

不同容器发酵水豆豉乙醇提取物的抗氧化效果比较

冯霞, 赵欣

(重庆第二师范学院生物与化学工程系, 重庆市功能性食品协同创新中心, 重庆 400067)

摘要: 本研究对不同容器发酵水豆豉的抗氧化效果进行研究。首先对不同容器发酵水豆豉的理化特性进行了比较, 玻璃容器发酵水豆豉 (GVFS) 的温度和酸度低于塑料容器发酵水豆豉 (PVFS) 和陶瓷容器发酵水豆豉 (CVFS), 水分含量和总菌数高于 PVFS 和 CVFS。同时, 对不同容器发酵水豆豉中的活性异黄酮含量也进行了分析, GVFS 中的大豆黄酮和金雀异黄酮含量均高于 PVFS 和 CVFS。体外抗氧化实验结果显示 GVFS 的 DPPH 自由基和 OH 清除能力也高于其他两种水豆豉。进一步的动物实验中, GVFS 可以提高 D-半乳糖诱导氧化小鼠血清和肝组织中的 SOD、GSH-Px 水平和降低 NO、MDA 水平, 且效果优于 PVFS 和 CVFS。通过 RT-PCR 实验分析小鼠肝组织发现, GVFS 能上调氧化小鼠的 nNOS、eNOS、Mn-SOD、Cu/Zn-SOD、CAT mRNA 表达和下调 iNOS 表达, 使小鼠的这些表达最接近正常组小鼠。通过这些结果可以看出玻璃容器发酵的水豆豉比陶瓷和塑料容器发酵水豆豉具有更好的抗氧化效果, 玻璃容器更适于功能性水豆豉的制作。

关键词: 水豆豉; 容器; 抗氧化; 小鼠; 表达

文章编号: 1673-9078(2016)07-151-156

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.7.024

Comparison of the Antioxidant Activities of Ethanol Extracts from Shuidouchi Samples Fermented using Different Vessels

FENG Xia, ZHAO Xin

(Department of Biological and Chemical Engineering, Chongqing Collaborative Innovation Center of Functional Food, Chongqing University of Education, Chongqing 400067, China)

Abstract: The antioxidant activities of Shuidouchi samples fermented in different vessels were determined in this study. First, the physicochemical properties of Shuidouchi samples fermented in different vessels were compared, and glass vessel-fermented Shuidouchi (GVFS) showed lower temperature and acidity and higher moisture contents and total bacteria counts than plastic vessel-fermented Shuidouchi (PVFS) and ceramic vessel-fermented Shuidouchi (CVFS). The active isoflavone contents in Shuidouchi samples fermented in different vessels were measured, and the daidzein and genistein contents in GVFS were higher than those in PVFS and CVFS. The *in vitro* antioxidant experiments showed that the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical and hydroxyl (OH) radical scavenging capacities of GVFS were also higher than those of PVFS and CVFS. Animal experiments showed that GVFS increased the levels of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px) and decreased the levels of nitric oxide (NO) and malondialdehyde (MDA) in serum and liver of mice with D-galactose induced oxidative stress, and these effects of GVFS were better than those of PVFS and CVFS. Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) showed that GVFS upregulated the expression of nNOS, eNOS, Mn-SOD, Cu/Zn-SOD, and CAT mRNA and downregulated iNOS expression in the liver of mice subjected to oxidative stress, indicating that these expression levels were close to those in normal mice. Based on these results, GVFS had higher antioxidant activity than PVFS and CVFS, and a glass vessel is suitable for Shuidouchi production.

Key words: Shuidouchi; vessel; antioxidant; mice; expression

水豆豉是我国西南地区的一种代表性大豆发酵

收稿日期: 2015-09-01

基金项目: 重庆市教委科学技术研究项目资助 (KJ1401415); 重庆第二师范学院创新团队计划 (KYC-cxt03-20141002)

作者简介: 冯霞 (1976-), 女, 副教授, 研究方向为食品营养和功能性食品
通讯作者: 赵欣 (1981-), 男, 博士, 教授, 研究方向为食品营养和功能性食品

食品, 同时也是一种调味品, 可以直接食用, 也可以作为烹调用调味料。在传统中医学中水豆豉可以作为中药和保健品使用, 经过现代研究证明, 水豆豉是一种具有多种功效的保健食品, 不仅可以起到开胃增食、清热解表的作用, 还具有抗氧化和预防癌症等作用^[1]。

