

表7 复合稳定剂对虫草黄梨汁外观稳定性的影响

试样	对照	A 阿拉伯树胶:CMC = 1:4			B 海藻酸钠:CMC = 1:1		C 黄原胶:海藻酸钠 = 1:2				D 黄原胶:CMC = 1:1		
		0.015%	0.2%	0.25%	0.05%	0.1%	0.15%	0.04%	0.06%	0.08%	0.04%	0.06%	0.08%
稳定性	差	好	较好	较好	差	好	较好	好	较好	较好	一般	好	较好
流动性	差	较好	较好	较好	一般	较好	较好	好	较好	较好	好	好	一般

表8 虫草黄梨汁对小鼠迟发型变态反应(DTH)的影响

(mean ± SD)			
组别	动物数(只)	足跖肿胀度(mm)	P 值
对照	12	0.57 ± 0.07	> 0.05
低剂量	12	0.52 ± 0.12	< 0.05
中剂量	12	0.70 ± 0.17	> 0.05
高剂量	12	0.64 ± 0.19	

表9 虫草黄梨汁对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞能力的影响

(mean ± SD)			
组别	鼠数(只)	吞噬率(%)	吞噬指数
对照	10	27.2 ± 3.97	2.13 ± 0.19
低剂量	10	30.0 ± 3.74	2.23 ± 0.16
中剂量	10	35.8 ± 4.52 **	2.26 ± 0.25
高剂量	10	38.0 ± 6.69 **	2.28 ± 0.16

注: \*\* 与对照组比较 P < 0.01

于对照组,有统计学上的明显性差异(p < 0.01),低剂量组与对照组相比无统计学差异(p > 0.05)。吞噬指数各剂量组与对照组比较无明显性差异。

由上述免疫调节试验结果表明:虫草黄梨汁确有调节小鼠细胞免疫功能和调节小鼠单核-巨噬细胞吞噬功能的作用。各剂量虫草黄梨汁组均未见免疫抑制

现象。根据《保健食品功能学评价程序和检验方法》中的判定标准,可以认为虫草黄梨汁具有免疫调节作用。

### 3 结 论

3.1 采用以 30% ~ 70% 乙醇溶液为溶媒的连续抽提工艺,可提高冬虫夏草中有效功能成份的提取得率;

3.2 采用复合蛋白酶对提取后的虫草渣进行降解,可使虫草蛋白得以充分转化利用;

3.3 将虫草提取精制液与黄梨原汁赋配,可使虫草黄梨汁既具有名贵中药—冬虫夏草的滋补营养成分和丰富的氨基酸,又口感协调、梨香悦人,具有果汁饮料特有的色、香、味和稳定的外观组织状态。克服了以往保健食品大多只注重功能,而忽视口感风味的弊病。

3.4 虫草黄梨汁经毒理学试验确认无毒无副作用,并经动物试验表明,确有提高机体免疫调节功能的作用,是一种新型的保健功能饮料,具有较强的市场竞争力。

### 参考文献

- 1 江苏新医学院编. 中药大辞典(上册). 上海人民出版社, 1975, 129.

## 海带下脚料中多糖的提取及其对小鼠机体免疫功能影响的研究

张桂香 济南大学化学与环境工程学院生物技术系 济南 250002

迟玉森 山东师范大学生物系 济南 250014

TS2 A

**摘 要** 论文以海带加工下脚料为原料提取多糖。浸提液以酒精分离,得到三种多糖组分。小鼠机体免疫功能实验发现,其中的一种多糖组分对小鼠机体免疫功能有较大的影响。急性毒性实验证明该组分为实际无毒物质。

**关键词** 海带下脚料 多糖 机体免疫 无毒

**Abstract** In this article, polysaccharide was extracted from kelp waste. Three kinds of polysaccharide compositions were obtained when the extracted liquor was separated by alcohol. Body immunity experiments on mouse show that one of the three kinds had the greatest effect. Acute toxicity experiment proved it innocuous in fact.

