

# 大豆酸奶对秀丽隐杆线虫体内抗氧化和寿命的影响

李红丹<sup>1</sup>, 王洁<sup>1,2</sup>, 廖振林<sup>1</sup>, 王丽<sup>1</sup>, 钟青萍<sup>1</sup>, 方祥<sup>1,2\*</sup>

(1. 华南农业大学食品学院, 广东广州 510642) (2. 广东省功能食品重点实验室, 广东广州 510642)

**摘要:** 该研究旨在利用野生型秀丽隐杆线虫 N2 对一款富含大豆异黄酮苷元的大豆酸奶进行生物活性评价。采用高效液相色谱法对该大豆酸奶中大豆苷元、黄豆黄素和染料木素的含量进行分析表明, 结果表明其苷元含量比未发酵豆乳增加了 26.4 倍。采用体外抗氧化实验和野生型秀丽隐杆线虫 N2 对大豆酸奶的抗氧化活性进行评价, 发现发酵后的混合豆乳对 DPPH 自由基、超氧自由基、ABTS<sup>+</sup> 自由基的清除率分别为 98.03%、73.77%、83.37%, 比发酵前显著提高 ( $P<0.05$ )。大豆酸奶样液可将秀丽隐杆线虫的平均寿命和最大寿命分别延长 21.57% 和 22.58%; 饲喂大豆酸奶样液后, 线虫体内超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化氢酶 (CAT) 活性显著增强, 体内活性氧 (ROS) 水平显著下降 ( $P<0.05$ ), 线虫抗应激能力显著增加 ( $P<0.05$ )。说明通过乳酸菌发酵制备高苷元含量的大豆酸奶, 可有效提高产品抗氧化活性, 并能延长秀丽隐杆线虫寿命。

**关键词:** 大豆酸奶; 大豆异黄酮苷元; 抗氧化活性; 秀丽隐杆线虫

文章编号: 1673-9078(2023)04-7-12

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.4.0544

## Effects of Soybean Yogurt on Antioxidation and Lifespan of *Caenorhabditis elegans*

LI Hongdan<sup>1</sup>, WANG Jie<sup>1,2</sup>, LIAO Zhenlin<sup>1</sup>, WANG Li<sup>1</sup>, ZHONG Qingping<sup>1</sup>, FANG Xiang<sup>1,2\*</sup>

(1. College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

(2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Nutraceuticals and Functional Foods, Guangzhou 510642, China)

**Abstract:** The bioactivity of a soybean yogurt rich in soybean isoflavone aglycones using wild-type *C. elegans* N2 was evaluated. The contents of daidzein, glycitein and genistein in the soybean yoghurt were analyzed by HPLC. The results showed that the total aglycone content of the soy yogurt was 26.4 times higher than that of unfermented soy milk. The antioxidant activity of soybean yogurt was evaluated by *in vitro* antioxidant test and experiments with wild-type *C. elegans* N2. It was found that the scavenging rates for the DPPH free radicals, superoxide free radicals and ABTS<sup>+</sup> free radicals of the soybean yogurt were 98.03%, 73.77% and 83.37%, respectively, which were significantly higher than that before fermentation ( $P<0.05$ ). Furthermore, after intervention with the supernatant of soybean yogurt, the average lifespan and maximum lifespan of *C. elegans* were prolonged by 21.57% and 22.58%, respectively, the superoxide dismutase (SOD) activity and catalase (CAT) activity increased significantly ( $P<0.05$ ), the level of reactive oxygen species (ROS) in the body decreased significantly ( $P<0.05$ ), and the anti-stress ability of *C. elegans* increased significantly ( $P<0.05$ ). The results showed that the soybean yoghurt high in aglycone content prepared through lactic acid bacteria fermentation could effectively improve the antioxidant activity of the product and prolong the lifespan of *C. elegans*.

**Key words:** soybean yogurt; soybean isoflavone aglycones; antioxidant activity; *Caenorhabditis elegans*

引文格式:

李红丹, 王洁, 廖振林, 等. 大豆酸奶对秀丽隐杆线虫体内抗氧化和寿命的影响[J]. 现代食品科技, 2023, 39(4): 7-12.

LI Hongdan, WANG Jie, LIAO Zhenlin, et al. Effects of soybean yogurt on antioxidation and lifespan of *Caenorhabditis elegans* [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(4): 7-12.

