

仿刺参酶解提取物营养成分分析及其对小鼠免疫功能的影响

袁文鹏^{1,2,3}, 张绵松¹, 胡炜², 贾爱荣¹, 夏雪奎¹, 刘昌衡^{1,2}, 乔若瑾¹

(1. 山东省科学院生物研究所, 山东省应用微生物重点实验室, 山东济南 250014) (2. 山东省海珍品精深加工技术重点实验室, 山东荣成 264305) (3. 中国海洋大学食品科学与工程学院, 山东青岛 266003)

摘要: 对仿刺参酶解提取物营养成分组成进行了测定和分析, 并依照《保健食品检验与评价技术规范》(2003版)中“增强免疫力功能检验方法”, 评价了其小鼠免疫功能的影响。结果表明仿刺参酶解提取物水分、粗蛋白、粗脂肪、灰分、磷脂、多糖、皂苷含量分别为6.41%、70.51%、5.05%、6.83%、0.96%、8.56%、0.78%。仿刺参酶解提取物氨基酸总量为56.046 g/100 g, 必需氨基酸占氨基酸总量的24.2%, 鲜味氨基酸占氨基酸总量的55.6%。刺参酶解提取物低、中、高(0.1 g/kg bw, 0.2 g/kg bw, 0.6 g/kg bw)剂量组可明显提高ConA诱导的小鼠脾淋巴细胞增殖能力, 与阴性对照组比较差异显著($p < 0.05$); 3剂量组可显著提高小鼠血清溶血素水平($p < 0.05$); 高剂量组能极显著提高小鼠抗体生成细胞数($p < 0.01$); 中、高剂量组能极显著提高小鼠NK细胞活性($p < 0.01$)。仿刺参酶解提取物含有丰富的营养成分, 并具有增强免疫力的功能。

关键词: 仿刺参; 酶解提取物; 营养成分; 小鼠; 免疫功能

文章编号: 1673-9078(2015)11-45-50

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.11.008

Analysis of Nutritional Components of Enzymatic Extract from *Apostichopus japonicus* and Its Effects on the Immunological Functions of Mice

YUAN Wen-peng^{1,2,3}, ZHANG Mian-song¹, HU Wei², JIA Ai-rong¹, XIA Xue-kui¹, LIU Chang-heng^{1,2}, QIAO Ruo-jin¹

(1. Biology Institute of Shandong Academy of Sciences, Key Laboratory for Applied Microbiology of Shandong Province, Jinan 250014, China) (2. Key Laboratory of Sea Cucumber Deep Processing Technology of Shandong Province, Rongcheng 264305, China) (3. College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qindao 266003, China)

Abstract: The nutritional components in the enzymatic extract of sea cucumber *Apostichopus japonicus* were measured and analyzed, and the effects of the extract on the immunological function of mice were evaluated according to the “Test Method for Strengthening Immune System Function” in “Health Food Inspection and Specifications for Evaluation Techniques (2003)”. The result showed that the moisture, crude protein, crude fat, ash, phospholipid, polysaccharide, and saponin contents in the enzymatic extract of sea cucumber *Apostichopus japonicus* were 6.41%, 70.51%, 5.05%, 6.83%, 0.96%, 8.56%, and 0.78%, respectively. In the enzymatic extracts, the total amount of amino acids was 56.046 g/100 g (dry weight); the essential amino acids accounted for 24.2% of the total amino acids and the delicious amino acids accounted for 55.6% of the total amino acids. The low, medium, and high (0.1 g/kg bw, 0.2 g/kg bw, 0.6 g/kg bw) dose groups of sea cucumber extract pronouncedly increased concanavalin A (ConA)-induced T lymphocyte proliferation, showing significant differences compared with control group ($p < 0.05$); all three groups increased the serum hemolysin level in mice ($p < 0.05$), and the high-dose group significantly improved the number of antibody-producing cells ($p < 0.01$); medium and high dose groups also significantly increased the natural killer (NK) cell activity ($p < 0.01$). Enzymatic extracts of sea cucumber are rich in nutrients and can improve the immunological function of mice.

