

黑蒜中5-羟甲基糠醛的生成规律及安全性评价

王聪聪, 郑振佳, 卢晓明, 李宁阳, 乔旭光*

(山东农业大学食品科学与工程学院, 山东省高校食品加工技术与质量控制重点实验室, 山东 泰安 271018)

摘要: 黑蒜在加工过程中进行糖类热降解反应和美拉德反应会生成一定量的5-羟甲基糠醛(5-hydroxymethylfurfural, 5-HMF), 其既具有毒性又具有药理性, 研究该物质的生成规律和安全性可以对黑蒜的食用安全性提供重要依据。本研究通过测定黑蒜加工过程中5-HMF和还原糖、总酸以及总游离氨基酸的含量变化并分析其相关性, 探究5-HMF的生成规律; 此外, 通过小鼠28 d经口毒性实验考察5-HMF对黑蒜食用安全性的影响。结果发现, 随着黑蒜加工时间的延长, 5-HMF和总酸的含量不断增加, 还原糖含量和总游离氨基酸含量先增加后减少, 5-HMF含量与总酸和还原糖含量呈正相关, 与总游离氨基酸含量呈负相关。小鼠28 d经口毒性实验结果表明, 单独摄入2 g/kg m_b 剂量的黑蒜对小鼠的健康状况和器官组织没有不良影响, 而一定剂量的5-HMF单体能引起小鼠的谷草转氨酶活力升高和肾小管上皮细胞发生轻度变性。5-HMF对小鼠的未观察到有害作用剂量为200 mg/kg m_b , 约是人体每日通过黑蒜可能摄入量的1 176倍。因此, 虽然一定剂量的5-HMF对小鼠有轻微毒性, 但人体每日通过黑蒜摄入的量远远低于其对小鼠的未观察到有害作用剂量, 由此可认为在正常食用黑蒜的情况下, 5-HMF不会对黑蒜的食用安全性产生影响。

关键词: 黑蒜; 5-羟甲基糠醛; 安全性

Formation and Safety Evaluation of 5-Hydroxymethylfurfural in Black Garlic

WANG Congcong, ZHENG Zhenjia, LU Xiaoming, LI Ningyang, QIAO Xuguang*

(Key Laboratory of Food Processing Technology and Quality Control in Shandong Province, College of Food Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China)

Abstract: 5-Hydroxymethylfurfural (5-HMF), exerting both toxic and pharmacological effects, is produced by thermal degradation of carbohydrates and the Maillard reaction during the aging process of black garlic. Understanding the formation and safety of 5-HMF is important for evaluating the food safety of black garlic. To investigate the formation of 5-HMF in black garlic during the aging process, in this study we measured the contents of 5-HMF, reducing sugar, total acid and total free amino acids during the processing of black garlic, and analyzed the correlations between 5-HMF and other compounds. The effect of 5-HMF on the food safety of black garlic was investigated by a 28-day oral toxicity test in mice. This research found that the contents of 5-HMF and total acids increased with processing time, while the contents of reducing sugar and total free amino acids increased first and then decreased. 5-HMF content was positively correlated with the contents of total acid and reducing sugar, but negatively correlated with the content of total free amino acids. Meanwhile, the oral toxicity test showed that a dose of 2 g/kg m_b of black garlic had no adverse effect on the health of mice, but a certain dose of 5-HMF caused an increase in the activity of glutamic oxaloacetic transaminase and mild degeneration of renal tubular epithelial cells in mice. The results showed the no observed adverse effect level (NOAEL) of 5-HMF in mice was 200 mg/kg m_b , which was 1 176 times higher than the possible daily intake of 5-HMF by black garlic consumption. Therefore, although a certain dose of 5-HMF was slightly toxic to mice, the daily intake of 5-HMF by black garlic consumption was much lower than the NOAEL of 5-HMF in mice. Hence it can be concluded that 5-HMF has no adverse effect on the food safety of black garlic in the case of normal consumption.

Keywords: black garlic; 5-hydroxymethylfurfural; safety

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20210108-085

中图分类号: TS255.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2022) 03-0100-06

收稿日期: 2021-01-08

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (31801559); 山东省重大科技创新工程项目 (2019JZZY020607);

山东省泰山产业领军人才工程高效生态农业创新类计划项目 (tscy20200121)

第一作者简介: 王聪聪 (1990—) (ORCID: 0000-0001-9364-6035), 女, 硕士, 研究方向为园产食品加工。

E-mail: 1127944206@qq.com

*通信作者简介: 乔旭光 (1965—) (ORCID: 0000-0002-7113-1345), 男, 教授, 博士, 研究方向为果蔬加工。

E-mail: xgqiao@sdau.edu.cn

引文格式:

王聪聪, 郑振佳, 卢晓明, 等. 黑蒜中5-羟甲基糠醛的生成规律及安全性评价[J]. 食品科学, 2022, 43(3): 100-105.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20210108-085. <http://www.spkx.net.cn>

