

大蒜渣中多糖的提取与大蒜渣的降血脂降血糖作用

张宽朝¹, 季正仁², 何光林², 郑俊峰², 文 汉^{1*}

(1. 安徽农业大学生命科学学院, 安徽合肥 230036; 2. 安徽爱迪香料股份有限公司, 安徽合肥 230051)

摘要 [目的] 研究大蒜渣中多糖的提取工艺与大蒜渣对高血脂小鼠的降血脂功效。[方法] 通过 $L_9(3^4)$ 正交试验, 研究提取时间、提取温度、提取次数和料液比对大蒜渣多糖得率的影响, 并研究大蒜渣饲喂对小鼠体重及小鼠血液中 T-CHO、HDL-C、LDL-C 和血糖的影响。[结果] 从大蒜渣中提取多糖的最佳条件为提取温度 95 ℃、料液比 1:4 g/ml、提取时间 40 min、提取次数 3 次, 而且, 大蒜渣具有一定的降血脂和降血糖作用。[结论] 研究可为大蒜渣等农副产品资源的综合开发利用提供参考。

关键词 大蒜渣; 多糖; 提取; 降血脂; 降血糖

中图分类号 S633.4 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2014)22-07548-02

Study on Extraction of Polysaccharides from Garlic Residue and the Hypolipidemic and Hypoglycemic Function of the Garlic Residue
ZHANG Kuan-chao, WEN Han et al (School of Life Science, Anhui Agricultural University, Hefei, Anhui 230036)

Abstract [Objective] To study the extraction technology of polysaccharides from garlic residue and to investigate the hypolipidemic function of the garlic residue. [Method] $L_9(3^4)$ orthogonal experiment was applied to analyze the influencing factors such as extraction time, extraction temperature, extraction times and material-water ratio on the yield of the polysaccharides, and the change of the weight and the serum T-CHO, HDL-C and LDL-C of the mice treated with garlic residue. [Result] The optimum extraction conditions as follows: 40 min, 95 ℃, 3 times and the ratio of r garlic residue and water 1:4 g/ml, and the garlic residue had certain instructive effect on lowering blood lipid and had hypoglycemic effect. [Conclusion] The study can provide reference for comprehensive development and utilization of subsidiary agricultural products.

Key words Garlic residue; Polysaccharides; Extraction; Hypolipidemic function; Hypoglycemic function

大蒜, 百合科葱属植物, 主要的医用成分是二烯丙基三硫化物(即大蒜新素), 具有抗菌消炎、抗癌、降压、增强机体的免疫力等作用^[1-2]。近年来, 国际上对大蒜油的需求在不断增加, 故产生了大量的蒜渣。研究表明, 蒸馏法提取大蒜油后剩余的蒜渣(约占大蒜总重量的 99.5%) 均被丢弃掉, 这不仅造成了资源的极大浪费, 而且由于蒜渣产生的较强的刺激性臭味, 严重污染了环境^[2-3]。因此, 大蒜渣的开发利用已经迫在眉睫。

植物多糖, 又称植物多聚糖, 是植物细胞代谢产生的聚合度超过 10 个的聚糖, 是植物体内重要的生物活性大分子, 具有免疫调节、抗肿瘤、延缓衰老、抗疲劳、降血糖、降血脂、抗辐射、抗菌抗病毒、保护肝脏等保健作用, 在医药、食品、化妆品等领域有着广泛用途^[4-6]。

笔者以大蒜渣为材料, 对大蒜渣中的多糖进行了提取研究, 并对大蒜渣降血脂、降血糖的功效进行了初步的试验探索, 以促进大蒜渣中的多糖的开发利用, 为进一步提升大蒜渣的资源利用率、加大大蒜渣等副产品的综合利用研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料 大蒜, 购于合肥市菜市场; 4 周龄雄性小白鼠, 体重(20 ± 2)g, 购自安徽中医药大学动物中心。主要试剂: 四氧嘧啶(Alloxan), Sigma A7413; 高密度脂蛋白胆固醇(CHO-H/HDL-C)液体双试剂试剂盒、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)试剂盒、总胆固醇(T-CHO)试剂盒、葡萄糖试剂盒, 长春汇力生物技术有限公司; 生理盐水, 安徽丰原药业股份有限公

