

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2022.80100

葛根降血压茶的制备及对自发性高血压大鼠的降压作用

Preparation of pueraria hypotensive tea by fermentation and its hypertensive effect on spontaneously hypertensive rats

刘璐¹ 袁亚宏¹ 岳田利^{1,2}

LIU Lu¹ YUAN Ya-hong¹ YUE Tian-li^{1,2}

(1. 西北农林科技大学食品科学与工程学院, 陕西 咸阳 712100; 2. 西北大学食品科学与工程学院, 陕西 西安 710069)

(1. College of Food Science and Engineering, Northwest A & F University, Xianyang, Shaanxi 712100, China; 2. College of Food Science and Technology, Northwest University, Xi'an, Shaanxi 710069, China)

摘要:目的:制备具有较高血管紧张素转换酶(ACE)活性体外抑制率的冠突散囊菌发酵茶,并考察发酵茶液对自发性高血压大鼠(SHR)的急性降压作用。方法:考察葛根添加量、基质含水量和孢子悬浮液对 ACE 酶活性体外抑制率的影响,并采用正交试验进行发酵工艺优化;水提法制备发酵茶液,选择 SHR 模型研究发酵茶的降血压作用。结果:最优发酵工艺为 20 g 绿茶中添加 2 g 葛根量,20% 基质含水量,5% 孢子悬浮液接种量。与对照组相比,不同剂量的葛根降血压茶对 SHR 在 24 h 内均有降低收缩压和舒张压作用。结论:300~600 mg/kg 日用剂量的葛根降血压茶的急性降压效果最显著,可在短期内降低 SHR 血压。

关键词:冠突散囊菌;葛根;绿茶;血管紧张素转换酶;自发性高血压大鼠

Abstract: Objective: This study aimed to obtain a novel fermented green tea with high ACE-inhibitory activity by *Eurotium cristatum* and to investigate its acute hypotensive effects on spontaneously hypertensive rats (SHR). **Methods:** The effects of pueraria addition, water content of substrate and spore suspension on ACE-inhibitory activity in vitro were investigated, and the fermentation process was optimized by orthogonal design experiment. The fermented tea solution was prepared by water extraction method, and SHR model was selected to study the hypotensive effect of fermented tea. **Results:** The optimal fermentation process for fermented tea was as follows: adding 2 g pueraria into 20 g green tea matrix, controlling the water content of the

matrix to 20%, inoculating 5% suspension of *E. cristatum*. Compared with the control group, different doses of fermented tea had lowering effects on blood pressure in SHR within 24 h. **Conclusion:** The acute hypotensive effect of the daily dose of 300~600 mg/kg was the most significant, which could lower the blood pressure of SHR in a short period of time.

Keywords: *Eurotium cristatum*; pueraria; green tea; angiotensin-converting enzyme; spontaneously hypertensive rats

除医学药物治疗外,茶疗法因人群饮用广泛、购买便利,是预防与治疗高血压的一种很好的辅助方法^[1]。从茯砖茶中分离出的冠突散囊菌(*Eurotium Cristatum*),也称“金花菌”,可以与多种发酵原料相互作用,通过分泌微生物酶使发酵基质具有独特的风味和口感^[2-3]。在发酵过程中茶多酚被转化成儿茶素衍生物、黄酮类化合物及其苷类、酚酸类、生物碱类和萜类等多种成分,具有抗高血压、抗氧化、减轻体重、缓解代谢综合征和调节肠道等功效^[4]。

绿茶是世界上最受欢迎的饮料之一,含有丰富的生物活性物质,长期饮用绿茶和绿茶产品对人体健康有益,特别是对癌症、心血管疾病和糖尿病人群^[5]。研究^[6]表明,绿茶对血管紧张素转换酶(ACE)活性的抑制率比发酵生产的红茶和黑茶要高,可能是多酚类物质含量和性质发生了变化。目前,葛根提取物已被应用于临床上的冠心病心绞痛、高血压的治疗,其对高盐饮食诱导的小鼠有降压作用^[7],且可改善 L-NAME 诱导的高血压大鼠心肌梗大和血管内皮细胞肿胀等症状^[8]。

研究拟利用冠突散囊菌发酵绿茶与葛根基质,以 ACE 酶活性的体外抑制率为评价指标,考察基质含水量、葛根添加量和冠突散囊菌孢子悬浮液接种量对 ACE 抑制活性的影响。同时阐述葛根降血压茶在动物体内的生物

基金项目:陕西省农业科技创新项目(编号:2018DZXM-NY-084)

作者简介:刘璐,女,西北农林科技大学在读硕士研究生。

通信作者:岳田利(1965—),男,西北农林科技大学教授,博士。

E-mail: yuetl@nwfau.edu.cn

收稿日期:2022-03-25

利用度,探究将不同剂量的发酵茶液灌胃自发性高血压大鼠(SHR)后对其血压的影响,了解葛根降血压茶在动物体内 24 h 内发挥的作用,为更好分析可能的降压机制,从其中提取或开发出降血压的新型茶类产品提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 试验材料

葛根、卡托普利:市售;

绿茶:陕西省安康市圣泰生物科技有限责任公司;

冠突散囊菌:从湖南省益阳茶厂伏砖茶中分离,保存于西北农林科技大学健康食品制造与安全实验室;

