

综合考虑白首乌三种样品的功效和毒性,醇提物的效果最好而又未表现出毒性,作为功能食品开发可达到的最大的利弊比。

在于中药制剂的改进曾有研究指出^[9],在中药传统制剂改革中,为既保持传统制剂原有功效,又能满足现代制剂“三小、三效、五方便”要求,能否从中药材中将体现中医功能主治的综合有效部位浸出使成为剂改是否成功的关键环节;关用总浸出物和主要成分为指标,综合评价了影响中药浸出效果的因素,提示在进行中药制剂浸出工艺合理性研究时,宜有针对性地进行实验并选择适宜的评价目标,方能获得较佳浸出效果。功能食品的开发原则有与中药制剂类似之处。本文实验结果表明,醇提物的功效性最好。用乙醇进行热提取,同时保证了总浸出物和主要活性成分 C_{21} 甾甙两个主要指标。既保证了主要有效成分 C_{21} 甾甙的较彻底的取得,又同时保证了其它营养成分和活性成分的综合利用。就工业应用来说,用乙醇提取比用水提取溶剂用量少,提取时间短,溶解出的主要活性成分多,而且提取液不易发霉变质易保存。而且乙醇价格便宜、来源方便、毒性小,有一定的设备即可回收。因此,用乙醇作为萃取剂来进行白首乌功能食品的初步加工是可行的。此方法对白首乌功效的有效利用比起单纯的 C_{21} 甾甙来,更具有实际意义。

白首乌作为一种良好的中药资源和功能食品资源,对它的利用应该是多方位的、全面的。根据本文的研究结果,对白首乌这一保健资源的综合利用提出如下方案。首先,白首乌的乙醇提取物因含有以 C_{21} 甾甙和磷脂为主的多种活性成分和营养成分,而具有优良的保健功能并不具毒性,可用于制作功能食品或作为

具有保健功能的食品添加剂;经乙醇提取后的原料仍含有一些水溶性较强的活性成分和营养成分,可用水再进行抽提,制作保健饮料;而剩余的大量的残渣主要是淀粉,可用于提取白首乌淀粉,其适于制作预糊化淀粉^[10]。白首乌醇提物也可进一步提取分离,生产白首乌总磷脂和白首乌总甙,用作药品或食品添加剂,另外,白首乌还可与其它中药或食品配伍,相互取长补短,制成各种方剂或功能食品,通过更多化合物之间的相互补充和协同作用,使营养更全面、保健活性更强。

参考文献

- 1 宋俊梅,丁霄霖.白首乌对超氧阴离子自由基清除作用的研究.食品科学,1997,18(9):61~64.
- 2 宋俊梅,丁霄霖.白首乌中 C_{21} 甾甙及甾甙元清除自由基的功能.无锡轻工大学学报,1998,17(2):43~46.
- 3 宋俊梅等.白首乌 C_{21} 甾甙对小鼠免疫功能影响的研究.无锡轻工大学学报,2001,(6)待发表.
- 4 宋俊梅.白首乌 C_{21} 甾甙抗氧化作用的研究.食品科学,2001,(12).
- 5 刘成娣,龚树生.抗衰老中药白首乌的进展.北京中医学院学报,1990,13(1):45~47.
- 6 龚树生等.白首乌总磷脂及漏芦蜕皮甾酮对小鼠细胞免疫的影响.中华老年医学杂志,1983,2(4):193~198.
- 7 药理学实验组.药理学实验.人民卫生出版社,1985,185~187.
- 8 药理学实验组.药理学实验.人民卫生出版社,1985,163~164.
- 9 侯世祥等.中药浸出因素考察及效果评价.中草药,1996,27(3):143~146.
- 10 宋俊梅,丁霄霖.白首乌淀粉的研究.江苏食品与发酵,1998,(1):15~17.

