

新型复合助眠饮料的研制及功效评价

马瑞¹, 杨月¹, 张智锋², 范刚^{1*}, 任婧楠¹, 武康宁², 马有利²

(1. 华中农业大学食品科学技术学院, 环境食品学教育部重点实验室, 湖北武汉 430070)

(2. 宁夏华信达健康科技有限公司, 宁夏银川 750499)

摘要: 为解决现有治疗失眠药物存在残留效应等不良反应的问题, 本研究以药食同源中药酸枣仁、茯苓、百合、龙眼肉、甘草和枸杞为主要原料, 采用单因素实验与响应面优化实验确定最佳配方, 通过小鼠睡眠实验、旷场实验及脑组织中神经递质含量检测, 综合评价其助眠效果。结果表明: 助眠饮料中药汤最佳配方为茯苓 6 g、百合 8 g、龙眼肉 7 g、枸杞 9 g 和甘草 5 g。50 g 中药汤中, 酸枣仁添加量为 0.8 g、L-茶氨酸 0.2 g、石榴汁 2.0 g、果葡糖浆 1.0 g、 γ -氨基丁酸 0.2 g。动物实验显示, 助眠饮料对小鼠无直接睡眠作用; 但各剂量组的小鼠睡眠潜伏期显著缩短, 分别缩短了 3.32、4.03、4.41 min; 同时小鼠睡眠时间显著延长, 分别增加了 21.60、38.19、43.61 min; 旷场实验表明助眠饮料可以抑制小鼠的兴奋性, 使其自主活动能力减弱; 此外, 高剂量组小鼠脑组织中 5-羟色胺 (5-Hydroxytryptamine, 5-HT) 含量显著升高, 多巴胺 (Dopamine, DA) 含量显著降低, 低、中、高剂量组 γ -氨基丁酸 (γ -Aminobutyric acid, GABA) 含量均显著升高。综上, 该研究成功开发出一款风味独特、具有改善睡眠功能的复合饮料, 为改善睡眠的药食两用资源开发提供了坚实的理论依据。

关键词: 中药; 睡眠障碍; 改善睡眠; 配方设计; 功能评价

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2027.6.0495

Development and Efficacy Evaluation of a Novel Composite Sleep-Aiding Beverage

MA Rui¹, YANG Yue¹, ZHANG Zhifeng², FAN Gang^{1*}, REN Jingnan¹, WU Kangning², MA Youli²

(1.College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University/Key Laboratory of Environment Correlative Dietology, Ministry of Education, Wuhan 430070, China)

(2. Ningxia Huaxinda Health Technology Co. Ltd., Yinchuan 750499, China)

Abstract: To overcome the residual effects and other adverse reactions associated with conventional insomnia medications, this study used a combination of medicinal and edible Chinese herbs, namely *Ziziphi Spinosae Semen*, *Poria*, *Lilii Bulbus*, *Longan Arillus*, *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*, and *Lycii Fructus*, as primary ingredients. The optimal formulation was determined through single-factor experiments and response surface methodology optimization. The sleep-promoting effects were comprehensively evaluated using mouse sleep tests, open field tests, and measurements of neurotransmitter levels in brain tissue. The results showed that the optimal herbal formula for the sleep-promoting beverage consisted of 6 g *Poria*, 8 g *Lilii Bulbus*, 7 g *Longan Arillus*, 9 g *Lycii Fructus*, and 5 g *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*. In 50 g of this herbal decoction, the added ingredients were 0.8 g *Ziziphi Spinosae Semen*, 0.2 g L-theanine, 2.0 g pomegranate juice, 1.0 g high-fructose corn syrup, and 0.2 g γ -aminobutyric acid (GABA). The beverage did not induce sleep directly in mice; however, all dosage groups showed significantly shortened sleep latency (by 3.32, 4.03, and 4.41 min, respectively) and markedly prolonged sleep duration (by 21.60, 38.19, and 43.61 min, respectively). The open field test demonstrated that the beverage reduced mouse excitability and diminished spontaneous locomotor activity. Furthermore, in the high-dose group, brain levels of 5-hydroxytryptamine (5-HT) were significantly increased, while dopamine (DA) levels were significantly decreased. The level of γ -aminobutyric acid (GABA) was significantly elevated in all dose groups. In conclusion, this study successfully developed a uniquely flavored composite beverage with sleep-improving properties, providing a solid theoretical basis for the development of medicinal and edible resources for sleep enhancement.

收稿日期: 2026-03-31; 修回日期: 2026-06-01; 接受日期: 2026-06-01

基金项目: 银川市科技计划项目 (2024NYHZC006)

作者简介: 马瑞 (2000-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 果蔬加工技术理论, E-mail: 2734178739@qq.com

通讯作者: 范刚 (1982-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 果蔬加工技术理论与风味化学, E-mail: fangang@mail.hzau.edu.cn

Key words: traditional Chinese medicine; sleep disorders; sleep-improving effects; formulation design; functional evaluation

失眠是指入睡困难、睡眠维持困难,或较期望时间过早醒来且无法再次入睡^[1]。目前失眠问题在全球范围内呈现出高发态势,据世界卫生组织(WHO)的相关数据显示,全球约 27%的人口都在经历睡眠障碍问题,在我国有超过 3 亿人存在同样的困扰^[2]。研究显示,失眠可扰乱糖脂代谢,促发肥胖与糖尿病^[3];导致大脑神经细胞损伤,长期严重失眠还可能增加痴呆症的发病风险^[4];增加患高血压、冠心病等心血管疾病的风险^[5];还会加重焦虑等情绪问题,严重者甚至会产生自杀行为^[6]。目前,治疗失眠的药物大多属于镇静催眠类,包括苯二氮草类和非苯二氮草类药物。然而,长期使用这些药物可能带来残留效应、记忆障碍及停药反跳等不良反应^[7]。

酸枣仁为鼠李科植物酸枣的干燥成熟种子,根据中医理论,酸枣仁味甘、酸,性平,归肝、胆、心经,具有养心补肝、宁心安神、敛汗、生津的作用^[8]。药理研究表明,酸枣仁富含多种活性成分,包括黄酮类、皂苷类、多糖类、生物碱类等^[9]。利用酸枣仁提取物干预对氯苯丙氨酸诱导的失眠大鼠模型,结果表明,给予 403.38 mg kg⁻¹ 的酸枣仁提取物可显著延长大鼠的总睡眠时间,同时提高大鼠下丘脑中 5-HT 和 GABA 的含量^[10]。茯苓化学成分丰富,主要包含多糖类、三萜类、黄酮类等,其中三萜类和多糖类化合物是其发挥药理作用的主要活性成分^[11]。相关研究显示,茯苓三萜酸能够降低谷氨酸和天冬氨酸的水平,上调 GABA_A 的 α 和 β 亚基蛋白表达,下调 γ 亚基蛋白表达,进而抑制运动能力,最终实现镇静和催眠作用^[12]。此外,百合鳞茎中皂苷含量较高,拥有独特的抗氧化、抗炎以及镇静催眠能力^[13]。龙眼肉中的甲醇提取物同镇静催眠类的西药联合使用时,可增加小鼠的睡眠率,延长睡眠时间^[14]。

