

# 自制淡豆豉对 SD 大鼠急性酒精性肝损伤的保护作用

赵文俊, 叶倩君, 李伟杰, 赵超凡, 彭东, 杜冰, 黎攀\*

(华南农业大学食品学院, 广东广州 510642)

**摘要:** 探究淡豆豉对急性酒精性肝损伤大鼠的肝保护作用; 用低、高剂量[5 g/(kg·bw)、10 g/(kg·bw)]的淡豆豉对大鼠进行为期一周的预处理, 再用 12 mg/(kg·bw) 52° 红星二锅头一次性灌胃造成大鼠急性酒精性肝损伤, 分别测定大鼠血清谷草转氨酶 (AST)、谷丙转氨酶 (ALT)、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 等指标和肝脏中乙醇脱氢酶 (ADH)、细胞色素 P4502E1 (CYP2E1)、超氧化物歧化酶 (SOD) 等指标, 并采用 H&E 染色观察肝组织形态。结果表明, 不同剂量的淡豆豉能够抑制血清中 AST、ALT、和 ALP 水平的升高, 抑制率最高为 47.18%; 不同剂量淡豆豉和阳性对照均能显著降低炎症因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-6 的水平, 其中高剂量淡豆豉对 IL-1 $\beta$  水平的抑制率达到了 72.03%; 高剂量淡豆豉预处理使肝组织中 CAT 的酶活升高到 312.80 U/mg prot, SOD 和 GSH-Px 的水平也显著高于模型组 ( $p < 0.01$ ); 肝组织切片结果表明淡豆豉能改善大鼠肝细胞损伤程度。因此, 自制淡豆豉对 ALD 具有保护作用, 主要是通过降低炎症反应和提高抗氧化能力实现的。

**关键词:** 自制淡豆豉; 酒精性肝损伤; 乙醇脱氢酶; 抗氧化

文章编号: 1673-9078(2022)11-11-19

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.11.1384

## Protective Effect of Self-made Fermented Black Beans on Acute Alcoholic Liver Injury in SD Rats

ZHAO Wenjun, YE Qianjun, LI Weijie, ZHAO Chaofan, PENG Dong, DU Bing, LI Pan\*

(College of Food Science, South China Agriculture University, Guangzhou 510642, China)

**Abstract:** The protective effect of fermented black soybeans against acute alcoholic liver injury was investigated in rats. Rats were pretreated with the fermented black soybeans at a low or high dosage [5 g/(kg·bw); 10 g/(kg·bw)] for one week, then subjected to acute alcoholic liver injury caused by a single administration of 52° Red Star Erhuotou [12 mg/(kg bw)]. Glutamic oxalyl transaminase (AST), glutamic alanine transaminase (ALT), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in the serum, and the alcohol dehydrogenase (ADH), cytochrome P4502E1 (CYP2E1) and superoxide dismutase (SOD) in the liver were measured. The morphology of the liver tissues was observed by H&E staining. The results showed that the increases of AST, ALT and ALP levels in the serum were inhibited by the pretreatments with different doses of fermented black soybeans, with the highest inhibitory rate up to 47.18%. The levels of inflammatory factors TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-6 were reduced by the pretreatments with different doses of fermented black soybean and the positive controls, with the high dose of fermented black soybeans inhibiting IL-1 $\beta$  by 72.03%. The enzymatic activity of CAT in the liver increased to 312.80 U/mg prot by the pretreatment with the high dose of fermented black soybean, with the levels of SOD and GSH-Px also significantly higher than those of the model group ( $p < 0.01$ ). The results of liver tissue sections showed that fermented black soybeans ameliorated the extent of hepatocyte damage in rats. Thus, the self-made fermented black soybeans has a protective function against ALD, mainly by reducing the inflammatory response and increasing the antioxidant capacity.

**Key words:** self-made fermented black soybeans; alcoholic liver injury; ethanol dehydrogenase; antioxidant activity

引文格式:

赵文俊, 叶倩君, 李伟杰, 等. 自制淡豆豉对 SD 大鼠急性酒精性肝损伤的保护作用[J]. 现代食品科技, 2022, 38(11): 11-19

ZHAO Wenjun, YE Qianjun, LI Weijie, et al. Protective effect of self-made fermented black beans on acute alcoholic liver injury in SD rats [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(11): 11-19

收稿日期: 2021-12-09

基金项目: 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系资助 (CARS-21); 广东省重点领域研发计划项目 (2020B020226008); 广东省自然科学基金项目 (2020A1515011268)

作者简介: 赵文俊(1998-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品加工与安全, E-mail: m18344434234@163.com

通讯作者: 黎攀(1990-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 新食品原料有效成分评价, E-mail: lp19900815@scau.edu.cn

由饮酒造成的酒精性肝病 (Alcohol Liver Disease, ALD) 是最常见的肝疾病之一, 近年来, 随着人们对酒精摄入量的增加, ALD 的发病率也越来越高, 这引起了全世界的关注<sup>[1]</sup>。研究表明, 氧化应激是 ALD 发病的主要机制, 酒精在代谢的过程中产生大量的活性氧 (ROS), 进而造成机体氧化应激反应和脂质异常代谢, 严重影响机体的健康<sup>[2]</sup>。增强机体的抗氧化能力被认为是预防和治疗 ALD 的有效方式<sup>[3]</sup>。近年来, 豆类及其加工产品在酒精性肝病已有相关的研究并取得良好的研究成果, 如豆豉<sup>[4]</sup>、豆粕肽<sup>[5]</sup>、纳豆<sup>[6,7]</sup>、豆胚<sup>[8]</sup>, 但国内外鲜有对淡豆豉方面的研究, 相较于黄豆和纳豆, 黑豆拥有的异黄酮、花青素等活性物质种类和含量更丰富<sup>[9]</sup>, 抗氧化活性也更好<sup>[10]</sup>。

益生菌发酵在增强风味、减少有效成分破坏<sup>[11]</sup>、提高发酵效率<sup>[12]</sup>等方面有着重要的作用。淡豆豉 (Fermented Black Soybeans, FS) 是以黑豆为原料, 辅以桑叶、青蒿经发酵而成的药食同源产品。淡豆豉中富含多种活性成分<sup>[13]</sup>, 这些活性成分例如大豆异黄酮、花色苷具备降低胆固醇和保护心血管疾病的功效, 也能通过降低细胞内 ROS 的水平来抑制肝损伤。此外, 淡豆豉中的溶栓酶是继纳豆激酶之后发现的一种具有强烈溶解血栓纤维蛋白功能的丝氨酸蛋白酶<sup>[9]</sup>, 已有研究证明溶栓酶在酒精性肝病中有良好的预防和治疗效果<sup>[14]</sup>, 推测淡豆豉在保护酒精性肝损伤方面也有积极的作用。

