基础研究 DOI:10.3969/j.issn.0253-3626.2011.11.019

山葵叶片、叶柄混合物的润肠通便作用及其功效物质的初步研究

王晓琼[1]，周惠云[2]，刘先俊[3]

（1. 重庆医科大学附属第一医院体检中心，重庆 400042；2. 重庆康尔威药业股份有限公司，重庆 401122；3. 重庆医科大学基础医学院生物化学与分子生物学教研室，重庆 400016）

【摘 要】目的：探讨山葵（Wasabi Japonica）叶、叶柄混合物的润肠通便作用及其相关的功效物质，为进一步开发利用这一山葵种植中的副产品作为医药用途提供依据。方法：将新鲜山葵叶、叶柄采用冷冻干燥，粉碎后获得叶、叶柄混合物，通过酶-重量法测定了其总膳食纤维、可溶性膳食纤维（Soluble dietary fibre，SDF）与不溶性膳食纤维（Insoluble dietary fibre，IDF），并将其通过水解除去异硫氰酸盐、除去水溶性成分等。分别研究了山葵叶、叶柄混合物干粉（样品 1）、除去异硫氰酸盐后（样品 2）、除去水溶性成分后（样品 3）等的润肠通便功效（包括小肠功能试验、首次排黑便时间、6 h 排便粒数与 6 h 排便总量）。结果：叶、叶柄混合物冻干粉中总膳食纤维量为 92.3 g/kg、SDF 含量为 48.2 g/kg，IDF 含量为 44.1 g/kg。SDF/IDF 比值为 1.1。在润肠通便功效方面，通过动物便秘模型的实验表明，上述 3 种样品可促进小肠运动、缩短首次排便时间、增加 6 h 排便粒数与 6 h 排便总量等，且 3 组样品相互间比较，其差异具有显著性（$P< 0.01$ 或 $P<0.05$）。结论：山葵叶与叶柄混合物中膳食纤维含量偏高且 SDF 较多；山葵叶与叶柄混合物对复方地酚诺酯模型便秘动物有润肠通便作用；其润肠通便作用相关的功效物质多样包括异硫氰酸盐以及存在于其水溶性成分、水不溶性成分中的物质成分等。

【关键词】山葵叶，叶柄，润肠通便

【中国图书分类法分类号】R961；Q946.8 【文献标志码】A 【收稿日期】2011-06-13

Preliminary study on the functional elements in the mixture of wasabi leaf and leaf stalk and its catharsis effect

WANG Xiao-qiong[1], ZHOU Hui-yun[2], LIU Xian-jun[3]

(1. The Medical Examination Center, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University; 2. Chongqing K.E.W. Pharmaceutical Co., Ltd; 3. Department of Biochemistry and Biology, College of Basic Medicine, Chongqing Medical University)

【Abstract】*Objective*: To explore catharsis effect and its efficiency matter in the mixture of leaf and leaf stalk in wasabi, and to provide basaes for development and utilization leaf and leaf stalk in wasabi that is by-product in wasabi planting as pharmaceutical application. *Methods*: The mixture of dried powder of wasabi leaf and leaf stalk was obtained by freeze-drying and crushing fresh leaves and leaf stalks. With enzymatic-gravimetric method, total dietary fibre, soluble dietary fibre (SDF) and insoluble dietary fibre (IDF) in mixture of dried powder are determined. Isothiocyanates in mixture of dried powder was removed by adding water and incubating in 37℃ overnight. The matters soluble in water were removed by adding water, incubating in 37℃ overnight, centrifugation in 5 000 r/min × 10 min and precipitation. The effect were tested in moistening intestines and freeing the stool in mice (advancing movement of small intestine, the time of first black feces excretion, the numbers of feces in 6 h and the weight of feces in 6 h). The above samples included the mixture of dried powder of wasabi leaf and leaf stalk, that free of isothiocyanates and that free of water-soluble elements. *Results*: The total dietary fibre in mixture of dried powder of wasabi leaf and leaf stalk was 92.3 g/kg, soluble dietary fibre (SDF) was 48.2 g/kg, insoluble dietary fibre (IDF) was 44.1 g/kg and ratio of SDF and IDF is 1.1. As for the effect in moistening the intestines and freeing the stool, the above three samples (mixture of dried powder of wasabi leaf and leaf stalk, that free of isothiocyanates, and that free of water-soluble elements) had effect in enhancing small intestine movility, shortening the first time of cacation, increasing the amount of feces pellets in 6 h and total quantity of feces in 6 h. The comparison between the three samples in 3 groups showed significantly different ($P<0.05$). *Conclusion*: The total content of and soluble dietary fibre (SDF) in mixture of dried powder of wasabi leaf and leaf stalk is slightly high; it has effect in moistening the intestines and freeing stool for model animals by compound diphenoxylate, and the related function materials are isothiocyanates, water-soluble and -insoluble matters.

