

## 永川豆豉复合配方对 ZDF 大鼠糖代谢的影响

胡琴,舒芙蓉,糜漫天,周永,郎和东,汪小兰,朱俊东<sup>△</sup>

(第三军医大学军事预防医学院营养与食品安全研究中心/重庆市营养与食品安全重点实验室,重庆 400038)

**[摘要]** **目的** 研究永川豆豉复合配方对糖尿病大鼠糖代谢的影响。**方法** 采用自发性糖尿病 ZDF 大鼠为研究对象,分为模型对照组、模型干预组;以及正常 SD 大鼠作为阴性对照,分为正常对照组、正常干预组。复合配方水溶剂连续干预 35 d,同时监测体质量、饲料消耗、空腹血糖(FBG)情况,以及口服葡萄糖耐量实验(OGTT)测量。**结果** 该复合配方对正常动物血糖、体质量无影响。与模型对照组相比,ZDF 模型干预组大鼠干预后体质量( $P<0.01$ )、体质量增长率( $P<0.05$ )显著增加,空腹血糖下降百分率显著增高( $P<0.01$ );同时,ZDF 大鼠糖耐量明显改善,表现为 0.5、2.0 h 血糖下降百分率和 0、0.5、2.0 h 血糖曲线下面积下降率升高( $P<0.05$ )。**结论** 永川豆豉复合配方可以改善 ZDF 糖尿病大鼠的糖代谢,而不影响正常大鼠的糖代谢,提示该复合配方具有辅助降血糖功能的作用。

**[关键词]** 永川豆豉复合配方;ZDF 大鼠;糖代谢**[中图分类号]** R151.2;R543;R332**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2016)29-4047-03

## Effects of Yongchuan Douchi complex formula on glucose metabolism in ZDF rats

Hu Qin, Shu Furong, Mi Mantian, Zhou Yong, Lang Hedong, Wang Xiaolan, Zhu Jundong<sup>△</sup>

(Research Center of Nutrition and Food Safety, Institute of Military Preventive Medicine, Third Military Medical University/Chongqing Key Laboratory of Nutrition and Food Safety, Chongqing 400038, China)

**[Abstract]** **Objective** To determine the effects of Yongchuan Douchi complex formula on glucose metabolism in diabetic rats. **Methods** Zucker Diabetic Fatty(ZDF) rats were divided into the model control group and the model intervention group. Similarly, normal SD rats as a negative control, were also divided into normal control group and normal intervention group. Rats were given the complex formula for 35 d, the body weight, feed consumption, fasting blood glucose (FBG) and oral glucose tolerance test (OGTT) were measured respectively before and after intervention. **Results** The Douchi complex formula had no effect on blood glucose and body weight in normal rats. Compared with ZDF model control group, Douchi complex formula significantly increased rats weight ( $P<0.01$ ), the growth rate of weight ( $P<0.05$ ) and the increase rate of FBG ( $P<0.01$ ). Meanwhile, the glucose tolerance of ZDF rats was significantly improved as evidenced by the decrease rates of 0.5, 2.0 h blood glucose and the area under the curve of 0, 0.5, 2.0 h blood glucose were increased ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Yongchuan Douchi complex formula can improve the glucose metabolism in diabetic ZDF rats without affecting the glucose metabolism in normal rats, suggesting that the complex formula has the function of lowering blood glucose.

**[Key words]** Yongchuan Douchi complex formula; ZDF rats; glucose metabolism

糖尿病(diabetes mellitus, DM)是常见的严重威胁人类健康的慢性疾病,是一种因胰岛素分泌相对不足或靶细胞对胰岛素敏感性降低,引起糖、蛋白质、脂肪和继发的水、电解质代谢紊乱,以慢性高血糖症为主要特征的内分泌-代谢性疾病。其中,2型糖尿病(T2DM)约占90%<sup>[1]</sup>,其病因复杂,发病机制至今尚未完全阐明。

