

植物酵素发酵过程中理化成分变化规律及其对果蝇寿命的影响

邵颖^{1,2}, 陈安徽^{1,2}, 陈尚龙^{1,2}, 巫永华^{1,2}, 赵文静¹, 贺程¹, 黄勃³, 夏振荣³, 王西朴⁴

(1. 徐州工程学院食品(生物)工程学院, 江苏徐州 221111)

(2. 江苏省食品资源开发与质量安全重点实验室, 徐州工程学院, 江苏徐州 221111)

(3. 江苏康能生物工程股份有限公司, 江苏仪征 221100) (4. 江苏君乐宝乳业有限公司, 江苏徐州 221700)

摘要: 研究了植物酵素人工发酵过程中部分理化指标及体外抗氧化活性的动态变化, 并考察了酵素对果蝇寿命及体内抗氧化活性的影响。实验结果显示, 酵素发酵过程中 pH 由最初的 4.11 不断降低至发酵终点的 3.50, 还原糖含量呈现先降低后升高再降低的趋势, 最终降低到 78.78±3.24 mg/mL, 总酸和总多酚的含量最终分别达到 9.80±1.06 mg/mL 和 55.04±1.36 μg/mL; 酵素的 DPPH 自由基清除能力和还原力均随发酵的进行而增强; 野生黑腹果蝇基础培养基中添加 2% 的酵素可显著提高雄性果蝇的半数死亡时间、平均寿命和最高平均寿命($p<0.05$), 比对照组分别提高了 22.06%、15.44% 和 14.99%; 2% 剂量组雌果蝇的半数死亡时间和最高平均寿命亦均显著高于对照组($p<0.05$), 且 1% 剂量组雌果蝇的平均最高寿命也显著高于对照组; 2% 剂量组果蝇体内的 SOD 活力显著高于对照组, MDA 含量显著低于对照组, 酵素对果蝇体内 MDA 含量的降低效果更加明显。

关键词: 植物酵素; 发酵; 理化指标; 抗氧化性; 寿命

文章编号: 1673-9078(2018)03-25-31

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.03.004

Changes of Biochemical Indicators and Antioxidant Activity of Plant Ferment during Fermentation and the Effect on the Lifespan of *Drosophila melanogaster*

SHAO Ying^{1,2}, CHEN An-hui^{1,2}, CHEN Shang-long^{1,2}, WU Yong-hua^{1,2}, ZHAO Wen-jing¹, HE Cheng¹, HUANG Bo³, XIA Zhen-rong³, WANG Xi-pu⁴

(1. College of Food (Biological) Engineering, Xuzhou University of Technology, Xuzhou 221111, China)

(2. Jiangsu Key Construction Laboratory of Food Resource Development and Quality Safe, Xuzhou University of Technology, Xuzhou 221111, China) (3. Jiangsu Konen Bioengineering Company limited, Yizheng 221100, China)

(4. Jiangsu Junlebao Dairy Company Limited, Xuzhou 221700, China)

Abstract: Changes of biochemical indicators and antioxidant activity *in vitro* of plant ferment during fermentation were studied, and the effects of plant ferment on the lifespan of *Drosophila melanogaster* and antioxidant activity *in vivo* were also investigated. The results showed that pH values decreased from 4.11 to 3.50 continually during fermentation. Reducing sugar content decreased firstly, increased subsequently and then decreased at last, reaching 78.78 ±3.24 mg/mL in the end of fermentation. The contents of total acids and total polyphenol content reached 9.80±1.06 mg/mL and 55.04±1.36 μg/mL, respectively. The DPPH free radical scavenging ability and reducing power of the plant ferment increased during the fermentation. Besides, the half death time, average lifespan, and maximum average lifespan of male drosophila were significantly improved with the addition of 2% plant ferment in basic culture medium ($p<0.05$), which were higher than those of the CK group (22.60%, 15.44% and 10.82%, respectively). The half death time and maximum average lifespan of 2% dosage group of female were significantly higher than that of the control group, and the average maximum lifespan of 1% dosage group was also significantly higher than that of control group dramatically ($p<0.05$). In addition, the activity of SOD of *Drosophila Melanogaster* in 2% dosage group was higher and the

收稿日期: 2017-10-24

基金项目: 江苏省科技计划项目 (BN2016003、BE2017352)

作者简介: 邵颖 (1979-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 微生物资源开发与应用

content of MDA was lower than that of the control group ($p < 0.05$). An obvious effect of plant ferment on decline degree of MDA content was also found.

