

食醋对催老小鼠抗氧化活性的影响

徐清萍, 陶文沂*, 敖宗华

(江南大学 工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214036)

摘要: 目的: 研究恒顺香醋对小鼠的抗氧化作用。方法: 恒顺香醋浓缩为原体积的 1/3, pH 调至 6~7, 测定其中抗氧化活性成分总酚含量、总黄酮含量。小鼠分为 5 组, 正常对照组和衰老模型对照组用生理盐水灌胃, 给药组用浓缩醋分别以 1.2、0.6、0.3g/kg·d 的剂量灌胃, 连续灌胃 35d。测定小鼠血浆 MDA 含量, SOD、GSH-Px 活性, 以及肝指数、脾指数等指标。结果: 1.2g/kg·d 恒顺香醋组可显著降低血浆 MDA 水平, 增强 SOD、GSH-Px 的活性, 同时可显著抑制注射 D-半乳糖引起小鼠肝指数的降低, 对脾指数的降低也有一定的抑制作用。0.6g/kg·d 香醋组可显著抑制注射 D-半乳糖引起的 GSH-Px/LPO 比值的降低。结论: 恒顺香醋对小鼠有一定的抗氧化作用。

关键词: 食醋; 抗氧化; 小鼠; D-半乳糖

Antioxidation Effects of Vinegar on Ageing Accelerating Model Mice

XU Qing-ping, TAO Wen-yi*, AO Zong-hua

(The Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education,
Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract: Objective: Antioxidation activities of vinegar in ageing-accelerating model mice were studied in this paper. Methods: Hengshun vinegar were concentrated to 1/3 of initial volume, and neutralized to pH 6~7 or so. Amount of total phenolic compounds and total flavones in vinegar were determined. Mice (2 months age) were divided into five groups: ageing accelerating model and young control group, while the control group was gavage instilled normal saline. Vinegar groups were instilled 1.2, 0.6, 0.3g/kg·d for 35 days respectively. MDA, SOD and GSH-Px of mice plasma were measured and liver index and spleen index were determined. Results: Hengshun vinegar (1.2g/kg·d) could reduce the level of MDA, and increase the activities of SOD and GSH-Px. Hengshun vinegar may inhibit the reduction of liver index and spleen index. Hengshun aromatic vinegar (0.6g/kg·d) might inhibit the reduction of GSH-Px/LPO ratio caused by instilling D-galactose. Conclusion: Hengshun vinegar has shown antioxidation activities.

Key words: vinegar; antioxidation activity; mice; D-galactose

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)12-0205-04

现代研究表明食醋具有缓解疲劳、调节血糖、脂质代谢、抗氧化、促进食欲等作用^[1,2]。目前已有更多关于食品抗氧化的研究, 但关于食醋的研究很少, 关于食醋活性成分的研究很少。日本对日本黑醋的研究表明黑醋具有自由基清除活性, 对人低密度脂蛋白具有抗氧化作用^[3,4], Yumi Shimoji 等从中分离出两种主要的 DPPH 自由基清除活性成分—二氢阿魏酸和二氢芥子酸^[5]。我们对国产食醋—恒顺香醋的抗氧化性进行研究, 结果表明其具有抗氧化性。DPPH 自由基清除活性较高的部位为乙醇沉淀上清液^[6]。初步定性实验表明其中含有

酚类、黄酮、氨基酸、具有还原性的化合物。近年研究证实, 抗氧化剂无论在体内还是在体外实验均有很强的清除自由基作用, 在癌症、心血管病的发生中均具有重要的生理及药理作用。在崇尚自然、回归自然的要求下, 天然抗氧化剂的研究取得了很大的进展。而且天然抗氧化剂已从单纯作为油脂和含脂食品的抗氧化剂, 发展到作为体内氧自由基的清除剂, 以达到保护人体细胞组织, 保护心脑血管循环系统、抗癌及延缓衰老等生理作用。