**Key words** Kelp waste Polysaccharide Body immunity Innocuity

海带是一种大型的褐藻,在我国种植面积逐年增加,产量逐年上升。我国海带年产量约占世界年产量的一半。目前我国已从多方位大量开发利用海带,在一定程度上增加了海带产品的附加值,但同时,也产生了大量的海带加工下脚料。这些下脚料的丢弃,不仅造成了资源的浪费,而且带来了新的污染。因此如何合理的开发利用这些下脚料,非常重要。

最近科学家发现,海带中含有某种活性多糖,能较好地杀死癌细胞,可抑制某些致癌物质的诱变作用<sup>[1,2]</sup>。而对正常的细胞不起作用,这些发现,无疑给我们处理这些下脚料带来新的思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

海带下脚料:由山东省烟台长岛经济开发有限公司提供;

小鼠:昆明种,由山东省卫生防疫站购得,体重18~22g;

鸡:由市场购得的健康鸡;

绵羊血:由山东省卫生防疫站采得;

酒精:山东省酒精总厂购得;

印度墨汁:生物染色剂;

Giemsa:生物染色剂;

其余试剂均为分析级;

### 1.2 仪器和设备

501型超级恒温器(上海市实验仪器厂)

101-2型电热鼓风干燥箱(南通宏大实验仪器有限公司)

RE52型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)

LXJ-II型离心沉淀机(上海医用分析仪器厂)

蒸汽消毒器(山东新华医疗器械厂)

HH B11型电热恒温培养箱(山东潍坊医疗器械厂)

722光栅分光光度计(上海第三分析仪器厂)

T-200型电子天平(美国双杰兄弟(集团)有限公司常熟市双杰测试仪器厂)

精密密度0.02mm镀铬游标卡尺(湖北省教学仪器厂)

血球记数板(浙江玉环县五金光学仪器厂)

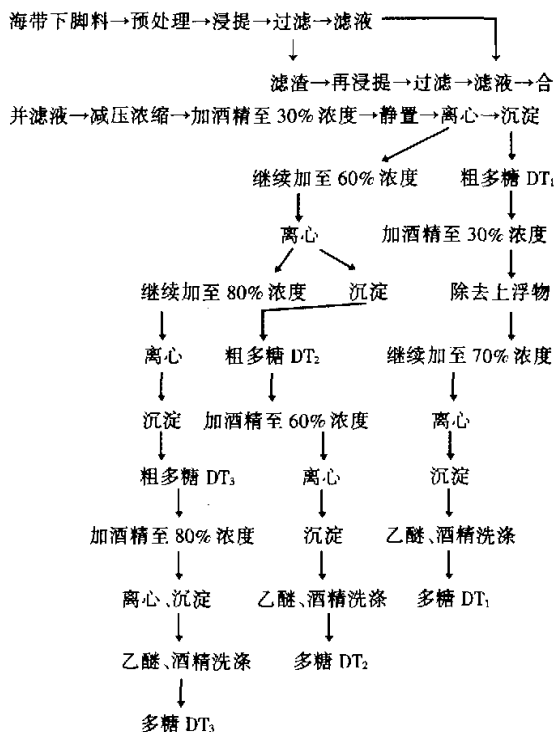
微量进样器(上海安亭微量进样器厂)

定量取血管(保定市新市区玻璃制品厂)

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 海带下脚料多糖提取方法<sup>[3-5]</sup>

##### 1.3.1.1 多糖提取流程



##### 1.3.1.2 流程说明如下:

(1) 预处理:漂洗、凉干后的海带,采用1.1Mpa(120℃)水处理30min。

(2) 浸提、过滤:在恒温下以水浸提。浸提液冷后,采用四层纱布过滤。滤渣再加水二次浸提。两次所得滤液合并,滤纸过滤。

(3) 多糖DT<sub>1</sub>的分离:滤液减压浓缩,加酒精至30%浓度,同时加少量NaCl,静置。小心倾出上层悬浮不溶物,离心10min(2000r/min),得到的沉淀即为粗多糖DT<sub>1</sub>。离心上清液I下步备用。粗多糖DT<sub>1</sub>溶解,加酒精至30%浓度,除去上浮不溶物,继续加至70%浓度,离心10min(2000r/min),沉淀用乙醚、乙醇洗涤,即为多糖DT<sub>1</sub>。

(4) 多糖DT<sub>2</sub>、DT<sub>3</sub>的分离:上述离心上清液I继续加酒精至60%浓度,静置,离心10min(2000r/min),沉淀即为粗多糖DT<sub>2</sub>。离心上清液继续加酒精至80%浓度,离心10min(2000r/min),沉淀即为粗多糖DT<sub>3</sub>。粗多糖DT<sub>2</sub>、DT<sub>3</sub>溶解,分别加酒精至60%、80%浓度,分别离心10min(2000r/min),沉淀分别用乙醇、乙醚洗涤,即得多糖DT<sub>2</sub>和DT<sub>3</sub>。

表 1 多糖对小鼠足跖增厚影响

多糖	剂量	小鼠数(只)	足跖增厚度(cm)( $\bar{x} \pm sd$ )
DT <sub>1</sub>	低	10	0.04 0.02
	中	10	0.05 0.04
	高	10	0.05 0.10
DT <sub>2</sub>	低	10	0.08 0.09*
	中	10	0.09 0.13*
	高	10	0.06 0.05
DT <sub>3</sub>	低	10	0.04 0.11
	中	10	0.04 0.09
DT <sub>3</sub>	高	10	0.04 0.07
对照组		10	0.03 0.14

