

保压时间对黑蒜部分营养成分和抗氧化作用的影响

钟成¹, 徐国娟¹, 吴晓英¹, 郭彦平², 贾士儒¹

(1. 天津科技大学教育部工业发酵微生物重点实验室, 天津 300457)

(2. 天津华泰森淼生物工程技术有限公司, 天津 300384)

摘要: 本文采用超高压预处理与发酵联用的方法制备了黑蒜, 同时研究了保压时间对黑蒜的抗氧化作用的影响, 并初步探讨了黑蒜的营养成分与抗氧化作用之间的关系。结果表明, 超高压预处理的时间对白蒜和发酵黑蒜的营养成分含量有显著的影响。不同保压时间预处理后, 白蒜和黑蒜的总糖含量有所下降, 并且白蒜发酵成黑蒜后总糖含量也有所下降。而黑蒜中的总酚和黄酮含量明显高于白蒜。保压时间为 15 min 时, 黑蒜总酚含量达到最高, 为 13.20 mg/g, 未经超高压预处理黑蒜的黄酮含量最高, 达到 5.23 mg/g。超高压预处理并发酵后, 黑蒜的抗氧化能力明显高于白蒜。黑蒜的还原能力、对羟基自由基的清除能力分别在保压时间 5 和 20 min 时最高, 未经超高压预处理的黑蒜对 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH) 的清除作用最大。

关键词: 黑蒜; 保压时间; 营养成分; 抗氧化作用

文章编号: 1673-9078(2014)3-49-52

Effect of Dwell Time on Partial Nutrients and Antioxidant Capacity of Black Garlic

ZHONG Cheng¹, XU Guo-juan¹, WU Xiao-ying¹, GUO Yan-ping², JIA Shi-ru¹

(1. Key Laboratory of Industrial Fermentation Microbiology (Ministry of Education), Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China) (2. Tianjin Huatai-Senmiao Bioengineering and Technology Co. Ltd., Tianjin 300384, China)

Abstract: Black garlic was prepared by ultra-pressure pretreatment in combination with fermentation. It was indicated that there was significant difference in nutrient contents between white garlic and black garlic when pretreated by ultra high pressure at different dwell time. Dwell time decreased the total sugar contents of both white and black garlic, and the total sugar content of black garlic was inferior to white garlic. However, the total polyphenol content and flavonoid content in black garlic were significantly higher than those of white garlic. Total polyphenol content of black garlic reached the highest of 13.20 mg/g when treated for 15 min, while the highest flavonoid content (5.23 mg/g) was observed in unpretreated black garlic. Moreover, the antioxidant capacity of black garlic was obviously improved. The maximum values of reducing power and scavenging activity against OH· were obtained by ultra-high pressure treated for 5 and 20 min, respectively. Unpretreated black garlic showed the highest scavenging effect on DPPH.

Key words: black garlic; dwell time; nutrients; antioxidant capacities

大蒜是百合科葱属植物, 在亚洲是一种常见的烹饪调味品及健康产品, 它具有抗菌消炎、抗氧化、免疫调节功能等作用^[1-2]。大蒜多方面的药用价值源于它的营养成分和生物活性成分, 如多酚、含硫化合物、微量元素等^[3]。

在加热过程中, 大蒜中的蒜氨酸及脱氧蒜氨酸降解产生烯丙基硫化物等含硫化合物, 使其具有淡香气

收稿日期: 2013-10-25

基金项目: 长江学者和创新团队发展计划资助项目 (IRT1166)

作者简介: 钟成 (1979-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 微生物发酵工程

通讯作者: 贾士儒 (1954-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 发酵工程

味。日本学者经过数十年的研究发现, 大蒜在控制温度和湿度的情况下, 发生美拉德反应, 大蒜鳞茎呈现黑色, 故称之为黑蒜。黑蒜口感柔软且富有弹性, 酸甜适口, 没有生食鲜大蒜的辛辣味和蒜臭气味, 同时也不会对胃肠道产生不良刺激^[4]。

