

# 不同加工方式下胡萝卜对小鼠溃疡性结肠炎的影响

赵明姣, 钟亚东, 张 豪, 胡婕伦, 熊 涛, 聂少平, 谢明勇\*

(南昌大学 食品科学与技术国家重点实验室, 中加食品科学与技术联合实验室(南昌), 江西 南昌 330047)

**摘 要:** 溃疡性结肠炎近年来发病率不断上升, 传统药物治疗存在一定的局限性, 通过天然食物来预防和缓解结肠炎正成为一个研究热点, 而加工方式对天然食物活性的影响仍未知。因此, 本实验探究3种加工方式(打浆、高温蒸煮和发酵)对胡萝卜类胡萝卜素、膳食纤维含量和类胡萝卜素生物可及性的影响, 并采用葡聚糖硫酸钠建立C57BL/6J小鼠溃疡性结肠炎模型, 连续14 d对小鼠进行胡萝卜(胡萝卜冻干粉添加量为5.05%, 以干质量计)饮食干预, 通过检测体质量变化、疾病活动指数(disease activity index, DAI)、结肠相关指标(长度及病理情况、炎症因子含量、氧化应激水平、杯状细胞数量、紧密连接蛋白表达量和短链脂肪酸含量), 综合评价不同加工方式下胡萝卜对结肠炎的影响。结果显示, 与打浆胡萝卜相比, 高温蒸煮和发酵处理总体显著降低了胡萝卜可溶性、不溶性和总膳食纤维含量( $P<0.05$ ), 显著增加了类胡萝卜素生物可及性( $P<0.05$ ), 发酵处理显著提高了可溶性膳食纤维在总膳食纤维中的比例( $P<0.05$ )。与模型组相比, 3种加工方式下的胡萝卜均能显著抑制结肠炎小鼠体质量的下降和DAI的增加( $P<0.05$ ), 降低肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素(interleukin, IL)-1 $\beta$ 、IL-6水平( $P<0.05$ ), 提升IL-10水平( $P<0.05$ ), 上调紧密连接蛋白(ZO-1、Claudin-1和Occludin)的表达( $P<0.05$ ); 其中高温蒸煮和发酵胡萝卜可以显著缓解小鼠结肠缩短( $P<0.05$ ), 减轻结肠组织病理损伤( $P<0.05$ ); 此外, 发酵胡萝卜还可以显著抑制丙二醛的生成( $P<0.05$ ), 改善结肠杯状细胞减少( $P<0.05$ ), 提高丁酸水平( $P<0.05$ ), 且抑制IL-6生成的作用最强。综上, 不同加工方式下胡萝卜对溃疡性结肠炎均有不同程度的缓解作用, 其中发酵胡萝卜效果最佳。

**关键词:** 胡萝卜; 加工方式; 结肠炎; 肠道屏障

## Effects of Differently Processed Carrots on Ulcerative Colitis in Mice

ZHAO Mingjiao, ZHONG Yadong, ZHANG Hao, HU Jielun, XIONG Tao, NIE Shaoping, XIE Mingyong\*

(State Key Laboratory of Food Science and Technology, China-Canada Joint Laboratory of Food Science and Technology (Nanchang), Nanchang University, Nanchang 330047, China)

**Abstract:** The incidence of ulcerative colitis (UC) has been increasing in recent years. Due to the limitations of traditional drug therapies for UC, natural foods that can prevent this disease and alleviate its symptoms are becoming a research hot topic, but the effects of processing methods on their activity remain unknown. Therefore, the effects of three different processing methods (pulping, high-temperature cooking, and fermentation) on carotenoid and dietary fiber contents as well as carotenoid bioaccessibility in carrots were explored in this study. C57BL/6J mice were used to create a mouse model of UC induced by dextran sulfate sodium (DSS) and the mice received dietary intervention with freeze dried powder of carrots (5.05%, on a dry mass basis) for 14 days. Body mass change, disease activity index (DAI) and colon parameters (length, pathology, inflammatory factors, oxidative stress level, goblet cell number, tight junction protein expression, and short-chain fatty acid content) were analyzed to evaluate the effects of three differently processed carrots on UC. The results showed compared with pulping, high-temperature cooking and fermentation significantly decreased the soluble, insoluble and total dietary fiber contents of carrots ( $P < 0.05$ ), increased the bioaccessibility of carotenoids ( $P < 0.05$ ), while fermentation

收稿日期: 2022-12-03

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(32130082)

第一作者简介: 赵明姣(1998—)(ORCID: 0000-0002-2054-9338), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品化学与营养学。

E-mail: mingjiaozmj@163.com

\*通信作者简介: 谢明勇(1957—)(ORCID: 0000-0001-9532-9340), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品化学、食品营养与安全。E-mail: myxie@ncu.edu.cn

significantly increased the proportion of soluble dietary fiber in total dietary fiber ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, all processed carrots could significantly inhibit the change of body mass loss and DAI ( $P < 0.05$ ), decrease the levels of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin (IL)-1 $\beta$  and IL-6 ( $P < 0.05$ ), increase the level of IL-10 ( $P < 0.05$ ), and up-regulate the expression of tight junction proteins (ZO-1, claudin-1, and occludin) ( $P < 0.05$ ). High-temperature cooked or fermented carrots could significantly alleviate colon shortening ( $P < 0.05$ ), and relieve the pathological damage of colon tissue ( $P < 0.05$ ). Meanwhile, fermented carrots could significantly inhibit the production of malondialdehyde (MDA) ( $P < 0.05$ ), improve the decrease in the number of goblet cells ( $P < 0.05$ ), increase the level of butyric acid ( $P < 0.05$ ) and possess the best inhibitory effect on IL-6 production. In summary, differently processed carrots could ameliorate ulcerative colitis to different extends, the most pronounced effect being observed with fermented carrots.

**Keywords:** carrots; processing methods; colitis; intestinal barrier

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20221203-029

中图分类号: TS201.4

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2023)23-0104-10

引文格式:

赵明姣, 钟亚东, 张豪, 等. 不同加工方式下胡萝卜对小鼠溃疡性结肠炎的影响[J]. 食品科学, 2023, 44(23): 104-113.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20221203-029. <http://www.spkx.net.cn>

ZHAO Mingjiao, ZHONG Yadong, ZHANG Hao, et al. Effects of differently processed carrots on ulcerative colitis in mice[J].

Food Science, 2023, 44(23): 104-113. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20221203-029.