水豆豉是细菌型自然发酵大豆制品, 影响其发酵及品质的因素除发酵时间、温度、大豆含水量外^[1],

不同材质的发酵容器也可以通过发酵温度、水分等因素影响大豆的发酵,从而使产品的品质特性出现变化^[2]。由于水豆豉可以在家庭中使用简单的工艺进行制作,所以发酵时家庭常选用便利的容器,陶瓷和玻璃容器是经常使用的容器;随着塑料容器的使用情况增多,塑料容器也在家庭中被用于发酵水豆豉。在外国有研究对不同发酵容器对韩国大酱品质的影响进行了研究,发现不同容器能对大酱的发酵产生显著的影响,不同容器发酵出的产品差异较大^[3],本研究团队对不同容器发酵的水豆豉也进行了初步研究,发现水豆豉对小鼠的胃黏膜保护作用也因为发酵容器的不同而产生显著差异^[4]。研究表明水豆豉有较强的抗氧化作用^[5],其抗氧化效果可能来源于水豆豉中最重要的功能性成分大豆异黄酮^[6],发酵对水豆豉中大豆异黄酮的含量也有关键性作用,所以水豆豉的抗氧化效果也可能与不同容器对水豆豉发酵造成影响而使不同发酵容器发酵水豆豉中大豆异黄酮的差异有关。本研究对塑料、陶瓷、玻璃这三种常用容器对水豆豉抗氧化效果进行比较,选择使水豆豉抗氧化效果更优异的发酵容器,研究结果可以对工业化生产水豆豉进行指导,使工业化发酵水豆豉具有更高的抗氧化功能性作用。

1 材料与amp;方法

1.1 大豆

2014年秋季黑龙江省嫩江县黑龙江农垦总局大江农场出产黄豆(拉丁名为 *Glycine max*)。

1.2 试剂

DPPH 试剂,上海金穗生物科技有限公司;大豆黄素、金雀异黄素标准品,上海纯优生物科技有限公司;NO、SOD、GSH-Px、MDA 试剂盒,南京建成生物工程研究所;EDTA, Sigma 公司,美国;CycleTEST™ PLUS DNA 染色试剂盒, Becton Dickinson 公司,德国;Trizol 试剂、oligoDT₁₈、RNase、dNTP 和 MLV, Invitrogen 公司,美国;RT-PCR 引物 nNOS、eNOS、iNOS、Mn-SOD、Gu/Zn-SOD 和 CAT, 天根生化科技有限公司;其余试剂均为国产分析纯。

1.3 实验动物

雄性 SPF 级 KM 小鼠 50 只(体重 20~25 g),购自于重庆医科大学实验动物中心提供(合格证号:SYXK(渝)2012-0001)。

1.4 仪器与设备

陶瓷泡菜罐(200 mm×160 mm),景德镇洛萨陶瓷有限公司;塑料保鲜盒(181 mm×128 mm×52 mm),乐扣乐扣公司,韩国;玻璃保鲜盒(176 mm×131 mm×74 mm),乐扣乐扣公司,韩国。

LD2X-50FB 立式压力蒸汽灭菌锅,江西华科精密仪器有限公司;PYX-DHS-50X65BS 隔水式电热恒温培养箱,上海百典仪器设备有限公司;UV9600 紫外分光光度计,北京北分瑞利分析仪器(集团)公司;Bio-Rad 小型水平电泳槽, Bio-Rad 公司,美国;ABI 2720 PCR 仪, Applied Biosystems 公司,美国。

1.5 方法

1.5.1 不同容器发酵水豆豉及提取

精选后的黄豆与蒸馏水按重量比 1:2 浸泡 12 h,然后将黄豆放置于 105 °C 的高压蒸汽灭菌锅中蒸煮 60 min。将蒸煮后的黄豆放入陶瓷、塑料和玻璃容器中冷却至 36 °C 后放入恒温培养箱中 36 °C 保温发酵 72 h。最后用温度计测量水豆豉的温度,用 pH 计测定水豆豉的酸度,同时取水豆豉烘干后测定其含水量。发酵后的水豆豉冷冻干燥后进行粉碎,然后加入 20 倍(重量比)的 80%乙醇进行提取 12 h,重复提取 3 次后合并提取液,用旋转蒸发仪蒸干溶剂得到水豆豉提取物待用。