本研究基于文献及国家专利数据,筛选出高频用药酸枣仁、甘草与茯苓,该组合兼具安神与调和诸药、补益心脾之效。在此基础上加入百合、龙眼肉和枸杞扩展配伍组合,百合的滋阴清热与龙眼肉的温补心脾阴阳调和,枸杞的滋补肝肾与茯苓的健脾利湿实现脏腑兼顾,通过“寒温互制、滋清相济”的平衡机制确定了助眠饮料中药汤配方;同时加入助眠成分 L-茶氨酸和 γ -氨基丁酸,选用石榴汁与果葡糖浆进行调味,经过煮制、调配等优化饮料配方,研制出一款口感细腻、质地均匀的复合助眠饮料;并以 SPF 雄性小鼠为受试动物,用低、中、高剂量复合助眠饮料连续灌胃 30 d,通过直接睡眠实验、协同戊巴比妥钠阈上剂量睡眠实验和阈下剂量催眠实验、旷场实验及对小鼠脑组织中神经递质检测,评价该助眠饮料对睡眠的改善作用。

1 材料与方法

1.1 原料

酸枣仁粉,长青生物;茯苓,华药济世堂;百合、甘草、龙眼肉,阿里健康大药房;枸杞、浓缩石榴汁,宁夏华信达生物科技有限公司; γ -氨基丁酸,沧州信联化工有限公司;L-茶氨酸,河南巨龙生物工程股份有限公司;果葡糖浆,温州市盒记食品有限公司;戊巴比妥钠,杭州硕业;5-HT 试剂盒、DA 试剂盒,上海爱萌优宁生物技术有限公司;GABA 试剂盒,苏州格瑞思生物科技有限公司;苯酚、浓硫酸、D-无水葡萄糖、无水乙醇、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠、冰醋酸、香草醛、高氯酸,国药集团化学试剂有限公司;芦丁、人参皂苷(Re HPLC $\geq$ 98%),上海源叶生物科技有限公司。SPF 级 KM 雄性小鼠(18~22 g)购于华中农业大学实验动物中心,动物合格证号:SYXK(鄂)2020-0084,动物实验伦理许可证号:HZAUMO-2026-0128。

1.2 主要仪器设备

Microfuge 20 高速冷冻离心机,贝克曼库尔特有限公司;Multiskan SkyHigh 全波长酶标仪,赛默飞世尔科技公司;HH-S2 数显恒温水浴锅,金坛市大地自动化仪器厂;HPX-9082MBE 电热恒温培养箱,上海博迅实业有限公司;XR-XZ301 旷场实验箱,上海欣软信息科技有限公司;SWE-FP 组织研磨仪,武汉赛维尔生物科技有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 助眠饮料中药汤配方及制备

根据《中国药典（2025 年版）》和临床用量，原料用量范围为茯苓 9~15 g，甘草 3~6 g，百合 6~12 g，龙眼肉 9~12 g，枸杞 6~12 g。甘草作为使药，起到调和药性的作用，将其用量确定为 5 g。采用均匀设计方案，使用 U5（5⁴）表设计 4 因素 5 水平实验，将上述药材按照 1:20 的料液比加入水，大火 2 100 W 煮沸后转入文火 300 W，熬煮 40 min 后过滤，得到助眠饮料中药汤。由于酸枣仁外壳坚硬，阻碍水溶性成分的溶出，需捣碎或破壳处理，导致煎煮时间需延长，便利性差，所以将其换成酸枣仁粉，煮好后直接加入中药汤中。中药汤配方因素水平表和均匀设计方案见表 1 和表 2。

表 1 中药汤配方因素水平表

Table 1 Table of factor levels for the formulation of traditional Chinese medicine decoction

水平/因素	A 茯苓/g	B 百合/g	C 龙眼/g	D 枸杞子/g
1	6	6	5	6
2	8	8	6	7
3	10	10	7	8
4	12	12	8	9
5	14	14	9	10

表 2 中药汤均匀设计方案

Table 2 Uniform design scheme of traditional Chinese medicine decoctions

组别/因素	A 茯苓	B 百合	C 龙眼肉	D 枸杞子
1	1（6）	2（8）	3（7）	4（9）
2	2（8）	4（12）	1（5）	3（8）
3	3（10）	1（6）	4（8）	2（7）
4	4（12）	3（10）	2（6）	1（6）
5	5（14）	5（14）	5（9）	5（10）

1.3.2 单因素实验

酸枣仁添加量（质量分数）的确定：50 g 中药汤中加入 L-茶氨酸 0.2 g、石榴汁 2.0 g、果葡糖浆 1.5 g、 γ -氨基丁酸 0.2 g，调整酸枣仁添加量（0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 g）进行感官评分，探究酸枣仁添加量对饮料感官品质的影响。

L-茶氨酸添加量（质量分数）的确定：50 g 中药汤中加入酸枣仁 0.6 g、石榴汁 2.0 g、果葡糖浆 1.5 g、 γ -氨基丁酸 0.2 g，调整 L-茶氨酸添加量（0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 g）进行感官评分，探究 L-茶氨酸添加量对饮料感官品质的影响。

石榴汁添加量（质量分数）的确定：50 g 中药汤中加入酸枣仁 0.6 g、L-茶氨酸 0.2 g、果葡糖浆 1.5 g、 γ -氨基丁酸 0.2 g，调整石榴汁添加量（1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 g）进行感官评分，探究石榴汁添加量对饮料感官品质的影响。

果葡糖浆添加量（质量分数）的确定：50 g 中药汤中加入酸枣仁 0.6 g、L-茶氨酸 0.2 g、石榴汁 2.0 g、 γ -氨基丁酸 0.2 g，调整果葡糖浆添加量（0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 g）进行感官评分，探究果葡糖浆添加量对饮料感官品质的影响。

1.3.3 响应面实验设计

在单因素实验基础上，以酸枣仁添加量、L-茶氨酸添加量、石榴汁添加量、果葡糖浆添加量为单因素，感官评分为响应值，利用 Design-Expert 13.0 软件对数据进行分析。响应面试验因素水平见表 3。

表 3 响应面实验因素水平表

Table 3 Factor level table of the response surface experiment

水平/因素	A:酸枣仁/g	B:L-茶氨酸/g	C:石榴汁/g	D:果葡糖浆/g
-1	0.6	0.1	1.5	0.5
0	0.8	0.2	2.0	1.0
1	1.0	0.3	2.5	1.5

1.3.4 感官评价

培训后经基础测试,从中择优挑选出 10 名(5 男,5 女)学生,组成正式感官评价小组。从助眠饮料的色泽、气味、滋味和组织状态进行打分,具体评分细则见表 4。

表 4 助眠饮料感官评分表
Table 4 Sensory evaluation score sheet of the sleep-aiding beverage