收稿日期: 2022-04-30

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31871790; 31771940); 广东省重点领域研发计划项目 (2018B020205002)

作者简介: 李红丹 (1996-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品工程, E-mail: lihongdan55@163.com

通讯作者: 方祥 (1971-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: fxiang@scau.edu.cn

近年来,随着经济发展和人民群众生活水平快速提高,植物基食品开始受到消费者和资本的青睐,植物酸奶的品种和市场开始快速增长。大豆中含有多种营养成分且富含优质蛋白质,大豆蛋白是植物酸奶生产首选植物基蛋白原料<sup>[1]</sup>。大豆含有较高含量的大豆异黄酮,但大多数组分都以与葡萄糖分子结合的糖苷形式存在,难以被人体消化吸收<sup>[2]</sup>。糖苷型大豆异黄酮可通过某些微生物发酵过程中产生的 $\beta$ -葡萄糖苷酶水解而脱去结构中的糖分子,转化为苷元型大豆异黄酮,简称游离苷元。游离苷元具有更高的生物活性,且比糖苷型大豆异黄酮更容易被肠道吸收而具有更高的生物利用度<sup>[3]</sup>。Chien等<sup>[4]</sup>发现嗜热链球菌可将豆乳中游离苷元的含量提升3.3倍;李洁等<sup>[5]</sup>采用植物乳杆菌发酵豆乳,可将豆乳中大豆苷元和染料木素的含量分别提高3.1倍和7.7倍。目前国内尚无成熟的植物酸奶发酵剂,全球植物酸奶生产所用发酵剂绝大多数由美国杜邦和丹麦汉森提供,多以保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌为主干菌株的经典酸奶发酵剂菌株搭配。虽然菌株经过改良后,已基本解决在豆基蛋白中难以发酵产酸、豆腥味及后酸化的问题,但发酵的植物酸奶产生的风味不佳,需要添加其它配料或香精、香料进行调配,且这些发酵剂组合并未充分考虑豆基蛋白的营养特性,如豆基蛋白中的异黄酮等生物活性物质的转化。

本实验室在前期的研究中,筛选到4株适合豆酸奶发酵的菌株,其中风味菌乳酸乳球菌 SCB0469 发酵大豆酸奶产生良好风味;功能菌瑞士乳杆菌 SCB0641 和鼠李糖乳杆菌 SCB0119 可转化大豆异黄酮为活性游离苷元;产黏菌嗜热链球菌 SCB0351 发酵豆基蛋白产黏较好,可促进豆酸奶凝乳。本研究拟采用秀丽隐杆线虫对4株乳酸菌菌株配伍发酵豆乳制作的高游离苷元含量的大豆酸奶抗氧化等生物活性进行分析。

## 1 材料与方法

### 1.1 原料

#### 1.1.1 材料与菌种

纯豆粉购于广西冰泉公司;全脂乳粉购于恒天然集团;蔗糖为市售白砂糖;大豆异黄酮标准品、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)购于上海麦克林生化科技有限公司;2,2'-联氮双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐(ABTS)购于Sigma公司;BCA蛋白浓度测定试剂盒购于Biosharp公司;SOD活性检测试剂盒、CAT活性检测试剂盒购于北京索莱宝科技有限公司;ROS试剂盒购于碧云天生物技术公司;HPLC流动相

及试剂为色谱级,其他试剂均为分析纯。

鼠李糖乳杆菌 SCB0119(保藏号 CGMCC17618)、乳酸乳球菌 SCB0469(保藏号 CGMCC17619)、瑞士乳杆菌 SCB0641(保藏号 CGMCC17620)保藏于中国微生物菌种保藏中心;嗜热链球菌 SCB0351、秀丽隐杆线虫野生型 N2、尿嘧啶缺陷型大肠杆菌 OP50 为本实验室保藏。

#### 1.1.2 主要仪器设备

生化培养箱,天津市泰斯特仪器有限公司;高效液相色谱仪,美国 Waters 公司;光栅酶标仪,Melecular Devices;EnSpire 酶标仪,美国 PerkinElmer 公司;高速冷冻离心机,德国 Eppendorf 公司;体式显微镜,昆山市嘉莱鑫电子商行。

## 1.2 试验方法

### 1.2.1 大豆酸奶制备

#### 1.2.1.1 菌粉复溶

制备 10% (质量分数) 复原乳,于 85 °C 恒温保温 20 min。准确称取菌粉溶于 10 mL 杀菌后冷却至 40 °C 的复原乳,振荡使菌粉完全溶解。