1.5.2 水豆豉总菌数的测定

取 1 g 水豆豉进行粉碎,再用生理盐水将粉碎的水豆豉稀释 10 倍,将过滤的稀释液均匀的涂抹在计数琼脂平板上下培养 48 h (36 °C),观察菌落数。

1.5.3 水豆豉中活性大豆异黄酮的测定

将大豆黄素和金雀异黄素标准品用 80%乙醇溶解,配制成标准溶液(浓度为 0.002~0.020 g/L)。以 Kromasil C18 色谱柱(4.6 mm×25 mm, 5 μm);流动相:40%甲醇;流速为 1.0 mL/min;检测器灵敏度为 0.02AUFS;检测波长为 260 nm;柱温为 50 °C;取标准溶液 20 μL 注入六通阀中,测定峰面积。求得回归方程为 Y 大豆黄素=148338+1.70×10⁸X (r=0.999); Y 金雀异黄素=-316706+4.20×10⁸X (r=0.995),由此得到标准曲线。取不同容器发酵水豆豉样品 2 g,粉碎后加 10 倍量的蒸馏水稀释后 4000 r/min 离心取上清液,在 80 °C 烘箱中干燥烘干。干燥物用 200 mL 的 80%乙醇在恒温水浴(80 °C)中回流提取两次,每次 2 h,然后合并提取液,减压蒸干,用无水乙醇定容至 10 mL 作为待测液,将待测液测定后对照标准曲线得到水豆豉中大豆黄素和金雀异黄素的含量^[1]。

1.5.4 DPPH 自由基清除能力的测定

将 4 mL 的水豆豉提取物稀释液(浓度为 0.5、1.0、

2.0 mg/mL) 和 1 mL 的 DPPH (1.5×10^{-4} M) 试剂混合后室温放置 30 min, 最后在 517 nm 处读得吸光度, 计算得到 DPPH 自由基清除能力^[7]。

1.5.5 OH 清除能力的测定

配制测定反应体系 (1.4 mL), 包含 0.2 mL 水豆豉提取物稀释液 (浓度为 0.5、1.0、2.0 mg/mL), 脱氧核糖 (6 mM, 0.2 mL), 0.2 mL 的磷酸钠缓冲液 (20 mM, pH 7.4), 0.2 mL 无水氯化铁 (FeCl_3 , 400 μM), 0.2 mL 的硫酸亚铁-乙二胺四乙酸 (EDTA, 400 μM), 0.2 mL 的 H_2O_2 (3 mM) 和 0.2 mL 抗坏血酸 (400 μM)。在 37 °C 水浴中保温 60 min 后, 在反应体系中加入 1 mL 的三氯乙酸和 1 mL 的硫代巴比妥酸后, 在 90 °C 水浴中加热 20 min。最后在 532 nm 处测定吸光度测后计算 OH 清除能力^[7]。

1.5.6 动物抗氧化实验

KM 小鼠喂养 1 周适应环境后平均分为 5 组, 分别是正常组、氧化对照组、陶瓷容器发酵水豆豉 (CVFS) 组、塑料容器发酵水豆豉 (PVFS) 组和玻璃容器发酵水豆豉 (GVFS) 组, 每组 10 只小鼠。正常组除外其余 4 组每只小鼠每日按浓度 120 mg/kg 腹腔注射 D-半乳糖, 持续 6 周。注射 D-半乳糖的同时, CVFS、PVFS 和 GVFS 组小鼠每日按浓度 4 g/kg 分别灌胃陶瓷容器发酵水豆豉、塑料容器发酵水豆豉和玻璃容器发酵水豆豉组提取物, 同样持续 6 周。6 周后对小鼠实施绝食 24 h 后乙醚处死小鼠并解剖, 心脏取血及取肝脏待用^[7]。

1.5.7 血清和肝脏组织 NO、SOD、GSH-Px 和 MDA 含量测定

将取得的血浆在 4000 r/min 下离心分离 10 min 后取上层血清, 按试剂盒说明书测定小鼠血清中 NO、SOD、GSH-Px 和 MDA 的含量。将小鼠肝脏制成 10% 的匀浆后在 4000 r/min 下离心分离 10 min, 取上清液按试剂盒说明书测定肝组织指标。

