

文章编号: 1004-4353(2018)02-0160-04

酱露酒抗氧化及抗癌性能的研究

刘阿文, 徐硕, 金铁岩*

(延边大学 农学院, 吉林 延吉 133002)

摘要: 以朝鲜族传统大酱及 38%Vol、42%Vol 和 50%Vol 的酱露酒为研究对象, 对其抗氧化能力及抗癌性能进行研究. 结果表明: 朝鲜族传统大酱中的总酚和黄酮类化合物含量最高, 其抗氧化能力和抗癌性能最好; 3 种酒精度不同的酱露酒均较好地保存了大酱中的总酚和黄酮类化合物, 其中 50%Vol 酱露酒中的总酚和黄酮类化合物含量最高, 且对 DPPH 自由基的清除率和对肝癌细胞 HepG2、大肠癌细胞 HT29 的生长抑制率最高; 38%Vol 酱露酒对 $\cdot\text{O}_2^-$ 阴离子的清除效果最好, 其清除率与 48%Vol 酱露酒存在显著性差异; 3 种酒精度不同的酱露酒对 $\cdot\text{OH}$ 自由基的清除率无显著性差异, 其中 42%Vol 酱露酒的清除效果最好.

关键词: 酱露酒; 抗氧化性; 抗癌

中图分类号: TS275.4

文献标识码: A

The antioxidant and anti-cancer properties of the soybean paste liqueur

LIU Awen, XU Shuo, JIN Tieyan*

(College of Agricultural, Yanbian University, Yanji 133002, China)

Abstract: The antioxidant and anti-cancer properties of the Korean soybean paste and soybean paste liqueur with alcohol concentrations of 38% Vol, 42% Vol and 50% Vol are investigated. There is the highest content of total phenols and flavonoids, the best antioxidant capacity and anti-cancer properties in Korean soybean paste. The 3 kinds of soybean paste liqueur all preserved the total phenols and flavonoids in the Korean soybean paste. Among them, the content of total phenols and flavonoids, the scavenging rate of DPPH free radical and the inhibition rate on the growth of hepatoma cell HepG2 and colorectal cancer cell HT29 for 50% Vol is superior to the other 2 concentrations. The best effect on the elimination of $\cdot\text{O}_2^-$ anion is for 38% Vol, and there is a significant difference for 48% and 38% Vol. However, there is no significant difference in the $\cdot\text{OH}$ free radical scavenging rate for 3 kinds of soybean paste liqueur, and the better effect is 42% Vol.

Keywords: soybean paste liqueur; antioxidation; anticancer

0 引言

朝鲜族传统大酱是以大豆为主要原料, 加入其他辅料经破碎、制曲、发酵等步骤而制成的一种调味品. 研究表明, 朝鲜族大酱中富含大豆蛋白、维生素、矿物质元素、氨基酸和多肽类等多种活性物质^[1-2]. 露酒是我国最古老的酒种之一, 集营养、

保健、民俗文化、饮用于一体, 深受人们的喜爱^[3]. 2012 年, 延边悟德酱露酒公司研发了一种新型露酒——酱露酒. 酱露酒使用不同酒精度的白酒为基酒, 采用冷浸提的方法对朝鲜族大酱中的功能性成分进行提取, 然后再经过滤而制得^[4]. 目前, 对于朝鲜族大酱的功能性、微生物群落等方面研究得较多, 但对使用朝鲜族大酱为原料制作的新

收稿日期: 2017-11-22

* 通信作者: 金铁岩(1968—), 男, 博士, 副教授, 研究方向为食品发酵.

型产品研究得较少.基于此,本文以朝鲜族传统大酱及不同酒精度的酱露酒为实验材料,对其抗氧化能力和抗癌性能进行研究.

1 材料与方法

1.1 实验材料与试剂

朝鲜族传统大酱、38% Vol 酱露酒、42% Vol 酱露酒和 50% Vol 酱露酒均由延边悟德酱露酒有限公司提供. HepG2 和 HT29 细胞株, American Type Culture Center 生产; 96 孔细胞培养板, corning 公司生产; RPMI-1640 液体培养基, Hyclone 公司生产; 优质胎牛血清, 杭州四季青生物公司生产; 胰蛋白酶, Sigma 公司生产; 二甲基亚砜(DMSO), Hyclone 公司生产; 3-(4,5-二甲基-2-噻唑)-2,5-二苯基溴化四氮唑噻唑蓝(MTT), Sigma 公司生产; 1,1-二苯-2-苦基肼(DPPH)、芦丁、水杨酸、硝酸钠、福林酚、无水乙醇、氢氧化钠、亚硝酸钠、邻苯三酚和没食子酸等均为分析纯.