#### 1.2.1.2 制备豆酸奶

纯豆粉 50 g,全脂乳粉 50 g,蔗糖 70 g,加入 80 °C 左右的三级水,混匀后定容至 2 L,于恒温水浴锅 85 °C 保温 20 min,进行巴氏杀菌。杀菌冷却至 40 °C 后,根据总接种量  $2.01 \times 10^9$  CFU/L 将复原乳菌液接种到混合豆乳中(CK 组不接种),搅拌均匀后分装,37 °C 发酵 13 h,4 °C 后熟 12 h 后即可取样及进行指标测定。

#### 1.2.1.3 大豆酸奶样液制备

大豆酸奶于转速 12 000 r/min、4 °C 离心 15 min,取上清液于 -4 °C 保存。在秀丽隐杆线虫实验中所用样液还需将上清液过一次无菌 0.22  $\mu$ m 微孔滤膜, -4 °C 保存备用。

### 1.2.2 大豆异黄酮含量测定

HPLC 测定条件及参数:Agilent 色谱柱-ZORBAX SB-C18(4.6 $\times$ 250 mm, 5-Micron);检测器 Waters 2695 紫外检测器;流动相:A-0.1% (V/V) 乙酸水溶液,B-100% 甲醇溶液,C-100% 乙腈溶液;柱温为 36 °C;检测波长为 260 nm。

大豆苷元 HPLC 标准曲线  $y=6\ 662.5x+2\ 275.5$ ,  $R^2=0.999\ 9$ ;染料木素 HPLC 标准曲线  $y=36\ 770x-5\ 154.9$ ,  $R^2=0.999\ 8$ ;黄豆黄素 HPLC 标准曲线  $y=10\ 447x-4\ 201.7$ ,  $R^2=0.999\ 3$ 。

大豆酸奶样品处理:量取 1 mL 大豆酸奶,用  $\phi=80\%$  甲醇溶液定容至 10 mL,在功率 200 W、24 Hz 下超声提取 20 min,摇匀后于 4 000 r/min 下离心

20 min, 吸取上清液过 0.22  $\mu\text{m}$  无菌滤膜于 1.5 mL 进样瓶中,  $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存。

### 1.2.3 体外抗氧化活性测定

#### 1.2.3.1 DPPH 自由基清除率测定

参考黄承敏<sup>[6]</sup>方法。

#### 1.2.3.2 超氧自由基清除率测定

参考齐佳慧等<sup>[7]</sup>方法并略作改动。pH 值为 8.2 的 0.05 mol/L Tris-HCl 溶液、25 mmol/L 的邻苯三酚溶液在  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  下预热 25 min。取 100  $\mu\text{L}$  样液与 300  $\mu\text{L}$  Tris-HCl 溶液和 50  $\mu\text{L}$  邻苯三酚溶液混匀, 记为  $A_1$ ,  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  准确反应 5 min 后加入 100  $\mu\text{L}$  8 mol/L HCl 溶液终止反应, 于 420 nm 处测定吸光值。计算公式如下:

$$C_0 = \frac{A_0 - A_1 + A_2}{A_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

$C_0$ ——超氧自由基清除率, %;

$A_0$ ——蒸馏水和邻苯三酚混合后的吸光值;

$A_1$ ——样液与邻苯三酚反应后的吸光值;

$A_2$ ——样液与蒸馏水混合后的吸光值。

#### 1.2.3.3 ABTS<sup>+</sup>自由基清除测定

参考谭诗敏等<sup>[8]</sup>方法并略作改动。25 mL 2.6 mmol/L 过硫酸钾溶液与 7.4 mmol/L ABTS 溶液等体积混合, 室温避光放置 12~16 h 制备 ABTS 母液。ABTS 反应液: 用 pH 值为 7.4 的 PBS 稀释 ABTS 母液, 使母液在 734 nm 处的吸光值为  $0.7 \pm 0.02$ , 避光备用。取 1.5 mL 反应液 ABTS 与 30  $\mu\text{L}$  稀释 5 倍的样液混合, 室温下避光反应 30 min 后在 734 nm 处测定吸光值, 记为  $A_4$ 。空白组以等体积蒸馏水代替 ABTS 反应液, 记为  $A_5$ 。对照组以同体积蒸馏水代替样液, 记为  $A_3$ 。取平均值。计算公式如下:

$$C_A = \frac{A_3 - A_4 + A_5}{A_3} \times 100\% \quad (2)$$

式中:

$C_A$ ——ABTS<sup>+</sup>自由基清除率, %;