1.5.8 RT-PCR 实验分析肝组织

用 RNazol 试剂提取肝脏组织中的总 RNA, 然后将其浓度稀释到 1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 。在 RNA 提取液 (2 μL) 中按次序加入 1 μL 的 oligodT18, RNase, dNTP 和 MLV 酶, 10 μL 的 5 \times buffer, 然后合成 cDNA (37 °C 120 min, 99 °C 4 min, 4 °C 3 min)。然后以反转录-聚合酶链反应法扩增 nNOS、eNOS、iNOS、Mn-SOD、Gu/Zn-SOD 和 CAT 的 mRNA 表达, 同时 GAPDH (持家基因) 作为内参照同样进行扩增。最后以琼脂 (含 1% 浓度溴化乙锭) 电泳检查 PCR 扩增产物, 并用 Image1.44 软件定量分析表达强度^[7]。

1.5.9 统计学

所有的实验均进行 3 次平行实验, 然后使用 SAS9.1 统计软件采用 one-way ANOVA 分析方法分析各组数据在 $p < 0.05$ 水平上是否具有显著差异^[7]。

2 结果与讨论

2.1 不同容器发酵水豆豉的理化特性比较

由表 1 可知, 发酵 72 h 后 GVFS 的温度和酸度显著低于 ($p < 0.05$) PVFS 和 CVFS, 水分含量和总菌数则显著高于 PVFS 和 CVFS。细菌在 36 °C 生长状态最好, 接近 36 °C 的发酵环境, 有利于细菌进行发酵^[8]; 高酸性环境下细菌的生长会被抑制, 细菌发酵的程度相应被抑制^[9]; 水分也是影响细菌生长的重要条件, 在水分充足的情况下, 细菌的增殖加强, 有利于发酵^[10]。在相同的外界发酵环境下, 由于玻璃容器的导热性好于塑料容器和陶瓷容器, GVFS 的温度接近 36 °C, 且水分和酸度也更适合细菌生长, 增殖出了更多细菌, 使水豆豉的发酵更为充分, 品质更为优异。

表 1 不同容器发酵水豆豉发酵 72h 后的温度、酸度、水分含量和总菌数

Table 1 Temperature, acidity, moisture content and total bacterial counts of Shuidouchi samples fermented in different vessels

组别	温度 /°C	酸度 /%	水分含量 /%	总菌数 / (CFU/mL)
CVFS	39.73 \pm 0.04 ^a	1.0 \pm 0.06 ^A	53.80 \pm 0.04 ^c	0.96 \pm 0.06 ^C
PVFS	39.64 \pm 0.02 ^b	1.0 \pm 0.07 ^A	54.08 \pm 0.04 ^b	1.14 \pm 0.08 ^B
GVFS	37.42 \pm 0.03 ^c	0.8 \pm 0.04 ^B	57.41 \pm 0.03 ^a	1.78 \pm 0.08 ^A

注: CVFS, 陶瓷容器发酵水豆豉; PVFS, 塑料容器发酵水豆豉; GVFS, 玻璃容器发酵水豆豉。不同字母表示差各组数据平均值显著性差异 ($p < 0.05$), 图 1、2、3、4, 表 2、3 同。

2.2 不同容器发酵水豆豉的活性异黄酮含量比较

由图 1 可以看到, 三种容器发酵的水豆豉中均含有大豆黄酮和金雀异黄酮这两种活性大豆异黄酮物质。但是不同容器发酵水豆豉含有的活性异黄酮含量有差异, GVFS 中含有最多的大豆黄酮 (0.62 mg/g) 和金雀异黄酮 (0.91 mg/g), 且与另外两种容器发酵水豆豉存在显著差异 ($p < 0.05$); PVFS 中含有的金雀异黄酮 (0.78 mg/g) 显著高于 ($p < 0.05$) CVFS (0.67 mg/g), 而 PVFS (0.51 mg/g) 含有的大豆黄酮虽然略高于 CVFS (0.48 mg/g), 但结果没有显著差异。大豆异黄酮具有多种保健功能, 其中就包含抗氧化效果, 经过发酵后的水豆豉中部分大豆异黄酮转化为更易发

挥作用的活性异黄酮物质大豆黄素和金雀异黄素,能够更好的起到抗氧化作用作用^[7]。由结果可以看出,用玻璃容器发酵的水豆豉中的活性异黄酮含量高于陶瓷和塑料容器发酵的水豆豉,玻璃容器发酵更有利于水豆豉产生更多的活性异黄酮物质,发挥其抗氧化作用。