在本文我们对恒顺香醋的总酚含量、总黄酮含量进

收稿日期: 2004-09-17

*通讯作者

作者简介: 徐清萍(1975-), 女, 博士研究生, 研究方向为生物制药。

行测定,并以雄性昆明种小鼠为实验对象,每日颈背部皮下注射D-半乳糖100mg/kg,造成拟衰老模型,用于检测恒顺香醋的体内抗氧化功能。

1 材料与方法

1.1 材料

恒顺香醋样品由镇江恒顺香醋厂提供。将恒顺香醋60℃真空浓缩至原体积的1/3,NaOH调节pH至pH6~7左右。

1.2 实验仪器与试剂

芦丁、D-半乳糖 上海试剂二厂产品;丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)测试盒 南京建成生物工程研究所。

1.3 总酚含量的测定^[7]

取200 μl样品,依次加1.0ml Folin-Ciocalteu 试剂(稀释10倍后),1.0ml 7.5% Na₂CO₃溶液,蒸馏水定容至5ml,室温下静置30min,0.5cm光径比色杯765nm比色测定,试剂空白为参比。总酚含量以没食子酸等价物(μg)表示,根据没食子酸标准曲线回归方程来求样品中总酚含量。

1.4 总黄酮含量的测定^[8]

采用NaNO₂-Al(NO₃)₃-NaOH显色体系吸光度法测定总黄酮的含量。精密吸取一定量样品溶液置于10ml比色管中,加30%乙醇至2.5ml,加5% NaNO₂溶液0.14ml,摇匀后放置5min,加10% Al(NO₃)₃溶液0.14ml,放置6min后再用30%乙醇定容至5ml,摇匀,放置10min,以相应试剂作空白,于500nm处测定吸光度。总黄酮含量以芦丁等价物表示。

1.5 动物实验

1.5.1 昆明种小鼠衰老模型的建造

昆明品系2月龄雄性小鼠体重(27.0±2.3g),河南省实验动物中心提供,合格证号:医动字第410115号。将昆明种雄性小鼠适应性饲养一周,然后随机分为正常(青龄)对照组(10只)和建造模型组(4组,共40只)。按文献报道的方法建立亚急性衰老模型^[9]:即按100mg/kg体质量每日颈背部皮下注射D-半乳糖(新鲜配制),0.1ml/10g体质量,连续45d。每5d称一次体重,根据体重调节给药量。青龄对照组每天颈背部皮下注射等量生理盐水。

1.5.2 实验小鼠给药治疗

将40只衰老模型组小鼠在颈背部皮下注射D-半乳糖10d后,分为衰老模型组,香醋处理组HV1组、HV2组、HV3组。3个香醋处理组HV1、HV2、HV3,分别按1.2、0.6、0.3g/kg·d体重3种剂量灌胃,每日一次,连续35d。青龄对照组和衰老模型组以等量生理盐水灌胃。

1.6 实验方法

1.6.1 动物处理

实验小鼠于末次给药停药2d后,断食16h。称体重,眼眶取血,肝素抗凝,分离血浆立即进行指标检测,同时迅速取出肝、脾,称重。

1.6.2 指标测定

丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的测定按试剂盒说明进行。

脏器指数=脏器重(g)÷体重(g)×100

1.6.3 数据处理 实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,根据对各组样本正态性检验和方差齐性检验结果,样本均数两两比较采用q检验统计处理。

2 结果与分析

2.1 没食子酸标准曲线

根据没食子酸样品的含量与A₇₆₅值可绘标准曲线。根据没食子酸标准曲线线性方程 $A=0.0077C+0.0105$, $R^2=0.9994$ 来计算总酚含量,其中A为吸光度,C为没食子酸等价物(μg)。

2.2 芦丁标准曲线

根据标准芦丁样品的含量与A₅₀₀值可绘标准曲线。根据芦丁标准曲线线性方程 $A=2.7585C+0.0094$, $R^2=0.9994$ 来计算总黄酮含量,其中A为吸光度,C为芦丁等价物(mg)。