$A_3$ ——蒸馏水与 ABTS 反应液混合后的吸光值;

$A_4$ ——样液和 ABTS 反应液反应后的吸光值;

$A_5$ ——样液与蒸馏水混合后的吸光值。

### 1.2.4 秀丽隐杆线虫实验

本文实验所用线虫均为经过次氯酸裂解法进行同期化处理的 L4 期线虫。培养使用线虫生长培养基 (Nematode Growth Medium, NGM), 在表面涂布有尿嘧啶缺陷型大肠杆菌 OP50 作为线虫食物, 于  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  恒温恒湿培养箱中培养。

#### 1.2.4.1 线虫寿命测定

为验证豆酸奶对秀丽隐杆线虫寿命的影响, 设计

空白组和 4 个实验组, 豆酸奶样液以与 OP50 菌液混合的方式添加, 添加比例 (V/V) 分别为 0、12.5%、25%、50%、75%。每个 OP50-NGM 培养皿放入 20~30 条同期化后生长状态良好、大小均匀一致的线虫, 放置在  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  的恒温培养箱中培养。前 12 d 每 24 h 转移线虫至新的培养皿中, 12 d 后每 48 h 转移线虫, 直至所有线虫死亡。每天观察线虫的生存状态并记录每个平板上存活、死亡的线虫数目。

#### 1.2.4.2 线虫运动水平测定

本实验通过线虫受到触碰刺激向前爬行时在一定时间内身体摆动的频率来体现其行动能力水平。各培养皿上的线虫培养至第 3、6、9、12 d 时观察 20 s 内线虫头部摆动 180 $^{\circ}$  的次数。

#### 1.2.4.3 线虫生殖能力测定

样品组和空白组各设置 5 个培养皿, 样品组为添加一定比例豆酸奶样液的 OP50 菌液, 空白组为不添加豆酸奶样液的 OP50 菌液 (以下实验同)。每个培养皿放入 1 条同期化后生长至 L4 时期的生长状态良好、大小均匀一致的线虫, 每 24 h 将线虫转移至新的 OP50-NGM 培养皿, 直至线虫产卵结束, 继续在  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  恒温培养箱中培养 48 h, 在体式显微镜下计数皿上线虫的数量。

#### 1.2.4.4 体内抗氧化活性测定

参考杨雪妍<sup>[9]</sup>方法并稍作改动。培养好的线虫用缓冲液冲洗至离心管中 (约 1 000 条虫), 清洗干净后去除多余的缓冲液, 液氮速冻后用研磨杵使虫体破碎, 振荡器振荡 2 min, 8 000 r/min、 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  离心 10 min, 取上清液静置于冰上保存备用。上清液用 BCA 法蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白质浓度, 按照试剂盒说明书测定 SOD 活性、CAT 活性、ROS 含量。

#### 1.2.4.5 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导氧化应激线虫寿命测定

线虫培养至 6 d 后, 转移至新 NMG 培养皿上, 加入 1 mL 0.2% 的  $\phi=30\%$  过氧化氢溶液, 每 30 min 用体式显微镜观察线虫并计算死亡和存活的线虫数量, 直至所有线虫死亡<sup>[10]</sup>。判断线虫死亡的标准与寿命实验同。

#### 1.2.4.6 急性热应激线虫寿命测定

线虫培养至 6 d 后, 转移至没有食物的 NGM 培养皿上, 放入  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  的培养箱内培养, 每 1 h 用体式显微镜观察线虫并计算死亡和存活的线虫数量, 直至所有线虫死亡<sup>[11]</sup>。判断线虫死亡的标准与寿命实验相同。

### 1.2.5 数据分析

实验数据以平均值  $\pm$  标准差 (Mean  $\pm$  SD) 表示。采用 IBM SPSS Statistics 26 单因素方差分析法进行显著分析; 采用 Prism 进行生存分析及作图; 平均寿命采用 IBM SPSS Statistics 26 生存分析; 采用 Excel 及

Origin 2021b SR2 作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 大豆酸奶中游离苷元的含量

