

doi:10.3969/j.issn.2095-6002.2016.06.008

文章编号:2095-6002(2016)06-0041-05

引用格式:杨贺晴,刘宇峰,韩秋菊,等.黑蒜多酚粗提物体内抗氧化功能研究[J].食品科学技术学报,2016,34(6):41-45.



YANG Heqin, LIU Yufeng, HAN Qiuju, et al. Study on antioxidant activities of black garlic polyphenols[J]. Journal of Food Science and Technology, 2016,34(6):41-45.

黑蒜多酚粗提物体内抗氧化功能研究

杨贺晴¹, 刘宇峰^{2,*}, 韩秋菊³, 姬妍茹², 杨庆丽², 魏连会²,
董 燕², 马若波⁴, 姜德友^{1,*}

(1. 黑龙江中医药大学 基础医学院, 黑龙江 哈尔滨 150046;

2. 黑龙江省科学院大庆分院 生物新技术研究所, 黑龙江 大庆 163319;

3. 黑龙江农垦职业学院, 黑龙江 哈尔滨 150025;

4. 哈尔滨医科大学 公共卫生学院, 黑龙江 哈尔滨 150081)

摘 要: 研究黑蒜多酚体内抗氧化功能。按《保健食品检验与评价技术规范》,将 SPF 级 KM 小鼠随机分为空白对照组、模型对照组和 3 个不同剂量的黑蒜多酚量组,以 2.04, 4.10, 12.25 g/(kg·bw) 剂量连续灌胃 30 d 后,取血。并制造溴代苯油灌胃氧化损伤模型,取黑蒜受试组与模型对照组小鼠的肝脏组织。分别测定造模损伤前血液及造模损伤后肝脏组织中的过氧化脂质丙二醛含量,超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶活力和总抗氧能力活性。结果表明,随黑蒜多酚粗提物剂量增加可明显降低小鼠血清和肝脏组织中 MDA 含量,显著提高 SOD、GSH-Px、T-AOC 活力。根据“保健食品功能学评价程序和检验方法规范”判定标准,认为黑蒜多酚粗提物具有抗氧化功能。

关键词: 黑蒜多酚粗提物; 溴代苯油氧化损伤; 抗氧化; 总抗氧能力

中图分类号: TS201.3

文献标志码: A

黑蒜是近些年新兴的一种以药食植物大蒜为原料经独特的变温恒湿生物发酵加工制成的功能性食品^[1-2]。在加工过程中,大蒜的糖类、蛋白、风味物质等主要营养物质和抗氧化多酚、蒜氨酸、蒜氨酸酶等功效成分以及色泽、口感、味道、香气等各个方面都发生了规律性的显著变化,黑蒜中多酚的含量是生大蒜的 7.41 倍。因此黑蒜在药食保健功能方面也比生蒜有了大幅度地提高^[3-4]。实验证明,黑蒜是由大蒜经生物发酵技术加工获得的,且未产生任何毒性作用^[5],这为将黑蒜进一步开发成保健食品奠定了安全性基础。近年来,对黑蒜的研究,由生产技术领域已向功能性的新产品开发方面逐步深

入^[6],黑蒜在降血糖、抗氧化方面的药食功效获得了验证^[7]。但黑蒜在动物体内的抗氧化活性的研究还很欠缺,尤其是在体内如何对血液和肝脏组织内过氧化脂质丙二醛(maloric dialdehyde, MDA)含量、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)活力和总抗氧能力活性(total antioxidant capacity, T-AOC)产生影响的研究还有待加强^[8-10]。本文就黑蒜多酚粗提物对正常小鼠血液和溴代苯油灌胃氧化损伤模型造模后肝脏组织中的过氧化脂质丙二醛含量、超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶活力和总抗氧能力活性的指标影响进行了研究。以期对黑蒜

收稿日期:2016-10-09

基金项目:黑龙江省应用技术与开发计划(重大)项目(PB15F004);黑龙江省财政厅院所基本应用技术研究专项课题(CZ10G03)。

作者简介:杨贺晴,女,硕士研究生,研究方向为中医药和药食两用中药;