据报道, 黑蒜具有很强的抗氧化作用。在熟化过程中, 大蒜中不稳定蒜氨酸转化成 S-烯丙基-L-半胱氨酸, 使黑蒜的体外抗氧化作用高于鲜蒜^[5]。同时, 黑蒜还具有很强的自由基清除作用, 它可以降低糖尿病并发症, 大大提高人体免疫力。

超高压技术在国际上被誉为 21 世纪无污染、绿色环保的食品加工技术, 它改变了传统热加工技术的

许多弊端。超高压处理技术是个物理过程,破坏食品的非共价键,对共价键几乎没有影响,食品可以保留原有的风味和营养价值^[6]。但是,超高压能够使食品中酶、蛋白质、淀粉等大分子物质变性、失活、糊化,并对其结构产生一定的影响^[7]。

目前,为了降低黑蒜的生产成本,已经研究出很多制备黑蒜的方法。本文采用超高压与高温高湿相结合的方法来制备黑蒜。同时研究了保压时间对黑蒜的营养成分及抗氧化作用的影响,并初步探讨了营养成分与抗氧化作用之间的关系,为更好地加工高品质的黑蒜提供一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

市售大蒜;1,1-二苯基-2-苦肼基(DPPH),购自sigma公司;没食子酸、福林酚试剂、芦丁、铁氰化钾、三氯乙酸等均为国产分析纯。

1.2 主要仪器

HPPL2-600/2超高压处理设备,天津华泰森淼生物工程技术有限公司;722光栅型分光光度计,上海精密科学仪器有限公司;FD-1冷冻干燥机,上海田枫实业有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 黑蒜的制备

新鲜大蒜→去蒂→超高压处理→高温高湿发酵15 d→黑蒜

超高压处理的条件:在室温、300 MPa的压力下,分别保压0、5、10、15和20 min。加压过程中介质为水,待压力上升到指定所需压力水平后进行保压,达到保压时间后瞬间卸压(5 s以内)。并以未经超高压处理、直接进行高温高湿发酵的黑蒜作为对照。

1.3.2 总糖含量的测定

采用苯酚-硫酸法^[8]。

1.3.3 多酚含量的测定

采用福林酚法^[9]。

1.3.4 黄酮含量的测定

样品的制备:准确称取0.2 g黑蒜粉末,与20 mL 80%乙醇混合,中火微波60 s,4000 r/min离心20 min,取上清,40℃旋转蒸发浓缩,定容至10 mL备用,测定时进行1:1稀释。

样品的测定:准确吸取4 mL待测样品,加入4 mL 2% (V/V) AlCl₃乙醇溶液,室温静置1 h,测定

420 nm处的吸光度。以芦丁作为标准品绘制标准曲线。

1.3.5 抗氧化能力的测定

按照Kim S H等^[1]的方法制备样品。

1.3.5.1 还原力的测定

采用普鲁士蓝法。

将上述样品稀释10倍,按照Kim J H等^[5]的方法进行实验,并以0.025 mg/mL的抗坏血酸作为对照。

1.3.5.2 对羟基自由基的清除作用

对黑蒜清除羟基自由基能力的测定主要参考高海宁等人^[10]的研究方法,并做了适当改进。即在10 mL的离心管中依次加入2 mL 3 mmol/L FeSO₄、2 mL 3 mmol/L水杨酸和2 mL样品,最后加入2 mL 3 mmol/L H₂O₂启动反应,混合均匀后,37℃反应1 h。测定510 nm处的吸光度。同时以5 mg/mL抗坏血酸作为对照。

$$\text{清除率}(\%) = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100$$

式中, A₀: 对照组吸光度(以蒸馏水代替样品提取物)