采用 4 种复配方法, 接种量  $2.01 \times 10^9$  CFU/L、37 °C、发酵 13 h 发酵大豆酸奶。结果发现 4 种复配方式发酵的大豆酸奶中大豆苷元及染料木素的含量均比未发酵豆乳显著升高, 黄豆黄素在大豆中含量低故变化趋势相对不明显。2 组、3 组是风味菌株、功能菌株和产黏菌株的三菌配伍组合, 从图 1 中可以看出, 功能菌株采用 SCB0641 时, 三种游离苷元含量均显著高于含 SCB0119 的组合 ( $P < 0.05$ ), 这可能与单菌的发酵能力有关。4 组的 4 菌联合发酵时的大豆异黄酮的转化效果最优, 发酵后混合豆乳中的游离苷元含量最高, 总苷元含量达到 470.41  $\mu\text{g/mL}$ , 比发酵前的 17.82  $\mu\text{g/mL}$  增长了 26.4 倍, 也显著高于其它组合 ( $P < 0.05$ ) (参见图 1), SCB0641、SCB0119 两株功能菌株联用时可能产生协同转化作用。综合以上分析, 4 菌联合发酵为大豆酸奶最佳配伍, 可有效转化大豆异黄酮, 选取该组大豆酸奶进行生物活性等分析。

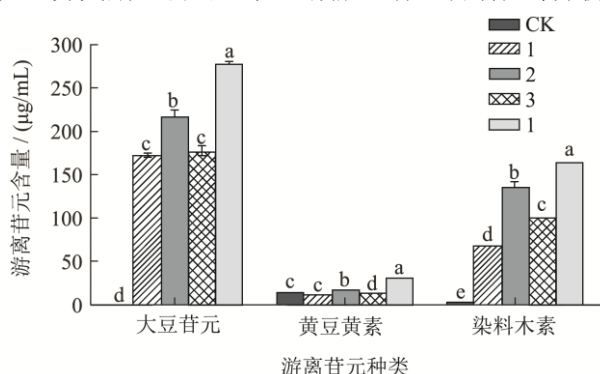


图 1 不同菌株组合发酵大豆酸奶中游离苷元的含量

Fig.1 Effects of content of aglycones in mixed soymilk by fermenting of *Lactobacillus*

注: 不同小写字母表示组间具有显著差异 ( $P < 0.05$ ), 下图同。CK 组表示未发酵的混合豆乳; 1 为接种 SCB0469、SCB0351; 2 为接种 SCB0469、SCB0351、SCB0641; 3 为接种 SCB0469、SCB0351、SCB0119; 4 为接种 SCB0469、SCB0351、SCB0641、SCB0119。

### 2.2 大豆酸奶的体外抗氧化活性

与 CK 组相比, 乳酸菌发酵后的大豆酸奶对 DPPH 自由基、超氧自由基、ABTS 自由基的清除率显著增加 ( $P < 0.05$ ) (表 1)。豆乳发酵后, 不仅游离苷元含量增加, 其他抗氧化活性物质如大豆肽、维生素、多酚等具有抗氧化活性的物质含量也显著增加<sup>[12]</sup>, 各

物质共同作用使大豆酸奶的体外抗氧化能力显著提升。研究表明, 植物乳杆菌、干酪乳杆菌发酵均可有效提高豆乳的抗氧化能力, 发酵豆乳的体外自由基清除率与还原能力比发酵前显著增加 ( $P < 0.05$ )<sup>[13,14]</sup>。

表 1 大豆酸奶的体外抗氧化能力

Table 1 Determination of antioxidant capacity of soybean yogurt

样品	DPPH 自由基清除率/%	超氧自由基清除率/%	ABTS <sup>+</sup> 自由基清除率/%
大豆酸奶	48.63 ± 0.06 <sup>b</sup>	40.25 ± 0.16 <sup>b</sup>	47.38 ± 0.95 <sup>b</sup>
CK 组	98.03 ± 0.30 <sup>a</sup>	73.77 ± 2.65 <sup>a</sup>	83.37 ± 1.08 <sup>a</sup>

注: 不同小写字母表示组间具有显著差异 ( $P < 0.05$ ), 下表同。

### 2.3 大豆酸奶对线虫寿命的影响

将大豆酸奶上清液以不同添加量对秀丽隐杆线虫进行饲喂, 探究对线虫的延寿作用, 确定其有效添加浓度。由图 2 可知, 12.5% 体积分数组和 75% 体积分数组线虫的生存曲线与空白组相比无显著差异 ( $P > 0.05$ ), 而 25%、50% 体积分数组的曲线均比空白组显著右移, 25% 体积分数组对线虫的寿命延长作用极显著 ( $P < 0.001$ )。Zhou 等<sup>[15]</sup>用发酵乳杆菌发酵豆乳对衰老模型小鼠进行干涉, 结果表明发酵豆乳可在氧化诱导的衰老小鼠体内发挥抗氧化作用、降低肝脏的氧化损伤, 作用机制可能与游离苷元 (增加 2.9 倍) 和大豆肽 (增加 2.6 倍) 的含量增加有关。