*刘宇峰,女,研究员,主要从事功能食品和生物制药方面的研发工作。通信作者。

*姜德友,男,教授,博士生导师,主要从事中医药和药食两用中药方面的研究和教学工作。通信作者。

所具有的强抗氧化作用提供具有统计学意义的确凿的理论研究数据,为黑蒜的功能食品产业开发提供理论支持。

1 材料和方法

1.1 实验样品

黑蒜多酚粗提物由黑龙江省科学院大庆分院提供,黑蒜粗提浸膏中黑蒜多酚的质量比为 10.826 mg/g,避光于阴凉、干燥处保存。

1.2 实验动物与实验条件

选用 SPF 级 KM 小鼠,体重 18~22 g,共 50 只,雄鼠。小鼠由辽宁长生生物技术有限公司提供,实验动物生产许可证号为 SCXK(辽)2015-0001。实验条件为屏障环境,环境温度 22~24 ℃,湿度 50%~56%。小鼠饲料由北京科澳协力饲料有限公司提供,饲料生产许可证号为 SCXK(京)2009-0012。参照 2003 版《保健食品检验与评价技术规范》关于“保健食品功能学评价程序和检验方法规范”中“功能学评价检验方法”的条件,将动物在实验室适应环境 2 d 后进行实验。

1.3 剂量实验设计

按小鼠体重随机分成 5 组,每组 10 只,一个空白对照组,一个模型对照组和 3 个黑蒜多酚粗提物剂量组。黑蒜多酚粗提物人体口服推荐量为 24.5 g/(人·日),折合剂量为 0.41 g/(kg·bw)(成人体重按 60 kg 计算)。动物实验剂量设计分别为人体推荐量的 30,10,5 倍,则高剂量组、中剂量组、低剂量组分别为 12.25,4.10,2.04 g/(kg·bw),黑蒜多酚粗提物以蒸馏水为溶剂配制,空白对照组动物给予同体积溶剂,模型对照组给予 0.3 mg/(kg·bw)溴代苯油,所有动物按 20 mL/(kg·bw)容积经口灌胃授予已配制的不同浓度的黑蒜多酚粗提物溶液及溶剂。

1.4 主要仪器与试剂

ES2000B-2 型动物秤,中国;HANGPNG JA2003 型电子天平,上海锐析仪器设备有限公司;Sunrise 型酶标仪,瑞士 TECAN 公司。丙二醛、总抗氧化能力、超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶试剂盒购自卡尔文生物科技有限公司,其他化学试剂均为国产分析纯级。

1.5 实验方法

各组动物按所设剂量每日灌胃给予黑蒜多酚

粗提物溶液,每周称重一次,调整灌胃量,连续给予 30 d,末次灌胃后眼球取血,24 h 内完成血清中总抗氧化能力、过氧化脂质降解产物丙二醛含量、超氧化物歧化酶活力测定。此后动物饥饿过夜,继续灌胃给与上述相同剂量的受试物 0.5~1 h 后,除空白对照组,各剂量组与模型对照组动物均按 0.3 mg/(kg·bw)剂量灌胃给予溴代苯油,灌胃体积按 0.2 mL/20 g,灌胃 22 h 后处死动物,取肝组织,测定肝组织中 T-AOC、MDA 含量及 SOD、GSH-Px 活力,检测方法按试剂盒说明书操作。

1.6 数据分析

用 Excel 2003 和 SPSS 17.0 软件建立数据库并进行统计分析,各组间计量资料采用单因素方差分析进行总体比较,如果有统计学差异则用 LSD 法进行组间两两比较, $p < 0.05$ 时视为有统计学意义。

2 实验结果

2.1 黑蒜多酚粗提物对小鼠血清的影响

2.1.1 对小鼠血清总抗氧化能力的影响

灌胃给予黑蒜多酚粗提物小鼠 30 d 后,各受验动物组与空白对照组比较,血清中总抗氧化能力结果见表 1。

表 1 黑蒜多酚粗提物对小鼠血清中 T-AOC 的影响
Tab.1 Effect of black garlic polyphenols on serum T-AOC of mice

组别	剂量/ (g·(kg·bw) ⁻¹)	动物量/ 只	T-AOC/ (U·mL ⁻¹)
低剂量	2.04	10	13.026 ± 0.736 *
中剂量	4.10	10	14.623 ± 0.775 *
高剂量	12.25	10	18.095 ± 2.023 *
空白对照	-	10	11.421 ± 0.775

* 与空白对照组比较,差异均具有显著性意义($p < 0.01$)

从表 1 结果可见,黑蒜多酚粗提物均能够显著提高受试各剂量组小鼠血清的 T-AOC。

2.1.2 对小鼠血清抗氧化活性的影响

灌胃给予黑蒜多酚粗提物小鼠 30 d 后,各受验动物组与空白对照组比较,血清中过氧化脂质降解产物 MDA 的含量见表 2,SOD 和 GSH-Px 活性结果见表 3。