【Key words】wasabi leaf; leaf stalk; catharsis effect

作者介绍：王晓琼（1971-），女，护师，研究方向：天然产物研究。

通信作者：刘先俊，男，副教授，Email：lxj6422@yahoo.com.cn。

山葵，又名山嵛菜，为十字花科山嵛菜属草本植物。作为调味品与蔬菜食用，已有数百年历史。我国于 19 世纪 90 年代从日本引种成功以来，在全国许多高寒山区均有大量种植，已成为当地的重要经济作物。

对于山葵的医药用途，早已引起人们的关注。但对其的研究主要集中在山葵块茎部分（山葵块茎是日本的重要调味品）。山葵块茎中的重要成分是异硫氰酸盐（Isothiocyanates），它不仅是山葵具有辛辣刺激味道的主要原因，也具有广泛的生理药理作用如抗肿瘤、抗血小板凝结、杀灭微生物、促进消化增进食欲等[1,2]。

近年来，国内外学者开始关注山葵叶与叶柄的生理药理作用：韩国学者发现，山葵叶可抑制幽门螺旋杆菌[3]；日本学者发现，山葵叶柄能增强动物骨钙化[4]；还发现，山葵叶柄能抑制动物肠道氯离子的分泌[5]等。前期我们的研究也发现[6]，山葵叶有很好的抗氧化与清除自由基作用，其水溶性提取物对黑色素合成的关键酶-酪氨酸酶有明显抑制作用。近来我们在动物实验中发现，山葵叶与叶柄混合物具有显著的润肠通便作用，同时也对其与润肠通便相关的功效物质进行了初步研究。现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

清洁级昆明小鼠 200 只，雌雄各半，体重 18~22 g，由重庆市中药研究院实验动物研究室提供（批准文号：医动字第 310101001）。饲养环境：SPF 级，室温 20℃~22℃，相对湿度 46%~51% RH。饲料由重庆医科大学实验动物中心提供的普通颗粒饲料。

主要试剂：新鲜山葵，购自重庆市武隆县山葵绿色发展有限公司；耐热 α-淀粉酶、蛋白酶、葡萄糖苷酶，购自 Sigma 公司；复方地酚诺酯，常州康普药业有限公司生产，其它试剂为国产分析纯或生化试剂。

1.2 方法

山葵叶与叶柄混合物冻干粉：收集新鲜山葵的叶、叶柄部份，洗净，将水沥干，冷冻干燥至含水量<1%，高速粉碎，过 40 目筛，即为山葵叶与叶柄混合物之冻干粉（样品 1）。

膳食纤维测定：采用酶-重量法（Enzymatic-gravimetric method）[7]测定山葵叶片与叶柄混合物冻干粉中总膳食纤维、不溶性膳食纤维（Insoluble dietary fibre，IDF）和可溶性膳食纤维（Soluble dietary fibre，SDF）含量。

除去山葵叶与叶柄混合物冻干粉中异硫氰酸盐：取上述冻干粉，加入适量水，37℃保温过夜，取样测定异硫氰酸盐量（滴定法测定[8]），至几乎检测不出异硫氰酸盐为止，干燥至含水量<1%，高速粉碎，过 40 目筛，即为除去异硫氰酸盐之山葵叶与叶柄混合物冻干粉（样品 2）。

除去山葵叶与叶柄混合物冻干粉中的水溶性成分：取样品 1，按 1:6(w/v)加入水，37℃保温过夜以提取水溶性成分，离心（5 000 r/min×10 min），收集沉淀，再按 1:3(w/v)加入水，37℃保温过夜，余同前，共提取 3 次。将沉淀干燥至含水量<1%，高速粉碎，过 40 目筛，即为除去水溶性成分之山葵叶与叶柄混合物冻干粉（样品 3）。

润肠通便动物试验：依据《保健食品检验与评价技术规范》（2003 版）之“通便作用检验方法”。主要观察指标：小肠墨汁前缘与幽门的距离、首次排黑便时间、6 h 排便粒数、6 h 排便总重量。

1.3 统计学分析

采用 SPSS11.0 for Windows 统计软件完成统计学分析，实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。$P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 山葵叶片、叶柄混合物冻干粉中膳食纤维的含量

通过酶-重量法测定的山葵叶、叶柄混合物冻干粉中总膳食纤维含量为 92.3 g/kg，其中，SDF48.2 g/kg，IDF44.1 g/kg。SDF/IDF 比值为 1.1。