A₁: 样品溶液的吸光度。

1.3.5.3 对DPPH·的清除作用

对DPPH·的清除作用的测定主要参考高海宁等人^[10]的研究方法,并做了适当改进。即在10 mL的离心管中加入1.75 mL 0.065 mM DPPH乙醇溶液与0.25 mL的样品溶液,剧烈震荡,暗处放置30 min,以无水乙醇作为空白对照,测定517 nm处的吸光度。同时以5 mg/mL抗坏血酸作阳性对照。

$$\text{清除率}(\%) = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100$$

式中, A₀: 对照组吸光度(以无水乙醇代替样品提取物)

A₁: 样品溶液的吸光度。

2 结果与讨论

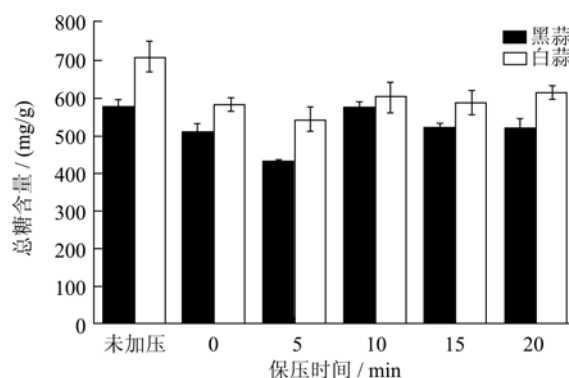


图1 保压时间对黑蒜中总糖含量的影响

Fig.1 Effect of dwell time on total sugar content of black garlic

保压时间对黑蒜中总糖含量的影响如图1所示。

由图可见,黑蒜的总糖含量低于白蒜,这是因为在发酵过程中多糖分解产生的小分子糖类参与美拉德反应,使黑蒜中的总糖含量有所降低^[10]。未加压白蒜和黑蒜的总糖含量分别为 709.45 mg/g 和 574.38 mg/g,其含量分别高于超高压处理的白蒜和黑蒜中总糖的含量。超高压预处理后,白蒜和黑蒜的总糖含量在 10 min 时达到最高,5 min 时达到最低。这可能是因为保压时间使果聚糖水解酶的活性发生变化,进而使总糖含量发生变化。

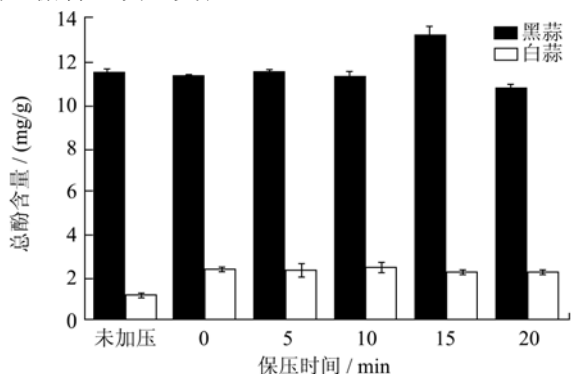


图2 保压时间对黑蒜中总酚含量的影响

Fig.2 Effect of dwell time on total polyphenol content of black garlic

酚类物质是黑蒜的一个重要的功能性成分,它的含量高低直接影响黑蒜的功能。保压时间使黑蒜的总酚含量发生变化(如图2)。超高压预处理后,白蒜中总酚含量约升高一倍,但随着保压时间延长,其含量没有显著变化。0、5、10、20 min 处理的黑蒜中总酚含量与未加压黑蒜没有显著差别,15 min 的黑蒜中总酚含量最高,达到 13.20 mg/g,其含量是未加压白蒜的 11 倍。安东^[11]认为在热力作用下,大蒜中没食子酸类的多酚物质发生分解,生成小分子化合物,释放出更多的酚羟基,使总酚相对含量升高。Kwon 等^[12]指出在压力和高温协同作用下,大蒜中其它化合物转化成了多酚类物质。

