒固体饮料的制备及体外解酒作用[J]. *食品工业*, 2022, 43(4): 47-53.
- [17] 李冬梅, 郑培煜, 黄子豪, 等. 木糖醇藤茶酸奶加工工艺及其抗氧化性[J]. *食品工业*, 2020, 41(12): 113-117.
- [18] 秦亚茹, 张友胜, 张凯, 等. 藤茶总黄酮检测方法的对比研究[J]. *现代食品科技*, 2019, 35(12): 302-309, 188.
- [19] 徐伟, 马智宇, 李佳美, 等. 响应面法优化微波提取枇杷花槲皮素工艺及其对酒精分解关键酶活性的影响[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(3): 127-132, 139.
- [20] 陈善敏, 王奕, 常睿, 等. 乳酸菌的健康功效及其在发酵茶叶中的应用进展[J]. *食品科学*, 2024, 45(13): 365-372.
- [21] ZHAO D Y, SHAH N P. Lactic acid bacterial fermentation modified phenolic composition in tea extracts and enhanced their antioxidant activity and cellular uptake of phenolic compounds following *in vitro* digestion[J]. *J Funct Foods*, 2016, 20: 182-194.
- [22] 张春枝, 李翠朵, 陈莉. 一种发酵藤茶、藤茶提取物及藤茶饮料的生产方法: CN 102018083B[P]. 2013-06-05.
- [23] 邓艳萍, 樊庆涛, 陈新. 藤茶提取物二氢杨梅素酸奶的研制[J]. *武汉轻工大学学报*, 2022, 41(6): 87-92.
- [24] 薛亦倩, 李岩琪, 戴永娜. 常用解酒中药的机制研究述评[J]. *中国中医药现代远程教育*, 2024, 22(3): 138-141.
- [25] 李银花, 宋卉. 葛根酸奶解酒性能研究[J]. *食品工业科技*, 2011, 32(4): 368-369.
- [26] 居金明. 胡柚葛根发酵饮料加工工艺及其解酒功效研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2020.
- [27] 范亦菲, 郭琳, 靳文会, 等. 枸杞酸奶体外抗氧化活性和保肝功能研究[J]. *食品与生物技术学报*, 2022, 41(4): 25-30.
- [28] 陈艳艳, 于波, 潘黛安, 等. 乳杆菌发酵葛根水提液工艺研究及其解酒功效探讨[J]. *中国酿造*, 2020, 39(8): 182-186.
- [29] WANG W, ZHAO X, MA Y, et al. Alleviating effect of *Lactocaseibacillus rhamnosus* 1.0320 combined with dihydromyricetin on acute alcohol exposure-induced hepatic impairment: Based on short-chain fatty acids and adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase-mediated lipid metabolism signaling pathway[J]. *J Agr Food Chem*, 2023, 71(12): 4837-4850.