

火麻油、山茶油和维生素 E 混合物 对大小鼠抗氧化作用的研究

段雨劼, 肖丽佳, 李理, 胡余明

湖南省疾病预防控制中心, 湖南 长沙 410005

摘要: **目的** 研究火麻油、山茶油和维生素 E 混合物的抗氧化作用。 **方法** 采用老龄大小鼠模型、乙醇氧化损伤大鼠模型, 观察实验动物丙二醛 (malondialdehyde, MDA)、还原性谷胱甘肽 (glutathione, GSH)、蛋白质羰基含量和超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活力水平。 **结果** 火麻油、山茶油和维生素 E 混合物可提高老龄大鼠 GSH 含量、SOD 和 GSH-Px 活力, 降低蛋白质羰基含量; 火麻油、山茶油和维生素 E 混合物可提高老龄小鼠及乙醇氧化损伤模型大鼠 GSH 含量、SOD 活力, 并降低 MDA 含量。 **结论** 火麻油、山茶油和维生素 E 混合物具有较强的抗氧化作用。

关键词: 抗氧化; 火麻油; 山茶油; 维生素 E

中图分类号: R944.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-3110(2021)01-0070-04 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2021.01.017

Antioxidant activities of the mixture of hemp seed oil, camellia oil and vitamin E in rats and mice

DUAN Yu-jie, XIAO Li-jia, LI Li, HU Yu-ming

Hunan Provincial Center for Disease Control and Prevention, Changsha, Hunan 410005, China

Corresponding author: HU Yu-ming, E-mail: Huyuming@vip.sina.com

Abstract: **Objective** To study the antioxidant effects of the mixture of hemp seed oil, camellia oil and vitamin E. **Methods** We inspected the quantity of malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH) and protein carbonyl, and the level of superoxide dismutase (SOD) activity in aged rat and mouse models and ethanol oxidation injury rat models, respectively. **Results** The mixture of hemp seed oil, camellia oil and vitamin E could increase GSH content, SOD and GSH-Px activity, and reduce the content of protein carbonyl in aged rats. The mixture of hemp seed oil, camellia oil and vitamin E could increase GSH content and SOD activity, and reduce MDA content in aged mice and ethanol-induced oxidative damage rats. **Conclusions** The mixture of hemp seed oil, camellia oil and vitamin E has strong anti-oxidation effects.

Keywords: antioxidation; hemp seed oil; camellia oil; vitamin E

机体抗氧化系统由各种抗氧化酶和小分子非酶抗氧化剂组成,如超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px)、还原性谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 和过氧化氢酶等。正常情况下,抗氧化系统与自由基的产生处于动态平衡状态。当机体受到辐射、代谢外源性化学物和衰老等情况时,可产生过多的自由基导致脂质、蛋白质氧化损伤产生丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 和蛋白质羰基,破坏生物膜结构以及诱发细胞器功能障碍,最终导致细胞凋亡和死亡^[1]。因此,补充外源性抗氧化物质提高机体抗氧化能力,开发天然无害又具有抗氧化功能的食品,已成为人们关注的热点。火

麻仁,是桑科植物大麻的干燥成熟种子,经过物理冷榨或亚临界低温萃取制得的植物油称为火麻油。研究表明,火麻油富含油酸、亚油酸和 α -亚麻酸等不饱和脂肪酸,具有降血脂、改善记忆力、抗氧化等作用^[2-3]。山茶油,是油茶树种子所制得的天然食用油。现代研究表明,山茶油还具有预防心血管硬化、抑制过氧化、抗肿瘤和调节血糖等作用^[4]。维生素 E,是一种天然强有效的脂溶性抗氧化剂,是构成机体抗氧化系统的重要成员,它可减轻细胞过氧化损伤程度和防止油脂的氧化^[5-6]。本研究就火麻油、山茶油、维生素 E 混合物对老龄大鼠模型、老龄小鼠模型和乙醇氧化损伤大鼠模型的抗氧化作用进行了初步研究,为进一步开发火麻油、山茶油和维生素 E 保健食品应用提供一定的理论依据和动物实验数据参考。