Key words: plant ferment; fermentation; biochemical indicators; inoxidizability; lifespan

植物酵素又称酶、植物发酵液,是新鲜蔬菜、水果、食用菌和药食同源植物等原料在益生菌的作用下发酵产生的一类天然的具有营养保健功效的发酵制品^[1,2]。作为生物体产生的具有催化作用的生物大分子,酵素参与人体各种代谢过程^[3,4]。研究表明,酵素中含有丰富的维生素、氨基酸、酚类、黄酮、矿物质、功能性低聚糖和功效酶等多种功能成分^[5-7],部分研究报道也提示了酵素在消炎、抗衰、抑菌、优化体内环境、抗癌、提高机体免疫、修复机体损伤等方面的生物活性^[8-12]。

酵素及酵素食品长期以来风靡于日韩、台湾及欧美发达国家,我国的酵素及其制品的生产尚处于初期发展阶段,存在着产品质量不稳定等制约其规模化发展的问题^[13,14]。目前,针对酵素的研究亦引起了较为普遍的关注,在酵素的发酵生产、产品开发及酵素和酵素制品的营养学领域的研究均有相关报道。酵素发酵原料在发酵过程中会发生特定的生物化学反应,使酵素不同发酵阶段的理化指标发生变化。为了全面探讨酵素的发酵过程,本实验研究了酵素发酵过程中 pH 值、还原糖、总多酚、总酸及体外抗氧化活性的动态变化,并且为了验证酵素的抗氧化活性及抗衰延寿功能,实验还以黑腹果蝇为实验对象按照不同剂量将植物酵素添加到果蝇基础培养基,以仅以基础培养基饲养的果蝇为对照,通过测定果蝇寿命及其体内 SOD 酶活力和 MDA 含量评价植物酵素的延寿抗衰效果。研究的进行可以为植物酵素人工发酵工艺的优化及酵素在抗氧化、延寿方面保健功效的确定提供实验证据,同时为酵素在保健品、保健食品和化妆品等领域的应用提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

植物酵素:由徐州工程学院发酵工程实验室自行发酵。

实验动物:果蝇(*Drosophila melanogaster*),野生型,由安徽农业大学生命科学学院提供。

化学试剂:95%乙醇,宜兴市第二化学试剂厂;考马斯亮蓝、冰乙酸,天津市福晨化学试剂厂;苯甲酸,天津市基准化学试剂厂;SOD 试剂盒、MDA 试

剂盒,南京建成生物工程公司。

果蝇基础饲料:玉米粉 10%,红糖 5%,酵母粉 2%,琼脂 1.5%,苯甲酸 0.15~0.4%。

1.1.2 仪器与设备

真空冷冻干燥机 LGJ-10,上海比朗仪器有限公司;手提式压力蒸汽灭菌器 YXQ.SG4.280,上海华线医用核子仪器有限公司;电热鼓风干燥箱 DHG-9053A,上海益恒实验仪器有限公司;恒温水浴锅,国华电器有限公司;梅特勒电子天平 AE200 型,上海分析仪器厂;KQ3200E 超声波清洗器,昆山超声仪器有限公司;TGL-16G 台式离心机,上海安亭科学仪器有限公司;UV2802PC 紫外-可见分光光度计,上海精密仪器仪表有限公司。

1.2 方法

1.2.1 植物酵素的发酵

将 48 种新鲜蔬菜、水果、菇类等洗净切碎后榨汁,去除滤渣后按照与滤液质量比 1:1 的比例加入白砂糖,向滤汁中按照 5%的比例接入酵母菌并于 25 °C 条件下静置发酵 5 d,然后接入 10%醋酸菌于 28 °C 条件下发酵 7 d,最后接入 5%乳酸菌于 37 °C 条件下发酵 5 d,之后转入 25 °C 条件后熟存放至第 70 d 后常温保存。发酵液经膜过滤、脱醇及巴氏杀菌处理后即得植物酵素。另外,自果蔬发酵之日开始每 7 d 测定一次发酵液的 pH 值、还原糖、总酚、黄酮、总酸的含量及 DPPH 自由基清除活性和还原力。

1.2.2 pH 测定

使用 pH 计直接测定。

1.2.3 植物酵素理化指标的测定

1.2.3.1 还原糖含量的测定

采用 3,5-二硝基水杨酸法^[15]。

1.2.3.2 总酸含量测定

采用酸碱滴定法测定^[16]。

1.2.3.3 总酚含量测定

采用 Folin-Ciocalteu 比色法(FC 法),以没食子酸为标准品测定总酚含量^[17]。实验中绘制的标准曲线回归方程为 $y = 14.654x + 0.0254$, $R^2 = 0.9953$,线性关系良好。样品中总酚含量以毫升样品的没食子酸当量(mg)表示。

1.2.4 植物酵素体外抗氧化活性测定

1.2.4.1 DPPH 自由基清除能力

参照邵颖等^[18]的方法进行。

1.2.4.2 还原力的测定

参照邵颖等^[19]的方法进行。

1.2.5 植物酵素对果蝇寿命的影响^[20]

将植物酵素分别按照 0.5%、1%、2% (V/V) 的比例添加到果蝇基础培养基, 并将在此培养基中饲喂的果蝇设置为实验组, 以基础培养基饲喂的果蝇为对照组 (CK)。选取 8 h 内孵化的果蝇, 乙醚麻醉并鉴定性别后选取大小均一的个体于斜面试管中进行饲喂, 每只试管放 10 只果蝇, 每个样品雌、雄果蝇各设置 3 个重复。将各组果蝇置于 25 °C 恒温培养箱中培养, 每日观察并记录果蝇的存活情况, 统计果蝇半数死亡时间、最高寿命和平均寿命。