WANG Congcong, ZHENG Zhenjia, LU Xiaoming, et al. Formation and safety evaluation of 5-hydroxymethylfurfural in black garlic[J]. Food Science, 2022, 43(3): 100-105. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20210108-085. <http://www.spkx.net.cn>

黑蒜是一种大蒜 (*Allium sativum* L.) 深加工产品, 由新鲜大蒜在一定温度和湿度条件下加工而成, 其颜色黑亮、酸甜软糯, 没有生大蒜的辛辣口感, 深受消费者青睐^[1-2]。黑蒜在加工过程中由于发生糖类热降解反应, 生成了5-羟甲基糠醛 (5-hydroxymethylfurfural, 5-HMF)。5-HMF具有一定的毒性, 其半致死剂量为大鼠口服3 100 mg/kg m_b 、小鼠口服1 910 mg/kg m_b ^[3]、小鼠尾静脉注射871.12 mg/kg m_b ^[4], 毒性靶器官为肾脏^[5-6]。5-HMF能诱导腺瘤引起小鼠扁平异常隐窝灶和大鼠结肠癌^[7-8], 也能通过磺化和氯化生成具有诱变作用和细胞毒性的物质^[9]。但也有报道指出, 5-HMF是很多中药的活性成分, 具有许多药理活性^[10], 如抗炎^[11]、抗氧化性及抗细胞增殖活性^[12]、预防和治疗糖尿病^[13]、 Ca^{2+} 拮抗活性和改善血液流变学特性等^[14]。本研究测定了黑蒜加工过程中5-HMF及相关物质的含量变化, 并分析了它们的相关性, 旨在揭示5-HMF在黑蒜中的生成规律; 此外, 通过小鼠28 d经口毒性实验研究了5-HMF对黑蒜安全性的影响, 以期在黑蒜的食用安全性提供理论根据。

1 材料与方法

1.1 动物、材料与试剂

清洁级健康成年昆明小鼠 (体质量18~22 g, 生产许可证号: SCXK (鲁) 20140007)、饲料购自济南朋悦实验动物繁育有限公司。

新鲜金乡白皮多瓣大蒜产自山东省金乡县; 不同品牌黑蒜为市售; 5-羟甲基糠醛标准品 (纯度 $\geq 98\%$) 购自上海源叶生物科技有限公司; 甲醇为国产色谱纯; 3,5-二硝基水杨酸 (3,5-dinitrosalicylic acid, DNS) 试剂自配; 其他试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

电热鼓风干燥箱 上海一恒科学仪器有限公司; LC-20A 高效液相色谱仪 日本岛津公司; TGL16 离心机 长沙英泰仪器有限公司; 紫外-可见分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司; PE-6800VET全自动动物血细胞分析仪 深圳普康电子有限公司; 7020全自动生化分析仪 日本日立集团。

1.3 方法

1.3.1 黑蒜的加工

取3个保鲜盒, 在底部加入饱和KCl溶液以控制湿度, 将大小均匀、外皮完整的新鲜大蒜去掉最外层皮后置于保鲜盒内自制的隔层上, 每个保鲜盒内放置12头大蒜, 密封好后置于电热鼓风干燥箱中, 设置温度为80℃, 恒温恒湿加工16 d, 每2 d从每个保鲜盒中取1.5头大蒜进行理化指标测定, 3个保鲜盒为3次平行实验。

1.3.2 理化指标测定

水分质量分数的测定参考GB 5009.3—2016《食品安全国家标准 食品中水分的测定》^[15]; 5-HMF含量的测定采用高效液相色谱法^[16]; 还原糖含量的测定采用DNS法^[17]; 总酸含量的测定参考GB/T 12456—2008《食品中总酸的测定》^[18]; 总游离氨基酸含量的测定参考GB/T 8314—2013《茶 游离氨基酸总量的测定》^[19]。以上结果均以黑蒜湿质量计。

1.3.3 小鼠28 d经口毒性实验及指标的测定

实验设5组, 包括对照组 (生理盐水)、黑蒜组 (2 g/kg m_b) 以及5-HMF低、中、高剂量组 (200、400、800 mg/kg m_b), 其中黑蒜为在1.3.1节条件下加工12 d制得, 经测定其5-HMF含量为0.91 mg/g。每组取10只小鼠, 雌雄各半, 每个性别小鼠体质量差异不超过平均体质量的 $\pm 20\%$ 。将受试物溶于水中, 通过灌胃的方式给予, 灌胃体积为10 mL/kg m_b , 每日同一时段灌胃1次, 连续给予28 d, 各组灌胃体积一致。

每天观察小鼠的一般临床表现, 每周记录体质量, 实验结束后, 计算体质量增长量; 摘眼球取血, 使用PE-6800VET全自动动物血细胞分析仪对全血进行血液学指标测定; 分离血清, 利用7020全自动生化分析仪进行血生化指标测定; 进行大体检查; 对脏器称质量, 计算脏/体比; 取部分新鲜心脏、肝脏、脾脏和肾脏, 用体积分数10%甲醛溶液固定后脱水、透明、浸蜡和包埋, 切成4 μm 薄片经苏木精-伊红染色后进行组织病理学检查。