1.2 实验仪器

FD-1A-50 型冷冻干燥机(北京博医康实验仪器有限公司); ZWY-100H/240 型恒温培养振荡器(上海智城分析仪器制造有限公司); HBS-1096A 型酶标仪(BIO-RAD 公司); LHH.CP-100 型二氧化碳培养箱(Thermo 公司).

1.3 实验方法

1.3.1 酚类化合物含量的测定 采用 Folin-Ciocalteu 法^[5]测定酚类化合物的含量.

大酱样品前处理:取 10 g 大酱先冷冻干燥,然后用 50% (体积分数)乙醇溶液溶解;在 100 W、50 Hz 条件下超声萃取 30 min,过滤,合并上清液 2 次,置于旋转蒸发仪中;除去乙醇,定容,测定时稀释至 50 倍.

酱露酒样品前处理:将不同酒精度的酱露酒稀释至 50 倍,直接用于测定.

1.3.2 黄酮类化合物含量的测定 采用亚硝酸钠-硝酸铝显色法^[6]测定黄酮类化合物的含量.

大酱样品前处理:称取 2 g 大酱,加入 50 mL 75% (体积分数)乙醇溶液,置于 65 °C 的恒温水浴锅中,加热提取 45 min;取出后冷却至室温,用 75%乙醇定容;在 100 W、50 Hz 条件下超声萃取

30 min,在 5 000 r/min 条件下离心 10 min,取上层清液定容待测.

酱露酒样品前处理:分别取 50 mL 不同酒精度的酱露酒,加入 74 mL 无水乙醇使其乙醇的体积分数达到 75%;在 100 W、50 Hz 条件下超声萃取 30 min,在 5 000 r/min 条件下离心 10 min,取上层清液,最后旋转蒸发浓缩并定容待测.

1.3.3 DPPH 自由基消除率的测定 称取 0.788 g DPPH,配置成 2 mmol/L DPPH-乙醇溶液,避光保存备用.取 2 g 大酱,用 0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH 7.0)配成浓度为 20 mg/mL 的样品溶液.测定时吸取 2 mL 样品溶液和 2 mL DPPH-乙醇溶液放入到试管中,室温下静置避光保存 30 min;在 2 000 r/min 条件下离心 10 min,取上层清液,在 517 nm 条件下测其吸光值 A_1 .用 2 mL 无水乙醇作空白实验.

1.3.4 $\cdot\text{OH}$ 自由基清除率的测定 采用水杨酸法^[7]测定 $\cdot\text{OH}$ 自由基的清除能力.大酱样品前处理:取 10 g 大酱进行冷冻干燥,然后加入 100 mL 无水乙醇,在 1 500 r/min 条件下均质 2 min;在室温条件下震荡提取 1 h,最后在 4 000 r/min 条件下离心 10 min,取上层清液备用.

1.3.5 $\cdot\text{O}_2^-$ 阴离子清除率的测定 采用邻苯三酚自氧化法^[8]测定 $\cdot\text{O}_2^-$ 的清除能力.大酱样品前处理方法与 1.3.4 的测定方法相同.

1.3.6 癌细胞生长抑制作用的测定 取 100 g 大酱放入 70%乙醇溶液中,搅拌 2 h,收集滤液,蒸干;收集固形物并配置成不同浓度样液,备用.取 200 mL 不同酒精度的酱露酒,蒸干,收集固形物并配置成不同浓度样液备用.

用含 10%胎牛血清的培养基分别将 HepG2 和 HT29 培养至对数期,然后接种于 96 孔板中培养^[9],24 h 后分别加入 0.1、0.5、1 mg/mL 浓度的样液.同时,用 10%胎牛血清的培养基作对照,用含有 HepG2 或 HT29 的培养基作空白实验.将培养基在 37 °C、5% CO_2 的二氧化碳培养箱中培养 48 h,加入 5 mg/mL 的 MTT 溶液,4 h 后终止培养,除去孔内培养上清液,加入 DMSO 充分震荡(30 min),使结晶全部溶解.利用酶标仪在 490 nm 条件下测定待测液的吸光值.

2 结果与分析

2.1 朝鲜族大酱和酱露酒中总酚和黄酮的含量

由表 1 可知,4 种样品中朝鲜族大酱中的总酚和黄酮含量最高.在不同酒精度的 3 种酱露酒中,50%Vol 酱露酒中的总酚和黄酮含量最高,且与 38%Vol、42%Vol 酱露酒中的总酚和黄酮含量呈显著性差异.38%Vol 酱露酒和 42%Vol 酱露酒中的总酚和黄酮含量无显著性差异,其中 42%Vol 酱露酒的黄酮含量略高于 38%Vol 酱露酒,但其总酚含量略低于 38%Vol 酱露酒.

