

学校代码: 10223

分类号: TS201.6

学 号: XS166152

密 级: 公开



黑龍江八一農墾大學

硕士学位论文

大豆膳食纤维对糖尿病大鼠血糖、胰腺损伤
及卵巢衰老的影响

研 究 生: 佐兆杭

指导教师: 王颖 教授

学科专业: 农产品加工及贮藏工程

研究方向: 农产品质量安全

培养学院: 食品学院

中国·大庆

2019.06

University code: 10223

Classified code: TS201.6

Graduate number: XS166152

Confidential degree: Public



Heilongjiang Bayi Agricultural University

Master Dissertation

Effect of Soybean Dietary Fiber on Blood Glucose and Pancreatic Damage in Diabetic Rats and on Ovarian Senescence

Postgraduate: Zuo Zhaohang

Supervisor: Professor Wang Ying

Major: Processing and Storage of
Agriculture Products

Research direction: Agriculture products
quality and safety

College: College of Food Science

Daqing China

June, 2019

独创性声明

本人声明所呈交的论文是我个人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。尽我所知，除了文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果，也不包含为获得黑龙江八一农垦大学或其它教育机构的学位或证书而使用过的材料。与我一同工作的同志对本研究所做的任何贡献均已在论文中作了明确的说明并表示了谢意。

研究生签名：佐兆航

日期：2019年6月4日

关于论文使用授权的说明

本人完全了解黑龙江八一农垦大学有关保留、使用学位论文的规定，即：学校有权保留送交论文的复印件和磁盘，允许论文被查阅和借阅，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存、汇编学位论文。同意黑龙江八一农垦大学可以用不同方式在不同刊物上发表，传播学位论文的全部或部分内容。

(保密的学位论文在解密后应遵守此协议)

研究生签名：佐兆航

日期：2019年6月4日

导师签名：王颖

日期：2019年6月4日

目 录

摘 要.....	I
Abstract.....	III
1 文献综述.....	1
1.1 2 型糖尿病.....	1
1.1.1 2 型糖尿病概述.....	1
1.1.2 2 型糖尿病病因.....	1
1.1.3 糖尿病并发症.....	2
1.1.4 2 型糖尿病的治疗.....	3
1.2 卵巢衰老.....	3
1.2.1 卵巢早衰.....	3
1.2.2 卵巢早衰病因.....	4
1.2.3 卵巢早衰的治疗.....	5
1.3 膳食纤维.....	6
1.3.1 膳食纤维的定义.....	6
1.3.2 膳食纤维的功能.....	7
1.3.3 膳食纤维的提取方法.....	9
1.4 课题研究目的和意义.....	10
1.5 课题研究的内容.....	11
1.5.1 响应面对复合酶法提取大豆膳食纤维工艺的优化.....	11
1.5.2 大豆膳食纤维对 2 型糖尿病模型大鼠降血糖作用研究.....	11
1.5.3 大豆膳食纤维对 2 型糖尿病模型大鼠胰腺氧化损伤修复作用研究.....	11
1.5.4 大豆膳食纤维对雌性大鼠卵巢衰老的影响作用研究.....	12
1.5.5 技术路线.....	12
2 材料与方法.....	13
2.1 材料.....	13
2.1.1 实验材料.....	13
2.1.2 实验动物.....	13
2.1.3 主要仪器设备.....	13

2.2 响应面对复合酶法提取大豆膳食纤维工艺的优化.....	14
2.2.1 大豆膳食纤维的制备.....	14
2.2.2 单因素试验设计.....	14
2.2.3 响应面试验设计.....	14
2.2.4 膳食纤维的基本成分测定.....	15
2.2.5 膳食纤维的物化特征研究.....	15
2.2.6 膳食纤维的结构测定.....	16
2.3 大豆膳食纤维对 2 型糖尿病模型大鼠降血糖作用.....	16
2.3.1 动物的分组及给药.....	16
2.3.2 动物指标的测定.....	17
2.4 大豆膳食纤维对 2 型糖尿病模型大鼠胰腺氧化损伤修复作用.....	17
2.4.1 模型建立与饲养.....	17
2.4.2 动物指标测定.....	17
2.5 大豆膳食纤维对雌性大鼠卵巢衰老的影响作用.....	18
2.5.1 实验动物分组与饲养.....	18
2.5.2 实验动物指标测定.....	18
2.6 统计学分析.....	18
3 结果与分析.....	21
3.1 响应面对复合酶法提取大豆膳食纤维工艺的优化.....	21
3.1.1 单因素试验结果.....	21
3.1.2 响应面试验结果.....	23
3.1.3 大豆膳食纤维的基本成分分析.....	27
3.1.4 大豆膳食纤维的物化特征.....	27
3.1.5 大豆膳食纤维的结构分析.....	28
3.1.6 小结.....	30
3.2 大豆膳食纤维对 2 型糖尿病模型大鼠降血糖作用.....	31
3.2.1 各组大鼠体重指标.....	31
3.2.2 各组大鼠空腹血糖指标.....	31
3.2.3 各组大鼠胰腺脏器比.....	32
3.2.4 各组大鼠血清检测指标.....	33

3.2.5 各组大鼠胰腺组织病理形态学变化.....	33
3.2.6 小结.....	34
3.3 大豆膳食纤维对 2 型糖尿病模型大鼠胰腺氧化损伤修复作用.....	35
3.3.1 各组大鼠体重指标.....	35
3.3.2 各组大鼠胰腺脏器比.....	35
3.3.3 各组大鼠氧化应激指标.....	36
3.3.4 各组大鼠胰腺组织病理形态学变化.....	37
3.3.5 小结.....	38
3.4 大豆膳食纤维对雌性大鼠卵巢衰老的影响作用.....	39
3.4.1 各组大鼠体重指标.....	39
3.4.2 各组大鼠卵巢脏器比.....	39
3.4.3 各组大鼠血清雌激素检测结果.....	40
3.4.4 各组大鼠卵巢组织病理学检查结果.....	41
3.4.5 小结.....	42
4 讨论.....	43
4.1 大豆膳食纤维对 2 型糖尿病模型大鼠降血糖作用.....	43
4.2 大豆膳食纤维对 2 型糖尿病模型大鼠胰腺氧化损伤修复作用.....	44
4.3 大豆膳食纤维对雌性大鼠卵巢衰老的影响作用.....	45
5 结论.....	47
5.1 研究主要结论.....	47
5.2 创新点.....	47
5.3 展望.....	47
参考文献.....	49
致谢.....	63
个人简历.....	65

Contents

Abstract in Chinese.....	I
Abstract in English.....	III
1 Introduction.....	1
1.1 Type 2 diabetes.....	1
1.1.1 Overview of type 2 diabetes.....	1
1.1.2 Causes of type 2 diabetes.....	1
1.1.3 Diabetes complications.....	2
1.1.4 Treatment of type 2 diabetes.....	3
1.2 Ovarian aging.....	3
1.2.1 Premature ovarian failure.....	3
1.2.2 Causes of premature ovarian failure.....	4
1.2.3 Treatment of premature ovarian failure.....	5
1.3 Dietary fiber.....	6
1.3.1 Definition of dietary fiber.....	6
1.3.2 Dietary fiber function.....	7
1.3.3 Dietary fiber extraction method.....	9
1.4 Research objectives and significance.....	10
1.5 Research topics.....	11
1.5.1 Optimization of the process of extracting soybean dietary fiber by complex enzymatic method.....	11
1.5.2 Effect of soybean dietary fiber on hypoglycemic in type 2 diabetic model rats.....	11
1.5.3 Effect of soybean dietary fiber on oxidative damage repair in type 2 diabetic model rats.....	11
1.5.4 Effect of miscellaneous bean dietary fiber on ovarium senility in female rats.....	12
1.5.5 Technical route.....	12
2 Materials and methods.....	13
2.1 Materials.....	13
2.1.1 Experimental materials.....	13

2.1.2 Experimental animals.....	13
2.1.3 Main equipment.....	13
2.2 Optimization of the process of extracting soybean dietary fiber by complex enzymatic method.....	14
2.2.1 Preparation of soybean dietary fiber.....	14
2.2.2 Single factor test design.....	14
2.2.3 Response surface test design.....	14
2.2.4 Determination of basic components of dietary fiber.....	15
2.2.5 Study on the physicochemical characteristics of dietary fiber.....	15
2.2.6 Determination of the structure of dietary fiber.....	16
2.3 Effect of soybean dietary fiber on hypoglycemic in type 2 diabetic model rats.....	16
2.3.1 Grouping and administration of animals.....	16
2.3.2 Determination of animal indicators.....	17
2.4 Effect of soybean dietary fiber on oxidative damage repair in type 2 diabetic model rats.....	17
2.4.1 Model establishment and breeding.....	17
2.4.2 Animal index determination.....	17
2.5 Effect of miscellaneous bean dietary fiber on ovarium senility in female rats.....	18
2.5.1 Grouping and breeding of experimental animals.....	18
2.5.2 Laboratory animal index determination.....	18
2.6 Statistical analysis.....	18
3 Result and Analysis.....	21
3.1 Optimization of the process of extracting soybean dietary fiber by complex enzymatic method.....	21
3.1.1 Single factor test result.....	21
3.1.2 Response surface test result.....	23
3.1.3 Analysis of basic components of soybean dietary fiber.....	27
3.1.4 Physicochemical characteristics of soybean dietary fiber.....	27
3.1.5 Structural analysis of soybean dietary fiber.....	28
3.1.6 Summary.....	30
3.2 Effect of soybean dietary fiber on hypoglycemic in type 2 diabetic model rats.....	31

3.2.1 Body weight index of each group.....	31
3.2.2 Fasting blood glucose index of rats in each group.....	31
3.2.3 The ratio of pancreas to weight of rats in each group.....	32
3.2.4 Serum detection index of each group.....	33
3.2.5 Pathomorphological changes of pancreatic tissue in each group.....	33
3.2.6 Summary.....	34
3.3 Effect of soybean dietary fiber on oxidative damage repair in type 2 diabetic model rats.....	35
3.3.1 Body weight index of each group.....	35
3.3.2 The ratio of pancreas to weight of rats in each group.....	35
3.3.3 Oxidative stress index of rats in each group.....	36
3.3.4 Pathomorphological changes of pancreatic tissue in each group.....	37
3.3.5 Summary.....	38
3.4 Effect of miscellaneous bean dietary fiber on ovarium senility in female rats.....	39
3.4.1 Body weight index of each group.....	39
3.4.2 The ratio of ovarian to weight of rats.....	39
3.4.3 Serum estrogen test results in each group.....	40
3.4.4 Pathological examination results of ovarian tissue in each group.....	41
3.4.5 Summary.....	42
4 Discussion.....	43
4.1 Hypoglycemic effect of soybean dietary fiber on type 2 diabetes model rats.....	43
4.2 Effect of soybean dietary fiber on oxidative damage of pancreas in rats with type 2 diabetes.....	44
4.3 Effect of soybean dietary fiber on ovarian senescence in female rats.....	45
5 Conclusion.....	47
5.1 Main conclusions of the study.....	47
5.2 Innovation.....	47
5.3 Expectation.....	47
References.....	49
Acknowledgement.....	63
Resume.....	65

符号说明

符号	英文全称	中文全称
DF	Dietary Fiber	膳食纤维
SDF	Soluble dietary fiber	可溶性膳食纤维
IDF	Insoluble dietary fiber	不溶性膳食纤维
NCD	Noncommunicable diseases	非传染性疾病
STZ	Streptozocin	链脲佐菌素
SOD	Superoxide dismutase	超氧化物歧化酶
GSH-Px	Glutathione peroxidase	谷胱甘肽过氧化物酶
MDA	Malonic dialdehyde	丙二醛
INS	Insulin	胰岛素
GSP	Glycosylated serum protein	糖化血清蛋白
GLY	Hepatic glycogen	肝糖原
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay	酶联免疫吸附法
FSH	Follicle-stimulating Hormone	促卵泡激素
LH	Luteinizing Hormone	促黄体生成素
E ₂	Estradiol	雌二醇
AMH	Anti-mullerian Hormone	抗苗勒氏管激素
POF	Premature ovarian failure	卵巢早衰
HRT	Hydraulic Retention Time	激素替代疗法

摘 要

本研究以大豆副产物大豆豆渣为实验原料,通过响应面设计优化复合酶法提取大豆豆渣中膳食纤维的工艺;以 2 型糖尿病模型大鼠为实验对象,探究大豆膳食纤维的降血糖效果及其机制及对 2 型糖尿病导致的胰腺氧化损伤的修复效果及其机制;以雌性衰老模型大鼠为实验对象,探究大豆膳食纤维对大鼠卵巢衰老的延缓作用及其机理,从而为大豆膳食纤维在降血糖、修复机体氧化性损伤及延缓卵巢衰老等功能上提供理论研究基础。主要研究结果如下:

(1) 响应面设计优化复合酶法提取豆渣中大豆膳食纤维工艺的实验中,通过响应面分析结合实际值确定复合酶法提取大豆膳食纤维最优的工艺条件: α -淀粉酶添加量 0.4%、 α -淀粉酶酶解时间 25 min、中性蛋白酶添加量 0.04%、中性蛋白酶酶解时间 30 min,膳食纤维得率达到 72.43%。

(2) 大豆膳食纤维对 2 型糖尿病大鼠的降血糖作用实验中,与模型组比较,中、高剂量大豆膳食纤维组大鼠体重均较模型组显著升高 ($P<0.01$);各灌胃组大鼠空腹血糖值均较模型组显著下降 ($P<0.05$);中、高剂量大豆膳食纤维组大鼠血清 GSP 含量显著程度下降 ($P<0.01$),INS 及 GLY 含量均较模型组大鼠显著上升 ($P<0.01$),且胰腺组织病理学切片观察得知,各灌胃组大鼠胰腺组织损伤程度明显减轻,胰岛细胞数目增多,且细胞水肿变形程度减轻。

(3) 大豆膳食纤维对糖尿病大鼠的氧化损伤修复作用实验中,中、高剂量大豆膳食纤维组大鼠胰腺/体比较模型组大鼠显著下降 ($P<0.05$);中、高剂量大豆膳食纤维组大鼠血清 GSH-Px 及 SOD 含量均较模型组大鼠不同程度上升 ($P<0.01$),血清 MDA 含量均不同程度下降 ($P<0.01$),且由胰腺组织切片观察得知,各灌胃组大鼠胰腺组织损伤程度明显减轻,胰岛细胞数目增多,且细胞水肿变形程度减轻。

(4) 大豆膳食纤维对大鼠卵巢抗衰老作用实验中,各剂量组大鼠血清 FSH 及 LH 含量均较模型组大鼠显著下降 ($P<0.05$);中、高剂量大豆膳食纤维组大鼠血清 E_2 及 AMH 含量均较模型组大鼠显著升高 ($P<0.05$)。卵巢病理学切片结果表明,各灌胃组大鼠卵巢组织衰老损伤程度明显减轻。

关键词: 大豆膳食纤维;糖尿病;降血糖;胰腺;损伤修复;卵巢衰老

Abstract

In this study, the bean dregs which produced after soybean processing were used as experimental material, and the process of extracting dietary fiber from soybean dregs by complex enzyme method was optimized by response surface design. The hypoglycemic effect of soybean dietary fiber was explored by using type 2 diabetes model rats as experimental subjects. The hypoglycemic effect and the mechanism of soybean dietary fiber and its repairing effect on pancreatic oxidative damage caused by type 2 diabetes mellitus were explored. The female aging model rats were selected as experimental subjects, to explore the delayed action and mechanism of soybean dietary fiber on ovarian aging in rats. This study will provide a theoretical basis for the study of soybean dietary fiber in reducing blood sugar, repairing oxidative damage in the body and delaying the aging process of the ovaries. The main findings are as follows:

(1) In the experiment of optimizing the enzymatic extraction of soy dietary fiber in bean dregs by response surface design, the optimal process conditions for extracting soybean dietary fiber by complex enzyme method were determined by response surface analysis combined with actual values. The α -amylase addition amount 0.4%, The enzymatic hydrolysis time of α -amylase was 25 min, the amount of neutral protease was 0.04%, the time of neutral protease hydrolysis was 30 min, and the yield of dietary fiber reached 72.43%.

(2) In the experiment of soybean dietary fiber on hypoglycemic in diabetic model rats, compared with the model group, the weight of soybean dietary fiber in the type 2 diabetic rats was significantly higher than that in the model group ($P<0.01$). The fasting blood glucose level of the rats were significantly lower than that of the model group ($P<0.05$). The serum GSP content of rats were significantly decreased ($P<0.01$), and the contents of INS and GLY were significantly higher than those in the model group ($P<0.01$). Pancreatic histopathological sections showed that the pancreatic tissue of rats in each group were damaged. The degree were significantly reduced, the number of islet cells were increased, and the degree of cell edema deformation were reduced.

(3) In the experiment of soybean dietary fiber on oxidative damage repair in diabetic model rats, the ratio of pancreas and the weight of the medium and high dose soybean dietary fiber group decreased significantly ($P<0.05$). The contents of serum GSH-Px and SOD in rats

which from the medium and high dose soybean dietary fiber groups were increased in different degrees compared with the model group ($P<0.01$). the MDA levels in serum were decreased in different degrees ($P<0.01$), and it were observed from pancreatic tissue sections. The degree of pancreatic tissue damage in rats were significantly reduced. The number of islet cells increased, and the degree of cell edema deformation was alleviated.

(4) In the experiment of anti-aging effect of soybean dietary fiber on rat ovary, the FSH and LH content of rats in serum in each dose group were significantly lower than those in the model group ($P<0.05$). The serum E_2 and AMH contents in the middle and high dose soybean dietary fiber groups were significantly higher than those in the model group ($P<0.05$). The results of ovarian pathology showed that the degree of aging damage of ovarian tissue in each group were significantly reduced.

Keywords: Soybean dietary fiber; Diabetes; Hypoglycemic; Pancreas; Injury repair; Ovarian senility

1 文献综述

1.1 2 型糖尿病

1.1.1 2 型糖尿病概述

非传染性疾病（noncommunicable diseases, NCD）已成为当代社会最主要的致死原因，平均每年因 NCD 死亡的人数超过 3600 万，其中 80% 的人在发展中国家。NCD 主要包括心脑血管疾病、糖尿病和恶性肿瘤^[1,2]。糖尿病是目前对人类健康威胁最大的 NCD 之一，预计在 2010~2030 年期间，发展中国家会增加 69% 的糖尿病患者^[3,4]。糖尿病是一组由胰岛素分泌系统功能紊乱或缺陷导致的代谢疾病群，其特征是血糖慢性升高，脂肪和蛋白质代谢障碍。糖尿病患者的典型病状为“三多一少”，即多食、多饮、多尿、体重减轻^[5]。但这些典型症状已越来越不典型，其表现越来越隐形化。

糖尿病可分为原发性糖尿病（包括 1 型糖尿病和 2 型糖尿病）和继发性糖尿病（包括 β 细胞遗传缺陷型糖尿病在内的其他特殊类型糖尿病）^[6]。2 型糖尿病是糖尿病中发病较高的一种，约占糖尿病的 90%，多数患者终生不需要胰岛素治疗即可生存^[7]。但如果血糖水平长期得不到控制，会进一步引发全身各种严重的急、慢性并发症^[8]。急性并发症主要有糖尿病酮症酸中毒、非酮症高渗性昏迷、乳酸性酸中毒等。随着病程的延长，还可导致眼、肾、神经、血管及心脏等器官的慢性损害，以致最终发生为双目失明、尿毒症、神经病变等，严重感染甚至脑卒中或心肌梗死，这也是造成 2 型糖尿病患者致残、致死的主要原因^[9]。

1.1.2 2 型糖尿病病因

2 型糖尿病病因复杂，目前仍然认识不足，传统认知是遗传因素和环境因素共同作用的结果，下列是导致 2 型糖尿病的几个重要因素。

（1）肥胖

肥胖是诱发 2 型糖尿病最主要的因素之一，尤其是中心性肥胖^[10]。肥胖会引起外周组织对葡萄糖的利用率下降；抑制肝糖原合成，促进肝糖原分解和糖异生，导致体内游离脂肪酸水平升高，胰岛素与结合受体能力减弱，产生胰岛素抵抗，从而导致胰岛 β 细胞功能缺陷，引发 2 型糖尿病^[11]。2 型糖尿病的患病风险随体重增加而线性升高，研究发现，未患糖尿病的超重人群，每增加 1 公斤/年的体重，在随后的 10 年中，糖尿病发病率增加 49%^[12]。

（2） 年龄

年龄也是 2 型糖尿病的发病因素^[13]。高龄患者更容易出现糖尿病，且其风险随着年龄的增加同步增加。一方面与其体力活动逐渐减少，体内脂肪含量升高有关，尤其是女性患者。另一方面高龄患者大脑认知能力下降及脑萎缩有关^[14]。

（3） 生活方式

研究显示，饮食中含量偏高的碳水化合物（主要指糖类），如米、面等和长期大量食用高脂肪的肉类；长期饮用含糖饮料；体力活动频率降低、吸烟及饮酒等都是 2 型糖尿病发病的危险因素^[15]。同时，长期睡眠不足、精神应激及丙型肝炎病毒抗体（HCV）感染等目前都认为与 2 型糖尿病的发病相关^[16]。

1.1.3 糖尿病并发症

（1） 下肢动脉病变

下肢动脉病变（peripheral arterial disease, PAD）是糖尿病最常见的并发症，尤其是 2 型糖尿病^[17]。具有突出的临床症状，主要表现为四肢动脉供血逐渐减少，并在此基础上合并感染，导致下肢溃疡及坏疽。预后相当差，病程晚期患者需截肢，严重影响患者的生活质量，发病率和死亡率相当高^[18]。目前中国糖尿病患病率已飙升至 9.7%，糖尿病患者人数已达 1 亿。糖尿病性下肢动脉病变的确切发病机制尚未阐明，目前认为是下肢血管损伤与糖尿病神经病变的协同作用^[19]。

（2） 糖尿病视网膜病变

糖尿病视网膜病变（diabetic retinopathy, DR）或视网膜血管损伤是糖尿病的严重并发症^[20,21]。随着糖尿病发病率的上升，糖尿病视网膜病变逐渐成为一种常见的眼底病变，是导致失明和视力损害的主要原因之一^[22,23]。全世界糖尿病视网膜病变患病率为糖尿病患者的 30%~60%，中国患病率为 35.6%~63.5%^[24]。除其本身的发病风险外，越来越多的医学研究结果表明，糖尿病视网膜病变的存在，会增加患者其他糖尿病并发症的发病风险，包括中风、冠心病、心力衰竭以及糖尿病肾病等^[25]。

（3） 糖尿病肾病

糖尿病肾病是造成慢性肾衰竭及终末期肾病的常见原因，2 型糖尿病患者中约有 40% 会发生糖尿病肾病，也是导致糖尿病患者死亡的主要病因之一^[26,27]。糖尿病肾病早期阶段症状不明显，通常仅表现为尿微量白蛋白增加，很容易被忽略，进一步发展最终可导致尿毒症，其患病风险是非糖尿病患者的 17 倍^[28]。因此及时的发现、早期的诊断和治疗对糖

尿病肾病患者的病情恢复极为重要^[29-31]。

1.1.4 2 型糖尿病的治疗

(1) 2 型糖尿病防治中的三级预防

2 型糖尿病的一级预防目标是预防 2 型糖尿病的发生，主要是通过科学的饮食控制和运动，长期保持良好的生活方式，定期测量血糖，以降低患病风险^[32]。二级预防主要是对已确诊为 2 型糖尿病的患者采取严格的血糖控制措施，同时坚持定期检查血压、血脂水平，以降低糖尿病并发症的发生^[33]。三级预防主要是对于糖尿病病程较长、年龄较大且同时患有心脑血管病疾病的患者，通过药物控制其血糖、血脂及血压水平，以降低其他糖尿病并发症的发生及死亡的风险^[34,35]。