<http://www.spkx.net.cn>

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种病因尚不明确、易反复发作的慢性肠道炎症疾病, 其主要临床表现为体质量减轻、腹泻、腹痛、便血、肠上皮屏障缺损等<sup>[1]</sup>, UC发病机制较复杂, 主要与环境、免疫、遗传和肠道微生物等因素有关<sup>[2]</sup>。近年来结肠炎发病率在世界各地范围内呈上升趋势, 严重地影响了患者的身心健康, 成为一个全球性公共卫生问题<sup>[3]</sup>。目前治疗结肠炎的药物主要为糖皮质激素、氨基水杨酸、免疫抑制剂和生物抑制剂等, 但是这些药物存在副作用大、复发率高、疗效单一和价格昂贵等诸多问题<sup>[4-5]</sup>。研究证实中药和一些常见的食用菌、蔬菜、水果及其提取物对结肠炎的防治具有较好的效果, 并且副作用轻微, 受到人们广泛的关注<sup>[6-8]</sup>。

胡萝卜 (*Daucus carota* L.) 营养成分丰富, 含有多种与抗炎、抗氧化、免疫调节、抗肿瘤、调节血脂、预防心血管疾病等有关的生物活性成分, 如多糖、类胡萝卜素、多酚、VC和叶酸等<sup>[9]</sup>, 对人体具有良好的保健功效<sup>[10-11]</sup>。人群随访研究发现, 每周摄入2~4个或更多的生胡萝卜 (>32 g/d) 能够使结直肠癌罹患风险降低17%<sup>[12]</sup>。本课题组前期的研究发现, 10 mL/kg  $m_b$ 的胡萝卜汁灌胃处理能缓解三硝基苯磺酸诱导的小鼠结肠炎的炎症反应, 抑制氧化损伤, 明显缓解结肠炎症状<sup>[13]</sup>, 这些研究结果表明胡萝卜在预防和缓解UC方面潜力巨大。研究证实, 加工方法对食品结构上的修饰能够显著影响植物化学物质的释放、吸收和转化等, 进而改变其生物利用度和生物活性<sup>[14]</sup>。Zaccari等<sup>[15]</sup>研究发现蒸煮可将生胡萝卜中 $\beta$ -胡萝卜素的生物利用度提高3~16倍。人群实

验研究表明橙汁经乙醇发酵后类胡萝卜素的生物利用度显著提高, 可使人血浆中 $\beta$ -隐黄质浓度提高23.6倍<sup>[16]</sup>。乳酸菌发酵可有效提高坛紫菜上清液中总酚和总黄酮含量, 促进乳酸、精氨酸、脯氨酸等代谢物的释放, 提高抗氧化活性和 $\alpha$ -葡萄糖苷酶及胰脂肪酶抑制活性, 具有减缓和辅助治疗糖尿病、肥胖等慢性疾病的潜在功效<sup>[17]</sup>。然而胡萝卜经不同加工方式处理后, 其在缓解结肠炎方面的效果如何尚不清楚。

因此, 本研究通过葡聚糖硫酸钠 (dextran sulfate sodium, DSS) 诱导建立小鼠UC模型, 评价不同加工方式下 (打浆、高温蒸煮、发酵) 胡萝卜对小鼠UC的影响, 以为胡萝卜产品的进一步开发提供科学依据, 为膳食预防和缓解UC提供参考。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 动物、材料与试剂

SPF级5周龄C57BL/6J雄性小鼠购自湖南斯莱克景达实验动物技术有限公司, 动物生产许可证号: SCXK(湘)2019-0004。

AIN93G饲料定制自江苏帆泊生物技术有限公司。

新鲜黄胡萝卜购自天虹商场 (产地安徽); 乳酸菌混合发酵剂 (植物乳杆菌、副干酪乳杆菌、嗜酸乳杆菌) 由南昌大学食品科学与技术国家重点实验室熊涛老师课题组提供。

膳食纤维检测试剂盒 爱尔兰Megazyme公司;  $\alpha$ -淀粉酶 (10080)、胃蛋白酶 (P6887)、胰酶 (P7545)

美国Sigma-Aldrich公司；猪胆粉(LA1090)、4%组织固定液 北京索莱宝科技有限公司；葡聚糖硫酸钠美国MP Biomedical公司；苏木精、伊红染料和阿利新蓝-过碘酸席夫(Alcian blue-periodic acid Schiff, AB-PAS)染液 武汉赛维尔生物有限公司；肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素(interleukin, IL)-6、IL-10和IL-1 $\beta$ 酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒 江苏酶免生物科技有限公司；总超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性检测试剂盒(WST-8法)和脂质氧化(丙二醛(malondialdehyde, MDA))检测试剂盒 上海碧云天科技有限公司；其他试剂都为国产分析纯。

## 1.2 仪器与设备

破壁机 九阳股份有限公司；T6紫外-可见分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司；立式压力蒸汽灭菌锅 上海博迅实业有限公司医疗设备厂；恒温培养箱 上海森信实验仪器公司；FreeZone<sup>®</sup>冷冻干燥机 美国Labconco公司；iMark多功能酶标仪 美国Bio-Rad公司；KZ-II组织破碎机 武汉赛维尔生物科技股份有限公司；冷冻离心机 德国Eppendorf公司；Aperio LV1型病理切片扫描仪 德国Leica仪器有限公司。

## 1.3 方法

### 1.3.1 不同加工方式胡萝卜的制备

挑选新鲜的胡萝卜，自来水清洗干净，切成厚度约0.5 cm的片状，加水( $m$ (胡萝卜): $m$ (水)=1:1)打浆2 min，得到打浆胡萝卜(RCP)。将打浆胡萝卜105 °C蒸煮20 min，得到高温蒸煮胡萝卜(SCP)。高温蒸煮胡萝卜快速冷却至室温，在无菌条件下接种0.02% (终质量分数)乳酸菌混合发酵剂，混匀，于37 °C静置发酵42 h，灭菌后(105 °C, 20 min)即得发酵胡萝卜(FCP)，3种加工方式胡萝卜于-20 °C避光保存。

### 1.3.2 胡萝卜类胡萝卜素、膳食纤维含量测定

类胡萝卜素的提取与测定参照文献[18]的方法稍作调整。胡萝卜与混合提取液( $V$ (乙醇): $V$ (正己烷): $V$ (丙酮)=1:2:1)以1:3( $m/V$ )比例混匀，45 °C超声30 min，多次重复提取至接近无色，离心(8 000 r/min, 10 min)，收集上层溶液，旋转蒸发，正己烷定容。用紫外分光光度计于450 nm波长处测定吸光度，以正己烷作对照。

膳食纤维含量测定参照GB 5009.88—2014《食品安全国家标准 食品中膳食纤维的测定》。

### 1.3.3 类胡萝卜素生物可及性的测定

本研究通过静态体外消化模型测定类胡萝卜素的生物可及性，体外模拟消化过程参考文献[19]的方法。消化完成后离心(12 000 r/min, 20 min)，参考文献[20]的方法从消化液中分离出含有混合胶束的上清液，加入混合提取液萃取、旋蒸、定容，用紫外分光光度计测定消化

液中类胡萝卜素含量，按照Wellala等<sup>[21]</sup>的方法计算类胡萝卜素生物可及性。

### 1.3.4 小鼠饲料配方的确定

以《中国居民膳食指南》成年人(60 kg)每日新鲜蔬菜摄入推荐量(500 g)为参照，预设小鼠饮食摄入量3 g/d，按照成年人与小鼠的体质量-剂量折算关系进行换算<sup>[22]</sup>，最终得出AIN93G饲料中胡萝卜冻干粉添加量为5.05% (以干质量计)。根据胡萝卜的添加量及膳食纤维含量，调整干预组饲料中的淀粉与纤维素比例，饲料成分如表1所示。

表1 饲料成分表  
Table 1 Composition of experimental diets

指标	AIN93G 纯化饲料	打浆 胡萝卜饲料	高温蒸煮 胡萝卜饲料	发酵 胡萝卜饲料
酪蛋白30 Mesh质量分数/%	20.00	20.00	20.00	20.00
L-半胱氨酸质量分数/%	0.30	0.30	0.30	0.30
玉米淀粉质量分数/%	39.70	36.50	35.91	35.90
麦芽糊精质量分数/%	13.20	13.20	13.20	13.20
蔗糖质量分数/%	10.00	10.00	10.00	10.00
纤维素质量分数/%	5.00	3.17	3.74	3.75
大豆油质量分数/%	7.00	7.00	7.00	7.00
矿物混合物(S10022G)质量分数/%	3.50	3.50	3.50	3.50
维生素混合物(V10037)质量分数/%	1.00	1.00	1.00	1.00
酒石酸胆碱质量分数/%	0.25	0.25	0.25	0.25
胡萝卜质量分数/%	0	5.05	5.05	5.05