兔肺 ACE、马尿酸—组氨酸—亮氨酸(HHL,≥98%)、马尿酸(Hip,98%):西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司;

冰乙酸(≥99.9%)、甲醇(≥99.9%):色谱级,西安化学试剂厂;

硼酸、氯化钠、浓盐酸(36%):分析纯,西安化学试剂厂。

1.1.2 试验动物

体重 220~240 g,11 周龄,30 只 SPF 级雄性自发性高血压大鼠(SHR),6 只雄性 Wistar-Kyoto(WKY)大鼠,包括饲料和垫料,饲养于西北农林科技大学健康食品制造与安全实验室,购买于北京维通利华实验动物技术有限公司。

1.2 主要仪器

高效液相色谱仪:LC-2030 型,马来西亚岛津公司;

恒温恒湿培养箱:MP160B 型,上海福玛实验设备有限公司;

恒温水浴锅:HH-ZK2 型,巩义市予华仪器有限责任公司;

旋转蒸发仪:YRE-501 型,郑州长城科工贸有限公司;

高速冷冻离心机:HC-3018R 型,安徽中科中佳科学仪器有限公司;

超纯水机:ULPHW-II 型,四川优普超纯科技有限公司;

红外水分测定仪:MA35M-1CN 型,上海赛多利斯贸易有限公司;

智能无创血压计:Coda-MNTR 型,北京世联博研科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 冠突散囊菌孢子悬浮液的制备

(1) PDA 培养基活化冠突散囊菌:称取去皮的马铃薯 200 g,琼脂 20 g 和葡萄糖 20 g,量取 1 000 mL 蒸馏水。将新鲜购买的马铃薯去皮清洗干净,并切成大小均匀的块状放入合适的锅中,将量好的蒸馏水倒入锅中并在一定温度下煮沸 20 min。凉至室温后用 8 层纱布过

滤,在滤液中加入称好的葡萄糖和琼脂,加热溶解,并定容至 1 000 mL,121 ℃ 高压蒸汽灭菌 15 min。

(2) 孢子悬浮液制备:将保藏在斜面上的分离纯化的菌株接种至 PDA 培养基上,28 ℃ 恒温恒湿培养箱培养 5 d,无菌操作条件下,挑取菌丝转接到新鲜的 PDA 培养基上进行活化,28 ℃ 恒温恒湿培养箱培养 5 d。无菌操作条件下,在 PDA 培养基上加入 5 mL 无菌生理盐水,涂抹后全部倒入 100 mL 无菌生理盐水进行稀释,用血球计数板进行计数($0.5 \sim 2 \times 10^5$ 个/mL),备用。

1.3.2 不同发酵程度的葛根茶制备 称取 20 g 绿茶于灭菌锅汽蒸,加入 3 g 葛根粉(葛根打碎,过 60 目筛),采用超纯水调整发酵基质含水量为 25%,121 ℃ 灭菌锅汽蒸 15 min,冷却后接种 3% 的冠突散囊菌孢子悬浮液,于 28 ℃、78% 湿度下分别培养 5,7,9,11,13 d,取出后自然干燥 5 h 后备用。

1.3.3 单因素试验

(1) 葛根添加量:按 1.3.2 进行发酵,发酵时间 7 d,分别考察葛根添加量(1,2,3,4,5 g)对发酵茶 ACE 活性抑制率的影响。

(2) 基质含水量:按 1.3.2 进行发酵,发酵时间 7 d,分别考察基质含水量(15%,20%,25%,30%,35%)对发酵茶 ACE 活性抑制率的影响。

(3) 孢子悬浮液接种量:按 1.3.2 进行发酵,发酵时间 7 d,分别考察孢子悬浮液接种量(1%,2%,3%,4%,5%)对发酵茶 ACE 活性抑制率的影响。

1.3.4 正交优化试验 结合单因素条件优化试验结果,选取葛根添加量、含水量和孢子悬浮液接种量 3 个因素,设计 $L_9(3^1)$ 正交优化试验,分析其对 ACE 酶活性体外抑制率的影响。

1.3.5 ACE 活性抑制率测定

(1) 样品提取:将发酵茶粉碎,过 60 目筛。以无水乙醇为提取媒介,按料液比 1:10 (g/mL),常温超声(100 W,20 kHz)提取 30 min,提取两次,用旋转蒸发仪将提取液减压浓缩,得到乙醇浸膏,再将其溶于 10 mL SSB (pH 8.3),即得 100 mg/mL 的发酵茶提取物,4 ℃ 贮藏备用。

(2) 马尿酸标准曲线的建立:取浓度为 1.00 mmol/L 的马尿酸标样,用超纯水分别稀释成 0.01,0.05,0.10,0.50,1.00 mmol/L 系列浓度,在最佳流动相和波长下用 HPLC 测定 Hip 的峰面积, Hip 峰面积与浓度的线性关系为 $y = 1\,756.35x + 101.56$, $R^2 = 0.999\,5$ 。

(3) ACE 活性抑制率测定:通过 HPLC 检测马尿酸峰面积来计算抑制 ACE 活性水平,并按式(1)计算 ACE 酶活性的体外抑制率。

$$R = (C_A - C_S) / (C_A - C_0) \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

R——体外抑制率,%;