(2) 2 型糖尿病血糖水平的控制

赵磊等^[36]研究四种植物提取物复方对四氧嘧啶糖尿病模型小鼠的降血糖作用，结果表明，植物提取物复方可有效改善糖尿病模型小鼠的空腹血糖水平、糖化血清蛋白及糖化血红蛋白浓度。李鹏程等^[37]研究表明，荞麦壳黄酮提取物能显著改善链脲佐菌素糖尿病模型大鼠的血糖水平，其机制为荞麦壳黄酮提取物对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制和对胰岛功能的修复这一双重机制。朱科学等^[38]研究证明，黑灵芝多糖对 2 型糖尿病大鼠具有显著的降血糖、降血脂及缓解其多饮多食的症状。王颖等^[39]研究结果表明，葡萄籽原花青素提取物可显著降低实验小鼠血糖值，其机理可能与葡萄籽原花青素对小鼠体内胰岛素水平和抗氧化能力的提高有关。

(3) 2 型糖尿病的氧化损伤修复

大量基础和临床研究表明，糖尿病体内的高血糖和高脂肪酸环境会导致人体产生大量的氧自由基，诱发氧化应激反应，这也是造成胰岛 β 细胞功能损伤的重要原因^[40,41]。王颖等^[42]研究葡萄籽提取物原花青素可有效降低 2 型糖尿病小鼠体内脂质过氧化产物含量，提高抗氧化酶的活性，从而减缓糖尿病造成的氧化损伤。陶功华等^[43]研究发现， α -硫辛酸可通过改善 2 型糖尿病大鼠胰腺组织的氧化应激状态，并显著降低胰岛 β 细胞的凋亡率，增加机体胰岛素的分泌水平。王建勇等^[44]研究结果显示，灯盏细辛提取物对 2 型糖尿病造成的小鼠肝脏及胰腺损伤具有一定保护作用。

1.2 卵巢衰老

1.2.1 卵巢早衰

根据最后一次月经来衡量,女性进入绝经期的平均年龄为 50.74 岁,个体绝经年龄由遗传因素和环境因素决定。卵巢早衰 (premature ovarian failure, POF)^[45]的情况通常指 40 岁之前进入绝经期的女性,常见临床症状有卵巢功能衰退、闭经、不孕不育,且伴随一系列雌激素水平较低的反应,如面色潮红、性冷淡、多汗等^[46]。卵巢衰老后由于性激素合成分泌功能下降,可引起一系列严重并发症,如绝经后骨质疏松、绝经后综合症、心血管疾病、肥胖症及糖尿病,会严重危害妇女的身心健康,并加重家庭、社会负担^[47]。

1.2.2 卵巢早衰病因

(1) 卵泡异常

Bidet 等^[48]认为 POF 最有可能是由于卵泡数量的减少而产生的,这是因为在发育期间形成的卵母细胞数量减少或者在生殖期间卵母细胞闭锁率增加。这种卵泡闭锁率增加可能有多种生理原因,包括染色体、遗传和自身免疫疾病等。同时,在一些 POF 病例中,当通过活组织检查或超声检查女性卵巢时,发现它们都伴有所谓的“卵泡-抗卵巢综合征”,对于患者体内促性腺激素的正常刺激,卵巢中的卵泡不会产生反应。然而,在明确了解其潜在的分子机制之前,个体患者不太可能从任何特定的治疗策略中受益^[49]。

(2) 卵巢受损

美国生殖医学学会^[50]认为引发卵巢早衰的一个重要原因是卵巢受损,例如由化学治疗或放射治疗等医源性药物引起的损伤,可减少卵泡数量,从而减少生殖寿命并引发 POF。Farquhar 等^[51]进行的相关研究也表明卵巢功能衰竭可能与盆腔手术有关,例如卵巢切除术与子宫切除术均有可能诱发 POF,原因可能是由于外科手术造成的卵巢血管损伤。

(3) 自身免疫

Maclaran 等^[52]认为 POF 的另一个诱因是自身免疫性疾病,但这一观点尚且存在争议,两者之间的确切联系仍不清楚。大约 10%~20%的 POF 女性患有如艾迪生病、肌无力症或甲状腺功能低下症等器官特异性自身免疫性疾病。自身免疫通常与患有 POF 的女性的肾上腺疾病相关。

(4) 遗传原因

①常染色体异常 Yik 等^[53]已经在 POF 患者中观察到细胞遗传学原因,同时还注意到部分患有 18 和 13 三体的患者伴有常染色体易位的现象,其中一个与染色体 2q32.3 上的抑制素 a (INHA) 基因非常接近,这与 POF 有关。

②X 染色体异常 Goswami 和 Conway 等^[54]研究发现,由染色体异常引起的 POF 病

例可能多达 5%。其中涉及 X 染色体缺失、易位和排列异常, 如特纳综合征。特纳综合征是由 45, XO 核型引起的, 患有这种综合征的女性最初具有正常的卵巢卵泡补体, 这些卵泡在青春期前迅速丧失^[55]。几乎任何涉及 X 染色体的结构缺陷都可能改变染色体动态, 干扰减数分裂期间正常的染色体配对, 进而导致卵泡闭锁加速^[56,57]。

1.2.3 卵巢早衰的治疗

(1) 激素替代疗法 (HRT)

HRT 是目前临床上应用最广泛的治疗方法。大量临床实验结果表明, HRT 可以有效抑制和缓解女性更年期的相应症状, 并有在某种程度上增加女性的排卵率和妊娠率可能性^[58,59], 降低骨质疏松、乳腺癌、阴道萎缩的发病风险^[60-63]。Elliott 等^[64,65]通过对 503 例子宫出血的女性进行研究, 表明 HRT 能够较好改善 204 例女性子宫出血的现象, 明显降低了子宫内膜癌的发病率。晏文娉等^[66]对 96 位女性进行治疗后发现, 加味左归丸联合激素替代疗法对改善 47 为女性的 POF 围绝经期症状、纠正性激素的紊乱、促进卵巢功能恢复方面有较好临床疗效。

(2) 免疫治疗

理论而言免疫调节剂能够有效治疗自身免疫性 POF, 有报道表明, 临床上采用环孢菌素等免疫抑制剂类药物可以轻度改善女性排卵及妊娠功能。常用 150~400 mg/d 的抗心磷脂抗体阳性者予阿司匹林、5 mg/d 的强的松或 0.75 mg/d 的地塞米松治疗伴有自身免疫系统疾病或伴有卵巢自身抗体阳性患者。李娜等^[67]利用丙酸睾酮治疗自身免疫性 POF 小鼠模型, 将小鼠外周血清抗透明带抗体浓度、卵巢生长卵泡比例、卵巢 CD45 的表达以及胸腺组织中 Foxp3 的表达状况作为观察及检测的指标, 结果表明, 自身免疫性 POF 小鼠可通过丙酸睾酮的治疗而显著改善病情。

(3) 诱导排卵

伴随生殖内分泌领域的发展和现代辅助生殖技术的普及, POF 患者开始慢慢接受超促排卵治疗, 具体体现为绒毛膜促性腺激素 (HCG) 或促性腺激素 (HMG) 排卵法。目前研究并未有明确数据能够支持 HMG 对 POF 患者的治疗效果, 但雌激素确实可有效提高患者的排卵率^[68]。Green 等^[69]研究表明黄体酮有利于促性腺激素诱导排卵, 对 2842 名患者进行研究分析发现能够较好地缓解临床妊娠, 增加活产次数, 最终较好地延缓女性早衰。

(4) 卵巢冷冻移植

该疗法包括程序化冷冻和玻璃化冷冻两种方式, 着重用于有恶性卵巢肿瘤, 必须采用

化疗或放疗的重度患者，并较好地缓解疾病后重建卵巢功能^[70]。Gumus 等^[71]研究表明玻璃化 OT 中所有卵泡类型的 EphrinB1 免疫表达均呈高表达，继发性卵泡和胃窦性卵泡免疫表达明显增高，玻璃化和移植似乎会影响卵泡中 EphrinB1 和 PDGFA 的表达，且能够较好地改善卵泡发育。

（5） 其他治疗

徐爱玲等^[72]研究了 85 例过度减肥引起卵巢早衰患者，发现实验组的 55 例患者较 30 例阳性对照组有显著的疗效，实验结果表明中药能较好地延缓卵巢衰老，达到预防早衰的目的。

Zhang 等^[73]研究艾灸对雷公藤诱发的 SD 雌性大鼠卵巢早衰的保护作用，相比于阳性对照组，血清雌二醇含量明显减少，血清中的抗苗勒管雌激素等指标明显增加，说明艾灸能够较好地调节信号通路和血清激素，并延缓衰老。

此外，心理方面的影响极易促使早衰等症状，因此通过改善或减轻患者的不良情绪，能够有效地缓解其症状，辅助药力能够更好地控制或预防卵巢早衰引起的一系列疾病。

1.3 膳食纤维

1.3.1 膳食纤维的定义

膳食纤维（dietary fibre, DF）这一名词最初是由 Hipsley 提出^[74]，并将其作为由植物细胞壁构成的不消化部分的缩写术语，当时仅包括了纤维素、半纤维素和木质素。1972 年，Trowell 等人^[75]经过长期大量的实验研究后，认为 DF 可用来概括一类不能被人类消化道酶消化的植物组分，包括纤维素、半纤维素、木质素以及一些相关的微量组分如角质、蜡质和软木脂。1976 年 DF 的定义已延伸到包括所有抗消化的多糖，如胶体物质、修饰纤维素、合成多糖和微生物多糖等，并且重点强调了其可食性和抗消化性^[76]。1992 年~1993 年，针对 147 位国际专家的调查报告显示，有 65% 的专家认为 DF 包括多聚糖、木质素和一些相关成分的植物残渣，59% 的专家建议将同样具有抗消化功能的低聚糖也并入 DF 的定义中^[77]。

目前相对权威且国际通用的 DF 定义是由 2001 年 AACC（美国谷物化学学会）下属的膳食纤维委员会定义的，即无法被小肠消化吸收，但可被大肠部分或完全消化发酵的可食的植物成分、碳水化合物和类似物质的总和，包括纤维素、半纤维素、木质素、果胶和抗性淀粉等^[78]（见表 1-1），由此膳食纤维一词有明确的适用范围，特指可食用的植物成分，不包括动物成分。

表 1-1 美国谷物化学家协会认定的膳食纤维成分

Table 1-1 Components of dietary fiber according to the American Association of Cereal Chemists

分类	成分
非淀粉多糖和低聚糖	纤维素
	半纤维素
	阿拉伯木聚糖
	阿拉伯半乳聚糖
	多果糖
	菊粉
	低聚果糖
	低聚半乳糖
	齿龈
	胶浆
	果胶
	难消化的糊精
	抗性麦芽糖糊精
	抗性马铃薯糊精
类似碳水化合物	合成的碳水化合物
	聚葡萄糖
	甲基纤维素
	羟丙基甲基纤维素
与非淀粉多糖(NSP)和木质素复合物相关的木质素物质	抗性淀粉
	蜡
	植酸
	角质
	皂苷
	木栓

1.3.2 膳食纤维的功能

(1) 膳食纤维与胃肠道健康

膳食纤维具有良好的持水性，可在消化道内与食物结合吸水膨胀，从而促进胃肠道的蠕动，扩充粪便体积，改善消化速率^[79]。Schneeman 等^[80]研究报道指出，与低纤维膳食相比，高膳食纤维食物需要更多的时间去咀嚼，而增加进食所需的时间可减缓胃的充盈速度，提高饱腹感。而 Anderson 等^[81]研究发现除了可缓解便秘外，部分可溶性膳食纤维还具备改善腹泻的功效，其机制是膳食纤维在肠道发酵消化而分解生成的短链脂肪酸创造了结肠内吸收水合 Na⁺的环境，从而降低排泄物的含水量，缓解腹泻状况。

Holscher 等^[82]研究发现，在实验大鼠的饲料中添加瓜尔豆胶后，其肠内容物的湿重会增加两倍。同时，各种来源的膳食纤维可有效降低并抑制肠道内胰蛋白酶的活性，从而减

少对碳水化合物的消化；与无纤维试餐的大鼠相比，试餐中含有 20%膳食纤维的大鼠小肠中甘油三酯被分解消化的时间延长，表明膳食纤维还可抑制肠道中脂肪酶的活性。

（2） 膳食纤维与血糖

大量临床研究结果证实，膳食纤维具有显著降低血糖水平、调节糖代谢紊乱、降低某些慢性疾病发病风险的功能^[83]。Ahmed 等^[84]通过体外模拟胃肠道技术研究三种来源的膳食纤维（燕麦、大麦和洋车前子壳）对葡萄糖的吸附、扩散和淀粉水解的影响，并与三种商业来源膳食纤维（麦麸、阿卡波糖和瓜尔豆胶）进行对比。结果表明，三种受试样品的葡萄糖结合能力均高于同等浓度的麦麸和阿卡波糖，各样品体系中葡萄糖的扩散速率显著降低，推测膳食纤维可能与体内多种活性酶产生协同作用，抑制葡萄糖的吸收及扩散，从而减低餐后血糖水平。Lu 等^[85]采用含有 58.6%膳食纤维的豆渣粉制作焙烤食品，分别含有 25%，10%或 15%豆渣粉的面条、面包和馒头在体内实验中表现出比对照食品更低的血糖指数，表明将膳食纤维添加进食品中，可有效降低食用者血糖。Jing 等^[86]研究硫酸改性米糠不溶性膳食纤维的体外降血糖活性。结果表明，三种不同硫酸改性后的米糠不溶性膳食纤维均具有较强的葡萄糖吸附能力和对 α -淀粉酶活性的抑制能力，从而降低体内血糖水平。且随着随着改性后膳食纤维孔隙率和比表面积的增加，葡萄糖吸附容量增加。俞文^[87]研究表明，加入适量膳食纤维的饮食治疗中，能够显著降低 2 型糖尿病患者的餐前、餐后血糖值及血脂水平，同时不影响其他营养指标值。Rasha 等^[88]研究表明，连续 3 个月，每天服用 30 克阿拉伯树胶的 2 型糖尿病患者，体脂指数下降 3.9%，能够效预防体重增加，并调节脂肪组织功能障碍内脏脂肪指数和血压。Cai 等^[89]通过对黑龙江省中医科学院 130 例 2 型糖尿病患者，随机分为两组后，进行饮食干预，发现高膳食纤维低血糖指数饮食能有效改善 2 型糖尿病患者血糖水平，降低血清炎症反应，促进患者康复，此结果表明膳食干预和糖尿病密切相关，并能有效地控制中国糖尿病患者的血糖。

（3） 膳食纤维与血脂

玉米皮^[90]、米糠^[91]、麦麸和燕麦麸^[92]、糖用甜菜纤维^[93]、果胶^[94]、亚麻籽胶^[95]等多种来源的膳食纤维均在体内实验中被报道证实其具有降低血脂水平，预防高血脂并发症的发生。膳食纤维影响血脂的作用机理类似于血糖方面。Ruiz 等^[96]研究发现，可溶性膳食纤维具备降低血清中低密度脂蛋白和总胆固醇的潜在价值。Artiss 等^[97]研究了一种能够降低血液中胆固醇、血脂、甘油三酯等指标的新型膳食纤维，并能够显著降低高脂饮食组大鼠的体重。Talawar 等^[98]研究指出麦麸提取物丙酮具有显著的抗氧化效果，可以通过猝灭降低自由基诱导的损伤，并直接或间接地改善抗氧化防御系统，此外通过抑制还原酶与脂肪酶

的活性能够达到降血脂的作用。Adrián 等^[99]从角豆果纤维中提取浓缩单宁,发现其能显著降低大鼠的胰脂肪酶活性、血浆甘油三酯和胆固醇区域的峰值延迟等指标最终达到降血脂特性,即通过降低脂肪消化和吸收程度来改善餐后血脂。

(4) 膳食纤维的其他功能

膳食纤维除上述所提功能,还具有其他方面的作用^[100],如通过吸附亚硝酸盐而达到解毒的功效^[101];吸附油脂、胆固醇和胆酸钠,预防肾脏疾病^[102];吸附丙烯酰胺,降低致癌风险等^[103]。

1.3.3 膳食纤维的提取方法

目前,膳食纤维的提取方法主要取决于原料的成分及性质,大致可分为以下 4 类:化学法、酶法、微生物发酵法以及多方法复合提取等^[104]。

(1) 化学法

化学法指的是对原料进行预处理后,采用酸、碱等化学试剂提取膳食纤维的方法,通用的方法有酸提法、碱提法及水提法等。戴余军等^[105]在用碱提法提取菠萝皮中 SDF,通过单因素及正交试验优化最佳工艺,即料液比为 1:20、浸提液浓度 12 g/L、浸提温度 80 °C、时间为 90 min,在此条件下, SDF 得率为 23.58%。李泽珍等^[106]以红薯渣为原料,借助碱液提取法提 IDF,明确了最优工艺,即料液比、碱浓度、提取温度及提取时间分别为 1:6、10.0 g/L、75 °C、45 min, IDF 得率为 70.25%。张怡等^[107]采用酸提醇沉的方法提取干红辣椒渣中的 SDF,通过响应面试验明确最优工艺,以果胶得率为参照指标,料液比、pH 值、提取温度和提取时间分别为 1:15、1.48、86.5 °C 和 3.5 h,在此条件下得到果胶得率为 (12.74±0.03) %。化学法虽提取率较高,但因试剂残留,处理不净会产生安全性影响。

(2) 酶法

酶法是应用针对原料中含有的蛋白质、脂肪及淀粉等物质,选取相应的蛋白酶、脂肪酶及淀粉酶等酶制剂,将这些物质逐一分解消除,从而提取出目标膳食纤维的方法^[108]。李建周等^[109]采用复合酶法提取豆渣中的 IDF,其最佳工艺条件是最佳蛋白酶、 α -淀粉酶以及糖化酶的酶解温度分别为 50 °C、70 °C、50 °C,时间分别为 5 h、1 h、0.5 h,用量分别为 25 mg/g、6 mg/g 与 5 mg/g,最终得率为 80.13%。王磊等^[110]选用的原料是桉柑渣,借助纤维素酶来获取 SDF,利用响应面优化工艺参数加酶量 0.04%,酶解温度 50 °C, pH 值 5.0,酶解时间 8 h,该条件下 SDF 提取率高达 32.53%。酶法提取虽成本较高,但较安全且纯净度极高。

(3) 微生物发酵法

该方法通常指向原料中添加能够分解消耗蛋白质和淀粉等物质的相关菌种,如鼠李糖乳杆菌等,发酵结束后对发酵产物进行洗涤、干燥,最终得到膳食纤维的方法。吴德智等^[111]利用复合菌系(保加利亚乳杆菌:嗜热链球菌=1:1)对葛根渣进行发酵,提取其中的膳食纤维,提取工艺条件为接种量、发酵温度和发酵时间分别为5%、35℃、23.5h,膳食纤维得率为(79.2±0.21)%。李静等^[112]采取黑曲霉A020发酵制备香蕉皮可溶性膳食纤维,通过单因素和正交试验优化了最佳工艺条件,发酵温度28℃,接种量10%,发酵时间3d,pH6.0,由此制得的可溶性膳食纤维提取率达到12.83%。微生物发酵法的提取率较高,但耗时长且菌种的培养条件不易控制。

(4) 多方法复合法

多方法复合法一般以酶-化学结合法为代表,指的是在通过化学试剂处理原料的同时,借助譬如蛋白酶、 α -淀粉酶等多类酶对膳食纤维中的其他杂质加以降解,以提高膳食纤维的纯度及得率的方法。宋荣珍等^[113]通过酶-碱结合法提取燕麦麸中膳食纤维,其最佳工艺参数为: α -淀粉酶用量0.3%,NaOH用量2.0%,水解时间50min,水解温度70℃,此条件下生姜渣中可溶性膳食纤维得率28.58%,不溶性膳食纤维得率66.21%。王顺民等^[114]采用单因素以及响应面试验优化酶-化学法提取菜籽皮中的SDF的工艺,最佳工艺条件为纤维素酶添加量为0.4%,酶解温度、时间及pH分别为70℃、1h和13.0,最终得到SDF得率为7.18%。

1.4 课题研究目的和意义

大量研究表明,2型糖尿病及其各类并发症的发生与发展过程,与患者体内氧化应激状态的显著改变有关。患者体内抗氧化能力减弱,脂质过氧化反应增强,其体内大量的氧自由基可对胰岛 β 细胞造成损伤,并降低机体对胰岛素的耐受性,从而诱发2型糖尿病^[115,116]。目前常用于糖尿病治疗的临床药物多为磺酰脲类等化学西药,虽然能较好的控制患者的血糖水平,但其多伴有毒副作用,对患者的肝、肾功能等有较强的损伤,且对氧化损伤的修复效果不显著^[117]。因此,寻找一种安全、低毒并能有效修复机体氧化损伤的天然产物替代西药,对治疗糖尿病具有深远意义。

对于卵巢衰老后引起的系列并发症,传统方法多用雌激素替代疗法用于临床辅助治疗^[118,119]。大量临床数据表明,长期外源性激素刺激会极大程度地增加子宫内膜癌、乳腺癌等发病率的危险性^[120,121]。如何研发安全、有效的药物,用以攻克更年期综合征,减缓卵巢

功能衰退速度, 保护卵巢正常功能, 提高女性生活质量, 是现阶段营养保健功能食品领域的重要研究方向。膳食纤维具有良好的抗氧化、延缓衰老的功能, 但国内对其功能验证, 尤其是在膳食纤维对卵巢衰老的延缓作用的动物实验及其机理研究的报道较少。

因此, 本文对响应面设计优化复合酶法提取大豆豆渣中膳食纤维的工艺进行研究; 以 2 型糖尿病模型大鼠为实验对象, 探究大豆膳食纤维的降血糖效果及其机制; 探究大豆膳食纤维对 2 型糖尿病导致的胰腺氧化损伤的修复效果及其机制; 建立雌性大鼠卵巢衰老模型, 探究大豆膳食纤维对大鼠卵巢衰老的延缓作用及其机理, 旨在为大豆膳食纤维在降血糖、修复机体氧化性损伤及延缓卵巢衰老等功能上提供理论研究基础。

1.5 课题研究的内容

1.5.1 响应面对复合酶法提取大豆膳食纤维工艺的优化

以大豆豆渣为原料, 采用 α -淀粉酶、中性蛋白酶、糖化酶三种酶复合酶解的方法制备大豆膳食纤维, 并利用响应面设计对其提取工艺进行优化; 测定大豆膳食纤维的基本组成成分、物化特性及其微观结构, 以此为下一步对大豆膳食纤维的功能研究提供理论分析的数据支持。

1.5.2 大豆膳食纤维对 2 型糖尿病模型大鼠降血糖作用研究

根据体重将实验大鼠随机分成 6 组, 糖尿病大鼠模型由对实验大鼠腹腔注射链脲佐菌素溶液 (150 mg/kg) 的方法构建, 建模成功后, 模型组和阳性对照组灌胃给予生理盐水, 各剂量组给予大豆膳食纤维, 阳性对照组喂予格列本脲, 连续灌胃给予大豆膳食纤维 42 d, 测定各组大鼠体重、空腹血糖值、胰腺/体比、血清中胰岛素 (INS)、肝糖原 (Glycogen)、血清糖化蛋白 (GSP) 含量, 并取胰腺组织制作 H&E 染色病理学切片进行观察, 以探究大豆膳食纤维对糖尿病大鼠的降血糖作用及其机理。