虫草黄梨汁增强机体免疫调节功能的研究

周小理 上海应用技术学院 200433

陈树俊 山西省食品工业研究所 030024

刘 诚 北京市食品研究所 100005

T62 A

摘 要 系统地研究了以冬虫夏草、黄梨为主要原料,制成虫草黄梨汁的工艺过程。经一系列动物实验表明:虫草黄梨汁确有调节小鼠细胞免疫功能和调节小鼠单核-巨噬细胞吞噬能力的作用,是一种具有免疫调节作用的新型功能果汁饮料,具有较强的市场竞争力。

关键词 冬虫夏草 黄梨汁 提取 免疫调节

Abstract The technology process has been researched to produce the Chinese caterpillar fungus yellow pear juice with the main materials of Chinese caterpillar fungus and Yellow pear. As indicated by a series animals test indicated, this

special juice have a immune adjustment function of the cell and regulate the swallowing capability of the the single macrophage for mice. It is a new beverage having the immune adjustment function and have a stronger competitive capacity in market.

Key words Chinese caterpillar fungus Yellow pear juice Extraction Immune adjustment

增强免疫功能是保健食品中最重要的功能之一。免疫调节功能是机体的一种保护性反应,其作用是可增强机体对疾病的抵抗力、抗感染、抗肿瘤和维持自身生理平衡。目前临床上多用免疫增强剂来治疗免疫功能低下的疾病,但这些药物大多有毒副作用或成本较高,应用上有一定局限性。因此发现、筛选并研究开发以天然活性成分为主,具有免疫调节功能的饮料或食品,不仅具有较高的安全性又食用方便,将会受到中老年人的普遍欢迎。随着我国社会老龄化的形成,这类饮料将会有巨大的发展空间。

冬虫夏草,简称虫草,是我国稀有的名贵强壮滋补药材。它是麦角科真菌冬虫夏草菌(*Cordyceps Sinensis* Sacc.)寄生在蝙蝠蛾昆虫幼虫上的子座与菌体。冬季蝙蝠蛾幼虫钻入土内,真菌钻入虫体内形成菌核,夏季菌核长出有柄子座。虫草主要产于我国四川、青海等高山草原地带。传统医学认为虫草性味甘、平、入肺、肾经。具有扶正固本、补肺益肾、活血化痰、祛风散寒、解毒消炎、利尿消肿等功能。^[1]现代医学对虫草进行了系统的药理研究,表明虫草中含有尿嘧啶、腺嘌呤、腺嘌呤核苷、单糖、麦角甾醇、硬脂酸和胆甾醇软脂酸酯、SOD 等物质,还含有丰富的蛋白质、微量元素和维生素。证实这些活性物质具有促进代谢、补充营养、增强体质作用,特别对调节人体免疫功能、抗衰老方面具有独特的作用。

虫草既是治病良药,又可作为滋补佳品。很早以前就被人们加以食用,清《本草从新》中就有“虫草蒸鸭”的记载,直至今日我国南部、港澳地区及日本、东南亚等国家,仍将虫草炖鸡、炖鸭作为中老年人滋补的重要食品。

黄梨为山西高平之特产,具有梨香气宜人、汁多甘甜的特点,黄梨中含有果糖、葡萄糖、柠檬酸、苹果酸、维生素 C 及钙、磷、钾、钠、镁、铁等矿物质元素,具有润肺祛燥、生津解渴、止咳化痰之功效。黄梨与虫草相赋配,不仅色泽相宜,梨香悦人,口感协调,而且增加了其调节免疫的功能。

本试验以冬虫夏草、黄梨原汁为主要原料,经现代食品和生物技术加工成虫草黄梨汁,以达到滋补强身、调节人体免疫功能的目的。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

冬虫夏草 青海产

黄梨 山西省高平市产

蜂蜜 山西农科院购进

蛋白酶 无锡酶制剂厂

索氏抽提器、自制渗滤器、SHZ-C 型水循环多用真空泵、RE-52 旋转薄膜蒸发器、P-6072 粉碎机、LD5-10 型电动离心机、恒温水浴锅、抽滤器、果汁榨汁器、DMM60 胶体磨、均质机