作者简介: 段雨劼 (1989-), 女, 硕士, 主管医师, 主要从事食品毒理与营养工作。

通信作者: 胡余明, E-mail: Huyuming@vip.sina.com。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂 电子天平,UV-2600 型紫外可见分光光度计(日本 Shimadzu 公司),酶标仪(美国 Molecular Devices 公司),X1R 高速冷冻离心机(美国 Thermo Fisher 公司),AU680 全自动生化分析仪(美国 Beckman Coulter 公司),组织匀浆器等。丙二醛(MDA)、蛋白质羰基、SOD、GSH、GSH-Px 测试盒均由南京建成生物工程研究所提供。

1.2 受试样品 受试样品由某公司提供,规格为 500 mg/粒,人体口服推荐剂量为每日 2.0 g,分两次服用。受试样品中火麻油的比例为 50%,山茶油的比例为 46%,另有 4%的维生素 E。

1.3 实验方法

1.3.1 老龄大鼠模型 选用 500~700 g 雄性老龄 SD 大鼠 40 只,动物来源为广西医科大学实验动物中心,实验动物生产许可证号为 SCXK 桂 2014-0002,大鼠饲养于 SPF 级动物房,室温 20℃~25℃,湿度 40%~70%,自由摄食、饮水。按血清中 MDA 水平随机分为对照组、维生素 E 阳性对照组和受试样品低、中、高剂量组,每组 8 只。受试样品低、中、高剂量分别为 87.5、175.0、350.0 mg/(kg·bw)。维生素 E 阳性对照组为 7.0 mg/(kg·bw)。受试物配置时,选植物油为受试样品溶剂,对照组给予等体积植物油。分别给予受试动物灌胃,灌胃体积为 2 ml/kg,每日 1 次,连续给予 30 d。实验结束时,取老龄大鼠血及肝脏,测定血清及肝组织匀浆液中 MDA、蛋白质羰基、GSH 含量和 SOD、GSH-Px 活力。

1.3.2 老龄小鼠模型 选用 8~10 月龄雄性老龄 ICR 小鼠 40 只,动物由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供,实验动物生产许可证号为 SCXK(湘)2016-0002。实验条件为屏障环境,实验期间实验环境温度 22℃~24℃,湿度 50%~54%。按 4%溶血液中 MDA 水平随机分为对照组和受试样品低、中、高剂量组,每组 10 只。受试样品低、中、高剂量分别为 167、333、1 000 mg/(kg·bw)。受试物配置时,选植物油为受试样品溶剂,对照组给予等体积植物油。分别给予受试动物灌胃,灌胃体积为 10 ml/kg,每日 1 次,连续给

予 30 d。实验结束时,取老龄小鼠血,测定 4%溶血液中 MDA 含量、全血中 GSH 含量、血清中 SOD 含量和 GSH-Px 活力。

1.3.3 乙醇氧化损伤模型 选 180~220 g 雄性健康 SD 大鼠 60 只,动物由广东省医学实验动物中心提供,生产许可证号为 SCXK(粤)2013-0002,动物饲养于屏障环境大鼠实验室,温度 23℃~25℃,相对湿度 52%~69%。按 2%溶血液中 MDA 水平随机分为模型对照组、空白对照组和受试样品低、中、高剂量组,每组 12 只动物。受试样品低、中、高剂量分别为 167、333、667 mg/(kg·bw)。剂量组给予不同浓度受试样品,模型对照组给予同体积溶剂,灌胃体积均为 4 ml/(kg·BW),连续灌胃 30 d,空白对照组不做处理。末次灌胃后,模型对照组和剂量组禁食 16 h,然后一次性灌胃给予 50%乙醇 12 ml/(kg·bw),6 h 后采血及肝脏,制备血清、2%溶血液、10%肝组织匀浆等(空白对照组不做处理,不禁食取材),分别测定 MDA、蛋白质羰基、SOD 和 GSH 等指标。