1.2.6 植物酵素对果蝇体内 SOD 活性和 MDA 含量的影响

1.2.6.1 果蝇组织匀浆的制备

将植物酵素分别按照 0.5%、1%、2% (V/V) 的比例添加到果蝇基础培养基中, 将在此培养基中饲喂的果蝇设置为实验组, 以不添加酵素仅以基础培养基饲喂的果蝇为对照组 (CK)。选取 8 h 内孵化的果蝇, 乙醚麻醉并鉴定性别后选取大小均一的个体于斜面试管中饲喂, 每只试管放 10 只果蝇, 每个样品雌、雄果蝇各设置 3 个重复。将各组果蝇置于 25 °C 恒温培养箱中培养 20 d 后准确称量每只试管中果蝇的重量, 用 0.15 mol/L 的生理盐水充分研磨后配制成 1% (m/V) 的组织匀浆并于 6000 r/min 离心 10 min 取上清液备用。

1.2.6.2 果蝇组织中可溶性蛋白含量的测定

采用考马斯亮蓝法测定蛋白质含量。取 1% 果蝇组织匀浆液经适当稀释后于 595 nm 测定吸光值, 每组设置 3 个重复, 根据标准蛋白回归方程计算蛋白质含量。

标准蛋白质标准曲线回归方程为 $y=0.0005x+0.0252$, $R^2=0.9907$ 。

1.2.6.3 果蝇体内 SOD 活力的测定

按照试剂盒使用说明操作。取 50 μ L 果蝇组织匀浆测定 SOD 活力, 每组设置 3 个重复。按照下列公式 (1) 计算 SOD 活力。

1.2.6.4 果蝇体内 MDA 含量的测定

按照试剂盒使用说明操作。取 100 μ L 果蝇组织匀浆测定 MDA 含量, 每组设置 3 个重复。按照下列公

$$\text{总SOD活力(U/mgprot)} = \frac{OD_{\text{对照管}} - OD_{\text{测定管}} \div 50\% \times \frac{\text{反应液总体积}}{\text{取样量}} \times \text{组织中蛋白含量(mgprot/mL)}}{OD_{\text{对照管}}} \quad (1)$$

$$\text{MDA含量(nmol/mgprot)} = \frac{OD_{\text{测定管}} - OD_{\text{测定空白管}}}{OD_{\text{标准管}} - OD_{\text{标准空白管}}} \times \frac{\text{标准样品浓度(10 nmol/mL)}}{\text{组织中蛋白含量(mgprot/mL)}} \quad (2)$$

式 (2) 计算 MDA 含量。

1.2.7 实验数据统计分析

实验数据采用 DPS7.05 处理软件进行分析, 实验每组平行 3 次, 实验结果采用平均值 \pm 标准差表示。

2 结果与分析

2.1 植物酵素发酵过程中 pH 的变化

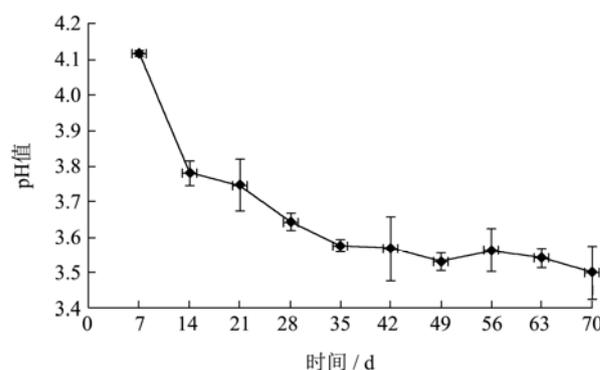


图 1 植物酵素发酵过程中 pH 值的变化

Fig.1 Changes in pH value during fermentation of plant ferment

酵素发酵过程中 pH 值的动态变化如图 1 所示。由图 1 可知, 复合果蔬在发酵第 7 d 时发酵液的 pH 值为 4.12, 随着发酵的进行, pH 值呈下降趋势, 在发酵至 14 d 时降低到 3.78, 在第 49 d 时降低到 3.53, 随后虽有小幅度的增加, 但始终保持在 3.56 左右, 最后在第 70 d 时降低到 3.50。发酵过程中 pH 值能在较短时间内降低到 4 以下, 可以控制大多数有害微生物特别是霉菌的生长, 保障了发酵过程的产品安全。

2.2 植物酵素发酵过程中理化指标的变化

2.2.1 酵素发酵过程中还原糖含量的变化

还原糖含量在酵素发酵过程中的动态变化如图 2 所示。酵素的生产原料是富含果糖的水果和蔬菜, 所以在发酵初期因为生产原料中果糖的存在使得还原糖的含量较高, 但随着发酵的进行, 接入的酵母菌首先利用单糖使得还原糖含量逐渐降低。但在发酵的第 14~21 d 又出现了还原糖含量激增的现象, 考虑可能是在酵素生产中白砂糖按照与果蔬同等的比例添加, 同时果蔬中的可溶性纤维被微生物生长代谢过程中分泌的一些胞外酶水解而转化为葡萄糖、果糖等还原糖。