\* 与对照组相比, P < 0.01

表 2 多糖对小鼠碳廓清吞噬指数的影响

多糖	剂量	动物数(只)	吞噬指数( $\bar{x} \pm sd$ )
DT <sub>1</sub>	低	10	3.85 0.98
	中	10	2.78 0.77
	高	10	4.87 0.48
DT <sub>2</sub>	低	10	6.34 0.99
	中	10	8.89 0.85*
	高	10	6.00 0.79
DT <sub>3</sub>	低	10	4.83 1.05
	中	10	3.29 0.67
DT <sub>3</sub>	高	10	5.34 0.92
对照组		10	6.18 0.89

\* 与对照组相比, P < 0.05

### 1.3.2 机体免疫功能实验测定方法

#### 1.3.2.1 实验动物分组与多糖剂量分组

每种多糖分高、中、低三个剂量组,小鼠对应随机分组,并加一个对照组,每组 10 只。实验组小鼠每天每只经口灌胃多糖溶液 0.5ml,对照组每天每只经口灌胃生理盐水 0.5ml,每个实验连续灌胃 30d,实验期间,一组一笼,自由进食和饮水。

#### 1.3.2.2 细胞免疫功能、单核-巨噬细胞功能、胸腺指数、脾指数的测定、巨噬细胞吞噬功能、急性毒性实验的检测。

按卫生部《保健食品功能学评价程序与检测方法》测定。实验数据采用 Foxpro 软件建立数据库,用 EPI 软件进行方差分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 海带多糖对小鼠迟发型变态反应(DTH)的影响(见表 1)

免疫后的小鼠,DT<sub>2</sub> 组分组小鼠足跖明显增厚、中剂量组与低剂量组都能显著提高小鼠足跖增厚度,与对照组差异显著。

### 2.2 海带多糖对小鼠单核-巨噬细胞功能的影响

由表 2 可知,DT<sub>2</sub> 中剂量组能较好的增强单核-巨噬细胞的功能。

### 2.3 海带多糖对小鼠胸腺指数、脾指数的影响

由表 3 可知,所有受试物对小鼠的胸腺和脾脏的影响都不很明显,DT<sub>2</sub> 受试物组与对照组差异也不显著,表明 DT<sub>2</sub> 组分对小鼠免疫器官的影响不大。

### 2.4 海带多糖对巨噬细胞吞噬功能的影响

由表 4 可知,海洋动物多糖与海带多糖都能较好的促进巨噬细胞的吞噬功能。虽然海洋动物多糖较海带多糖作用更好一些,但海洋动物多糖价格昂

表 3 多糖对小鼠胸腺指数、脾指数的影响

多糖	剂量	小鼠数(只)	胸腺指数( $\bar{x} \pm sd$ ) (mg/g)	脾指数( $\bar{x} \pm sd$ ) (mg/g)
DT <sub>1</sub>	低	10	1.16 0.08	5.88 1.01
	中	10	1.20 0.07	5.13 1.01
	高	10	1.21 0.09	7.16 0.99
DT <sub>2</sub>	低	10	0.94 1.01	5.79 1.12
	中	10	1.19 0.08	5.51 1.22
	高	10	1.18 0.06	5.90 1.00
DT <sub>3</sub>	低	10	1.21 0.09	5.79 0.99
	中	10	1.22 0.09	5.75 1.05
DT <sub>3</sub>	高	10	1.21 0.08	5.90 0.97
对照组		10	1.13 0.09	5.82 1.03

贵,而海带多糖价格相对便宜很多,因而更适用。

### 2.5 急性毒性实验结果见表 5

采用 Horn 氏法,求得受试物 DT<sub>2</sub> 的 LD<sub>50</sub> 为大于 10000mg/kg。灌胃过程中,发现小鼠的毛色、精神、食欲未发生变化,小鼠未见死亡,说明该受试物属于无毒物质。

## 3 结论

### 3.1 海带下脚料浸提液用酒精分离,可得到三种多

表 4 多糖对巨噬细胞吞噬功能的影响

组别	吞噬% ( $\bar{x} \pm sd$ )	吞噬指数( $\bar{x} \pm sd$ )
DT <sub>2</sub> 组	8.98 1.22	0.92 0.07*
海洋动物多糖组	13.32 2.23	1.43 0.09**
对照组	5.66 1.43	0.64 0.04