评分指标	评分标准	等级
色泽 (15 分)	颜色呈深褐色, 饱和适中, 色泽均匀	优 (13~15 分)
	颜色呈深褐色, 偏暗或偏淡, 色泽均匀	良 (10~12 分)
	颜色呈深褐色, 偏暗或偏淡, 色泽欠均匀	中 (7~9 分)
	色泽完全不符合, 且不均匀	差 (0~6 分)
气味 (30 分)	气味协调, 味道纯正, 有特定的中药味和果味	优 (26~30 分)
	气味基本协调, 有一定的中药味和果味	良 (21~25 分)
	气味可接受, 无异味	中 (16~20 分)
	气味不协调, 有异味, 难以接受	差 (0~16 分)
滋味 (35 分)	口感好, 有特定的中药味和果味, 酸甜适中	优 (31~35 分)
	口感好, 酸甜不协调, 或微苦	良 (26~30 分)
	口感可接受, 无异味	中 (21~25 分)
	口感差, 苦味重, 难以接受	差 (0~20 分)
组织状态 (20 分)	流动呈液态状, 无沉淀和悬浮物	优 (18~20 分)
	流动呈液态状, 稍有沉淀和悬浮物	良 (14~17 分)
	流动呈液态状, 有沉淀和悬浮物, 可接受	中 (9~13 分)
	状态极不稳定, 沉淀和分层严重	差 (0~8 分)

1.3.5 品质评价

参考李荣宇等^[15]的方法测定助眠饮料中的总多糖、总黄酮和总皂苷含量;按照 GB 12456-2021^[16]第二法 pH 计电位滴定法测定总酸含量,以柠檬酸计;按照 GB/T 12143-2008^[17]中的检测方法测定可溶性固形物含量。

1.3.6 功效评价

1.3.6.1 实验动物分组及体质量称重

120 只小鼠随机分为 4 个大组,分别为空白组(纯水)、低剂量组(4.17 g kg⁻¹)、中剂量组(8.33 g kg⁻¹)和高剂量组(16.67 g kg⁻¹)。给药剂量依据助眠饮料人体推荐量(每日 50 g)换算:成人体重以 60 kg 计,小鼠体重以 20 g 计,分别设置人体推荐量的 5、10、20 倍作为小鼠的低、中、高剂量。再将每一大组分为 3 个小组,每一小组 10 只小鼠。每大组的第 1 小组进行旷场实验和直接睡眠实验,第 2 小组进行戊巴比妥钠阈上剂量睡眠实验,第 3 小组进行戊巴比妥钠阈下剂量催眠实验。所有小鼠每周称一次体重。本实验所有动物操作均遵循实验动物福利与伦理相关法规,已获得本单位实验动物伦理委员会批准。

1.3.6.2 直接睡眠实验

取每一大组中第 1 小组小鼠共 40 只,连续灌胃 30 d,最后一次给药 60 min 内,观察小鼠是否出现睡眠现象。即当小鼠置于背卧位时,超过 60 s 不能翻正则认为翻正反射消失,小鼠进入睡眠状态^[18]。

1.3.6.3 戊巴比妥钠阈上剂量睡眠实验

取每一大组中第 2 小组的小鼠共 40 只,连续灌胃 30 d,最后一次给药 30 min 后,以 50 mg kg⁻¹的剂量腹腔注射戊巴比妥钠,注射量为 0.2 mL/20 g,以翻正反射消失 60 s 为睡眠指标。记录小鼠的睡眠潜伏期,即腹腔注射完毕至小鼠翻正反射消失之间的时间^[19],同时记录小鼠从翻正反射消失至恢复之间的时间作为睡眠时间。

1.3.6.4 戊巴比妥钠阈下剂量催眠实验

取每一大组中第 3 小组的小鼠共 40 只,连续灌胃 30 d,最后一次给药 30 min 后,以 30 mg kg⁻¹的剂量腹腔注射戊巴比妥钠,注射量为 0.2 mL/20 g,以翻正反射消失 60 s 为指标,记录从腹腔注射完毕开始的 30 min 内各组小鼠入睡的数量。

1.3.6.5 旷场实验

将小鼠放置于安静、昏暗的行为学实验室，适应 30 min 以上。然后把小鼠放置于 50 cm×50 cm×40 cm 的黑底旷场实验箱中，录像机垂直俯拍，保持画面中箱底为分布均匀、大小合适的正方形，记录 5 min 内小鼠的自主活动情况。5 min 后将小鼠取出，用 75%乙醇进行喷洒并擦拭，消除箱内残留的小鼠气味及排泄物，75%乙醇挥发完毕，无气味后，再进行下一只小鼠的实验。实验过程中使用动物行为分析系统软件进行视频分析，比较空白组与 3 个剂量组小鼠总移动距离、静止时间和跨格次数的差异^[20]。

1.3.6.6 脏器指数检测

取每一大组中第 1 小组的小鼠，共 40 只。禁食不禁水 12 h 后，处死小鼠，取小鼠的脑、肝、肾、脾、心、肺，用生理盐水冲去器官表面血液，滤纸擦干后进行称重。脑组织取出称重后，立即放入冻存管中，并迅速放入液氮中冷冻保存，后续放入-20 ℃的冰箱中保存备用。

1.3.6.7 小鼠脑组织中 5-HT、GABA、DA 含量检测

取 0.1 g 左右的脑组织，放入离心管中，再加入 9 倍量的 4 ℃生理盐水，放入 3 粒磁珠，用组织研磨仪进行破碎，按照说明书要求进行离心操作。仔细收集上清，按照试剂盒说明书的步骤测定小鼠脑组织中神经递质 5-HT、DA 和 GABA 的含量。

1.3.7 数据分析

使用 IBM SPSS Statistic 29 软件进行数据分析，采用 Origin 2021 和 GraphPad Prism 10 软件进行图像的绘制。利用单因素方差分析和 Duncan 多重比较，在 $P<0.05$ 的水平下进行显著性分析，数据结果以平均值±标准差的形式表示。

2 结果与讨论

2.1 不同中药汤配方对活性物质含量的影响

在中药汤中，起到助眠作用的活性成分大多为多糖、黄酮及皂苷类物质，所以，以总多糖、总黄酮、总皂苷的含量为指标，选出最优的中药汤配方。结果如表 5，1 号和 3 号中药汤中活性成分含量均较高，通过显著性分析，二者的总黄酮和总皂苷含量无显著性差异，但在总多糖含量上有显著性差异，1 号的总多糖含量明显高于 3 号，所以选择 1 号为助眠饮料中药汤的配方。即助眠饮料中药汤的配方为茯苓 6 g、百合 8 g、龙眼肉 7 g、枸杞子 9 g 和甘草 5 g。

表 5 不同中药汤中活性物质的含量
Table 5 The content of active substances in different traditional Chinese medicine decoctions

组别	总多糖/(mg mL ⁻¹)	总黄酮/(μg mL ⁻¹)	总皂苷/(mg mL ⁻¹)
1	19.19±0.07 ^a	126.77±5.13 ^a	3.35±0.07 ^{ab}
2	14.53±0.13 ^c	124.12±3.71 ^a	2.77±0.08 ^c
3	17.86±0.49 ^b	126.06±3.09 ^a	3.43±0.11 ^a
4	12.10±0.20 ^e	95.79±5.09 ^b	3.20±0.08 ^b
5	12.64±0.30 ^d	94.42±1.68 ^b	2.29±0.10 ^d