本课题组前期利用乳酸芽孢杆菌 DU-106 和中国根霉 12 复合菌种发酵黑豆并对其进行工艺优化得到高大豆异黄酮和高溶栓酶活性的淡豆豉<sup>[15]</sup>, 鉴于此, 本研究利用课题组的淡豆豉探究其是否对急性酒精诱导的肝损伤具有保护作用, 其研究结果可以为淡豆豉在食品工业中的应用提供理论基础, 为淡豆豉的高附加值利用提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂与仪器

淡豆豉, 新资源与功能性原料研究及评价中心, 其中蛋白质 45.5 g/100 g, 总黄酮 20.0 mg/100 g, 溶栓酶活性 15 531 IU/g<sup>[15]</sup>; 金昭胶囊, 无限极有限公司提供, 主要原料为葛根、枳椇子、栀子, 总黄酮 500 mg/100 g; 56°红星二锅头白酒, 北京红星股份有限公司; 血乙醇 (ALC)、丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶 (AST)、碱性磷酸酶 (ALP)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、总超氧化物歧化酶 (SOD)、乙醇脱氢酶 (ADH)、乙醛脱氢酶

(ALDH) 试剂盒、总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、低密度脂蛋白 (LDL-c)、高密度脂蛋白 (HDL-c), 南京建成生物工程研究所; 肿瘤坏死因子 (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-6 (IL-6)、白细胞介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) ELISA 试剂盒、细胞色素 P4502E1 (CYP2E1) 试剂盒, 武汉华美生物工程有限公司; 所用试剂均为国产分析纯或色谱纯。

BNR07953 型酶标仪, 美谷分子仪器 (上海) 有限公司; BA210T 显微镜, Motic; YD-315 切片机, 浙江金华益迪试验器材; BMJ-A 包埋机常州中威电子仪器; 5180R 台式高速冷冻离心机, 美国 Eppendorf 公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 实验动物

SPF 级雄性 SD 大鼠, 180~220 g, 由广东省医学实验动物中心提供, 饲养于华南农业大学实验动物中心 SPF 级屏障环境, 许可证编号: SYXK (粤) 2014-0136。严格按照实验动物保护和伦理规则饲养, 保持室内温度 23 °C, 相对湿度 40%, 明暗交替各 12 h, 通风条件良好。

#### 1.2.2 淡豆豉对急性酒精中毒大鼠的降血醇作用

实验动物适应性喂养一周后, 将 SD 大鼠随机分为正常组、模型组、阳性对照组和淡豆豉组, 每组 6 只, 正常组和模型组灌胃 0.9wt% 生理盐水, 阳性对照组灌胃 2 g/(kg·bw) 金昭胶囊, 淡豆豉组灌胃 0.5 g/(kg·bw) 淡豆豉, 每天 2 次, 间隔 4 h。末次给药 30 min 后, 除正常组以外, 各组灌胃给予 52° 红星二锅头白酒 12 mL/(kg·bw) 造成 SD 大鼠急性酒精中毒, 空白组给予等量的 0.9wt% 生理盐水。分别于灌胃酒精后的 1、2、4 h 对大鼠进行眼眶静脉采血。

#### 1.2.3 淡豆豉对急性酒精中毒大鼠的解酒机制研究

实验动物适应性喂养一周后, 将大鼠随机分为正常组 (NC, 0.9% 生理盐水)、模型组 (MC, 0.9% 生理盐水)、阳性对照组 (P, 2 g/(kg·bw) 金昭胶囊)、淡豆豉低剂量组 (LFS, 0.5 g/(kg·bw))、淡豆豉高剂量组 (HFS, 1 g/(kg·bw)), 每组 8 只。各组大鼠每天灌胃各组相应的样品, 每天 1 次, 持续 7 d, 末次给药 30 min 后, 除正常组以外, 各组灌胃 12 mL/(kg·bw) 的 52° 红星二锅头白酒<sup>[16,17]</sup>, 禁食不禁水 12 h 后, 用 10% 水合氯醛麻醉大鼠, 对大鼠进行腹腔动脉采血, 取大鼠的肝脏于 -80 °C 冰箱冻存备用。

#### 1.2.4 血清与肝脏生化指标的测定

将采集的血样立即置于 4 °C 冰箱自然沉降 1 h 后,

于冷冻离心机离心 (4 °C, 3 000 r/min) 15 min, 取上清液待测。血清生化指标 ALC、AST、ALT、ALP、ADH、ALDH、CYP2E1、TC、TG、LDL-C、HDL-c 等指标按照试剂盒说明书进行检测; 血清 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 水平按酶联免疫吸附测定试剂盒说明书测定。

称取约 0.2 g 肝脏组织加入 9 倍体积的生理盐水 ( $m:V=1:9$ ) 于研磨机中研磨, 离心 (4 °C, 3 000 r/min) 15 min, 取上清液待测。按试剂盒说明书方法检测肝脏中 AST、ALT、ALP、ADH、ALDH、CYP2E1、CAT、SOD、GSH-Px 酶活。

### 1.2.5 肝组织形态学分析

取肝左叶同一部位组织块, 立即置入 10% 的中性甲醛中固定 24 h, 乙醇梯度脱水后进行石蜡包埋与苏木精-伊红染色法 (HE 染色) [18], 采像为普通光学显微镜采集, 挑选出具有代表性的图片。

### 1.2.6 数据处理及分析

实验数据以“平均值 $\pm$ 标准差”表示, 采用软件 SPSS 26.0 进行统计分析。不同实验组组间差异采用单因素方差分析 (One-Way ANOVA), 采用 GraphPad Prism 8 绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 淡豆豉对大鼠血清乙醇浓度的影响

由表 1 可知, 正常组乙醇浓度为零, 模型组乙醇浓度高于其它组, 说明急性酒精中毒造模成功。酒后 2 h 模型组大鼠血乙醇浓度急剧上升 (1 294.05 mg/L), 显著高于阳性对照组和淡豆豉组 ( $p<0.01$ ), 酒后 4 h, 各组大鼠的血醇浓度降低, 淡豆豉组大鼠血醇水平最低, 为 560.36 mg/L, 与模型组相比 (1 044.71 mg/L) 差异达到极显著水平 ( $p<0.01$ )。结果表明, 淡豆豉能够有效抑制血乙醇浓度的升高并具有降血醇作用, 该实验为后续淡豆豉解酒机制提供依据。