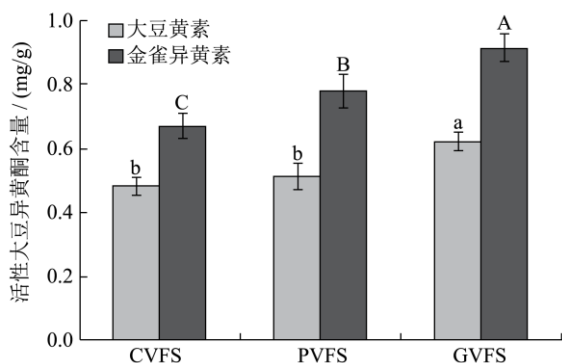


图1 不同容器发酵水豆豉的大豆黄素和金雀异黄素含量
Fig.1 Contents of daidzein and genistein in Shuidouchi samples fermented in different vessels

2.3 不同容器发酵水豆豉的体外抗氧化效果

通过预实验发现水豆豉提取物的抗氧化效果在浓度0~2 mg/mL 时间呈现线性增长,因此本研究中选择浓度2 mg/mL对三种容器发酵水豆豉的体外抗氧化效果进行比较。实验结果显示GVFS、PVFS和CVFS的DPPH自由基清除能力依次显著降低(p<0.05,图

2),分别为78.1%、66.8%和57.4。同时,GVFS、PVFS和CVFS的OH清除能力也呈现出和DPPH自由基清除能力相同的趋势,分别为55.3%、42.1%和35.4%。DPPH自由基清除能力和OH清除能力的测定可以有效的对食品的体外抗氧化效果进行检测^[8],由本实验的结果可以看出GVFS的体外抗氧化效果最强,玻璃容器发酵可以使水豆豉具有很好的抗氧化效果,且效果优于陶瓷和塑料容器。

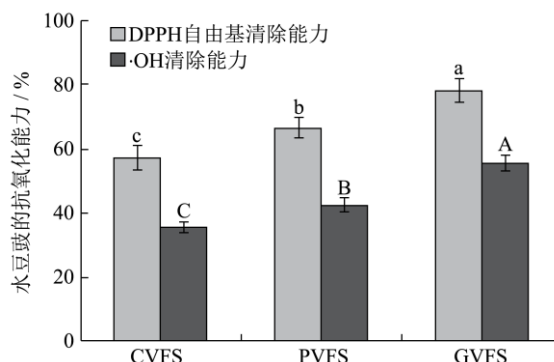


图2 不同容器发酵水豆豉的DPPH自由基和·OH清除能力
Fig.2 DPPH free radical and hydroxyl radical scavenging activities of Shuidouchi samples fermented in different vessels

2.4 不同容器发酵水豆豉对小鼠NO、SOD、GSH-Px和MDA含量的影响

表2 不同容器发酵水豆豉灌胃小鼠血清中NO、SOD、GSH-Px和MDA含量

Table 2 Contents of NO, SOD, GSH-Px, and MDA in serum of mice fed with Shuidouchi samples fermented in different vessels by gavage

组别	NO(μmol/L)	SOD(U/mL)	GSH-Px(U/mL)	MDA(nmol/mL)
正常组	31.24±1.17 ^d	236.72±7.35 ^A	151.26±3.21 ^a	8.21±0.71 ^E
氧化对照组	61.58±1.06 ^a	141.78±5.17 ^D	90.78±2.65 ^e	20.17±1.05 ^A
CVFS组	47.71±1.22 ^b	182.65±7.16 ^C	121.66±1.89 ^d	15.22±0.88 ^B
PVFS组	45.36±1.16 ^{bc}	190.31±8.32 ^C	132.27±2.45 ^c	13.21±0.45 ^C
GVFS组	40.12±1.09 ^c	211.35±6.47 ^B	140.72±2.56 ^b	10.36±1.17 ^D

表3 不同容器发酵水豆豉灌胃小鼠肝脏中NO、SOD、GSH-Px和MDA含量

Table 3 Contents of NO, SOD, GSH-Px, and MDA in liver of mice fed with Shuidouchi samples fermented in different vessels by gavage

组别	NO(μmol/gprot)	SOD(U/mgprot)	GSH-Px(U/mgprot)	MDA(nmol/mgprot)
正常组	4.71±0.31 ^e	93.83±2.17 ^A	153.28±3.46 ^a	3.55±0.18 ^D
氧化对照组	8.72±0.52 ^a	44.15±1.76 ^D	109.16±2.10 ^e	7.72±0.62 ^A
CVFS组	6.41±0.27 ^b	67.21±2.46 ^C	122.61±2.76 ^d	5.18±0.35 ^B
PVFS组	6.07±0.25 ^c	68.33±2.71 ^C	131.54±2.52 ^c	4.72±0.31 ^{BC}
GVFS组	5.54±0.28 ^d	77.18±2.65 ^B	138.32±2.08 ^b	4.27±0.21 ^C