1.2 分析方法

蛋白质含量测定:微量凯氏定氮法;

总糖测定:斐林法;

游离氨基酸态氮测定:甲醛滴定法;

蛋白质水解率: (游离氨基酸态氮/原料中总氮) × 100%

提取率测定:

取一定重量的提取液置洗净烘干的烧杯中,在 105℃ 下烘干至恒重,称其固形物含量,按下式计算提取率:提取率(%) = (提取液重量 × 可溶性固形物含量%) / 原料重量 × 100

虫草酸测定:“中国药典”中甘露醇的测定方法

水解氨基酸测定:日本 835-50 型氨基酸自动分析仪测定

总溶出物的相对量测定:英国产 SP8-100 紫外分光光度计测定

虫草水解上清液的质量指标和测定计算方法为:

混合氨基酸中氨基酸总量

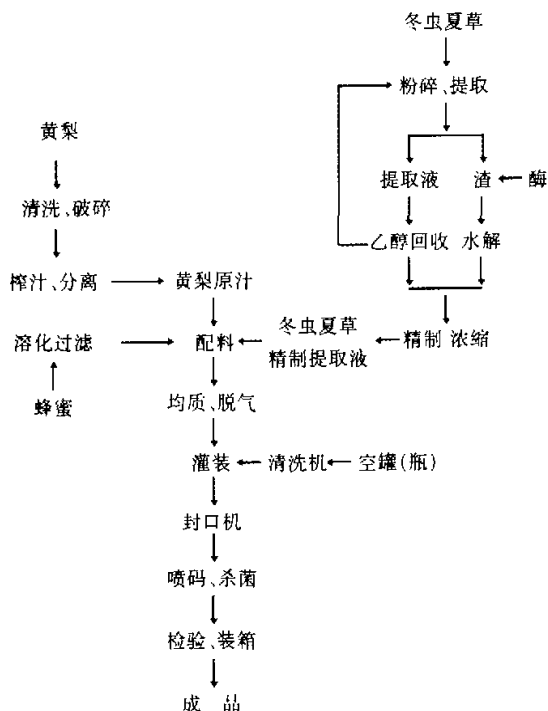
$$\text{氨基酸生成率} = \frac{\text{混合氨基酸中的氨基酸总量}}{\text{原料中蛋白质总量}} \times 100\%$$

$$\text{原料蛋白质利用率} = \frac{\text{混合氨基酸中的总氮}}{\text{原料中的总氮}} \times 100\%$$

1.3 试验方法

1.3.1 工艺流程

1.3.2 试验方法



1.3.2.1 虫草成份测定

1.3.2.2 虫草提取液的制备

分别以水和浓度为 30%~95% 的乙醇溶液作为提取溶剂,采用索氏抽提器、自制渗滤器和水浴锅三种提取方式,于 60~90℃ 提取虫草。提取时间分别为 1、2、3、4、5、6h。然后将提取液在 LD510 型离心机中以 3000~4000r/min 的速度分离 5~10min,取其上清液置于小型旋转薄膜蒸发器中,浓缩真空度为 8.5~9.5MPa,温度为 50~65℃,浓缩至一定浓度待用。

1.3.2.3 虫草精制提取液的制取:

提取后的虫草渣占虫草总量的 40%~45%,渣中含有 30%~33% 的蛋白质。试验分别采用酸法和酶法对虫草渣进行水解。酸法水解条件为采用索氏抽提器并加入 3~6 倍虫草渣重的盐酸溶液,于 85~100℃ 下回流水解 12~24h。酶法水解条件为加入虫草渣重量的 0.05%~0.1% 的商品木瓜蛋白酶、菠萝蛋白酶、胃蛋白酶及 A 号复合蛋白酶,于 30~50℃ 酶解 50~80h,酶解时搅拌速度为 1000r/min,将经灭酶、分离去除残渣的水解上清液与提取液相混合后再经过滤浓