ZDF(zucker diabetic fatty)大鼠是自发性DM动物模型,是由高血糖的Zucker(fa/fa)突变种大鼠近交繁殖得到的亚系,与Zucker(fa/fa)大鼠相比,ZDF(fa/fa)大鼠肥胖较轻但胰岛素抵抗更严重<sup>[2]</sup>;ZDF大鼠经特殊饲料(如高脂饲料Purina #5008)诱导后出现高脂血症和高血糖症,并保持稳定的高血糖症状<sup>[3]</sup>。

豆豉是以黑豆、黄豆为原料,利用微生物发酵制成的传统调味副食品。豆豉加工处理可以使豆豉中可溶性糖、游离氨基酸、维生素B1、B2的含量增加<sup>[4]</sup>。相关文献报道豆豉中含有多种抗氧化、降血糖、降血脂的活性成分,主要包括大豆异黄酮、类黑精、寡糖、溶栓酶、多肽、抗菌素等<sup>[5]</sup>。同时,发酵处理

基本上不改变豆豉中大豆异黄酮的总含量,而糖苷型大豆异黄酮在β-葡萄糖苷酶的作用下可转化为生物活性更高的游离型大豆异黄酮,使游离型大豆异黄酮的含量明显提高<sup>[4-5]</sup>。本研究采用的永川豆豉是以黄豆或黑豆为原料,通过毛霉发酵而成的发酵性豆制品。以永川豆豉超微粉为主要原料,辅以藤茶粉、苦瓜粉、铬酵母片等制成复合配方,干预自发性DM ZDF大鼠,观察该复合配方对其糖代谢的影响。

**1 材料与方法**

**1.1 材料** 实验选用ZDF大鼠12只,SPF级,雄性,体质量190~210 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司;正常成年SD大鼠10只,SPF级,雄性,体质量180~250 g,购自重庆中药研究所。大鼠饲养于第三军医大学实验动物饲养中心,分笼饲养,温度(20±2)℃,湿度(55±5)%,人工光照,明暗各12 h/d,24 h自由取食和饮水。

**1.2 主要试剂与药品** 诱导饲料:Purina #5008(粗蛋白23.5%,粗脂肪6.5%),22.5千克/袋,由美国LabDiet生产,购自上海介宏贸易有限公司。血糖仪及试纸:强生-稳豪血糖

仪(ONE Touch Ultra Easy),及强生稳豪型(ONE Touch Ultra)血糖试纸,购自强生医疗器械有限公司。葡萄糖:国药集团化学试剂有限公司;水合氯醛:购自西南医院便民药房;豆豉超微粉:永川豆豉以黄豆或黑豆为原料,通过毛霉发酵制成。豆豉经过冷冻干燥(乐山市四川天成食品有限公司)后超微粉碎(四川夸克科技发展有限公司)处理。

### 1.3 方法

**1.3.1 动物分组** 实验前给予 ZDF 大鼠诱导饲料喂养,剪尾采血检测基础空腹血糖(FBG)水平,以  $FBG > 15.00 \text{ mmol/L}$  作为 DM 模型成功的标志,将 12 只模型鼠分为模型对照组和模型干预组。健康成年大鼠给予正常基础饲料喂养,适应性喂养 1 周,按禁食 3~5 h 的血糖水平分为正常对照组和正常干预组。