C_A ——对照组马尿酸浓度,mmol/L;
 C_S ——样品组马尿酸浓度,mmol/L;
 C_0 ——空白对照组马尿酸浓度,mmol/L。

HPLC 检测条件:检测器 SPD-M20A,Hypersil ODS C_{18} (4.6 mm×250 mm,5 μ m),流动相 A 为 0.1%冰乙酸水溶液,流动相 B 为甲醇溶液,流速 0.8 mL/min,柱温 35 $^{\circ}$ C,进样量 10 μ L,检测波长 228 nm。梯度洗脱步骤见表 1。

表 1 梯度洗脱表

Table 1 Gradient elution procedure		
时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	90	10
25	60	40
35	50	50
40	20	80
50	20	80
51	90	10
60	90	10

1.3.6 试验动物分组及剂量设置 饲养环境(25±1) $^{\circ}$ C,相对湿度 55%~65%,昼夜明暗交替,自主摄食和饮水,适应性喂养 1 周后进行灌胃试验。将根据正交试验优化得到的发酵茶打碎成粉,称取 6 g,加入 100 mL 100 $^{\circ}$ C 蒸馏水,沸水浴加热 30 min,过滤,旋蒸,100 mL 蒸馏水复溶,得到 60 g/L 的茶液提取物。每组大鼠按 1 mL/100 g 调整灌胃量。试验前,隔天测定大鼠血压,待稳定适应后开始记录试验。自发性高血压大鼠给药前血压在适应性喂养后测量,间隔 2 d 后再次测量,重复 3 次取平均值为给药前初始值。试验组分别在给药后的 2,4,6,12,24 h 测定自发性高血压大鼠的收缩压和舒张压。

将 30 只 SHR 随机分为 5 组(每组 6 只):茶高、中、低剂量组、模型对照组和阳性对照组;12 只 WKY 大鼠随机分为 2 组(每组 6 只):正常对照组、茶高剂量灌胃组。茶高剂量组(SHR-H),600 mg/kg 葛根降压茶液;茶中剂量组(SHR-M),300 mg/kg 葛根降压茶液;茶低剂量组(SHR-L),150 mg/kg 葛根降压茶液;模型对照组(SHR-NaCl),相应剂量生理盐水;阳性对照组(SHR-卡托普利),卡托普利,根据人日用量通过体表面积换算得到剂量为 1 mg/kg;正常高剂量组(WKY-H),高剂量葛根降压茶液;正常对照组(WKY),相应剂量生理盐水。

1.3.7 数据处理 所有试验重复 3 次取平均值,结果以均数±标准差表示,显著性检验为 T 检验($P<0.05$),采用 SPSS 20.0 软件进行统计处理,Excel 2016 软件作图。

2 结果与分析

2.1 发酵时间对 ACE 酶活性体外抑制率的影响

由图1可知,整个发酵过程中,除发酵第9天的茶样

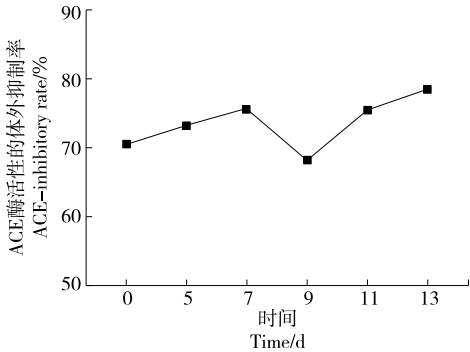


图 1 发酵过程中 ACE 酶活性的体外抑制率变化

Figure 1 Changes in ACE-inhibitory rate during fermentation

抑制率显著降低外,其他发酵茶的 ACE 酶活性抑制率均高于未发酵的绿茶,且发酵第 7 天和第 13 天的抑制率较高,分别为 74.68%和 76.03%。第 7 天的发酵茶被赋予独特的“金花菌”香,有丰富醇香的气味且苦涩程度降低,与龚受基等^[9]的结果类似。发酵同时还掩盖了葛根的中药味道和气味,与张波等^[10]的结论类似。发酵第 13 天的发酵茶存在明显霉味,感官品质上逊色于第 7 天的回甘茶香,可能是由于绿茶基质中酚类及氨基酸类物质被生物转化,且醇类化合物是发酵茶中产生花香和木香气味的挥发性物质^[11]。故选取第 7 天为发酵终止时间。

2.2 各因素对葛根降压茶 ACE 抑制率的影响

2.2.1 葛根添加量 由图 2 可知,当葛根添加量为 1 g 时,ACE 酶活性体外抑制率最高(75.43%),当葛根添加量继续增大时,ACE 酶活性抑制率呈下降趋势。当葛根添加量超过 3 g 时,发酵茶的 ACE 酶活性抑制率低于原始绿茶原料(70.11%)。在发酵基质中加入葛根是因为其活性物质,如葛根素可通过 RAAS 系统影响自发性高血压大鼠的血压,而 ACE 是经典 RAAS 过度激活的途径之一^[12]。发酵过程中,冠突散囊菌的代谢和生物转化可使茶多酚类物质含量有不同程度的下降^[9],也可将葛根中的糖苷型异黄酮转化为苷元型异黄酮^[13]。ACE 酶活性体外抑制率随葛根添加量的增大而下降,可能是因为发酵基质中绿茶基质比例降低,或具降压潜力的活性物质的成分和含量比例变化,不利于抑制 ACE 活性。研究^[14]表明,葛根降压茶中大豆苷和染料木苷的含量与发酵过程中冠突散囊菌孢子数量、微生物酶活(多酚氧化酶等)和 ACE 抑制率呈反比,即葛根的添加,不利于发酵茶的降压功效改善。故选择葛根添加量为 1~3 g。