由表2和表3可知,灌胃水豆豉的小鼠血清和肝脏组织中的NO、MDA含量较仅诱导氧化的氧化对照组小鼠低,而SOD、GSH-Px含量更高。同时,不同容器发酵水豆豉灌胃小鼠体内的NO、SOD、GSH-Px

和MDA含量也有一定的差异,GVFS灌胃小鼠血清中的NO和MDA含量仅有40.12 μmol/L和10.36 nmol/mL,含量显著低于其他两种水豆豉灌胃小鼠,而SOD、GSH-Px含量达到211.35 U/mL和140.72

U/mL, 显著高于其他两种水豆豉灌胃小鼠 ($p < 0.05$)。GVFS 灌胃小鼠肝脏中的 NO、MDA、SOD、GSH-Px 含量分别为 5.54 $\mu\text{mol/gprot}$ 、4.27 nmol/mL 、77.18 U/mg prot、138.32 U/mg prot, 也表现出和血清指标相似的状态, NO 和 MDA 的含量仅高于正常组, SOD 和 GSH-Px 的含量仅低于正常组。一氧化氮在体内是由一氧化氮合酶 (NOS) 催化下产生的, 在体内各生理系统和组织中均有十分重要的作用, 一定量的 NO 起到维持体内氧化平衡的作用, 当机体收到氧化损伤时, NO 在 NOS 的作用下大量产生, 是机体失衡的表现^[11]。本研究也得到了相似的结果, 氧化对照组小鼠由于氧化损伤导致 NO 的含量异常上升, 水豆豉可以缓解这种异常的 NO 含量上升, 且玻璃容器发酵的水豆豉具有更显著的效果, 意味着玻璃容器发酵水豆豉的抗氧化效果更为优异。SOD 和 GSH-Px 作为评价体内抗氧化的重要标准已得到证明, 高含量的 SOD 和 GSH-Px 证明抗氧化效果的优异; 同时 MDA 是脂质过氧化的重要表现, 其含量越低证明机体收到脂质过氧化的影响越小^[12]。本研究中水豆豉可以起到缓解氧化造成的 SOD、GSH-Px 含量下降和抑制 MDA 含量的升高, 且玻璃发酵水豆豉的效果最好。

2.5 不同容器发酵水豆豉对小鼠肝脏中 nNOS、eNOS 和 iNOS 的 mRNA 表达的影响

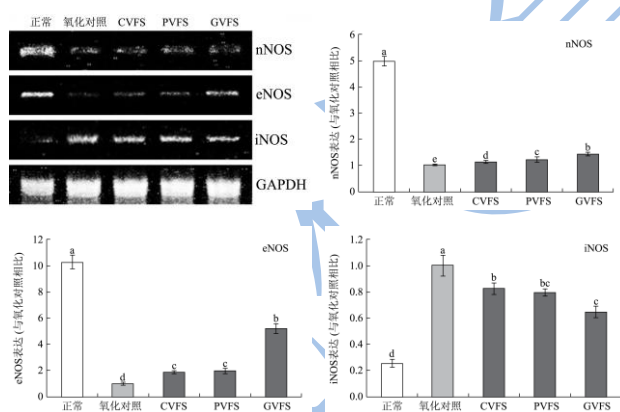


图3 不同容器发酵水豆豉灌胃小鼠肝脏中 nNOS、eNOS 和 iNOS 的 mRNA 表达水平

Fig.3 mRNA expression levels of nNOS, eNOS, and iNOS in liver of mice fed with Shuidouchi samples fermented in different vessels by gavage

通过 PT-PCR 实验结果可以看到, 水豆豉灌胃的三个小组小鼠肝组织中的 nNOS、eNOS 表达显著高于氧化对照组, 但低于正常组, 同时肝组织中的 iNOS 表达呈现与 nNOS、eNOS 表达相反的趋势, 显著低于氧化对照组 (图 3)。GVFS 灌胃小鼠的 nNOS、eNOS