1.4 统计学分析 采用 Excel、SPSS 软件进行统计分析。计量资料采用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,正态分布资料采用单因素方差分析进行总体比较,发现差异再采用 LSD-*t* 检验进行多个剂量组与对照组均数间的两两比较, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 火麻油、山茶油和维生素 E 对老龄大鼠抗氧化指标的影响 试验前各组血清 MDA 含量差异无统计学意义($P>0.05$)。与对照组比较,维生素 E 阳性对照组和低、中、高剂量组血清 MDA 含量差异无统计学意义($P>0.05$);维生素 E 阳性对照组和低、中、高剂量组血清 SOD、GSH-Px 活力与对照组比较均升高,且差异有统计学意义($P<0.01$);维生素 E 阳性对照组和低、中、高剂量组血清蛋白质羰基含量与对照组比较差异有统计学意义($P<0.01$);与对照组比较,高剂量 GSH 含量无明显差异,维生素 E 阳性对照组和低、中剂量组血清 GSH 含量升高,差异有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$),见表 1。

表 1 火麻油、山茶油和维生素 E 对老龄大鼠血清抗氧化指标的影响($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	试验前 MDA (nmol/ml)	试验后 MDA (nmol/ml)	蛋白质羰基 (nmol/mg prot)	SOD (U/ml)	GSH (nmol/ml)	GSH-Px (U/ml)
对照组	1.43±0.72	1.77±0.77	19 471.62±3 830.61	64.53±37.07	71.81±28.89	3 562.50±254.73
阳性对照组	1.39±0.75	1.75±0.45	11 250.58±3 062.90 ^b	203.49±39.40 ^b	117.89±26.13 ^b	4 159.54±182.65 ^b
低剂量组	1.42±0.86	1.76±0.37	10 429.51±1 013.04 ^b	340.39±42.56 ^b	104.14±16.12 ^a	4 219.30±311.72 ^b
中剂量组	1.39±0.71	2.22±0.42	12 829.64±3 206.00 ^b	302.55±29.44 ^b	100.98±15.79 ^a	4 208.88±167.39 ^b

续表 1

组别	试验前 MDA (nmol/ml)	试验后 MDA (nmol/ml)	蛋白质羰基 (nmol/mg prot)	SOD (U/ml)	GSH (nmol/ml)	GSH-Px (U/ml)
高剂量组	1.40±0.73	1.77±0.73	12 469.51±3 521.78 ^b	339.06±20.42 ^b	90.44±11.97	4 282.89±308.66 ^b
<i>F</i> 值	0.006	1.036	10.770	92.040	5.441	11.016
<i>P</i> 值	1.000	0.403	0.000	0.000	0.002	0.000

注:与对照组比较,a 表示 $P<0.05$,b 表示 $P<0.01$ 。

在老龄大鼠肝匀浆中,与对照组比较,维生素 E 阳性对照组和低、中、高剂量组 MDA、蛋白质羰基含量无明显差异($P>0.05$);维生素 E 阳性对照组和低、中、高剂量组 SOD、GSH-Px 活力与对照组比较均升高,且差

异有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与对照组比较,维生素 E 阳性对照组和中、高剂量组 GSH 含量升高,差异有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$),见表 2。

表 2 火麻油、山茶油和维生素 E 对老龄大鼠肝匀浆抗氧化指标的影响($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	MDA(nmol/mg prot)	蛋白质羰基(nmol/mg prot)	SOD(U/mg prot)	GSH(nmol/mg prot)	GSH-Px(U/mg prot)
对照组	1 946.60±464.81	681.81±100.39	15.11±11.73	1 269.10±211.38	1 203.90±264.64
阳性对照组	2 052.46±712.61	516.02±174.09	47.62±20.67 ^a	1 840.83±455.56 ^a	1 681.95±352.36 ^a
低剂量组	2 317.32±685.63	638.87±253.56	43.84±23.16 ^a	1 626.25±463.35	1 753.65±345.02 ^a
中剂量组	2 306.95±732.31	619.54±265.00	61.14±20.56 ^b	1 787.09±415.74 ^a	1 900.55±429.85 ^b
高剂量组	2 020.59±329.71	629.54±235.29	62.20±26.33 ^b	1 924.29±315.41 ^b	1 910.08±345.13 ^b
<i>F</i> 值	0.642	0.654	6.556	3.629	5.395
<i>P</i> 值	0.636	0.628	0.000	0.014	0.002