2.2.2 基质含水量 由图 3 可知,从 ACE 酶活性体外抑制率来看,基质的最适含水量为 20%~30%。ACE 酶活性体外抑制率随基质含水量的进一步增加而下降,且最优含水量明显低于文献^[15]。这可能是因为微生物菌株的呼吸模式及生长代谢促使分泌的降解酶(如蛋白酶)适合的含水量不同^[16],致使代谢产物的生成受到影响,从而

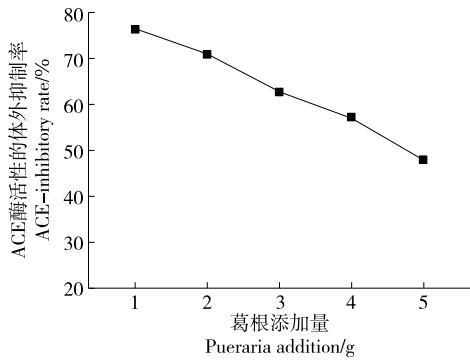


图 2 葛根添加量对 ACE 抑制活性的影响
Figure 2 Effects of pueraria addition on ACE-inhibitory rate

影响 ACE 酶活性抑制率。因此,通过对发酵基质含水量的控制,可以获得较高的 ACE 酶活性抑制率。

2.2.3 孢子悬浮液接种量 由图 4 可知,冠突散囊菌接种量与 ACE 酶活性体外抑制率呈正比,当孢子悬浮液接种量为 5% 时,ACE 活性抑制率最高,表明冠突散囊菌决定了发酵成品中具有抑制 ACE 酶活的生物活性物质生成。有研究表明,在适当接种量范围内,冠突散囊菌菌株大量生长繁殖,微生物降解酶如纤维素酶、多酚氧化酶活性会明显增加^[2],释放多种生物活性代谢物如类黄酮、茶

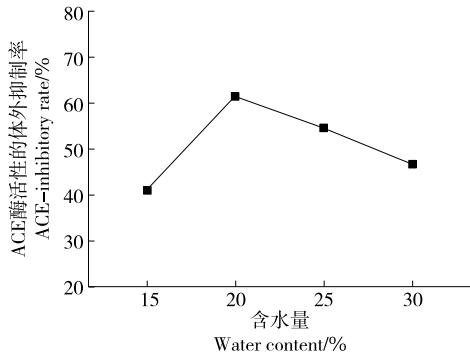


图 3 基质含水量对 ACE 抑制活性的影响
Figure 3 Effects of water content on ACE-inhibitory rate

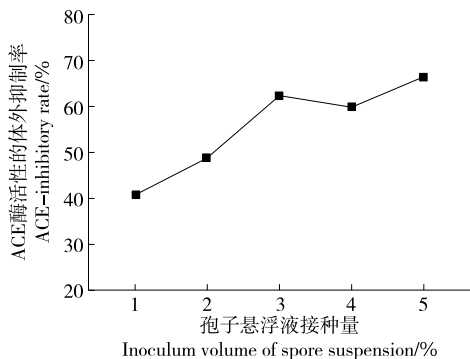


图 4 孢子悬浮液接种量对 ACE 抑制活性的影响
Figure 4 Effects of spore suspension volume on ACE-inhibitory rate

多酚衍生物、生物碱等^[17],从而非竞争性抑制 ACE 活性。冠突散囊菌在发酵过程中分泌了多种酶,如多酚氧化酶、 α -淀粉酶等,使基质中活性物质(茶多酚、生物碱等)含量发生变化,最终影响发酵茶的 ACE 抑制率^[14],说明选择较大的接种量可以有效缩短发酵周期,且采用冠突散囊菌固态发酵是一种有效的创新工艺思路。故选择孢子悬浮液接种量为 3%~5%。

2.3 正交优化试验

以单因素试验为基础,对葛根添加量、基质含水量和孢子悬浮液接种量进行正交优化设计以确定制备葛根降压茶的最优发酵条件。正交试验因素水平见表 2,试验设计及结果见表 3。

由表 3 可知,各因素对 ACE 酶活性抑制率影响大小依次为 $A > C > B$,即葛根添加量对抑制 ACE 酶活性影响最大,孢子悬浮液接种量次之,基质含水量对发酵茶的 ACE 抑制率影响最小。发酵茶的最优条件为 $A_2B_1C_3$,即葛根添加量 2 g、基质含水量 20%、孢子悬浮液接种量 5%,此条件下测得 ACE 酶活性抑制率平均值为 76.13% ($n=3$),且得到的葛根降压茶气味醇香、滋味回甘。发酵结束后高效液相色谱定量分析结果表明,茶多酚、生物碱