表 1 淡豆豉对急性酒精中毒大鼠血醇浓度的影响 (mg/L)

组别	1 h, ALC	2 h, ALC	4 h, ALC
正常组	0	0	0
模型组	764.64 $\pm$ 186.77 <sup>#</sup>	1 294.05 $\pm$ 81.99 <sup>##</sup>	1 044.71 $\pm$ 105.23 <sup>##</sup>
阳性对照组	697.95 $\pm$ 190.92	940.66 $\pm$ 208.14 <sup>**</sup>	707.45 $\pm$ 209.17 <sup>**</sup>
淡豆豉组	676.58 $\pm$ 299.31	766.91 $\pm$ 241.53 <sup>**</sup>	560.36 $\pm$ 169.51 <sup>**</sup>

注: <sup>#</sup> $p$  表示与正常组相比, 差异显著 ( $p<0.05$ ); <sup>\*</sup> $p$  表示与模型组相比, 差异显著 ( $p<0.05$ ); <sup>##</sup> $p$  表示与正常组相比,

差异极显著 ( $p<0.01$ ); <sup>\*\*</sup> $p$  表示与模型组相比, 差异极显著 ( $p<0.01$ ), 下同。

### 2.2 淡豆豉对急性酒精性肝损伤大鼠保护机制研究

#### 2.2.1 淡豆豉对大鼠体质量和肝脏指数的影响

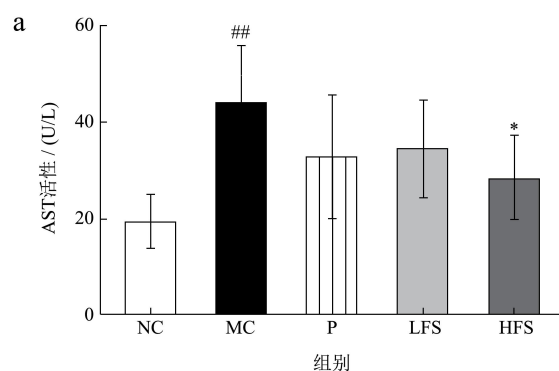
体质量被认为是公认的健康指标。在本研究中, 初始大鼠体质量没有显著差异, 7 d 后正常组大鼠体质量大于其他组, 而淡豆豉低剂量组和淡豆豉高剂量组大鼠体质量低于模型组 ( $p<0.05$ ), 而正常组大鼠体质量最高, 达到了 332.24 g, 这可能是由于灌胃样品的能量影响了动物的摄食所导致的。模型组肝脏指数 (4.00%) 与正常组 (4.09%) 相比没有显著差异, 而与模型组相比, 低、高剂量淡豆豉组显著小于模型组 ( $p<0.05$ ), 实验结果表明, 急性酒精诱导可造成大鼠肝脏指数增加, 经淡豆豉治疗的大鼠可以降低其肝脏指数。

表 2 不同组别大鼠体质量和肝脏指数

Table 2 Body weight and liver weight of different groups of rats

组别	动物数	初始体质量/g	7 d 体质量/g	肝脏指数/%
NC	8	269.11 $\pm$ 9.00	332.24 $\pm$ 11.42	4.09 $\pm$ 0.37
MC	8	271.53 $\pm$ 4.35	311.44 $\pm$ 8.48 <sup>#</sup>	4.00 $\pm$ 0.30
P	8	273.85 $\pm$ 5.82	314.79 $\pm$ 8.17	3.59 $\pm$ 0.22 <sup>*</sup>
LFS	8	271.96 $\pm$ 8.25	291.56 $\pm$ 12.59 <sup>**</sup>	3.56 $\pm$ 0.23 <sup>*</sup>
HFS	8	273.90 $\pm$ 8.42	291.65 $\pm$ 11.20 <sup>**</sup>	3.47 $\pm$ 0.20 <sup>*</sup>

#### 2.2.2 淡豆豉对大鼠血清和肝损伤相关指标的影响



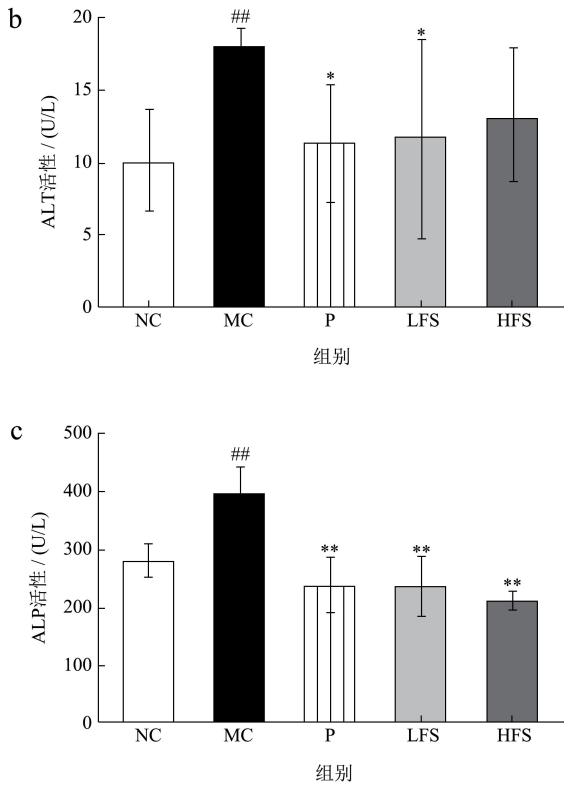


图1 大鼠血清中肝损伤相关酶的水平

Fig.1 Levels of liver injury-related enzymes in serum of rats

注：#*p*表示与正常组相比，差异显著 ( $p < 0.05$ )；\**p*表示与模型组相比，差异显著 ( $p < 0.05$ )；##*p*表示与正常组相比，差异极显著 ( $p < 0.01$ )；\*\**p*表示与模型组相比，差异极显著