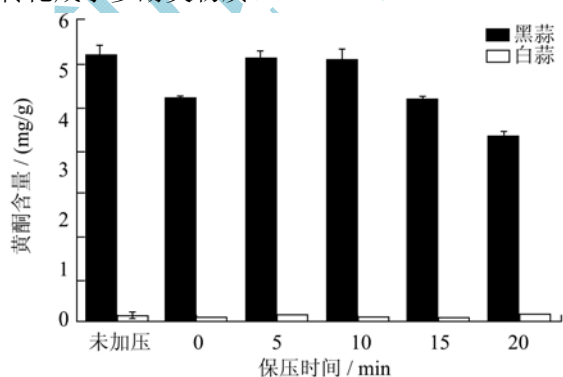


图3 保压时间对黑蒜中黄酮含量的影响

Fig.3 Effect of dwell time on flavonoid content of black garlic

由图3可知,未经超高压预处理黑蒜的黄酮含量

最高,达到 5.23 mg/g,它与保压时间 5 和 10 min 的黑蒜中黄酮含量没有显著差别。而保压 0、15、20 min 的黑蒜中黄酮含量低于未加压黑蒜,并在 20 min 时达到最低。保压时间 10 min 时,白蒜中黄酮含量最低。随着保压时间延长,白蒜中的黄酮含量没有显著变化。黑蒜中的黄酮含量明显高于白蒜中的黄酮含量。Roldán-Marín 等^[13]报道了超高压处理破坏了大蒜的液泡,使液泡中酚类物质释放出来,增加了黄酮的含量。Bae 等^[4]指出热处理可使结合型多酚和黄酮释放出来。

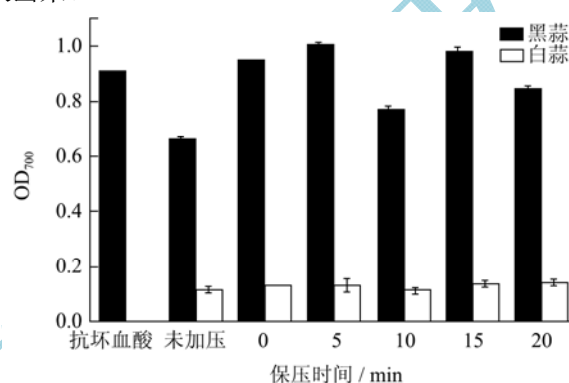


图4 保压时间对黑蒜还原能力的影响

Fig.4 Effect of dwell time on reducing power of black garlic

抗氧化物质的抗氧化活性是由其将 Fe^{2+} 络合物还原为 Fe^{3+} 络合物的能力来表示。从图4中可以看出,超高压处理的白蒜的还原能力与未加压白蒜没有显著差别,随着保压时间延长,白蒜的还原能力没有显著变化。白蒜经美拉德反应发酵成黑蒜后,还原能力显著提高 ($p < 0.05$),黑蒜还原能力约是白蒜的 8 倍。超高压预处理后,黑蒜的还原能力高于未加压黑蒜,而且保压 10 min 的黑蒜还原能力最弱。超高压分别预处理 0、5 和 15 min 的黑蒜还原能力高于 0.025 mg/mL 抗坏血酸。