表 2 正交试验因素水平表
Table 2 Orthogonal test design

水平	A 葛根 添加量/g	B 基质 含水量/%	C 孢子悬浮液 接种量/%
1	1	20	3
2	2	25	4
3	3	30	5

表 3 正交试验设计及结果
Table 3 Orthogonal test design and results

序号	A	B	C	D	ACE 酶活性体外 抑制率/%
1	1	1	1	1	72.89
2	1	2	2	2	72.13
3	1	3	3	3	75.32
4	2	1	2	3	76.05
5	2	2	3	1	74.74
6	2	3	1	2	72.24
7	3	1	3	2	69.70
8	3	2	1	3	67.58
9	3	3	2	1	63.89
k_1	73.45	72.88	70.90	70.51	
k_2	74.34	71.48	70.69	71.36	
k_3	67.06	70.48	73.26	72.98	
R	7.28	2.40	2.57	2.47	

等活性物质含量发生了不同程度的变化,同时 ACE 酶活性抑制率也显著提高。

2.4 给药对自发性高血压大鼠尾动脉收缩压的影响

由表 4 可知,给药 4 h 后,SHR-卡托普利组相较 SHR-NaCl 组最高降低了(2.81±0.57) kPa;与给药前相比,灌胃卡托普利后 SHR 收缩压降低了(2.48±0.44) kPa。SHR-H 组在灌胃 6 h 后达到收缩压的最低值,与 SHR-NaCl 组相比降低了(2.42±0.22) kPa,与给药前相比降低了(2.14±0.56) kPa。与 SHR-H 组不同的是,SHR-M 组在灌胃 2 h 后出现血压升高的现象,随后与 SHR-H 组相似,在灌胃 6 h 后达到最低收缩压,比对照组降低了(1.20±0.27) kPa,且在 6 h 时相较 SHR-M 的给药前降低了(1.28±0.27) kPa。SHR-M 组整体降压效果较 SHR-H 组弱,灌胃 24 h 后收缩压也回升至给药前的初始血压。SHR-L 组大鼠状态较其他灌胃组躁动,表现为好斗。SHR-L 组的收缩压在灌胃 4 h 后开始降低明显,并在 12 h 达到最大降压效果,较 SHR-NaCl 组降低了(1.17±0.62) kPa,与给药前相比在灌胃 6 h 时降低了(1.24±0.14) kPa,降压效果与 SHR-M 组相似。说明灌胃卡托普利后降压作用可维持 18~20 h,SHR-H 组可维持 6~12 h,SHR-M 组可维持 6 h,而 SHR-L 组可维持约 8 h。随着葛根降血压茶灌胃浓度的增加,SHR 大鼠的收缩压降低幅度也随之变大,说明降压效果与葛根降血压茶的浓度有一定相关性,与邬秀宏等^[18]的研究结果相似。综上,灌胃葛根降血压茶对 SHR 大鼠具有显著的降压作用,且发酵茶的浓度越高,降压作用越明显。

发酵茶之所以可以对 SHR 起到急性降压作用,是因为其活性物质经微生物酶分解后生成的代谢产物作用于自发性高血压大鼠体内的高血压发病机制。ECG、大豆苷、染料木素、EC 和大豆苷元是葛根降血压茶中抑制 ACE 酶活性最相关的物质,且添加葛根有利于增加发酵茶对 ACE 酶活性的体外抑制率^[14],这有利于发酵茶改善肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)调节。此外,罗显扬等^[19]发现“高原明殊”绿茶显著降低了 SHR 大鼠的血

浆 Ang II 含量而发挥降压功效。李汝月等^[20]发现霉茶蛋白有一定降压作用,可改善 SHR 肾脏组织炎性病灶,并可不同程度地降低 TNF- α 和 TLR4 等炎症因子的表达水平,从而对 SHR 不仅起到降压作用,还对肾脏有保护作用。蒋荣华等^[21]也发现广西甜茶多酚能够提高 SHR 血清中谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、超氧化物歧化酶(SOD)和一氧化氮(NO)活性,改善左心室肥厚,最终明显降低 SHR 的 SBP 和舒张压(DBP)。另外,周尧等^[22]检测超微绿茶粉在体外消化的活性物质释放量后发现,减少的黄酮类释放量和增加的茶素类物质释放有利于促进茶在体内的生物利用率。值得注意的是,葛根降血压茶对 SHR 在 24 h 后的急性降压作用不再显著,说明需长期服用。

2.5 给药对自发性高血压大鼠尾动脉收缩压的影响

由表 5 可知,与 SHR-NaCl 组收缩压相比,SHR-卡托普利组在灌胃 12 h 时降低了(1.94±0.15) kPa,SHR-H 组在灌胃 6 h 时降低了(0.88±0.40) kPa,SHR-M 组在灌胃 6 h 时降低了(0.66±0.40) kPa,并保持到 12 h,SHR-L 组的降舒张压作用较弱,但在灌胃 6 h 也降低了(0.49±0.63) kPa。与阳性对照组相比,SHR-H 组和 SHR-L 组在灌胃 12 h 的舒张压显著高于 SHR-卡托普利组。与给药前相比,SHR-卡托普利组显著降低了 SHR 舒张压,效果为 4 组给药组中最显著的,SHR-H 组在灌胃 4 h 时下降显著,SHR-M 组在灌胃 6 h 时有明显降压作用,而 SHR-L 组在灌胃 24 h 时对 SHR 的舒张压降压效果不明显。说明葛根降血压茶对自发性高血压大鼠的舒张压作用也依赖于灌胃浓度,浓度越高,舒张压的下降效果越明显,而卡托普利对 SHR 舒张压的改善作用优于葛根降血压茶。