1.4 数据处理与分析

所有实验重复进行3次, 结果表示为平均值 $\pm$ 标准偏差。采用Excel和SPSS 18.0软件分别对实验数据进行作图和分析, 利用单因素方差分析结合Duncan检验在 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 水平评估组间数据是否存在显著性差异, 利用Pearson法进行相关性分析。

2 结果与分析

2.1 黑蒜加工过程中5-HMF及相关指标含量的变化

2.1.1 黑蒜加工过程中水分质量分数的变化

由图1可知,黑蒜的水分质量分数随着加工时间的延长逐渐降低。在加工过程中,大蒜受热水分蒸发,使其水分质量分数不断降低,加工前期,水分质量分数在50%以上,此时蒜样湿软不成型;加工后期水分质量分数下降至40%左右,蒜样柔软且富有弹性。

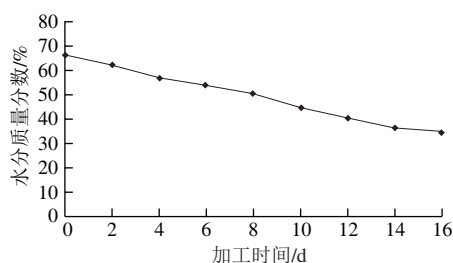


图1 黑蒜加工过程中水分质量分数的变化

Fig. 1 Changes of moisture contents during the aging process of black garlic

2.1.2 黑蒜加工过程中5-HMF含量的变化

由图2可知,新鲜大蒜中不含5-HMF,黑蒜中5-HMF的含量随着加工时间的延长逐渐升高,前期增长缓慢,后期增长迅速,在加工结束时达到最高(2.74 mg/g)。5-HMF是糖的热解产物^[20],也是美拉德反应的重要中间产物,能在晚期阶段参与反应生成类黑精^[16]。

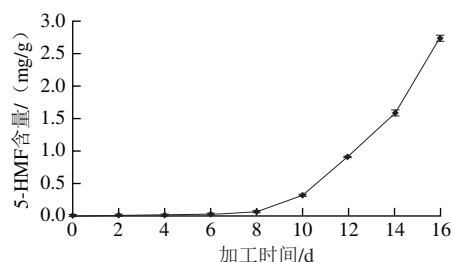


图2 黑蒜加工过程中5-HMF的含量变化

Fig. 2 Changes in 5-HMF content during the aging process of black garlic

2.1.3 黑蒜加工过程中还原糖含量的变化

由图3可知,黑蒜中还原糖的含量随着加工时间的延长先升高后降低,在第12天时达到最高(450 mg/g)。大蒜中含有丰富的多糖,在黑蒜的加工过程中,大蒜多糖不断降解产生还原糖,还原糖又能参与美拉德反应而消耗;因此,黑蒜中还原糖含量的变化是大蒜多糖降解和美拉德反应共同作用的结果^[21]。加工前期,大蒜多糖降解产生的还原糖多于美拉德反应消耗的还原糖,同时水分含量下降,因此还原糖的含量升高;加工后期,美拉德反应加速,消耗的还原糖多于大蒜多糖降解产生的还原糖,因此还原糖的含量降低。5-HMF主要通过美拉德

反应和糖类脱水形成^[22],还原糖作为5-HMF的反应底物对5-HMF的生成具有重要影响。加工至第12天时,黑蒜中的还原糖含量最高,此时5-HMF含量为0.91 mg/g。随后还原糖含量开始下降,5-HMF含量快速增加,在第16天时5-HMF含量已经约达到第12天时的3倍。

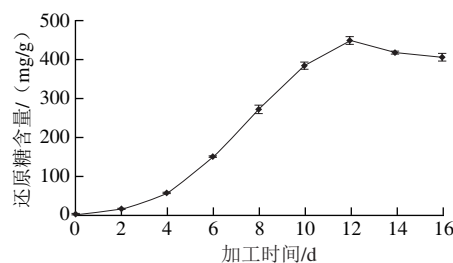


图3 黑蒜加工过程中还原糖含量的变化

Fig. 3 Changes in reducing sugar content during the aging process of black garlic

2.1.4 黑蒜加工过程中总酸含量的变化

由图4可知,黑蒜中总酸的含量随着加工时间的延长逐渐升高,在加工结束时达到最高(38.0 mg/g)。美拉德反应是一个产酸的过程,其中间产物 α -二羰基化合物能够通过降解生成甲酸、乙酸等有机酸^[23-24]。在果糖与4种代表性氨基酸(赖氨酸、甘氨酸、组氨酸、半胱氨酸)的美拉德反应模型中,反应体系的酸度均随美拉德反应的进行逐渐增加^[25]。pH值是影响5-HMF形成的重要因素,在酸性条件下,5-羟甲基糠醛甚至可以在低温时形成^[26]。Gökmen等^[27]报道在面团中加入柠檬酸,导致pH值下降,所制备饼干中的5-HMF生成量增多。曾世通等^[28]研究丙氨酸与葡萄糖美拉德反应体系中5-HMF的形成规律,得出酸性条件促进5-HMF的形成,而碱性条件抑制其形成的结论。结合图2和图4发现,随着黑蒜加工时间的延长,总酸含量越高,5-HMF增长速度越快。