2.3 醋样中的总酚含量、总黄酮含量

测定样品醋中总酚含量为4.18mg/ml,总黄酮含量为1.10mg/ml。用于动物试验的浓缩醋样总酚含量12.54mg/ml,总黄酮含量3.30mg/ml。

2.4 恒顺香醋对衰老模型小鼠肝、脾指数的影响

与正常组比较,衰老模型组小鼠肝指数、脾指数降低,而造模10d后开始灌服香醋1.2、0.6、0.3g/kg·d,可抑制脾指数的降低、显著抑制肝指数的降低(表1)。脏器指数是脏器重占体重的百分数。由于过量注射D-半乳糖引起糖代谢紊乱,使机体过氧化反应增强,产生大量自由基损害了肝脏,使肝指数发生了明显变化。模型对照组的肝指数显著低于青龄对照组,HV大、中剂量组可以明显提高肝指数,表明HV可以降低肝脏的受损程度,保护肝脏。

脾脏是机体的免疫器官,脾脏中有T淋巴细胞、B淋巴细胞、巨噬细胞,与细胞免疫、体液免疫均有密切关系。模型对照组的脾指数低于青龄对照组,而HV大、中、小剂量组的脾指数高于模型对照组接近青龄对照组,说明HV对脾脏有一定的保护作用,提示HV可能有增强小鼠免疫力的功能,这有待进一步的实验论证。

2.5 恒顺香醋对小鼠血浆MDA、SOD、GSH-Px的影响

表2 恒顺香醋对小鼠血浆MDA、SOD、GSH-Px活力的影响 ($\bar{x} \pm s$)
Table 2 Effects of vinegar on MDA, SOD and GSH-Px of mice plasma ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量(g/kg·d)	n	MDA(nmol/ml)	SOD(U/ml)	GSH-Px(U)	GSH-Px/LPO
青龄对照组	0	10	5.08±0.96	140.42±14.06 [*]	435.04±68.78	87.55±13.26 ^{**}
衰老模型组	0	10	6.23±0.06	126.13±9.42	374.52±29.08	59.09±9.20
HV1	1.2	10	4.54±0.94 ^{**}	152.87±15.42 [*]	440.78±74.60	97.00±18.92 ^{**}
HV2	0.6	10	5.46±0.84	131.08±12.81	431.50±64.48	95.11±18.82 ^{**}
HV3	0.3	9	6.03±1.30	128.31±24.44	396.36±69.46	68.16±17.03

注: 实验组、青龄对照组与衰老模型组相比: ^{**}p < 0.01, ^{*}p < 0.05。

表1 恒顺香醋对小鼠肝指数、脾指数的影响($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Effects of vinegar on livers index and spleen index of mice($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量(g/kg·d)	n	肝指数(%)	脾指数(%)
青龄对照组	0	10	4.76±0.40 ^{**}	0.24±0.05
衰老模型组I	0	10	3.66±0.22	0.20±0.02
HV1	1.2	10	4.33±0.30 ^{**}	0.23±0.03
HV2	0.6	10	4.19±0.21 ^{**}	0.23±0.03
HV3	0.3	9	3.82±0.38	0.24±0.05

注: 实验组、青龄对照组与衰老模型组相比: ^{**}p < 0.01, ^{*}p < 0.05。

从表2可看出D-半乳糖组小鼠血浆SOD、GSH-Px活性明显降低,MDA含量则显著升高。经香醋处理后,衰老模型小鼠体内SOD、GSH-Px活性回升,MDA含量显著下降。这说明长期注射D-半乳糖可使小鼠血浆中重要抗氧化酶SOD、GSH-Px活性降低,因此导致机体内活性氧和自由基的增加,脂质过氧化明显。而HV组的值都高于衰老模型对照组,这说明HV可提高机体抗氧化酶的活力。