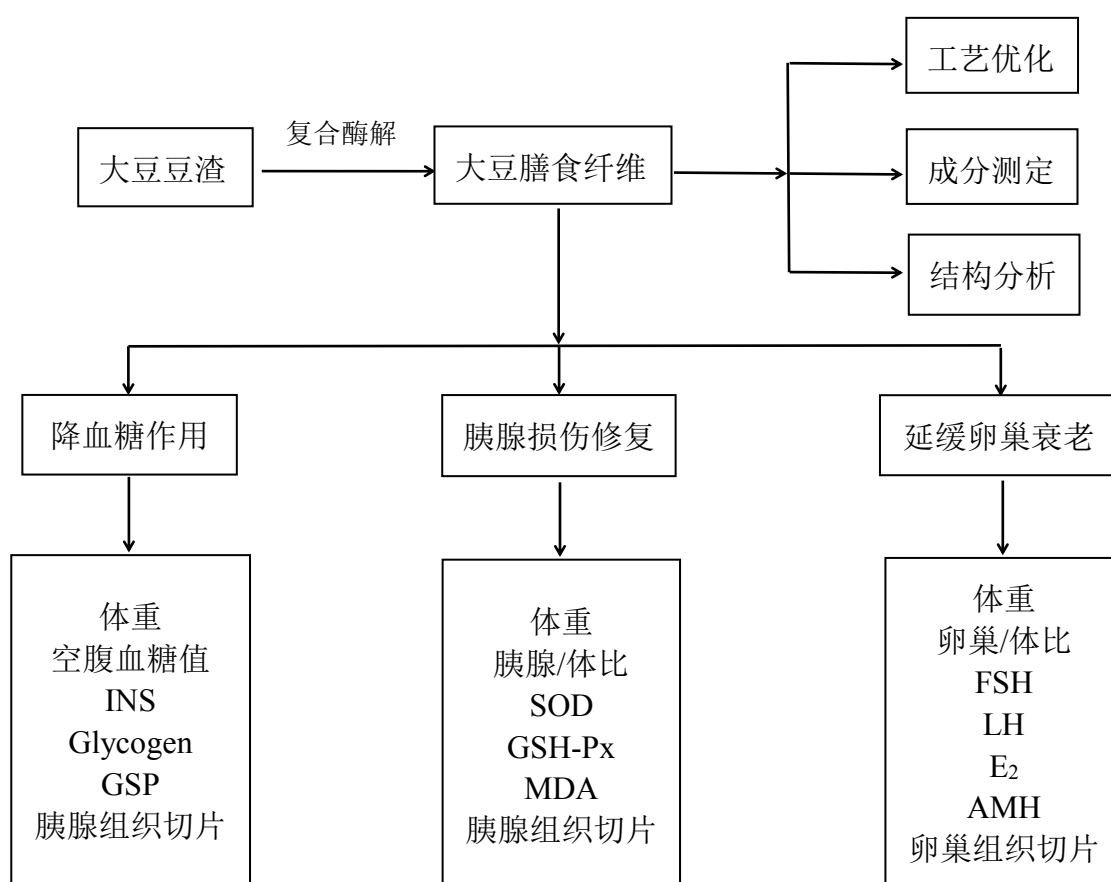
1.5.3 大豆膳食纤维对 2 型糖尿病模型大鼠胰腺氧化损伤修复作用研究

根据体重将实验大鼠随机分成 6 组, 糖尿病大鼠模型构建方法同上, 建模成功后, 模型组和阳性对照组灌胃给予生理盐水, 剂量组给予大豆膳食纤维, 阳性对照组喂予格列本脲, 连续灌胃给予大豆膳食纤维 42 d, 测定各组大鼠体重、胰腺/体比、血清中超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 及丙二醛 (MDA) 含量, 并取胰脏组织制作 H&E 染色病理学切片进行观察, 探究大豆膳食纤维对糖尿病对大鼠造成的氧化损伤的修复效果及其机理。

1.5.4 大豆膳食纤维对雌性大鼠卵巢衰老的影响作用研究

选择 6 只 12 月龄雌性大鼠作为模型组，其余 30 只 6 月龄雌性大鼠根据体重随机分成 5 组，模型组和阳性对照组灌胃给予生理盐水，各剂量组给予大豆膳食纤维，阳性对照组喂予己烯雌酚，连续灌胃 28 d。测定各组大鼠体重、卵巢/体比、血清中促卵泡激素（FSH）、促黄体生成素（LH）、雌二醇（E₂）及抗苗勒氏管激素（AMH）含量，并取卵巢组织制作 H&E 染色病理学切片进行观察，以探究大豆膳食纤维对雌性大鼠卵巢衰老的延缓作用及其机制。

1.5.5 技术路线



2 材料与amp;方法

2.1 材料

2.1.1 实验材料

新鲜豆渣，国家杂粮工程技术研究中心；耐高温 α -淀粉酶、中性蛋白酶、糖化酶，上海源叶生物科技有限公司；链脲佐菌素购自美国 Sigma 公司；优降糖格列苯脲片（Glibenclamide）购自浙江嘉兴生化制药厂；己烯雌酚，合肥久联制药有限公司；基础饲料（主料：玉米 42%、豆饼 28%、麸皮 26%、食盐 1%、其他营养物质如氨基酸、维生素及微量元素等配比参考 GB 14924.3-2010《实验动物 配合饲料营养成分》^[122]），辽宁长生生物技术股份有限公司；大鼠血清胰岛素（Insulin，INS）测试盒、肝糖原（Glycogen）测试盒及糖化血清蛋白（Glycosylated serum protein）测试盒、超氧化物歧化酶（SOD）测试盒、谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px）测试盒、丙二醛（MDA）测试盒，促卵泡激素（FSH）测试盒、促黄体生成素（LH）测试盒、雌二醇（E₂）测试盒及抗苗勒氏管激素（AMH）测试盒，苏州卡尔文生物技术有限公司；肝素钠、二甲苯、氨水、苏木精及伊红染液，南京建成生物工程研究所；无水乙醇、盐酸、氢氧化钠（均为分析纯），辽宁泉瑞试剂有限公司。

2.1.2 实验动物

清洁级 Wistar 纯系大鼠（雄性 50 只，雌性 36 只）：SCXK（吉）2016-0008，体重（250±10）g，长春生物制品研究所有限责任公司提供。

2.1.3 主要仪器设备

试验所用到的主要仪器设备见表 2-1。

表 2-1 试验用仪器设备

Table 2-1 Instruments used in this study

仪器名称	生产厂家
JSM-5610LV 扫描电子显微镜	日本电子株式会社日本电子株式会社
D/Max-111A 型 X 射线衍射仪	日本 Rigaku(理学)公司
DL-5 型大容量低速离心机	上海安亭科学仪器制造厂
GDE-CSF6 意大利 VELP 膳食纤维测定仪	北京盈盛恒泰科技有限公司
K-360 全自动凯氏定氮仪	瑞士 Büchi 公司
6700 傅里叶红外光谱仪	美国 Thermo Nicolet 公司
BS224S 型电子天平	赛多利斯科学仪器有限公司

续表 2-1 试验用仪器设备

Continued table 2-1 Instruments used in this study

仪器名称	生产厂家
T6 新世纪紫外可见分光光度计	北京普析通用仪器有限责任公司
VORTEX-5 漩涡震荡仪	上海书培实验设备有限公司
YB-P50001 型电子天平	北京长拓锐新科技发展有限公司
KD-BM 生物组织包埋机	赛多利斯科学仪器有限公司
WD-2102A 自动酶标仪	北京六一生物科技有限公司
BS-330 全自动生化分析仪	深圳麦瑞有限公司
KD-TS3A 生物组织脱水机	赛多利斯科学仪器有限公司
MEK-6318K 全自动血细胞分析仪	日本光电工业有限公司
BT100-2J 蠕动泵	保定兰格恒流泵有限公司
KD-TS3A 生物组织脱水机	北京佳源兴业科技有限公司
KD-BM 生物组织包埋机	浙江省金华市科迪仪器设备有限公司
KD-P 摊片机	浙江省金华市科迪仪器设备有限公司
RM2016 轮转式切片机	德国 Leica 公司

2.2 响应面对复合酶法提取大豆膳食纤维工艺的优化

2.2.1 大豆膳食纤维的制备

精确称取脱脂豆渣粉末 10.000 g，按照 1:25 g/mL 的料液比加入蒸馏水，加入 500 μ L 耐高温 α -淀粉酶于反应体系中水浴酶解 20 min（酶解条件：pH 6.0，97 $^{\circ}$ C）。第一步酶解结束后，加入 50 mg 中性蛋白酶于反应体系中酶解 30 min（酶解条件：pH 7.0，60 $^{\circ}$ C）。最后再加入 500 μ L 糖化酶于反应体系中酶解 30 min（酶解条件：pH 4.5，60 $^{\circ}$ C）。将酶解后的反应物过滤，将滤液浓缩后加入 4 倍体积的乙醇溶液（95%），醇沉 12 h 后，离心、干燥得 SDF，滤渣用温水洗涤至中性，离心、干燥得 IDF^[123-125]。

2.2.2 单因素试验设计

精确称取脱脂豆渣粉末各 5.000 g，以总膳食纤维得率（SDF+IDF）为考察指标，研究料液比（1:10、1:15、1:20、1:25、1:30（g/mL））、 α -淀粉酶添加量（0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%）、 α -淀粉酶酶解时间（15、20、25、30、35 min）、中性蛋白酶添加量（0.01%、0.02%、0.03%、0.04%、0.05%）、中性蛋白酶酶解时间（15、20、25、30、35 min）对总膳食纤维得率的影响。

2.2.3 响应面试验设计

在单因素基础上，以总膳食纤维率为考察指标，进行响应面试验设计，如表 2-2 所示。

表 2-2 复合酶法提取大豆膳食纤维响应面试验因素与水平

Table 2-2 Response factors and levels of response surface of dietary fiber extracted by compound enzymatic method

水平	因素			
	A: α -淀粉酶添加量 /%	B: α -淀粉酶酶解时间 /min	C: 中性蛋白酶添加量 /%	D: 中性蛋白酶酶解时间 /min
-1	0.2	20	0.03	25
0	0.3	25	0.04	30
1	0.4	30	0.05	35

2.2.4 膳食纤维的基本成分测定

总膳食纤维的测定：参照 GB 5009.88-2014^[126]；淀粉含量的测定：参照 GB 5009.9-2016^[127]；脂肪含量的测定：参照 GB 5009.6-2016^[128]；水分含量的测定：参照 GB 5009.3-2010^[129]；蛋白质含量测定：参照 GB 5009.5-2016^[130]；灰分含量的测定：参照 GB 5009.4-2016^[131]。

2.2.5 膳食纤维的物化特征研究

(1) 持水力 (WHC) 测定

准确称取 1.000 g 样品于 50 mL 离心管中，加入 15 mL 蒸馏水，在室温下震荡均匀，静止 24 h 后，离心（4800 r/min，20 min），弃去上清液并用滤纸吸干离心管壁残留水分，称量，平行三次^[132]。

$$WHC(g/g) = \frac{m_1 - m - m_0}{m} \quad \text{公式 (1)}$$

式中： m_0 ——离心管的质量（g）；

m_1 ——去除上清液后离心管的质量（g）；

m ——膳食纤维样品的质量（g）。

(2) 持油力 (OHC) 测定

准确称取 1.000 g 样品于 50 mL 离心管中，加入 15 mL 大豆油，在室温下震荡均匀，静止 24 h 后，离心（4800 r/min，20 min），弃去上清液并用滤纸吸干离心管壁残留豆油，称量，平行三次。

$$OHC(g/g) = \frac{m_1 - m - m_0}{m} \quad \text{公式 (2)}$$

式中： m_0 ——离心管的质量（g）；

m_1 ——去除上清液后离心管的质量（g）；

m ——膳食纤维样品的质量（g）。

(3) 膨胀力 (SW) 测定

准确称取 0.500 g 样品于 10 mL 离心管中, 加入 5 mL 蒸馏水, 在室温下震荡均匀, 4 ℃ 条件下静止放置 18 h 后, 记录溶胀后体积, 平行三次。

$$SW(\text{mL/g}) = \frac{V_m - V}{m} \quad \text{公式 (3)}$$

式中: V_m ——溶胀后样品体积 (mL);

V ——初始样品体积 (mL);

m ——膳食纤维样品的质量 (g)。

2.2.6 膳食纤维的结构测定

(1) 膳食纤维的红外光谱

准确称取 0.002 g 膳食纤维样品, 在红外灯下将样品与 0.200 g KBr 粉末混合后研磨均匀, 置于真空压片机上将样品压片后, 在红外光谱仪中对其进行扫描, 扫描范围为 4000~400 cm^{-1} , 待红外光谱测定结果图出现后标记并保存^[123]。

(2) 膳食纤维的超微结构观察

取适量样品粉末均匀平铺于镀金板上盖有导电带的相应位置, 将镀金版置于真空蒸发皿中进行离子溅射镀金, 镀金结束后取出, 分别在 500、1300 和 3000 倍的扫描电镜下对样品超微结构及形态进行观察、分析^[133]。

(3) 膳食纤维的 X 射线衍射测试

将干燥后的膳食纤维样品粉碎、研磨、过筛后, 置于 D/Max-111A 型 X 射线衍射仪内, 通过粉末衍射法进行 X 射线衍射测试^[134]。

2.3 大豆膳食纤维对 2 型糖尿病模型大鼠降血糖作用

2.3.1 动物的分组及给药

选择 Wistar 大鼠 50 只, 适应性饲养 1 周后, 称量体重, 按体重随机抽取 8 只作为空白组, 其余大鼠禁食 12 h 后, 腹腔注射链脲佐菌素溶液 (150 mg/kg), 并恢复进食, 进食 72 h 后再次禁食 12 h, 空腹尾部静脉取血测定其血糖值, 选取空腹血糖值 $\geq 16.7 \text{ mmol/L}$ 的大鼠作为高血糖模型大鼠^[135]。将建立的大鼠模型分为 5 组: 模型组、阳性对照组、大豆膳食纤维低、中、高剂量组, 每组 8 只。空白组及模型组灌胃给予 0.9% 生理盐水, 阳性对照组灌胃给予格列本脲 (10 mg/kg), 大豆膳食纤维组分别灌胃给予低、中、高剂量大豆膳食纤维溶液 (用灭菌去离子水将大豆膳食纤维配制为 1.35、2.70、5.40 g/kg 溶液), 灌

胃体积均 2 mL，每日给药 1 次，连续灌胃 42 d。实验大鼠饲养于实验专用塑料鼠笼，各组实验大鼠均以标准饲料饲喂，自由饮水，每周定时称量大鼠体重 1 次。室温环境（24±2）℃，相对湿度（45±3）%，光照 12 h/d。实验期间观察实验大鼠日常行为状况并记录，末次给药并禁食禁水 24 h 后，称量大鼠体重并按照实验组分别记录^[136]。

2.3.2 动物指标的测定

经腹主动脉采血，部分血样样品采用血糖仪测量空腹血糖值，其余血液样本分离血清，采用相应试剂盒测定血清中 INS、Glycogen 及 GSP 含量。取出大鼠胰腺组织并称重，计算胰腺/体比，并将胰腺组织固定于 10%甲醛溶液中，用以制作 H&E 染色切片，光学显微镜下观察胰腺组织胰岛区域病理学变化^[137]。

2.4 大豆膳食纤维对 2 型糖尿病模型大鼠胰腺氧化损伤修复作用

2.4.1 模型建立与饲养

健康 Wistar 雄性大鼠 50 只（250±10）g，适应性饲养一周后，称重，按体重随机抽取 8 只作为空白组，其余大鼠禁食 12 h 后，腹腔注射链脲佐菌素溶液（2%）（150 mg/kg）^[138]，并恢复进食，进食 72 h 后，禁食 12 h，空腹尾部静脉取血测定其血糖值，选取空腹血糖值 ≥16.7 mmol/L 的实验大鼠（40 只）作为高血糖模型大鼠^[139]。共分为 5 组，每组 8 只，组别为：模型组、阳性对照组、大豆膳食纤维低、中、高剂量组。各剂量组大鼠具体药剂分配见表 2-3，连续灌胃 42 d。实验大鼠饲养于实验专用塑料鼠笼，实验期间各组实验大鼠以基础饲料饲喂，自由饮水，室温环境（24±2）℃，相对湿度（45±3）%，光照 12 h/d。

表 2-3 实验动物的药剂分配

Table 2-3 Reagent distribution of experimental animals

组名	药物名称	药物浓度	灌胃容量
模型组	生理盐水	0.9%	2 mL/只
空白组	生理盐水	0.9%	2 mL/只
阳性对照组	格列本脲	10 mg/kg	2 mL/只
低剂量组	大豆膳食纤维	1.35 g/kg	2 mL/只
中剂量组	大豆膳食纤维	2.7 g/kg	2 mL/只
高剂量组	大豆膳食纤维	5.4 g/kg	2 mL/只

2.4.2 动物指标测定

实验期间观察实验大鼠日常行为状况并记录，末次给药并禁食禁水 24 h 后，称量大鼠体重并记录。腹主动脉取血法采血，部分血液样本用以测量空腹血糖值，采用实验室试剂

盒（ELISA 法）测定 SOD、GSH-Px、MDA 含量。脊椎脱臼法处死实验大鼠后，取出大鼠胰腺组织称重，并计算脏器比，并将其固定于 10% 甲醛溶液中，用以制作 H&E 染色切片，光学显微镜下观察胰腺组织胰岛区域病理学变化^[140]。

2.5 大豆膳食纤维对雌性大鼠卵巢衰老的影响作用

2.5.1 实验动物分组与饲养

选择 6 月龄雌性 Wistar 大鼠 30 只，12 月龄 6 只，体重（300±20）g。实验大鼠饲喂普通饲料，适应性喂养 7 d 后，分为 6 组，包括模型组（12 月龄）、空白组、阳性对照组、低剂量组、中剂量组和高剂量组，每组 6 只，低、中、高剂量组灌胃给予不同剂量大豆膳食纤维，模型组和空白组以生理盐水灌胃，阳性对照组喂予己烯雌酚。实验期间，大鼠单笼饲养，每日定量喂予基础饲料。各组大鼠连续灌胃 28 d。每周定时称量大鼠体重 1 次，自由饮水。动物室温度（20±2）℃，相对湿度（45±10）%，通风良好^[141]。各组大鼠具体药剂分配见表 2-4。

表 2-4 实验动物的药剂分配

Table 2-4 Reagent distribution of experimental animals

组名	灌胃物质	灌胃浓度	灌胃容量
模型组	生理盐水	0.9%	2 mL/只
空白组	生理盐水	0.9%	2 mL/只
阳性对照组	己烯雌酚	0.5 mg/kg	2 mL/只
低剂量组	大豆膳食纤维	1.35 g/kg	2 mL/只
中剂量组	大豆膳食纤维	2.7 g/kg	2 mL/只
高剂量组	大豆膳食纤维	5.4 g/kg	2 mL/只

2.5.2 实验动物指标测定

灌胃结束后，经阴道涂片确定动情周期，选择大鼠处于动情期时禁食不禁水 12 h 后，用电子天平称重并记录后，乙醚吸入式麻醉，腹主动脉取血，离心分离（3000 r/min, 20 min），采用酶联免疫吸附法（ELISA）^[142]测定大鼠实验前后血清中卵泡生成素（FSH）、促黄体生成素（LH）、雌二醇（E₂）、抗缪勒管激素（AMH）水平，并对各组的测定结果进行比较分析。

剥离大鼠卵巢，称重，计算卵巢/体比值。卵巢称重后立即放入用 0.2 mol/L PBS 配制的 4% 多聚甲醛固定液中固定，制作 H&E 病理学组织染色切片观察卵巢组织形态^[143]。

2.6 统计学分析

应用统计学软件 SPSS 20 进行统计学分析，通过 Origin 软件绘制相关图表，试验数据均采用均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，组间比较采用两两比较方法，以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果与分析

3.1 响应面对复合酶法提取大豆膳食纤维工艺的优化

3.1.1 单因素试验结果

(1) 料液比对膳食纤维得率的影响

由图 3-1 可知,随着料液比的升高,大豆膳食纤维的得率呈先增长后降低的趋势。当料液比为 1:25 g/mL 时,膳食纤维得率最高,料液比超过 1:25 g/mL 后,复合酶法提取大豆膳食纤维的得率反而下降。这可能是因为溶剂用量过大会导致单位体积底物含量偏低,即膳食纤维在溶液中的质量浓度变小,不易醇沉,同时造成醇沉过程中乙醇的浪费^[144]。另一方面溶剂用量过大使单位体积输入的能量下降,也会降低膳食纤维的得率。因此料液比 1:25 g/mL 为最适料液比。

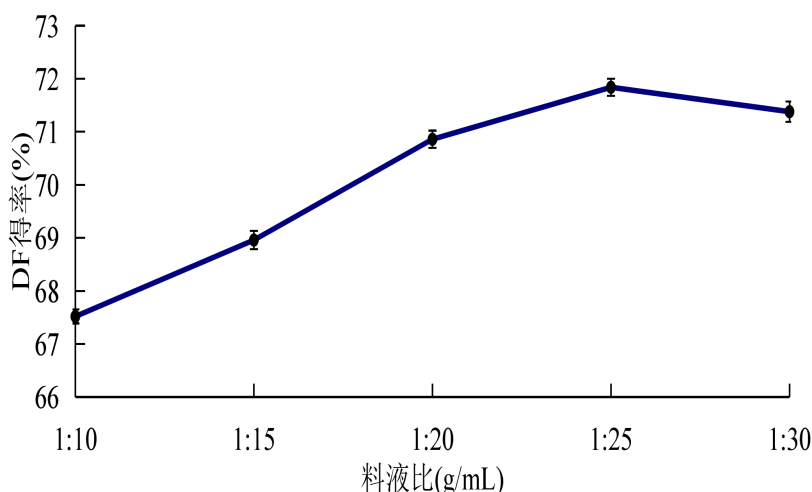


图 3-1 料液比对膳食纤维得率的影响

Fig.3-1 The effects of solid-liquid ratio on extraction of dietary fiber

(2) α -淀粉酶添加量对膳食纤维得率的影响

由图 3-2 可知,增加 α -淀粉酶添加量,膳食纤维得率呈先升高后降低的趋势。当 α -淀粉酶添加量为 0.3%时,膳食纤维得率最高。继续增加 α -淀粉酶的添加量,膳食纤维得率反而略有降低。分析原因可能为当 α -淀粉酶达到一定添加量时,溶液中的淀粉基本被除去^[145]。因此 α -淀粉酶最适添加量为 0.3%。

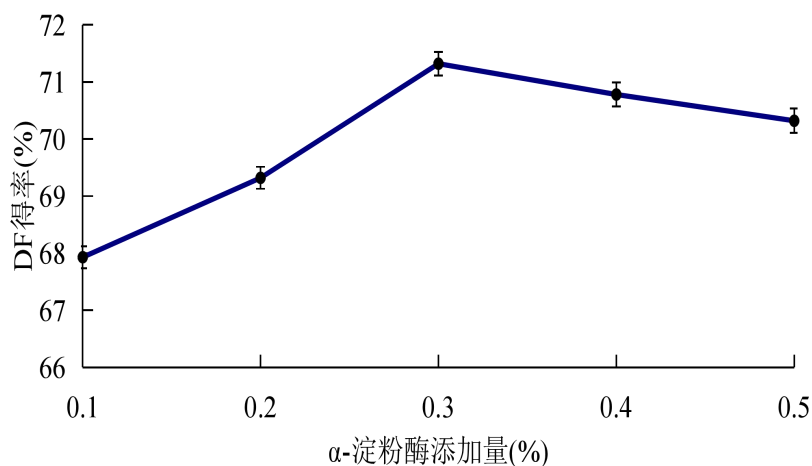
图 3-2 α -淀粉酶添加量对膳食纤维得率的影响

Fig.3-2 The effects of alpha amylase added amount on extraction of dietary fiber

(3) α -淀粉酶酶解时间对膳食纤维得率的影响

由图 3-3 可知,随着 α -淀粉酶酶解时间的延长,膳食纤维的得率先升高后降低,当酶解时间为 25 min 时,膳食纤维得率最高。说明在反应 25 min 后,酶解已基本完全。因此, α -淀粉酶的最适酶解时间为 25 min。