表 1 朝鲜族大酱和酱露酒中的总酚和黄酮含量

样品	总酚含量/($\mu\text{g/g}$)	黄酮含量/($\mu\text{g/g}$)
朝鲜族大酱	260.81 \pm 2.61 ^a	126.29 \pm 1.88 ^a
38%Vol 酱露酒	162.72 \pm 3.17 ^c	86.43 \pm 3.24 ^c
42%Vol 酱露酒	161.95 \pm 3.92 ^c	87.37 \pm 4.73 ^c
50%Vol 酱露酒	184.23 \pm 4.27 ^b	93.17 \pm 2.86 ^b

注:表中上标字母相同表示数据无显著性差异($P>0.05$),字母不同表示差异显著($P<0.05$)

2.2 朝鲜族大酱和酱露酒的抗氧化性

由表 2 可知,4 种样品中朝鲜族大酱对 DPPH 自由基的清除率最高.在不同酒精度的 3 种酱露酒中,50%Vol 酱露酒对 DPPH 自由基的清除效果最好,且与 38%Vol、42%Vol 酱露酒对 DPPH 自由基的清除能力存在显著性差异.38%Vol 酱露酒和 42%Vol 酱露酒对 DPPH 自由基的清除能力无显著性差异,但 38%Vol 酱露酒对 DPPH 自由基的清除能力稍高于 42%Vol 酱露酒,这可能与这两种酒中的总酚含量有关^[10].

4 种样品中朝鲜族大酱对 $\cdot\text{OH}$ 自由基的清除效果最好.在不同酒精度的 3 种酱露酒中,42%Vol 酱露酒对 $\cdot\text{OH}$ 自由基的清除效果最好,但与 38%Vol 和 50%Vol 酱露酒对 $\cdot\text{OH}$ 自由基的清除效果无显著性差异.这说明,酱露酒的酒精度对清除 $\cdot\text{OH}$ 自由基的影响不大.

4 种样品中朝鲜族大酱对 $\cdot\text{O}_2^-$ 阴离子的清除效果最好.在不同酒精度的 3 种酱露酒中,50%Vol 酱露酒对 $\cdot\text{O}_2^-$ 阴离子的清除率与 38%Vol、42%Vol 酱露酒无显著性差异,但 38%Vol 酱露酒和 42%Vol 酱露酒对 $\cdot\text{O}_2^-$ 阴离子的清除率呈

显著性差异.酱露酒的酒精度对 $\cdot\text{O}_2^-$ 阴离子清除率的影响有待进一步研究.

表 2 朝鲜族大酱和酱露酒的抗氧化性

样品	清除率/%		
	$\cdot\text{DPPH}$	$\cdot\text{OH}$	$\cdot\text{O}_2^-$
朝鲜族大酱	76.81 \pm 1.18 ^b	82.16 \pm 2.10 ^b	70.83 \pm 2.58 ^a
38%Vol 酱露酒	42.37 \pm 1.84 ^d	46.96 \pm 1.08 ^c	36.93 \pm 1.08 ^c
42%Vol 酱露酒	39.84 \pm 2.71 ^d	48.08 \pm 2.60 ^c	34.34 \pm 1.97 ^d
50%Vol 酱露酒	46.56 \pm 1.12 ^c	47.32 \pm 1.28 ^c	35.85 \pm 1.80 ^{cd}
维生素 C (20 $\mu\text{g/mL}$)	92.48 \pm 1.43 ^a	93.35 \pm 1.72 ^a	60.12 \pm 1.22 ^b

注:表中上标字母所表示的含义与表 1 注同

2.3 朝鲜族大酱和酱露酒对癌细胞的生长抑制作用

由表 3 可知,朝鲜族大酱对 HepG2 的抑制能力最强,不同酒精度的 3 种酱露酒也较好地保留了大酱对 HepG2 的生长抑制能力.3 种酱露酒对 HepG2 的生长抑制率表现为显著性差异,其中 50%Vol 酱露酒对 HepG2 的生长抑制效果最好.当样品浓度为 0.5 mg/mL 和 1 mg/mL 时,50%Vol 酱露酒对 HepG2 的生长抑制率与朝鲜族大酱无显著性差异.