Key words: *Apostichopus japonicus*; enzymatic extract; nutritional component; mice; immunological function

收稿日期: 2015-01-15

基金项目: 山东省科技计划项目(2012GHHY11512); 山东省自主创新专项(2013CX080203); 国家自然科学基金项目(8120245)

通讯作者: 袁文鹏(1979-), 男, 博士, 副研究员, 研究方向: 食品科学与工程, 水产品加工与贮藏

我国自古就把海参视为佐膳珍品,在古代医典中都有记载,如《本草纲目拾遗》中把海参列为补益类药物,具有较高的药用价值,称其“补肾经、益精髓、消痰涎、摄小便,生血、壮阳,治疗溃疡生疽^[1]。现代药理学研究表明,海参所富含的活性物质,具有抗凝血^[2]、抗真菌^[3]、抗病毒^[4]、免疫调节^[5]、改善睡眠^[6]、抗肿瘤、促进伤口愈合^[7]等活性。现今海参虽然仍被列为食品,但其医疗保健作用得到了越来越广泛的认同,基于海参开发的保健食品也呈增多的趋势。

目前海参保健品市场,胶囊或软胶囊等剂型的产品居多,但随着海参保健品市场对新剂型、新产品的需求日渐提升,原有的硬胶囊、软胶囊已难以满足快速发展的市场需求,尤其是近几年“毒胶囊”事件的频发,海参胶囊类产品的市场份额也受到了较大影响。因此,研发颗粒剂、散剂、咀嚼片剂等新剂型的海参保健食品成为各海参保健食品企业竞相角逐的热点。

刺参 *Apostichopus japonicus* (Selenka) 又称仿刺参是海参的一种,属棘皮动物门 (*Echinodermata*), 游走亚门 (*Eleutherozoa*), 海参纲 (*Holothuroidea*), 楯手目 (*Aspidochirota*), 刺参科 (*Stichopodidae*), 仿刺参属 (*Apostichopus*)^[8]。刺参体壁高蛋白、低脂肪、富含多种氨基酸、维生素,还含有丰富的生物活性物质^[9],经生物酶解后不但能有效增强可溶性,获得多种风味氨基酸,而且能够更为全面和快速地为人体吸收,以其作为原料开发新剂型的海参保健食品具有多方面的优势。目前对刺参酶解工艺方面的报道较多,但对刺参酶解后的提取物营养成分测定及免疫活性的研究还未见报道,本文对仿刺参酶解提取物的营养成分组成进行了测定,并进一步观察了其对小鼠免疫活性的影响,其结果将为新剂型海参保健食品的开发提供实验依据。现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 原料

新鲜仿刺参由山东好当家集团有限公司提供,仿刺参酶解提取物于好当家海普盾生物科技有限公司提取制备。

1.2 实验动物

选用 SPF 级雌性 ICR 小鼠 192 只 (北京华阜生生物技术有限公司), 6~8 周龄 (体重 18~22 g)。

1.3 仪器与试剂

氨基酸分析仪 (日本日立 835-50 型)、离心机 (德

国贺力氏 Fresco)、CO₂ 培养箱 (美国 Thermo Fisher)、连续光谱酶标仪 (美国 Synergy™ Neio)、显微镜 (德国莱卡 DM500)。

水产蛋白酶 (30 万 U/g, 南宁东恒华道生物科技有限公司)、SRBC (绵羊红细胞)、补体 (豚鼠血清)、YAC-1 肿瘤细胞系 (购自中国医学科学院肿瘤细胞库)、印度墨汁 (青岛海博)、NP40 (nonidet p-40)、硝基氯化四氮唑 (INT, Sigma)、吩嗪二甲值硫酸盐 (PMS, Sigma)、氧化性辅酶 I (NAD, Sigma)、四甲基偶氮唑蓝 (MTT, Sigma)。

1.4 实验方法

1.4.1 仿刺参酶解提取物的制备方法

仿刺参酶解提取物具体生产工序:新鲜仿刺参沿腹部剖开去肠后,自来水清洗,置于沸水中漂烫 20 min,捞出体壁,待冷却后,纯净水清洗,破碎体壁,水产蛋白酶酶解 (酶解工艺条件参考文献^[6]),酶解完毕后先后经 1 次离心 (2000 r/min, 30 min)、2 次离心 (6000 r/min, 20 min)、3 次离心 (12000 r/min, 10 min) 去除沉淀,上清液浓缩后经喷雾干燥得仿刺参酶解提取物 (粉状)。