### 1.3.5 动物实验设计及分组

小鼠在室温(25±0.5) °C和相对湿度(50±5)%环境下饲养，光/暗循环为12 h/12 h，所有小鼠适应性静养一周后，按体质量随机分成5组( $n=10$ ): 正常组(Normal组)、模型组(Model组)、打浆胡萝卜组(RCP组)、高温蒸煮胡萝卜组(SCP组)和发酵胡萝卜组(FCP组)。Normal和Model组全程给予AIN93G纯化饲料，RCP、SCP和FCP组分别给予添加了打浆胡萝卜、高温蒸煮胡萝卜和发酵胡萝卜的定制饲料。实验期间每天观察并记录小鼠的进食量、饮水量及体质量变化。饲喂7 d后，除Normal组外，其他组饮水更换为3% DSS进行造模；造模7 d后，停止给予DSS，24 h后，小鼠脱颈处死，量取结肠长度并记录，收集小鼠各器官部分保存于-80 °C冰箱或多聚甲醛溶液中。动物实验设计如图1所示。本研究中涉及动物的所有程序均按照国家卫生研究院实验动物护理和使用指南进行，并经南昌大学实验动物科学中心伦理委员会批准。

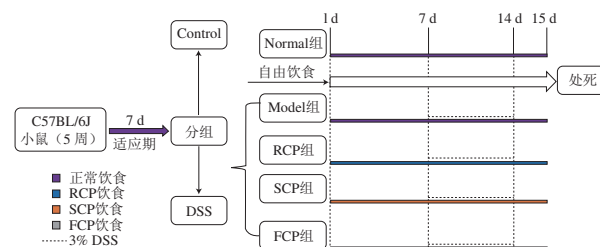


图1 动物实验设计

Fig. 1 Animal experimental design



1.3.6 疾病活动指数测定

造模期间,按照Wirtz等<sup>[23]</sup>的评分标准对小鼠的粪便性状、便血情况和体质量下降情况进行评分,疾病活动指数(disease activity index, DAI)为3个指标得分总分的平均值。

1.3.7 组织病理学观察

结肠组织用4%多聚甲醛溶液固定24 h,经石蜡包埋、切片、脱蜡后用苏木精-伊红(hematoxylin-eosin staining, HE)染色,中性树胶封片后于病理扫描切片仪下观察结肠组织形态,根据Kang Yifei等<sup>[24]</sup>所描述的标准进行组织学损伤评分,得分为3个指标评分之和。

1.3.8 小鼠结肠炎症因子测定

根据ELISA试剂盒说明书测定小鼠结肠组织中炎症因子TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6和IL-10的含量。

1.3.9 结肠组织氧化应激指标的测定

精确称取结肠组织,加入适量匀浆液匀浆混匀,按照相应试剂盒的说明,分别测定SOD活力和MDA含量。

1.3.10 AB-PAS染色

结肠组织用4%多聚甲醛溶液固定24 h,经石蜡包埋、切片、脱蜡后用AB-PAS染液进行浸染,经无水乙醇脱水,中性树胶封片后在病理切片扫描仪下采集切片图像信息,采用Image pro plus 6.0软件对切片中杯状细胞数量进行计算。

1.3.11 免疫组化检测紧密连接蛋白的表达测定

将结肠切片进行脱蜡水化,再进行高压抗原修复,使用体积分数3%的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>去离子水37℃孵育,磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)(0.01 mol/L pH 7.4)洗涤3次;采用山羊血清孵育30 min,然后滴加一抗4℃过夜, PBS洗涤3次,滴加二抗37℃孵育30 min, PBS洗涤3次。使用3,3'-二氨基联苯胺显色,并用苏木素进行复染,中性树胶封片。用病理切片扫描仪观察并拍照。细胞核为蓝色,蛋白阳性表达为棕黄色。采用Image pro plus软件按下式计算图像中的蛋白表达面积百分比。

$$\text{阳性表达面积百分比}/\% = \frac{\text{阳性区域面积}}{\text{组织总面积}} \times 100$$

1.3.12 短链脂肪酸含量测定

称取适量小鼠结肠内容物并记录质量,加入0.6 mL生理盐水和研磨珠,匀浆(70 Hz, 1 min),涡旋1 min, 13 000 r/min离心5 min,吸取0.5 mL上清液,加入0.2 mL体积分数10%硫酸溶液涡旋1 min混匀,加入0.4 mL无水乙醚,涡旋混匀,静置2 min, 13 000 r/min离心2 min,上清液过0.22  $\mu\text{m}$ 有机滤头后上机,色谱条件参照郑志天等<sup>[25]</sup>的研究条件。

1.4 数据处理与分析

统计结果以平均值 $\pm$ 标准差表示。使用SPSS 26.0软件对实验数据进行统计分析,采用单因素方差分析及Tukey多重比较检验( $P < 0.05$ 被认为差异显著,  $P < 0.1$ 为倾向于显著变化),采用GraphPad Prism 8.3软件绘图。

2 结果与分析

2.1 胡萝卜主要成分及类胡萝卜素生物可及性变化

由表2可知,高温蒸煮处理对类胡萝卜素含量无显著影响,但可显著降低可溶性、不溶性和总膳食纤维含量( $P < 0.05$ ),进一步的发酵处理不仅抑制了可溶性膳食纤维含量的显著降低,且显著提高了其在总膳食纤维中的比例( $P < 0.05$ )。另外,加工方式显著改变了胡萝卜素的生物可及性,由大到小依次为FCP>SCP>RCP( $P < 0.05$ )。

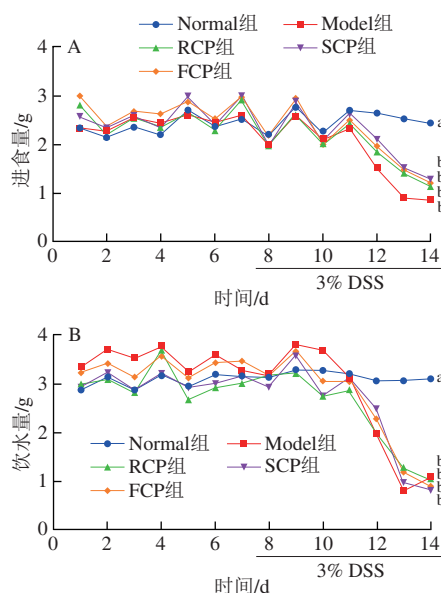
表2 胡萝卜主要成分及类胡萝卜素生物可及性变化

指标	RCP	SCP	FCP
类胡萝卜素含量/( $\mu\text{g/g}$ )	22.98 $\pm$ 1.99 <sup>a</sup>	20.92 $\pm$ 0.76 <sup>a</sup>	20.91 $\pm$ 1.19 <sup>a</sup>
不溶性膳食纤维含量/( $\mu\text{g/g}$ )	0.21 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	0.14 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.12 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>
可溶性膳食纤维含量/( $\mu\text{g/g}$ )	0.15 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.11 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.13 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>
总膳食纤维含量/( $\mu\text{g/g}$ )	0.36 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.25 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.25 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>
可溶性膳食纤维含量占总膳食纤维含量比例/%	44.28 $\pm$ 6.13 <sup>b</sup>	45.68 $\pm$ 3.24 <sup>b</sup>	54.86 $\pm$ 3.66 <sup>a</sup>
类胡萝卜素生物可及性/%	3.11 $\pm$ 0.60 <sup>f</sup>	17.09 $\pm$ 2.37 <sup>b</sup>	30.97 $\pm$ 2.58 <sup>a</sup>