注：数值表示为 Mean±SD (n=3) 同一列中字母表示不同，表明有显著性差异 ($P<0.05$)。

2.2 单因素变量对助眠饮料感官评分的影响

2.2.1 酸枣仁添加量对助眠饮料感官品质的影响

酸枣仁粉，呈棕红色，具有微酸味，略带涩感，并带有特异性气味。添加量过低时会使得饮料气味较淡，滋味不佳，过高时可能会导致掩盖其他果味，且会产生沉淀，使得质地变浑浊。从图 1a 可知，酸枣仁添加量在 0.2~0.8 g 范围内时，感官评分逐渐升高，到 0.8 g 时，分数最高达到 90.7 分，继续添加后会使得饮料的颜色过重，气味过浓，质地不均，导致感官评分下降。所以确定酸枣仁的添加量在 0.6、0.8、1.0 g 三个水平进行配方优化。

2.2.2 L-茶氨酸添加量对助眠饮料感官品质的影响

L-茶氨酸为白色结晶粉末,具有甜味和鲜爽味。从图 1b 可知,L-茶氨酸添加量在 0.0~0.2 g 范围内时,感官评分逐渐升高,到 0.2 g 时,分数最高达到 88.8 分,此时的饮料,鲜甜适中,掩盖酸涩效果最佳。继续添加后会使得饮料产生类似金属或海产品的咸鲜味,掩盖了其他风味成分,导致感官评分下降。所以确定 L-茶氨酸的添加量在 0.1、0.2、0.3 g 三个水平进行配方优化。

2.2.3 石榴汁添加量对助眠饮料感官品质的影响

石榴汁滋味偏酸,颜色呈紫红色,具有浓郁的果香气味。从图 1c 可知,石榴汁的添加量在 1.0~2.0 g 范围内时,感官评分逐渐升高,到 2.0 g 时,分数最高达到 92.1 分,酸甜适中,果味和中药味恰到好处。继续添加后会使得饮料甜酸比失调,颜色过深,感官评分下降。所以确定石榴汁的添加量在 1.5、2.0、2.5 g 三个水平进行配方优化。

2.2.4 果葡糖浆添加量对助眠饮料感官品质的影响

果葡糖浆为粘稠透明状液体,流动性强,具有柔和的甜味,能显著改善中药汤中的苦味,使饮料更加爽口。从图 1d 可知,果葡糖浆的添加量在 2.0 g 时,分数最高达到 89.9 分,此时的饮料风味协调,质地稳定。继续添加后会使得饮料过于甜腻,口味不佳,掩盖酸枣仁和石榴汁的味道,且黏稠度过高,从而导致感官评分下降。所以确定果葡糖浆的添加量在 0.5、1.0、1.5 g 三个水平进行配方优化。

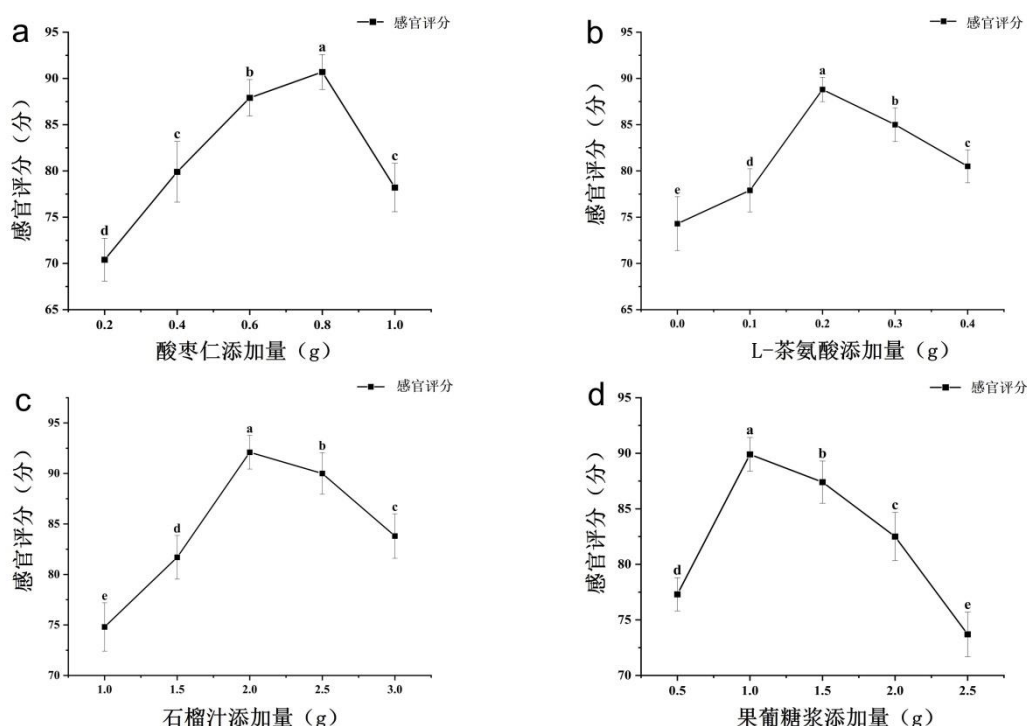


图 1 酸枣仁 (a)、L-茶氨酸 (b)、石榴汁 (c) 和果葡糖浆 (d) 添加量对感官评价的影响

Fig.1 The influence of the addition amount of Ziziphi Spinosae Semen (a), L-theanine (b), pomegranate juice (c) and high fructose corn syrup (d) on sensory evaluation

注: 图中不同小写字母表示组间差异显著 ($P < 0.05$)。下同。

2.3 响应面试验结果

2.3.1 响应面实验设计及结果

根据单因素实验的结果,进行 4 因素 3 水平的响应面实验,以感官评分为指标,实验设计方案与结果见表 6。

表 6 助眠饮料配方优化的响应面实验结果

Table 6 Results of response surface experiments for the formulation optimization of sleep-aiding beverage

试验号	A-酸枣仁/g	B-L-茶氨酸/g	C-石榴汁/g	D-果葡糖浆/g	感官评分/分
1	0.6	0.1	2	1	74.3
2	1	0.1	2	1	79.8
3	0.6	0.3	2	1	80.6
4	1	0.3	2	1	80.2
5	0.8	0.2	1.5	0.5	73.8
6	0.8	0.2	2.5	0.5	81.3
7	0.8	0.2	1.5	1.5	82.5
8	0.8	0.2	2.5	1.5	79.5
9	0.6	0.2	2	0.5	82.4
10	1	0.2	2	0.5	80.3
11	0.6	0.2	2	1.5	78.1
12	1	0.2	2	1.5	83.4
13	0.8	0.1	1.5	1	73.8
14	0.8	0.3	1.5	1	77.1
15	0.8	0.1	2.5	1	78.3
16	0.8	0.3	2.5	1	78.4
17	0.6	0.2	1.5	1	76.0
18	1	0.2	1.5	1	79.6
19	0.6	0.2	2.5	1	80.8
20	1	0.2	2.5	1	80.7
21	0.8	0.1	2	0.5	79.7
22	0.8	0.3	2	0.5	78.9
23	0.8	0.1	2	1.5	77.9
24	0.8	0.3	2	1.5	82.8
25	0.8	0.2	2	1	89.7
26	0.8	0.2	2	1	90.5
27	0.8	0.2	2	1	90.6
28	0.8	0.2	2	1	91.5
29	0.8	0.2	2	1	91.2