( $p < 0.01$ ), 下同。

酒精性肝病的发病机制可能与氧化应激和炎症因子的产生有关<sup>[19,20]</sup>，急性肝损伤早期表现为细胞坏死或膜通透性的改变，导致 ALP、ALT、AST 释放到血液中，增加血清中 ALP、ALT、AST 的活性，因此，ALP、ALT、AST 通常作为监测肝损伤的指标<sup>[21,22]</sup>。有报道表明黑豆肽能够显著降低高脂大鼠 AST、ALT 和血脂的水平，并减轻氧化应激<sup>[23,24]</sup>，Pan 等<sup>[25]</sup>揭示豆粕肽处理能够使酒精性肝损伤大鼠 AST 和 ALT 的水平下降。本研究结果如图 1 所示，与正常组相比，大鼠血清 AST、ALT 和 ALP 的水平均显著高于正常组 ( $p < 0.01$ )，分别提高了 126.17%，79.93%和 41.53%，说明急性酒精性中毒能导致大鼠肝损伤相关指标水平急剧上升，造模成功。如图 1a 所示，与模型组相比，淡豆豉低、高剂量组血清 AST 水平降低了 20.98%、35.26%，且高剂量组差异达到显著水平 ( $p < 0.05$ )，低剂量组没有显著差异；图 1b 说明淡豆豉和金昭胶囊能够降低血清 ALT 酶活；如图 1c 所示，各治疗组均能降低大鼠血清中 ALP 酶活，差异达到极显著水平（与模型组相比， $p < 0.01$ ）。实验结果表明，急性酒精中毒能够导致大鼠急性肝损伤，进而导致相关指标的水平上升，而淡豆豉通过降低血清 AST、ALT、ALP 的酶活抑制肝损伤程度。

### 2.2.3 淡豆豉对大鼠血脂代谢的影响

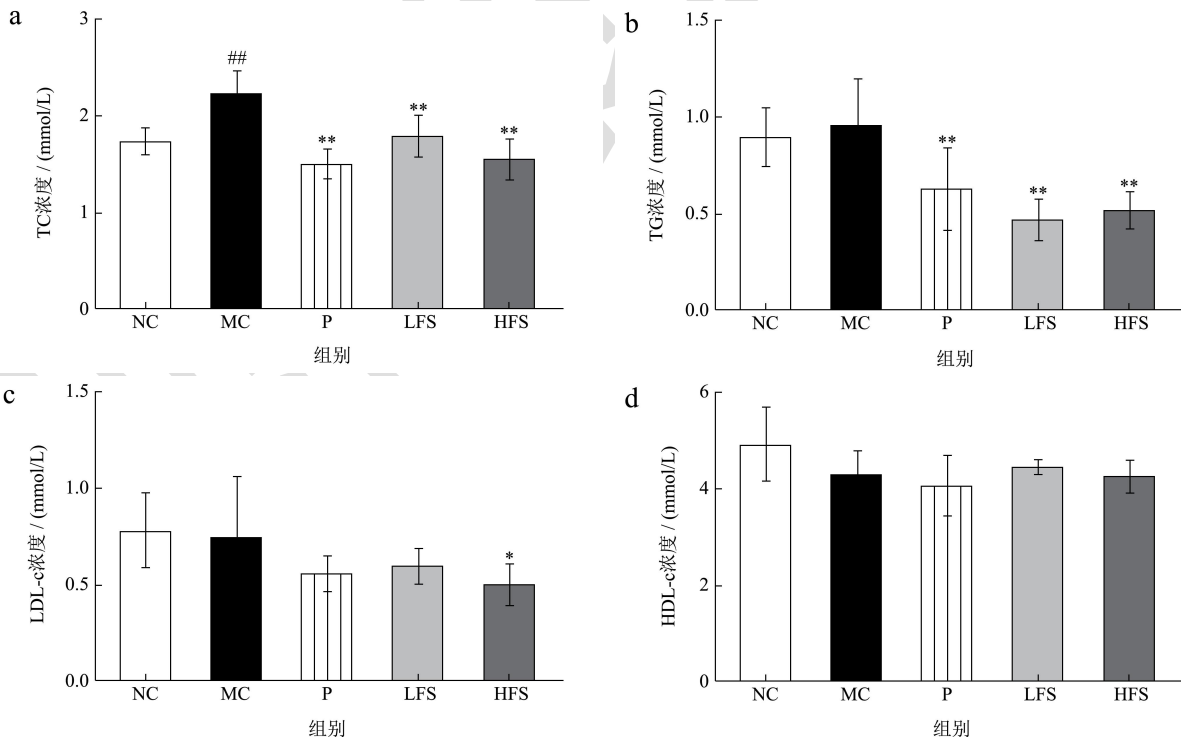


图2 大鼠血清血脂四项的含量

Fig.2 Levels of the four lipids in serum of rats

脂质代谢紊乱是酒精性肝损伤的表现之一，酒精

促进 TC 和 TG 的合成，TC 和 TG 可通过 HDL-C 从

肝脏转移到外周部位, 增加肝脏脂质含量, 从而导致ALD恶化<sup>[26]</sup>。如图2a所示, 与正常组相比, 急性酒精性肝损伤导致TC水平上升29.25%, 差异极显著( $p < 0.01$ )。而与模型组相比, 阳性对照组和淡豆豉组都能显著的抑制TC上升( $p < 0.01$ ), 且淡豆豉高剂量较低剂量效果好(与模型组相比, 下降30.43%), 与阳性对照组并无差别; 同样地, 与模型组相比, 各给药组也能显著降低TG的水平, 模型组TG水平高于正常组, 但是差异不显著(图2b)。如图2c和图2d所示, 急性酒精性肝损伤对LDL-c和HDL-c的水平没有明显的影响, 淡豆豉高剂量组可显著降低LDL-c水平。结果表明, 淡豆豉可以改善酒精诱导的脂质代谢紊乱, 可以显著降低血清TC和TG的水平, 这与PAN<sup>[25]</sup>的研究结果相似。