注:同行肩标小写字母不同表示差异显著( $P < 0.05$ )。膳食纤维含量以干质量计。

2.2 小鼠进食量和饮水量变化

实验期间对各组小鼠的进食量和饮水量进行统计分析,计算每只小鼠每日平均进食量和饮水量,结果如图2所示,在第1~10天,各组小鼠平均进食量和饮水量,结果如图2所示,在第1~10天,各组小鼠平均进食量稳定在2~3 g之间,饮水量稳定在2.7~4.0 g之间,各组小鼠之间进食量和饮水量无明显差异。在第14天,与Normal组相比,DSS处理组小鼠的进食量和饮水量均显著减少( $P < 0.05$ ),然而饲喂RCP、SCP和FCP对两者无显著性影响。



相同时间不同组别小写字母不同表示差异显著( $P < 0.05$ )。图3同。

图2 小鼠进食量(A)和饮水量(B)

Fig. 2 Food intake (A) and water consumption (B) of mice



### 2.3 胡萝卜对小鼠体质量及疾病活动指数的影响

体质量变化和DAI能直观地反映小鼠的健康状况,是评价疾病发展的重要指标<sup>[26]</sup>。如图3所示,饮用3% DSS的小鼠在实验的第11天开始体质量下降,粪便稀松,部分出现腹泻、肉眼血便的情况,随着造模时间的延长病情逐渐加重,小鼠出现精神萎靡、体质量急剧下降、肛门肿胀、粪便呈水样状且带血等现象。在第14天,Model组小鼠体质量下降至原体质量的85.6%,DAI增加到3.50,这表明急性UC模型造模成功。在第14天,与Model组相比,各胡萝卜组干预均能显著减缓DSS诱导的小鼠体质量减轻,并降低DAI ( $P < 0.05$ )。

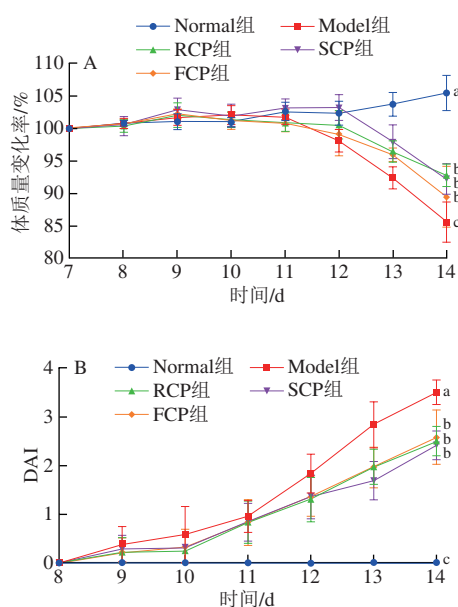
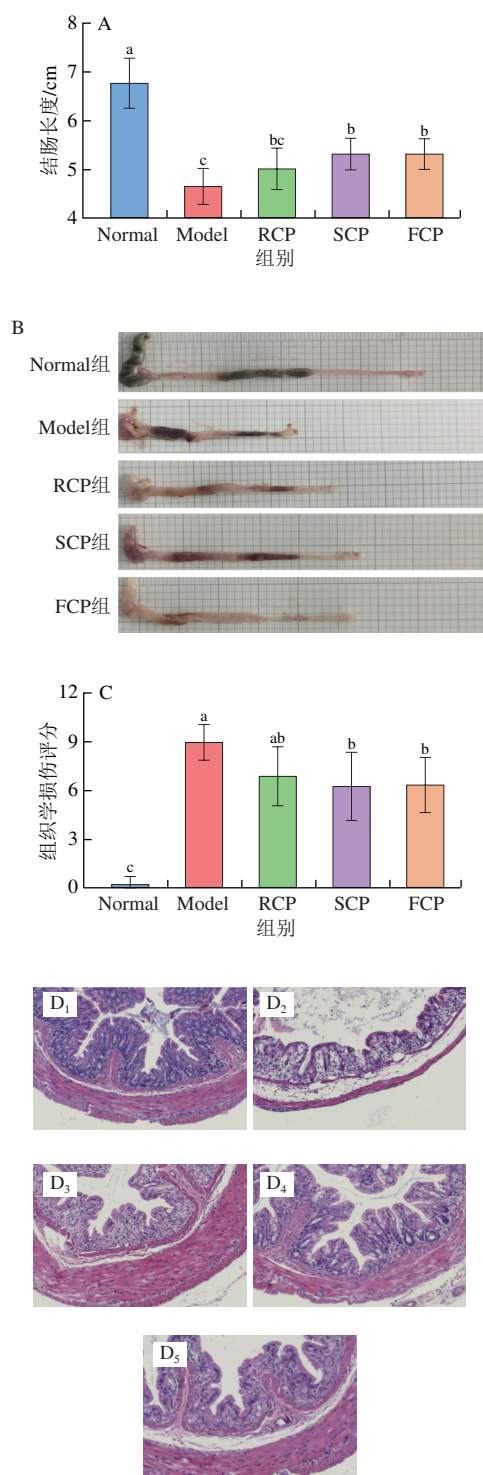


图3 胡萝卜对小鼠体质量变化率(A)和DAI(B)的影响

Fig. 3 Effect of carrot-supplemented diet on the percentage change of body mass (A) and disease activity index (B) in mice

### 2.4 胡萝卜对小鼠结肠长度和结肠组织病理的影响

如图4所示,与Normal组相比,Model组小鼠结肠出现了明显的水肿、充血、黏连等症状,结肠长度显著降低( $6.77 \pm 0.52$ ) cm对比( $4.66 \pm 0.36$ ) cm ( $P < 0.05$ ),HE染色结果显示Model组小鼠结肠上皮细胞损伤严重,隐窝结构变形或大范围消失,出现炎症细胞浸润;而经RCP、SCP和FCP干预后的小鼠结肠长度( $5.03 \pm 0.42$ )、( $5.31 \pm 0.34$ ) cm和( $5.33 \pm 0.31$ ) cm)和外观均有所改善,HE染色结果显示小鼠结肠结构较为完整,组织损伤轻微,黏膜上皮结构较为完整,隐窝结构基本完整与规则,其中SCP和FCP能显著抑制结肠炎小鼠结肠缩短和减轻结肠组织损伤 ( $P < 0.05$ )。



A. 结肠长度; B. 代表性结肠长度图; C. 组织学损伤评分; D. 结肠病理组织代表图 (100×), 下标1~4. 分别表示Normal、Model、RCP、SCP、FCP组, 图7A同。小写字母不同表示差异显著 ( $P < 0.05$ ), 下同。