**1.3.2 干预处理** 造模成功后,即 ZDF 大鼠  $FBG > 15.00 \text{ mmol/L}$  后开始干预,对照组给予蒸馏水灌胃,干预组给予豆豉复合配方,连续灌胃 35 d。

**1.3.3 FBG 测定** 干预开始前,各组动物禁食 3~5 h (自由饮水),水合氯醛麻醉,用毛细玻璃管内眦静脉丛采血约 2 mL,送至第三军医大学西南医院检验科检测 FBG。

**1.3.4 ZDF 大鼠血糖、体质量监测** 每周监测 ZDF 大鼠血糖值变动情况,FBG 采用自动血糖仪和稳豪型血糖试纸检测,以 mmol/L 表示。同时,每周监测 ZDF 大鼠体质量变动及饲料消耗情况。

**1.3.5 正常 SD 大鼠降糖实验** 正常对照组给予蒸馏水,正常干预组给予豆豉复合配方,连续 35 d,检测 FBG(禁食同实验前),比较两组动物血糖值。

**1.3.6 ZDF 模型大鼠降糖实验** 模型干预组给予豆豉复合配方,模型对照组给予蒸馏水,连续灌胃 35 d,检测 FBG(禁食同实验前),比较两组动物血糖值及血糖下降百分率。

血糖下降百分率(%) =  $\frac{\text{实验前血糖值} - \text{实验后血糖值}}{\text{实验前血糖值}} \times 100\%$ 。

**1.3.7 ZDF 模型大鼠糖耐量实验** 各组动物禁食 3~5 h,测定给葡萄糖前(即 0 h)血糖值,模型干预组给予复合配方,模型对照组给予与体质量相应体积的蒸馏水,15~20 min 后各组经口给予葡萄糖 2.0 g/kg BW,测定给葡萄糖后各组 0.5、2.0 h 的血糖值,观察模型对照组与模型干预组给葡萄糖后各时间点(0、0.5、2.0 h)血糖值及血糖曲线下面积的变化。

血糖曲线下面积 =  $\frac{(0 \text{ h 血糖} + 0.5 \text{ h 血糖}) \times 0.5}{2} + \frac{(2.0 \text{ h 血糖} + 0.5 \text{ h 血糖}) \times 1.5}{2}$ 。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS13.0 统计软件对数据进行分析处理,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较采用单因素方差分

析,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 豆豉复合配方对 SD 大鼠及 ZDF 大鼠体质量的影响** 适龄 SD 大鼠基础饲料饲养,适应性喂养 1 周,复合配方连续干预 35 d,两组大鼠体质量均增加,差异不显著。适龄 ZDF 大鼠给予诱导饲料喂养 4 周时间,体质量增加。当大鼠  $FBG > 15.00 \text{ mmol/L}$  后,即 DM 模型成功后,开始复合配方干预,连续干预 35 d,模型对照组大鼠体质量减轻,状态萎靡,活动减少;而模型干预组大鼠体质量有所增加,与模型对照组相比,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 1。同时,根据大鼠饲料消耗情况监测,发现模型对照组大鼠消耗更多的饲料(模型对照组消耗 6 008.6 g,模型干预组消耗 4 809.2 g)。

表 1 豆豉复合配方对大鼠体质量的影响( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	干预前(g)	干预后(g)	增长率(%)
正常对照组	218.60±33.07	339.60±27.34	55.35±12.38
正常干预组	211.80±7.73	321.80±75.64	51.94±31.34
模型对照组	333.04±18.90	321.83±20.90	-3.37±2.004
模型干预组	345.76±6.50	369.60±21.90 <sup>#</sup>	5.86±5.90*

<sup>#</sup>:  $P < 0.01$ , \* :  $P < 0.05$ ,与模型对照组比较。

**2.2 豆豉复合配方对正常 SD 大鼠 FBG 的影响** 正常干预组 FBG、血糖下降率与正常对照组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 2。

表 2 豆豉复合配方对 SD 大鼠 FBG 的影响

组别	干预前 FBG (mmol/L)	干预后 FBG (mmol/L)	血糖下降率 (%)
正常对照组	5.02±0.34	5.66±1.85	-11.77±30.20
正常干预组	5.86±1.56	5.28±1.33	6.23±26.14

**2.3 豆豉复合配方对 ZDF 大鼠 FBG 的影响** 豆豉复合配方干预前后,模型干预组 FBG 与模型对照组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );而模型干预组空腹血糖下降率与模型对照组比较,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),见表 3。

表 3 豆豉复合配方对 ZDF 大鼠 FBG 的影响( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	干预前 FBG (mmol/L)	干预后 FBG (mmol/L)	血糖下降率 (%)
模型对照组	16.66±6.06	19.45±8.099	-42.44±10.54
模型干预组	18.65±2.56	15.79±6.154	22.54±25.73 <sup>#</sup>