由表 4、表 5 可知,与给药前相比,*t* 检验分析表明 WKY-H 在灌胃 24 h 内舒张压和收缩压均无显著变化,即使是高剂量的灌胃,虽然有波动趋势但最终基本维持在正常的舒张压和收缩压水平,说明葛根降血压茶对正常大鼠的血压影响不大。

表 4 各试验组对自发性高血压大鼠尾动脉收缩压的影响[†]

Table 4 Effects on systolic blood pressure of spontaneously hypertensive rats (*n*=6)

组别	给药前	灌胃 2 h	灌胃 4 h	灌胃 6 h	灌胃 12 h	灌胃 24 h
WKY	19.36±0.44	19.30±0.42	19.21±0.35	19.50±0.54	19.07±0.28	19.20±0.46
WKY-H	19.15±0.14	19.46±0.16	19.00±0.39	19.17±0.41	18.65±0.60	18.68±0.37
SHR-NaCl	26.43±0.71 [#]	25.82±0.69 ^{* #}	26.24±0.66 [#]	26.05±0.78 ^{* #}	26.39±0.37 [#]	26.71±0.15 [#]
SHR-卡托普利	25.91±1.36 [#]	24.45±0.97 ^{* #△}	23.42±1.08 ^{* * #△}	24.06±1.46 ^{* #△}	24.80±1.32 ^{* #△}	25.29±1.51 ^{#△}
SHR-H	25.77±0.43 [#]	25.44±0.70 ^{*△}	24.41±1.19 ^{* #△}	23.62±1.22 ^{* #△}	24.12±1.96 ^{* #△}	25.39±0.64 [#]
SHR-M	26.13±1.06 [#]	27.08±1.10 ^{#△}	25.76±1.47 [#]	24.85±1.19 ^{* #△}	25.39±0.84 ^{#△}	26.46±0.53 [#]
SHR-L	26.11±0.81 [#]	25.40±0.96 [#]	25.19±1.08 ^{* #△}	24.88±0.96 ^{* #△}	25.23±0.33 ^{* #△}	26.17±0.51 [#]

[†] 对比给药前,*为 *P*<0.05;对比 WKY 组,#为 *P*<0.05;对比模型组,△为 *P*<0.05。

表 5 各试验组对自发性高血压大鼠尾动脉舒张压的影响[†]Table 5 Effects on diastolic blood pressure of spontaneously hypertensive rats ($n=6$)

组别	给药前	灌胃 2 h	灌胃 4 h	灌胃 6 h	灌胃 12 h	灌胃 24 h
WKY	13.80±0.57	14.03±0.66	14.03±0.31	14.24±0.51	14.23±0.43	14.03±0.51
WKY-H	13.98±1.05	14.05±0.84	13.76±0.88	14.29±0.58	14.58±0.52	14.42±0.64
SHR-NaCl	19.48±0.73 [#]	19.03±0.47 [#]	19.64±0.33 [#]	19.38±0.76 [#]	19.52±0.60 ^{* #}	19.38±1.05 ^{* #}
SHR-卡托普利	19.50±0.50 [#]	18.69±0.93 ^{* #}	18.45±0.64 ^{* #△}	17.44±1.06 ^{* #△}	19.16±0.40 ^{* #△}	19.72±0.29 [#]
SHR-H	19.77±0.54 [#]	19.11±0.48 ^{* #}	18.75±0.43 ^{* #△}	19.38±0.99 [#]	19.40±0.99 [#]	19.67±0.77 [#]
SHR-M	19.40±0.46 [#]	19.53±0.40 [#]	18.68±0.33 ^{* #△}	18.42±0.41 ^{* #△}	18.71±0.52 ^{* #△}	19.23±0.76 [#]
SHR-L	19.41±0.70 [#]	19.19±0.41 ^{* #}	19.15±0.44 [#]	19.44±0.24 [#]	19.18±0.27 [#]	19.48±0.50 [#]

[†] 对比给药前, * 为 $P<0.05$; 对比 WKY 组, # 为 $P<0.05$; 对比模型组, △ 为 $P<0.05$ 。

3 结论

试验表明,在 20 g 绿茶基质的基础上,添加 2 g 葛根、控制 20% 基质含水量、接种 5% 冠突散囊菌,发酵 7 d 后得到的最优发酵茶的血管紧张素转换酶抑制率为 76.13%。不同剂量的葛根降压茶对自发性高血压大鼠在灌胃 24 h 内均有降低收缩压和舒张压作用,其中 300~600 mg/kg 的大鼠日用剂量的急性降压效果最显著,且发酵茶对正常血压大鼠无明显降压作用,故初步推测不会影响正常人群的血压。为了达到长期降压功效,需长期饮用发酵茶。然而,食物来源的血管紧张素转换酶抑制性生物活性成分在消化和吸收过程中可能会发生结构转化,进一步降低其生物利用率和生物活性。所以以提高血管紧张素转换酶生物利用率为目的或许可以开发出新型降压产品。