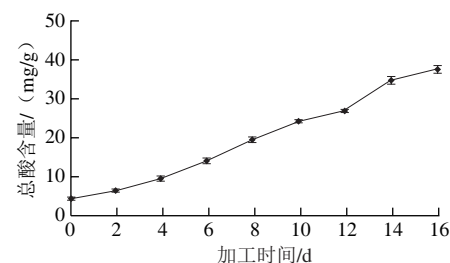


图4 黑蒜加工过程中总酸含量的变化

Fig. 4 Changes in total acid content during the aging process of black garlic

2.1.5 黑蒜加工过程中总游离氨基酸含量的变化

由图5可知,新鲜大蒜中总游离氨基酸含量为23.78 mg/g,黑蒜中总游离氨基酸含量随着加工时间的延长先升高后降低,在第6天时达到最高(27.87 mg/g)。黑蒜加工过程中,由于水分含量的减少,样品中的游离氨基酸含量出现短暂升高,同时氨基酸又能不断参与

美拉德反应而消耗,因此后期含量降低。游离氨基酸含有氨基,5-HMF含有羰基,因此游离氨基酸也可与5-HMF发生美拉德反应^[29-31],从而减少了5-HMF的积累。

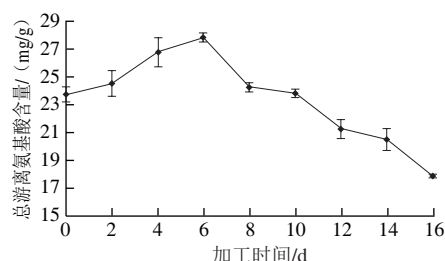


图5 黑蒜加工过程中总游离氨基酸含量的变化

Fig. 5 Changes in total free amino acid content during the aging process of black garlic

2.2 5-HMF含量与其他理化指标的相关性分析结果

对黑蒜加工过程中5-HMF含量与其他理化指标进行相关性分析,如表1所示,5-HMF含量与还原糖、总酸、总游离氨基酸含量的相关系数分别为0.689、0.874、-0.897。5-HMF含量与还原糖含量呈显著正相关($P<0.05$),表明还原糖含量越高越有利于5-HMF的积累,这是因为还原糖作为5-HMF的底物能够促进5-HMF的生成。5-HMF与总酸含量呈极显著正相关($P<0.01$),表明酸性条件下更适于5-HMF的生成,当加工至第8天,黑蒜中总酸含量达到20 mg/g后,5-HMF生成速率明显加快。5-HMF与总游离氨基酸含量呈极显著负相关($P<0.01$),表明游离氨基酸能抑制5-HMF的积累。

表1 黑蒜加工过程中5-HMF含量与其他理化指标的相关性

Table 1 Correlation between contents of 5-HMF and other compounds during the aging process of black garlic

指标	还原糖含量	总酸含量	总游离氨基酸含量
5-HMF含量	0.689*	0.874**	-0.897**

注:*.显著相关($P<0.05$);**.极显著相关($P<0.01$)。

2.3 市售黑蒜样品中5-HMF的含量

为进行黑蒜的安全性评价,对市售黑蒜中5-HMF含量进行了测定。如表2所示,市售黑蒜中5-HMF的含量最高为0.64 mg/g,平均为0.34 mg/g。

表2 市售黑蒜中5-HMF含量

Table 2 Content of 5-HMF in commercial black garlic

市售黑蒜	品牌1		品牌2		品牌3		品牌4		品牌5		品牌6	
	多瓣	独头	多瓣	独头	多瓣	独头	多瓣	独头	多瓣	独头	多瓣	独头
含量/(mg/g)	0.05	0.07	0.12	0.63	0.64	0.55	0.23	0.40				

2.4 小鼠28 d经口毒性实验结果

2.4.1 一般观察结果

实验期间至实验结束,对照组和各实验组的小鼠毛色正常,未观察到明显的异常症状和体征,也无死亡情况的发生。

2.4.2 小鼠每周体质量变化情况

小鼠每周体质量的增长情况如表3所示,在实验期间,各组小鼠的体质量都在不断增长,雄性小鼠的体质量增长明显快于雌性小鼠,但是各个实验组与同性别对照组相比没有显著性差异($P>0.05$)。

表3 小鼠每周体质量变化(n=5)

Table 3 Effects of black garlic and 5-HMF on body mass of mice every week (n=5)

