

花生粕纳豆杆菌发酵物对衰老雌鼠生长发育及抗氧化活性的影响

刘 青^{1,2}, 胡迎芬¹, 魏玉西¹, 马爱国², 张源洁³, 王艳平⁴, 马玉萍², 张惠雯²

(1. 青岛大学 生命科学学院, 山东 青岛 266021; 2. 青岛大学 医学院, 山东 青岛 266021;

3. 徐州市卫生监督所, 江苏 徐州 221000; 4. 费县疾病预防控制中心, 山东 费县 273400)

摘要:应用 *D*-半乳糖建立大鼠衰老模型, 探究花生粕纳豆杆菌发酵物 (HFW) 对衰老雌鼠生长发育及抗氧化活性的影响。结果表明: 衰老模型组大鼠血清 SOD 活性明显低于正常对照组 ($P < 0.05$), MDA 含量明显高于正常对照组 ($P < 0.05$), 说明造模成功。试验期间, 中、高剂量 HFW 组大鼠平均体重分别增加 7.99%、12.18%。各组大鼠血脂酶含量无统计学差异 ($P > 0.05$), 表明试验剂量的 HFW 对大鼠肝脏无损伤。与衰老模型组比较, HFW 各组的 TC、TG 及 LDL 含量均表现为降低的趋势 ($P < 0.05$), 而 HDL 含量呈现升高的趋势 ($P < 0.05$); 高剂量 HFW 组大鼠 SOD 活性明显升高 ($P < 0.05$), 中、高剂量 HFW 组大鼠 MDA 含量明显降低 ($P < 0.05$); 且中、高剂量 HFW 组大鼠的胸腺指数明显高于衰老模型组 ($P < 0.05$)。一定剂量的 HFW 可有效改善衰老引起的大鼠体重下降、血脂代谢异常等, 提高抗氧化活性。

关键词:花生粕; 纳豆杆菌; 发酵; 衰老; 生长发育; 抗氧化活性

中图分类号: TQ645; TQ92

文献标识码: A

文章编号: 1003-7969(2018)04-0106-04

Effects of peanut meal fermented by *Bacillus natto* on growth performance and antioxidant activity of aging female rats

LIU Qing^{1,2}, HU Yingfen¹, WEI Yuxi¹, MA Aiguo², ZHANG Yuanjie³,
WANG Yanping⁴, MA Yuping², ZHANG Huiwen²

(1. School of Life Science, Qingdao University, Qingdao 266021, Shandong, China; 2. Medical College, Qingdao University, Qingdao 266021, Shandong, China; 3. Health Supervision Institute of Xuzhou, Xuzhou 221000, Jiangsu, China; 4. Fei County Center for Disease Control and Prevention, Feixian 273400, Shandong, China)

Abstract: The effects of fermentation product of peanut meal by *Bacillus natto* on growth performance and antioxidant activity of aging female rats induced by *D*-galactose were investigated. The results showed that the serum SOD activity of rats in aging model group was significantly lower than those in normal control group ($P < 0.05$), and the content of MDA was significantly higher than those in normal control group ($P < 0.05$), indicating that the model was successful. During the experiment, the average body weight of rats in middle and high dose groups increased by 7.99% and 12.18% respectively. There was no significant difference in serum lipid enzyme among rats in each group ($P > 0.05$), indicating that the experimental dose of HFW had no obvious damage to the liver. Compared with the aging model group, the contents of TC, TG and LDL in each HFW group decreased significantly ($P < 0.05$), and the content of

HDL increased significantly ($P < 0.05$). The SOD activity in middle and high dose groups increased significantly ($P < 0.05$), and the content of MDA decreased significantly ($P < 0.05$). The middle and high dose groups had a significant increase in thymus index of rats ($P < 0.05$). A certain dose of HFW had a significant improve-

收稿日期: 2017-10-12; 修回日期: 2018-01-16

基金项目: 山东省科技厅发展规划项目 (2014GSF120011)

作者简介: 刘 青 (1990), 女, 硕士研究生, 研究方向为儿少卫生与妇幼保健 (E-mail) 1209893100@qq.com。

通信作者: 胡迎芬, 教授, 硕士生导师 (E-mail) qingdahyf2006@163.com。

ment in the body weight loss and dyslipidemia, and increased antioxidant activity in aging rats.