### 2.2.4 淡豆豉对大鼠血清炎症因子的影响

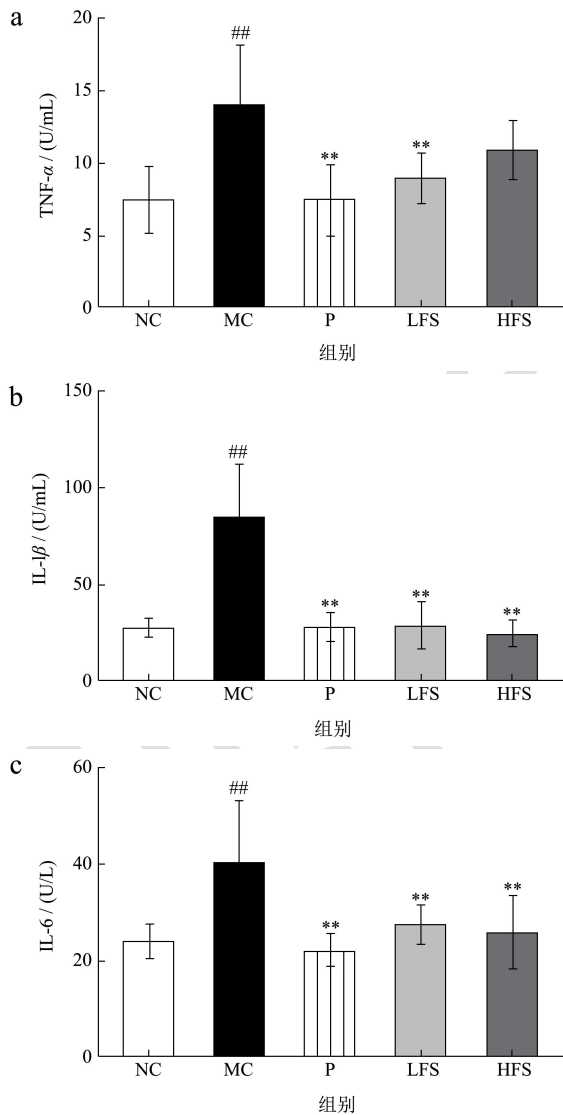


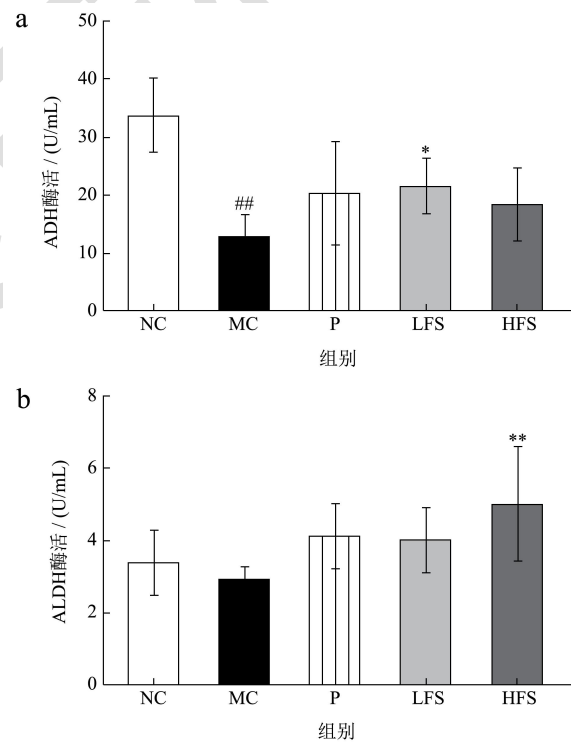
图3 大鼠血清炎症因子水平

Fig.3 Levels of inflammatory factors in serum of rats

过度饮酒还会刺激肝巨噬细胞活化并产生促炎因

子肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素- $1\beta$  (IL- $1\beta$ )、白细胞介素-6 (IL-6) 等, 进而加速炎症的发生<sup>[27]</sup>。如图3所示, 与正常组相比, 模型组中TNF- $\alpha$ 、IL- $1\beta$ 和IL-6的水平分别上升88.01%、212.85%和67.00%, 差异达到极显著水平( $p < 0.01$ ), 除淡豆豉高剂量组对TNF- $\alpha$ 水平抑制效果不显著外, 阳性对照组和淡豆豉组均能够抑制由酒精诱导的炎症因子水平升高, 且抑制效果极显著( $p < 0.01$ ), 说明淡豆豉可通过抑制炎症因子的释放而降低炎症反应。有研究表明PFP-1抑制酒精性肝损伤大鼠炎症因子的上升, 抑制效果最高55%<sup>[28]</sup>, 而本研究淡豆豉对IL- $1\beta$ 的抑制率达到了72.02%。其它研究也证明降低AST、ALT、血脂和炎症等水平是防止肝组织进一步损伤和炎症反应的有效方式之一<sup>[29,30]</sup>, 与本研究的结果类似。然而, AST、TC和TNF- $\alpha$ 这些指标只能一般性地反映肝脏发生了损伤和炎症的发生, 具体淡豆豉对酒精肝损伤的护肝机制还有待进一步探索。

### 2.2.5 淡豆豉对大鼠血清和肝脏乙醇代谢相关酶的影响



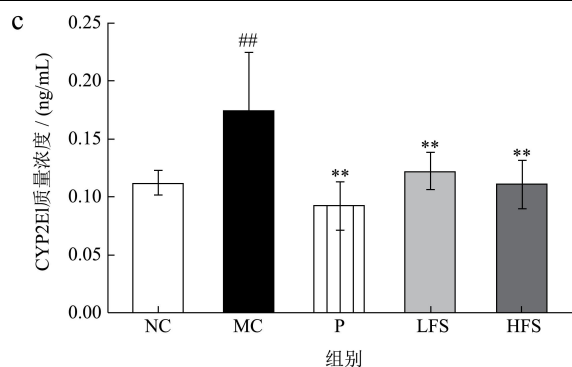


图4 大鼠血清乙醇代谢相关酶的水平

Fig.4 Levels of enzymes related to ethanol metabolism in serum of rats

酒精在机体内代谢有氧化和非氧化途径，在脱氢酶系统中，乙醇被 ADH 转化为乙醛，然后被 ALDH 氧化为乙酸，第二个主要途径是微粒体乙醇氧化系统 (MEOS)，其通过 CYP2E1 进行酒精代谢<sup>[31]</sup>。直接参与机体内酒精代谢有关酶的水平如图 4 和图 5 所示，与正常组相比，模型组血清和肝脏中 ADH 水平降低了 60%左右，且模型组血清中 ADH 与正常组相比差异极显著 ( $p < 0.01$ )。而经金昭胶囊或淡豆豉干预的大鼠，其 ADH 的水平高于模型组；CYP2E1 是参与酒精代谢另一途径的相关酶，如图 4c 和图 5c 所示，与正常组相比，模型组 CYP2E1 含量显著升高 ( $p < 0.01$ )，阳性对照组、淡豆豉低剂量和高剂量组血清中 CYP2E1 的水平分别下降了 46.24%、30.06% 和 35.29%，显著低于模型组 ( $p < 0.01$ )。在肝脏中 CYP2E1 的水平也低于模型组，但差异不显著 ( $p > 0.05$ )。实验结果说明，酒精刺激能够降低大鼠血清、肝组织中 ADH、ALDH 酶活，同时，提高 CYP2E1 的质量浓度，经淡豆豉干预能提高 ADH 和 ALDH 的酶活，降低 CYP2E1 水平。