参考文献

- [1] MAHDAVI-ROSHAN Marjan, SALARI Arsalan, GHORBANI Zeinab, et al. The effects of regular consumption of green or black tea beverage on blood pressure in those with elevated blood pressure or hypertension: A systematic review and meta-analysis[J]. Complementary Therapies in Medicine, 2020, 51: 11.
- [2] CHEN Yu-lian, WANG Yuan-liang, CHEN Jia-xu, et al. Bioprocessing of soybeans (*Glycine max* L.) by solid-state fermentation with *Eurotium cristatum* YL-1 improves total phenolic content, isoflavone aglycones, and antioxidant activity[J]. RSC Advances, 2020, 10(29): 16 928-16 941.
- [3] XIAO Yue, LI Mao-yun, LIU Ya, et al. The effect of *Eurotium cristatum* (MF800948) fermentation on the quality of autumn green tea[J]. Food Chemistry, 2021, 358: 129848.
- [4] XIAO Yue, ZHONG Kai, BAI Jin-rong, et al. The biochemical characteristics of a novel fermented loose tea by *Eurotium cristatum* (MF800948) and its hypolipidemic activity in a zebrafish model[J]. LWT, 2020, 117: 108629.
- [5] MUSIAL Claudia, KUBAN-JANKOWSKA Alicja, GORSKA-PONIKOWSKA Magdalena. Beneficial properties of green tea catechins[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(5): 1 744.

- [6] DONG Jun-jie, XU Xin-qing, LIANG Yue-rong, et al. Inhibition of angiotensin converting enzyme (ACE) activity by polyphenols from tea (*Camellia sinensis*) and links to processing method[J]. Food & Function, 2011, 2(6): 310-319.
- [7] 李心蕊, 闵二虎, 王蓓, 等. 葛根提取物对高盐饮食小鼠血压和肠道菌群的影响[J]. 营养学报, 2020, 42(5): 491-496, 504.
LI Xin-xin, MIN Er-hu, WANG Bei, et al. Effect of pueraria extract on salt-sensitive hypertension and gut microbiota in mice[J]. Acta Nutrimenta Sinica, 2020, 42(5): 491-496, 504.
- [8] 权赫秀, 李巧巧, 张普照, 等. 葛根和粉葛对 L-NAME 诱导高血压大鼠的作用比较及机制研究[J]. 中药材, 2020, 43(11): 2 773-2 778.
QUAN He-xiu, LI Qiao-qiao, ZHANG Pu-zhao, et al. Comparison and mechanism of puerariae lobatae radix and puerariae thomsonii radix on L-NAME induced hypertension in rats[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2020, 43(11): 2 773-2 778.
- [9] 龚受基, 滕翠琴, 曹惠怡, 等. 冠突散囊菌对夏秋绿茶发酵的影响[J]. 食品科技, 2020, 45(1): 134-140.
GONG Shou-ji, TENG Cui-qin, CAO Hui-yi, et al. Influences on summer-autumn tea fermented with *Eurotium Cristatum*[J]. Food Science and Technology, 2020, 45(1): 134-140.
- [10] ZHANG Bo, LU Zhou, XU Xiao, et al. Solid-state fermentation with *Eurotium cristatum* HC-18 to improve antioxidant activity of kudzu (*Pueraria lobata*) root[J]. Journal of Food and Nutrition Research, 2018, 57(4): 384-395.
- [11] XIAO Yue, ZHONG Kai, BAI Jin-Rong, et al. Insight into effects of isolated *Eurotium cristatum* from Pingwu Fuzhuan brick tea on the fermentation process and quality characteristics of Fuzhuan brick tea[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2020, 100(9): 3 598-3 607.
- [12] 曹盼, 张樱山, 魏学明, 等. 葛根素药理作用研究新进展[J]. 中成药, 2021, 43(8): 2 130-2 134.
CAO Pan, ZHANG Ying-shan, WEI Xue-ming, et al. Progress on the pharmacological research of Puerarin[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2021, 43(8): 2 130-2 134.
- [13] 杜静, 王琪琪, 王云胜, 等. 冠突散囊菌发酵对葛根的活性物质和抗氧化活性的影响[J]. 食品工业科技, 2021, 42(1): 121-125, 131.
DU Jing, WANG Qi-qi, WANG Yun-sheng, et al. Effect