性别	组别	体质量/g				
		初始	第1周	第2周	第3周	第4周
雌	对照组	22.9±1.4	28.2±2.1	31.1±2.8	33.8±2.8	35.9±3.1
	黑蒜组	23.4±0.5	27.2±0.6	32.5±1.4	34.4±1.8	36.3±2.2
	5-HMF低剂量组	23.5±0.5	27.2±1.6	30.1±2.3	33.7±2.2	35.9±1.4
	5-HMF中剂量组	23.2±1.2	28.7±2.4	32.1±3.1	35.3±3.0	36.5±2.3
	5-HMF高剂量组	23.6±0.9	27.6±1.0	29.9±1.3	33.6±2.1	35.1±2.0
雄	对照组	24.5±0.5	34.1±2.0	38.3±1.9	41.9±2.1	44.9±1.8
	黑蒜组	24.6±0.8	32.3±2.0	36.8±2.1	40.0±2.1	42.9±2.0
	5-HMF低剂量组	24.0±0.8	32.0±1.2	37.6±0.9	41.0±1.4	42.9±1.3
	5-HMF中剂量组	24.4±0.6	32.5±1.2	36.8±0.7	40.1±0.8	42.8±0.8
	5-HMF高剂量组	24.2±1.1	33.9±2.1	38.7±1.3	41.7±0.4	44.9±2.2

2.4.3 小鼠血液学指标

黑蒜和5-HMF对小鼠血液学指标的影响如表4所示,各项指标各个实验组与同性别对照组相比没有显著性差异($P>0.05$),表明黑蒜和5-HMF对小鼠血液学指标无不良影响。

表4 黑蒜和5-HMF对小鼠血液学指标的影响(n=5)

Table 4 Effects of black garlic and 5-HMF on hematological indexes of mice (n=5)

性别	组别	白细胞计数/ ($10^9 L^{-1}$)	红细胞计数/ ($10^{12} L^{-1}$)	血红蛋白 浓度/ (g/L)	平均红细胞 体积/ (fL)	平均红细胞 血红蛋白 质量/ (pg)	红细胞分布 宽度/%	血小板计 数/ ($10^9 L^{-1}$)	平均 血小板 体积/ (fL)	血小板 分布 宽度/%
雌	对照组	7.3±1.3	8.6±0.5	118±6	124.6±4.1	13.7±0.4	15.4±0.7	2.885±213	9.0±0.3	6.9±0.8
	黑蒜组	7.1±2.0	8.8±0.1	121±4	122.9±3.0	13.8±0.5	15.0±1.0	2.802±260	9.3±0.4	7.1±1.9
	5-HMF低剂量组	6.9±1.9	8.2±0.5	116±6	123.4±2.4	13.6±0.3	14.8±0.4	3.171±313	8.8±0.4	6.7±1.3
	5-HMF中剂量组	8.3±2.7	8.3±0.5	117±7	125.4±4.1	14.0±0.8	15.0±1.2	3.120±515	9.0±0.3	6.4±1.1
	5-HMF高剂量组	8.6±1.2	8.8±0.4	121±2	123.0±1.6	14.0±0.2	14.5±0.4	2.768±293	8.9±0.3	6.0±0.4
雄	对照组	7.2±1.5	8.5±0.4	113±5	123.4±2.2	13.4±0.5	14.9±0.6	3.020±258	9.4±0.3	7.8±1.9
	黑蒜组	8.0±1.6	8.4±0.3	117±7	122.6±4.0	13.5±0.4	14.3±0.3	3.043±174	9.3±0.4	8.8±2.1
	5-HMF低剂量组	7.3±2.4	8.8±0.4	115±16	119.8±3.3	13.3±0.6	14.3±1.1	3.161±255	9.5±0.3	8.6±2.4
	5-HMF中剂量组	7.8±1.6	8.9±0.4	118±8	120.1±2.2	13.4±0.2	14.6±0.5	3.005±286	9.7±0.1	9.1±2.5
	5-HMF高剂量组	7.0±2.2	8.7±0.6	117±13	119.6±2.8	13.3±0.6	14.6±0.9	2.961±299	9.5±0.5	8.6±2.7

2.4.4 小鼠血液生化指标

黑蒜和5-HMF对小鼠血液生化指标的影响如表5所示,雄性小鼠中,5-HMF高剂量组的谷草转氨酶活力与对照组相比显著升高,其他各项指标各个实验组与同性别对照组相比没有显著性差异($P>0.05$),表明黑蒜和中、低剂量的5-HMF对小鼠血液生化指标无不良影响。

表5 黑蒜和5-HMF对小鼠血液生化指标的影响 (n=5)
Table 5 Effects of black garlic and 5-HMF on blood biochemical indexes of mice (n = 5)