\* 与对照组相比, P < 0.05 \*\* 与对照组相比, P < 0.01

表 5 DT<sub>2</sub> 急性毒性实验结果

剂量	10000	2500	1250	1000mg/kg
雄	0/5	0/5	0/5	0/5
雌	0/5	0/5	0/5	0/5

# 植物酯酶法快速测定有机磷农药残留的研究

侯明迪 北京市人民政府商业委员会 100744

7592 A

**摘 要** 本文介绍了采用植物酯酶测定有机磷农药 DDVP 和甲基对硫磷的条件、方法,并采用酶促反应速率替代原来的反应平衡时的吸光值来表示酶的活性,通过活化剂使甲基对硫磷对酶活性的抑制提高 50~100 倍,建立了 DDVP 和甲基对硫磷的酶抑制方程,其最小检出浓度分别为  $0.01 \times 10^{-6}$  和  $0.166 \times 10^{-6}$ 。

**关键词** 植物酯酶 农药残留

**Abstract** The article introduced the conditions and the methods to assay DDVP and O, O - Dimethyl - O - (p - nitrophenyl) thionophosphate the pesticide residues in vegetables by means of botanical esterase. The activity of the enzyme was shown by enzymatic reaction rate to take the place of the old action balance method. O, O - Dimethyl - O - (p - nitrophenyl) thionophosphate restrained the enzyme's activity by 50~100 times through the addition of activator. It constructed the enzyme's controlling equation of DDVP and O, O - Dimethyl - O - (p - nitrophenyl) thionophosphate, with the minimal detectable concentration as 0.01ppm and 0.166ppm.

**Key words** Botanical esterase Pesticide residue

近年来,由蔬菜中农药残留超标而引起的中毒事故时有发生,故对蔬菜中有机磷农药残留的监测越来越显得非常重要。传统的有机磷农药的分析方法主要是气相色谱法。但气相色谱仪使用条件要求高,对使用环境和操作条件要求严格,使用人员要经过专门的培训,操作繁琐,时间较长。而蔬菜作为一种生鲜商品,要求灵敏、快速的测定方法,以缩短流通时间,保证质量。植物酯酶可以催化乙酸萘酯水解为萘酚和乙酸,萘酚与呈色剂固蓝 B 作用形成紫红色的偶氮化合物,从而产生显色反应。而有机磷农药能抑制植物酯酶的活性,当试样中有有机磷农药存在时,植物酯酶受抑制,反应速率发生变化,以至于不显色<sup>[1]</sup>。因此,测定有无酯类水解产物,或测定其水解速度的变化,就可确定有无有机磷农药存在,同时能确定其含量。本文就是利用这个原理,对植物酯酶法测定有机磷农药残留的条件及方法进行了研究。

## 1 试验材料与方法

### 1.1 试验原材料

检测用酶—植物酯酶(制法如下)

新小麦磨粉,面粉按 1:5(w/v)加蒸馏水,振荡提取 30min,再以 2000~3000r/min 离心分离 10min,上清液过滤,4℃保存。(原液)

乙酸萘酯溶液 称取 125mg 乙酸萘酯溶于 100ml 无水乙醇中。

固蓝 B 盐溶液 称取固蓝 B 盐 10mg 溶于 18ml 蒸馏水中。

显色基质溶液 前一种溶液与后一种溶液按 1:9 混合,即为显色基质溶液(现用现配)。

### 1.2 pH 缓冲溶液的配制<sup>[4]</sup>

0.1mol 磷酸二氢钾 13.6g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  溶于水定容 1000ml

0.05mol 硼砂 19.1g  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  溶于水

糖组分。

3.2 中、低剂量多糖组分  $\text{DT}_2$  均能显著刺激小鼠足跖增厚。

3.3 中剂量多糖组分  $\text{DT}_2$  具有增强小鼠单核—巨噬细胞的功能。

3.4 三种多糖组分均对小鼠的脾脏与胸腺的刺激作用不明显。

3.5 多糖组分  $\text{DT}_2$  能较好的促进巨噬细胞的吞噬功能。

3.6 急性毒性实验证明多糖组分  $\text{DT}_2$  属于无毒物质。

## 参考文献

- 1 钟海. 日本发现海带含抗癌物质. 海洋世界, 1998, 5.
- 2 中国新闻社. 日本发现海带治疗肝病的效用, 1999, 9.
- 3 吴东儒主编. 糖类的生物化学. 高等教育出版社, 1987.
- 4 张哲, 张筠. 海带中的生理活性多糖. 食品科技, 1999, (3): 52~53.
- 5 李林, 罗琼, 张声华. 海带多糖的分类提取、鉴定及理化特性研究. 食品科学, 2000, 21(1): 4.