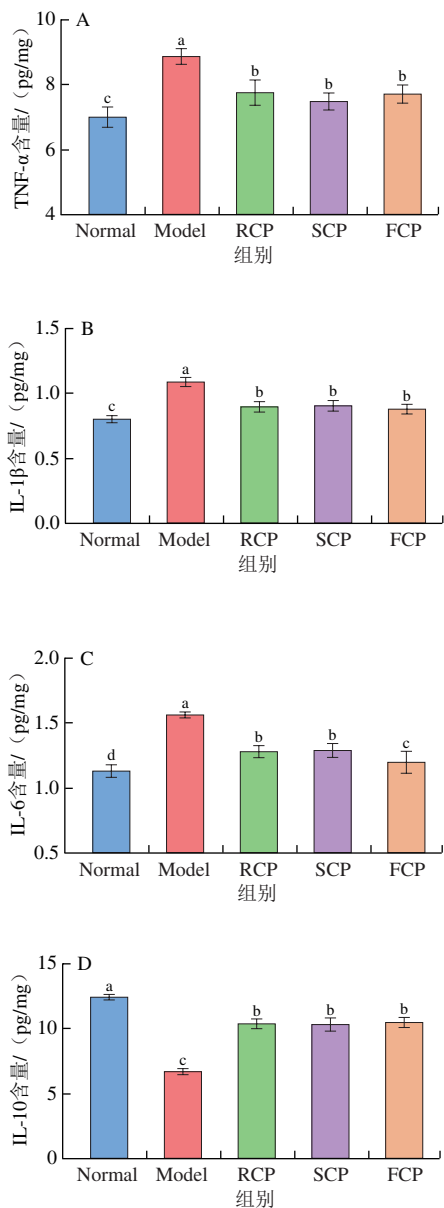
图4 胡萝卜对小鼠结肠长度和病理损伤的影响

Fig. 4 Effect of carrots on colonic length and pathological injury in mice

### 2.5 胡萝卜对小鼠结肠炎症因子的影响

如图5所示,与Normal组相比,Model组小鼠结肠组织中的TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6水平显著升高 ( $P < 0.05$ ),

IL-10水平显著下降 ( $P < 0.05$ ), 表明Model组小鼠发生了炎症反应。与Model组相比, 各胡萝卜组小鼠结肠组织TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6水平均显著降低 ( $P < 0.05$ ), IL-10水平显著升高 ( $P < 0.05$ )。FCP对DSS诱导的结肠组织IL-6含量升高的抑制作用显著优于RCP和SCP ( $P < 0.05$ )。



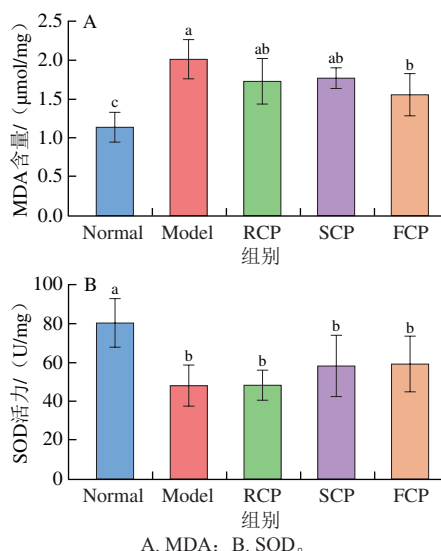
A. TNF- $\alpha$ ; B. IL-1 $\beta$ ; C. IL-6; D. IL-10。

图5 胡萝卜对小鼠结肠炎症因子的影响

Fig. 5 Effect of carrots on colonic inflammatory factors in mice

### 2.6 胡萝卜对结肠氧化应激的影响

如图6所示, 与Normal组相比, Model组结肠组织MDA水平显著升高 ( $P < 0.05$ )、抗氧化酶SOD水平显著降低 ( $P < 0.05$ ), 而FCP干预可显著抑制DSS诱导的结肠组织MDA水平升高 ( $P < 0.05$ )。



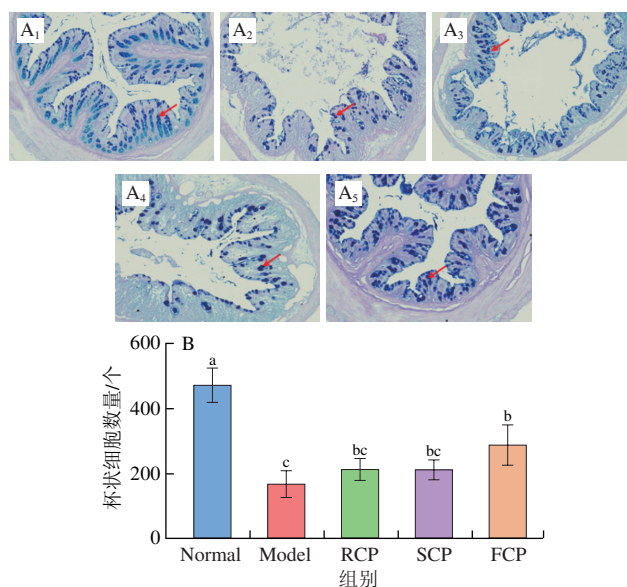
A. MDA; B. SOD。

图6 胡萝卜对小鼠结肠氧化应激的影响

Fig. 6 Effect of carrots on colonic oxidative stress in mice

### 2.7 胡萝卜对杯状细胞的影响

黏液层主要由杯状细胞及其分泌的黏蛋白组成, 结肠组织中过多的炎症细胞因子会引起杯状细胞凋亡, 导致黏膜屏障完整性被破坏<sup>[27]</sup>。如图7所示, Model组与Normal组相比, 结肠杯状细胞数量显著减少 ( $(167 \pm 41)$  个对比  $(473 \pm 53)$  个) ( $P < 0.05$ ), 有些隐窝结构中几乎不含杯状细胞, 表明DSS处理能够诱导结肠组织杯状细胞衰竭。胡萝卜组小鼠结肠组织杯状细胞均匀地分布在隐窝当中, 其中FCP干预显著增加了结肠炎小鼠结肠杯状细胞的数量 ( $P < 0.05$ ), 这说明FCP可以改善结肠炎小鼠杯状细胞减少, 其可能通过刺激杯状细胞增殖并分泌黏液来维持肠道屏障的完整性。