从表 2 结果可见,黑蒜多酚粗提物能够显著降低受试中、高剂量组小鼠血清中丙二醛的含量。

表 2 黑蒜多酚粗提物对小鼠血清中 MDA 的影响

Tab.2 Effect of black garlic polyphenols on serum MDA content of mice

组别	剂量/ (g·(kg·bw) ⁻¹)	动物量/ 只	c(MDA)/ (nmol·mL ⁻¹)
低剂量	2.04	10	5.291 ± 0.465
中剂量	4.10	10	4.508 ± 0.475 *
高剂量	12.25	10	3.968 ± 0.561 *
空白对照	-	10	5.753 ± 0.610

* 与空白对照组比较,差异均具有显著性意义($p < 0.01$)

表 3 黑蒜多酚粗提物对小鼠血清中 SOD 和 GSH-Px 活性的影响

Tab.3 Effect of black garlic polyphenols on serum SOD and GSH-Px activities of mice

组别	剂量/(g·(kg·bw) ⁻¹)	动物量/只	SOD 活性/(U·mL ⁻¹)	GSH-Px 活性/(U·mL ⁻¹)
低剂量	2.04	10	114.279 ± 8.201	174.903 ± 6.585 *
中剂量	4.10	10	136.776 ± 17.271 *	195.203 ± 12.597 *
高剂量	12.25	10	144.639 ± 16.720 *	220.880 ± 22.214 *
空白对照	-	10	103.021 ± 8.030	161.201 ± 6.008

* 与空白对照组比较,差异均具有显著性意义($p < 0.01$)

表 4 黑蒜多酚粗提物对小鼠肝组织中 T-AOC 的影响

Tab.4 Effect of black garlic polyphenols on hepatic T-AOC of mice

组别	剂量/ (g·(kg·bw) ⁻¹)	动物量/ 只	T-AOC/ (U·mL ⁻¹)
低剂量	2.04	10	12.996 ± 0.716 *
中剂量	4.10	10	14.926 ± 0.889 *
高剂量	12.25	10	17.295 ± 1.667 *
模型对照	0.3 × 10 ⁻³	10	10.985 ± 0.577

* 与空白对照组比较,差异均具有显著性意义($p < 0.01$)

从表 4 结果可见,黑蒜多酚粗提物均能显著提高各受试剂量组小鼠肝组织的 T-AOC。

2.2.2 对小鼠肝组织抗氧化活性的影响

灌胃给予黑蒜多酚粗提物小鼠 30 d 后,各受试

从表 3 结果可见,黑蒜多酚粗提物能够显著提升受试中、高剂量组小鼠血清中 SOD 的活性、且黑蒜多酚粗提物亦能显著提升受试各剂量组小鼠血清中 GSH-Px 的活性。

2.2 黑蒜多酚粗提物对小鼠肝组织的影响

2.2.1 对小鼠肝组织总抗氧化能力的影响

灌胃给予黑蒜多酚粗提物小鼠 30 d 后,各受试剂量组与模型对照组比较,肝组织中总抗氧化能力(T-AOC)结果见表 4。

剂量组与模型对照组比较,肝组织中过氧化脂质降解产物 MDA 的含量见表 5,SOD 和 GSH-Px 活性结果见表 6。

表 5 黑蒜多酚粗提物对小鼠肝组织中 MDA 的影响

Tab.5 Effect of black garlic polyphenols on hepatic MDA content of mice

组别	剂量/ (g·(kg·bw) ⁻¹)	动物量/ 只	c(MDA)/ (nmol·mL ⁻¹)
低剂量	2.04	10	14.238 ± 1.151 *
中剂量	4.10	10	13.960 ± 0.999 *
高剂量	12.25	10	11.570 ± 1.466 *
模型对照组	0.3 × 10 ⁻³	10	18.614 ± 0.878

* 与空白对照组比较,差异均具有显著性意义($p < 0.01$)

从表 5 结果可见,黑蒜多酚粗提物均能显著降低各受试剂量组小鼠肝组织中 MDA 的含量。

表 6 黑蒜多酚粗提物对小鼠肝组织中 SOD 和 GSH-Px 活性的影响

Tab.6 Effect of black garlic polyphenols on hepatic SOD and GSH-Px activities of mice

组别	剂量/(g·(kg·bw) ⁻¹)	动物量/只	SOD 活性/(U·mL ⁻¹)	GSH-Px 活性/(U·mL ⁻¹)
低剂量	2.04	10	157.453 ± 8.220 *	145.029 ± 7.050 *
中剂量	4.10	10	185.992 ± 5.300 *	160.819 ± 10.610 *
高剂量	12.25	10	211.790 ± 10.190 *	190.123 ± 12.686 *
模型对照	0.3 × 10 ⁻³	10	122.019 ± 9.409	117.699 ± 5.831