缩后即虫草精制提取液。

1.3.2.4 虫草黄梨汁的调配

虫草精制提取液具有类似蛋白胨的“怪味”和少量苦腥味感,试验通过加入具有吸附和掩蔽性作用的食物添加剂以及赋配预处理后的黄梨汁、蜂蜜,以改善产品风味和增加产品的免疫调节功能。

1.3.2.5 虫草黄梨汁外观稳定性的改善

虫草黄梨汁属于热力学不稳定系统,在贮存过程中易发生沉淀、外观稳定性降低等现象。试验依据斯托克斯定律通过添加阿拉伯树胶、耐酸羧甲基纤维素钠、海藻酸钠、黄原胶等增稠剂,并对上述增稠剂进行复配使用,以提高汁液的粘度,通过采用均质手段使黄梨果肉颗粒均匀细腻,从而改善产品的外观稳定性。

1.3.2.6 虫草黄梨汁的安全性

根据《食品安全性毒理学评价程序和方法》的要求,将按上述工艺扩大稳定生产的虫草黄梨汁委托山西省卫生防疫站进行了一、二阶段的毒理学试验。包括急性毒性试验、小鼠骨髓细胞微核试验、小鼠睾丸染色体畸变试验、Ames 试验、30d 喂养试验及致畸试验(试验方法略)。

1.3.2.7 虫草黄梨汁的免疫调节功能

目前评价机体免疫调节功能的指标有细胞免疫功能、体液免疫功能和单核-巨噬细胞,为证实虫草黄梨汁的免疫调节滋补功能,根据《保健食品功能学评价程序和检验方法》的要求,将大批生产的虫草黄梨汁委托中国预防医学科学院营养与食品研究所保健食品功能检验中心进行了动物试验。

细胞免疫功能测定选择迟发型变态反应(DTH)(足跖增厚法),单核-巨噬细胞功能选择小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞(半体内法),试验数据均采用方差检验进行统计分析。

试验选用由中国药品生物制品检定所实验动物中心提供的体重为 18~22g 的 BALB/C 小鼠(三级),分高、中、低三个剂量组(每组 10 只),按一定剂量将虫草黄梨汁灌胃给受试物,对照组给予自来水,连续给予受试物 20d 后活杀小鼠并测定免疫指标。

2 结果和分析

2.1 冬虫夏草的主要成份

表 1 虫草的主要成份

项目含量	水份	灰份	粗蛋白质	脂肪	粗纤维	碳水化合物	虫草酸
%	6.55	7.31	28.51	9.6	8.05	16.73	7.38

表 2 虫草水解氨基酸成份

氨基酸	含量 mg/100mg	氨基酸	含量 mg/100mg
赖氨酸	2.05	氨基丙酸	1.22
组氨酸	1.40	半胱氨酸	微量
精氨酸	2.20	缬氨酸	1.17
天冬氨酸	1.63	蛋氨酸	0.10
苏氨酸	1.13	异亮氨酸	0.59
丝氨酸	1.08	亮氨酸	1.07
谷氨酸	3.12	酪氨酸	0.67
脯氨酸	1.26	苯丙氨酸	0.68
甘氨酸	0.99	色氨酸	2.39

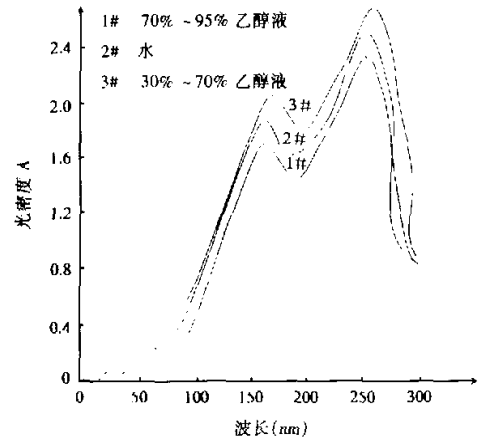


图 1 静态提取条件下不同溶媒对总溶出物含量影响

冬虫夏草的主要成份见表 1、表 2。

2.2 溶媒的选择：

溶媒是提取工艺的关键，试验选用水、30~70%乙醇溶液和 70~95%乙醇溶液三种不同溶媒进行对比，经对提取浓缩液的测定：结果如表 3、表 4，图 1、3 和图 2。