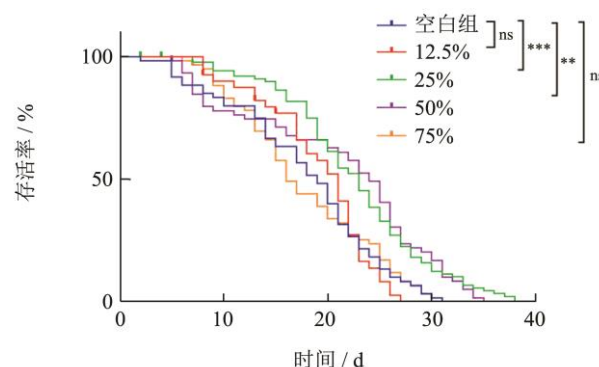


图 2 不同浓度大豆酸奶样液处理对线虫寿命的影响

Fig.2 Effects of different concentrations of soybean yogurt on the lifespan of nematodes

注: 空白组为未添加大豆酸奶样液, 图标比例表示大豆酸奶样液的添加比例, ns 表示与空白组相比无统计学差异  $P > 0.05$ , \*\* 表示与空白组相比有显著差异  $P < 0.01$ , \*\*\* 表示与空白组相比差异极其显著  $P < 0.001$ 。

综上, 当大豆酸奶样液在 OP50 菌液中的添加浓度为 25% 时, 能显著延长秀丽隐杆线虫的寿命。

### 2.4 大豆酸奶对线虫运动能力的影响

线虫的生命活动会随着生长发育及衰老的过程逐渐减慢，因此线虫的行动力能够反映其衰老的程度<sup>[16]</sup>。由图3可知，线虫的运动水平随寿命增加而降低，培养至12 d时，线虫的运动水平较开始时有明显下降，25%、50%、75%浓度组线虫的运动能力均显著高于空白组，且25%浓度组线虫在培养第12 d时仍有较好的行动能力，在20 s内可180°摆动15次，变化趋势与生存曲线一致。说明大豆酸奶样液在延长线虫寿命的同时提升线虫的运动能力。

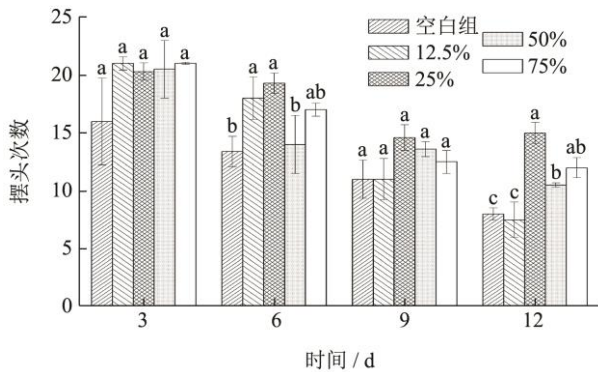


图3 不同浓度大豆酸奶样液处理对线虫运动能力的影响

Fig.3 Effects of different concentrations of soybean yogurt on the motility of nematodes

### 2.5 大豆酸奶对线虫繁殖能力的影响

研究表明，线虫机体会选择降低繁殖率为延长的寿命提供足够的能量<sup>[17,18]</sup>。本实验为检验大豆酸奶样液在延长秀丽隐杆线虫寿命的同时对其生殖能力的影响。由图4可知，样品组线虫的单日及总繁殖数量与空白组差异不显著 ( $P>0.05$ )，因此我们认为样品组线虫在延长寿命的同时未造成生殖损伤。刘星雨等<sup>[19]</sup>研究结果表明，牛乳睡眠肽在延长线虫寿命的同时不会损害其生殖能力，与本实验研究结果相似。