表达分别 1.43, 5.17 倍于氧化对照组小鼠, 并且倍数高于 PVFS (1.22、1.99 倍) 和 CVFS (1.14、1.89 倍) 灌胃小鼠; 而 GVFS 灌胃小鼠的 iNOS 表达则仅为氧化对照组小鼠的 0.64 倍, 低于 PVFS (0.79 倍) 和 CVFS (0.82 倍) 灌胃小鼠, GVFS 灌胃小鼠的 nNOS、eNOS 和 iNOS 的 mRNA 表达比其他两种水豆豉灌胃小鼠更为接近正常组小鼠 (4.96、10.20、0.25 倍)。体内的 NO 失衡是机体损伤的标志之一, NO 在体内是由 NOS 催化产生的, 其中 iNOS 在正常情况下不表达, 机体氧化损伤后, iNOS 大量转化成 NO, 使机体氧化损伤加重; nNOS 和 eNOS 在机体多个组织中均体现出氧化受损后下降的趋势, 可见 nNOS、eNOS 表达减弱, iNOS 表达增强是氧化损伤的重要体现^[12,13]。

2.6 不同容器发酵水豆豉对小鼠肝脏中 Mn-SOD、Gu/Zn-SOD 和 CAT 的 mRNA 表达的影响

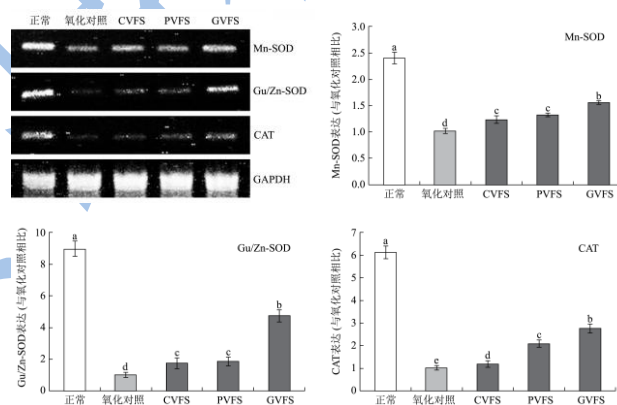


图4 不同容器发酵水豆豉灌胃小鼠肝脏中 Mn-SOD、Gu/Zn-SOD 和 CAT 的 mRNA 表达水平

Fig.4 mRNA expression levels of Mn-SOD, Gu/Zn-SOD, and CAT in liver of mice fed with Shuidouchi samples fermented in different vessels by gavage

SOD 在动物体内有三种异构体, Mn-SOD、Gu/Zn-SOD 和 EC-SOD, 体内的 Mn-SOD 和 Gu/Zn-SOD 水平过低会导致自由基的大量产生, 对机体造成氧化损伤。CAT 作为生物防御体系中的关键酶之一, 能清除氧自由基和促进过氧化氢分解, 从而避免氧化对体内细胞的损伤^[14]。本研究中水豆豉灌胃可以显著提高氧化损伤小鼠肝脏组织中 Mn-SOD、Gu/Zn-SOD 和 CAT 的 mRNA 表达 (图 4), 起到抗氧化的作用, 且 GVFS 的效果最为优异, 其肝脏组织中 Mn-SOD、Gu/Zn-SOD 和 CAT 的表达强度分别为氧化对照小鼠的 1.54、4.71 和 2.75 倍, 显著高于 PVFS (1.31、

1.82 和 2.07 倍) 和 CVFS (1.21、1.73 和 1.67 倍) 最为接近正常组小鼠 (2.38、8.94 和 6.10 倍)。

3 结论

本研究对不同容器发酵水豆豉的抗氧化效果进行研究, 通过体外和动物体内实验证明不同容器发酵水豆之间抗氧化效果具有显著差异。GVFS 的体外 DPPH 自由基和 OH 清除能力都优于 CVFS 和 PVFS。动物实验也证明受到 D-半乳糖诱导氧化的小鼠在灌胃 GVFS 后体内 NO 和 MDA 含量下降, SOD 和 GSH-Px 含量上升。进一步通过 RT-PCR 实验观察小鼠肝组织中 mRNA 表达的变化发现, GVFS 可以上调氧化损伤小鼠的 nNOS、eNOS、Mn-SOD、Gu/Zn-SOD、CAT 表达和下调 iNOS 表达。有这些结果可以分析出玻璃容器发酵水豆豉可以产生最好的抗氧化效果, 且这些抗氧化效果可能来源与玻璃容器发酵水豆豉中较高含量的活性异黄酮成分。通过以上结果可以得出在水豆豉生产中采用玻璃容器可提高产品的抗氧化品质。