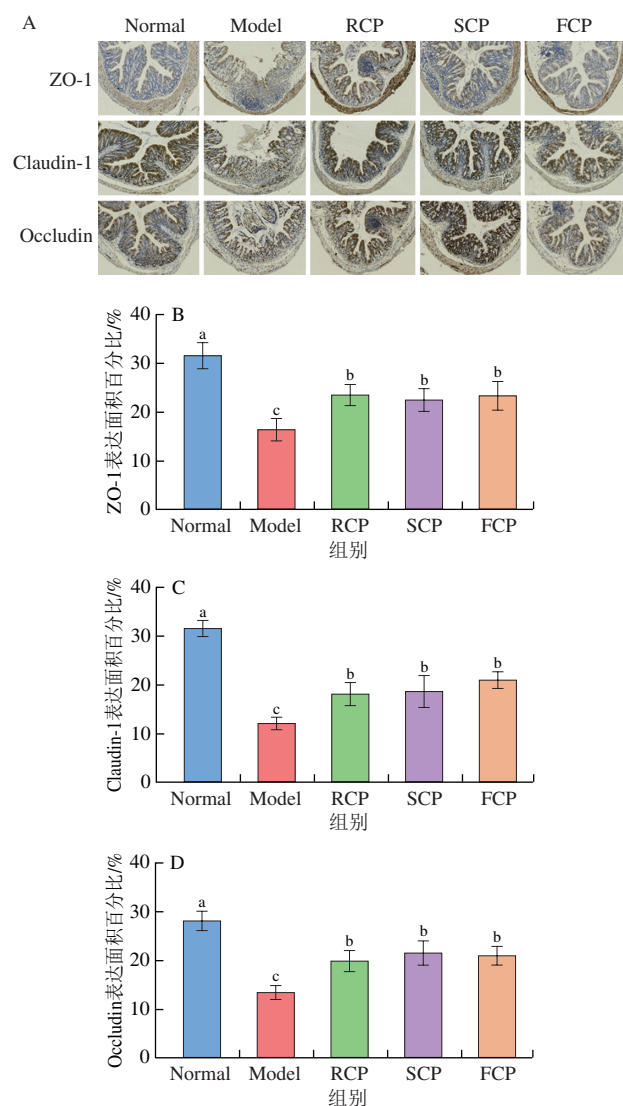
A. AB-PAS染色 (100 $\times$ ); B. 杯状细胞数量。

图7 胡萝卜对小鼠结肠组织杯状细胞数量的影响

Fig. 7 Effect of carrots on number of colonic goblet cells in mice

## 2.8 胡萝卜对紧密连接蛋白表达的影响

肠上皮紧密连接蛋白(ZO-1、Claudin-1和Occludin)是肠道屏障的重要组成部分,其表达的减少会引起免疫反应失调,从而诱发肠道炎症<sup>[28]</sup>。如图8免疫组化染色结果显示,Normal组中ZO-1、Claudin-1和Occludin的表达量较高,主要分布在结肠组织表面与隐窝结构之间,排列整齐,呈连续分布;在Model组中,3种紧密连接蛋白的表达量均显著降低( $P<0.05$ ),且排列紊乱,呈不连续分布,部分区域甚至出现完全丢失的情况;在RCP、SCP和FCP组中3种蛋白的表达量均显著高于Model组( $P<0.05$ ),表明胡萝卜通过调节紧密连接蛋白表达改善肠道机械屏障,这可能是缓解结肠炎的一个重要原因。



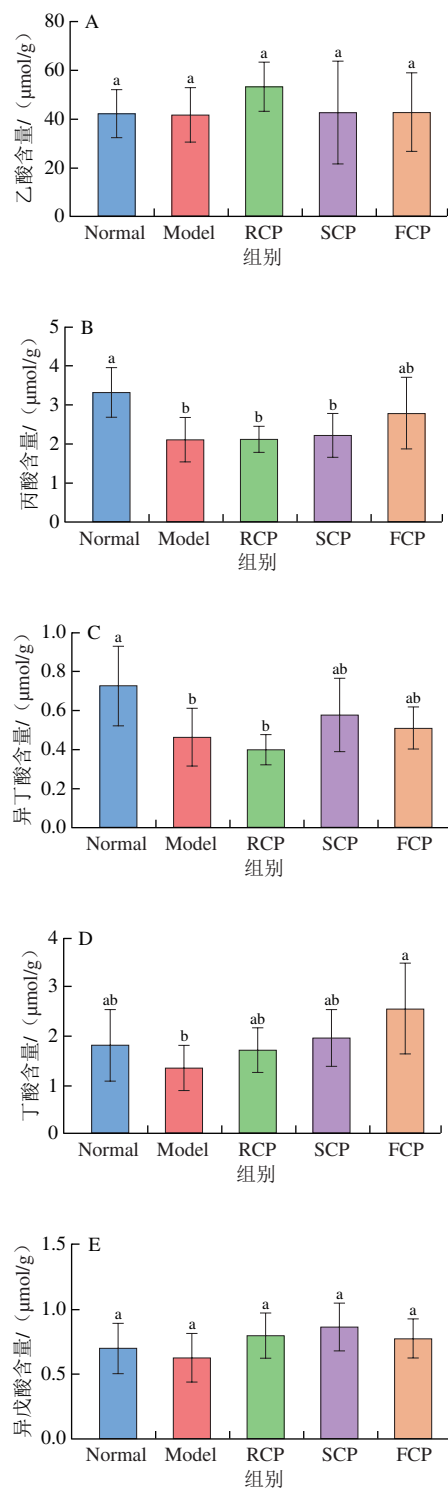
A. 免疫组化代表图(100×); B. ZO-1表达面积;  
C. Claudin-1表达面积; D. Occludin表达面积。

图8 胡萝卜对小鼠结肠紧密连接蛋白表达的影响

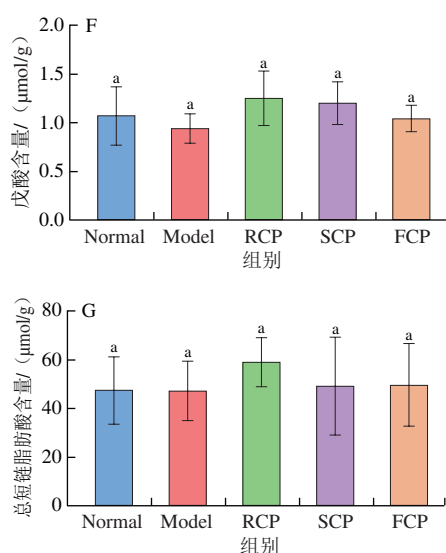
Fig. 8 Effect of carrots on colonic expression of tight junction proteins in mice

## 2.9 胡萝卜对结肠内容物短链脂肪酸的影响

如图9所示,与Normal组相比,Model组小鼠结肠内容物中丙酸和异丁酸水平显著降低( $P<0.05$ ),表明DSS处理诱导了小鼠肠道环境紊乱。与Model组相比,FCP组丁酸水平显著增加( $P<0.05$ ),丙酸水平倾向于显著增加( $P<0.1$ ),且后者丁酸和丙酸水平与Normal组无显著差异。







A.乙酸; B.丙酸; C.异丁酸; D.丁酸; E.异戊酸; F.戊酸; G.总短链脂肪酸。

图9 胡萝卜对小鼠结肠内容物短链脂肪酸水平的影响

Fig. 9 Effect of carrots on colonic levels of short-chain fatty acids in mice

### 3 讨论

本研究结果显示, 3种不同方式加工(打浆、高温蒸煮、发酵)的胡萝卜均可在不同程度上减轻小鼠UC, 其中发酵胡萝卜的改善作用最佳, 高温蒸煮胡萝卜次之。本研究推测, 胡萝卜对结肠炎的缓解作用可能归因于其抗炎特性和对肠道屏障的保护作用, 且加工处理改善了胡萝卜中功能物质的含量和/或性质, 从而加强了其抗结肠炎作用。促炎因子和抗炎因子的平衡紊乱是UC发病机制之一, 当结肠炎发生时, 促炎因子和抗炎因子会发生相应的变化, 前者大量释放, 后者的生成被抑制, 导致炎症反应加剧<sup>[29]</sup>。本研究发现, 3种加工方式下的胡萝卜均可显著降低促炎因子水平, 并提升抗炎因子水平, 这表明胡萝卜在调节二者之间的平衡方面表现出良好的效果。此外, UC的典型症状是肠上皮屏障的紧密性和完整性被破坏, 多项研究证实, 肠上皮屏障的破坏与ZO-1、Claudin-1和Occludin的表达减少有关<sup>[30-32]</sup>。本研究发现紧密连接蛋白ZO-1、Claudin-1和Occludin在所有胡萝卜组均具有较高的表达, 进而能够加强肠道上皮屏障完整性。同时, 结肠炎发生过程中也会产生大量的氧自由基, 损伤肠黏膜, 破坏肠道屏障<sup>[33]</sup>, 而胡萝卜及其制品具有较强的抗氧化活性可能是其保护肠道屏障功能的重要因素之一<sup>[34]</sup>。