1.4.2 仿刺参酶解提取物营养成分的测定

水分:根据 GB/T 5009.3-2003 直接干燥法。灰分:根据 GB/T 5009.4-2003 高温灼烧法测定灰。蛋白质:根据 GB/T 5009.5-2003 凯氏定氮法测定。粗脂肪:根据 GB/T 5009.6-2003。氨基酸:根据 GB/T 14965-94,利用氨基酸分析仪测定。总磷脂:钼蓝比色法。海参多糖,总皂苷测定参考文献^[10]方法进行。

1.4.3 剂量与分组

实验动物分为四大组,免疫 1~4 组 (每大组 48 只),每大组设对照组 (生理盐水组) 和低、中、高 (日剂量 0.1 g/kg bw、0.2 g/kg bw、0.6 g/kg bw) 剂量组共 4 组,每组 12 只。连续经口灌胃 30 d 后,开始测定各项免疫指标。免疫 1 组进行脏器/体重比值、迟发型变态反应、抗体生成细胞检测及血清溶血素测定实验;免疫 2 组进行碳廓清实验;免疫 3 组进行小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞实验;免疫 4 组进行 ConA 诱导的小鼠脾淋巴细胞转化实验和 NK 细胞活性测定实验;免疫 1~4 组按均测量体重。

1.4.4 迟发型变态反应 (DTH)

免疫 1 组:小鼠腹腔注射 2% (V/V) SRBC 20 μL 致敏动物,第 4 d 免疫动物,测定左后足跖厚度,然后于该处皮下注射 20% (V/V) SRBC,每鼠注射 20 μL,注射后 24 h 测量左后足跖部厚度,同一部位三次,取均值。以攻击前后足跖厚度差值 (足跖肿胀度) 来表

示 DTH 的程度。

1.4.5 小鼠脏器/体重比值及血清溶血素测定

免疫 1 组: 经测定迟发型变态反应的小鼠, 摘眼球取血, 离心取血清稀释 100 倍, 进行半数溶血值测定。然后处死动物, 取胸腺、脾脏称重, 计算脏器/体重比值。同时制备脾细胞悬液, 进行抗体生成细胞检测 (见 1.4.6)。

1.4.6 抗体生成细胞检测 (Jerne 改良玻片法)

免疫 1 组: 取脾, 制成脾细胞悬液。将表层培养基加热溶解后与等量双倍 Hank's 液混合, 分装小试管, 每管 0.5 mL, 再向管内加 50 μ L 10% SRBC (V/V, 用 SA 液配制)、25 μ L 脾细胞悬液, 迅速混匀后, 倾倒在已刷琼脂糖薄层的玻片上, 待琼脂凝固后, 将玻片水平扣放在玻片架上, 放入 CO₂ 培养箱温育 1.5 h, 然后用 SA 液稀释的补体 (1:8) 加入到玻片凹槽内, 继续温育 1.5 h 后, 计数溶血空斑数。

1.4.7 小鼠碳廓清试验

免疫 2 组: 小鼠尾静脉注射 1:3 稀释的印度墨汁, 注入墨汁后 2、10 min, 分别从内眦静脉丛取血 20 μ L, 并将其加到 2 mL Na₂CO₃ 溶液中, 于 600 nm 波长处测光密度值 (OD)。将小鼠处死, 取肝和脾脏称重, 计算吞噬指数。

吞噬指数 $a = \text{结束体重} \times K^{1/3} / (\text{肝重} + \text{脾重})$

$K = (\log OD_1 - \log OD_2) / (t_2 - t_1)$

1.4.8 小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞试验

免疫 3 组: 小鼠腹腔注射 20% 鸡红细胞悬液 1 mL, 间隔 0.5 h 处死, 剪开腹壁皮肤, 注射生理盐水 2 mL, 1 min 后, 吸出腹腔洗液 1 mL, 分滴于 2 片玻片上, 37 $^{\circ}$ C 温育 30 min, 用生理盐水漂洗, 晾干, 以 1:1 丙酮甲醇溶液固定, Giemsa 染液染色 10 min, 用蒸馏水漂洗晾干, 用油镜镜检, 计算吞噬百分率和吞噬指数。