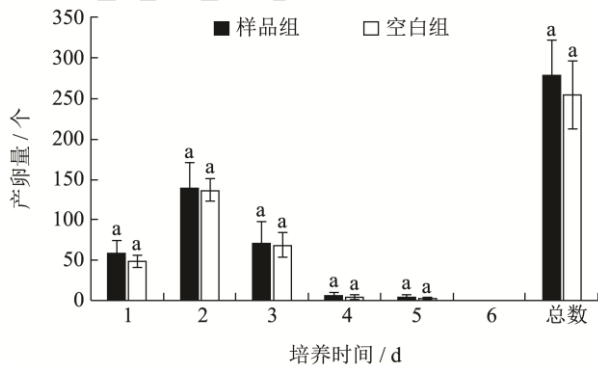


图4 大豆酸奶对线虫繁殖能力的影响

Fig.4 Effect of soybean yogurt on reproduction ability of nematode

### 2.6 大豆酸奶对线虫体内抗氧化酶活性的影响

线虫体内抗氧化酶活性水平可以反应其生长发育状态，衰老过程中或受到抗氧化应激时，细胞内抗氧化酶活性降低，导致氧自由基过度积累引发氧化应激从而加速衰老<sup>[20]</sup>。由表2可知，与空白组相比，样品组线虫体内SOD活性、CAT活性均显著增加，同时体内ROS水平显著下降 ( $P<0.05$ )。说明大豆酸奶样液可能通过提高线虫体内抗氧化酶活性、减少积累的氧自由基含量以延缓线虫衰老。王猛等<sup>[21]</sup>结果表明，200  $\mu\text{g/mL}$ 的褐藻多糖能显著提高线虫抗氧化酶活性 ( $P<0.05$ )，SOD活性与CAT活性比对照组相比分别提高1.83倍和1.75倍。本实验表明，25%的大豆酸奶样液可使线虫体内SOD活性、CAT活性比空白组分别提高1.5倍和1.86倍。

表2 大豆酸奶对线虫体内抗氧化酶活性的影响

Table 2 Activity of antioxidant enzymes in nematodes treated with soybean yogurt

组别	SOD活性 / (U/mg prot)	CAT活性 / (U/mg prot)	ROS水平 / %
空白组	11.74±0.85 <sup>b</sup>	236.19±89.84 <sup>b</sup>	100 <sup>a</sup>
样品组	17.63±0.54 <sup>a</sup>	440.11±55.51 <sup>a</sup>	88.18±0.68 <sup>b</sup>

注：prot表示蛋白质。

### 2.7 大豆酸奶对应激条件下线虫寿命的影响

表3 线虫存活时间统计分析

Table 3 Statistical analysis of nematode survival

状态	组别	平均寿命/h	中位寿命/h	最大寿命/h
热应激	空白组	7.57±0.21	8.00±0.25	11
	样品组	8.50±0.22 <sup>**</sup>	8.00±0.29	12
$\text{H}_2\text{O}_2$ 诱导应激	空白组	1.26±0.06	1.50±0.04	2.5
	样品组	1.63±0.08 <sup>*</sup>	1.50±0.11	2.5

注：\*表示与空白组相比有显著差异  $P<0.05$ ；\*\*表示与空白组相比有极显著差异  $P<0.01$ 。

为进一步了解大豆酸奶样液干涉下线虫对不良环境的耐受性的影响，本实验测定了线虫在两种应激条件下的生存率。由表3可知，样品组线虫在  $\text{H}_2\text{O}_2$  诱导的氧化应激条件下的平均寿命显著延长 ( $P<0.05$ )；37  $^\circ\text{C}$ 热应激环境下的平均寿命极显著延长 ( $P<0.01$ )，最大寿命延长1 h。说明大豆酸奶能在一定程度上提高线虫的抗氧化应激能力。Maryam等<sup>[22]</sup>一项随机对照临床实验表明，益生菌发酵豆奶可以通过提高糖尿病患者抗氧化酶水平、降低氧化应激指标以减轻患者氧化应激，并认为可能与发酵豆乳中大豆异黄酮苷元、多酚等含量及抗氧化活性的增加有关。说明益生菌发



酵豆奶具有减少机体氧化应激的潜力, 与本研究结论一致。

### 3 结论

本实验采用豆酸奶发酵风味菌株 SCB0469 与功能菌株 SCB0641 和 SCB0119 及产黏菌株 SCB0351 进行配伍发酵, 有效转化大豆酸奶中的大豆异黄酮, 产品中大豆异黄酮苷元的含量显著增加, 较未发酵样品提高 26.4 倍。综合体外和体内的实验结果发现, 所制得的大豆酸奶可有效清除 DPPH 自由基、ABTS<sup>+</sup> 自由基及超氧自由基, 并可显著提升野生型秀丽隐杆线虫 N2 的体内抗氧化酶活性水平、抗氧化应激能力, 显著延缓线虫衰老, 表现出较好地功能性。植物酸奶因为健康的特性越来越受到消费者的喜爱, 本研究为发酵功能性植物蛋白产品的开发奠定良好的基础。