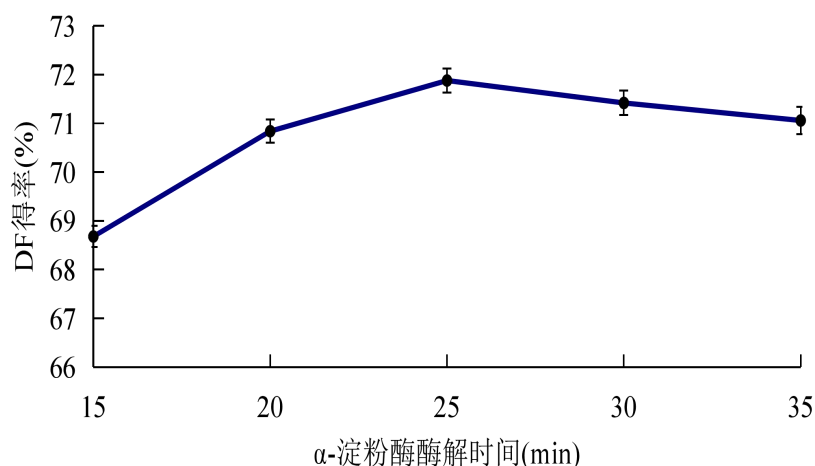
图 3-3 α -淀粉酶酶解时间对膳食纤维得率的影响

Fig.3-3 The effects of Enzymatic hydrolysis time of alpha amylase on extraction of dietary fiber

(4) 中性蛋白酶添加量对膳食纤维得率的影响

由图 3-4 可知,增加中性蛋白酶添加量,膳食纤维得率先升后降。当中性蛋白酶添加量为 0.04%时,膳食纤维得率最高。分析原因可能为当中性蛋白酶达到一定添加量时,溶液中可溶的蛋白质基本被除去。因此中性蛋白酶最适添加量为 0.04%。

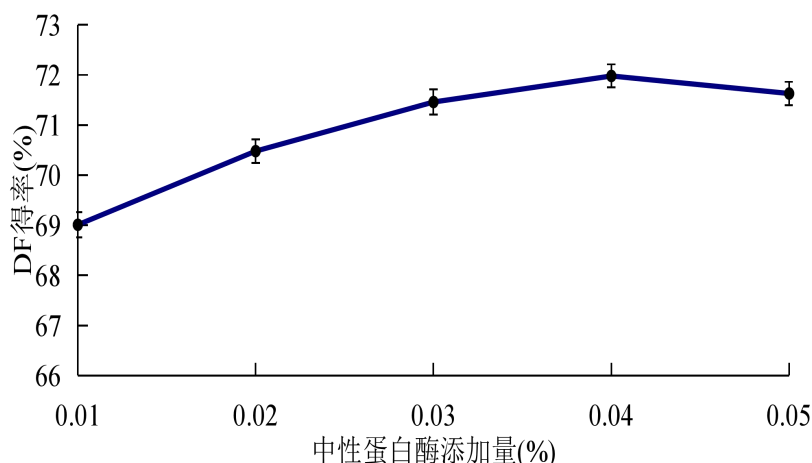


图 3-4 中性蛋白酶添加量对膳食纤维得率的影响

Fig.3-4 The effects of neutral proteinase added amount on extraction of dietary fiber

(5) 中性蛋白酶酶解时间对膳食纤维得率的影响

由图 3-5 可知,随着中性蛋白酶酶解时间的延长,膳食纤维的得率先升高后降低,当酶解时间为 30 min 时,膳食纤维得率最高。分析其原因可能是中性蛋白酶在分解豆渣中蛋白,暴露出膳食纤维的同时,还会分解出一些小分子蛋白,这些小分子蛋白会包埋在豆渣的表面,从而导致膳食纤维得率的略微降低。

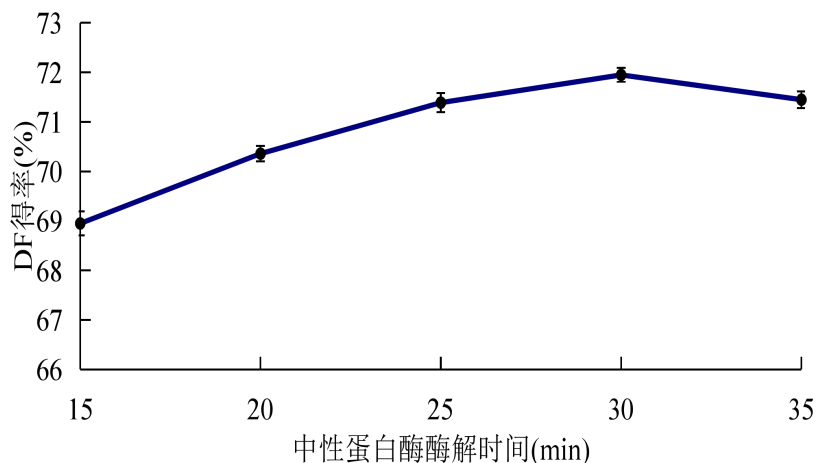


图 3-5 中性蛋白酶添加量对膳食纤维得率的影响

Fig.3-5 The effects of Enzymatic hydrolysis time of neutral proteinase on extraction of dietary fiber

3.1.2 响应面试验结果

(1) 响应面试验设计结果及方差分析

采用 Design-Expert 8.0.5.0 软件中的 Box-Behnken 程序进行试验设计,结果见表 3-1,方差分析结果见表 3-2。

利用 Design-Expert 8.0.5.0 软件, 对表 3-2 中的数据进行二次响应面回归拟合分析, 得到编码回归方程为: $DF \text{ 得率} = 72.52 + 0.37 A - 0.15 B + 0.14 C - 0.12 D + 0.073 AB + 0.22 AC - 0.20 AD + 0.26 BC + 0.063 BD - 0.023 CD - 0.43 A^2 - 0.60 B^2 - 0.44 C^2 - 0.38 D^2$ 。

回归方程中各项系数绝对值的大小直接反映各因素对响应值影响程度, 系数的正负反映了影响的方向^[146-148]。从表 3-2 可以看出, 一次项 A 对膳食纤维得率的影响达到了极显著水平, 一次项 B、C、D 均达到了显著水平; 二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 、 D^2 均达到极显著水平; 交互项 AC、AD、BC 达到了显著水平。由表 3-2 还可以看出, 模型极显著 ($P < 0.0001$), 失拟项 ($P = 0.2099 > 0.05$) 不显著, 说明模型是合理的, 模型决定系数 R^2 为 0.9349, 校正决定系数 R^2_{Adj} 为 0.8697, 说明该模型能较好地反映大豆膳食纤维得率与 α -淀粉酶添加量、 α -淀粉酶酶解时间、中性蛋白酶添加量和中性蛋白酶酶解时间的关系, 由此可见, 此种试验方法是可靠的。

表 3-1 复合酶法提取大豆膳食纤维响应面试验结果

Table 3-1 Experimental design and results for response surface analysis for complex enzymatic extraction of dietary fiber from bean dregs

试验号	A: α -淀粉酶添加量	B: α -淀粉酶酶解时间	C:中性蛋白酶添加量	D:中性蛋白酶酶解时间	DF 得率
1	0.2	20	0.04	30	71.33
2	0.4	20	0.04	30	71.77
3	0.2	30	0.04	30	71.12
4	0.4	30	0.04	30	71.85
5	0.3	25	0.03	25	71.63
6	0.3	25	0.05	25	72.07
7	0.3	25	0.03	35	71.43
8	0.3	25	0.05	35	71.78
9	0.2	25	0.04	25	71.00
10	0.4	25	0.04	25	72.26
11	0.2	25	0.04	35	71.33
12	0.4	25	0.04	35	71.78
13	0.3	20	0.03	30	71.83
14	0.3	30	0.03	30	70.77
15	0.3	20	0.05	30	71.47
16	0.3	30	0.05	30	71.43
17	0.2	25	0.03	30	71.44
18	0.4	25	0.03	30	71.77
19	0.2	25	0.05	30	71.27
20	0.4	25	0.05	30	72.47
21	0.3	20	0.04	25	72.03
22	0.3	30	0.04	25	71.60

续表 3-1 复合酶法提取大豆膳食纤维响应面试验结果

Continued table 3-1 Experimental design and results for response surface analysis for complex enzymatic extraction of dietary fiber from bean dregs

试验号	A: α -淀粉酶添 加量	B: α -淀粉酶酶 解时间	C:中性蛋白酶 添加量	D:中性蛋白酶 酶解时间	DF 得率
23	0.3	20	0.04	35	71.53
24	0.3	30	0.04	35	71.35
25	0.3	25	0.04	30	72.36
26	0.3	25	0.04	30	72.52
27	0.3	25	0.04	30	72.49
28	0.3	25	0.04	30	72.50
29	0.3	25	0.04	30	72.72

表 3-2 复合酶法提取大豆膳食纤维响应面试验结果方差分析

Table 3-2 Analysis of variance for the yield of dietary fiber from bean dregs

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	
Model	6.66	14	0.48	14.35	<0.0001	significant
A- α -淀粉酶添 加量	1.62	1	1.62	48.91	<0.0001	**
B- α -淀粉酶酶解 时间	0.28	1	0.28	8.51	0.0112	*
C-中性蛋白酶 添加量	0.22	1	0.22	6.60	0.0223	*
D-中性蛋白酶 酶解时间	0.16	1	0.16	4.86	0.0447	*
AB	0.021	1	0.021	0.63	0.4390	
AC	0.19	1	0.19	5.71	0.0315	*
AD	0.16	1	0.16	4.95	0.0430	*
BC	0.26	1	0.26	7.85	0.0141	*
BD	0.016	1	0.016	0.47	0.5035	
CD	2.025E-003	1	2.025E-003	0.061	0.8083	
A ²	1.21	1	1.21	36.45	<0.0001	**
B ²	2.30	1	2.30	69.36	<0.0001	**
C ²	1.23	1	1.23	37.09	<0.0001	**
D ²	0.94	1	0.94	28.49	0.0001	**
Residual	0.46	14	0.033			
Lack of Fit	0.40	10	0.040	2.37	0.2099	not significant
Pure Error	0.067	4	0.017			
Cor Total	7.12	28				

注: **. $P<0.01$, 影响极显著; *. $P<0.05$, 影响显著。

(2) 响应面交互作用分析

等高线的形状可以反映出各因素间交互作用的强弱，如果等高线为鞍型或椭圆形，则表示两者交互作用显著；如果等高线为圆形，则表示两者交互作用不显著^[149,150]。由图 3-6 可知，交互作用项 α -淀粉酶添加量和中性蛋白酶添加量、 α -淀粉酶添加量和中性蛋白酶酶解时间、 α -淀粉酶酶解时间和中性蛋白酶添加量的等高线均为椭圆形，说明三组交互作用项的交互作用均显著，但 α -淀粉酶酶解时间和中性蛋白酶添加量的交互作用比另两组的交互作用更加明显，这与表 3-2 方差分析中回归模型系数显著性检验结果一致。从图 3-6 响应面的最高点和等高线可见，在所选的范围内存在极值，即响应面的最高点。

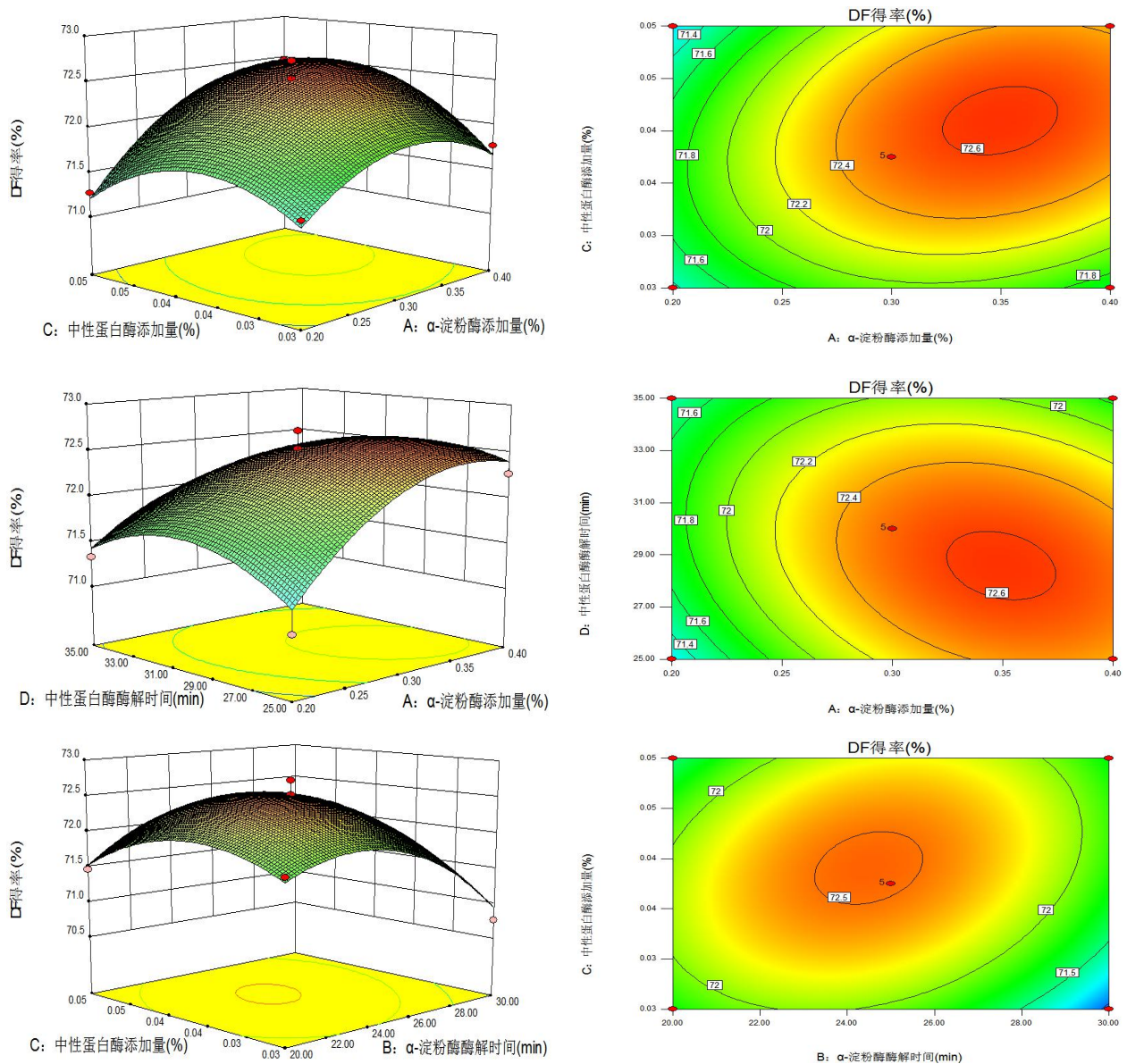


图 3-6 各因素交互作用对膳食纤维得率影响的响应面及等高线图

Fig.3-6 Three-dimensional response surface and contour plots showing the interactive effects of various extraction parameters on the yield of dietary fiber

(3) 大豆膳食纤维最佳提取条件验证实验

利用 Design-Expert 8.0.5.0 软件对工艺条件进行优化,得到大豆膳食纤维最佳提取条件为 α -淀粉酶添加量 0.36%、 α -淀粉酶酶解时间 24.75 min、中性蛋白酶添加量 0.04%、中性蛋白酶酶解时间 28.42 min,在此工艺条件下,得到大豆膳食纤维得率的预测值为 72.67%,为了便于工艺操作,将最佳提取条件修正为: α -淀粉酶添加量 0.4%、 α -淀粉酶酶解时间 25 min、中性蛋白酶添加量 0.04%、中性蛋白酶酶解时间 30 min。为了证实预测值的准确性,在最优条件下进行验证实验,得到大豆膳食纤维得率实测值为 $(72.43\pm 0.22)\%$ ($n=3$),与预测值 72.67%非常接近,说明该模型可以较好地反映大豆膳食纤维提取条件,且用 Box-Behnken 法对大豆膳食纤维提取条件进行优化是可行的。

3.1.3 大豆膳食纤维的基本成分分析

从表 3-3 结果看出,大豆豆渣主要由粗膳食纤维、蛋白质和脂肪组成,其含量分别为 41.96%、25.73%和 13.85%,其次为淀粉 5.32%。因此在提取大豆膳食纤维时,首先对豆渣进行脱脂处理,再采用复合酶法去除蛋白质及淀粉。此法得到的大豆膳食纤维,总膳食纤维达 92.05%,蛋白质仅为 1.67%,淀粉仅为 1.26%。大豆膳食纤维纯度较高,可用于下一步的动物实验。

表 3-3 大豆豆渣及大豆膳食纤维的基本化学组成

Table 3-3 Chemical composition of Soybean dregs and dietary fiber

	蛋白质/%	脂肪/%	水分/%	灰分/%	淀粉/%	总膳食纤维/%
大豆豆渣	25.73 $\pm$ 0.22	13.85 $\pm$ 0.18	9.38 $\pm$ 0.32	3.76 $\pm$ 0.56	5.32 $\pm$ 0.17	41.96 $\pm$ 0.38
大豆膳食纤维	1.67 $\pm$ 0.06	1.27 $\pm$ 0.21	2.53 $\pm$ 0.43	1.22 $\pm$ 0.29	1.26 $\pm$ 0.43	92.05 $\pm$ 0.25

3.1.4 大豆膳食纤维的物化特征

持水能力、持油能力和吸水膨胀性的大小是衡量膳食纤维品质好坏的重要指标。由表 3-4 可知,大豆膳食纤维的持水性、持油性及膨胀性分别达到 6.72 g/g、4.69 g/g 和 4.71 g/g。膳食纤维持水总量包括结合水、流动水及物理吸附水,相关研究认为,膳食纤维的表面积、孔隙率及密度的大小不同造成其持水能力的差异^[151];膳食纤维持油力则取决于其表面性质、电荷密度、厚度及颗粒的疏水性^[152];这些性质使得大豆膳食纤维更适合于作为功能性食品辅料。膳食纤维的水合性质能扩充胃肠道内容物的体积,增加排泄物的含水量,改善

便秘等状况。且膳食纤维对水的结合形式和良好持水能力有利于其在肠道内发挥一系列生理功能^[153]。

表 3-4 大豆膳食纤维的物化特性

Table 3-4 The physicochemical properties of dietary fiber

	持水性 (WHC-g/g)	持油性 (OHC-g/g)	溶胀性 (SW-g/mL)
大豆膳食纤维	6.72±0.12	4.69±0.18	4.71±0.04

3.1.5 大豆膳食纤维的结构分析

(1) 大豆膳食纤维的超微结构观察

从图 3-7 中可看出, 大豆膳食纤维颗粒性状各异, 大小不一, 内部独立颗粒的表面呈疏松的片层状, 结构不完整连续, 细小碎片较多, 原因是膳食纤维经酶解后, 可增大颗粒表面的接触面积, 从而使膳食纤维具有良好的持水性及吸附性。

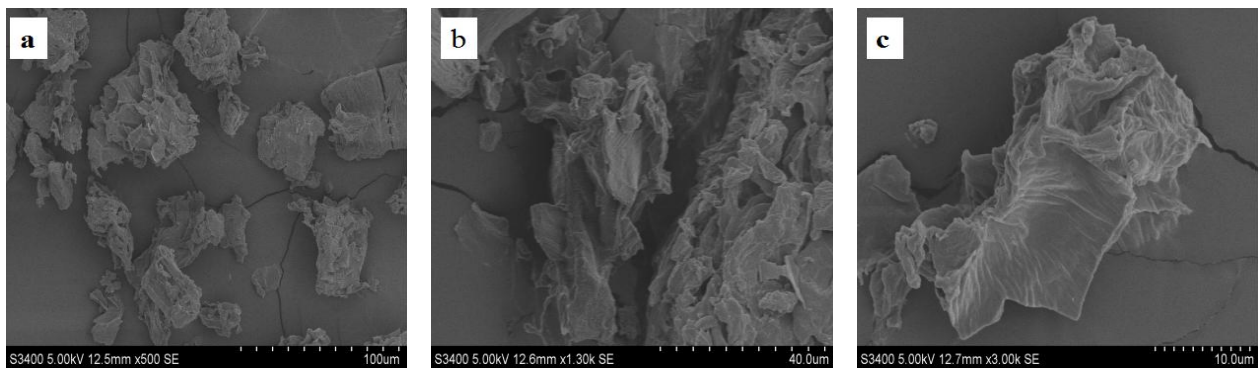


图 3-7 大豆膳食纤维的扫描电子显微镜图

Fig.3-7 SEM images of dietary fiber

(2) 大豆膳食纤维的红外光谱分析

图 3-8 为复合酶法提取的大豆膳食纤维和市售大豆膳食纤维样品（化学法提取）的红外光谱图。由图可知, 大豆膳食纤维具有纤维素类多糖的特征吸收峰。3738 cm^{-1} 处是分子间或分子内的 O—H 的伸缩振动峰, 说明膳食纤维中有较多羟基及结合水分子。2991 cm^{-1} 处附近的小尖峰是糖环或支链上亚甲基的 C—H 伸缩振动峰, 1714 cm^{-1} 处的吸收峰是半纤维素羰基 C=O 的伸缩振动峰, 1502 cm^{-1} 处的吸收峰属于苯环骨架伸缩振动峰, 说明膳食纤维中可能含有具有芳香环这一特征结构的木质素。1296 cm^{-1} 和 1202 cm^{-1} 处的吸收峰是纤维素和半纤维素结构中两种 C—O 伸缩振动峰, 一种是属于 C—O—H, 一种属于糖环上 C—O—C, 这些吸收峰都为糖类的特征吸收峰。此外可以看出, 与化学法提取的大豆膳食纤维样品相比, 复合酶法提取的大豆膳食纤维各特征吸收峰更加明显, 原因可能是化学法