2.2 小鼠小肠运动试验

表 1 小鼠小肠运动试验结果（$\bar{x} \pm s$）

	动物分组	动物数（只）	给药剂量（g/kg）	墨汁推进率
1	阴性对照组	12	-	52.1 ± 4.8
2	模型对照组	12	-	36.6 ± 6.2*
3	样品 1	12	0.3	59.5 ± 7.6**
4	样品 2	12	0.3	46.3 ± 4.4**
5	样品 3	12	0.3	45.6 ± 5.9**

*：与阴性对照组比较，$P<0.01$；**：与模型对照组比较，$P<0.01$

表 1 结果表明，对小鼠小肠墨汁推进率比较，阴性对照组与模型对照组之间，$P<0.01$，说明造模成功。3 组实验组与模型对照组之间比较，$P<0.01$，说明 3 组样品均有促进地酚诺酯便秘模型小鼠小肠运动的功效。各实验组之间比较发现，第 3 组分别与第 4、5 组间差异有显著性（$P<0.05$），但第 4 组与第 5 组间差异无统计学意义（$P>0.05$）。

2.3 小鼠首次排黑便时间

表 2 对小鼠首次排黑便时间的影响（$\bar{x} \pm s$）

	动物分组	动物数（只）	给药剂量（g/kg）	首次排黑便时间(min)
1	阴性对照组	12	-	86.3 ± 3.6
2	模型对照组	12	-	126.6 ± 7.3*
3	样品 1	12	0.3	92.9 ± 6.6**
4	样品 2	12	0.3	84.3 ± 5.2**
5	样品 3	12	0.3	79.4 ± 5.3**

*：与阴性对照组比较，$P<0.01$；**：与模型对照组比较，$P<0.05$

表 2 结果表明，对小鼠首次排黑便时间的比较，3 组实验组与模型对照组之间比较，$P<0.01$，说明 3 组样品均有缩短地酚诺酯便秘模型小鼠首次排黑便时间的功效。各实验组之间两两比较发现，各组间差异有显著性（$P<0.05$）。

2.4 小鼠 6 h 排便粒数

表 3 结果表明，对小鼠 6 h 排便粒数的比较，3 组实验组与模型对照组之间比较，$P<0.01$，说明 3 组样品均有增加地酚诺酯便秘模型小鼠 6 h 排便粒数的功效。各实验组之间比较发现，第 3 组分别与第 4、5 组间差异有显著性（$P<0.05$），但第 4 组与第 5 组间差异无统计学意义（$P>0.05$）。

表 3 对小鼠 6 h 排便粒数的影响（$\bar{x} \pm s$）

动物分组		动物数（只）	给药剂量（g/kg）	6 h 排便粒数（粒）
1	阴性对照组	12	–	9.3 ± 2.3
2	模型对照组	12	–	3.4 ± 2.5*
3	样品 1	12	0.3	8.8 ± 3.0**
4	样品 2	12	0.3	6.7 ± 2.8**
5	样品 3	12	0.3	6.4 ± 2.7**

*:与阴性对照组比较，$P< 0.01$; **:与模型对照组比较，$P< 0.05$

2.5 小鼠 6 h 排便总量

表 4 结果表明，对小鼠 6 h 排便总量的比较，第 3 组、第 4 组与模型对照组之间比较，$P<0.01$，说明该 2 组样品均有增加地酚诺酯便秘模型小鼠 6 h 排便总量的功效，但第 5 组与模型对照组间差异无统计学意义（$P>0.05$）。各实验组之间两两比较，组间差异均有显著性（$P<0.05$）。

表 4 对小鼠 6 h 排便总量的影响（$\bar{x} \pm s$）

动物分组		动物数（只）	给药剂量（g/kg）	6 h 排便总量（g）
1	阴性对照组	12	–	0.13 ± 0.05
2	模型对照组	12	–	0.06 ± 0.03*
3	样品 1	12	0.3	0.15 ± 0.03**
4	样品 2	12	0.3	0.11 ± 0.02**
5	样品 3	12	0.3	0.08 ± 0.06

*:与阴性对照组比较，$P< 0.01$; **:与模型对照组比较，$P< 0.05$

3 讨 论

山葵作为一种名贵珍稀的香辛蔬菜，已有很长的食用历史。目前主要利用的是山葵的块茎部分，而叶与叶柄部分几乎未曾开发利用。

目前已经明确，蔬菜类食物中广泛存在的膳食纤维特别是 SDF 具有增加排泄物体积与缩短排泄物在肠道的停留时间，因而具有润肠通便功效[9]。在山葵叶与叶柄混合物中总膳食纤维含量高于国内报道的一般蔬菜类食物的总膳食纤维平均含量（57 g/kg）[10]。此外，SDF/IDF 比值为 1.1，在蔬菜类食物中该比值较高[9]，表明，山葵叶与叶柄混合物中的膳食纤维以 SDF 含量较多。因此，山葵叶与叶柄混合物的润肠通便功效与其本身含有的膳食纤维较多有关。