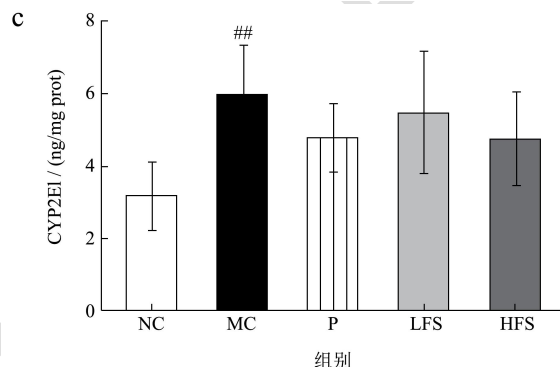
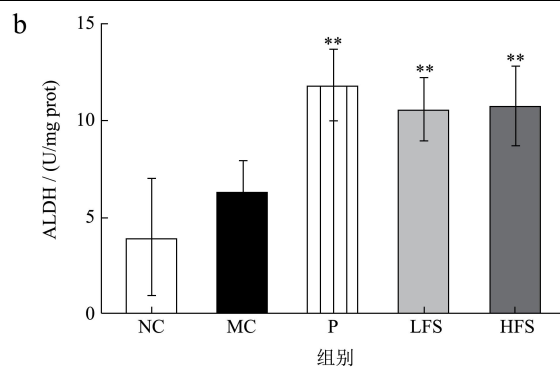
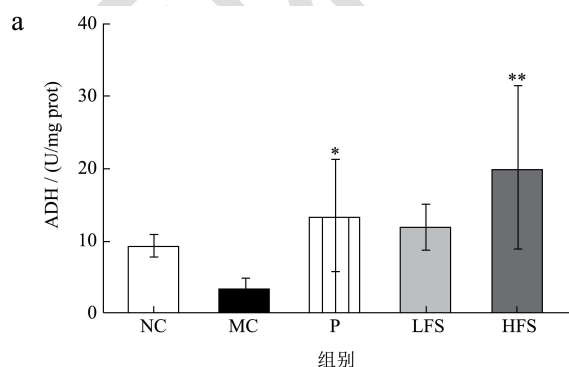


图5 大鼠肝组织中乙醇代谢相关酶的水平

Fig.5 Levels of enzymes related to ethanol metabolism in liver of rats

### 2.2.6 淡豆豉对大鼠肝脏抗氧化相关酶的影响

酒精通过上述途径代谢会产生过多的 ROS，ROS 又会导致脂质过氧化和肝脏氧化应激，过量的自由基可被 SOD、GSH-Px 和 CAT 等抗氧化酶清除，例如，在 SOD 的作用下，超氧阴离子与氢离子反应生成过氧化氢，并在 CAT 的作用下进一步转化为水，从而抑制体内的氧化应激<sup>[32]</sup>，因此，抗氧化能力在 ALD 中发挥着重要的作用。如图 6 所示，酒精处理使 CAT、SOD 和 GSH-Px 的水平降低了 56.51%、37.45% 和 48.17%，显著低于正常组 ( $p < 0.01$ )，而对大鼠进行为期 7 d 的淡豆豉或者金昭胶囊前处理能够不同程度得阻止肝脏抗氧化酶活的降低。如图 6a 和图 6c 所示，淡豆豉低、高剂量组均能极显著提高 CAT 和 SOD 的活力 ( $p < 0.01$ )，与模型组相比，金昭胶囊能够提高 CAT 活力，但没有显著差异 ( $p < 0.05$ )。图 6b 中高剂量淡豆豉与模型组相比能够极显著提高 GSH-Px 酶活 ( $p < 0.01$ )，而低剂量提升效果没有显著差异 ( $p < 0.01$ )。酒精的代谢依赖于 ADH、ALDH 和 CYP2E1 的水平，代谢过程中产生的活性氧由抗氧化酶清除<sup>[31]</sup>，实验结果表明淡豆豉能提高酒精代谢相关酶的水平，进而加快酒精代谢，并提高抗氧化酶的活力以清除 ROS。Wu 等<sup>[33]</sup>研究表明黑豆具有更高的抗氧化能力，能显著降低肝脏脂质过氧化水平。在本研究中，淡豆豉一方面可以通过提高 ADH 和 ALDH 的

酶活，加快乙醇在体内的代谢。另一方面，还能提高SOD、CAT、GSH-Px 酶活消除乙醇代谢产生的ROS，并抑制细胞色素 P4502E1 (CYP2E1) 的诱导作用，与前人的研究结果类似。因此，淡豆豉干预这两条通路的相关酶来达到解酒护肝的效果。