性别	组别	谷丙转氨酶活力/(U/L)	谷草转氨酶活力/(U/L)	碱性磷酸酶活力/(U/L)	总蛋白质量浓度/(g/L)	白蛋白质量浓度/(g/L)	尿素氮浓度/(mmol/L)	血糖浓度/(mmol/L)	甘油三酯浓度/(mmol/L)	胆固醇浓度/(mmol/L)
雌	对照组	34±12	132±21	194±24	65.5±3.3	17.3±1.2	8.64±0.83	4.8±0.8	1.65±0.46	2.37±0.45
	黑蒜组	40±6	131±14	202±34	69.3±3.1	18.0±0.7	7.90±1.15	4.5±0.4	1.43±0.40	2.42±0.46
	5-HMF-低剂量组	33±9	136±30	195±21	68.5±3.2	17.9±0.8	8.03±0.84	5.3±0.8	1.62±0.52	2.73±0.63
	5-HMF-中剂量组	41±15	137±21	196±40	69.4±4.3	17.6±1.7	8.41±1.49	5.2±1.0	1.58±0.56	2.86±0.38
	5-HMF-高剂量组	39±10	123±21	209±27	69.6±1.6	17.6±0.6	8.03±1.79	4.7±0.9	1.63±0.42	2.79±0.40
雄	对照组	36±9	123±30	203±18	67.8±2.3	16.3±0.8	10.0±0.73	5.2±1.7	1.15±0.18	3.18±0.46
	黑蒜组	33±5	122±17	202±39	68.0±4.8	16.5±1.4	9.71±0.51	5.4±0.3	1.30±0.43	2.96±0.59
	5-HMF-低剂量组	33±12	128±7	189±42	68.7±3.4	16.4±0.7	8.92±1.61	5.5±1.4	1.24±0.43	3.30±0.35
	5-HMF-中剂量组	33±10	146±18	195±20	73.2±5.1	17.2±1.5	9.60±0.95	5.6±0.5	1.15±0.14	3.27±0.41
	5-HMF-高剂量组	39±6	165±18*	192±42	73.2±4.5	17.9±1.6	9.51±0.98	5.1±0.6	1.21±0.33	3.42±0.55

注：*，与对照组比较有显著性差异 (P<0.05)。

2.4.5 小鼠脏/体比

28 d喂养实验结束后，对小鼠的脏器系数的分析结果见表6，各个实验组与同性别对照组相比没有显著性差异 (P>0.05)，表明黑蒜和5-HMF对小鼠脏/体比无不良影响。

表6 黑蒜和5-HMF对小鼠脏/体比的影响 (n=5)
Table 6 Effects of black garlic and 5-HMF on visceral organ/body mass ratios of mice (n = 5)

性别	组别	脾脏/体质量比	肾脏/体质量比	肝脏/体质量比	心脏/体质量比
雌	对照组	0.31±0.04	1.13±0.14	3.82±0.51	0.54±0.05
	黑蒜组	0.30±0.03	1.15±0.13	3.93±0.20	0.52±0.03
	5-HMF-低剂量组	0.31±0.04	1.20±0.10	3.78±0.28	0.54±0.07
	5-HMF-中剂量组	0.33±0.02	1.21±0.12	3.97±0.32	0.56±0.06
	5-HMF-高剂量组	0.33±0.03	1.20±0.09	3.85±0.36	0.56±0.02
雄	对照组	0.26±0.04	1.49±0.17	3.93±0.45	0.54±0.12
	黑蒜组	0.27±0.01	1.39±0.08	3.79±0.20	0.56±0.07
	5-HMF-低剂量组	0.26±0.02	1.43±0.14	3.80±0.24	0.55±0.06
	5-HMF-中剂量组	0.28±0.01	1.50±0.13	3.89±0.37	0.55±0.05
	5-HMF-高剂量组	0.27±0.03	1.38±0.14	3.99±0.26	0.54±0.12

2.4.6 组织病理学检查结果

实验结束时对所有小鼠进行大体解剖和观察，发现各个剂量组和对对照组的心、肝、脾、肾等脏器的组织形状、色泽、硬度均未见异常变化。如图6所示，镜检时发现5-HMF高、中剂量组的肾脏发生轻度细胞变性，主要为部分肾小管上皮细胞发生颗粒变性，对照组、黑蒜组和5-HMF低剂量组正常，综合分析可得5-HMF对小鼠的未观察到有害作用剂量为200 mg/kg m_b 。各个剂量组的其他组织未见明显的病理学改变。美国国家毒理学项目研究也发现用5-HMF喂养小鼠3个月，剂量为188 mg/kg m_b 及以上组雄性小鼠肾脏细胞质轻度改变的发生率显著增加^[6]。Bauer-Marinovic等^[5]研究表明，小鼠每天通过饮水摄入536 mg/kg m_b 剂量的HMF 12周后肾内可见轻微病变。王月明等^[32]通过急性经口毒性实验发现黑蒜属实际无毒物质。

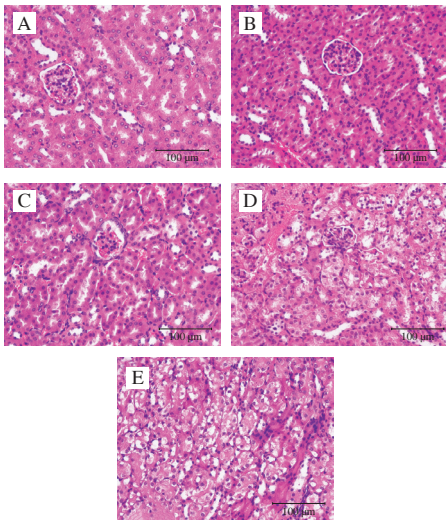


图6 黑蒜和5-HMF对小鼠肾脏组织病理学改变的影响 (400×)
Fig. 6 Effects of black garlic and 5-HMF on histopathological changes of kidney tissues of mice (400 ×)