随后在第 21 d 之后还原糖被微生物吸收利用, 含量呈现连续的下降趋势, 在发酵终点降低到 $78.78 \pm 3.24 \text{ mg/mL}$ 。

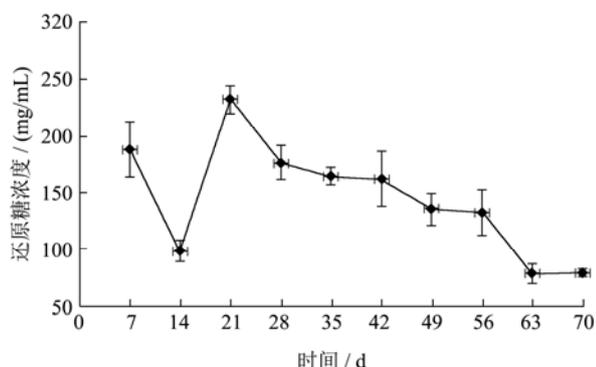


图 2 植物酵素发酵过程中还原糖含量的变化

Fig.2 Changes of the reducing sugar content during fermentation of plant ferment

2.2.2 酵素发酵过程中总酸含量的变化

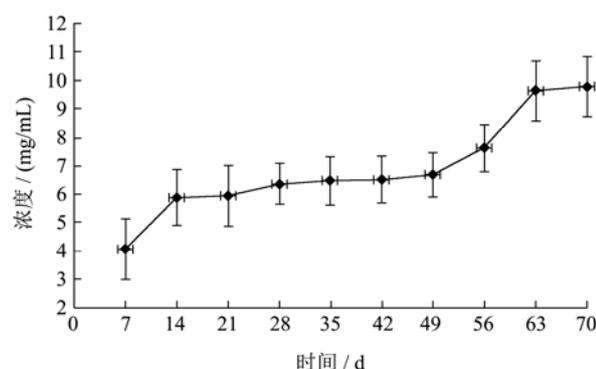


图 3 植物酵素发酵过程中总酸含量的变化

Fig.3 Changes of total acid content during fermentation of plant ferment

酵素发酵原料水果及蔬菜自身含有大量的有机酸, 发酵过程中酵母菌、乳酸菌等的代谢又会产生有机酸类的代谢产物, 所以在酵素中含有种类多样、含量丰富的有机酸。实验中测定了发酵液中总酸含量在发酵过程的变化。结果如图 3 所示。

由图 3 可知, 发酵液中总酸含量在发酵过程中逐渐增加, 在发酵的第 7 至第 14 d 的时间内总酸含量增加幅度较后期大, 总酸含量的增加会使发酵液的 pH 值降低, 所以发酵过程中 pH 值不断下降, 与 pH 值在发酵过程中的变化相对应。

2.2.3 酵素发酵过程中总多酚含量的变化

多酚类化合物因为存在于植物组织中, 且具有抗菌、消炎和抗氧化等生理功能, 所以在以植物为原料的酵素的发酵过程中测定了发酵液中多酚的动态变化。由图 4 可知, 多酚的含量随着发酵的进行而增加, 在发酵终点达到 $55.04 \pm 1.36 \text{ } \mu\text{g/mL}$ 。酵素发酵过程中

总多酚含量增加应该是微生物代谢作用于植物细胞, 细胞破壁后胞内多酚释放入发酵液所致。

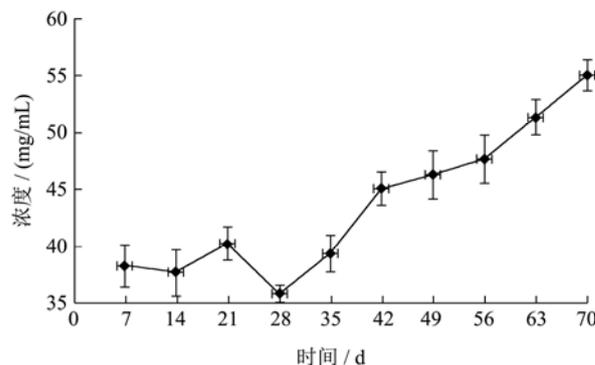


图 4 植物酵素发酵过程中总多酚含量的变化

Fig.4 Changes of the total polyphenol content during fermentation of plant ferment