山葵的异硫氰酸盐有广泛的生理药理作用[1,2]，但对于促进胃肠运动方面未见研究报道。我们在小肠运动试验中发现，异硫氰酸盐具有促进小鼠小肠运动的功效（表 1）。先前的研究已经证实，山葵具有促消化作用[2]，即可能与异硫氰酸盐促胃肠运动有关。此外，在缩短小鼠首次排黑便时间、增加地酚诺酯便秘模型小鼠 6 h 排便粒数方面以及增加地酚诺酯便秘模型小鼠 6 h 排便总量方面，异硫氰酸盐均有一定作用（$P<0.05$ 或 $P<0.01$）。表明山葵叶与叶柄中的异硫氰酸盐具有润肠通便效应。

为了研究山葵叶与叶柄混合物中其它成分也是否参与了其润肠通便效应。我们将山葵叶片与叶柄混合物中异硫氰酸盐除去后，剩余样品分为两部份：水溶性部份、水不溶性部份。分别研究了在润肠通便中的功效，结果表明，山葵叶与叶柄混合物中水溶性部份、水不溶性部份在润肠通便功效中也各有其作用。其中，两者均有缩短小鼠首次排黑便时间的功效；在增加地酚诺酯便秘模型小鼠 6 h 排便总量方面，两者也均有增加 6 h 排便总量的功效。但在增加地酚诺酯便秘模型小鼠 6 h 排便粒数方面，其水溶性成分功效似乎不明显。因此，根据卫生部所编《保健食品检验与评价技术规范》（2003 版）的标准，可以判定山葵叶柄、叶混合物干粉（即样品 1）、去除异硫氰酸盐后的山葵叶柄、叶混合物干粉（样品 2）与去除水溶性成分后的山葵叶柄、叶混合物干粉（样品 3）均有润肠通便功效。在山葵叶柄、叶片混合物的润肠通便功效方面，异硫氰酸盐、水溶性物质与水不溶性物质均可能参与了其润肠通便功效。

由于山葵产品中主要以块茎部分作为辛辣调味品食用，而山葵叶柄、叶等几乎处于待开发状态，若能对其开发利用，不仅具有巨大的经济效益，同时也具有显著的社会效益。根据已有的对山葵叶柄、叶的医药用途研究结果如抗肿瘤、抗血小板凝结、杀灭微生物和寄生虫、促进消化与增进食欲、抗氧化清除自由基效应、双向调理胃肠功能包括润肠通便、含有较多的钾与叶黄素等，有望进一步开发为适合老年人应用的治疗或保健品，使这一古老的蔬菜品种为人类的健康事业服务。

参 考 文 献

[1] Depree J A, Howard T M, Savage G P. Flavour and pharmaceutical properties of the volatile sulphur compounds of Wasabi (Wasabia Japonica)[J]. Food Reasearch International, 1999, 31(5): 329-337.

[2] 杜喜玲，蒲 彪. 山葵的风味物质及其功能应用研究进展[J]. 食品研究与开发，2008，29(1)：173-177.

[3] Shin I S, Masuda H, Naohide K. Bactericidal activity of wasabi (Wasabia japonica) against Helicobacter pylori[J]. Int J Food Microbiol, 2004, 94(3): 255-261.

[4] Suzuki T, Yamaguchi M. Purification of active component in Wasabi leafstalk (Wasabia japonica MATSUM). extract in stimulating bone calcification in vitro[J]. Journal of Health Science, 2004, 50(5): 483-490.

[5] Nakayama H, Suzuki T, Suzuki Y. Effect of wasabi on ion secretion in guinea pig colon[J]. 日本農芸化学会誌, 1998, 72(4): 499-507.

[6] 刘先俊，邓显锋，周惠云. 山嵛菜抗氧化与抑制酪氨酸酶的实验研究[J]. 天然产物研究与开发，2007，19(1)：101-103.

[7] 杨晓莉，杨月欣，周瑞华，等. 食品中总的、不溶性及可溶性膳食纤维的酶-重量法[J]. 卫生研究，2001，30(6)：377-378.

[8] 黄明深. Entrema Wasabi 中异硫氰酸酯提取、含量测定及其影响因素[J]. 生物技术，2005，15(3)：49-51.

[9] 赵 萍，巩慧玲，王 雅，等. 膳食纤维的保健作用及其新产品开发前景[J]. 兰州理工大学学报，2004，30(3)：69-72.

[10] 阴文娅，黄承钰，冯 靓. 不同种类食物中膳食纤维的测定[J]. 卫生研究，2004，33(4)：331-333.

（责任编辑：关蕴良）