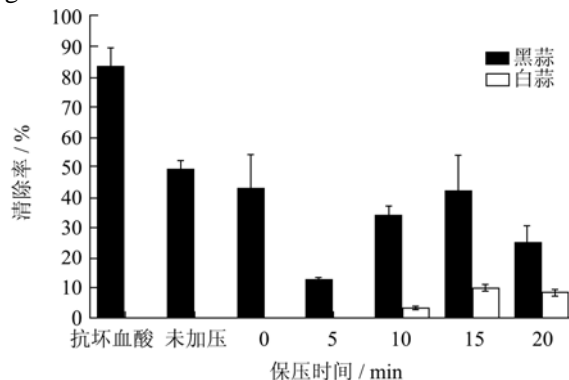


图5 保压时间对黑蒜清除 DPPH 自由基的能力的影响

Fig. 5 Effect of dwell time on scavenging activity of black garlic against DPPH

黑蒜和白蒜对 DPPH· 的清除能力低于 5 mg/mL 抗坏血酸(图5)。随着保压时间的延长,白蒜对 DPPH

的清除作用先增强后下降, 15 min 时白蒜对 DPPH· 的清除能力最强, 其清除率达到 9.69%。这可能是因为保压时间使大蒜的多酚氧化酶活性发生变化, 催化产生不同的抗氧化物质所致。黑蒜对 DPPH· 的清除作用明显高于白蒜 ($p < 0.05$), 这与黑蒜中抗氧化物质和美拉德反应产物含量的增加有关^[14]。未加压黑蒜清除 DPPH· 能力最高, 清除率达到 49.30%。不同保压时间的黑蒜清除 DPPH· 的能力是存在差异的, 保压 5 min 时, 黑蒜对 DPPH· 的清除能力达到最低。

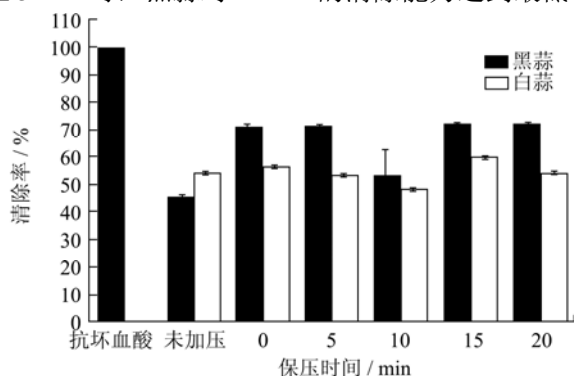


图 6 保压时间对黑蒜清除羟基自由基的能力的影响

Fig.6 Effect of dwell time on scavenging activity of black garlic against ·OH

羟基自由基的清除率反应了物质的抗氧化作用, 清除率越大, 物质的抗氧化作用越强。由图 6 可知, 未加压白蒜清除·OH 的能力高于未加压黑蒜; 超高压预处理后, 黑蒜清除·OH 的能力高于白蒜。白蒜对羟基清除作用的变化不显著, 保压 10 min 的白蒜清除率最小。未加压黑蒜清除·OH 能力最小, 保压 20 min 时, 黑蒜清除能力达到最大, 约为未加压黑蒜的 1.60 倍。Mcinerney J K 等^[15]指出超高压处理破坏了植物的细胞壁, 使抗氧化物质释放出来, 增强了清除作用。清除·OH 的能力也与大蒜中含硒蛋白、含硒多糖等物质有关^[12]。

3 结论

3.1 未加压白蒜和黑蒜的总糖含量分别为 709.45 mg/g 和 574.38 mg/g。超高压处理后, 白蒜和黑蒜总糖含量降低, 并在保压 5 min 时达到最低。在黑蒜中, 总酚含量最高的是保压 15 min 的黑蒜, 其含量达到 13.20 mg/g; 高压处理后, 白蒜中总酚含量升高, 约为未加压白蒜的 2 倍。黑蒜中黄酮的最高含量(未加压)是 5.23 mg/g, 约为最低含量(20 min)的 1.43 倍; 保压 5 min 白蒜的黄酮含量最高, 为 0.13 mg/g。

3.2 黑蒜在保压 5 min 时, 还原能力最强, 约为白蒜还原能力的 8 倍; 未加压黑蒜清除 DPPH· 能力高于超高压处理的黑蒜, 其清除能力达到 49.30%; 保压

20 min 的黑蒜清除·OH 能力最强, 其清除率达到 72.17%。不同保压时间对白蒜的还原能力、清除羟基自由基没有显著性影响, 而对 DPPH· 的清除作用产生显著影响。15 min 时, 白蒜清除 DPPH· 能力达到 9.69%。