### 参考文献

- [1] Boeck T, Sahin A W, Zannini E, et al. Nutritional properties and health aspects of pulses and their use in plant-based yogurt alternatives [J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2021, 20(4): 3858-3880.
- [2] Izumi T, Piskula m K, Osawa S, et al. Soy isoflavone aglycones are absorbed faster and in higher amounts than their glucosides in humans [J]. *The Journal of Nutrition*, 2000, 130(7): 1695-1699.
- [3] Carbonel A A, Calio M L, Santos M A, et al. Soybean isoflavones attenuate the expression of genes related to endometrial cancer risk [J]. *Climacteric*, 2015, 18(3): 389-398.
- [4] Chien H, Huang H, Chou C. Transformation of isoflavone phytoestrogens during the fermentation of soymilk with lactic acid bacteria and bifidobacteria [J]. *Food Microbiology*, 2006, 23(8): 772-778.
- [5] 李洁, 鲁皓, 刘柳, 等. 益生菌发酵豆乳对提高结合态大豆异黄酮转化的效果[J]. *食品与发酵工业*, 2022, 48(9): 91-96.
- [6] 黄承敏. 植物乳杆菌 Y-20 的分离鉴定及其所产胞外多糖的抗氧化作用研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2019.
- [7] 齐佳慧, 韩秋菊, 王菲, 等. 木贼麻黄多糖的提取及体外抗氧化活性研究[J]. *中国现代应用药学*, 2018, 35(9): 1342-1346.
- [8] 谭诗敏, 罗志刚, 程建华. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Vc 降解对香水莲花多糖结构与活性的影响[J]. *食品科学*, 2021, 42(24): 48-53.
- [9] 杨雪妍. 柑橘黄酮抗氧化、抗增殖及抗衰老活性研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2020.
- [10] 魏召艺. 两种药物对秀丽隐杆线虫生命周期的影响研究[D]. 郑州: 河南大学, 2019.
- [11] 张聪慧. 大豆异黄酮代谢产物对秀丽隐杆线虫的抗衰老作用及其机制研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2014.
- [12] Jayachandran M, Xu Baojun. An insight into the health benefits of fermented soy products [J]. *Food Chemistry*, 2019, 271: 362-371.
- [13] Wang Arong, Hou Kairong, Mu Guangqing, et al. Antioxidative effect of soybean milk fermented by *Lactobacillus plantarum* Y16 on 2, 2'-azobis (2-methylpropionamide) dihydrochloride (ABAP)-damaged HepG2 cells [J]. *Food Bioscience*, 2021, 44: 101120.
- [14] 侯凯荣, 妥彦峰, 牟光庆. 干酪乳杆菌 16 发酵豆乳工艺优化及抗氧化性研究[J]. *食品与机械*, 2020, 36(6): 193-197.
- [15] Zhou Xianrong, Du Hanghang, Jiang Meiqing, et al. Antioxidant effect of *Lactobacillus fermentum* CQPC04-fermented soy milk on D-galactose-Induced oxidative aging mice [J]. *Frontiers in Nutrition*, 2021, 8: 727467.
- [16] 黄子亮. 秀丽隐杆线虫运动能力的衰减及其干预研究[D]. 广州: 广东药科大学, 2021.
- [17] Mukhopadhyay A, Tissenbaum H A. Reproduction and longevity: secrets revealed by *C. elegans* [J]. *Trends in Cell Biology*, 2007, 17(2): 65-71.
- [18] Kirkwood T B L. Understanding the odd science of aging [J]. *Cell*, 2005, 120(4): 437-447.
- [19] 刘星雨, 曹素芳, 朱秋轶, 等. 牛乳源促睡眠肽的体外抗氧化活性评价及对秀丽隐杆线虫的体内抗氧化作用[J]. *食品科学*, 2022, 43(5): 151-157.
- [20] Pizzino G, Irrera N, Cucinotta M, et al. Oxidative stress: Harms and benefits for human health [J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 2017: 8416763.
- [21] 王猛, 关思宇, 于杰, 等. 褐藻多糖的体外抗氧化活性及其延长秀丽隐杆线虫的寿命[J]. *现代食品科技*, 2022, 38(4): 1-9.
- [22] Miraghajani M, Zaghian N, Mirlohi M, et al. The impact of probiotic soy milk consumption on oxidative stress among type 2 diabetic kidney disease patients: A randomized controlled clinical trial [J]. *Journal of Renal Nutrition*, 2017, 27(5): 317-324.