注:与对照组比较,a 表示 $P<0.05$,b 表示 $P<0.01$ 。

2.2 火麻油、山茶油和维生素 E 对老龄小鼠抗氧化指标的影响 试验前各组 4%溶血液 MDA 含量差异无统计学意义($P>0.05$)。与对照组比较,高剂量组 4%溶血液 MDA 含量降低,血清 SOD 活力和全血 GSH 含量升高,差异有统计学意义($P<0.05$);各组血清蛋白质羰基含量与对照组比较无统计学意义($P>0.05$),见表 3。

表 3 火麻油、山茶油和维生素 E 对老龄小鼠抗氧化指标的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	试验前 MDA (nmol/ml 4% 溶血液)	试验后 MDA (nmol/ml 4% 溶血液)	蛋白质羰基 (nmol/mg prot 血清)	SOD (U/ml 血清)	GSH (gGSH/L 全血)
对照组	14.31±2.97	15.42±2.43	0.716±0.191	152.99±29.69	0.388±0.066
低剂量组	14.03±2.89	14.93±3.06	0.703±0.142	154.50±25.54	0.414±0.063
中剂量组	13.89±2.54	13.91±2.80	0.649±0.265	169.86±27.03	0.435±0.049
高剂量组	14.17±2.60	12.07±2.52 ^a	0.519±0.210	191.41±30.23 ^a	0.471±0.058 ^a
<i>F</i> 值	0.042	2.973	1.882	4.011	3.468
<i>P</i> 值	0.988	0.044	0.150	0.015	0.026

注:与对照组比较,a 表示 $P<0.05$ 。

2.3 火麻油、山茶油和维生素 E 对乙醇氧化损伤模型

大鼠抗氧化指标的影响 在乙醇氧化损伤模型大鼠肝匀浆中,与模型对照组比较,高剂量组 MDA 含量降低,差异有统计学意义($P<0.05$);中、高剂量组 GSH 活力均升高,且差异有统计学意义($P<0.05$),见表 4。

试验前各组 2%溶血液 MDA 含量差异无统计学意义($P>0.05$)。在乙醇氧化损伤模型大鼠中,与模型对照组比较,中剂量组 2%溶血液 MDA 含量降低,差异有统计学意义($P<0.05$);中、高剂量组血清 SOD 活力均升高,且差异有统计学意义($P<0.05$),见表 5。

表 4 火麻油、山茶油和维生素 E 对乙醇氧化损伤模型大鼠肝匀浆抗氧化指标的影响($\bar{x}\pm s, n=12$)

组别	MDA (nmol/mg prot)	蛋白质羰基 (nmol/mg prot)	SOD (U/mg prot)	GSH (mg/g prot)
空白对照组	1.63±0.49	6.63±1.63	14.9±2.58	1.25±0.18
模型对照组	2.14±0.48	6.68±1.71	12.9±1.44	1.11±0.21
低剂量组	1.93±0.56	5.52±1.13	13.6±1.44	1.39±0.34
中剂量组	1.83±0.31	5.45±1.57	13.0±1.53	1.45±0.33 ^a
高剂量组	1.59±0.43 ^a	5.05±1.46	13.7±1.96	1.41±0.27 ^a
<i>F</i> 值	2.996	2.666	0.655	3.364
<i>P</i> 值	0.041	0.059	0.584	0.027

注:与模型对照组比较,a 表示 $P<0.05$ 。

表 5 火麻油、山茶油和维生素 E 对乙醇氧化损伤模型大鼠血清抗氧化指标的影响($\bar{x}\pm s, n=12$)