3 讨论

D-半乳糖致小鼠亚急性衰老模型衰老变化明显,模型稳定。一般认为,D-半乳糖引起的代谢紊乱使机体过氧化反应增强是其致老化反应的重要因素。D-半乳糖可导致动物体内自由基(OF_R)产生过多,后者攻击生物膜中的多不饱和脂肪酸(PUFA),产生脂质过氧化作用,而引起细胞代谢及功能障碍,导致衰老。D-半乳糖衰老模型和自然衰老模型,心肝肾肺肾等主要器官氧化水平均明显增加^[9]。本实验中模型组小鼠与正常组相比,其肝指数、脾指数、GSH-Px活力降低,血浆SOD活力明显降低,血浆MDA含量明显升高。这些结果与文献报道一致,说明本实验模型具有可靠性。

恒顺香醋体外抗氧化性研究表 明恒顺香醋具有抗氧化性^[6],经测定浓缩醋样中抗氧化活性成分总酚含量12.54mg/ml,总黄酮含量3.30mg/ml。体内实验结果表明造模小鼠灌服恒顺香醋可对抗D-半乳糖所致小鼠血浆MDA含量的增高、GSH-Px/LPO比值的降低、SOD活性的降低,故可推断恒顺香醋可能阻断了OF_R链反应的进一步进行,而对抗OF_R的损伤。活性氧对机体的损伤主要是通过引发细胞膜的脂质过氧化引起细胞和机体

的损伤。细胞膜、线粒体膜、溶酶体膜和内质网膜等生物膜大部分是由蛋白质和脂类组成,其中脂类以不饱和脂肪酸居多。在有氧和自由基引发剂的情况下,容易引发脂质过氧化反应,导致膜蛋白处于永久性缔合状态,影响膜的生物流动性。膜脂的流动性对膜功能的发挥起着关键性作用,缺乏不饱和脂肪酸使膜的流动性变低。这种膜结构的变化导致膜功能的异常。MDA作为一种脂质过氧化产物(LPO),既是评价衰老的重要指标之一,又可反映组织氧化的程度。MDA含量的高低可以反映生物膜的受损程度,间接反映出细胞的损伤程度。研究发现,衰老模型组血浆MDA的值高于青龄对照组,而HV组的值低于模型对照组,这说明HV可减轻生物膜的受损程度,维持生物膜的正常功能。

SOD是一种存在于细胞液中的抗氧化酶,可清除超氧阴离子,保护组织免受超氧阴离子的损伤,因而SOD活性的高低间接反映了组织抗氧化的能力。血浆型GSH-Px在保护细胞外液成分和细胞表面免受过氧化物损伤中起着重要作用。机体抗氧化防御系统对氧化应激反应的主要特点是增加SeGPx活性。肝是抗脂质过氧化损伤的中心器官,血浆谷胱甘肽主要来自肝脏。因此血浆SeGPx活性改变反映机体的抗氧化能力。在脂质过氧化损伤的研究上及在筛选药物或评价某一药物的抗氧化作用效价时,单以SeGPx活性或LPO含量作为指标判断是不全面的,必须两者结合。即可知道一个药物是否具有抗氧化作用,是药物还是毒物,还可鉴别抗氧化作用的种类。据有关研究表明SeGPx/LPO比值是反映抗脂质过氧化潜在能力的重要参数^[10],由香醋对小鼠的影响表明,香醋处理组HV1、HV2组均能显著降低血浆MDA含量,增强SeGPx的活力,SeGPx/LPO比值均明显高于衰老模型组。说明镇江香醋直接捕获D-半乳糖代谢过程中所产生的氧自由基(OF_R),或抑制脂质过氧化反应的中间环节,阻断了OF_R链反应的进一步进行,而对抗OF_R的损伤。对镇江香醋体外抗氧化性研究也证实镇江香醋有清除自由基和抑制脂质过氧化作用。镇江香醋体内和体外实验均表明其中含有有益于健康的抗氧化活性成分,具有良好的抗氧化能力,能在一定程度上延缓由于注射D-半乳糖引起的小鼠体内抗氧化能力的降低。