<sup>#</sup>:  $P < 0.01$ ,与模型对照组比较。

表 4 豆豉复合配方对 ZDF 大鼠 OGTT 的影响( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	干预前血糖值(mmol/L)			干预后血糖值(mmol/L)			血糖下降百分率(%)		血糖曲线下面积下降率(%)
	0 h	0.5 h	2.0 h	0 h	0.5 h	2.0 h	0.5 h	2.0 h	
模型对照组	18.85±5.21	25.32±6.61	19.03±5.68	22.72±2.83	29.05±2.91	27.25±2.41	-36.61±37.99	-55.14±48.40	-48.78±40.91
模型干预组	20.95±4.20	28.48±2.82	23.17±2.45	19.18±3.49	26.16±5.03	24.00±3.77	8.58±18.03*	-4.33±18.60*	4.96±17.96*

\* :  $P < 0.05$ ,与模型对照组比较。

**2.4 豆豉复合配方对 ZDF 模型大鼠 OGTT 的影响** 两组小 鼠灌胃给予相同剂量的葡萄糖后,两组血糖值均先上升,后

逐步下降,体现葡萄糖在体内仍有吸收代谢的过程。与模型对照组比较,模型干预组 0.5 h 及 2.0 h 血糖下降百分率均高于模型对照组;同时,模型干预组血糖曲线下面积下降率也高于模型对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 4。

### 3 讨 论

目前,全世界成人 DM 的患病人数已超过 2.85 亿,到 2030 年预计将近 5.00 亿<sup>[6]</sup>。在我国,20 岁以上人群中 DM 的患病率高达 9.7%,约有 9 240 万成年人正在遭受 DM 的折磨。DM 已经成为我国一大公共卫生问题,然而国人对 DM 的认知程度还不高<sup>[7]</sup>。在 DM 中,T2DM 是发病的主体,约占 90%,同时,WHO 预计 2030 年 DM 患者死亡人数将达到 2005 年的两倍,因此,对于 T2DM 的预防显得尤为紧迫<sup>[1]</sup>。而理想的动物模型是研究 T2DM 的关键。近年来,国内引进了具有自发性 T2DM 的 ZDF 大鼠,该大鼠经特殊诱导饲料 Purina # 5008 诱导后,产生高脂血症和高血糖症,14 周龄时则出现胰岛素缺乏<sup>[3]</sup>。本实验 ZDF 大鼠采用诱导饲料饲养,血糖迅速升高,同时体质量也迅速升高;12 周龄时,FBG > 15.00 mmol/L,出现高血糖症,之后一直处于高血糖症状态,这与国外报道的研究基本一致<sup>[2]</sup>。血糖持续升高既是所有 DM 重要的临床表现,也是 DM 产生各种并发症的主要危险因素。因此,控制血糖水平是 DM 治疗的重要环节。

研究报道,大豆发酵食品豆豉是我国的特色调味副食品,具有很高的营养价值,除含有人们健康所需的优质蛋白质、必需脂肪酸、无机盐及维生素外,豆豉还具有降血糖、降血脂、溶血栓、抗氧化等多种生理保护效应<sup>[5-8-13]</sup>;豆豉中天然存在的生理活性成分还包括有大豆异黄酮类、大豆低聚糖、大豆皂甙及大豆磷脂、类黑精、纤溶酶、抗菌素等<sup>[5-14-15]</sup>。本实验采用以永川豆豉为主要原料调和其他几种营养素制成的复合配方,连续干预 SD 大鼠及 ZDF 大鼠,实验结果显示,该复合配方对 SD 大鼠血糖无影响,但能够明显降低 ZDF 大鼠血糖值的升高,以及减轻 ZDF 大鼠的体质量下降和改善其多食的现象;同时,豆豉复合配方干预可以明显改善 ZDF 大鼠的糖耐量。

综上所述,永川豆豉复合配方能够改善 ZDF DM 大鼠糖代谢,证实该复合配方具有辅助降血糖功能的作用。后续需要进一步通过人体试食、试验评价该复合配方的辅助降血糖功能,同时注意,该复合配方应在临床治疗的基础上进行,并对临床症状和体征以及受试样品的食用安全性作进一步的观察。

### 参考文献

[1] 谢毅强,王华,吴月平,等. 2 型糖尿病大血管病变患者脂

代谢紊乱与 ApoE 基因多态性及中医证候的研究[J]. 中华中医药杂志,2011(1):144-146.