组别	试验前 MDA(nmol/ml 2%溶血液)	试验后 MDA(nmol/ml 2%溶血液)	蛋白质羰基(nmol/mg prot 血清)	SOD(U/ml 血清)	GSH(mg/L 血清)
空白对照组	4.16±0.62	6.80±1.39	1.15±0.23	143.4±13.65	21.2±3.65
模型对照组	4.09±0.68	7.48±1.40	1.18±0.27	138.1±9.66	19.9±2.96
低剂量组	4.07±0.66	6.88±1.12	1.23±0.27	144.7±12.60	22.2±5.66
中剂量组	4.05±0.67	6.00±1.02 ^a	1.01±0.22	154.0±13.87 ^a	23.1±5.49
高剂量组	4.12±0.58	6.94±1.25	1.12±0.23	151.1±11.99 ^a	21.1±4.61
<i>F</i> 值	0.027	3.097	1.645	4.074	1.013
<i>P</i> 值	0.994	0.036	0.193	0.012	0.396

注:与模型对照组比较,a 表示 $P<0.05$ 。

3 讨论

在本次实验中,火麻油、山茶油和维生素 E 混合物可不同程度的提高老龄大鼠模型血清和肝组织中 GSH 含量、SOD 和 GSH-Px 活力,降低血清蛋白质羰基含量;火麻油、山茶油和维生素 E 混合物对老龄小鼠模型提高血清中 SOD 活力和全血中 GSH 含量,并降低溶血液中 MDA 含量;在乙醇氧化损伤模型大鼠中,肝组织和溶血液中 MDA 均降低,肝组织 GSH 含量和血清 SOD 活力均增加。结果提示,火麻油、山茶油和维生素 E 混合物对实验动物具有抗氧化作用,这与国内外既往有关火麻油、山茶油、维生素 E 抗氧化结果相似。

研究表明,火麻油在急性毒性试验、遗传毒性试验和亚慢性毒性试验中,未观察到毒性作用。同时检测亚慢性毒性试验大鼠血清抗氧化指标发现,雌雄性大鼠血清 SOD、GSH-Px 活力水平均提高,MDA 含量降低^[7]。与辐射模型对照组比较,火麻油可降低辐射小鼠血清和脑、肝、肾组织中 MDA 含量,增加 SOD 活力,并呈现一定的剂量效应关系。在高脂血症大鼠模型中,火麻油可明显降低大鼠血清中总胆固醇、甘油三酯含量及动脉粥样硬化指数,同时提高血清和肝组织中 SOD 酶活性,并降低血清中 MDA 含量,提示火麻油降低血脂作用的机制与其改善脂质代谢和增加抗氧化能力有关^[8]。火麻油对实验动物抗氧化作用,可能与其富含多种不饱和脂肪酸有关^[9],主要是亚油酸和 α -亚麻酸这两种必需多不饱和脂肪酸和油酸,且亚油酸和亚麻酸的比值在 (2.48~2.93):1 之间,符合世界卫生组织推荐的最佳标准^[2,10]。此外,在 DPPH 自由基清除能力试验中发现,火麻仁各提取部位的多酚含量和抗氧化能力存在一定的相关性,推测火麻油富含的多酚类化合物是其具有抗氧化活性的主要来源^[10]。维生素 E 是一类化学结构相似的酚类化合物总称,并早已作为食品添加剂广泛应用于植物油、动物油脂、罐头和油炸面等食品中,保护不饱和油脂免受氧化损伤,从而起到良好的抗氧化作用^[5]。研究表明,维生素 E 可通过提高果蝇幼虫过氧化氢酶活性和 GSH 含量,来降低辐射氧化损伤程度并提高果蝇的辐射抗性^[11]。与对照组相比,维生素 E 干预组小鼠耳蜗 SOD 和 GSH-Px 活性增高、外毛细胞数增加、听觉脑干反射阈值明显降低,提示维生素 E 可能通过抑制小鼠耳蜗氧化应激从而减轻与年龄有关的听力丧失^[12]。在大鼠肾缺血再灌注后,心肌组织 MDA 含量增加而 SOD 活性降低,当给予维生素 E 后,大鼠心肌组织中 MDA 含量降低而 SOD 活性增加,血流动力学指标升高和镜下心肌损伤减轻等改变,提示维生素 E 对缺血再灌注后的心肌具