司; 萘酮、硫酸等均为国产分析纯。

主要仪器: 722S 型分光光度计, 上海精密科学仪器有限公司; LXJ-II B 大容量低速离心机, 上海安宁科学仪器厂; pH 计, 西安汇鸿环保科技有限公司; KQ-400DB 型数控超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; FA1104 分析天平, 上海精科天平; 旋转蒸发仪, 上海亚荣生化仪器厂等。

1.2 方法

1.2.1 原料预处理。 取大蒜 200 g 左右, 剥皮后, 自来水浸泡 20 ~ 30 min。将浸泡过的大蒜放入组织捣碎机中, 加水至刚漫过大蒜, 充分捣碎。将捣碎后的蒜渣倒入圆底烧瓶, 加入等体积的水, 置于水浴锅中水浴处理(50 ℃ 水浴 2 h 或者 55 ℃ 水浴 4 h)。在电热套上加热, 用水蒸气进行蒸馏 1 ~ 3 h 不等, 在加热过程中可见黄色的大蒜精油被蒸馏出, 当观察不到精油继续馏出时即可停止加热(加热时间约为 1 h)。稍微冷却后用 4 层纱布过滤, 即为大蒜渣。稍拧干, 均匀平铺于白瓷盘上, 于 50 ℃ 的鼓风干燥箱中进行薄层干燥, 至恒重为止^[7]。用粉碎机粉碎, 备用。

1.2.2 大蒜渣多糖的提取。

1.2.2.1 工艺流程。 将大蒜渣粉末与蒸馏水混合 → 恒温浸泡 → 4 层纱布过滤 → 滤液 4 800 r/min 离心 10 min → 上清液测定多糖含量。

1.2.2.2 正交试验的设计。 根据单因素预试验中提取温度、提取时间、提取次数和料液比 4 个考察因素的单因素试验结果, 以提取大蒜渣多糖含量作为指标, 用 $L_9(3^4)$ 正交表进行大蒜渣多糖提取工艺的优化试验研究。正交试验因素水平设计见表 1。

1.2.2.3 多糖含量的测定。 萘酮 - 硫酸比色法测定大蒜渣提取液中多糖的含量, 多糖含量以葡萄糖质量来表示^[8]。

作者简介 张宽朝(1981 -), 男, 安徽涡阳人, 实验师, 硕士, 从事生物化学研究。* 通讯作者, 副教授, 硕士生导师, 从事生物化学研究。

收稿日期 2014-06-30

表 1 多糖提取正交试验因素水平设计

水平	因素			
	温度 (A)//℃	料液比 (B)//g/ml	时间 (C)//min	提取次数 (D)//次
1	85	1:2	30	1
2	90	1:3	40	2
3	95	1:4	50	3

1.2.3 大蒜渣降血脂作用。

1.2.3.1 高脂模型的建立与分组。将小鼠分成 2 组,其中 8 只小鼠每天注射 0.5 ml 的生理盐水,其他小鼠每天注射 0.5 ml 的 75% 蛋黄乳,第 3 天时禁食 12 h 后剪尾采血测得 2 组小鼠 TC 含量,取其造模成功的小鼠。

将以上造模成功的小鼠随机分组,分别为空白对照组、高脂模型组、大蒜渣饲喂处理组(GR 处理组)。空白对照组每天注射 0.7 ml 的生理盐水;高脂模型组每天注射 0.5 ml 的蛋黄乳和生理盐水 0.2 ml;GR 处理组饲喂添加大蒜渣的饲料。连续维持 7 d,然后禁食 12 h 后剪尾采血,测定小鼠 T-CHO、HDL-C、LDL-C。

1.2.3.2 指标测定。小鼠分组时称重 1 次,造模后称重 1 次,大蒜渣饲喂并连续维持 7 d 后称重 1 次。小鼠血液中的 T-CHO、HDL-C、LDL-C 测定按照试剂盒要求进行。

1.2.4 大蒜渣降血糖作用。

1.2.4.1 高血糖小鼠模型制作及处理。将小鼠 16 只全部给予尾静脉注射四氧嘧啶,剂量为 50 mg/kg。3 d 后,全部尾静脉采血测血糖。取成功造模的高血糖小鼠。