吞噬百分率 (%) = $\frac{\text{吞噬鸡红细胞的巨噬细胞数}}{\text{计数的巨噬细胞数}} \times 100\%$

吞噬指数 = $\frac{\text{被吞噬的鸡红细胞总数}}{\text{计数的巨噬细胞数}}$

1.4.9 ConA 诱导的小鼠脾淋巴细胞转化试验 (MTT 法)

免疫 4 组: 制备脾细胞悬液, 将细胞悬液分两孔加入 24 孔培养板中, 每孔 1 mL, 一孔加入 75 μ L ConA 液, 另一孔作为对照加入 75 μ L 去离子水, 置 5% CO₂、37 $^{\circ}$ C 培养箱中培养 72 h。培养结束前 4 h, 每孔吸取上清液 0.7 mL, 加入 0.7 mL 不含小牛血清的 RPMI 1640 培养液, 同时加入 MTT (5 mg/mL) 50 μ L, 继续培养 4 h。培养结束后, 每孔加入 1 mL 酸性异丙醇, 吹打均匀使紫色结晶完全溶解, 在 570 nm 波长处测

定 OD 值, 以加 ConA 孔的 OD 值减去不加 ConA 孔的 OD 值表示淋巴细胞增殖能力。

1.4.10 NK 细胞活性测定

免疫 4 组: 取浓度为 4×10^5 个/mL 的 YAC-1 靶细胞和效应细胞 100 μ L 效靶比 (50:1), 加入 96 孔培养板; 靶细胞自然释放孔加靶细胞和培养液各 100 μ L, 靶细胞最大释放孔加靶细胞和 1% NP40 各 100 μ L; 上述各项均设三个复孔, 于 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 培养箱中培养 4 h, 然后将 96 孔培养板以 1500 r/min 离心 5 min, 每孔吸取上清 100 μ L 置平底 96 孔培养板中, 同时加入 LDH 基质液 100 μ L, 反应 3 min, 每孔加入 1 mol/L HCl 30 μ L, 在酶标仪 490 nm 处测定 OD 值。

NK 细胞活性 (%) = $\frac{\text{反应孔 OD} - \text{自然释放孔 OD}}{\text{最大释放孔 OD} - \text{自然释放孔 OD}} \times 100\%$

1.4.11 统计分析

各组数据用 $\bar{x} \pm SD$ 表示, 多组间均数比较采用方差分析, 所有数据均由 SPSS 17.0 统计软件进行处理, $p < 0.05$ 为统计学上差异有显著性。

2 结果与讨论

2.1 一般营养成分

对仿刺参体壁酶解后的提取物水分、粗蛋白、粗脂肪、灰分、多糖、皂苷、磷脂含量进行了测定, 结果见表 1。从结果中看出仿刺参体壁经水产蛋白酶酶解提取后蛋白含量为 70.51%, 比刘小芳等测定的刺参体壁经冻干打粉后的粗蛋白含量 49.75%^[9], 高出 20.76%, 这说明仿刺参体壁经酶解提取后蛋白含量高于刺参体壁干粉, 这与王天明等报道的海地瓜经双酶酶解后蛋白含量高于海地瓜体壁干粉^[11]相一致。

表 1 仿刺参酶解提取物一般营养成分

Table 1 Nutrient content of the enzymatic extract of sea

cucumber <i>Apostichopus japonicus</i>	
营养成分	含量/%
水分	6.41 \pm 0.78
粗蛋白	70.51 \pm 2.02
粗脂肪	5.05 \pm 0.44
灰分	6.83 \pm 0.79
多糖	8.56 \pm 1.02
皂苷	0.78 \pm 0.14
磷脂	0.96 \pm 0.29