2.4.7 黑蒜的安全性评价

2.3节测得市售黑蒜中5-HMF的平均含量为0.34 mg/g，以体质量60 kg的成年人每日食用30 g黑蒜计，人体每日通过黑蒜摄入5-HMF的量为0.17 mg/kg m_b ，而5-HMF的未观察到有害作用剂量为200 mg/kg m_b ，约是人体通过黑蒜可能摄入量的1176倍，由此可认为在正常食用黑蒜的情况下，5-HMF不会对黑蒜的食用安全性产生影响。

3 结论

在黑蒜加工过程中，5-HMF的含量随着加工时间的延长不断增加，且与还原糖和总酸含量分别呈显著和极显著正相关，与总游离氨基酸含量呈极显著负相关。还原糖会促进5-HMF的生成，游离氨基酸会抑制5-HMF的积累，总酸含量的增加有利于5-HMF的生成。小鼠28 d经口毒性实验结果表明，单独摄入2 g/kg m_b 剂量的黑蒜对小鼠的健康状况和器官组织没有不良影响，一定剂量的5-HMF单体能引起小鼠的谷草转氨酶活力升高和肾小管上皮细胞发生轻度变性，5-HMF对小鼠的未观察到有害作用剂量为200 mg/kg m_b 。虽然一定剂量的5-HMF对小鼠有轻微毒性，但人体通过黑蒜摄入的量远远低于其对小鼠的未观察到有害作用剂量，由此可认为在正常食用黑蒜的情况下，5-HMF不会对黑蒜的食用安全性产生影响。

参考文献：

[1] 王海粟, 吴昊, 杨绍兰, 等. 不同工艺黑蒜的品质比较分析[J]. 现代食品科技, 2014, 30(7): 230-236.