* 与空白对照组比较,差异均具有显著性意义($p < 0.01$)

从表 6 结果可见,黑蒜多酚粗提物均能够显著提升各受试剂量组小鼠肝组织中 SOD 和 GSH-Px 的活性。

3 讨论与结论

实验结果显示各组受试小鼠血清和肝组织中过氧化脂质降解产物 MDA 的含量,随着黑蒜多酚粗提物剂量的增加而明显降低,同时血清中 SOD 和 GSH-Px 活性随着剂量的增加而显著增加,亦可显著提高各组受试小鼠血清和肝组织中总抗氧化活性 T-AOC,并均具有统计学意义。根据 2003 版《保健食品检验与评价技术规范》关于“保健食品功能学评价程序和检验方法规范”中抗氧化功能实验结果判定标准,可认为黑蒜多酚粗提物具有抗氧化功能。人体衰老的根本原因就是被蛋白质羟自由基诱导氧化和活性氧对蛋白质的直接损伤作用^[11]。因此提高了人体的抵抗被氧化损伤的能力,就是掌控了延缓衰老的节奏。

黑蒜这种新产品的出现,以其独特的黑蒜多酚抗氧化物质,为我们人体抵抗被氧化、预防衰老、防病保健提供了一种新选择^[12]。2016 年卢福芝等^[13]对黑蒜发酵过程中总酚含量变化及提取工艺进行了研究。同年,本项目组魏连会等^[14]又对黑蒜多酚的纯化及组分进行了更加细致深入的分析研究,进一步明确黑蒜起到抗氧化作用的主要多酚物质为没食子酸、根皮苷及阿魏酸等,这在多酚单体功效成分的研究层面上深深地迈出了一大步,也为黑蒜保健食品明确功效物质的基础理论研究水平的提高做出了努力。通过本文对黑蒜在体内血液和肝脏在对 MDA、SOD、GSH-Px、T-AOC 的抗氧化功效的有益影响研究,及 SOD、GSH-Px 在抗氧化损伤、抗炎、影响肿瘤凋亡等在医疗保健领域已突显出的作用^[15-18],将会对黑蒜在食品和医药方面的广泛开发应用起到推动作用,继而还会对其他健康食材的抗氧化保健作用的研究、甚至中草药的有效成分的功效评价的研究起到借鉴的积极作用。

参考文献:

- [1] 刘宇峰,孙宇峰,姬妍茹,等. 黑蒜的药食功能研究[J]. 中国调味品,2015(9):125-129.
- [2] 周道根,龚千锋,陈泣. 大蒜的研究进展[J]. 食品与药品,2006(8):21-24.
- [3] 刘宇峰,姬妍茹,石杰,等. 黑蒜加工过程中主要营养物质的变化规律的研究[J]. 中国调味品,2014(9):52-56.
- [4] 姬妍茹,石杰,刘宇峰,等. 黑蒜生产过程中主要营养成分变化分析及工艺优化[J]. 食品工业科技,2015,36(5):360-364.
- JI Y R, DAN J, LIU Y F, et al. Changes analysis of main nutritional components in the production process of black garlic and process optimization[J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(5):360-364.
- [5] 王月明,刘宇峰,马若波,等. 黑蒜经口急性毒性试验研究[J]. 黑龙江科学,2015(9):8-9.
- [6] 刘宇峰,郭春景,杨庆丽,等. 黑蒜对链脲佐菌素糖尿病大鼠的降血糖研究[J]. 实验动物科学,2015(3):23-26.
- [7] 刘宇峰,马若波,郭春景. 黑蒜对实验性糖尿病大鼠的降血糖作用的研究[J]. 中国伤残医学,2016(7):21-23.
- [8] 赵克然. 氧自由基与临床[M]. 北京:中国医药科技出版社,2000.
- [9] 夏世钧. 分子毒理学基础[M]. 武汉:湖北科学技术出版社,2001.
- [10] SIMEONOVA R, KONDEVA-BURDINA M, VITCHEVA V, et al. Some *in vitro/in vivo* chemically-induced experimental models of liver oxidative stress in rats[J]. BioMed Research International, 2014(1):65-70.
- [11] 章银良,杨慧,安巧云. 羟自由基诱导蛋白质氧化损伤的研究[J]. 食品与生物技术学报,2012,31(3):313-318.
- [12] 祝炳俏,吴海歌,刘媛媛,等. 黑蒜多酚粗提物抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发,2008,29(10):58-60.
- [13] 卢福芝,何海燕,李启虔,等. 黑蒜发酵过程中总酚含量变化及提取工艺的研究[J]. 食品科技,2016(2):250-254.
- [14] 魏连会,姬妍茹,刘宇峰,等. 黑蒜多酚的纯化及组分分析[J]. 中国调味品,2016(9):53-56.
- [15] 孟宇竹,雷昌贵,王霞,等. SOD 抗氧化作用及其在食品工业中的应用[J]. 中国食品添加剂,2009(1):134-137.
- [16] 胡平,吴耿伟,夏青,等. SOD 模拟及其抗氧化和抗炎功能的研究进展[J]. 化学进展,2009(5):873-879.
- [17] 刘永彪,刘颖,赵杰,等. SOD 对肿瘤细胞凋亡影响和抗氧化损伤的研究: I. SOD 与 DDP、ADM、VP16 合用对肿瘤细胞凋亡的影响[J]. 辐射研究与辐射工艺学报,2004(2):114-122.
- [18] 刘永彪,刘颖,赵杰,等. SOD 对肿瘤细胞凋亡影响和抗氧化损伤的研究: IV. SOD 对荷瘤小鼠正常组织氧化损伤的保护效应[J]. 辐射研究与辐射工艺学报,2004(5):297-302.