参考文献

- [1] 赵欣, 王强. 不同后发酵时间的水豆豉理化特性比较研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(11): 344-349, 356
ZHAO Xin, WANG Qiang. Study on comparisons of different ripening fermentation periods fermented Shuidouchi in their physicochemical properties [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(11): 344-349, 356
- [2] Chung SK, Lee KS, Cho SH. Effect of fermentation vessel on quality of anchovy soy sauce [J]. Korean Journal of Food Preservation, 2004, 11(2): 233-239
- [3] Yoo SM, Kim JS, Shin DH. Quality changes of traditional Doenjang fermented in different vessels [J]. Journal of the Korean Society of Agricultural Chemistry and Biotechnology, 2001, 44(4): 230-234
- [4] Suo HY, Feng X, Zhu K, et al. Shuidouchi (fermented soybean) fermented in different vessels attenuates HCl/ethanol- induced gastric mucosal injury [J]. Molecules, 2015, 20(11): 19748-19763
- [5] 李雨枫, 欧阳晶, 苏悟, 等. 传统发酵豆豉蛋白质生物学变化与抗氧化能力研究[J]. 中国酿造, 2014, 33(11): 20-24
LI Yu-feng, OUYANG Jing, SU Wu, et al. Protein biological changes and antioxidant capacity of traditional fermented Douchi [J]. China Brewing, 2014, 33(11): 20-24
- [6] 闫祥华, 顾景范, 孙存普, 等. 大豆异黄酮抗脂质过氧化作用及其机制初探[J]. 解放军预防医学杂志, 2000, 18(1): 14-17
YAN Xiang-hua, GU Jing-fan, SUN Cun-pu, et al. Anti-lipid peroxidative actions of soybean isoflavones and their mechanism [J]. Journal of Preventive Medicine of Chinese People's Liberation Army, 2000, 18(1): 14-17
- [7] Wang H, Gao XD, Zhou CC, et al. *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of aqueous extract from *Choerospondias axillaris* fruit [J]. Food Chemistry, 2008, 106(3): 888-895
- [8] 黄占旺, 上官新晨, 程军辉, 等. 纳豆混合发酵技术研究[J]. 中国食品学报, 2005, 5(4): 70-73
HUANG Zhan-wang, SHANGGUAN Xin-chen, CHENG Jun-hui, et al. Studies on the mixed fermentation technique of Natto [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2005, 5(4): 70-73
- [9] Tienungoon S, Ratkowsky DA, McMeekin TA, et al. Growth limits of *Listeria monocytogenes* as a function of temperature, pH, NaCl, and lactic acid [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66(11): 4979-4987
- [10] 尹爽, 王修俊, 艾静汶, 等. 贵州特色水豆豉后发酵及调味技术研究[J]. 中国调味品, 2015, 40(6): 54-56
YIN Shuang, WANG Xiu-jun, AI Jing-wen. Research on post-fermentation and flavoring technology of Guizhou Natto [J]. China Condiment, 2015, 40(6): 54-56
- [11] 钟萍, 李萍, 张昕蕾. 当归多糖对小鼠化学性肝损伤抗氧化酶及一氧化氮含量的影响[J]. 现代预防医学, 2011, 38(22): 4725-4727
ZHONG Ping, LI Ping, ZHANG Xin-lei. Effect of angelica sinensis polysaccharide on the contents of anti-oxidative enzymes and nitric oxide in mice with chemical liver injured [J]. Modern Preventive Medicine, 2011, 38(22): 4725-4727
- [12] 万全, 王艳梅, 林琳, 等. 黄缘龟多肽对 D-半乳糖致亚急性衰老小鼠抗氧化能力的影响[J]. 现代食品科技, 2013, 29(9): 2075-2080
WAN Quan, WANG Yan-mei, LIN Lin. Effect of yellow-margined box turtle muscle polypeptides on antioxidant activities in D-galactose-induced aging mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(9): 2075-2080
- [13] Darra E, Rungtatscher A, Carcereri de Prati A, et al. Dual modulation of nitric oxide production in the heart during ischaemia/ reperfusion injury and inflammation [J]. Thrombosis and Haemostasis, 2010, 104(2): 200-206
- [14] Ligumsky M, Sestieri M, Okon E, et al. Antioxidants inhibit ethanol-induced gastric injury in the rat. Role of manganese, glycine, and carotene [J]. Scandinavian Journal of Gastroenterology, 1995, 30(9): 854-860

现代食品科技