由上述对比表和图看出：无论是采用静态或动态提取方式，溶媒对虫草有效成分的提取均有影响，从提取液的质量、提取效果和加工成本三方面综合分析，采用 3 号溶媒效果最好。

同时由图 2 得出：不同浓度的虫草乙醇抽提液在

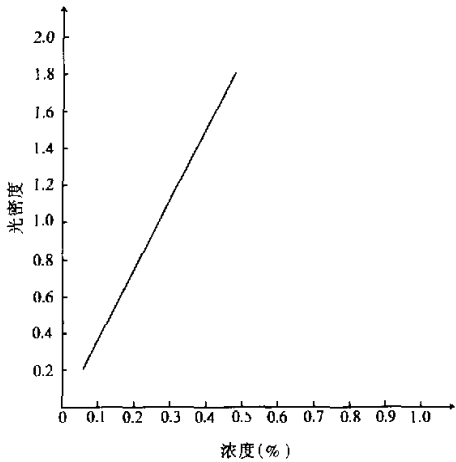


图 2 虫草乙醇提取液浓度与光密度的关系(260nm)

260nm 波长下，其光密度与浓度的关系符合比尔定律，从而表明采用紫外分光光度法测定虫草提取液中总溶出物的相对含量，此方法简单、快速，便于今后指导生产。

2.3 提取方式和时间的选择

通过测定静态、渗滤、索氏抽提三种提取方式下和 1、2、3、4、5、6 六个不同时间后提取液的光密度，结果见图 4、5。

由图看出：采用索氏抽提法效果最好，且提取时间以 5h 为宜。

2.4 虫草蛋白水解方式的选择：

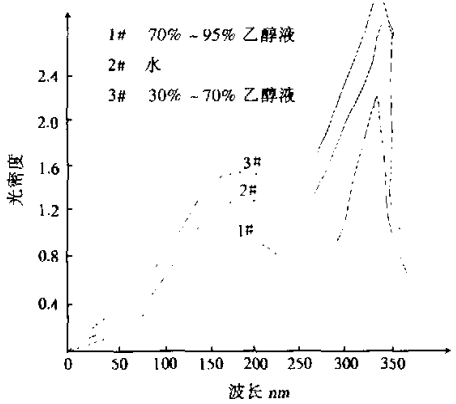
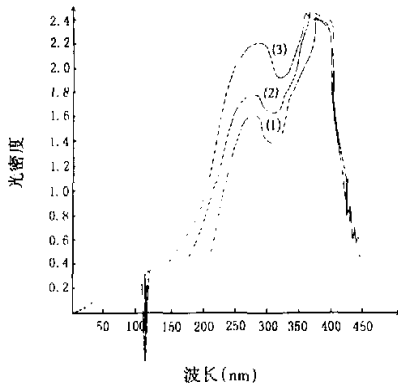


图 3 动态提取条件下不同溶媒对总溶出物含量的影响

表 3 不同溶媒对提取液质量及提取效果的影响

指标	1#(70%~95%乙醇液)	2#(水)	3#(30%~70%乙醇液)
总溶出物的提取率%	36.22	50.10	56.42
虫草酸的提取率%	95.30	97.03	96.92
游离氨基酸态氮含量g	0.211	0.221	0.317
提取液外观性状	较清亮	混浊	较清亮