2.3.2 感官评分模型建立与方差分析

使用 Design-Expert 13.0 软件对上述感官评分结果进行回归拟合，得到二次多项式回归方程： $Y=90.7+0.98A+1.18B+1.35C+0.65D-1.47AB-0.92AC+1.85AD-0.8BC+1.42BD-2.63CD-5A^2-6.8B^2-6.8C^2-4.45D^2$ 。回归模型方差分析结果如表 7，模型的 P 值 <0.000 1，表明模型整体高度显著，能够有效解释响应变量的变异。 F 值为 49.41，远大于临界值，进一步验证了模型的可靠性。 $R^2=0.980$ 2，调整后的 $R^2_{Adj}=0.960$ 3，与 R^2 接近，且二者差值 <0.2 ，说明模型未过度拟合，新增变量均为有效预测项，准确度较高。A-酸枣仁、B-L-茶氨酸、C-石榴汁、AD、CD、 A^2 、 B^2 、 C^2 、 D^2 均对感官评分有极显著的影响，D-果葡糖浆、AB、BD 对感官评分有显著的影响，AC、BC 对感官评分的影响不显著。根据 F 值大小判断影响助眠饮料感官评分的主次因素为：石榴汁 $>$ L-茶氨酸 $>$ 酸枣仁 $>$ 果葡糖浆。

表 7 回归模型方差分析结果

Table 7 Results of the analysis of variance for the regression model

来源	离差平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	704.68	14	50.33	49.41	<0.000 1	**
A-酸枣仁	11.60	1	11.60	11.39	0.004 5	**
B-L-茶氨酸	16.80	1	16.80	16.49	0.001 2	**
C-石榴汁	21.87	1	21.87	21.47	0.000 4	**
D-果葡糖浆	5.07	1	5.07	4.98	0.042 6	*
AB	8.70	1	8.70	8.54	0.011 1	*
AC	3.42	1	3.42	3.36	0.088 2	ns
AD	13.69	1	13.69	13.44	0.002 5	**
BC	2.56	1	2.56	2.51	0.135 3	ns
BD	8.12	1	8.12	7.97	0.013 5	*
CD	27.56	1	27.56	27.05	0.000 1	**
A ²	162.16	1	162.16	159.17	<0.000 1	**
B ²	299.94	1	299.94	294.40	<0.000 1	**
C ²	299.94	1	299.94	294.40	<0.000 1	**
D ²	128.45	1	128.45	126.08	<0.000 1	**
残差	14.26	14	1.02			
失拟项	12.32	10	1.23	2.54	0.191 2	ns
纯误差	1.94	4	0.48			
总和	718.95	28				
		R ² =0.980 2	R ² _{Adj} =0.960 3			

注: $P < 0.01$ 为极显著, 用**表示; $P < 0.05$ 为显著, 用*表示; $P > 0.05$ 为不显著, 用 ns 表示。

2.3.3 响应面交互作用分析

为更直观地了解各因素对最终结果的影响, 需进一步对响应面图和等高线图进行分析。等高线图将 3D 响应面投影为二维平面, 通过等高线的形状和密集程度来判断两个因素之间的交互作用。椭圆等高线则表示两个因素之间的交互作用显著, 圆形则表明两因素间的交互作用较弱或无交互作用^[21]。从图 2 可以得知, 在影响饮料感官评分的各因素中, L-茶氨酸、石榴汁与酸枣仁的添加量均表现出比果葡糖浆更显著的主效应。具体而言, L-茶氨酸与石榴汁对感官评分的影响均较酸枣仁更为突出。交互作用分析显示, 酸枣仁与 L-茶氨酸、酸枣仁与果葡糖浆、L-茶氨酸与果葡糖浆以及石榴汁与果葡糖浆之间的交互作用均显著 ($P < 0.05$), 等高线趋近于椭圆形; 而酸枣仁与石榴汁、L-茶氨酸与石榴汁之间的交互作用则不显著。结果与表 7 中回归模型方差分析结果一致。

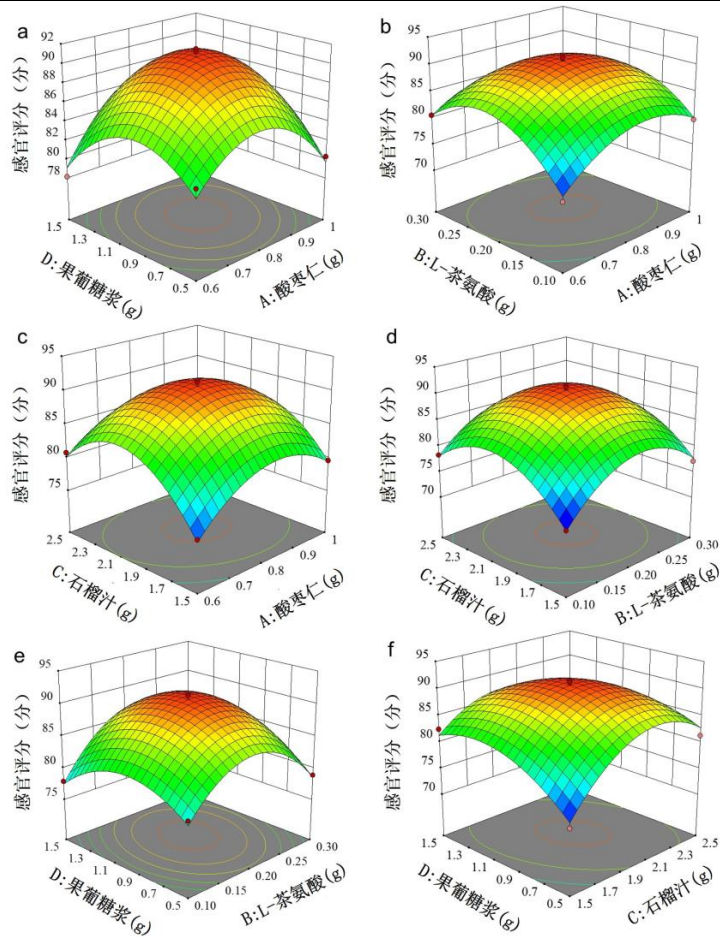


图 2 各因素间相互作用的响应面图像

Fig.2 Response surface image of the interaction between various factors

2.3.4 模型验证结果

根据响应面计算结果得出酸枣仁 0.819 g、L-茶氨酸 0.208 g、石榴汁 2.036 g、果葡糖浆 1.043 g 时，感官评分最高为 90.871。根据此添加量进行验证试验，得到实际值为 90.9 分。实际值与模型预测值相比相差极小，故证明此模型是有效的。最终确定助眠饮料的最优配方为：酸枣仁 0.8 g、L-茶氨酸 0.2 g、石榴汁 2.0 g、果葡糖浆 1.0 g。