Study on Antioxidant Activities of Black Garlic Polyphenols

YANG Heqing¹, LIU Yufeng^{2,*}, HAN Qiuju³, JI Yanru², YANG Qingli², WEI Lianhui²,
DONG Yan², MA Ruobo⁴, JIANG Deyou^{1,*}

(1. School of Basic Medical Sciences, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150046, China;

2. Daqing Branch of Heilongjiang Academy of Sciences, Daqing 163319, China;

3. Heilongjiang Nongken Vocational College, Harbin 150025, China;

4. College of Public Health, Harbin Medical University, Harbin 150081, China)

Abstract: This study investigated the antioxidant activities of polyphenols in black garlic. According to “health food inspection and evaluation of technical specifications”, SPF grade KM mice were randomly divided into the blank control group, model control group and black garlic polyphenols groups. The mice in the garlic polyphenols groups were treated at a dosage of 2.04, 4.10, and 12.25 g/(kg·bw) for 30 days. The gastric oxidative damage was induced by bromobenzene oil. The liver tissues of mice in the control group and black garlic polyphenols treated groups were taken. The MDA contents, superoxide dismutase (SOD) activities, glutathione peroxidase (GSH-Px) activities, and total antioxidant capacity (T-AOC) in liver and serum were investigated. The results showed that the contents of MDA in serum and liver tissue of mice significantly decreased, and the activity of SOD, GSH-Px and T-AOC significantly increased with the increase of the crude extract. According to the standard of health food functional evaluation procedure and test method standard, it is concluded that the crude extract of black garlic has the function of antioxidation.

Key words: black garlic polyphenols crude extract; oxidative damage induced by bromobenzene oil; antioxidant; total antioxidant capacity

(责任编辑:李 宁)

(上接第40页)

Inhibitory Effect on α -Glucosidase Activity of Polyphenol from Red-skin of Lotus Seed

GAO Hang¹, SHAN Xueyu¹, GAO Yanfen², XU Hong^{1,*}

(1. Beijing Engineering and Technology Research Center of Food Additives/Beijing Advanced Innovation Center for Food Nutrition and Human Health, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China;

2. Shenzhen Space Food Analysis and Test Center Limited Company, Shenzhen 518040, China)

Abstract: The aim of the research was to discuss the inhibitory effect of polyphenol from lotus seed red-skin on α -glucosidase activity. It was designed to measure the α -glucosidase activity in different conditions using spectrophotometry. With the inhibitory effect on α -glucosidase activity as the index, the inhibitory conditions were optimized by the $L_9(3^4)$ orthogonal optimization method. The results revealed that the optimal inhibition rate was $67.99\% \pm 1.79\%$ at pH 6.8, 1.50 g/L of polyphenol concentration and 20 min of reaction time. In addition, polyphenol was an anti-competitive inhibition type of inhibitor on α -glucosidase, and its inhibition constant was 0.24 g/L.

Key words: polyphenol from lotus seed red-skin; α -glucosidase; activity inhibition; inhibitor type

(责任编辑:叶红波)