Key words: peanut meal; *Bacillus natto*; fermentation; aging; growth performance; antioxidant activity

花生粕是花生制油后的副产品,花生粕富含蛋白质和花生纤维,蛋白质含量达47%~55%^[1-2],营养价值较高。然而,由于蛋白质变性^[3],氨基酸含量失衡^[2],及易受黄曲霉毒素污染^[4],目前花生粕仅用于饲料或肥料。发酵后花生粕的营养特性得到明显改善,蛋白质、干物质、小分子肽含量均显著提高,且氨基酸含量达到平衡^[2]。

在全球迅速进入老龄化的过程中,如何延缓衰老已经成为国内外研究的热点。维生素E是目前公认的最有效的抗氧化剂^[5]。花生粕发酵产物有较好的抗氧化活性,可以有效清除DPPH自由基、羟自由基,有较强的金属螯合能力^[2,6]。利用纳豆杆菌发酵花生粕得到更多活性产物,可以以较廉价的方式实现更高的经济价值。

本试验在建立大鼠衰老模型的基础上,探究花生粕纳豆杆菌发酵物对衰老雌鼠安全性和生理机能的影响,为疾病防控和开发利用花生粕资源提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验动物

SPF级雌性SD大鼠72只,4~5月龄,体重约250g,山东鲁抗实验中心(许可证号SCXK鲁20130001)。大鼠自由饮食饮水,室温(24±2)℃,12h光/暗循环。

1.1.2 主要试剂

花生粕(青岛嘉里植物油厂);市售豆粕、麸皮;纳豆杆菌分离于日本高野纳豆(青岛大学食品工程系保存);D-半乳糖(Macklin公司);维生素E(上海蓝季生物公司);超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒、丙二醛(MDA)试剂盒(南京建成生物工程研究所);其余试剂均为分析纯。

1.1.3 主要仪器

721G可见分光光度计;电子天平;压力蒸汽灭菌器;卓越400型全自动生化分析仪。

1.2 试验方法

1.2.1 花生粕纳豆杆菌发酵物(HFW)的制备

将花生粕、豆粕、麸皮按质量比7:2:1混合,121℃灭菌20min。于无菌条件下,制备并接种纳豆杆菌种子液^[7],37℃培养38h。生理盐水浸提1h,800r/min离心5min,取上清液,4层纱布过滤,

滤液冷冻干燥备用。

1.2.2 动物分组

大鼠适应性喂养1周,按体重随机分为正常对照组(N)、衰老模型组(M)、HFW低剂量组(FL)、HFW中剂量组(FM)、HFW高剂量组(FH)和阳性对照组(Y),每组12只。除N组(注射同剂量生理盐水)外,其余各组腹腔注射D-半乳糖400mg/(kg·d),连续8周,诱导衰老模型^[8],同时N组及M组给予生理盐水灌胃;FL组、FM组及FH组给予HFW灌胃,剂量分别为60、300、1500mg/(kg·d);Y组给予维生素E100mg/(kg·d)^[9]灌胃。

1.2.3 样本采集与处理

8周末,大鼠禁食12h后处死,腹主动脉取血,分离血清,冻存于-80℃。立即取出各脏器,称重。严格按照试剂盒说明书测定SOD和MDA含量。全自动生化分析仪检测血清相关指标。

1.2.4 脏器指数测定

脏器(肝脏、脾脏、胸腺)指数=脏器湿重/体重

1.2.5 数据统计

采用SPSS17.0统计软件,单因素方差分析和LSD检验对数据进行显著性差异分析。所有数据均以“ $\bar{X} \pm S$ ”表示, $P < 0.05$ 代表有统计学差异。