会破坏大豆膳食纤维的结构，降解部分功能成分，而复合酶法的提取条件更加温和，会保留更多的膳食纤维功能成分。

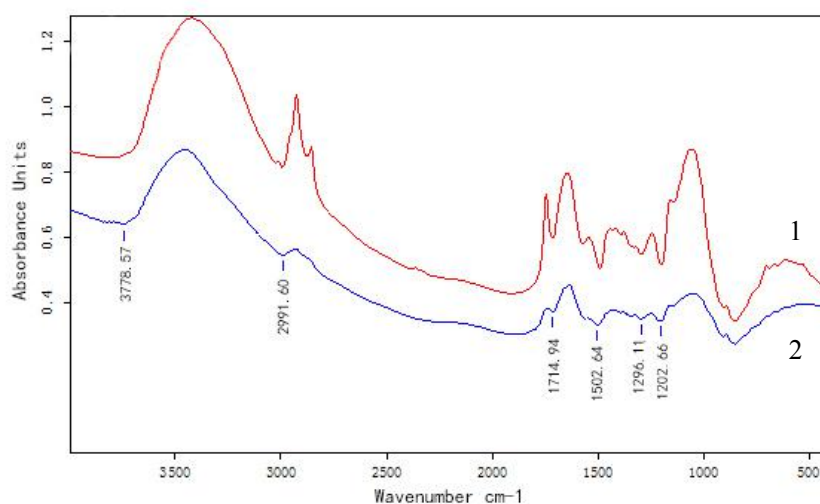


图 3-8 大豆膳食纤维的红外光谱图

Fig.3-8 FTIR spectrum of dietary fiber

注：1 为复合酶法提取大豆纤维；2 为化学法提取大豆膳食纤维

(3) 大豆膳食纤维的 X 射线衍射分析

由图 3-9 可看出，大豆膳食纤维在 23.42° 、 35.76° 出现较为明显的衍射强度峰，其结晶度为 30.57%，说明在复合酶法提取膳食纤维的过程中，酶解可能使膳食纤维的结晶度和聚合度下降，使其结构更疏松，改善其持水性及吸附性，有利于膳食纤维在肠道内发挥其功能。

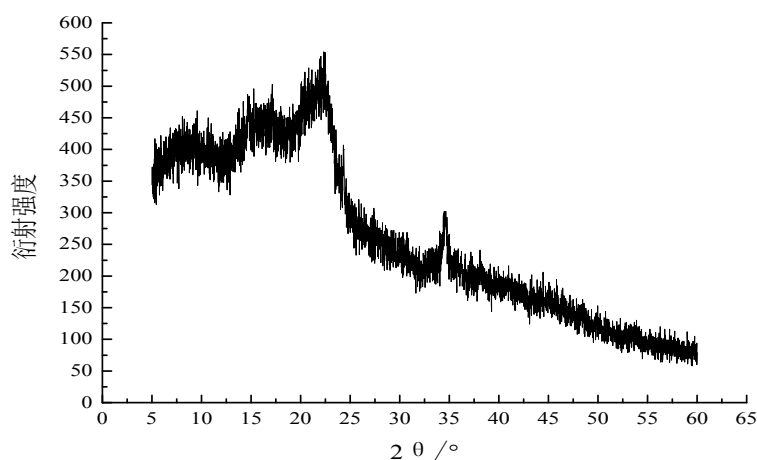


图 3-9 大豆膳食纤维的 X 射线衍射图

Fig.3-9 XRD spectra of dietary fiber

3.1.6 小结

本研究采用 Box-Behnken 试验设计,通过响应面分析结合实际值确定复合酶法提取大豆膳食纤维最优的工艺条件为 α -淀粉酶添加量 0.4%、 α -淀粉酶酶解时间 25 min、中性蛋白酶添加量 0.04%、中性蛋白酶酶解时间 30 min,在此条件下,膳食纤维得率达到 72.43%。与预测值 72.67%相比其相对误差为 0.24%,最优提取工艺准确可靠。通过红外光谱和 X 射线衍射分析结果显示,大豆膳食纤维的结构具有明显的糖类特征吸收峰,通过扫描电镜结果可知,膳食纤维的纤维颗粒微小,表面略有褶皱,结构疏松,带有明显的片状结构,颗粒的表面出现蜂窝状结构,且分布均匀。与化学法及单一酶法的提取工艺相比,复合酶法的膳食纤维得率有所提高,可供实际生产参考应用。且得到膳食纤维性质良好,各功能结构也保留得更加完整,有利于后续功能性验证试验的进行。

3.2 大豆膳食纤维对 2 型糖尿病模型大鼠降血糖作用

3.2.1 各组大鼠体重指标

糖尿病型大鼠建模成功后，体重显著低于空白组 ($P<0.01$)。除低剂量大豆膳食纤维剂量组外，中、高剂量大豆膳食纤维组及阳性对照组大鼠体重均明显高于模型组 ($P<0.01$)，且具有一定的量效关系，高剂量大豆膳食纤维对糖尿病型大鼠体重指标改善效果最佳，且与格列本脲对糖尿病型大鼠体重指标的改善效果相当。见图 3-10。

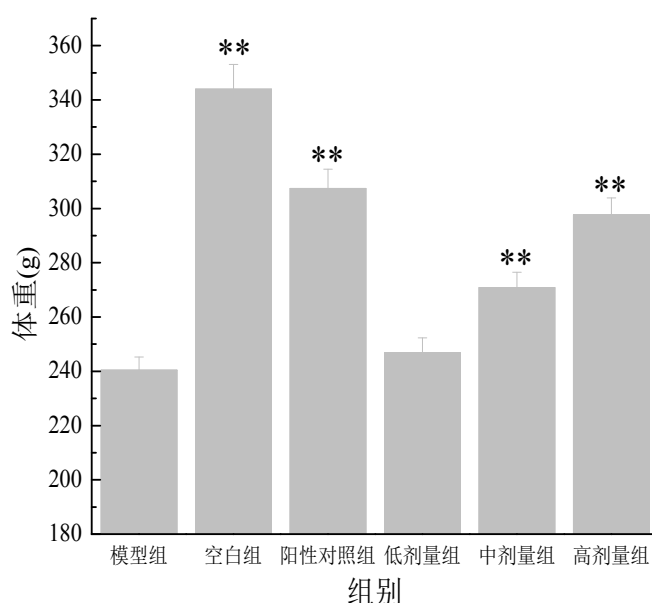


图 3-10 各组大鼠的体重

Fig.3-10 The weight of experimental Rats

注：*与模型组相比存在显著差异 ($P<0.05$)，**与模型组相比存在极显著差异 ($P<0.01$)。

3.2.2 各组大鼠空腹血糖指标

模型组大鼠空腹血糖值明显高于空白组 ($P<0.01$)。除低剂量大豆膳食纤维组外，中、高剂量大豆膳食纤维组及阳性对照组大鼠的空腹血糖值均显著低于模型组 ($P<0.01$)，表明大豆膳食纤维可显著降低糖尿病模型大鼠的空腹血糖值，且具有一定的量效关系。见图 3-11。

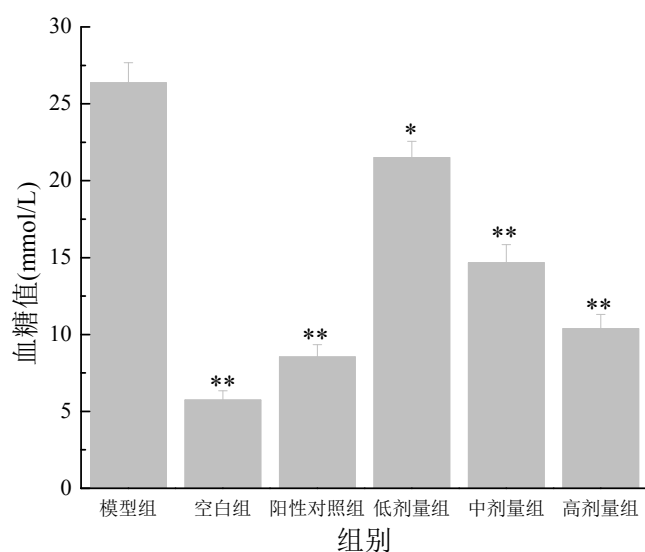


图 3-11 各组大鼠空腹血糖值

Fig.3-11 Fasting blood glucose of Rats

3.2.3 各组大鼠胰腺脏器比

模型组大鼠胰腺/体比均显著低于空白组 ($P<0.05$)。各灌胃剂量组大鼠胰腺/体比均较模型组大鼠有不同程度升高, 阳性对照组及高剂量大豆膳食纤维组大鼠胰腺/体比明显高于模型组 ($P<0.05$), 且高剂量组对糖尿病大鼠胰腺/体比的改善效果优于低剂量组。见图 3-12。

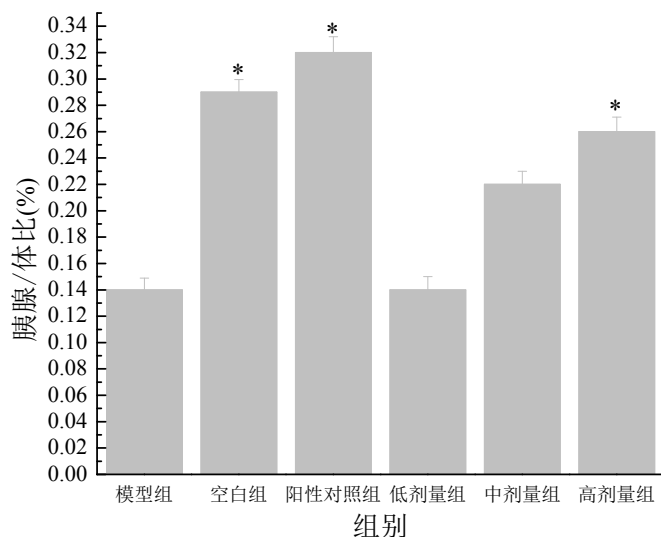


图 3-12 各组大鼠胰腺/体比

Fig.3-12 The ratio of Pancreas to weight of Rats

3.2.4 各组大鼠血清检测指标

与空白组比较, 模型组大鼠血清中 Glycogen 及 INS 含量显著降低 ($P<0.01$), GSP 含量显著升高 ($P<0.01$)。除低剂量大豆膳食纤维组外, 阳性对照组及中、高剂量膳食纤维组大鼠血清 GSP 含量均显著低于模型组 ($P<0.01$), 且呈剂量依赖性。与模型组比较, 除低剂量大豆膳食纤维组外, 其他各灌胃剂量组大鼠血清 INS 及 Glycogen 含量均明显高于模型组 ($P<0.01$)。见图 3-13。

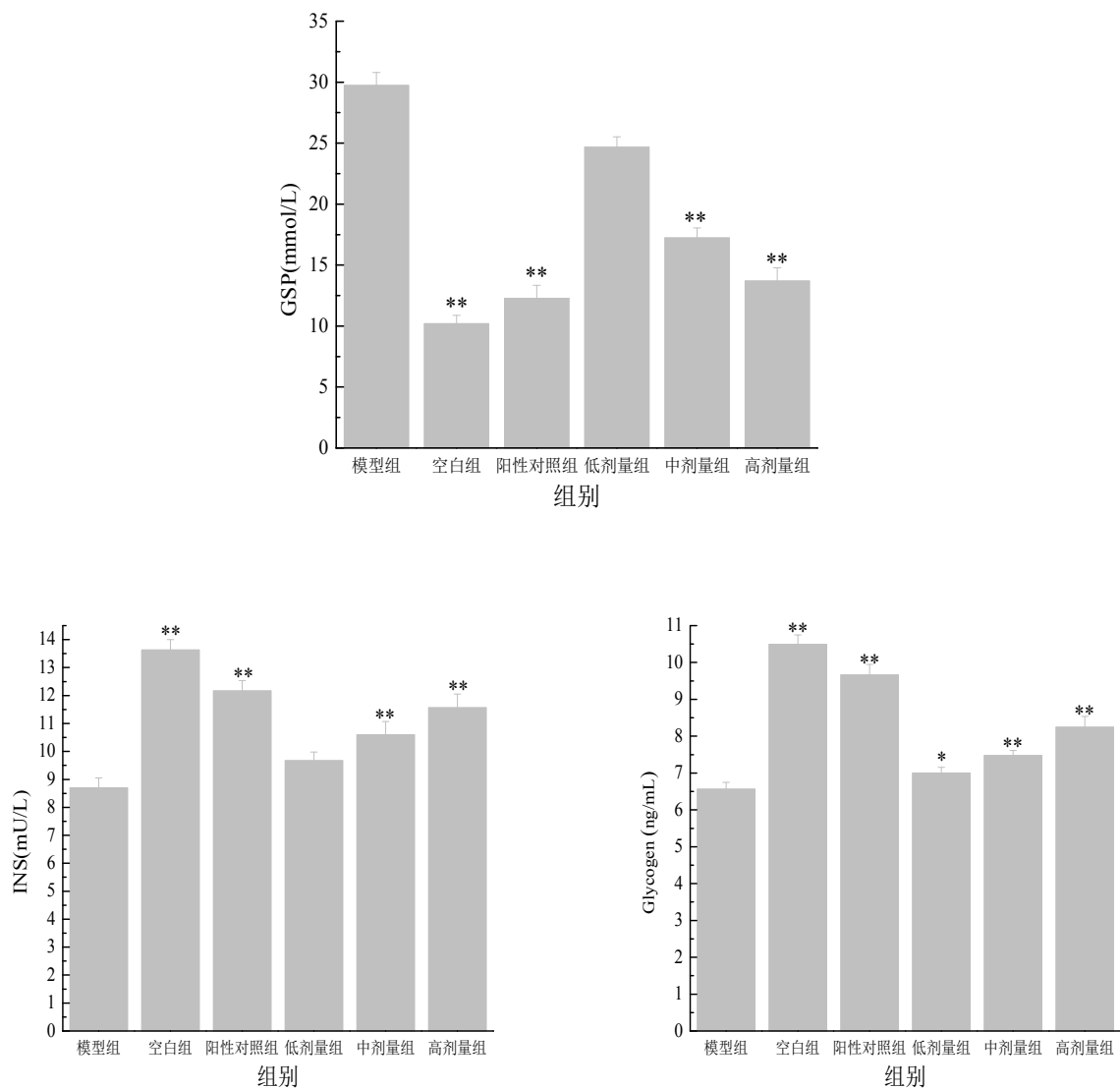


图 3-13 各组大鼠血清 GSP、INS 及 Glycogen 的含量

Fig.3-13 GSP, INS and Glycogen of serum level of Rats

3.2.5 各组大鼠胰腺组织病理形态学变化

空白组大鼠的胰腺组织结构完整，胰岛细胞紧密且形态正常，大小均一；模型组大鼠的胰腺组织损伤严重，胰岛萎缩，仅有少数胰岛细胞残留，且细胞水肿变形，细胞间隙存在出血点及炎性细胞浸润现象；与模型组比较，各剂量大豆膳食纤维大鼠胰腺组织损伤程度明显减轻，胰岛细胞数目增多，且细胞水肿变形程度改善，细胞间隙偶有炎性细胞浸润现象。表明大豆膳食纤维可改善糖尿病对大鼠胰腺的损伤情况，且高剂量组改善效果优于低剂量组。见图 3-14。

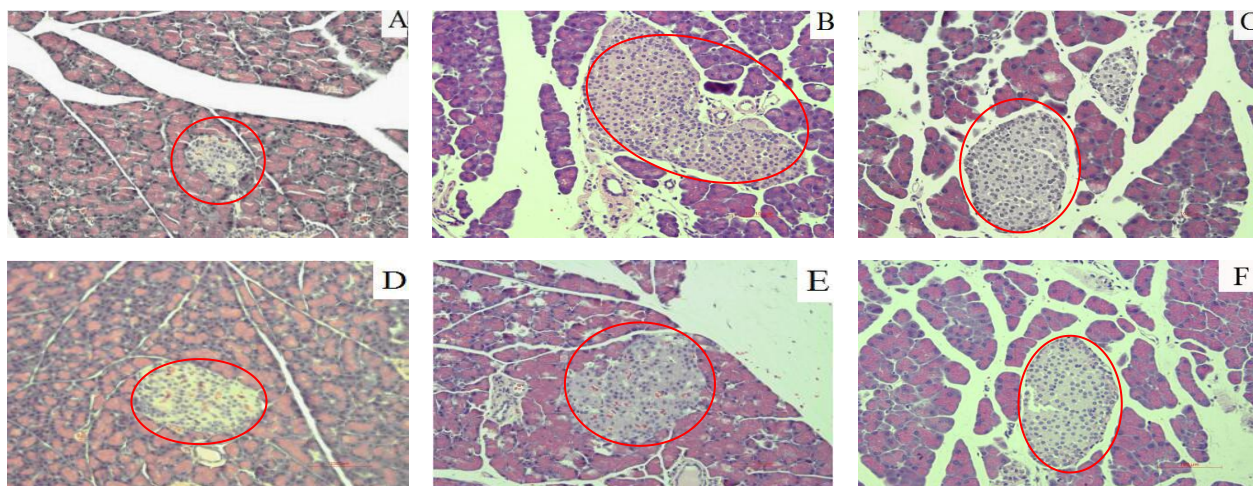


图 3-14 大鼠胰腺组织病理学观察结果 (H&E, $\times 100$)

Fig.3-14 Pancreas tissue pathology observations of Rats (H&E, $\times 100$)

注：A 为模型组；B 为空白组；C 为阳性对照组；D 为低剂量大豆膳食纤维组；E 为中剂量大豆膳食纤维组；F 为高剂量大豆膳食纤维组。

3.2.6 小结

探讨大豆膳食纤维对糖尿病模型大鼠的降血糖作用。结果显示，与模型组相比，除低剂量大豆膳食纤维组外，各灌胃组大鼠体重均较模型组升高，差异极显著 ($P < 0.01$)；低剂量大豆膳食纤维组较比模型组空腹血糖值显著下降 ($P < 0.05$)，中、高剂量大豆膳食纤维组及阳性对照组大鼠空腹血糖值均较模型组下降，差异极显著 ($P < 0.01$)；各灌胃组大鼠胰腺/体比均较模型组大鼠不同程度升高，阳性对照组及高剂量大豆膳食纤维组大鼠胰腺/体比较模型组大鼠升高显著 ($P < 0.05$)；各灌胃组大鼠血清 GSP 含量均不同程度下降，血清 INS 及 Glycogen 含量均较模型组大鼠不同程度上升，且胰腺组织病理学切片观察得知，各灌胃组大鼠胰腺组织损伤程度明显减轻，胰岛细胞数目增多，且细胞水肿变形程度减轻。综上所述，大豆膳食纤维可显著降低糖尿病大鼠空腹血糖值、血清中 GSP 含量，提高 INS、Glycogen 含量及胰腺/体比，且高剂量组改善效果优于低剂量组。

3.3 大豆膳食纤维对 2 型糖尿病模型大鼠胰腺氧化损伤修复作用

3.3.1 各组大鼠体重指标

各组大鼠体重指标如图 3-15 所示：糖尿病型大鼠建模成功后，体重指标明显下降，与空白组间存在极显著差异（ $P<0.01$ ），经灌胃不同剂量的大豆膳食纤维及格列本脲后，除低剂量大豆膳食纤维组外，各灌胃组大鼠体重均较模型组升高，差异极显著（ $P<0.01$ ）。

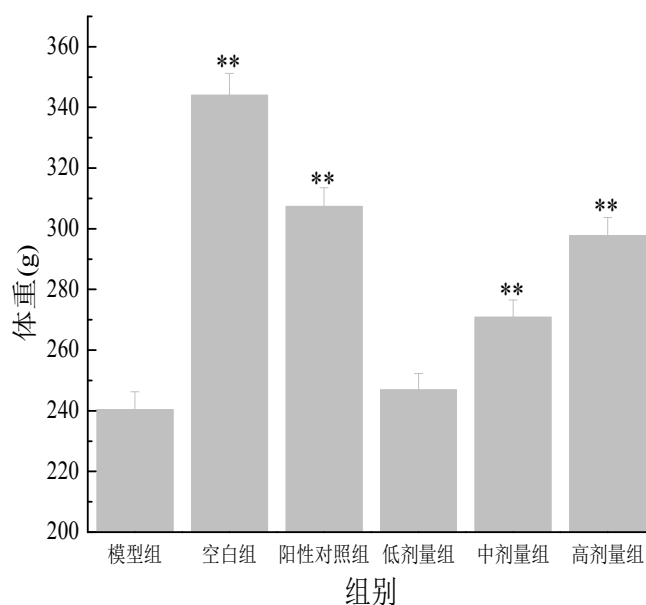


图 3-15 各组大鼠体重指标

Fig.3-15 The weight of experimental Rats

注：*与模型组相比存在显著差异（ $P<0.05$ ），**与模型组相比存在极显著差异（ $P<0.01$ ）。

3.3.2 各组大鼠胰腺脏器比

胰腺脏器比即大鼠胰腺湿重与大鼠体重的比值，可反映出糖尿病造成的大鼠胰腺组织的氧化损伤情况。实验结束后，摘取各组大鼠的胰腺称量湿重，并计算其胰腺脏器比，结果见图 3-16。模型组大鼠胰腺/体比与空白组大鼠相比显著降低（ $P<0.05$ ），灌胃结束后，与模型组相比，阳性对照组及中、高剂量大豆膳食纤维组大鼠胰腺/体比均有明显升高，差异显著（ $P<0.05$ ）。

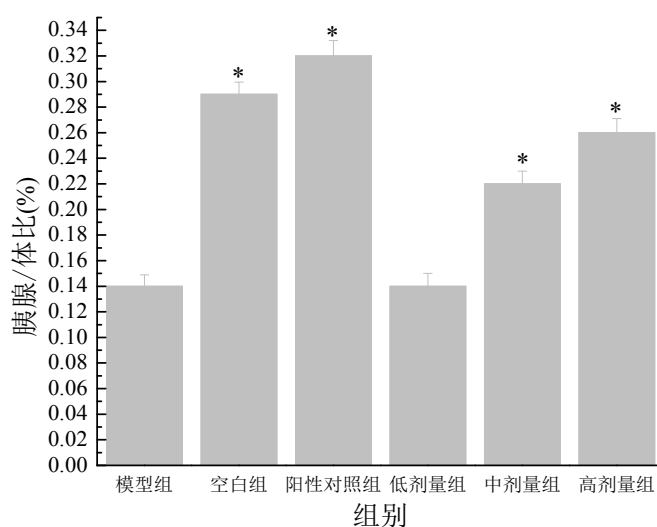
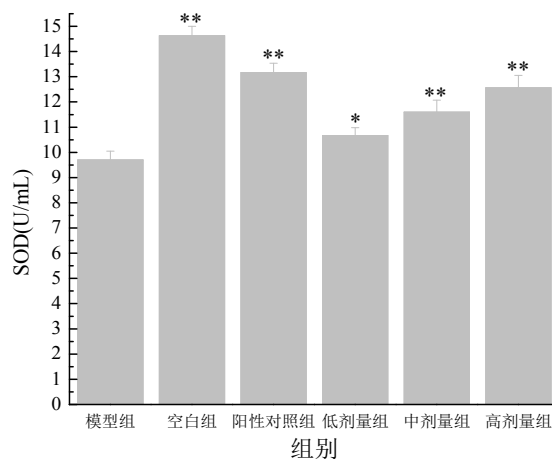


图 3-16 各组大鼠胰腺/体比

Fig.3-16 The ratio of Pancreas to weight of Rats

3.3.3 各组大鼠氧化应激指标

各组大鼠血清 GSH-Px、SOD 及 MDA 含量如图 3-16 所示：模型组大鼠较空白组大鼠血清 GSH-Px 及 SOD 含量降低，血清 MDA 含量升高，差异极显著 ($P<0.01$)。灌胃结束后，血清 SOD 含量除低剂量大豆膳食纤维组较模型组差异显著 ($P<0.05$) 外，中、高剂量大豆膳食纤维组大鼠血清 SOD 含量均较模型组大鼠上升，差异极显著 ($P<0.01$)。除低剂量大豆膳食纤维组外，阳性对照组及中、高剂量大豆膳食纤维组大鼠血清 GSH-Px 含量均较模型组大鼠上升，差异极显著 ($P<0.01$)。中、高剂量大豆膳食纤维组大鼠血清 MDA 含量均较模型组大鼠下降，差异极显著 ($P<0.01$)。