2.4 助眠饮料品质评价结果

对助眠饮料中总多糖、总黄酮、总皂苷、总酸、可溶性固形物含量及 pH 进行测定，结果如表 8 所示。总多糖、总黄酮及总皂苷的标准曲线在测定范围内均呈良好线性关系，含量分别为 $28.62\pm1.43\text{ mg mL}^{-1}$ 、 $408.09\pm4.60\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $10.87\pm0.25\text{ mg mL}^{-1}$ 。

表 8 助眠饮料的品质评价结果

Table 8 Quality evaluation results of sleep-aiding beverage

项目	含量
总多糖/(mg mL ⁻¹)	28.62±1.43
总黄酮/(μg·mL ⁻¹)	408.09±4.60
总皂苷/(mg mL ⁻¹)	10.87±0.25
总酸/(g L ⁻¹)	2.50±0.01
pH	4.53±0.01
可溶性固形物/%	8.97±0.06

2.5 助眠饮料对小鼠睡眠的影响

2.5.1 对小鼠体质量的影响

第 0、7、14、28 d 对实验小鼠进行体重测量，结果如图 3。随着时间延长，各组小鼠的体重均呈稳定的上升趋势。空白组与低、中、高剂量组的小鼠在体重方面无显著性差异 ($P>0.05$)，表明不同剂量的助眠饮料对小鼠的正常生长发育无影响。

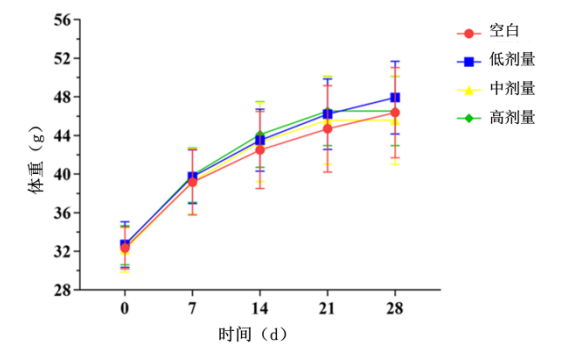


图 3 不同剂量的助眠饮料对小鼠体重的影响

Fig.3 The effect of sleep-aiding beverage with different dosages on the body weight of mice

2.5.2 对小鼠直接睡眠的影响

给药 60 min 内，观察各组小鼠是否出现翻正反射消失的现象，即观察小鼠的入睡情况。结果如表 9 所示，入睡数为 0，睡眠率为 0。说明助眠饮料没有对小鼠产生直接的催眠作用，张璐等^[22]的研究结果也表明酸枣仁复配制剂对小鼠直接睡眠无影响，推测助眠饮料可能是在小鼠睡眠过程中发挥作用，增加小鼠的睡眠时间。

表 9 助眠饮料对小鼠直接睡眠的影响

Table 9 The effect of sleep-aiding beverage on the direct sleep of mice

组别	动物数/只	入睡数/只	睡眠率/%
空白组	10	0	0
低剂量组	10	0	0
中剂量组	10	0	0
高剂量组	10	0	0

2.5.3 协同戊巴比妥钠阈上剂量对小鼠睡眠的影响

药物注射完毕后，记录小鼠的睡眠潜伏期以及睡眠时间，结果如表 10 所示。与空白组相比，低、中、高剂量组的小鼠睡眠潜伏期显著缩短 ($P<0.05$)，分别缩短了 3.32、4.03、4.41 min，并且剂量越高，小鼠的睡眠潜伏期越短。同时，与空白组相比，实验组小鼠睡眠时间显著延长 ($P<0.05$)，分别增加了 21.60、38.19、43.61 min，与低剂量组相比，中剂量组和高剂量组的睡眠时间也存在显著性差异，并且睡眠时间也随着剂量的升高而增加。

表 10 助眠饮料协同戊巴比妥钠对小鼠阈上剂量睡眠的影响

Table 10 The effect of sleep-aiding beverage in synergy with the suprathreshold dose of sodium pentobarbital on the sleep of mice

组别	动物数/只	睡眠潜伏期/min	睡眠时间/min
空白组	10	9.92±1.34 ^a	32.05±4.49 ^c
低剂量组	10	6.60±2.41 ^b	53.65±7.48 ^b
中剂量组	10	5.89±2.00 ^b	70.24±4.47 ^a
高剂量组	10	5.51±1.73 ^b	75.66±9.10 ^a

注：不同小写字母表示具有显著性差异 ($P<0.05$)。

2.5.4 协同戊巴比妥钠阈下剂量对小鼠催眠的影响

药物注射完毕后，记录 30 min 内小鼠的睡眠率。如表 11 所示，空白组小鼠的睡眠率为 10%，符合戊巴比妥钠阈下剂量对小鼠催眠的剂量要求，低、中、高三个剂量组小鼠的睡眠率分别是 30%、40%和 60%。与空白组相比，三个剂量组均提升了小鼠的睡眠率，并且剂量越大，入睡率也越高。与张璐等^[22]的研究结果相似。

表 11 助眠饮料协同戊巴比妥钠阈下剂量对小鼠催眠的影响

Table 11 The effect of sleep-aiding beverage in synergy with the sub-threshold dose of sodium pentobarbital on the hypnosis of mice

组别	动物数/只	入睡数/只	睡眠率/%
空白组	10	1	10
低剂量组	10	3	30
中剂量组	10	4	40
高剂量组	10	6	60

2.5.5 对小鼠自由活动的影响

旷场实验，是一种常用的行为学测试方法^[23]。通过观察动物的反应行为，来评估其自主活动、探索能力和焦虑状态^[24]。本研究选用总移动距离、静止时间和跨格次数为指标评估小鼠的自由活动情况。结果如图 4，与空白组相比，实验组小鼠的总移动距离和跨格次数显著减少；中剂量组和高剂量组的静止时间显著增加（ $P<0.05$ ）。以上结果均表明，助眠饮料使得小鼠的兴奋性受到了抑制，自主活动能力减弱，起到了一定的镇静效果，并且不同剂量也呈现一定的量效关系，剂量越大，效果越明显^[25]。