2 结果与讨论

2.1 衰老模型评价

2.1.1 大鼠一般状态

N组大鼠状态良好,毛色白有光泽,皮肤有弹性,饮食正常,行动敏捷。M组大鼠在试验后期出现消瘦,毛色发黄,皮肤松弛,行动缓慢,精神萎靡等衰老体征。

2.1.2 大鼠血清抗氧化指标

随着年龄增长,SOD活性逐渐下降,MDA含量升高,可用于反映机体的衰老状态^[10]。M组大鼠的SOD活性(312.475 U/mL ± 15.019 U/mL)低于N组(341.678 U/mL ± 16.727 U/mL) ($P < 0.05$),MDA含量(15.183 mmol/mL ± 0.714 mmol/mL)明显高于N组(8.557 mmol/mL ± 0.613 mmol/mL) ($P < 0.05$),表明造模成功。

2.2 HFW对衰老大鼠生长发育的影响

2.2.1 对大鼠体重的影响(见图1)

由图1可知,N组大鼠体重逐渐增加,从起始的

241.67 g 增加到 275.42 g;从 3 周开始,随造模时间延长,M 组大鼠体重逐渐降低,整个试验期间,体重由 240.33 g 降低到 235.73 g。FL 组大鼠体重变化不明显。FM、FH 组和 Y 组大鼠体重均逐渐增加,分别增加 7.99%、12.18%、12.75%。表明中、高剂量 HFW 以及维生素 E 可以有效延缓衰老大鼠体重降低的效应。

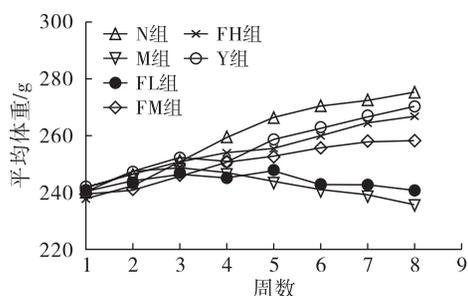


图 1 干预方式对大鼠体重的影响

2.2.2 对大鼠脏器指数的影响(见表 1)

由表 1 可知,各组大鼠的肝脏指数和脾脏指数

均无统计学差异($P > 0.05$)。与 N 组相比,M 组大鼠的胸腺指数减小($P < 0.05$)。衰老引起的胸腺衰退会导致机体免疫防御能力低下,易受感染、病变等^[11]。FM、FH 组和 Y 组大鼠胸腺指数高于 M 组($P < 0.05$),说明中、高剂量的 HFW 及维生素 E 可有效延缓衰老引起的胸腺萎缩,对衰老引起的免疫功能下降有保护作用。

表 1 干预方式对大鼠脏器指数的影响 mg/g

组别	肝脏指数	胸腺指数	脾脏指数
N 组	27.327 ± 1.005	1.711 ± 0.113	2.352 ± 0.133
M 组	26.250 ± 1.386	1.409 ± 0.119 ^a	2.111 ± 0.089
FL 组	26.314 ± 0.977	1.554 ± 0.102	2.215 ± 0.142
FM 组	26.998 ± 1.074	1.637 ± 0.136 ^b	2.305 ± 0.153
FH 组	26.788 ± 1.321	1.644 ± 0.118 ^b	2.218 ± 0.120
Y 组	26.767 ± 1.395	1.658 ± 0.099 ^b	2.414 ± 0.135

注:a 表示 M 组与 N 组比较, $P < 0.05$;b 表示各处理组与 M 组比较, $P < 0.05$ 。下同。

2.2.3 对大鼠脂质代谢的影响(见表 2)