参考文献:

压缩饼干中糖类优化及其功能性评价

阮美娟, 朱华平, 王越鹏

(天津科技大学食品工程与生物技术学院, 天津 300222)

摘 要: 本文以麦芽低聚糖、果葡糖浆、麦芽糊精、淀粉糊精和多聚葡萄糖为糖原添加到压缩饼干中, 研究不同糖类对餐后血糖及抗疲劳性能的影响。采用大鼠进行动物实验, 糖浆灌胃后检测血糖水平。实验表明选用麦芽低聚糖和麦芽糊精(1:1)复配成混合糖浆, 灌胃后可使血糖在4.5h内保持在5mmol/L以上, 血糖值高于其他单糖、复配糖类。同时, 以血糖、肝糖原和游泳时间为指标的功能性评价表明复配糖类有增加抗疲劳的功能。

关键词: 糖类; 动物实验; 血糖; 抗疲劳

Optimization of Sugar in Compressed Biscuit and Evaluation of Its Function

RUAN Mei-juan, ZHU Hua-ping, WANG Yue-peng

(College of Food Science and Bioengineering, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300222, China)

Abstract: Oligomaltose, fructose syrup, malt dextrin, starch dextrin and polydextrose were grouped as additive carbohydrate sources for making compressed biscuit. Experimental rats were fed with the grouped saccharides for assessment of blood sugar level. The rats' blood sugar level was maintained above 5mmol/L for 4.5h after the feeding of the mixture of oligomaltose and malt dextrin (1:1). This result showed that the rats' blood sugar level was higher than that fed with other monosaccharides or saccharide mixtures. Meanwhile, the function evaluations of by the blood sugar test, liver glycogen test and swimming trial showed that saccharide mixtures could enhance anti-fatigue function.

Key words: saccharide; animal experiment; blood sugar; anti-fatigue

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)12-0208-04

收稿日期: 2004-12-27

作者简介: 阮美娟(1953-), 女, 副教授, 研究方向为食品加工与保藏。

-
- | | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| [1] 徐清萍, 敖宗华, 陶文沂. 食醋功能研究进展(上)[J]. 中国调味品, 2003, (12): 11-12, 42. | 2002, 50: 6501-6503. |
| [2] 徐清萍, 敖宗华, 陶文沂. 食醋功能研究进展(下)[J]. 中国调味品, 2002, (1): 19-23. | [6] 徐清萍, 敖宗华, 陶文沂. 恒顺香醋DPPH自由基清除活性成分研究[J]. 中国调味品, 2004, (7): 19-23. |
| [3] Shoko Nishidai, Yoshimasa Nakamura et al. Kurosu, a traditional vinegar produced from unpolished rice, suppresses lipid peroxidation in vitro and in mouse skin[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2000, 64(9): 1909-1924. | [7] Ock-sook Yi, Anne S, Neyer, et al. Antioxidant activity of grape extracts in a lecithin liposome system[J]. JAACS, 1997, 74(10): 1301-1307. |
| [4] 山路加津代, 等. くろずの DPPH ラジカル消去能とヒト LDL における抗酸化作用の検討[J]. 日本栄養・食糧学会誌, 2001, 54(2): 89-93. | [8] 张尔贤, 方黎, 等. 菊花提取物的抗氧化活性的研究[J]. 食品科学, 2000, 21(7): 6-9. |
| [5] Yumi Shimoji, Yoshitaka Tanura, et al. Isolation and identification of DPPH radical scavenging compounds in kurosu (Japanese Unpolished Rice Vinegar) [J]. J Agric Food Chem | [9] 朱庆磊, 杨契, 薛桥, 等. 人工致衰老和自然衰老小鼠抗氧化能力改变的对比研究[J]. 中国老年学杂志, 2003, 23(7): 448-450. |
| | [10] 陈瑗, 周玖. 自由基医学基础与病理生理[M]. 北京, 人民卫生出版社, 2002. 157-159. |