提取虫草重 20g



(1)静态提取 (2)渗滤 (3)索氏抽提
图4 不同提取方式对提取效果的影响

比较酸法与酶法水解液的质量,见表4、表5。

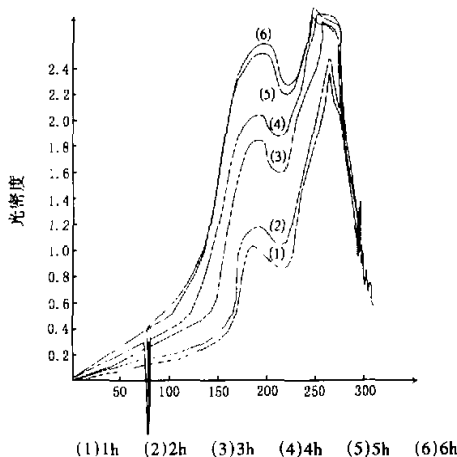
由表看出,酶法水解的氨基酸生成率接近酸法。并且酸法水解生产工艺繁琐,设备耐腐蚀要求高,水解物中色氨酸全部被破坏,由于水解终了尚需加入大量碱液中和,影响产品风味。因此虫草蛋白的水解以选用酶法效果好。

2.5 蛋白酶的选择

通过对不同蛋白酶酶解虫草渣的作用效果比较见表6和虫草水解液最终指标的测定,可以看出:采用A号复合蛋白酶效果最好,其氨基酸生成率达到76%,原料蛋白质利用率达到87.8%,能够使虫草渣蛋白的水解反应得以充分完成。

2.6 复合稳定剂的选择

试验通过不同复合稳定剂的效果对比,见表7。结果表明:使用复合稳定剂的比单一使用某一种稳定剂的效果更好,当使用复合稳定剂A,浓度为0.2%以及



(1)1h (2)2h (3)3h (4)4h (5)5h (6)6h
图5 不同提取时间对提取效果的影响

表4 水解方式对虫草渣氨基酸生成率的影响

氨基酸	酸法	酶法
生成率%	79	76

表5 水解方式对色氨酸的影响

水解方式	酸法	酶法
无色溴水反应	无变色	粉红色*

*颜色变粉,表明有较多的色氨酸。

表6 不同蛋白酶对虫草渣作用效果的比较

酶的品种	胃蛋白酶	菠萝蛋白酶	木瓜蛋白酶	A号复合蛋白酶
氨基酸生成率%	20	40	43.5	76

复合稳定剂C,浓度为0.06%~0.08%时虫草黄梨汁的稳定性较好,且对流动性无影响,从生产成本来考虑可选用符合稳定剂C作为本产品适宜的稳定剂。

2.7 产品风味和营养成分

经调配后的产品气味纯正,虫草与黄梨、蜂蜜辅料风味融为一体,做到协调柔和、外观状态稳定。产品经有关单位检测,含有虫草酸93.24mg/100ml,十八种氨基酸总含量达到230.38mg/100ml,其中必需氨基酸占56%。

2.8 产品的安全性

产品经山西省食品卫生监测所检验,卫生指标和重金属含量均符合国家食品卫生标准。

产品经山西省卫生防疫站毒理学试验表明:经急性毒性试验该检品小鼠经口LD₅₀>10g/kg.bw,为实际无毒级物质。经小鼠骨髓微核试验,小鼠睾丸染色体畸变试验和Ames试验表明该检品未呈现有遗传毒性。经30d喂养试验表明该检品对动物的活动、进食、体重增长、红细胞数、白细胞数、血红蛋白含量、肝肾功能及脏器大体均无不良影响,各主要脏器的大体及镜下检查未见有特异性病理改变。致畸试验结果表明该物质无论对孕鼠及胎鼠均未产生明显的毒性作用及致畸作用。认为虫草黄梨汁作为保健品用于人体是安全的。

2.9 产品的免疫调节功能

经免疫调节作用的试验,见表8、表9。

由表8可见,经口给予小鼠不同剂量的虫草黄梨汁20d后,中剂量组小鼠DTH反应显著高于对照组,且有明显性差异(P<0.05),高、低剂量组小鼠DTH反应与对照组比较无明显性差异。

由表9可见,经口给予小鼠不同剂量的虫草黄梨汁20d后,高、中剂量组小鼠腹腔巨噬细胞吞噬率高

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