- [2] 杨庆丽, 董艳, 刘玉, 等. 黑蒜加工中类黑精相关成分变化及其组成分析[J]. 中国调味品, 2018, 43(9): 73-77. DOI:10.3969/j.issn.1000-9973.2018.09.015.
- [3] SIMONIAN T A. Toxicity-hygienic characteristics of oxymethylfurfural[J]. Voprosy Pitaniia, 1969, 28(1): 54-58. DOI:10.1007/s004380051079.
- [4] 林琳, 凌亚豪, 李恩灿, 等. 5-羟甲基糠醛的急性毒性和细胞毒性研究[J]. 中国药物警戒, 2018, 15(4): 205-209. DOI:10.3969/j.issn.1672-8629.2018.04.004.
- [5] BAUER-MARINOVIC M, TAUGNER F, FLORIAN S, et al. Toxicity studies with 5-hydroxymethylfurfural and its metabolite 5-sulphooxymethylfurfural in wild-type mice and transgenic mice expressing human sulphotransferases 1A1 and 1A2[J]. Archives of Toxicology, 2012, 86(5): 701-711. DOI:10.1007/s00204-012-0807-5.
- [6] National Toxicology Program. Toxicology and carcinogenesis studies of 5-(hydroxymethyl)-2-furfural (CAS No. 67-47-0) in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies)[R]. North Carolina: Department of Health and Human Services, 2010.
- [7] ZHANG X M, CHAN C C, STAMP D, et al. Initiation and promotion of colonic aberrant crypt foci in rats by 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde in thermolyzed sucrose[J]. Carcinogenesis, 1993, 14(4): 773-775. DOI:10.1093/carcin/14.4.773.
- [8] SVENDSEN C, HUSOY T, GLATT H, et al. 5-Hydroxymethylfurfural and 5-sulfooxymethylfurfural increase adenoma and flat ACF number in the intestine of *Min/+* mice[J]. Anticancer Research, 2009, 29(6): 1921-1926. DOI:10.1007/978-4-431-55501-8_11.
- [9] SURH Y J, TANNENBAUM S R. Activation of the Maillard reaction product 5-(hydroxymethyl)furfural to strong mutagens via allylic sulfonation and chlorination[J]. Chemical Research in Toxicology, 1994, 7(3): 313-318. DOI:10.1021/tx00039a007.
- [10] 关贵彬, 张瑜, 刘迪, 等. 中药与食品中共性成分5-羟甲基-2-糠醛的生物活性及其安全性研究进展[J]. 中国药师, 2018, 21(8): 136-139. DOI:10.3969/j.issn.1008-049X.2018.08.037.
- [11] KIM H K, CHOI Y W, LEE E N, et al. 5-Hydroxymethylfurfural from black garlic extract prevents TNF-induced monocytic cell adhesion to HUVECs by suppression of vascular cell adhesion molecule-1 expression, reactive oxygen species generation and NF- κ B activation[J]. Phytotherapy Research, 2011, 25(7): 965-974. DOI:10.1002/ptr.3351.
- [12] ZHAO Ling, SU Jianyu, LI Lin, et al. Mechanistic elucidation of apoptosis and cell cycle arrest induced by 5-hydroxymethylfurfural, the important role of ROS-mediated signaling pathways[J]. Food Research International, 2014, 66: 186-196. DOI:10.1016/j.foodres.2014.08.051.
- [13] CAO Gang, CAI Hao, CAI Baochang, et al. Effect of 5-hydroxymethylfurfural derived from processed *Cornus officinalis* on the prevention of high glucose-induced oxidative stress in human umbilical vein endothelial cells and its mechanism[J]. Food Chemistry, 2013, 140(1/2): 273-279. DOI:10.1016/j.foodchem.2012.11.143.
- [14] 傅紫琴, 王明艳, 蔡宝昌. 5-羟甲基糠醛(5-HMF)在中药中的研究现状探讨[J]. 中华中医药学刊, 2008, 26(3): 508-510. DOI:10.3969/j.issn.1673-7717.2008.03.022.
- [15] 国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品中水分的测定: GB 5009.3—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016: 1-6.
- [16] LIU Pengli, LU Xiaoming, LI Ningyang, et al. Effects and mechanism of free amino acids on browning in the processing of black garlic[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2019, 99(10): 4670-4676. DOI:10.1002/jsfa.9707.
- [17] 彦繁鹤, 周金梅, 吴如春. DNS法测定甘蔗渣中还原糖含量[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(2): 126-128. DOI:10.3969/j.issn.1005-6521.2015.02.031.
- [18] 国家质量监督检验检疫总局, 国家标准化委员会. 食品中总酸的测定: GB/T 12456—2008[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008: 1-5.
- [19] 国家质量监督检验检疫总局, 国家标准化委员会. 茶 游离氨基酸总量的测定: GB/T 8314—2013[S]. 北京: 中国标准出版社, 2013: 1-3.
- [20] 张玉玉, 宋弋, 李全宏. 食品中糠醛和5-羟甲基糠醛的产生机理、含量检测及安全性评价研究进展[J]. 食品科学, 2012, 33(5): 275-280.
- [21] ZHANG Xinyan, LI Ningyang, LU Xiaoming, et al. Effects of temperature on the quality of black garlic[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2016, 96(7): 2366-2372. DOI:10.1002/jsfa.7351.
- [22] LEE C H, CHEN K T, LIN J A, et al. Recent advances in processing technology to reduce 5-hydroxymethylfurfural in foods[J]. Trends in Food Science and Technology, 2019, 93: 271-280. DOI:10.1016/j.tifs.2019.09.021.
- [23] DAVIDEK T, DEVAUD S, ROBERT F, et al. Sugar fragmentation in the Maillard reaction cascade: isotope labeling studies on the formation of acetic acid by a hydrolytic β -dicarbonyl cleavage mechanism[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(18): 6667-6676. DOI:10.1021/jf060667q.
- [24] HRYNETS Y, BHATTACHERJEE A, NDAGIJIMANA M, et al. Iron Fe^{2+} -catalyzed glucosamine browning at 50 °C: identification and quantification of major flavor compounds for antibacterial activity[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(16): 3266-3275. DOI:10.1021/acs.jafc.6b00761.
- [25] 张晓溪, 曾艳, 张泽生, 等. 果糖与氨基酸美拉德反应产物的抗氧化性研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(6): 175-178.
- [26] SHAPLA U M, SOLAYMAN M, ALAM N, et al. 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) levels in honey and other food products: effects on bees and human health[J]. Chemistry Central Journal, 2018, 12(35): 1-18. DOI:10.1186/s13065-018-0408-3.
- [27] GÖKMEN V, ACAR O C, KOKSEL H, et al. Effects of dough formula and baking conditions on acrylamide and hydroxymethylfurfural formation in cookies[J]. Food Chemistry, 2007, 104(3): 1136-1142. DOI:10.1016/j.foodchem.2007.01.008.
- [28] 曾世通, 卢斌斌, 李鹏, 等. 丙氨酸与葡萄糖美拉德反应体系中HMF的形成分析[J]. 中国食品学报, 2017, 17(4): 289-293. DOI:10.16429/j.1009-7848.2017.04.035.
- [29] 王歌, 曾睿, 邱瑞霞, 等. 5-羟甲基糠醛与氨基酸反应形成的风味物质[J]. 食品与机械, 2018, 34(8): 1-4. DOI:10.13652/j.issn.1003-5788.2018.08.001.
- [30] HAMZALIOĞLU A, GÖKMEN V. Investigation and kinetic evaluation of the reactions of hydroxymethylfurfural with amino and thiol groups of amino acids[J]. Food Chemistry, 2018, 240: 354-360. DOI:10.1016/j.foodchem.2017.07.131.
- [31] ZHAO Q Z, ZOU Y Y, HUANG C H, et al. Formation of a hydroxymethylfurfural-cysteine adduct and its absorption and cytotoxicity in Caco-2 cells[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65: 9902-9908. DOI:10.1021/acs.jafc.7b03938.
- [32] 王月明, 刘宇峰, 马若波, 等. 黑蒜经口急性毒性实验研究[J]. 黑龙江科学, 2015, 6(12): 8-9. DOI:10.3969/j.issn.1674-8646.2015.12.002.