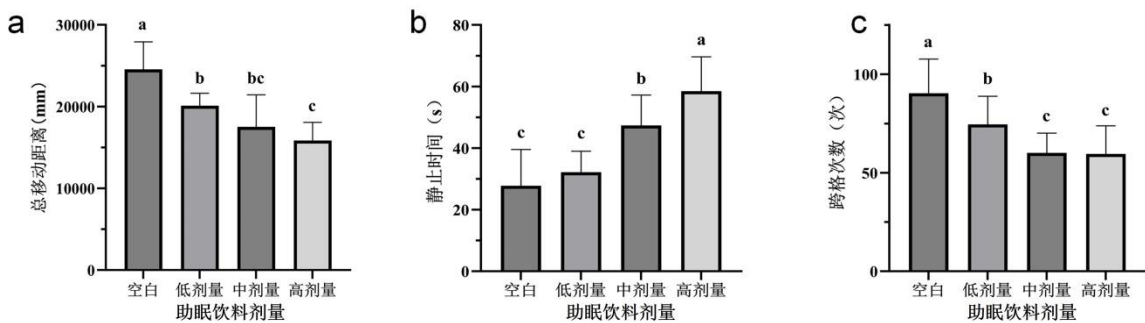


图 4 助眠饮料对小鼠自由活动的影响

Fig.4 The effect of sleep-aiding beverage on the spontaneous activity of mice

2.5.6 对小鼠脏器指数的影响

脏器指数，即脏器重量与体重的比值，用来评估药物或毒性物质对实验动物脏器的影响^[26]。通过将各剂量组的小鼠进行解剖和器官称重，结果如表 12 所示。空白组与实验组小鼠脑、肝、肾、脾、心和肺的脏器指数均未呈现显著性差异（ $P>0.05$ ）。表明助眠饮料在该实验条件下对小鼠的主要脏器未产生毒性作用，具有较高的安全性。

表 12 助眠饮料对小鼠脏器指数的影响

Table 12 The effect of sleep-aiding beverage on the organ indexes of mice

器官/组别	空白组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
脑	10.71±0.82	10.89±1.05	10.86±0.97	10.63±0.69
肝	33.45±2.94	33.97±3.04	35.03±2.03	35.56±4.07
肾	12.85±0.99	12.59±1.27	11.81±3.95	13.27±1.71
脾	2.13±0.49	2.20±0.61	1.92±0.62	2.62±1.53
心	4.85±0.51	5.01±0.87	5.07±0.51	4.69±0.28
肺	5.45±0.80	5.12±0.59	5.15±0.63	5.36±0.90

2.5.7 对小鼠脑组织 5-HT、GABA、DA 含量的影响

当前研究表明，失眠与脑内 5-HT、DA、GABA 等神经递质密切相关。5-HT，又称血清素，是一种抑制性神经递质，通过调节睡眠-觉醒周期，在非快速眼动（NREM）睡眠中起调节作用，减少睡眠潜伏期和夜间觉醒次数，并作为褪黑素前体间接影响昼夜节律^[27,28]。DA 是一种兴奋性神经递质，经 D1、D2 受体调节昼夜节律和肌肉活动，促进觉醒状态^[29]。当 5-HT 含量降低而 DA 含量增加时，可能会出现失眠。GABA 是中枢神经系统重要的抑

制性神经递质,通过与 GABA_A 受体结合介导氯离子通道开放,抑制神经元动作电位发放,进而下调与觉醒相关的神经活动^[30]。

检测各组小鼠脑组织中的神经递质含量,结果如图 5 所示。与空白组相比,实验组的 5-HT 含量均有所增加,但是只有高剂量组与空白组相比有显著性差异 ($P<0.05$),且含量最高。在 DA 含量测定结果中,与空白组相比,实验组 DA 含量均有所减少,同样只有高剂量组与空白组相比有显著性差异 ($P<0.05$),且含量最低。与空白组相比,实验组 GABA 含量均存在显著性差异 ($P<0.05$)。推测与助眠饮料中的皂苷、茯苓三萜酸、L-茶氨酸及 GABA 协同作用相关。GABA 作为外源性配体直接激活 GABA_A 受体;酸枣仁皂苷 A 增加 GABA_A 受体表达,并在酸枣仁皂苷 A 或其代谢物通过血脑屏障时抑制大脑中的兴奋性神经递质 Glu^[31];茯苓三萜酸通过上调 GABA_A 受体 α 、 β 亚基蛋白表达,下调 γ 亚基蛋白表达,进一步增强 GABA_A 受体介导的抑制性传递^[12];L-茶氨酸可通过提高脑内 GABA 水平增强 GABA 能活性^[32]。这些作用相互补充,使 GABA 能系统在较低剂量下被有效激活。而 5-HT 和 DA 作为单胺类递质,合成依赖特异性限速酶(酪氨酸羟化酶和色氨酸羟化酶),需要足够的前体物质供应才能驱动递质合成,因此调节阈值较高。郑海云等^[33]报道余甘子-枸杞复方三个剂量组均可显著升高 5-HT 和 GABA、降低 DA,这可能与该复方中含有的色氨酸可直接作用于 5-HT 合成有关。GABA 均在各剂量组显著升高,提示不同来源的助眠成分对 GABA 能系统普遍具有较好的激活效果。以上结果表明,该助眠饮料通过协同调节 GABA、5-HT 和 DA 的平衡,发挥改善睡眠的作用。

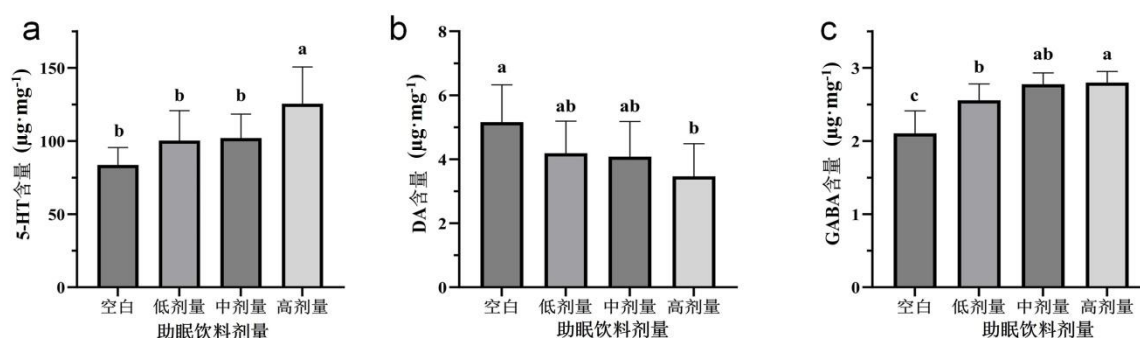


图 5 助眠饮料对小鼠脑组织中神经递质含量的影响

Fig.5 The effect of sleep-aiding beverage on the contents of neurotransmitters in the brain tissues of mice

3 结论

本研究通过将高频药食同源中药与助眠活性物质相结合,成功研制出了一款新型复合助眠饮料。结果表明,助眠饮料中药汤配方为茯苓 6 g、百合 8 g、龙眼肉 7 g、枸杞 9 g 和甘草 5 g,50 g 助眠饮料中添加酸枣仁 0.8 g、L-茶氨酸 0.2 g、石榴汁 2.0 g、果葡糖浆 1.0 g,在此条件下助眠饮料的感官评分为 90.9 分;使用复合助眠饮料 30 d 后,能够有效缩短小鼠的睡眠潜伏期,增加小鼠的睡眠时间,使小鼠自主活动能力明显减弱。同时,研究结果还提示复合助眠饮料其作用途径可能是通过调节脑组织中 5-HT、DA 和 GABA 含量,维持兴奋性神经递质与抑制性神经递质之间的稳态平衡,从而发挥改善睡眠的作用。其深入的分子机制有待后续进一步研究。