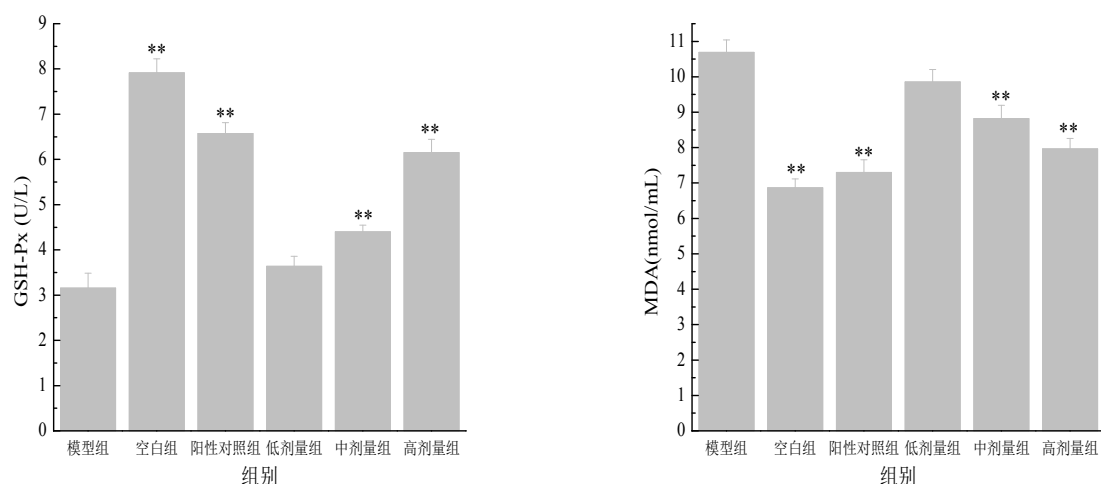
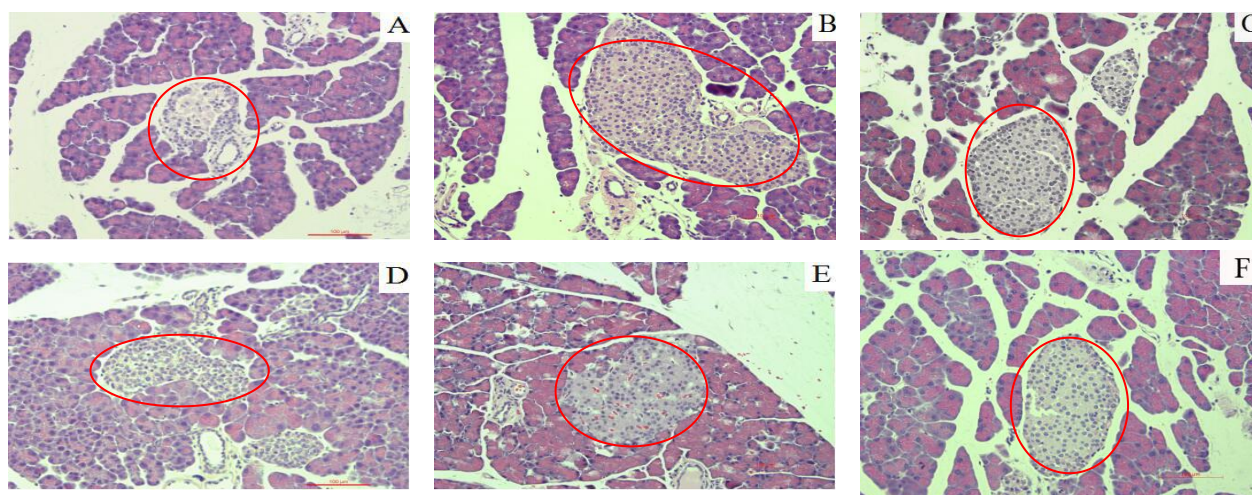


图 3-17 各组大鼠血清 SOD、GSH-Px 及 MDA 含量

Fig.3-17 SOD, GSH-Px and MDA of serum level of Rats

3.3.4 各组大鼠胰腺组织病理形态学变化

各组大鼠胰腺组织病理形态学变化如图 3-18 所示：空白组大鼠的胰腺组织结构及胰岛细胞形态正常，胰岛结构完整细胞紧密，大小均一。模型组大鼠胰腺组织受到严重损伤，胰岛结构缩小且仅有少数细胞残留，细胞间隙存在出血点及炎性细胞浸润现象；灌胃后，与模型组大鼠相比，各剂量组大鼠胰腺组织损伤程度明显减轻，胰岛细胞数目增多，胰岛结构趋于完整。结果表明，大豆膳食纤维可改善糖尿病对大鼠胰腺的损伤情况。

图 3-18 大鼠胰腺组织病理学观察结果 (H&E, $\times 100$)Fig.3-18 Pancreas tissue pathology observations of Rats (H&E, $\times 100$)

注：A 为模型组；B 为空白组；C 为阳性对照组；D 为低剂量大豆膳食纤维组；E 为中剂量大豆膳食纤维组；F 为高剂量大豆膳食纤维组。

3.3.5 小结

探究大豆膳食纤维对糖尿病造成的大鼠胰腺组织氧化损伤的修复作用。结果显示，与模型组大鼠相比，各灌胃组大鼠体重均较模型组均显著升高（ $P<0.05$ ）；各灌胃组大鼠胰腺/体比均较模型组大鼠不同程度下降，中、高剂量组大鼠胰腺/体比均较模型组大鼠显著下降（ $P<0.05$ ）；除低剂量大豆膳食纤维组外，各灌胃组大鼠血清 GSH-Px 及 SOD 含量均较模型组大鼠不同程度上升（ $P<0.01$ ），血清 MDA 含量均不同程度下降（ $P<0.01$ ），由胰腺组织切片观察得知，各灌胃组大鼠胰腺组织损伤程度明显减轻，胰岛细胞数目增多，且细胞水肿变形程度减轻。综上所述，大豆膳食纤维可显著降低血清中 MDA 含量，提高 SOD、GSH-Px 含量及胰腺/体比，有效减轻 2 型糖尿病大鼠胰腺组织损伤程度，且高剂量组改善效果优于低剂量组。

3.4 大豆膳食纤维对雌性大鼠卵巢衰老的影响作用

3.4.1 各组大鼠体重指标

各组大鼠体重指标如图 3-19 所示，灌胃结束后，模型组体重指标明显升高，与空白组间存在极显著差异 ($P<0.01$)，经灌胃给予不同剂量大豆膳食纤维及己烯雌酚后，除低剂量大豆膳食纤维组外，中、低剂量大豆膳食纤维组大鼠体重均较模型组显著下降 ($P<0.01$)，且具有一定的量效关系，高剂量的大豆膳食纤维对雌性大鼠体重指标改善效果最佳，且与己烯雌酚对于雌性大鼠体重指标的改善效果相近。

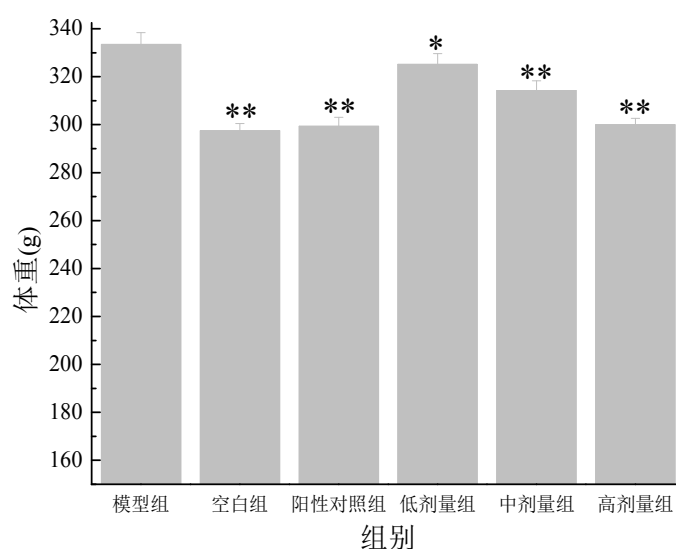


图 3-19 各组大鼠体重指标

Fig.3-19 The weight of experimental Rats

注：*与模型组相比存在显著差异 ($P<0.05$)，**与模型组相比存在极显著差异 ($P<0.01$)。

3.4.2 各组大鼠卵巢脏器比

灌胃结束后，摘取大鼠的卵巢称重，计算卵巢与体重的比值(百分比)，结果见图 3-20。模型组大鼠卵巢/体比较空白组大鼠显著下降 ($P<0.05$)，灌胃结束后，各灌胃组大鼠卵巢/体比均较模型组有不同程度升高，阳性对照组较模型组差异极显著 ($P<0.01$)，高剂量大豆膳食纤维组大鼠与模型组大鼠/卵巢体比差异极显著 ($P<0.01$)，且高剂量组大豆膳食纤维对大鼠卵巢/体比的改善效果优于低剂量组。

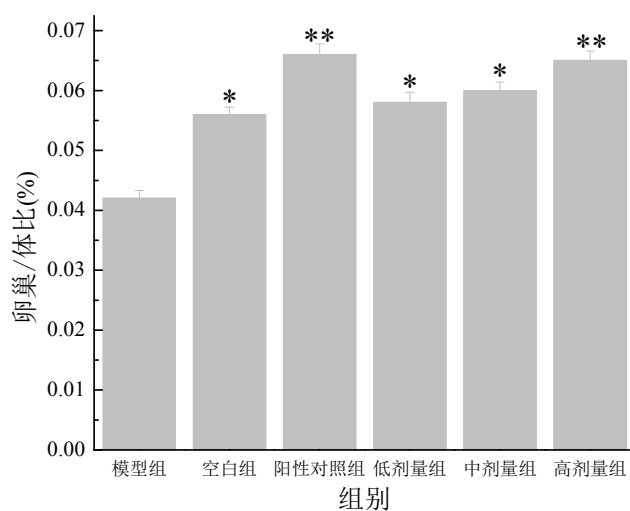
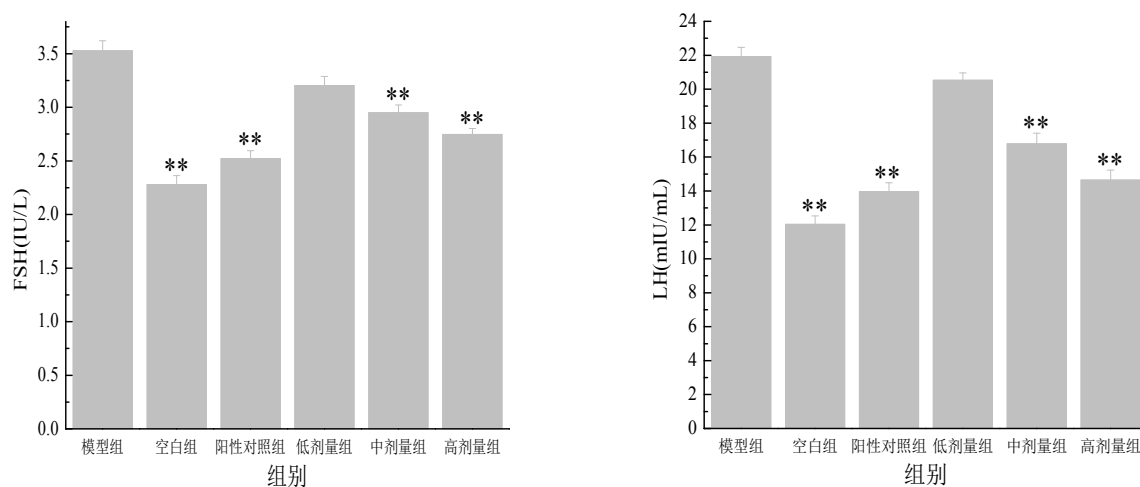


图 3-20 各组大鼠卵巢/体比

Fig.3-20 The ratio of Ovarian to weight of Rats

3.4.3 各组大鼠血清雌激素检测结果

模型组大鼠与空白组大鼠相比，血清中 FSH 及 LH 含量升高，E₂ 及 AMH 含量降低，差异极显著 ($P<0.01$)。灌胃结束后，各灌胃组大鼠血清 FSH 及 LH 含量均较模型组大鼠不同程度下降，阳性对照组及中、高剂量大豆膳食纤维组大鼠血清 FSH 及 LH 含量均较模型组大鼠下降，差异极显著 ($P<0.01$)。阳性对照组大鼠血清 E₂ 和 AMH 含量较模型组大鼠显著升高 ($P<0.01$)，高剂量大豆膳食纤维组大鼠血清 E₂ 和 AMH 含量均较模型组大鼠升高，差异极显著 ($P<0.01$)，且高剂量组升高程度优于低剂量组。结果见图 3-21。



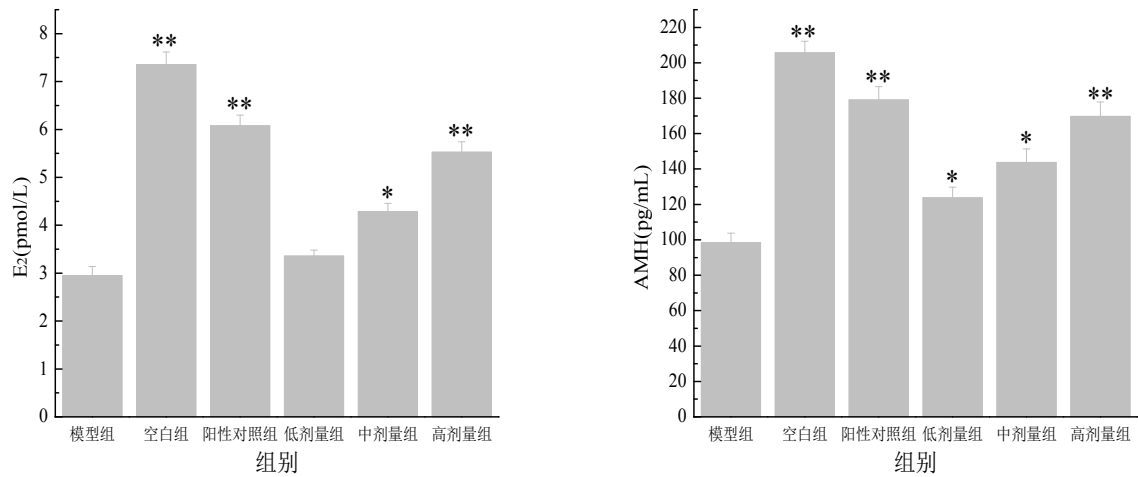


图 3-21 实验大鼠血清 FSH、LH、E₂ 及 AMH 含量

Fig.3-21 FSH, LH, E₂ and AMH of serum level of Rats

3.4.4 各组大鼠卵巢组织病理学检查结果

各组大鼠胰腺组织病理形态学变化如图 3-22 所示，空白组大鼠的卵巢发育良好，卵泡较大且形状规则。模型组大鼠的卵巢组织可见明显衰老损伤，卵泡严重缩小，卵泡内颗粒层细胞明显增多；灌胃给药后，与模型组大鼠相比，各灌胃组大鼠卵巢组织衰老损伤程度明显减轻，卵泡显著增大，且卵泡内颗粒层细胞数明显减少。卵巢病理学切片结果表明，大豆膳食纤维可改善雌性大鼠衰老造成的卵巢损伤情况，且高剂量组改善效果优于低剂量组。

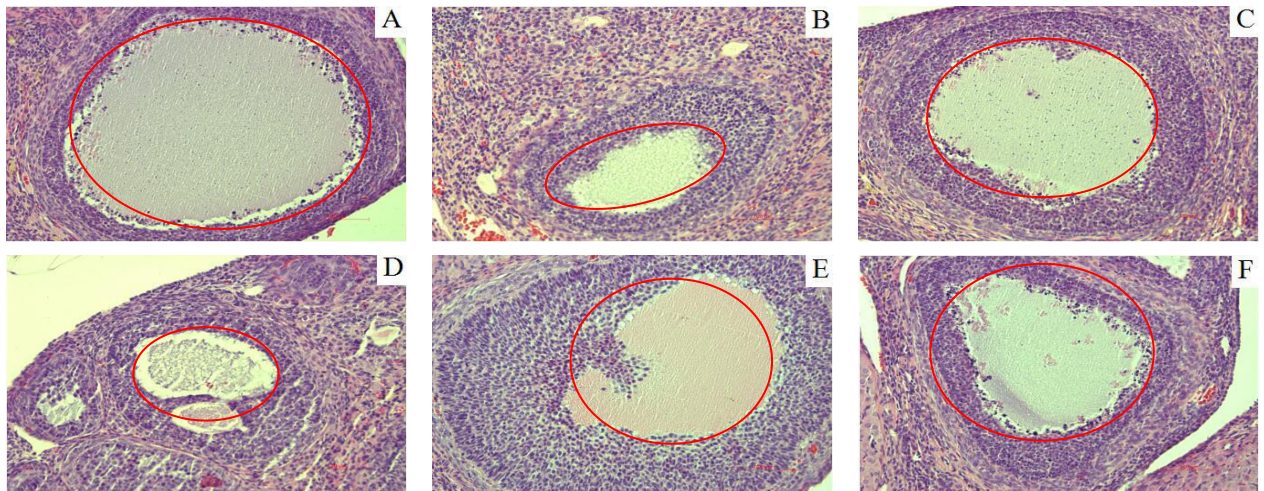


图 3-22 大鼠卵巢组织病理学观察结果 (×100)

Fig.3-22 Ovaries tissue pathology observations of Rats (×100)

3.4.5 小结

探究大豆膳食纤维对雌性大鼠卵巢衰老的延缓作用。结果显示，灌胃后，各灌胃组大鼠卵巢/体比较模型组有不同程度升高，阳性对照组较模型组差异极显著（ $P<0.01$ ），高剂量大豆膳食纤维组大鼠与模型组大鼠/卵巢体比差异极显著（ $P<0.01$ ），阳性对照组及中、高剂量大豆膳食纤维组大鼠血清 FSH 及 LH 含量均较模型组大鼠下降，差异极显著（ $P<0.01$ ），低剂量大豆膳食纤维组差异显著（ $P<0.05$ ）；阳性对照组大鼠血清 E_2 及 AMH 含量较模型组大鼠显著升高，除低剂量大豆膳食纤维组外，不同剂量大豆膳食纤维组大鼠血清 E_2 含量均较模型组大鼠升高，差异极显著（ $P<0.01$ ）。卵巢病理学切片结果表明，各灌胃组大鼠卵巢组织衰老损伤程度明显减轻，且高剂量组大豆膳食纤维对雌性大鼠衰老造成卵巢损伤的改善效果优于低剂量组。综上所述，大豆膳食纤维对雌性大鼠卵巢衰老有良好的抑制效果，可有效改善血清中雌性激素水平，降低 FSH 及 LH 含量，提高 E_2 、AMH 含量及卵巢/体比水平，修复受损卵巢组织，且其高剂量组改善衰老大鼠机体指标的能力及修复受损卵巢组织的效果优于低剂量组。

4 讨论

4.1 大豆膳食纤维对 2 型糖尿病模型大鼠降血糖作用

有研究显示,膳食纤维摄入量是 2 型糖尿病发病的重要预测因子之一^[154]。胰岛素是一种蛋白质类激素,由胰腺内的胰岛 β 细胞分泌,其功能为控制人体内糖代谢正常进行,调节平衡血糖水平^[155,156]。在 2 型糖尿病患者体内,长期高血糖水平导致胰岛 β 细胞分泌功能损坏,胰岛素不能参与正常的血糖代谢活动^[157]。膳食纤维对胰岛素的分泌具有双向的调节作用,即可避免胰岛素的过量分泌,又可防止胰岛素的分泌不足^[158]。研究证实,低血糖指数食物可降低空腹和餐后胰岛素及血糖,同时可改善胰岛素介导葡萄糖摄取,改善糖尿病患者、肥胖者胰岛素敏感性。一般而言,食物的血糖指数与其膳食纤维含量成负相关趋势,食物中膳食纤维含量越多,越不易导致人体血糖水平升高^[159]。相关研究表明,摄入膳食纤维可有效延缓和降低餐后血糖和血清胰岛素水平的升高,改善葡萄糖耐量曲线,维持餐后血糖水平的平衡与稳定^[160]。

本实验通过建立大鼠链脲佐菌素糖尿病模型,研究了大豆膳食纤维对糖尿病大鼠的影响。研究结果显示,与模型组大鼠相比,除低剂量大豆膳食纤维组外,各剂量组大鼠体重均较模型组升高,差异极显著($P<0.01$);低剂量大豆膳食纤维组较比模型组空腹血糖值显著下降($P<0.05$),中、高剂量大豆膳食纤维组及阳性对照组大鼠空腹血糖值均较模型组下降,且差异极显著($P<0.01$)。实验结果表明,大豆膳食纤维具有较好的降低糖尿病大鼠空腹血糖的效果。分析其原因可能是膳食纤维进入机体后吸水膨胀,增加胃内容物的黏度,延缓胃排空,使葡萄糖进入小肠上皮吸收细胞的速度下降,葡萄糖吸收速率被延缓,从而避免血糖骤升^[161]。

GSP 是血液中的蛋白分子结合葡萄糖产生的蛋白,能够反映短期血糖控制水平,是糖尿病检测灵敏指标之一^[162]。糖化血清蛋白水平偏高,表示糖尿病患者处于持续高血糖状态。有研究指出,肝糖原合成减少,糖异生增多以及肝脂肪合成减少、分解增多是血糖增高的主要原因之一。INS 能抑制体内葡萄糖的产生并刺激体内组织摄取葡萄糖,增加肝糖原的合成能力从而降低血糖^[163]。本实验结果显示,对糖尿病大鼠灌胃大豆膳食纤维 42 d 后,中、高剂量大豆膳食纤维组大鼠与模型组相比,血清中 GSP 含量显著降低,INS 及 Glycogen 含量显著升高($P<0.05$),且变化程度与灌胃剂量呈良好量效关系,进一步表明大豆膳食纤维具有促进糖尿病患者体内肝糖原的合成,从而降低血糖水平的能力。观察胰腺组织病

理学切片结果可知,各剂量组大鼠胰腺组织损伤程度明显减轻,胰岛细胞数目增多,细胞水肿变形程度显著改善。脏器比即大鼠脏器湿重与大鼠体重的比值,可反映出糖尿病对各脏器的损伤情况。结合大鼠胰腺/体比指标分析:各剂量组大鼠灌胃后,胰腺/体比均较模型组大鼠不同程度升高,高剂量组升高程度显著($P<0.05$)。证实了大豆膳食纤维对糖尿病大鼠的胰腺组织损伤具有修复作用,可提升其细胞活力恢复胰岛细胞感受态。

4.2 大豆膳食纤维对 2 型糖尿病模型大鼠胰腺氧化损伤修复作用

大豆制品作为人们日常生活中的常见食品,消耗量极大,而其生产加工后的大量豆渣,是难得的膳食纤维源。多糖是膳食纤维最主要的成分^[164,165],它是由一种或多种单糖分子缩合而成的一类生物大分子,广泛存在于动植物细胞的细胞膜或细胞壁中^[166]。大量研究表明,膳食纤维中的多糖组分能够有效清除和猝灭机体内多种来源的自由基,同时可提高体内超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的活性,且能够抑制并减少脂质过氧化产物丙二醛(MDA)的生成^[167,168]。