将以上造模成功的小鼠随机分组,分别为空白对照组、高血糖模型组、大蒜渣饲喂处理组(GR 处理组)。空白对照组腹腔注射生理盐水,高血糖小鼠给予饲喂添加大蒜渣的饲料。24 h 后测血糖。

1.2.4.2 GOD-POD 法测血糖。血样处理:在采血前,用饱和草酸钾溶液润洗枪头和 0.5 ml 的 Dorf 管,制成抗凝枪头和抗凝管;采血后,血样置于离心机中以 3 000 r/min 离心 30 min,取上清用葡萄糖试剂盒进行血糖测定。GOD-POD 的测定:按试剂盒测定方法测定,根据公式计算血糖值: $C_{\text{样}} = A_{\text{样}} / A_{\text{标}} \times 5.5$ (mmol/L)。

2 结果与分析

2.1 大蒜渣多糖的提取 由表 2 结果可知,影响大蒜渣中多糖提取量的 4 个因素重要顺序依次为:A > B > D > C,即提取的温度 > 料液比 > 提取次数 > 提取时间,表明提取温度对大蒜渣多糖提取的影响最大,其次分别为料液比和提取次数,提取时间对大蒜渣多糖提取影响较小。从大蒜渣中提取多糖的最佳条件为 A₃B₃C₂D₃,即提取温度为 95 ℃、料液比 1:4 g/ml、提取时间 40 min、提取次数 3 次。

2.2 大蒜渣降血脂研究

2.2.1 大蒜渣饲喂对小鼠体重的影响。从表 3 可见,试验初各组小鼠体质量之间均无显著差异,随着试验时间的延长,各组小鼠的体质量均呈增加趋势。大蒜渣连续饲喂 7 d 后,与空白对照组、高脂模型组相比较,大蒜渣处理组小鼠体

重出现一定程度的降低,这说明大蒜渣具有一定的减肥功效。

表 2 正交试验方案及结果

试验号	因素				多糖得率 %
	温度	料液比	时间	提取次数	
1	1	1	1	1	2.83
2	1	2	2	2	4.38
3	1	3	3	3	5.43
4	2	1	3	2	5.47
5	2	2	1	3	4.19
6	2	3	2	1	5.26
7	3	1	2	3	6.17
8	3	2	3	1	4.54
9	3	3	1	2	5.78
K ₁	12.64	14.47	12.80	12.63	
K ₂	14.92	13.11	15.81	15.63	
K ₃	16.49	16.47	15.44	15.79	
R	3.85	3.36	3.01	3.16	

表 3 大蒜渣饲喂对小鼠体重的影响

组别	分组时	造模后	大蒜渣连续饲喂 7 d 后
空白对照组	24.68	25.07	26.66
高脂模型组	24.80	25.20	26.72
GR 处理组	24.66	24.94	23.84

2.2.2 大蒜渣对小鼠 T-CHO、LDL-C、HDL-C 的影响。从表 4 中可以看出,高脂模型组、大蒜渣饲喂处理组小鼠的 T-CHO、LDL-C 含量均高于空白对照组,这表明蛋黄乳的饲喂能够提高小鼠的 T-CHO、LDL-C 含量。与高脂模型组比较,大蒜渣饲喂处理组小鼠的 T-CHO、LDL-C 含量出现下降,大蒜渣饲喂处理组小鼠的 T-CHO 与空白对照组相比达到显著水平、与高脂模型组相比达到极显著水平,大蒜渣饲喂处理组小鼠的 LDL-C 与与高脂模型组相比达到显著水平。由此表明,大蒜渣具有显著降低小鼠 T-CHO、LDL-C 的作用。

从表 4 还可见,饲喂高脂饲料的高脂模型组、大蒜渣饲喂处理组小鼠血清的 HDL-C 含量均显著低于空白对照组,这表明蛋黄乳的饲喂能显著降低小鼠血清的 HDL-C 含量。与高脂模型组相比,大蒜渣饲喂处理组小鼠血清的 HDL-C 含量有所升高,表明大蒜渣具有提高小鼠 HDL-C 水平的作用。