参考文献

- [1] EMERT S, HUSKEY A, NAGY S, et al. Cognitive Behavioral Therapy for Insomnia Outcomes: Insomnia Identity and Insomnia Severity [J]. SLEEP, 2025, 48(Supplement_1): A252.
- [2] 王炎喆,林征,李莎,等.睡眠健康的研究新进展[J].中国全科医学,2024,27(35):4364-4369.
- [3] JIA F, SHI S Y, FEI S F, et al. Association of insomnia, lipid profile, and lipid-lowering medications: a narrative review [J]. Reviews in Cardiovascular Medicine, 2025, 26(1): 24978.
- [4] GALLAGHER V T, REILLY S E, WILLIAMS I C, et al. Patterns of sleep disturbances across stages of cognitive decline [J]. International Journal of Geriatric Psychiatry, 2023, 38(1): e5865.
- [5] BHATT P, PATEL V, MOTWANI J, et al. Insomnia and cardiovascular health: exploring the link between sleep disorders and cardiac arrhythmias [J]. Current Cardiology Reports, 2023, 25(10): 1211-1221.

- [6] LIM D C, NAJAFI A, AFIFI L, et al. The need to promote sleep health in public health agendas across the globe [J]. *The Lancet Public Health*, 2023, 8(10): e820-e826.
- [7] PAUL S, VIDUSHA K, THILAGAR S, et al. Advancement in the contemporary clinical diagnosis and treatment strategies of insomnia disorder [J]. *Sleep Medicine*, 2022, 91: 124-140.
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2025: 394-395
- [9] 韩鹏, 李冀, 胡晓阳, 等. 酸枣仁的化学成分、药理作用及临床应用研究进展[J]. *中医药学报*, 2021, 49(2): 110-114.
- [10] BIAN Z H, ZHANG W M, TANG J Y, et al. Mechanisms Underlying the Action of Ziziphi Spinosae Semen in the Treatment of Insomnia: A Study Involving Network Pharmacology and Experimental Validation [J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2021, 12: 752211.
- [11] 邓桃妹, 彭代银, 俞年军, 等. 茯苓化学成分和药理作用研究进展及质量标志物的预测分析[J]. *中草药*, 2020, 51(10): 2703-2717.
- [12] GAO Y Q, YAN HUA, JIN R R, et al. Antiepileptic activity of total triterpenes isolated from *Poria cocos* is mediated by suppression of aspartic and glutamic acids in the brain [J]. *Pharmaceutical Biology*, 2016, 54: 2528-2535.
- [13] WANG T T, HUANG H H, ZHANG Y, et al. Role of Effective Composition on Antioxidant, Anti-inflammatory, Sedative-Hypnotic Capacities of 6 Common Edible *Lilium* Varieties [J]. *Journal of Food Science*, 2015, 80(4): H857-H868.
- [14] MA Y, MA H, EUN J S, et al. Methanol extract of *Longanae Arillus* augments pentobarbital-induced sleep behaviors through the modification of GABAergic systems [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2009, 122(2): 245-250.
- [15] 李荣宇, 林少玲, 骆月姬, 等. 不同产地牛大力水提物中总黄酮、总皂苷及总多糖的含量测定[J]. *中国药师*, 2020, 23(6): 1208-1210.
- [16] GB 12456-2021. 食品安全国家标准 食品中总酸的测定[S].
- [17] GB/T 12143-2008. 饮料通用分析方法[S].
- [18] GAO S, CALDERON D P. Robust alternative to the righting reflex to assess arousal in rodents [J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 20280.
- [19] HUNSLEY M S, PALMITER R D. Altered sleep latency and arousal regulation in mice lacking norepinephrine [J]. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 2004, 78(4): 765-773.
- [20] YU L L, HAN X, CEN S, et al. Beneficial effect of GABA-rich fermented milk on insomnia involving regulation of gut microbiota [J]. *Microbiological Research*, 2020, 233: 126409.
- [21] WANG Y, CHANG J, WANG M L, et al. Effect of the composition of coating water retaining agent on the quality of conditioned chicken meatballs after frozen storage [J]. *Food Control*, 2024, 166: 110752.
- [22] 张璐, 李荣乔, 李锦, 等. 酸枣仁复配制剂改善小鼠睡眠功能的研究[J]. *食品安全导刊*, 2021, 21: 116-118.
- [23] YARIBEYGI H, HEMMATI M A, NASIMI F, et al. Empagliflozin alleviates diabetes-induced cognitive impairments by lowering nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase-4 expression and potentiating the antioxidant defense system in brain tissue of diabetic rats [J]. *Behavioural Brain Research*, 2024, 460: 114830.
- [24] KRISHNAMOORTHY N K, ROOHI T F, PEDDHA M S, et al. Evaluation of Antidepressant Activity of Capsaicin Nanoemulsion in Nicotine Withdrawal-Induced Depression in Mice [J]. *Brain Sciences*, 2023, 13(12): 1668.
- [25] 朱禹哲, 陈颖, 余美丽, 等. 酸枣仁-藤茶酒对失眠小鼠的睡眠改善作用及机制研究[J]. *中国食品添加剂*, 2024, 35: 87-93.
- [26] ZHANG R F, ZHANG L J, JIANG D S, et al. Mouse organ coefficient and abnormal sperm rate analysis with exposure to tap water and source water in Nanjing reach of Yangtze River [J]. *Ecotoxicology*, 2014, 23(4): 641-646.
- [27] VASEGHI S, ARJMANDI-RAD S, ESKANDARI M, et al. Modulating role of serotonergic signaling in sleep and memory [J]. *Pharmacological Reports*, 2022, 74(1): 1-26.
- [28] HENNER G. On the role of serotonin in sleep regulation and depression. A commentary on "Neurobiological bases for the relation between sleep and depression" (J. Adrien) [J]. *Sleep medicine reviews*, 2003, 7(1): 101-102.
- [29] MONTI J M, JANTOS H. The roles of dopamine and serotonin, and of their receptors, in regulating sleep and waking [J]. *Progress in Brain Research*, 2008, 172: 625-646.
- [30] LI K, XU E. The role and the mechanism of γ -aminobutyric acid during central nervous system development [J]. *Neuroscience Bulletin*, 2008, 24(3): 195-200.
- [31] JIANG J G, HUANG X J, CHEN J. Separation and purification of saponins from Semen *Ziziphus jujuba* and their sedative and hypnotic effects [J]. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2007, 59: 1175-1180.

- [32] KIM S, JO K, HONG K B, et al. GABA and L-theanine mixture decreases sleep latency and improves NREM sleep [J]. *Pharmaceutical Biology*, 2019, 57(1): 64-72.
- [33] 郑海云,王斌,翟永松,等.余甘子枸杞复方改善小鼠睡眠功能研究[J].*食品安全质量检测学报*,2025,16(3):208-213.