有保护作用可能与其抗氧化作用有关^[13]。在体外实验中,山茶油具有清除 DPPH 自由基和 ABTS 自由基的作用,并呈剂量效应关系,这可能与其富含酚类和黄酮类化合物有关^[14-15]。在 D-半乳糖亚急性模型小鼠中,山茶油可提高小鼠皮肤中的 SOD、过氧化氢酶和 GSH-Px 酶活力,并降低 MDA 含量,提高小鼠皮肤的抗氧化能力并对延缓皮肤衰老起一定的作用^[15]。相比于猪油、氧化茶油,山茶油干预的小鼠血浆总抗氧化能力较强, SOD、GSH-Px、过氧化氢酶活力较高,且 MDA 含量较低^[16]。

综上所述,火麻油、山茶油和维生素 E 混合物配伍合理并具有抗氧化作用。但火麻油、山茶油的活性成分及作用机制,维生素 E 与火麻油、山茶油是否存在联合作用等仍是研究热点,且基于复合抗氧化链的概念,混合应用多种抗氧化剂比单独应用的效果好已得到证实^[17]。本实验为进一步开发火麻油、山茶油和维生素 E 抗氧化功能的产品提供一定的动物实验数据。

参考文献

- [1] 才真,王春革.天然药物抗氧化、抗衰老的研究进展[J].医学综述,2014,20(16):2994-2995.
- [2] 赵庄.火麻仁油的药理功能及安全性研究进展[J].食品工业科技,2017,38(21):319-323.
- [3] Mahmoud A, ElSohly, Desmond S. Chemical constituents of marijuana: the complex mixture of natural cannabinoids[J]. Life Sci, 2005, 78(5):223.
- [4] 冯秋瑜,宋宁,黄慧学,等.山茶油的药用研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(10):215-220.
- [5] 陈晓迪,刘飞,徐虹.脂溶性天然抗氧化剂的研究进展[J].食品科学,2017,38(3):299-304.
- [6] Korotkova EI, Avramchik OA, Kagiya TV, et al. Study of antioxidant properties of a water-soluble vitamin E derivative - tocopherol monoglucoside (TMG) by differential pulse voltammetry[J]. Talanta, 2004, 63(3):729-734.
- [7] 扈学伟,李永进,王军波,等.火麻仁油安全性评价及血清抗氧化功能初步研究[J].中国食品卫生杂志,2008,20(5):388-392.
- [8] 张丹丹,但汉雄,黄慧辉,等.火麻仁油对高脂血症大鼠血脂代谢及保肝作用研究[J].中国药师,2015,18(4):571-573,597.
- [9] Porto CD, Decorti D, Tubaro F. Fatty acid composition and oxidation stability of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed oil extracted by supercritical carbon dioxide[J]. Ind Crop Prod, 2012, 36(1):401-404.
- [10] 陈成.火麻仁抑制血管紧张素转化酶和抗氧化活性的研究[D].重庆:重庆大学,2015.
- [11] 贺特,马云,王五洲,等.维生素 E 对果蝇辐射氧化损伤机制的影响[J].国际放射医学核医学杂志,2019,43(3):257-262.
- [12] 李兴程,周涛.维生素 E 对 CBA 小鼠年龄相关性听力损失的保护作用及其机制[J].临床与病理杂志,2019,39(11):2356-2362.
- [13] 弭小艺,岳清,陈俊良,等.维生素 E 对大鼠肾缺血再灌注后心肌损伤的影响[J].中国比较医学杂志,2019,29(6):65-71.
- [14] 张志英.山茶油抗氧化防辐射活性成分及其机理的研究[D].杭州:浙江大学,2006.
- [15] 王姝畅,吴亚妮.山茶籽油对 D-半乳糖亚急性小鼠皮肤的影响[J].日用化学工业,2019,49(5):320-327.
- [16] 尹彩娜,施用晖,王艳艳,等.猪油、茶油及氧化茶油对小鼠抗氧化能力和血脂代谢的影响[J].营养学报,2008,30(6):624-626.
- [17] 嵇蓉,吴可.亚健康、氧化应激与抗氧化[J].实用预防医学,2007,14(6):1959-1962.