表 4 大蒜渣饲喂对小鼠 T-CHO、LDL-C、HDL-C 的影响

组别	T-CHO 值	LDL-C 值	HDL-C 值
空白对照组	1.471 8 ± 0.565 9 d	1.278 4 ± 0.602 1 d	2.290 4 ± 0.810 2
高脂模型组	3.4123 ± 0.193 5 b	2.660 5 ± 0.208 7 b	1.545 2 ± 0.174 6 a
GR 处理组	2.284 5 ± 0.516 0 ac	1.788 0 ± 0.142 9 c	1.712 9 ± 0.166 7

注:N=8;a,b 分别表示与空白对照组相比差异显著(P<0.05)和极显著(P<0.01);c,d 分别表示与高脂组相比差异显著(P<0.05)和极显著(P<0.01)。

2.3 大蒜渣降血糖研究 试验利用四氧嘧啶制造高血糖小鼠模型。因为四氧嘧啶能够产生自由基,并选择性地攻击胰

(下转第 7552 页)

测,连续进样6次,测定峰面积,计算得 $RSD = 1.92\%$ ($n = 6$)。

2.8 回收率和精密度试验^[13] 精密称取已测知含量的样品,分别置25 ml容量瓶中,各加入一定量的舒林酸对照品标准储备溶液,其余步骤按“1.4”步骤进行预处理,并依法将处理好的每个样品连续分析6次,根据测定结果计算回收率,结果见表1。

表1 加标回收率及精密度实验结果

样品	本底值 μg/ml	加标值 μg/ml	检测值 μg/ml	回收率 %	平均回收率 %	RSD %
1	20.1	20.2	38.1	89.1	90.3	1.08
2	38.1	20.2	56.6	91.6		
3	56.6	20.2	74.5	88.6		
4	74.5	20.2	92.8	90.6		
5	92.8	20.2	111.3	91.5		
6	111.3	20.2	129.5	90.1		

2.9 样品检验结果 检验市售具有抗风湿作用的30种保健酒,检出含有舒林酸的有2份(含量分别为0.31、0.43 mg/g),阳性检出率为6.67%,与笔者课题组前期开发的免疫学方法^[14]检测结果相符。

3 结论

本研究根据相似相溶原理,通过分别应用不同pH得有机相和水相进行液-液萃取,在净化去除了大部分基质成分的同时,实现从保健品中充分抽提舒林酸。样品检测色谱图的杂质峰已经很少,而加标回收率达到88.6%~91.6%。通过流动相的优化,提高舒林酸色谱分离理论塔板数,实现样品和基质成分完全基线分离,并选取偏离基质吸收值的328 nm作为检测波长,降低基质成分的影响。根据色谱峰的保留时间比对和加标试验,结合二极管阵列扫描图谱,实现对可疑样品进行充分确证。通过外标法定量,最低检测限为

(上接第7549页)

岛β细胞,使得胰岛素分泌降低,从而导致血糖升高。从表5可以看出,大蒜渣饲喂高血糖小鼠具有一定的降血糖功效,且差异显著,但确切的机制还有待进一步的研究。

表5 大蒜渣饲喂对小鼠血糖的影响

组别	处理方法	血糖值//mmol/L
空白对照组	生理盐水处理	5.970 ± 0.390
高血糖模型组	四氧嘧啶处理	6.262 ± 0.664
GR处理组	大蒜渣饲料饲喂	5.330 ± 0.513 *

注:N=8; *表示与高血糖模型组相比,差异显著($P < 0.05$)。

3 结论

该试验采用的原料为大蒜精油提取后的固体废渣,其多糖含量虽已大大受损减少,但通过试验发现仍能提取出一定含量的多糖,这为进一步加强对大蒜渣中多糖等有效成分的综合利用,提高大蒜资源的附加值提供了理论和试验参考。

研究发现,大蒜渣饲喂小鼠能够减轻小鼠的体重,可以降低小鼠血清T-CHO、LDL-C含量,具有提高小鼠血清HDL-

10 μg/ml,工作曲线的线性范围:10~160 μg/ml ($R^2 = 0.9996$)。可见该方法灵敏、准确、可靠,适用于检测保健品中违法添加的舒林酸。