目前有相关研究结果表明,2型糖尿病患者体内氧自由基增多,导致体内葡萄糖无法充分氧化分解,进而造成胰腺氧化应激损伤,胰岛 β 细胞受损,胰岛素分泌减少^[169]。氧自由基可对细胞的细胞膜、线粒体及DNA等功能结构造成损伤,导致细胞发生突变,衰老甚至死亡^[170]。另外,机体的氧化应激损伤现象又可以直接影响胰岛 β 细胞生理活性,降低靶向细胞对胰岛素的敏感性,并诱导活性氧簇(ROS)大量积累,引起脂质过氧化,生成MDA^[171,172]。丙二醛(MDA)是随着脂质在细胞中的堆积,由酶系统或非酶系统所产生的自由基氧化产物,它含量的高低是血管内皮细胞受损程度的重要指标,含量高则受损程度大,含量低则受损程度小^[173]。本实验中的糖尿病模型大鼠灌胃42 d后,各膳食纤维剂量组大鼠血清中MDA含量均明显低于模型组大鼠,证明大豆膳食纤维能够显著降低体内MDA浓度,抑制糖尿病对胰腺的脂质过氧化损伤程度。

SOD是体内重要的抗氧化酶,能有效清除氧自由基,降低或阻止其对机体细胞和组织的损害^[174]。而GSH-Px是机体广泛存在的一种重要的催化过氧化氢分解的酶,它能特异催化还原型谷胱甘肽过氧化氢进行还原反应,清除体内低分子自由基、过氧化氢和脂质过氧化物等,进而起到保护细胞膜结构和功能完整的作用,减少氧自由基对机体细胞或组织的损伤^[175]。因此血清中SOD和GSH-Px是评价机体抗氧化应激能力的重要指标。灌胃结束后,其血清中SOD和GSH-Px的含量与模型组相比,均有显著升高,中、高剂量大豆膳食纤维组差异极显著($P<0.01$),证明大豆膳食纤维可以有效提高体内SOD和GSH-Px含量,

增强机体的自由基清除能力。Hamden 等^[176]和 Ikegami 等^[177]的相关研究表明,膳食纤维对大鼠胰腺组织具有良好的保护和修复作用。本实验中胰腺组织病理学切片观察结果显示,各大豆膳食纤维组大鼠胰腺组织胰岛细胞减少、细胞水肿变形、细胞间隙存在出血点及炎性细胞浸润等现象具有显著改善,研究结果与相关研究报道一致,证明大豆膳食纤维能够修复糖尿病造成的大鼠胰腺氧化损伤。

4.3 大豆膳食纤维对雌性大鼠卵巢衰老的影响作用

围绝经期是女性从性成熟期过渡到老年期必经的生理过程,直接表现为女性卵巢功能的衰退和减弱^[178],导致卵巢内卵泡激素分泌功能改变,FSH、LH 分泌量有代偿性增加^[179]。目前对于绝经期妇女多为激素治疗,即补充体内缺失的雌激素以改变卵巢衰老症状,然而激素替代疗法虽然临床疗效显著,但其严重的不良反应和副作用,使其应用受到一定的限制^[180]。近年来有研究表明,女性进入围绝经期后的这一系列症状与饮食有关,尤其是和膳食纤维的摄入量相关^[181],分析可能因为膳食纤维中的部分功效成分,具有与雌激素相似的化学结构或生理功能,能与雌激素受体良好结合发挥作用,在一定程度上延缓了因雌激素分泌减少而导致的卵巢衰老^[182]。

FSH 作为传统的监测衰老卵巢血清激素改变常用的指标之一,在医药保健领域作用显著。当 FSH 水平轻度升高,则可能处在卵巢功能衰退隐匿期。而 LH 会直接诱发机体排卵,促进雄激素的合成,当雄激素分泌量过多,可能会和卵泡的生长发育呈正相关诱导关系,最终影响排卵数量和质量,最终导致月经不调。对于 AMH,其具有能更早期、更准确地预测卵巢储备变化的功能的检测指示功能,有助于临床医师评估卵巢功能。该实验对模型组大鼠的血清激素水平检测结果可见,与空白组大鼠相比,模型组血清中 E₂、AMH 水平显著降低 ($P<0.01$),FSH、LH 水平显著增高 ($P<0.01$),表明成功地建立了衰老卵巢模型。用大豆膳食纤维连续灌胃 28 d 后,明显降低了模型组大鼠血清 FSH、LH 含量,对血清中 E₂ 和 AMH 含量有显著增加或者促进分泌作用,表明膳食纤维对衰老大鼠卵巢激素分泌失衡状态有明显的调节作用,为膳食纤维延缓卵巢衰老提供了理论依据和实验支撑。

女性步入围绝经期后,卵巢会出现自主性丧失器官功能的临床表征。如,正常卵泡闭锁过程加快,或卵子被各种机制破坏,导致卵泡耗竭,卵母细胞萎缩,卵巢颗粒细胞凋亡等表观变化,进而导致神经系统、循环系统、生殖系统、心血管系统等靶系统、靶器官某种程度的功能低下,出现情绪改变,免疫力低下和植物神经功能紊乱等^[183]。大量数据表明卵泡合成分泌的性激素不足是卵巢衰老的根本原因,而颗粒细胞凋亡又是卵泡闭锁的主要

机制，根据本实验中的大鼠卵巢组织病理学切片观察结果可以看出，膳食纤维剂量组的大鼠卵巢卵泡体积有不同程度增大，闭锁卵泡减少，卵泡内颗粒细胞数也有不同程度改善，且改善程度与剂量有关。结合卵巢/体比分析：灌胃给予膳食纤维后，各剂量组的卵巢/体比较模型组相比均有显著升高（ $P<0.05$ ），证实了膳食纤维对卵巢组织的改善有显著效果，与报道的原因一致。

5 结论

5.1 研究主要结论

本论文首先通过响应面设计对大豆膳食纤维的复合酶法提取工艺进行优化，并测定分析其组成成分、物化特性及微观结构，之后探究了大豆膳食纤维对 2 型糖尿病大鼠的降血糖及修复胰腺损伤效果，最后研究了大豆膳食纤维对雌性大鼠卵巢衰老的延缓作用。主要结论如下：

(1) 通过响应面分析结合实际值确定复合酶法提取大豆膳食纤维最优的工艺条件为： α -淀粉酶添加量 0.4%、 α -淀粉酶酶解时间 25 min、中性蛋白酶添加量 0.04%、中性蛋白酶酶解时间 30 min，在此条件下，膳食纤维得率达到 72.43%。

(2) 大豆膳食纤维在控制 2 型糖尿病模型大鼠空腹血糖水平、提高血清中 INS、Glycogen 含量及大鼠胰腺/体比、降低血清中 GSP 含量的方面显示了良好的作用效果。

(3) 本实验中，大豆膳食纤维可以显著提高体内 SOD 和 GSH-Px 的含量，降低脂质过氧化产物 MDA 的含量，进而增强机体的自由基清除能力，达到抑制并修复胰腺组织氧化损伤的效果。

(4) 大豆膳食纤维可有效改善大鼠血清中雌激素水平，降低 FSH 及 LH 含量，提高 E₂、AMH 含量，并修复卵巢组织因氧化衰老造成的应激损伤及功能衰退。

5.2 创新点

本实验以大豆副产物豆渣为实验原料，探究了大豆膳食纤维对 2 型糖尿病造成的胰腺氧化损伤的抗氧化及修复效果，同时对大豆膳食纤维对雌性大鼠卵巢老化及功能衰退的延缓及恢复作用，结论直观、明确，对大豆膳食纤维应用于防治糖尿病及抗衰老的研究提供了可靠的理论依据及数据支持。

5.3 展望

本文研究了大豆膳食纤维对 2 型糖尿病造成的大鼠胰腺损伤的修复作用，但由于实验任务量和时间的限制，导致本研究仍有一定的局限性，在大豆膳食纤维对 2 型糖尿病导致的其他脏器，如肝脏、肾脏等的氧化损伤的抑制与修复作用及其机制方面，还有待更进一步的深入和提高，可通过建立 2 型糖尿病肝、肾损伤动物模型的方式继续研究大豆膳食纤维

维的更多生理保健功能。

参 考 文 献

- [1] He M, Dam R M V, Rimm E, et al. Whole grain, cereal fiber, bran, and germ intake and the risks of all-cause and CVD-specific mortality among women with type 2 diabetes[J]. Circulation, 2010, 121(20): 2162-2173.
- [2] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2013 年版)[J]. 中国糖尿病杂志, 2014, 30(8): 893-942.
- [3] 赵明. 糖尿病治疗的新认识[J]. 医学研究生学报, 2012, 25(12): 1233-1237.
- [4] Abidin D, Liu L, Dou C, et al. An improved enzymatic assay for glycated serum protein[J]. Analytical Methods, 2013, 5(10): 2461-2469.
- [5] 钟惠菊. 糖尿病防治[M]. 长沙: 中南大学出版社, 2014: 1-3.
- [6] 郭海英. 口服降糖药在 2 型糖尿病中的应用分析[J]. 中国卫生产业, 2014, 11(6): 82-84.
- [7] 王旭. 糖尿病治疗与调养[M]. 北京: 人民军医出版社, 2014: 6-9.
- [8] 李艳文. 中药治疗糖尿病并发症概述[J]. 实用中医药杂志, 2011, 8(8): 573-574.
- [9] 王建华. 糖尿病自我管理[M]. 北京: 科学出版社, 2010: 5-6.
- [10] Yaturu S. Obesity and type 2 diabetes[J]. Practical Diabetes, 2011, 18(8): 263-264.
- [11] Hu F B, Malik V S. Sugar-sweetened beverages and risk of obesity and type 2 diabetes: Epidemiologic evidence[J]. Physiology & Behavior, 2010, 100(1):47-54.
- [12] Qiao Q , Nyamdorj R . Is the association of type II diabetes with waist circumference or waist-to-hip ratio stronger than that with body mass index?[J]. European Journal of Clinical Nutrition, 2010, 64(1): 30-34.
- [13] Obata Y, Yamada Y, Takahi Y, et al. Relationship between serum adiponectin levels and age in healthy subjects and patients with type 2 diabetes[J]. Clinical Endocrinology, 2013, 79(2): 204-210.
- [14] Marlise E, Hanneke J, Ron T G, et al. The Interaction of Age and Type 2 Diabetes on Executive Function and Memory in Persons Aged 35 Years or Older[J]. PLoS ONE, 2013, 8(12): 1-7.
- [15] 施齐芳, 李小妹. 糖尿病病人健康价值与生活方式的相关性研究[J]. 中华护理杂志, 2003, 38(11): 833-835.

- [16] Hu F B, Manson J A E, Stampfer M J, et al. Diet, Lifestyle, and the Risk of Type 2 Diabetes Mellitus in Women[J]. *New England Journal of Medicine*, 2001, 345(11): 790-797.
- [17] Sun P, Guo J, Xu N. Correlation between diabetic lower-extremity arterial disease and diabetic neuropathy in patients with type II diabetes: an exploratory study[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(1): 1396-1400.
- [18] 李玉梅, 于海艳, 王雪薇,等. 2 型糖尿病下肢动脉病变的超声诊断价值及相关因素分析[J]. *中国卫生标准管理*, 2016, 7(8): 164-166.
- [19] Sun P, Guo J, Xu N. Correlation between diabetic lower-extremity arterial disease and diabetic neuropathy in patients with type II diabetes: an exploratory study[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(1): 1396-1400.
- [20] Muasher J. Lower Extremity Arterial Disease[J]. *Journal of Vascular & Interventional Radiology*, 2012, 23(7): 969-969.
- [21] Liang M, Chen X, Xue F, et al. Diffusion-weighted imaging of injuries to the visual centers of the brain in patients with type 2 diabetes and retinopathy[J]. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2017, 14: 1153-1156.
- [22] Sanahuja J, Alonso, Núria, et al. Increased Burden of Cerebral Small Vessel Disease in Patients With Type 2 Diabetes and Retinopathy[J]. *Diabetes Care*, 2016, 39(9): 1614-1620.
- [23] Lei L, Xiaomei W, Limin L, et al. Prevalence of Diabetic Retinopathy in Mainland China: A Meta-Analysis[J]. *PLoS ONE*, 2012, 7(9): 1-8.
- [24] Liang M, Chen X, Xue F, et al. Diffusion-weighted imaging of injuries to the visual centers of the brain in patients with type 2 diabetes and retinopathy[J]. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2017, 14(2): 1153-1156.
- [25] Xu J, Xu L, Wang Y X, et al. Ten-Year Cumulative Incidence of Diabetic Retinopathy. The Beijing Eye Study 2001/2011[J]. *Plos One*, 2014, 9(10): 1-6.
- [26] Cheung N, Rogers S, Couper D, et al. Is diabetic retinopathy an independent risk factor for ischemic stroke[J]. *Stroke*, 2007, 38(2): 398-401.
- [27] Fried L F, Emanuele N, Zhang J H, et al. Combined Angiotensin Inhibition for the Treatment of Diabetic Nephropathy[J]. *New England Journal of Medicine*, 2013, 369(20): 1892-1903.
- [28] Fried L F, Emanuele N, Zhang J H, et al. Combined Angiotensin Inhibition for the

Treatment of Diabetic Nephropathy[J]. New England Journal of Medicine, 2013, 369(20): 1892-1903.

[29] Zoja C, Corna D, Nava V, et al. Analogs of bardoxolone methyl worsen diabetic nephropathy in rats with additional adverse effects[J]. AJP: Renal Physiology, 2013, 304(6): 808-819

[30] A. Sämann, Wolf G . Diabetic nephropathy[J]. Der Internist, 2012, 53(10): 1195-1206.

[31] Navarro G, Juan F, Mora F, et al. Inflammatory molecules and pathways in the pathogenesis of diabetic nephropathy[J]. Nature Reviews Nephrology, 2011, 7(6): 327-340.

[32] Hitman G A. Type 2 diabetes prevention[J]. Diabetic Medicine A Journal of the British Diabetic Association, 2013, 30(1): 1.

[33] 王坤锋, 张定华. 中医“治未病”理论指导糖尿病三级预防[J]. 中医临床研究, 2011, 3(24): 89-89.

[34] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2017 年版)[J]. 中国实用内科杂志, 2018, 38(04): 34-86.

[35] 孟天舒. 2 型糖尿病的危险因素及三级预防[J]. 临床医药文献电子杂志, 2018, 5(94):30-31.

[36] 赵磊, 王鑫, 姜飞, 等. 南瓜、山药、葛根和桑叶提取物复方对四氧嘧啶模型小鼠的降血糖作用[J]. 食品科学, 2018, 39(01): 149-155.

[37] 李鹏程, 朴春红, 张岚, 等. 荞麦壳黄酮提取物对 2 型糖尿病大鼠的血糖改善作用及机制[J]. 食品科学, 2017(05): 254-260.

[38] 朱科学, 聂少平, 宋丹, 等. 黑灵芝多糖对 2 型糖尿病大鼠血糖、血脂及肠系膜上动脉病变改善作用[J]. 食品科学, 2013, 34(23): 300-304.

[39] 王颖, 张桂芳, 徐炳政, 等. 葡萄籽原花青素提取物对糖尿病小鼠血糖的影响[J]. 天然产物研究与开发, 2012, 24(9): 1191-1195.

[40] Mima, Akira. Inflammation and Oxidative Stress in Diabetic Nephropathy: New Insights on Its Inhibition as New Therapeutic Targets[J]. Journal of Diabetes Research, 2013, 2013(3): 1-8.

[41] Tavafi M . Diabetic nephropathy and antioxidants.[J]. J Nephrothol, 2013, 2(1): 20-27.

[42] 王颖, 张桂芳, 赵亮, 等. 葡萄籽提取物原花青素对糖尿病小鼠的抗氧化作用[J].

中国老年学, 2014, 34(2): 433-435.

[43] 陶功华, 王莉萍, 俞筱琦, 等. α -硫辛酸对 2 型糖尿病大鼠氧化应激致胰岛细胞凋亡的影响[J]. 环境与职业医学, 2014, 31(4): 247-251.

[44] 王建勇, 杨庆雄, 黄小燕. 灯盏细辛提取物对 2 型糖尿病小鼠氧化损伤的保护作用研究[J]. 天然产物研究与开发, 2014, 26(10): 1696-1699.

[45] Goswami D, Conway G S. Premature Ovarian Failure[J]. Hormone Research, 2007, 68(4): 196-202.

[46] 朱娣. 卵巢早衰的研究进展[J]. 实用妇科内分泌杂志(电子版), 2016, 3(11): 18-19.

[47] 徐波, 王俊玲, 刘晓伟. 补肾调肝中药抗大鼠卵巢衰老作用及其机制的实验研究[J]. 医学信息(下旬刊), 2008, 21(8): 1354-1357.

[48] Bidet M, Bachelot A, Touraine P. Premature ovarian failure: predictability of intermittent ovarian function and response to ovulation induction agents[J]. Current Opinion in Obstetrics and Gynecology, 2008, 20(4): 416-420.

[49] 李茜西, 吕德欣. 卵巢早衰的病因及治疗研究进展[J]. 中国医药导报, 2014, 11(30): 165-168.

[50] The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Ovarian tissue and oocyte cryopreservation[J]. Fertility and Sterility, 2004, 82(4): 993-998.

[51] Farquhar C M, Sadler L, Harvey S A, et al. The association of hysterectomy and menopause: a prospective cohort study[J]. Journal of Family Planning & Reproductive Health Care, 2005, 112(7): 956-962.

[52] Maclaran K, Panay N. Premature ovarian failure[J]. Przegląd Menopauzalny, 2017, 37(1): 51-56.

[53] Yik M Y, Zain M M, Zakaria Z, et al. A Consanguinity Related Autosomal Translocation which Leads to Premature Ovarian Failure[J]. Journal of Clinical & Diagnostic Research Jcdr, 2013, 7(2): 355-357.

[54] Goswami D, Conway G S. Premature Ovarian Failure[J]. Hormone Research, 2007, 68(4): 196-202.

[55] Welt C K. Primary ovarian insufficiency: a more accurate term for premature ovarian failure.[J]. Clinical Endocrinology, 2010, 68(4): 499-509.

[56] Qin Y . ESR1, HK3 and BRSK1 gene variants are associated with both age at natural

menopause and premature ovarian failure[J]. Orphanet Journal of Rare Diseases, 2012, 7(5): 2-6.

[57] Simpson J L. Genetic and phenotypic heterogeneity in ovarian failure: overview of selected candidate genes[J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2010, 1135(1): 146-154.

[58] Stangel K, Zdebik A, Jach R, et al. Hormone replacement therapy regimens in chemotherapy-induced premature ovarian failure and the subsequent correction of hormone levels[J]. Neuro Endocrinol Lett, 2012, 33(7): 697-702.

[59] Shufelt C , Bairey Merz C N . Reassurance for many healthy women considering HRT[J]. BMJ, 2017, 359(11): 1-2.

[60] Chen R, Zhou H, Zhang Y. Ovarian benign clear cell adenofibroma in a patient with premature ovarian failure after 8-year hormone replacement therapy[J]. Gynecological Endocrinology, 2012, 29(3): 216-218.

[61] Slanetz P J, Grandpre L E, Yeh E D, et al. Effect of Tamoxifen on Breast Tissue Density in Premenopausal Breast Cancer[J]. Breast Journal, 2015, 10(1): 27-32.

[62] 周隽, 袁涛, 于宠. 激素替代治疗卵巢早衰患者的左心功能变化[J]. 中国实用医药, 2011, 6(35): 33-34.

[63] Perino A, Calligaro A, Forlani F, et al. Vulvo-vaginal atrophy: A new treatment modality using thermo-ablative fractional CO2 laser[J]. Maturitas, 2015, 80(3): 296-301.

[64] 陈捷, 沈宇飞. 激素补充治疗卵巢早衰的疗效观察[J]. 白求恩医学杂志, 2012, 10(2): 83-85.

[65] Elliott J, Connor M E, Lashen H. The value of outpatient hysteroscopy in diagnosing endometrial pathology in postmenopausal women with and without hormone replacement therapy[J]. Acta Obstetricia Et Gynecologica Scandinavica, 2015, 82(12): 1112-1119.

[66] 覃正文, 李灵玲. 人工周期疗法联合小剂量甲状腺素片治疗卵巢早衰患者的疗效分析[J]. 海南医学, 2011, 22(5): 89-90.

[67] 李娜. 丙酸睾酮治疗小鼠自身免疫性卵巢早衰及其机制的研究[D]. 中南大学, 2011: 71.

[68] Brahma P K, Kallen C B. Ovarian hyperstimulation after a short course of an oral contraceptive in a patient with premature ovarian failure[J]. Fertility & Sterility, 2008, 90(5): 15-17.

[69] Green K A, Zolton J R, Schermerhorn S M V, et al. Progesterone luteal support after ovulation induction and intrauterine insemination: an updated systematic review and meta-analysis[J]. Fertility and Sterility, 2017, 107(4):924-933.

[70] Donnez J, Squifflet J, Vaneyck A S, et al. Restoration of ovarian function in orthotopically transplanted cryopreserved ovarian tissue: a pilot experience[J]. Reprod Biomed Online, 2008, 16(5): 694-704.

[71] Gumus E, Kaloglu C, Sari I, et al. Effects of vitrification and transplantation on follicular development and expression of EphrinB1 and PDGFA in mouse ovaries[J]. Cryobiology, 2017, 80(11): 101-113.

[72] 徐爱玲, 李霞. 激素序贯加中药法治治疗过度减肥引起卵巢早衰 55 例分析[J]. 宁夏医学杂志, 2011, 33(12): 1207-1209.

[73] Zhang C R, Ji L D, Wei N Z, et al. Involvement of PI 3K/Akt/mTOR Signaling in Protective Effects of Moxibustion for Premature Ovarian Failure in Rats[J]. Zhen Ci Yan Jiu, 2018, 43(2): 75-79.

[74] Hipsley E H. Dietary “fibre” and pregnancy toxemia[J]. International Journal of Food Sciences & Nutrition, 1953, 7(4): 168-173.

[75] Trowell H. Crude fibre, dietary fibre and atherosclerosis[J]. Atherosclerosis, 1972, 16(1): 138-140.

[76] Devries J W, Prosky L, Li B, et al. A historical perspective on defining dietary fiber[J]. Cereal Foods World, 1999, 44: 367-369.

[77] Cho S S, Prosky L. Summary of AOAC survey on complex carbohydrates/dietary fiber[J]. Complex Carbohydrates/Dietary Fiber, 1999: 131-143.

[78] AACC. The definition of dietary fiber[J]. Cereal Food World, 2001, 46: 112-126.

[79] 薛菲, 陈燕. 膳食纤维与人类健康的研究进展[J]. 中国食品添加剂, 2014, 2: 208-213.

[80] Schneeman B O. Dietary fiber and gastrointestinal function[J]. Nutrition Research, 2010, 45(7): 129-132.

[81] Anderson J W, Baird P, Davis R H, et al. Health benefits of dietary fiber[J]. Nutrition Reviews, 2010, 67(4): 188-205.

[82] Holscher, Hannah D. Dietary fiber and prebiotics and the gastrointestinal microbiota[J].

Gut Microbes, 2017, 8(2): 172-184.

[83] 丁莉莉, 彭丽, 孔庆军. 膳食纤维与糖尿病的研究进展[J]. 医学综述, 2014, 20(7): 1265-1268.

[84] Ahmed F , Sairam S , Urooj A . In vitro hypoglycemic effects of selected dietary fiber sources[J]. Journal of Food Science and Technology, 2011, 48(3): 285-289.

[85] Lu F, Liu Y, Li B. Okara dietary fiber and hypoglycemic effect of okara foods[J]. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre, 2013, 2(2): 126-132.

[86] Jing Q, Yue L, Kingsley G M, et al. The effect of chemical treatment on the In vitro hypoglycemic properties of rice bran insoluble dietary fiber[J]. Food Hydrocolloids, 2016, 52: 699-706.

[87] 俞文. 膳食纤维对 2 型糖尿病治疗中的疗效观察[J]. 医学信息旬刊, 2010, 23(12): 153.