2.3 植物酵素发酵过程中体外抗氧化能力的变化

2.3.1 酵素发酵过程中 DPPH 自由基清除能力的变化

2.3.1 酵素发酵过程中 DPPH 自由基清除能力的变化

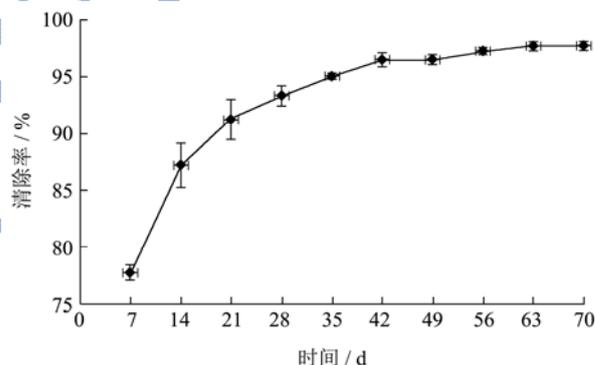


图 5 植物酵素发酵过程中 DPPH 自由基清除能力的变化

Fig.5 Changes of DPPH free radicals scavenging ability of plant ferment during fermentation

酵素发酵过程中测定了酵素的 DPPH 自由基清除能力, 实验中酵素原液被稀释 20 倍后测定了酵素稀释液的自由基清除能力, 具体的 DPPH 自由基清除能力的动态变化结果如图 5 所示。

由图 5 可知, 酵素的 DPPH 自由基清除能力随着发酵的进行而不断增加, 在发酵至第 21 d 时清除率已超过 90%, 在第 42 d 时达到 $96.5 \pm 0.58\%$, 随后缓慢增长至发酵终点的 $97.71 \pm 1.44\%$, 比发酵初期的 $77.64 \pm 0.66\%$ 高出 25.85%, 说明微生物的发酵作用可提高果蔬汁的 DPPH 自由基清除能力, 酵素具有一定的抗氧化功效。

2.3.2 酵素发酵过程中还原力的变化

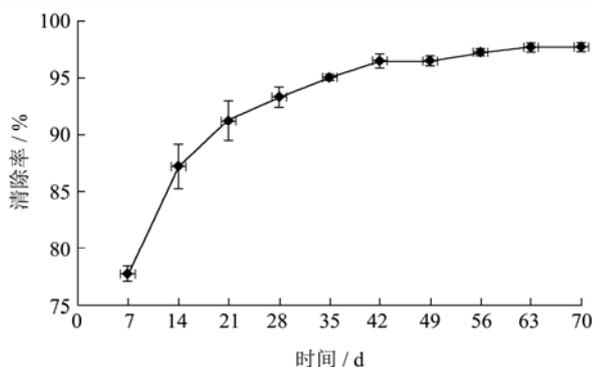


图 6 植物酵素发酵过程中还原力的变化

Fig.6 Changes of reducing power during fermentation of plant ferment

还原力是检测物质体外抗氧化活性的一个重要指标, 实验过程中同样将酵素原液稀释 20 倍, 通过测定酵素稀释液的还原能力反映酵素的抗氧化活性。具体实验结果如图 6 所示。

由图 6 可以看出, 随着发酵的进行酵素的还原能力亦不断增加, 在发酵至第 35 d 时酵素 20 倍稀释液的吸光值即达到了 1.13, 随后基本趋于平稳。酵素发酵过程中还原力的变化趋势与其 DPPH 自由基清除能

力的变化趋势相似。说明发酵过程同样有效提高了酵素的还原能力。

2.4 植物酵素对果蝇寿命的影响

以在果蝇基础培养基中按照 0.5%、1%和 2%的比例添加植物酵素饲喂的果蝇作为实验组, 以基础培养基饲喂的果蝇为对照组, 按照 1.2.2 的方法评价了植物酵素对果蝇寿命的影响。具体的实验结果如表 1 所示。由表 1 的结果可知, 与对照组比较, 在果蝇基础培养基中添加 2%剂量的植物酵素可以显著提高雄果蝇的半数死亡时间、平均寿命和最高平均寿命 ($p<0.05$), 分别比对照组提高了 22.06%、15.44%和 14.99%;

对于雌性果蝇而言, 基础饲料中添加 2%的酵素同样显著提高了半数死亡时间和平均最高寿命 ($p<0.05$), 分别比对照组提高了 16.84%和 21.19%, 2%剂量酵素的添加虽然也提高了雌果蝇的平均寿命, 但并未达到显著水平。另外, 1%剂量组雌果蝇的平均最高寿命也显著高于对照组和 0.5%剂量组。说明在果蝇培养基中添加 2%剂量的植物酵素对于延长果蝇寿命具有显著效果。

表 1 植物酵素对果蝇寿命的影响

Table 1 Effects of plant ferment on the lifespan of *Drosophila Melanogaster*

组别	半数死亡时间/d		平均寿命/d		平均最高寿命/d	
	雌 (♀)	雄 (♂)	雌 (♀)	雄 (♂)	雌 (♀)	雄 (♂)
CK	27.55±1.95 ^b	23.75±1.95 ^b	30.33±2.38 ^a	27.17±1.75 ^b	33.83±1.04 ^b	31.08±1.01 ^b
0.5%	29.29±1.43 ^{ab}	24.39±2.22 ^b	32.19±1.97 ^a	27.90±2.19 ^b	35.39±2.11 ^b	32.36±1.25 ^b
1%	29.70±0.76 ^{ab}	27.20±0.53 ^{ab}	33.60±2.02 ^a	29.77±0.85 ^{ab}	38.79±1.35 ^a	32.97±1.29 ^b
2%	32.19±1.97 ^a	28.99±2.98 ^a	35.33±3.95 ^a	32.13±2.55 ^a	41.00±2.00 ^a	36.56±1.26 ^a