表 2 干预方式对大鼠脂质含量的影响

mmol/L

组别	TC	TG	HDL	LDL
N 组	1.217 ± 0.043	0.421 ± 0.039	2.328 ± 0.091	0.056 ± 0.009
M 组	1.556 ± 0.032 ^a	0.632 ± 0.028 ^a	1.084 ± 0.121 ^a	0.117 ± 0.006 ^a
FL 组	1.158 ± 0.039 ^b	0.425 ± 0.039 ^{bc}	1.543 ± 0.104 ^b	0.044 ± 0.004 ^b
FM 组	1.128 ± 0.030 ^b	0.292 ± 0.037 ^b	1.523 ± 0.120 ^b	0.041 ± 0.003 ^b
FH 组	1.025 ± 0.035 ^b	0.268 ± 0.026 ^b	1.642 ± 0.125 ^b	0.054 ± 0.005 ^b
Y 组	1.032 ± 0.027 ^b	0.215 ± 0.020 ^b	1.455 ± 0.105	0.021 ± 0.006 ^b

注:c 表示 HFW 组与 Y 组比较, $P < 0.05$ 。下同。

TG、TC 过高或 HDL 过低能增加动脉粥样硬化、高血压、糖尿病等的患病风险^[12]。由表 2 可知,与 N 组比较,M 组大鼠 TC、TG 及 LDL 含量均表现为升高的趋势($P < 0.05$),而 HDL 含量则表现为降低的趋势($P < 0.05$);与 M 组相比,HFW 各组的 TC、TG 及 LDL 含量均表现为降低的趋势($P < 0.05$),而

HDL 含量呈现升高的趋势($P < 0.05$)。与 Y 组相比,FL 组 TG 含量明显升高($P < 0.05$)。表明中、高剂量 HFW 和维生素 E 可改善衰老大鼠脂质代谢功能。

2.2.4 对大鼠肝脏功能的影响(见表 3)

表 3 干预方式对大鼠血脂酶含量的影响

U/L

组别	AST	ALT	ALP	γ -GT
N 组	71.666 ± 7.884	28.833 ± 2.852	62.333 ± 6.561	1.666 ± 0.091
M 组	69.909 ± 4.609	24.227 ± 2.539	56.318 ± 4.207	1.636 ± 0.122
FL 组	68.050 ± 7.716	23.050 ± 1.970	55.550 ± 3.048	1.600 ± 0.187
FM 组	67.555 ± 6.843	25.388 ± 2.068	52.722 ± 5.046	1.611 ± 0.125
FH 组	65.277 ± 8.498	26.500 ± 2.119	52.277 ± 4.150	1.467 ± 0.105
Y 组	62.850 ± 5.717	25.050 ± 3.385	51.100 ± 5.301	1.500 ± 0.081

AST、ALT、ALP、 γ -GT 组合实验室检查结果在各类肝胆疾病诊断中有重要的临床价值^[13]。由表 3 可知,各组大鼠的 AST、ALT、ALP、 γ -GT 含量均无统计学差异($P > 0.05$),表明试验剂量的 HFW 对大鼠肝脏无损伤。

2.3 HFW 对衰老大鼠抗氧化活性的影响(见表 4)

对于衰老机制,目前研究较为广泛的是自由基学说,随着年龄增加,自由基生成增加而消除减少,从而加速了机体的衰老性损伤^[14-15]。由表 4 可知,与 N 组相比,M 组大鼠血清 SOD 含量明显降低

($P < 0.05$), MDA 含量明显升高($P < 0.05$)。与 M 组相比, FH 组和 Y 组大鼠血清 SOD 含量明显升高($P < 0.05$); FM、FH 组和 Y 组大鼠 MDA 含量明显降低($P < 0.05$)。提示高剂量的 HFW 和维生素 E 可有效提高老年大鼠的抗氧化活性。

表 4 干预方式对大鼠抗氧化活性的影响

组别	SOD/(U/mL)	MDA/(mmol/mL)
N 组	341.678 ± 16.727	8.557 ± 0.613
M 组	312.475 ± 15.019 ^a	15.183 ± 0.714 ^a
FL 组	307.045 ± 12.075	13.578 ± 0.423 ^c
FM 组	325.017 ± 19.441	11.379 ± 0.393 ^b
FH 组	394.510 ± 11.297 ^b	11.419 ± 0.503 ^b
Y 组	406.385 ± 11.722 ^b	10.805 ± 0.884 ^b