参考文献

- [1] Kim S H, Jung E Y, Kang D H, et al. Physical stability, antioxidative properties, and photoprotective effects of a functionalized formulation containing black garlic extract [J]. *Journal of photochemistry and photobiology Biology*, 2012, 117: 104-110
- [2] 张中义, 杨晓娟, 张峻松, 等. 发酵黑蒜中挥发性物质的 GC-MS 分析 [J]. *中国调味品*, 2012, 37(7): 74-76
Zhang Z Y, Yang X J, Zhang J S, et al. Identification of volatile compounds in fermented black garlic by GC-MS [J]. *China Condiment*, 2012, 37(7): 74-76
- [3] Kim J S, Kang O J, Gweon O C. Comparison of phenolic acids and flavonoids in black garlic at different thermal processing steps [J]. *Journal of Functional Foods*, 2013, 5: 80-86
- [4] Bae S E, Cho S Y, Won Y D, et al. A comparative study of the different analytical methods for analysis of S-allylcysteine in black garlic by HPLC [J]. *LWD-Food Science and Technology*, 2012, 46: 532-535
- [5] Kim J H, Nam S H, Rico C W, et al. A comparative study on the antioxidative and anti-allergic activities of fresh and aged black garlic extracts [J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2012, 47(6): 1176-1182
- [6] Patras A, Brunton N P, Peieve S Da, et al. Impact of high pressure processing on total antioxidant activity, phenolic, ascorbic acid, anthocyanin content and colour of strawberry and blackberry purées [J]. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2009, 10: 308-313
- [7] 宋丹丹, 马永昆, 蒋家奎, 等. 超高压处理对大蒜风味的影响 [J]. *食品与发酵工业*, 2008, 34(5): 87-91
Song D D, Ma Y K, Jiang J K, et al. Effect of ultra high pressure treatment on volatile compounds in garlic [J]. *Food and Fermentation Industries*, 2008, 34(5): 87-91
- [8] 周振, 周能. 苯酚-硫酸法测定仁东大蒜中的总糖 [J]. *食品研究与开发*, 2012, 33(6): 137-142
Zhou Z, Zhou N. Determination of total sugar in Ren-dong garlic by phenol-sulfuric acid method [J]. *Food Research and Development*, 2012, 33(6): 137-142
- [9] 宋晓红, 刘世琦, 刘颖颖, 等. 黑大蒜中多酚化合物微波辅助

- 提取工艺优化[J].山东农业科学,2012,44(5):110-113
- Song X H, Liu S Q, Liu Y Y, et al. Technology optimization for microwave-assisted extraction of polyphenols from black garlic [J]. Shandong Agricultural Sciences, 2012, 44 (5): 110-113
- [10] 高海宁,李彩霞,张勇,等. “黑美人” 土豆色素体外抗氧化性研究[J].天然产物研究与开发,2012,24:224-283,233
- Gao H N, Li C X, Zhang Y, et al. Antioxidant activity of the pigment from "black beauty" potato[J]. Natural Product Research and Development, 2012, 24: 224-283, 233
- [11] 安东.黑蒜加工工艺的研究[M].山东:山东农业大学,2011
- An D. Studies on the processing technology of black garlic [M]. Shandong: Shandong Agricultural University, 2011
- [12] Kwon O C, Woo K S, Kim T M, et al. Physicochemical characteristics of garlic (*Allium sativum*) on the high temperature and pressure treatment [J]. Korean Journal of Food Science and Technology, 2006, 38: 331-336
- [13] Roldán-Marín E, Sánchez-Moreno C, Lloría R, et al. Onion high-pressure processing: Flavonol content and antioxidant activity [J]. LWT - Food Science and Technology, 2009, 42: 835-841
- [14] 孙月娥,吕丹娜,王卫东,等.美拉德反应对大蒜抗氧化活性的影响[J].食品工业科技,2013,34(9):119-123
- Sun Y E, Lv D N, Wang Wei-dong, et al. Effect of Maillard reaction on antioxidant activity of garlic [J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(9): 119-123
- [15] Mcinerney J K, Seccafien C A, Stewart C M, et al. Effects of high pressure processing on antioxidant activity, and total carotenoid content and availability, in vegetables [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2007, 8: 543-548