注: a、b 代表 95%置信度下各组间的显著性差异 ($p<0.05$)。

表 2 植物酵素对果蝇 SOD 活力和 MDA 含量的影响

Table 2 Effects of plant ferment on SOD activity and MDA content of *Drosophila Melanogaster*

组别	SOD 活力/(U/mg prot)		MDA 含量/(nmol/mg prot)	
	雌 (♀)	雄 (♂)	雌 (♀)	雄 (♂)
CK	150.93±1.73 ^b	190.44±4.25 ^b	1.34±0.04 ^a	1.78±0.10 ^a
0.5%	152.17±2.41 ^b	190.47±3.38 ^b	1.33±0.14 ^a	1.65±0.02 ^b
1%	153.50±2.30 ^b	192.37±5.76 ^b	1.03±0.01 ^b	1.51±0.10 ^c
2%	159.97±1.74 ^a	204.73±4.21 ^a	0.91±0.02 ^c	1.25±0.09 ^d

注: a、b、c、d 代表 95%置信度下各组间的显著性差异 ($p<0.05$)。

2.5 植物酵素对果蝇体内 SOD 活力和 MDA 含量的影响

以果蝇基础培养基饲喂的果蝇为对照, 将在分别添加了 0.5%、1%和 2%植物酵素的培养基中饲喂 20 d 的果蝇制成 1%组织匀浆液, 按照 1.2.3.3 的方法测定

SOD 活力, 按照 1.2.3.4 的方法测定 MDA 含量。测定结果如表 2 所示。由表 2 可知, 植物酵素在果蝇基础培养基中的添加均提高了雌、雄果蝇的 SOD 活力, 与对照组相比, 2%添加剂量的提高效果达到显著水平 ($p<0.05$), 分别提高了 5.98%和 7.50%; 植物酵素在果蝇基础培养基中的添加同样降低了果蝇体内 MDA 的含量, 对于雌果蝇来说, 1%和 2%剂量组分别比对

照组显著降低了 23.13%和 32.09% ($p<0.05$), 而各剂量组雄果蝇体内 MDA 的含量均显著低于对照组 ($p<0.05$)。说明植物酵素具有显著的体内抗氧化活性, 抗衰效果明显。

3 结论与讨论

3.1 植物酵素作为一种功能性微生物发酵制品因其显著的功效多年来盛行于欧美、东南亚、日本以及台湾地区, 酵素的安全性及保健功能使其具有广阔的应用价值, 且其在运动食品、保健食品和化妆品等领域的开发也越来越得到广泛的重视^[21]。酵素的发酵过程是一个复杂的混菌发酵过程, 微生物特别是酵母菌、醋酸菌和乳酸菌通过自身的代谢使发酵原料发生复杂的生化反应, 在进行发酵原料中糖、脂、蛋白质转化的同时还可以为新型生理物质甚至功能性成分提供前体物质, 不仅如此发酵过程还可以有效改善原料中的不良风味。因此, 植物酵素是具有多种营养成分和特定保健功能的发酵制品^[22]。传统的酵素生产是自然发酵, 但周期长且易受发酵环境的影响从而难以保障产品的质量稳定。本研究采用人工发酵方式生产果蔬酵素, 并系统探讨了果蔬酵素发酵过程中理化指标及体外抗氧化活性的动态变化; 果蝇是被用来研究动物抗衰老活性及机理的常用动物模型^[23], 为进一步证明酵素的抗氧化功能, 本研究又以果蝇为实验动物, 研究了植物酵素对果蝇寿命的影响, 并以抗氧化酶活性(SOD)和丙二醛(MDA)含量为指标评价了酵素的体内抗氧化活性。

3.2 在本实验条件下, 酵素发酵过程中 pH 值不断下降最终降低到 3.50, 还原糖含量则呈现先降低后升高再降低的趋势, 最终降低到 78.78 ± 3.24 mg/mL, 总酸和总多酚的含量总体保持上升趋势, 在发酵终点分别达到 9.80 ± 1.06 mg/mL 和 55.04 ± 1.36 μ g/mL。韦仕静^[14]等测定了西兰花酵素发酵过程中总酚的动态变化, 发现其含量呈现先上升后降低的趋势, 且最终达到 66.31 ± 0.64 μ g/mL, 含量变化与本实验结果有差异, 考虑是否是果蔬中原有多酚含量差异的影响。酵素的 DPPH 自由基清除能力和还原力均随发酵的进行而增强, 与韦仕静、管章瑞等的研究结果相似^[13,14], 说明植物酵素具有体外抗氧化活性。实验中发现, 酵素在后熟阶段总酸、总多酚含量仍在持续增加而体外抗氧化活性也在不断升高, 所以笔者认为后熟过程对酵素中化学成分的累积具有重要作用。在果蝇基础培养基中按照 2%比例添加植物酵素饲喂果蝇会显著提高雄性果蝇的半数死亡时间、平均寿命、最高平均寿命及雌性果蝇的半数死亡时间和最高平均寿命 ($p<0.05$)。