3 结论

一定剂量的花生粕纳豆杆菌发酵物可有效改善衰老引起的体重下降、血脂代谢异常,提高衰老大鼠抗氧化活性。中、高剂量花生粕发酵物在增强免疫能力、调节脂质代谢、延缓机体氧化等方面均有明显的效果,而低剂量花生粕发酵物仅可改善脂质代谢异常。要确定改善效果与剂量的关系、发挥作用的成分及机制还有待进一步研究。

参考文献:

[1] ZHANG Y, HUI Z, LI W, et al. Influence of the degree of hydrolysis (DH) on antioxidant properties and radical-scavenging activities of peanut peptides prepared from fermented peanut meal [J]. Eur Food Res Technol, 2011, 232(6): 941-950.

[2] YANG X Y, TENG D, WANG X M, et al. Enhancement of nutritional and antioxidant properties of peanut meal by bio-modification with *Bacillus licheniformis* [J]. Appl Biochem Biotechnol, 2016, 180(6): 1227.

[3] 刘云花, 杨颖, 胡晖, 等. 花生油风味物质解析及风味增强研究进展 [J]. 中国油脂, 2017, 42(3): 30-34.

[4] ZHOU G H, CHEN Y J, KONG Q, et al. Detoxification of aflatoxin B₁ by *Zygosaccharomyces rouxii* with solid state fer-

mentation in peanut meal [J]. Toxins, 2017, 9(1): 42.

[5] CHENG K, SONG Z H, ZHENG X C, et al. Effects of dietary vitamin E type on the growth performance and antioxidant capacity in cyclophosphamide immunosuppressed broilers [J]. Poultry Sci, 2016, 96(5): 1159-1166.

[6] 张源洁, 胡迎芬, 马爱国, 等. 纳豆杆菌固态发酵花生粕的工艺条件研究 [J]. 中国油脂, 2017, 42(3): 99-102.

[7] 王艳平, 胡迎芬, 魏玉西, 等. 花生粕固态发酵产纳豆激酶的工艺优化 [J]. 食品工业科技, 2016, 37(23): 161-164.

[8] 吴克芬, 胡予. D-半乳糖致衰老动物模型的建立及评价 [J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2012, 11(1): 74-78.

[9] 蒋万志, 张洪泉. 枸杞多肽对 D-半乳糖诱导小鼠的抗衰老作用及其可能机制 [J]. 国际药学研究杂志, 2010, 37(1): 47-50.

[10] 曹宝平, 马超, 李芳伶, 等. 延缓衰老汤对衰老模型大鼠的保护作用 [J]. 中国老年学, 2016, 36(3): 547-548.

[11] 阿不都热衣木·肉孜, 艾克帕尔·阿布都热合曼, 古孜力努尔·依马木, 等. 异常黑胆质成熟剂对 D-半乳糖致衰老模型大鼠免疫功能的影响 [J]. 新疆医科大学学报, 2013, 36(10): 145-148.

[12] 贺立山, 翁孝刚. 内科学 [M]. 7 版. 西安: 第四军医大学出版社, 2008.

[13] 位松华. ALT、AST、ALP、γ-GT 组合实验室检验结果分析在各类肝胆疾病诊断中的临床价值 [J]. 检验医学与临床, 2016(6): 848-849.

[14] KEN S. Effects of caloric restriction on cardiac oxidative stress and mitochondrial bioenergetics: potential role of cardiac sirtuins [J]. Oxid Med Cell Longev, 2013(2): 528935.

[15] LIOCHEV S I. Reactive oxygen species and the free radical theory of aging [J]. Free Radical Bio Med, 2013, 60(10): 1-4.

欢迎投稿、刊登广告
欢迎订阅 2018 年度《中国油脂》