胡萝卜中富含类胡萝卜素、多糖、多酚等多种功能物质, 食品加工技术不仅可以促进这些物质的释放, 也可产生有益代谢物, 更好地发挥抗炎效果, 进一步帮助减轻结肠炎症<sup>[35-36]</sup>。膳食纤维作为胡萝卜的主要功能物质, 本研究结果表明高温蒸煮可显著降低其含量,

但进一步的发酵则抑制了以水溶性多糖为主的可溶性膳食纤维含量的降低。而万宇俊<sup>[37]</sup>发现益生菌发酵不仅提高了胡萝卜原浆的水溶性多糖得率, 同时还改变了多糖的基本结构, 导致其对2型糖尿病大鼠的健康改善作用更好。推测发酵引起的多糖性质改善可能是导致本研究中FCP效果最优的原因之一。同时, FCP显著增加了多糖-菌群的代谢产物丁酸的含量, 显著抑制了结肠组织IL-6水平的升高。丁酸可能通过抑制炎症细胞因子级联反应发挥抗炎作用, 进而抑制肠道IL-6生成。此外, 丁酸还能够促进肠道黏膜细胞的增殖, 参与增强肠道屏障<sup>[38]</sup>, 这进一步解释了前文FCP可以改善结肠杯状细胞数量减少的现象。

然而, 本研究发现高温蒸煮也可增强胡萝卜的抗结肠炎作用, 具体表现为对结肠缩短和病理损伤的抑制作用增强, 表明膳食纤维之外的其他活性物质也参与其中。类胡萝卜素是胡萝卜中最广为熟知的活性物质, 多项研究均表明其具有良好的抗结肠炎作用<sup>[39-40]</sup>。这类物质的生物利用过程包括胃肠道消化(释放)、吸收、代谢和排泄<sup>[41]</sup>。研究证实高温、发酵等加工方式可以显著增加类胡萝卜素的释放和吸收, 提高其生理功能<sup>[34, 42-43]</sup>。本研究结果表明高温蒸煮和发酵对类胡萝卜素含量无影响但可增加其生物可及性, 且后者与抗结肠炎作用呈一定的剂量-效应关系, 体现出类胡萝卜素生物可及性的重要性。此外, 多酚可能也是重要的抗结肠炎物质。Kim等<sup>[44]</sup>通过比较紫胡萝卜与黄胡萝卜的抗结肠炎作用及其多酚含量, 总结出丰富的花青素含量是紫胡萝卜具有较优效果的原因之一。本课题组前期发现益生菌发酵胡萝卜原浆可显著提高多酚含量及其体外抗氧化能力, 而Yu Chenchen等<sup>[45]</sup>也有相似的发现。

胡萝卜作为一个整体的食物, 其中的有效成分十分复杂, 其缓解结肠炎的作用应是多种有效成分共同作用的结果。这些活性成分如何联系起来改善结肠炎的机制是非常复杂的, 未来应继续探索这些活性成分的协同作用。

综上所述, 高温蒸煮和发酵可改变打浆胡萝卜中膳食纤维含量及类胡萝卜素生物可及性, 增强其对小鼠UC的缓解作用, 其中发酵胡萝卜改善作用更为显著。

### 参考文献:

- [1] NA S Y, MOON W. Perspectives on current and novel treatments for inflammatory bowel disease[J]. Gut and Liver, 2019, 13(6): 604-616. DOI:10.5009/gnl19019.
- [2] GAJENDRAN M, LOGANATHAN P, CATINELLA A P, et al. A comprehensive review and update on Crohn's disease[J]. Disease-a-Month, 2018, 64(2): 20-57. DOI:10.1016/j.disamonth.2017.07.001.
- [3] NG S C, SHI H Y, HAMIDI N, et al. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies[J]. Lancet, 2017, 390: 2769-2778. DOI:10.1016/s0140-6736(17)32448-0.