- onbioactive components and antioxidant activity of pueraria lobata fermented by *Eurotium cristatum* [J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(1): 121-125, 131.
- [14] LIU Lu, SHI Jia-jun, YUE Tian-li, et al. Changes in the metabolite composition and enzyme activity of fermented tea during processing[J]. Food Research International, 2022, 158: 111428.
- [15] ZOU Min-min, GUO Xiao-han, HUANG Yan, et al. Improvement of the quality of Ginkgo biloba leaves fermented by *Eurotium cristatum* as high value-added feed[J]. Processes, 2019, 7(9): 627.
- [16] 李红胜, 邢宏博, 许赣荣, 等. 红曲菌固态发酵产消化酶生产工艺优化[J]. 广东农业科学, 2021, 48(11): 133-142.
- LI Hong-sheng, XING Hong-bo, XU Gan-rong, et al. Optimization of Production Process of Digestive Enzyme from Solid-state Fermentation by *Monascus* [J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2021, 48(11): 133-142.
- [17] 姜良珍, 王罗, 杨涛, 等. 冠突散囊菌及其发酵应用研究进展[J]. 食品工业科技, 2022, 43(4): 454-462.
- JIANG Liang-zhen, WANG Luo, YANG Tao, et al. Research-progress on *Eurotium cristatum* and its fermentation application[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(4): 454-462.
- [18] 邹秀宏, 王杰, 杨海滨, 等. 绿茶对 SHR 大鼠生长性能和血液生化指标的影响[J]. 南方农业, 2018, 12(28): 25-28, 63.
- WU Xiu-hong, WANG Jie, YANG Hai-bin, et al. Effects of green tea on SHR growth performance and blood biochemical indices[J]. South China Agriculture, 2018, 12(28): 25-28, 63.
- [19] 罗显扬, 周国兰, 梁月荣, 等. “高原明珠”绿茶对自发性高血压大鼠血压、心肌超微结构及血管紧张素 II 含量的影响[J]. 西南农业学报, 2011, 24(5): 1 977-1 980.
- LUO Xian-yang, ZHOU Guo-lan, LIANG Yue-rong, et al. Effects of 'Plateau Bright Pearl' green tea on blood pressure, myocardial microstructure and level of plasma Angiotensin II (Ang II) in spontaneous hypertensive rats[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2011, 24(5): 1 977-1 980.
- [20] 李汝月, 刘佩, 胡俊杰, 等. 霉茶总黄酮对自发性高血压大鼠肾脏的保护作用及机制研究[J]. 时珍国医国药, 2020, 31(7): 1 537-1 539.
- LI Ru-yue, LIU Pei, HU Jun-jie, et al. Protective effect and mechanism of Meicha total flavonoids on kidney in spontaneously hypertensive rats [J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2020, 31(7): 1 537-1 539.
- [21] 蒋荣华, 候小利, 王硕, 等. 甜茶多酚对自发性高血压大鼠的影响[J]. 世界科学技术: 中医药现代化, 2015, 17(7): 1 479-1 485.
- JIANG Rong-hua, HOU Xiao-li, WANG Shuo, et al. Effect of polyphenols from *Rubus suavissimu* S. lee on spontaneous hypertensive rats[J]. World Science and Technology: Modernization of Traditional Chinese Medicine, 2015, 17(7): 1 479-1 485.
- [22] 周尧, 童华荣. 模拟体外消化评定超微绿茶粉的冲泡饮用效果[J]. 食品与机械, 2020, 36(11): 172-176.
- ZHOU Yao, TONG Hua-rong. Evaluation of the brewing effect of ultrafine green tea powder by simulated in vitro digestion[J]. Food & Machinery, 2020, 36(11): 172-176.
- (上接第 212 页)
- [20] 韦献雅, 殷丽琴, 钟成, 等. DPPH 法评价抗氧化活性研究进展[J]. 食品科学, 2014, 35(9): 317-322.
- WEI Xian-ya, YIN Li-qin, ZHONG Chen, et al. Research progress in evaluating antioxidant activity by DPPH method[J]. Food Science, 2014, 35(9): 317-322.
- [21] 程龙. 南瓜籽多糖的提取纯化、结构鉴定以及生物活性的测定[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2018: 11-60.
- CHENG Long. Extraction and purification, structure identification and biological activity determination of polysaccharide from pumpkin seed [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2018: 11-60.
- [22] 雷兵. 柿子乳酸饮料发酵工艺及功能性研究[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2015: 7-23.
- LEI Bing. Study on fermentation technology and function of persimmon lactic acid beverage[D]. Xianyang: Northwest A & F University, 2015: 7-23.
- [23] 蒋高华, 赵江, 彭兴华, 等. 南瓜多糖提取工艺优化研究[J]. 山东化工, 2021, 50(9): 13-14.
- JIANG Gao-hua, ZHAO Jiang, PENG Xing-hua, et al. Optimization of extraction process of pumpkin polysaccharide[J]. Shandong Chemical Industry, 2021, 50(9): 13-14.
- [24] 周学义, 朱文昭, 张蕾蕾, 等. 乳酸菌发酵枸杞饮料制作工艺优化的研究[J]. 酿酒科技, 2021(1): 9-64.
- ZHOU Xue-yi, ZHU Wen-zhao, ZHANG Lei-lei, et al. Optimization of fermentation technology of Lycium barbarum beverage by lactic acid bacteria[J]. Brewing Technology, 2021(1): 9-64.
- [25] 范改敬. 红枣汁乳酸发酵工艺及发酵液体外抗氧化性研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2015: 21-44.
- FAN Gai-jing. Study on lactic acid Fermentation of Jujube juice and its antioxidant activity in vitro[D]. Baoding: Agricultural University of Hebei, 2015: 21-44.
- [26] 任琪. 银杏叶多糖的提取、分离纯化及生物活性研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2018: 19-94.
- RENG Qi. Extraction, purification and bioactivity of polysaccharides from Ginkgobiloba leaves[D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2018: 19-94.
- [27] 马升, 沈城, 徐建雄. 发酵金针菇根多糖提取、结构及抗氧化活性[J]. 食品科技, 2021, 46(3): 147-154.
- MA Sheng, SHENG Chen, XU Jian-xiong. Extraction, structure and antioxidant activity of Polysaccharides from fermented *Flammulina velutipes* root[J]. Food Science and Technology, 2021, 46(3): 147-154.