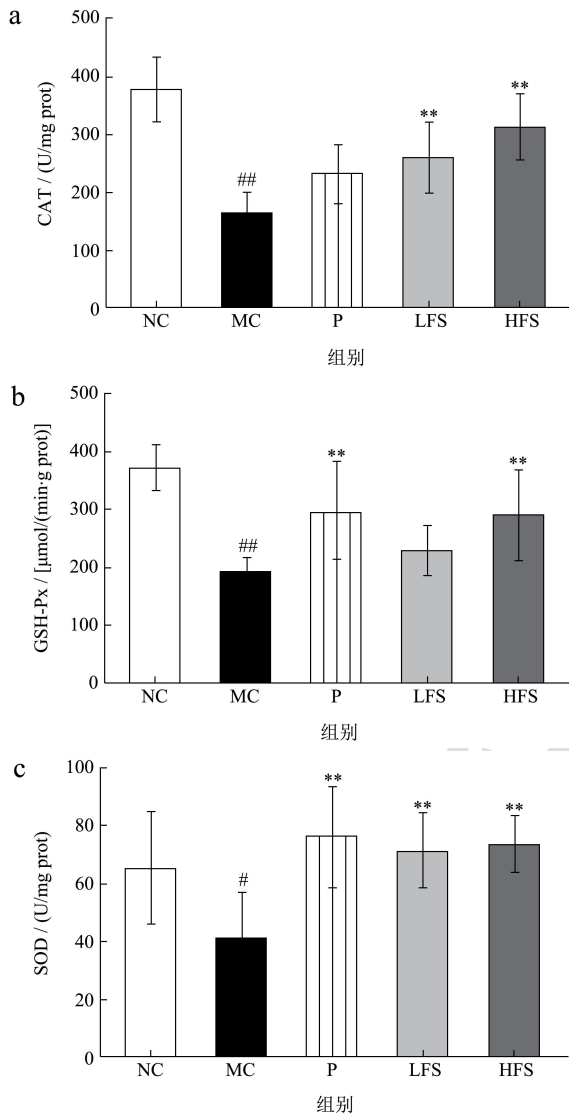


图6 大鼠肝脏抗氧化酶的水平

Fig.6 Levels of antioxidant-related enzymes in liver of rats

### 2.2.7 淡豆豉对大鼠肝组织形态的影响

为探究急性酒精中毒对大鼠肝细胞是否有影响，对大鼠肝组织形态进行观察。如图7所示，正常组肝细胞完整，分布均匀，呈规则的球状，肝小叶结构清晰，未见细胞坏死和炎症细胞浸润。而模型组肝细胞出现空泡，脂肪滴，表现出实质性的损伤。相较于模型组，淡豆豉干预后能够减轻肝细胞的损伤，偶见少量的空泡，肝索排列整齐，肝细胞无明显变性、坏死等形态学改变，其形态接近于正常组。结果表明，淡豆豉能够减轻急性酒精诱导的肝细胞实质性损伤，具有护肝作用。

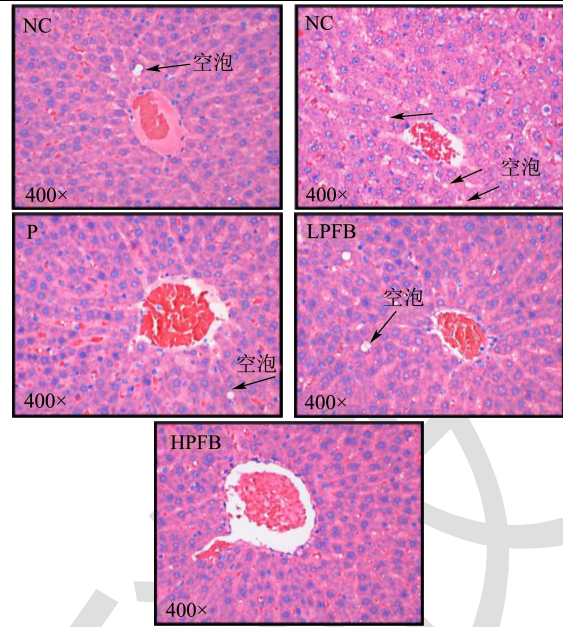


图7 大鼠肝组织切片

Fig.7 Histopathological section of the liver of rats

### 3 结论

本研究初步证明淡豆豉是通过降低炎症通路下游因子的释放和增强抗氧化通路中SOD、CAT等抗氧化酶活性来改善大鼠急性酒精性肝损伤，但是本研究还未探索与哪一炎症通路和抗氧化通路有关联。综上，本研究以急性酒精性肝损伤大鼠为模型，对淡豆豉解酒护肝作用机制进行研究，其结果表明，淡豆豉能降低酗酒大鼠血醇浓度，降低血清AST、ALT、ALP的水平，抑制TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ 的释放以降低炎症反应，并提高肝脏中ADH、ALDH、CAT等抗氧化酶活性，进而抑制氧化应激反应，达到解酒护肝的目的。本研究表明药食同源淡豆豉可作为解酒护肝的保健品，同时为黑豆及其加工产品的高附加值应用提供理论依据。

### 参考文献

- [1] Seitz Helmut K, Bataller Ramon, Cortez-pinto Helena, et al. Alcoholic liver disease [J]. Nature Reviews Disease Primers, 2018, 4(1): 16
- [2] CAI Zhan, SONG Lihua, QIAN Bingjun, et al. Understanding the effect of anthocyanins extracted from purple sweet potatoes on alcohol-induced liver injury in mice [J]. Food Chemistry, 2018, 245: 463-470
- [3] TANG Changchih, HUANG Huipei, LEE Yiju, et al. Hepatoprotective effect of mulberry water extracts on ethanol-induced liver injury via anti-inflammation and inhibition of lipogenesis in C57BL/6J mice [J]. Food and