表 3 朝鲜族大酱和酱露酒对 HepG2 的生长抑制率

样品	抑制率/%		
	0.1 mg/mL	0.5 mg/mL	1 mg/mL
38%Vol 酱露酒	8.72 \pm 0.61 ^d	12.62 \pm 1.17 ^c	20.68 \pm 1.90 ^c
42%Vol 酱露酒	10.37 \pm 0.95 ^c	16.43 \pm 1.24 ^b	24.44 \pm 1.43 ^b
50%Vol 酱露酒	16.75 \pm 0.66 ^b	19.83 \pm 0.71 ^a	32.82 \pm 1.06 ^a
朝鲜族大酱	18.22 \pm 1.20 ^a	20.45 \pm 1.63 ^a	34.04 \pm 1.87 ^a

注:表中上标字母所表示的含义与表 1 注同

由表 4 可知,朝鲜族大酱对 HT29 的抑制能力最强.不同酒精度的 3 种酱露酒在样品浓度为 0.1 mg/mL 情况下,对 HT29 均无生长抑制效果;样品浓度为 0.5 mg/mL 和 1 mg/mL 时,50%Vol 酱露酒对 HT29 的抑制效果最好,且不同酒精度的 3 种酱露酒对 HT29 的抑制率呈显著性差异.

表 4 朝鲜族大酱和酱露酒对 HT29 的生长抑制率

样品	抑制率/%		
	0.1 mg/mL	0.5 mg/mL	1 mg/mL
38% Vol 酱露酒	—	16.44±0.61 ^d	24.43±1.37 ^d
42% Vol 酱露酒	—	18.48±1.17 ^c	30.49±1.83 ^c
50% Vol 酱露酒	—	22.43±2.12 ^b	38.42±2.26 ^b
朝鲜族大酱	—	27.38±1.65 ^a	42.61±2.13 ^a

注:表中上标字母所表示的含义与表 1 注同,“—”表示未检出

3 结论

本文对朝鲜族大酱及 38% Vol、42% Vol 和 50% Vol 酱露酒的抗氧化能力和抗癌性能进行了研究. 结果表明: 1)在 4 种测试样品中,朝鲜族大酱的抗氧化能力和抗癌性能最好. 2)在不同酒精度的 3 种酱露酒中,50% Vol 酱露酒中的总酚和黄酮类化合物含量最高,且其对 DPPH 自由基的清除率和对肝癌细胞 HepG2、大肠癌细胞 HT29 的生长抑制率最好; 38% Vol 酱露酒对 $\cdot\text{O}_2^-$ 阴离子的清除效果最好,其清除率与 48% Vol 酱露酒存在显著性差异; 不同酒精度的 3 种酱露酒对 $\cdot\text{OH}$ 自由基的清除率无显著性差异,其中 42% Vol 酱露酒的清除效果最好. 本研究结果可为酱露酒的开发和市场化提供理论依据. 本文仅选取了不同酒精度的 3 种酱露酒作为研究样品(目前

市售产品只有 3 种),因此今后将增加酒精度梯度,以此进一步完善本文结果.

参考文献:

[1] 李雪,史得君,黄柏申,等. 不同胆藏时期朝鲜族大酱致突变及抗突变作用研究[J]. 食品与机械,2016, 32(6):123-127.

[2] 孙家郁. 大豆异黄酮的抗癌作用[J]. 天津药学, 2001,13(2):10-12.

[3] 张玲,曾婉玲,李春海. 菠萝蜜露酒加工工艺研究 [J]. 食品研究与开发,2015,36(4):94-98.

[4] 姜美玉,吴俊吉,于昌馨,等. 悟德酱露酒:酱人合一的五德文化典范[J]. 中国品牌,2012,66(5):100-103.

[5] 李爽. 发酵毛豆中大豆异黄酮苷元与总多酚含量测定及其药理活性研究[D]. 长春:吉林农业大学, 2015.

[6] 李潇,刘倩颖,徐鑫,等. 市售大酱微生物群落检测及总黄酮含量测定[J]. 食品工业,2014,35(9):272-274.

[7] 吴帅. 快速发酵虾酱抗氧化活性的研究[D]. 湛江: 广东海洋大学,2016.

[8] 赵晓娟,吴均,陈佳昕,等. 苦荞纳豆酱的抗氧化活性[J]. 食品科学,2014,35(13):122-126.

[9] 田波,傅颖璐,田亮. 槲皮素对人结肠癌细胞 HT29 的增殖抑制及诱导凋亡的体外实验研究[J]. 南昌大学学报(医学版),2012,52(4):16-21.

[10] Emmanuel Kwaw, Yongkun Ma, William Tcha-bo, et al. Effect of lactobacillus strains on phenolic profile, color attributes and antioxidant activities of lactic-acid-fermented mulberry juice [J]. Food Chemistry, 2018,250:148-154.