根据《中国保健食品的进展》中延缓衰老功能的检测方法的规定, 如果任一剂量组(或二组、三组)的任一性别(或两性)的最高寿命和(或)平均寿命显著长于对照组, 即可判定试验样品对果蝇有延缓衰老的功能^[24]。因此, 从实验结果判断植物酵素对果蝇具有显著的延长寿命、延缓衰老的作用。本实验的体内抗氧化活性显示, 2%添加剂量组雌、雄果蝇体内的 SOD 活力均显著高于对照组 ($p<0.05$), 分别比对照组提高了 5.98%和 7.50%; 饲喂植物酵素同样降低了果蝇体内 MDA 的含量, 培养基中添加 1%和 2%的酵素可显著降低雌果蝇体内的 MDA 含量, 而在雄性果蝇培养基中仅添加 0.5%的酵素也可显著降低其体内 MDA 含量 ($p<0.05$), 说明酵素具有较好的机体抗氧化活性。许多研究提示了抗衰老与抗氧化间的直接关系, 而酵素的延寿抗衰功效应该是以其中的抗氧化活性成分为物质基础。

3.3 本研究通过植物酵素发酵过程中理化指标、体外抗氧化活性动态变化的监测可以有效指导植物酵素的人工发酵过程并稳定产品质量; 以果蝇为模型的酵素延寿抗衰活性方面的功效验证又为植物酵素以及以植物酵素为原料的保健品、保健食品、功能食品和化妆品等的开发提供了实验证据。作为开发应用前景甚为广阔的食品及食品原料, 酵素的延寿抗衰机理值得进行深入研究。

参考文献

- [1] 刘春花, 吴彬彬, 陈宏远, 等. 植物发酵液(酵素)对小鼠免疫功能的影响[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(18): 173-177
LIU Chun-hua, WU Bin-bin, CHEN Hong-yuan, et al. The immunomodulatory effect of the plant fermentation extracts (PFE) in mice [J]. Food Research and Development, 2016, 37(18): 173-177
- [2] 李晓青, 刘俊江, 陈宏远, 等. 植物发酵液的发展及其功效[J]. 农产品加工(学刊), 2014, 1: 70-72
LI Xiao-qing, LIU Jun-jiang, CHEN Hong-yuan, et al. The development and function of plant fermentation [J]. Academic Periodical of Farm Products Processing, 2014, 1: 70-72
- [3] 杨培青, 李斌, 颜廷才, 等. 蓝莓果渣酵素发酵工艺优化[J]. 食品科学, 2016, 37(23): 205-210
YANG Pei-qing, LI Bin, YAN Ting-cai, et al. Study on the fermentation techniques of Blueberry Pomace Leaven [J]. Food Science, 2016, 37(23): 205-210
- [4] 马巧灵, 申元英, 杨芳, 等. 苹果酵素对代谢性疾病模型小鼠的实验研究[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(16): 14-16