[88] Babiker R, Elmusharaf K, Keogh M B, et al. Effect of Gum Arabic (Acacia Senegal) supplementation on visceral adiposity index (VAI) and blood pressure in patients with type 2 diabetes mellitus as indicators of cardiovascular disease (CVD): a randomized and placebo-controlled clinical trial[J]. Lipids in Health & Disease, 2018, 17(1): 1-8.

[89] Cai X J, Wang L, Wang X L, et al. Effect of high dietary fiber low glycemic index diet on intestinal flora, blood glucose and inflammatory response in T2DM patients[J]. Biomedical Research, 2017, 28(21): 9371-9375.

[90] Wang Y, Zhou Y L, Cheng Y K, et al. Enzymo-chemical preparation, physico-chemical characterization and hypolipidemic activity of granular corn bran dietary fibre[J]. Journal of Food Science and Technology, 2015, 52(3): 1718-1723.

[91] Lee S, Park H, cho S, et al. The supplementary effects of high dietary fiber rice (suwon 464) on blood pressure and lipid metabolism in spontaneously hypertensive rats[J]. Cardiovascular Pathology, 2004, 13(3): 87.

[92] Zhou X, Lin W, Tong L, et al. Hypolipidemic effects of oat flakes and β -glucans derived from four Chinese naked oat (*Avena nuda*) cultivars in Wistar-Lewis rats[J]. Journal of the Science of Food & Agriculture, 2015, 96(2): 644-649.

[93] Wang C L, Zhang L, Zu Y G, et al. Study on the Hypolipidemic Effect of Betacyanin from Red Beet[J]. Food Industry, 2011, 32(6): 12-14.

- [94] Pan H, Yang Q, Huang G, et al. Hypolipidemic effects of chitosan and its derivatives in hyperlipidemic rats induced by a high-fat diet[J]. Food & Nutrition Research, 2016, 60(1): 1-12.
- [95] Fang C . Dietary psyllium reverses hypercholesterolemic effect of trans fatty acids in rats[J]. Nutrition Research, 2000, 20(5): 695-705.
- [96] Ruiz R B, José C, Quintela, et al. Insoluble Carob Fiber Rich in Polyphenols Lowers Total and LDL Cholesterol in Hypercholesterolemic Subjects[J]. Plant Foods for Human Nutrition, 2010, 65(1): 50-56.
- [97] Artiss J D , Brogan K , Brucal M , et al. The effects of a new soluble dietary fiber on weight gain and selected blood parameters in rats[J]. Metabolism-clinical & Experimental, 2006, 55(2):195-202.
- [98] Talawar S, Harohally N V, Ramakrishna C, et al. Development of wheat bran oil concentrates rich in bioactives with antioxidant and hypolipidemic properties[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65(45): 9838-9848.
- [99] Adrián M G, Alba G, Feras N, et al. Effects of fiber purified extract of carob fruit on fat digestion and postprandial lipemia in healthy rats[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(26): 6734-6741.
- [100] 吴洪斌, 王永刚, 郑刚, 等. 膳食纤维生理功能研究进展[J]. 中国酿造, 2012, 31(3): 13-16.
- [101] 王志宏, 薛建斌, 平晓丽, 等. 陈皮膳食纤维对亚硝酸盐的吸附作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(8): 92-95.
- [102] 施慧, 张玉, 陈磊, 等. 龙眼壳/核膳食纤维对油脂、胆固醇和胆酸钠的吸附作用[J]. 食品工业, 2015(3): 103-107.
- [103] Jiang G, Zhang L, Wang H, et al. Protective effects of a Ganoderma atrum polysaccharide against acrylamide induced oxidative damage via a mitochondria mediated intrinsic apoptotic pathway in IEC-6 cells[J]. Food & Function, 2018, 9(12): 1133-1143.
- [104] 郭丽娟. 大豆膳食纤维提取工艺研究进展[J]. 大豆科技, 2014, 3: 28-31.
- [105] 戴余军, 石会军, 李长春, 等. 菠萝皮可溶性膳食纤维碱法提取工艺的优化[J]. 湖北农业科学, 2014, 53(6): 1398-1401.
- [106] 李泽珍, 狄建兵, 李治. 红薯渣中不溶性膳食纤维提取工艺的优化[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2016, 36(9): 673-677.

- [107] 张怡, 卢俏, 刘亚明,等. 响应面法优化辣椒渣水溶性膳食纤维提取工艺的研究[J]. 中国调味品, 2016, 41(8): 71-81+86.
- [108] 张欢欢, 高飞虎, 张玲, 等. 膳食纤维提取工艺及在食品工业中的应用进展[J]. 南方农业, 2018, 12(1): 79-82.
- [109] 李建周, 陈晓华, 罗思诗. 豆渣中水不溶性膳食纤维的提取及性质研究[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(07): 39-43.
- [110] 王磊, 袁芳, 高彦祥. 响应面法优化酶法提取椪柑渣中可溶性膳食纤维工艺[J]. 中国食品学报, 2014, 14(10): 171-178.
- [111] 吴德智, 郭伟, 甘贵芳, 等. 发酵法制备葛根渣膳食纤维及其酥性饼干的研制[J]. 食品与发酵工业, 2017, 43(07): 151-156.
- [112] 李静. 黑曲霉发酵制备香蕉皮可溶性膳食纤维研究[J]. 中国食品添加剂, 2015(5): 137-141.
- [113] 宋荣珍, 位雪莲, 李啸晨, 等. 酶-化学法提取生姜渣中膳食纤维的工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(24): 20-23.
- [114] 王顺民, 汤斌, 余建斌, 等. 响应面法优化菜籽皮可溶性膳食纤维提取工艺[J]. 中国粮油学报, 2011, 26(9): 98-103.
- [115] Weng L C, Lee N J, Yeh W T, et al. Lower intake of magnesium and dietary fiber increases the incidence of type 2 diabetes in Taiwanese[J]. Journal of the Formosan Medical Association, 2012, 111(11): 651-659.
- [116] 丁莉莉, 彭丽, 孔庆军. 膳食纤维与糖尿病的研究进展[J]. 医学综述, 2014, 20(7): 1265-1268.
- [117] 毛黎静, 安春红, 张贝娜, 等. 新型糖尿病治疗药物的研究进展[J]. 中南药学, 2017, 15(1): 88-91.
- [118] Shapovalov F A, Borovaya T G, Kruglikov G G, et al. The morphology of the rat ovarian network during reproduction and aging[J]. Bulletin of Experimental Biology and Medicine, 2013, 154(6): 802-804.
- [119] Paredes A, Ricu M, Lara H. Participation of kisspeptin in the follicular development during ovarian aging in the rat[J]. Reproductive Biology, 2013, 13(3): 44-45.
- [120] Chen Z G, Luo L L, Xu J J, et al. Effects of plant polyphenols on ovarian follicular reserve in aging rats[J]. Biochemistry & Cell Biology, 2010, 88(4): 737-745.

- [121] 扈晓杰, 韩冬, 李铎. 膳食纤维的定义、分析方法和摄入现状[J]. 中国食品学报, 2011, 11(3): 133-137.
- [122] 中华人民共和国卫生部. GB 14924.3-2010 实验动物 配合饲料营养成分[S]. 北京: 中国标准出版社, 2011.
- [123] 康丽君, 寇芳, 沈蒙, 等. 响应面试验优化小米糠膳食纤维改性工艺及其结构分析[J]. 食品科学, 2017, 38(02): 258-265.
- [124] 卢忠英, 姚元勇, 陈仕学, 等. 响应面微波辅助酶法提取油茶枯水溶性膳食纤维的工艺优化[J]. 食品工业科技, 2015, 36(20): 289-292.
- [125] 王顺民, 郑锐. 正交试验优化酶法提取菜籽皮不溶性膳食纤维工艺[J]. 食品科学, 2013, 34(8): 100-103.
- [126] 中华人民共和国卫生部. GB 5009.88-2014 食品安全国家标准 食品中膳食纤维的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2015.
- [127] 中华人民共和国卫生部. GB 5009.9-2016 食品安全国家标准 食品中淀粉的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [128] 中华人民共和国卫生部. GB 5009.6-2016 食品安全国家标准 食品中脂肪的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [129] 中华人民共和国卫生部. GB 5009.3-2016 食品安全国家标准 食品中水分的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [130] 中华人民共和国卫生部. GB 5009.5-2016 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [131] 中华人民共和国卫生部. GB 5009.4-2016 食品安全国家标准 食品中灰分的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [132] Mei X, Mu T, Chen X, et al. Effect of micronization on composition and physicochemical properties of sweet potato dietary fiber[J]. Journal of the Chinese Cereals & Oils Association, 2014, 29(2): 76-81.
- [133] 李鹏冲, 李向力, 尹红娜, 等. 山楂水溶性膳食纤维提取工艺及结构研究[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(5): 118-122.
- [134] 曹龙奎, 康丽君, 寇芳, 等. 改性前后小米糠膳食纤维结构分析及体外抑制 α -葡萄糖苷酶活性[J]. 食品科学, 2018, 39(21): 46-52.
- [135] 李鹏程, 朴春红, 张岚, 等. 荞麦壳黄酮提取物对 2 型糖尿病大鼠的血糖改善作

用及机制[J]. 食品科学, 2017, 38(5): 244-250.

[136] 王颖, 王欣卉, 徐炳政, 等. 酵母源金属硫蛋白对慢性汞中毒小鼠氧化损伤的修复作用[J]. 食品科学, 2016, 37(15): 242-246.

[137] 王颖, 徐炳政, 王欣卉, 等. 酵母源金属硫蛋白对铅致肾脂质过氧化损伤的拮抗作用[J]. 中国食品学报, 2016, 16(6): 37-43.

[138] 李耀冬, 叶静, 肖美添. 复方海藻膳食纤维对糖尿病小鼠降血糖作用的研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(10): 341-345.

[139] Lindström J, Peltonen M, Eriksson J G, et al. High-fibre, low-fat diet predicts long-term weight loss and decreased type 2 diabetes risk: the Finnish Diabetes Prevention Study[J]. Diabetologia, 2006, 49(5): 912-920.

[140] 王欣卉, 王颖, 佐兆杭, 等. 酵母源金属硫蛋白对慢性汞中毒小鼠排汞及肝脏损伤修复作用[J]. 食品科学, 2017(19): 201-206.

[141] 王欣卉, 王颖, 徐炳政, 等. 酵母源金属硫蛋白排汞及对汞致肝脏及机体氧化损伤的修复作用[J]. 食品科学, 2017, 38(17): 233-237.

[142] 王颖, 王欣卉, 徐炳政, 等. 酵母源金属硫蛋白对慢性汞中毒小鼠氧化损伤的修复作用[J]. 食品科学, 2016, 37(15): 242-246.

[143] 王颖, 王欣卉, 徐炳政, 等. 芸豆芽菜多酚对 D-半乳糖致小鼠机体氧化及肾脏损伤的修复作用[J]. 食品科学, 2017(13): 225-229.

[144] Chen X J, Wu X F, Jiang S T, et al. Applying Response Surface Methodology to Optimize Extraction of Soluble Dietary Fiber from Pear Residue Using Hemicellulase[J]. Food Science, 2015, 36(6): 18-23.

[145] 王炳文, 宋巧. 马铃薯淀粉多酶法糖化工艺条件的研究[J]. 中国食品工业, 2014, (12): 64-71.

[146] 周强, 刘蒙佳. 雪梨绿茶发酵酒工艺参数优化[J]. 酿酒科技, 2015, (7): 72-78.

[147] 谷文荣. 萝卜腌渍产品加工关键技术及机理研究[D]. 河南农业大学, 2015: 35-36.

[148] 李侠, 邹基豪, 王大为. 响应面试验优化超声波-酶法提取绿豆皮黄酮类化合物工艺[J]. 食品科学, 2017(08): 214-220.

[149] 赖爱萍. 不同加工技术对甘薯膳食纤维特性的影响[D]. 浙江农林大学, 2014: 20-23.

- [150] Guo X J. Application of Response Surface Methodology in Extraction of Soluble Dietary Fiber by Ultrasonic Methods[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science & Technology, 2012, 12(3): 104-111.
- [151] 王庆玲, 朱莉, 孟春棉, 等. 番茄皮渣膳食纤维的理化性质及其结构表征[J]. 现代食品科技, 2014, 30(11): 60-64.
- [152] 龚卫华, 向卓亚, 叶发银, 等. 麻竹笋壳中木质素的理化特性[J]. 食品科学, 2017, 38(09): 66-72.
- [153] 徐灵芝, 黄亮, 李璐, 等. 雷竹笋渣及其膳食纤维的物化特性分析[J]. 中国酿造, 2016, 35(4): 122-126.
- [154] Park K. Trends in adherence to dietary recommendations among Korean type 2 diabetes mellitus patients[J]. Nutrition Research & Practice, 2015, 9(6): 658-666.
- [155] 吴雄. 百合多糖对 I 型糖尿病大鼠的降血糖作用研究[J]. 食品科学, 2014, 35(1): 209-213.
- [156] 胡松茂. 高膳食纤维抗糖尿病的作用临床研究进展[J]. 世界最新医学信息文摘, 2017, 17(19): 95.
- [157] 朱科学, 聂少平, 宋丹, 等. 黑灵芝多糖对 II 型糖尿病大鼠血糖、血脂及肠系膜上动脉病变改善作用[J]. 食品科学, 2013, 34(23): 300-304.
- [158] 于康, 柯美云, 赵维纲, 等. 可溶性膳食纤维对 2 型糖尿病患者胃排空、血糖和胰岛素的影响[J]. 中华临床营养杂志, 2013, 21(1): 3-7.
- [159] 杨建兴. 特种蔬菜的营养与抗氧化功能评价[D]. 宁夏大学, 2009: 11-12.
- [160] Kim E K, Oh T J, Kim L K, et al. Improving Effect of the Acute Administration of Dietary Fiber-Enriched Cereals on Blood Glucose Levels and Gut Hormone Secretion[J]. Journal of Korean Medical Science, 2016, 31(2): 222-230.
- [161] 王颖, 张桂芳, 常咏涵, 等. 苦瓜甙的降血糖作用[J]. 中国老年学杂志, 2012, 32(24): 5464-5466.
- [162] Zhang H F, Jiang M X, Cheng Y, et al. Effects of three kinds of dietary fiber on glucolipid metabolism and oxidative stress in lipid metabolism disorder rats[J]. Journal of Southeast University (Medical Science Edition), 2016, 35(01): 83-88.
- [163] 陆红佳, 游玉明, 刘金枝, 等. 纳米甘薯渣纤维素对糖尿病大鼠血糖及血脂水平的影响[J]. 食品科学, 2015, 36(21): 227-232.

- [164] 王颖, 张桂芳, 赵亮, 等. 葡萄籽提取物原花青素对糖尿病小鼠的抗氧化作用[J]. 中国老年学杂志, 2014, 34(2): 433-435.
- [165] 韩俊娟, 木泰华. 10 种甘薯渣及其筛分制备的膳食纤维主要成分分析[J]. 中国粮油学报, 2009, 24(1): 40-43.
- [166] 汤小明. 豆渣膳食纤维的制备及其改性研究[D]. 南昌大学, 2015: 3-4.
- [167] 王军, 王忠合, 章斌, 等. 麦麸多糖理化特性与抗氧化性分析[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(7): 18-22.
- [168] 肖安红, 陆世广. 超细大豆皮膳食纤维对糖尿病模型小鼠糖耐量的影响[J]. 食品科学, 2010, 31(21): 329-331.
- [169] Abidin D, Liu L, Dou C, et al. An improved enzymatic assay for glycated serum protein[J]. Analytical Methods, 2013, 5(10): 2461-2469.
- [170] Zhao J, Guan S, Sun S, et al. Anti-oxidation Effects Polysaccharides from HERBA SCUTELLARIAE BARBATAE[J]. Medicinal Plant, 2013(2): 48-52.
- [171] Rodriguezcapote K, TOVELL K, HOLMES D, et al. Analytical Evaluation of the Diazyme Glycated Serum Protein Assay on the Siemens ADVIA 1800: Comparison of Results Against HbA1c for Diagnosis and Management of Diabetes[J]. Journal of Diabetes Science & Technology, 2015, 9(2): 192-199.
- [172] 赵明慧, 吕春茂, 孟宪军, 等. 苹果渣水溶性膳食纤维提取及其对自由基的清除作用[J]. 食品科学, 2013, 34(22): 75-80.
- [173] Xian X U, Huang Y X, Xia L Z, et al. Effect of Pseudostellaria heterophylla polysaccharides on anti-oxidation capacity and pancreatic pathology of diabetic mouse[J]. Science & Technology of Food Industry, 2012, 33(24): 392-393.
- [174] 孟繁磊, 陈瑞战, 张敏, 等. 刺五加多糖的提取工艺及抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2010, 31(10): 168-174.
- [175] 姜苏薇, 潘利华, 徐学玲, 等. 水溶性大豆膳食纤维对高脂血症小鼠肾脏的抗氧化应激作用[J]. 食品科学, 2011, 32(19): 240-243.
- [176] Hamden K, Elfeki A. Inhibitory potential of dietary fiber on key enzymes of carbohydrate-lipid digestion and absorption in pancreas of diabetes rats[C]. Asia Pacific Congress on Controversies To Consensus in Diabetes. 2012: 103.
- [177] Ikegami S, Hosoda A, Tosen Y, et al. Effects of Viscous Dietary Fibers on Digestive

Enzymes of Pancreas and Disaccharidases of Small Intestine in Rats[J]. Journal of Japanese Association for Dietary Fiber Research, 2010, 10: 25-32.

[178] 迟晓星, 张涛, 甄井龙, 等. 金雀异黄素调节围绝经期小鼠血清抑制素与性激素水平的研究[J]. 中国食品学报, 2016, 16(7): 47-51.

[179] Vigier B, Watrin F, Magre S, et al. Effect of anti-Mullerian hormone (AMH) upon structure and germ-cell population of fetal rat ovaries. An experimental freemartin effect[J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2010, 513(1): 288-291.

[180] Jiménez E A, Gómez O E, Tenorio M D, et al. Antioxidant and prebiotic effects of dietary fiber co-travelers from sugar Kombu in healthy rats[J]. Journal of Applied Phycology, 2013, 25(2): 503-512.

[181] Zhang H, Adhikari D, Zheng W, et al. Combating ovarian aging depends on the use of existing ovarian follicles, not on putative oogonial stem cells[J]. Reproduction, 2013, 146(6): 229-233.

[182] 迟晓星, 陈容, 张涛, 等. 金雀异黄素对 PCOS 高雄血症大鼠子宫和卵巢形态学的影响[J]. 中国食品学报, 2013, 13(5): 11-16.

[183] Zhang J, Fang L, Lu Z, et al. Are sirtuins markers of ovarian aging?[J]. Gene, 2016, 575(2): 680-686.

致 谢

时光荏苒如白驹，岁月流逝似轻梭。转眼间，三年研究生生涯在此即将告一段落，值此毕业论文完成之际，谨向我的母校及帮助过我的老师和同学们表达最真诚的谢意，感恩对我的辛勤培育及无私帮助。

回望学业之路，每一点一滴的成长都无不渗透着我的导师王颖教授的心血，无论是本研究选题、设计、实验过程及学术论文的撰写，亦或专业知识的解惑及对生活中困难的帮助，导师王颖教授都给予了我耐心的指导和亲切的关怀，为我提供了良好的科研环境及阳光向上的生活氛围。导师王颖教授以其渊博的专业知识，严谨的治学态度，一丝不苟的工作作风和大胆创新的进取精神，对我产生了深远的影响，不仅使我丰富了学识，更使我明白了许多待人接物与为人处世之道。在此谨向我的导师王颖教授表示衷心的感谢。

在实验过程中，特别感谢张东杰教授、姚笛老师、迟晓星老师及张桂芳老师等多位老师均给予的无私帮助，使我克服了实验中的困难，顺利完成了实验研究以及学术论文的撰写，也感谢国家科技部“十三五”重点研发计划（2017YFD0401203）的资金资助。同时，在三年的硕士研究生生活中，我要特别感谢王欣卉师姐给我学业、实验及生活中无数次的无私帮助与支持，无论是专业技能还是待人待事，我都受益匪浅，每一次无偿的援助与教导师弟均铭记于心感恩于怀；感谢刘淑婷、宫雪、王迪、张艳莉四位师妹在我的学业及生活中的鼎力相助，让我感受到了如亲妹妹般的温暖与安心、亲切与踏实。我还要特别感谢我的室友们，感谢他们在三年的寝室生活中对我的无限包容与忍让，让我能有一个无需顾忌，释放自我的安身之地，兄弟之情无需多言，只盼江湖各自安好。在此，也要特别感谢我的同学们在我学习、实验过程中的持续帮助和在生活中每个小细节的嘘寒问暖，在此对你们表示最诚挚的谢意。

最后，感谢我的家人对我的培养以及对我的理解与信任，感谢家人默默的奉献及给予的支持，在此向我的家人表示由衷的感谢及真挚的祝福。

个人简历

个人情况

姓名:	佐兆杭	性 别:	男
民族:	汉族	出生年月:	1994 年 03 月
籍贯:	黑龙江省双鸭山市	政治面貌:	共青团员

教育背景

2012.09-2016.06 黑龙江八一农垦大学 食品学院
工学学士学位 食品质量与安全专业

2016.09-2019.06 黑龙江八一农垦大学 研究生学院
农学硕士学位 农产品加工及贮藏工程专业

科研经历

2017.05-2018.05 黑龙江八一农垦大学研究生创新科研项目(YJSCX2017-Y57) 主持人

在学期间发表论文

- (1) 佐兆杭, 王颖(通讯作者), 刘淑婷, 等. 大豆膳食纤维对糖尿病大鼠模型血糖的影响[J]. 中国生物制品学杂志, 2018, 31(09): 949-954.
- (2) 佐兆杭, 王颖(通讯作者), 宫雪, 等. 大豆膳食纤维对糖尿病大鼠胰腺氧化损伤修复作用[J]. 中国粮油学报, 2018, 33(08): 13-18.
- (3) 佐兆杭, 王颖(通讯作者), 迟晓星, 等. 杂豆膳食纤维对大鼠卵巢衰老的影响[J]. 中国食品学报, 2018, 18(01): 27-33.
- (4) 佐兆杭, 王颖(通讯作者), 刘淑婷, 等. 杂豆膳食纤维对糖尿病大鼠的降血糖作用[J]. 食品科学, 2018, 39(17): 177-181.
- (5) 佐兆杭, 王颖(通讯作者), 刘淑婷, 等. 杂豆膳食纤维对糖尿病大鼠胰腺氧化损伤的修复作用[J]. 中国生物制品学杂志, 2018, 31(08): 830-834.
- (6) 王颖, 佐兆杭, 王欣卉, 等. 芸豆芽菜多酚对氧化损伤小鼠体内抗氧化及肝脏损伤修复作用[J]. 食品科学, 2017, 38(21): 212-216.

参加学术会议

- (1) 佐兆杭, 杂豆膳食纤维的降血糖与美容养颜功能的研究. 大庆, 2017 国际杂粮生产与加工技术论坛, 2017.12.15. (会议报告)
- (2) 佐兆杭. 杂豆膳食纤维对大鼠卵巢衰老的影响[C]. 上海, 第三届中国食品科学青年论坛, 2017: 96-97. (会议论文)
- (3) 佐兆杭. 大豆膳食纤维对糖尿病大鼠胰脏氧化损伤修复作用[C]. 昆明, 2017 中国农业工程学会农产品加工及贮藏工程分会学术年会, 2017: 162-163. (会议论文)