- Chemical Toxicology, 2013, 62: 786-796
- [4] Mohd Y H, Ali N M, Yeap S K, et al. Hepatoprotective effect of fermented soybean (nutrient enriched soybean tempeh) against alcohol-induced liver damage in mice [J]. Evidence-Based Complementray and Alternative Medicine, 2013, 15: 580-585
- [5] PAN Fengguang, Cai Zhuangzhang, Ge Huifang, et al. Transcriptome analysis reveals the hepatoprotective mechanism of soybean meal peptides against alcohol-induced acute liver injury mice [J]. Food and Chemical Toxicology, 2021, 154: 112353
- [6] 郭力榕. 纳豆冻干粉解酒功效和对酒精性肝损伤保护作用的研究[D]. 上海: 华东师范大学, 2012
- GUO Lirong. Protective effect of natto dehydro freezing power against alcohol-induced liver injury in mice [D]. Shanghai: East China Normal University, 2012
- [7] 卓怡云, 吕婧, 刘颖, 等. 纳豆激酶对大鼠酒精性肝损伤的改善效果及免疫调节作用[J]. 食品科学, 2019, 40(7): 156-162
- ZHUO Yiyun, LYU Qing, LIU Ying et al. Nattokinase alleviates alcoholic liver injury and modulates immune function in rats [J]. Food Science, 2019, 40(7): 156-162
- [8] Lee Jae seok, Kim Hye yun, Park Kap joo, et al. Effects of soybean embryo on liver protection and lipid metabolism of alcohol-fed rats [J]. Food Science & Biotechnology, 2005, 14: 102-107
- [9] 陈怡, 刘洋, 覃业优, 等. 淡豆豉的生理活性和生产工艺研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(17): 5948-5954
- CHEN Yi, LIU Yang, QING Yeyou, et al. Research progress on physiological activity and processing technology of *Semen sojæ* praepatum [J]. Journal of Food Safety Quality Inspection, 2020, 11(17): 5948-5954
- [10] Sanjukta S, Sahoo D, Rai A K, et al. Fermentation of black soybean with *Bacillus* spp. for the production of kinema: changes in antioxidant potential on fermentation and gastrointestinal digestion [J]. Journal of Food Science and Technology, 2022, 59(4): 1353-1361
- [11] 阚厚远. 中药材淡豆豉有效成分含量测定方法与生产工艺的研究[D]. 保定: 河北大学, 2017
- HAN Houyuan. The effective composition content determination method and production technology research of SSP [D]. Baoding: Hebei University, 2017
- [12] 贾瑞娟, 陈旭峰, 胡开燕, 等. 山西老陈醋优良芽孢菌与醋酸菌、乳酸菌的相互作用[J]. 中国食品学报, 2021, 21(9): 57-70
- JIA Ruijuan, CHEN Xunfeng, HU Kaiyan, et al. Interaction of *Bacillus*, acetic acid bacteria and lactic acid bacteria isolated from cupei of Shanxi aged vinegar [J]. Chinese Journal of Food, 2021, 21(9): 57-70
- [13] Jayachandran M, XU Baojun. An insight into the health benefits of fermented soy products [J]. Food Chemistry, 2019, 271(15): 362-371
- [14] 李芳芳, 张蕊萌, 丛贺, 等. 榆干离褶伞溶栓酶对酒精诱导大鼠肝损伤的保护作用[J]. 食品科学, 2021, 42(17): 121-126
- LI Fangfang, ZHANG Ruimeng, CONG He, et al. Protective effects of fibrinolytic enzyme from *Lyophyllum ulmarium* on alcohol-induced liver injury in rats [J]. Food Science, 2021, 42(17): 121-126
- [15] 李俊健, 黄剑钊, 林锦铭, 等. 具有高溶栓活性的淡豆豉制备工艺优化及成分分析[J]. 中国调味品, 2021, 46(7): 7-10
- LI Junjian, HUANG Jianzhao, LIN Jingming, et al. Optimization of preparation process and component analysis of *Sojæ semen* praeparatum with high thrombolytic activity [J]. Chinese Condiments, 2021, 46(7): 7-10
- [16] XIN Shuquan, WANG Zi, HAO Weinan, et al. Liver protection effect of steamed *Codonopsis lanceolata* on alcohol-induced liver injury in mice and its main components by LC/MS analysis [J]. International Journal of Pharmacology, 2019, 15(3): 394-402
- [17] Kim Hyun Jin, Semi Kim, Seo Jin sook, et al. Effect of single-dose, oral enzymatic porcine placental extract on pharmacokinetics of alcohol and liver function in rats [J]. Alcoholism: Clinical and Experimental Research, 2020, 44(5): 1018-1024
- [18] 刘春花, 张逸凡, 王蒲, 等. 植物发酵液对小鼠慢性酒精性肝损伤的保护作用[J/OL]. 食品与发酵工业, <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.026454>
- LIU Chunhua, ZHANG Yifan, WANG Pu et al. Study on the protective effects of plant fermentation extracts on alcohol liver injury in mice [J/OL]. Food and Fermentation Industry, <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.026454>
- [19] LU Zhenming, TAO Wenyi, XU Hongyu, et al. Further studies on the hepatoprotective effect of *Anrodia camphorata* in submerged culture on ethanol-induced acute liver injury in rats [J]. Natural Product Research, 2011, 25(7): 684-695
- [20] HOU Ruolin, LIU Xin, WU Xiaoping, et al. Therapeutic effect of natural melanin from edible fungus *Auricularia auricula* on alcohol-induced liver damage *in vitro* and *in vivo* [J]. Food Science and Human Wellness, 2021, 4: 541-522
- [21] SONG Xinling, SHEN Qiang, LIU Min, et al. Antioxidant and hepatoprotective effects of intracellular mycelium



- polysaccharides from *Pleurotus geesteranus* against alcoholic liver diseases [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 114: 979-988
- [22] ZHENG Jiawen, TIAN Xiaoxiao, ZHANG Wen, et al. Protective effects of fucoxanthin against alcoholic liver injury by activation of Nrf2-mediated antioxidant defense and inhibition of TLR4-mediated inflammation [J]. Marine Drugs, 2019, 17(10): 552-566
- [23] YANG Canrui, LIAO Aimei, CUI Yixiang, et al. Wheat embryo globulin protects against acute alcohol-induced liver injury in mice [J]. Food and Chemical Toxicology, 2021, 153: 112240
- [24] DING Renbo, TIAN Ke, CAO Yiwei, et al. Protective effect of *Panax notoginseng* saponins on acute ethanol-induced liver injury is associated with ameliorating hepatic lipid accumulation and reducing ethanol-mediated oxidative stress [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2015, 63(9): 2413-2422
- [25] PAN Fengguang, CAI Zhuangzhang, GE Huifang, et al. Transcriptome analysis reveals the hepatoprotective mechanism of soybean meal peptides against alcohol-induced acute liver injury mice [J]. Food and Chemical Toxicology, 2021, 154: 112353
- [26] CHEN Xiao, CAI Fei, GUO Shuang, et al. Protective effect of *Flos puerariae* extract following acute alcohol intoxication in mice [J]. Alcoholism, Clinical and Experimental Research, 2014, 38(7): 1839-1846
- [27] 温小媛. 黑豆多糖的提取、结构及其对小鼠急性肝损伤的保护作用研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2016  
WEN Xiaoyuan. The extraction, structure and protective effect of black bean polysaccharides on acute liver injury in mice [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2016
- [28] Song X, Sun W, Cui W, et al. A polysaccharide of PFP-1 from *Pleurotus geesteranus* attenuates alcoholic liver diseases via Nrf2 and NF- $\kappa$ B signaling pathways [J]. Food & Function, 2021, 12(10): 4591-4605
- [29] SONG Xinling, SUN Wenxue, CUI Weijun et al. A polysaccharide of PFP-1 from *Pleurotus geesteranus* attenuates alcoholic liver diseases via Nrf2 and NF- $\kappa$ B signaling pathways [J]. Food & Function, 2021, 12(10): 4591-4605
- [30] JIANG Cuihua, WANG Qingqing, WEI Yujian, et al. Cholesterol-lowering effects and potential mechanisms of different polar extracts from *Cyclocarya paliurus* leave in hyperlipidemic mice [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2015, 176: 17-26
- [31] YOU Jieshu, CHEN Jianping, CHAN Jessie, et al. Effect of YH0618 soup on chemotherapy-induced toxicity in patients with cancer who have completed chemotherapy: study protocol for a randomized controlled trial [J]. Trials, 2016, 17(1): 354
- [32] LIU Xin, HOU Ruolin, YAN Junjie, et al. Purification and characterization of *Inonotus hispidus* exopolysaccharide and its protective effect on acute alcoholic liver injury in mice [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 129: 41-49
- [33] WU Shan, FENG Shuo, CI Zhaohong, et al. Fermented miso with adzuki beans or black soybeans decreases lipid peroxidation and serum cholesterol in mice fed a high-fat diet [J]. Journal of Food and Nutrition Research, 2015, 3(3): 131-137