- MA Qiao-ling, SHEN Yuan-ying, YANG Fang, et al. Experimental study of model mice on the apple enzyme of metabolic disease [J]. Food Research and Development, 2015, 36(16): 14-16
- [5] Tadhani M B, Patel V H, Subharsh R. *In vitro* antioxidant activities of Stevia rebaudiana leaves and callus [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2007, 20(4): 323-329
- [6] Klimczak I, Malecka M, Szlachar M, et al. Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juice [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2007, 20(4): 313-322
- [7] Serrano J, Goni I, Saura-Colixtof. Food antioxidant capacity determined by chemical methods may underestimate the physiological antioxidant capacity [J]. Food Research International, 2007, 40(1): 15-21
- [8] 蒋增良,毛建卫,黄俊,等.葡萄酵素在天然发酵过程中体外抗氧化性能的变化[J].中国食品学报,2014,14(10):29-34
JIANG Zeng-liang, MAO Jian-wei, HUANG Jun, et al. Changes in antioxidant activity of grape-ferment *in vitro* during the natural fermentation process [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2014, 14(10): 29-34
- [9] 赵金凤,曲佳乐,皮子凤,等.植物酵素润肠通便保健功能研究[J].食品与发酵科技,2012,48(3):54-56
ZHAO Jin-feng, QU Jia-le, PI Zi-feng, et al. Study on the health care function of relieving constipation of plant ferment [J]. Food and Fermentation Technology, 2012, 48(3): 54-56
- [10] 曲佳乐,赵金凤,皮子凤,等.植物酵素解酒护肝保健功能研究[J].食品科技,2013,38(9):51-54
QU Jia-le, ZHAO Jin-feng, PI Zi-feng, et al. The health care function for antialcoholism and liver protection of plant ferment [J]. Food Science and Technology, 2013, 38(9): 51-54
- [11] 赵金凤,宿秀芹,曲佳乐,等.敖东酵素对脾淋巴细胞增殖作用的影响[J].食品与发酵科技,2014,50(3):50-52
ZHAO Jin-feng, SU Xiu-qin, QU Jia-le, et al. Effect on the splenic lymphocyte proliferation functionary of aodong enzyme [J]. Food and Fermentation Technology, 2014, 50(3): 50-52
- [12] 董银卯,何聪芬,王领,等.火龙果酵素生物活性的初步研究[J].食品科技,2009,34(3):192-196
DONG Yin-mao, HE Cong-fen, WANG Ling, et al. Study on the bioactivity of pitaya enzyme [J]. Food Science and Technology, 2009, 34(3): 192-196
- [13] 管章瑞,田裕,赵娜,等.蓝莓酵素发酵过程中的抗氧化活性变化研究[J].现代食品科技,2016,32(12):74-80
GUAN Zhang-rui, TIAN Yu, ZHAO Na, et al. Changes in antioxidant activity of blueberry Jiaosu during fermentation [J]. Modern Food Science and Technology, 2016, 32(12): 74-80
- [14] 韦仕静,刘涛,葛亚中,等.西蓝花酵素在发酵过程中生化指标变化及其抗氧化性研究[J].现代食品科技,2017,33(8):1-7
WEI Shi-jing, LIU Tao, GE Ya-zhong, et al. The research of changes in the biochemical indicators and antioxidant activity from broccoli Jiaosu during fermentation [J]. Modern Food Science and Technology, 2017, 33(8): 1-7
- [15] 陈钧辉,李俊.生物化学实验(第五版)[M].北京:科学出版社,2014
CHEN Jun-hui, LI Jun. Biochemistry experiment (fifth edition) [M]. Beijing: Science Press, 2014
- [16] 张水华.食品分析[M].北京:中国轻工业出版社,2010
ZHANG Shui-hua. Food analysis [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2010
- [17] 刘清,李玉,姚惠源.Folin-ciocalteu 比色法测定大麦提取液中总多酚的含量[J].食品科技,2007,32(4):175-177
LIU Qing, LI Yu, YAO Hui-yuan. Determination of total polyphenol in barley seed extracts by Folin-Ciocalteu colorimetry [J]. Food Science and Technology, 2007, 32(4): 175-177
- [18] 邵颖,陈安徽,张传丽,等.蛹虫草子实体中抗氧化活性化合物的分离纯化[J].食品科学,2015,36(8):175-180
SHAO Ying, CHEN An-hui, ZHANG Chuan-li, et al. Isolation and purification of antioxidant components in fruiting-body of cordyceps militaris [J]. Food Science, 2015, 36(8): 175-180
- [19] 邵颖,陈安徽,刘辉,等.蛹虫草子实体中类胡萝卜素的提取及抗氧化活性[J].食品工业科技,2016,37(19):221-226
SHAO Ying, CHEN An-hui, LIU Hui, et al. Optimization of extraction process and antioxidant activity of carotenoids from fruiting-body of cordyceps militaris [J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(19): 221-226
- [20] 于世军,包佳源,樊美珍.人工蝉花孢梗束粗多糖的提取工艺和活性[J].菌物研究,2014,12(2):100-106
YU Shi-jun, BAO Jia-yuan, FAN Mei-zhen. Extraction technology and biological activities of crude polysaccharide from synnemate of cordyceps cicadae culture [J]. Journal of Fungal Research, 2014, 12(2): 100-106
- [21] 赵芳芳,莫雅文,蒋增良,等.功能性微生物酵素产品的研究进展[J].食品与发酵工业,2016,42(7):283-287
ZHAO Fang-fang, MO Ya-wen, JIANG Zeng-liang, et al.

- Research process on functional microbial ferment product [J]. Food and Fermentation Industries, 2016, 42(7): 283-287
- [22] 刘加友,王振斌.微生物酵素食品研究进展[J].食品与发酵工业,2016,42(1):14-16
- LIU Jia-you, WANG Zhen-bin. Research process on microbial ferment food [J]. Food and Fermentation Industries, 2016, 42(1): 14-16
- [23] 王菊凤,李鹤鸣.蛹虫草多糖对果蝇种群期望寿命的影响[J].湖南农业科学,2010,9:133-135
- WANG Ju-feng, LI Hu-ming. Influence of cordyceps militaris polysaccharide on expected life of drosophila melanogaster population [J]. Hunan Agricultural Sciences, 2010, 9: 133-135
- [24] 于守洋,崔洪斌.中国保健食品的进展[M].北京:人民卫生出版社,2001
- YU Shou-yang, CUI Hong-bin. Advances in healthy food of China [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2001