- [4] COLOMBEL J F, D'HAENS G, LEE W J, et al. Outcomes and strategies to support a treat-to-target approach in inflammatory bowel disease: a systematic review[J]. *Journal of Crohn's & Colitis*, 2020, 14(2): 254-266. DOI:10.1093/ecco-jcc/fjz131.
- [5] XIA X, ZHU L, LEI Z, et al. Feruloylated oligosaccharides alleviate dextran sulfate sodium-induced colitis *in vivo*[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(34): 9522-9531. DOI:10.1021/acs.jafc.9b03647.
- [6] HU Q, YUAN B, WU X, et al. Dietary intake of *Pleurotus eryngii* ameliorated dextran-sodium-sulfate-induced colitis in mice[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2019, 63(17): e1801265. DOI:10.1002/mnfr.201801265.
- [7] CHEN B, LUO J, HAN Y, et al. Dietary tangeretin alleviated dextran sulfate sodium-induced colitis in mice via inhibiting inflammatory response, restoring intestinal barrier function, and modulating gut microbiota[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(27): 7663-7674. DOI:10.1021/acs.jafc.1c03046.
- [8] 赵冬, 曹金虎, 金慧琴, 等. 芹菜发酵液对小鼠溃疡性结肠炎的保护作用研究[J]. *中国畜牧兽医*, 2021, 48(11): 3975-3984. DOI:10.16431/j.cnki.1671-7236.2021.11.007.
- [9] ASDAQ S M B, SWATHI E, DHAMANIGI S S, et al. Role of daucus carota in enhancing antiulcer profile of pantoprazole in experimental animals[J]. *Molecules*, 2020, 25(22): 5287. DOI:10.3390/molecules25225287.
- [10] REBOUL E. Absorption of vitamin A and carotenoids by the enterocyte: focus on transport proteins[J]. *Nutrients*, 2013, 5(9): 3563-3581. DOI:10.3390/nu5093563.
- [11] AHMAD T, CAWOOD M, IQBAL Q, et al. Phytochemicals in *Daucus carota* and their health benefits: review article[J]. *Foods*, 2019, 8(9): 424. DOI:10.3390/foods8090424.
- [12] DEDING U, BAATRUP G, CHRISTENSEN L P, et al. Carrot intake and risk of colorectal cancer: a prospective cohort study of 57,053 Danes[J]. *Nutrients*, 2020, 12(2): 332. DOI:10.3390/nu12020332.
- [13] 李川. 植物乳杆菌NCU116的益生功能及其作用机制[D]. 南昌: 南昌大学, 2015: 95-96.
- [14] SHAHIDI F, PAN Y. Influence of food matrix and food processing on the chemical interaction and bioaccessibility of dietary phytochemicals: a review[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2022, 62(23): 6421-6445. DOI:10.1080/10408398.2021.1901650.
- [15] ZACCARI F, CABRERA M C, RAMOS A, et al. *In vitro* bioaccessibility of  $\beta$ -carotene, Ca, Mg and Zn in landrace carrots (*Daucus carota*, L.)[J]. *Food Chemistry*, 2015, 166: 365-371. DOI:10.1016/j.foodchem.2014.06.051.
- [16] HORNERO-MENDEZ D, CERRILLO I, ORTEGA A, et al. Beta-cryptoxanthin is more bioavailable in humans from fermented orange juice than from orange juice[J]. *Food Chemistry*, 2018, 262: 215-220. DOI:10.1016/j.foodchem.2018.04.083.
- [17] 董玉婷, 蔡宏浩, 李志朋, 等. 乳杆菌发酵提高坛紫菜的抗氧化和抑制糖脂代谢关键酶活性[J]. *食品科学*, 2022, 43(10): 162-171. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20210405-047.
- [18] 候春辉, 易建勇, 毕金峰, 等. 再造型胡萝卜复合脆片中类胡萝卜素生物利用度[J]. *食品科学*, 2019, 14(3): 16-23. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20171220-234.
- [19] 方芳, 何雨芯, 赵巨堂, 等. 挤压膨化处理对藜麦营养成分及体外酵解特性的影响[J]. *食品科学*, 2023, 44(1): 98-106. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220130-306.
- [20] RODRIGUES D B, MARIUTTI L R, MERCADANTE A Z. An *in vitro* digestion method adapted for carotenoids and carotenoid esters: moving forward towards standardization[J]. *Food & Function*, 2016, 7(12): 4992-5001. DOI:10.1039/c6fo01293k.
- [21] WELLALA C K D, BI J, LIU X, et al. Effect of high pressure homogenization on water-soluble pectin characteristics and bioaccessibility of carotenoids in mixed juice[J]. *Food Chemistry*, 2022, 371: 131073. DOI:10.1016/j.foodchem.2021.131073.
- [22] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民教育出版社, 2002: 157.
- [23] WIRTZ S, POPP V, KINDERMANN M, et al. Chemically induced mouse models of acute and chronic intestinal inflammation[J]. *Nature Protocols*, 2017, 12(7): 1295-1309. DOI:10.1038/nprot.2017.044.
- [24] KANG Yifei, XUE Yansong, DU Min, et al. Preventive effects of goji berry on dextran-sulfate-sodium-induced colitis in mice[J]. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2017, 40: 70-76. DOI:10.1016/j.jnutbio.2016.10.009.
- [25] 郑志天, 程教攀, 钟亚东, 等. 不同拟杆菌的定殖对伪无菌小鼠血清生化指标和短链脂肪酸的影响[J]. *食品研究与开发*, 2022, 43(2): 1-9. DOI:10.12161/j.issn.1005-6521.2022.02.001.
- [26] YANG T J, JEONG S J, YOUN D H, et al. The effects of Pulsatilla Koreana Nakai pharmacopuncture therapy on the chunchu (st25) for dextran sulfate sodium-induced colitis in mice[J]. *Journal of Acupuncture Research*, 2018, 35(1): 11-20. DOI:10.13045/jar.2018.00024.
- [27] 夏圣坤, 王辉, 陈晓敏, 等. 芹菜苷对葡聚糖硫酸钠诱导小鼠结肠炎的缓解作用[J]. *食品科学*, 2022, 43(9): 87-94. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20210209-148.
- [28] WANG Y, TAO H, HUANG H, et al. The dietary supplement rhodiola crenulata extract alleviates dextran sulfate sodium-induced colitis in mice through anti-inflammation, mediating gut barrier integrity and reshaping the gut microbiome[J]. *Food & Function*, 2021, 12(7): 3142-3158. DOI:10.1039/d0fo03061a.
- [29] ZHANG C, XU Y, WU S, et al. Fabrication of astaxanthin-enriched colon-targeted alginate microspheres and its beneficial effect on dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis in mice[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2022, 205: 396-409. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2022.02.057.
- [30] CHEN Y, YANG B, ROSS R P, et al. Orally administered cla ameliorates DSS-induced colitis in mice via intestinal barrier improvement, oxidative stress reduction, and inflammatory cytokine and gut microbiota modulation[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(48): 13282-13298. DOI:10.1021/acs.jafc.9b05744.
- [31] PENG Y, YAN Y, WAN P, et al. Gut microbiota modulation and anti-inflammatory properties of anthocyanins from the fruits of lycium ruthenicum murray in dextran sodium sulfate-induced colitis in mice[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2019, 136: 96-108. DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2019.04.005.
- [32] VINDIGNI S M, ZISMAN T L, SUSKIND D L, et al. The intestinal microbiome, barrier function, and immune system in inflammatory bowel disease: a tripartite pathophysiological circuit with implications for new therapeutic directions[J]. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, 2016, 9(4): 606-625. DOI:10.1177/1756283x16644242.
- [33] 吴铭, 宋家乐, 任源, 等. 芸薹属紫菜蓝乙醇提取物对葡聚糖硫酸钠致小鼠结肠炎的预防作用[J]. *现代食品科技*, 2019, 35(9): 153-162. DOI:10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.9.019.

- [34] XU Y, HLAING M M, GLAGOVSKAIA O, et al. Fermentation by probiotic lactobacillus gasseri strains enhances the carotenoid and fibre contents of carrot juice[J]. *Foods*, 2020, 9(12): 1803. DOI:10.3390/foods9121803.
- [35] LIU Y, FANG H, LIU H, et al. Goji berry juice fermented by probiotics attenuates dextran sodium sulfate-induced ulcerative colitis in mice[J]. *Journal of Functional Foods*, 2021, 83: 104491. DOI:10.1016/j.jff.2021.104491.
- [36] WASILEWSKA E, ZLOTKOWSKA D, WROBLEWSKA B. Yogurt starter cultures of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* ameliorate symptoms and modulate the immune response in a mouse model of dextran sulfate sodium-induced colitis[J]. *Journal of Dairy Science*, 2019, 102(1): 37-53. DOI:10.3168/jds.2018-14520.
- [37] 万宇俊. 益生菌发酵对胡萝卜组分变化及其水溶性多糖对II型糖尿病大鼠健康的影响[D]. 南昌: 南昌大学, 2018: 56.
- [38] 杨丽婷, 王子微, 王加启, 等. 短链脂肪酸及其调节肠道炎症作用的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(24): 433-443. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2021120212.
- [39] CHENG J, BALBUENA E, MILLER B, et al. The role of beta-carotene in colonic inflammation and intestinal barrier integrity[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2021, 8: 723480. DOI:10.3389/fnut.2021.723480.
- [40] TRIVEDI P P, JENA G B. Mechanistic insight into beta-carotene-mediated protection against ulcerative colitis-associated local and systemic damage in mice[J]. *European Journal of Nutrition*, 2015, 54(4): 639-652. DOI:10.1007/s00394-014-0745-5.
- [41] 李梦杰, 胡坦, 潘思轶. 食品体系组成及加工方式对植物次生代谢物生物利用度的影响研究进展[J]. *食品科学*, 2022, 43(5): 328-337. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20210719-223.
- [42] DE OLIVEIRA C L, BRYCHKOVA G, ESTEVES-FERREIRA A A, et al. Thermal disruption of the food matrix of biofortified lettuce varieties modifies absorption of carotenoids by Caco-2 cells[J]. *Food Chemistry*, 2020, 308: 125443. DOI:10.1016/j.foodchem.2019.125443.
- [43] ZHONG S, VENDRELL-PACHECO M, HESKITT B, et al. Novel processing technologies as compared to thermal treatment on the bioaccessibility and Caco-2 cell uptake of carotenoids from tomato and kale-based juices[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(36): 10185-10194. DOI:10.1021/acs.jafc.9b03666.
- [44] KIM Y J, JU J, SONG J L, et al. Anti-colitic effect of purple carrot on dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis in C57BL/6j mice[J]. *Preventive Nutrition and Food Science*, 2018, 23(1): 77-83. DOI:10.3746/pnf.2018.23.1.77.
- [45] YU Chenchen, LIU Ying, ZHANG Xuemei, et al. Fermented carrot pulp regulates the dysfunction of murine intestinal microbiota[J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022, 2022: 2479956. DOI:10.1155/2022/2479956.