- [2] Pick A, Clark J, Kubstrup C, et al. Role of apoptosis in failure of beta-cell mass compensation for insulin resistance and beta-cell defects in the male Zucker diabetic fatty rat[J]. Diabetes, 1998, 47(3):358-364.
- [3] Yokoi N, Hoshino M, Hidaka S, et al. A novel rat model of type 2 diabetes; the Zucker fatty diabetes mellitus ZFDM rat[J]. J Diabetes Res, 2013(2013):1-9.
- [4] 宋永生. 豆豉加工前后营养与活性成分变化的研究[J]. 食品工业科技, 2003(7):79-80, 64.
- [5] 夏岩石, 夏延斌, 杨抚林, 等. 豆豉营养与保健功能[J]. 粮食与油脂, 2004(10):21-23.
- [6] Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2010, 87(1):4-14.
- [7] Yang WY, Lu JM, Weng JP, et al. Prevalence of diabetes among men and women in China[J]. N Engl J Med, 2010, 362(12):1090-1101.
- [8] 刘晓婷. 豆豉对糖尿病模型和血栓形成小鼠保护作用的实验研究[D]. 济南:山东大学, 2007.
- [9] 牟光庆, 贾楠, 邱泽文, 等. 豆豉纤溶酶粗提液预防小鼠高血糖的研究[J]. 食品研究与开发, 2007(10):38-42.
- [10] 孙月娥, 王卫东. 豆豉纤溶酶的功能及应用前景[J]. 中国酿造, 2010(9):25-27.
- [11] 郭瑞华, 霍文, 刘正猛, 等. 豆豉中大豆异黄酮及苷元降血糖活性及其机理的研究[J]. 时珍国医国药, 2007(7):1606-1607.
- [12] 宋永生, 张炳文, 郝征红, 等. 发酵处理对豆豉抗氧化活性影响的研究[J]. 食品科学, 2002(8):263-267.
- [13] 阚建全, 陈宗道, 石铁松, 等. 豆豉非透析类黑精抗氧化和抑制亚硝胺合成的研究[J]. 营养学报, 1999(3):349-352.
- [14] 代丽娇, 孙森, 钱家亮. 豆豉营养与保健功能的研究[J]. 粮食加工, 2007(2):57-59, 72.
- [15] 宋永生, 张炳文. 日本纳豆与中国豆豉营养成分的研究进展[J]. 中国调味品, 2004(12):6-9, 26.

(收稿日期:2016-02-18 修回日期:2016-04-25)

(上接第 4046 页)

fatevia epithelial-mesenchymal communication [J]. Sci Rep, 2013, 3(1):1878.

- [11] Rosivatz E, Becker I, Specht K, et al. Differential expression of the epithelial-mesenchymal transition regulators snail, SIP1, and twist in gastric cancer[J]. Am J Pathol, 2002, 161(5):1881-1891.
- [12] Behrens J. The role of the Wnt signaling pathway in colorectal tumorigenesis[J]. Biochem Soc Trans, 2005, 33(4):672-675.
- [13] Katoh M. Transcriptional regulation WNT2B based on

the balance of Hedgehog, Notch, BMP and WNT signals [J]. Int J Oncol, 2009, 34(5):1411-1415.

- [14] Guo X, Wang XF. Signaling cross-talk between TG-beta/BMP and other pathways[J]. Cell Res, 2009, 19(1):71-88.
- [15] Huber MA, Kraut N, Beug H. Molecular requirements for epithelial-mesenchymal transition during tumor progression[J]. Curr Opin Cell Biol, 2005, 17(5):548-558.

(收稿日期:2016-02-20 修回日期:2016-04-27)