参考文献

- [1] 刘福艳,李军,谢元超,等. 中成药中非法添加化学物质的现状与分析检测对策[J]. 中国药事,2008,22(12):1067-1069.
- [2] 傅得兴,封宇飞. 非甾体类抗炎药的安全性研究[J]. 中国全科医学,2008,11(2):136-139.
- [3] 王仕平,黄炳泉,刘卿,等. 中成药中非法添加双氯芬酸钠与尼美舒利的快速检测[J]. 中国药品标准,2011,12(3):211-214.
- [4] 邓树勇,马启龙,丁燕,等. TLC法快速筛选抗风湿类中成药中的化学药品[J]. 药物分析杂志,2009,29(10):1719-1721.
- [5] 李存金,郭飞宇. HPLC检测抗风湿类中成药中非法添加非甾体类化学物质[J]. 中成药,2010,32(12):2191-2194.
- [6] 宁素云,郭兴杰,张虹,等. HPLC法同时检测清热解毒类中成药中非法添加的9种化学药品[J]. 中国药事,2009,23(9):907-910.
- [7] 赵凤菊,来国防,孙刚,等. UPLC/MS/MS法检测抗风湿类制剂中添加醋酸泼尼松、醋酸地塞米松、双氯芬酸钠和布洛芬[J]. 药物分析杂志,2010,30(6):1035-1037.
- [8] GOWIL P, JULICHER B, UHLIG S. Multi-residue method for non-steroidal anti-inflammatory drugs in plasma using high performance liquid chromatography photo diodearray detection; Method description and comprehensive in house validation[J]. J Chromatogr B, 1998, 716: 221-232.
- [9] ASHOK K S, AHMED N A, TAWFIQ A A, et al. Validated liquid chromatographic-ultraviolet method for the quantitation of tadalafil in human plasma using liquid-liquid extraction[J]. Journal of Chromatography B, 2007, 852(2):403-408.
- [10] KOICHI S, LEE W L, TOYOHIDE T, et al. Direct determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs by column-switching LC-MS[J]. Journal of Separation Science, 2006, 29(18):2725-2732.
- [11] HAQUE A, STEWART J T. Direct injection HPLC analysis of some non-steroidal anti-inflammatory drugs on restricted access media columns[J]. Biomedical Chromatography, 2004, 13:51-56.
- [12] 王金生. HPLC-PDA法检验保健食品中的盐酸西布曲明[J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(3):462-507.
- [13] 鲁琳,高燕红,李少霞,等. 高效液相色谱——二极管阵列检测法测定保健食品中枸橼酸西地那非的研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(9):1052-1054.
- [14] 郭杰标,肖仔君,郝卿辰,等. 保健酒中舒林酸免疫学检测方法的建立[J]. 现代食品科技, 2013, 29(7):1691-1695.

C水平的作用,表明大蒜渣具有一定的降血脂功效。同时,研究表明,大蒜渣饲喂高血糖小鼠具有一定的降血糖功效。对大蒜渣降血脂和降血糖的初步研究,为进一步开发利用大蒜渣提供了一定的依据。

参考文献

- [1] 许春萱,魏金凤,魏红光. 大蒜精油提取后废弃蒜渣综合利用的研究[J]. 环境科学与技术, 2002(6):42-44.
- [2] 魏金凤,宋世林,叶先锋,等. 大蒜精油提取后废弃物综合利用的研究——蒜渣综合利用的意义及成分分析[J]. 信阳师范学院学报:自然科学版, 2001, 14(1):96-98.
- [3] 徐霞,马海乐. 大蒜及蒜渣的主要成分、功效与开发利用[J]. 食品工业科技, 2004, 25(5):141-143.
- [4] 赵国华,陈宗道,李志孝,等. 活性多糖的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2001, 27(7):45-48.
- [5] 何余堂,潘孝明. 植物多糖的结构与活性研究进展[J]. 食品科学, 2010, 31(17):493-496.
- [6] 杨玉红,郝慧敏. 药用植物多糖的生物学功能及应用研究进展[J]. 生物学教学, 2013, 38(1):6-8.
- [7] 李瑜,宋会歌. 蒜渣干燥动力学研究[J]. 江苏农业科学, 2010(2):294-295.
- [8] 张惟杰. 糖复合物生化研究技术[M]. 杭州:浙江大学出版社, 1994.