多糖、皂苷、脂类是海参体壁中重要的活性物质, 这些活性物质具有广泛的生理药理学活性^[7], 仿刺参酶解提取物经测定同样含有这些活性物质, 而且有些活性物质含量得以提升, 如多糖含量 8.56%, 高于刺

参体壁中多糖含量7.47%^[9]。

仿刺参酶解提取物灰分含量6.83%，比孙伟红等将刺参体壁用去离子水清洗、打浆、冻干后测定的灰分33.12%^[12]低，这说明经上述工艺获得的仿刺参酶解提取物可有效去除大量的灰分。

2.2 氨基酸的组成及含量

表 2 仿刺参酶解提取物氨基酸的组成和含量 (干重 g/100g)

Table 2 Components and levels of amino acids in the enzymatic extract of sea cucumber *Apostichopus japonicus*

氨基酸	含量	氨基酸	含量
羟脯氨酸 ^a Hypro	2.253	缬氨酸 ^a Val	2.153
天冬氨酸 ^b Asp	4.945	蛋氨酸 ^a Met	0.748
天冬酰胺 Asn	/	异亮氨酸 ^a Ile	1.617
苏氨酸 ^a Thr	2.288	亮氨酸 ^a Leu	1.983
丝氨酸 Ser	2.073	酪氨酸 Tyr	1.081
谷氨酸 ^b Glu	8.127	苯丙氨酸 ^a Phe	1.158
脯氨酸 Pro	5.016	赖氨酸 ^a Lys	1.666
甘氨酸 ^b Gly	10.139	色氨酸 ^a Trp	1.945
丙氨酸 ^b Ala	4.218	组氨酸 His	0.412
胱氨酸 Cys	0.491	精氨酸 ^b Arg	3.733
必需氨基酸总量	13.558	非必需氨基酸总量	42.488
鲜味氨基酸总量	31.162	氨基酸总量	56.046

注: a、必需氨基酸; b、鲜味氨基酸; /、未检出。

表 3 仿刺参酶解提取物对小鼠体重及脏器/体重比值的影响 (n=12, $\bar{x} \pm SD$)

Table 3 Effect of enzymatic extract of sea cucumber *Apostichopus japonicus* on body weight and organ-to-body weight ratio of mice

组别	剂量(g/kg bw)	增重/g	脾脏/体重比值/(g/100 g)	胸腺/体重比值/(g/100 g)
生理盐水对照组	-	12.8±1.8	0.54±0.10	0.36±0.06
低剂量	0.1	12.5±2.3	0.56±0.08	0.34±0.06
中剂量	0.2	12.6±2.1	0.52±0.08	0.37±0.07
高剂量	0.6	12.0±1.8	0.53±0.09	0.35±0.06

注: 受试样品组与生理盐水对照组比较: *p < 0.05, ** p < 0.01, 下同。

2.4 仿刺参酶解提取物对小鼠细胞免疫功能的影响

表 4 仿刺参酶解提取物对小鼠细胞免疫功能的影响

(n=12, $\bar{x} \pm SD$)

Table 4 Effect of enzymatic extract of sea cucumber *Apostichopus japonicus* on cellular immune function of mice

组别	剂量 (g/kg bw)	足趾肿胀 度/mm	淋巴细胞增殖能 力/OD 差值
生理盐水对照组	-	0.27±0.09	0.309±0.060
低剂量	0.1	0.29±0.12	0.389±0.076*
中剂量	0.2	0.28±0.09	0.524±0.081**
高剂量	0.6	0.31±0.11	0.491±0.036**

从表2可知,仿刺参酶解提取物中检出了18种蛋白质氨基酸,1种羟脯氨酸,氨基酸总量为56.046 g/100g。必需氨基酸总量为13.558 g/100g,占氨基酸总量的24.2%。鲜味氨基酸总量为31.162 g/100g,占氨基酸总量的55.6%,比之前报道的体壁中鲜味氨基酸占氨基酸总量的49.32%^[9]略高,使得刺参酶解提取物具有更为浓郁的海鲜风味。甘氨酸、脯氨酸、羟脯氨酸是动物胶原的主要成分,在刺参中含量丰富^[12],表2中这三种氨基酸占氨基酸总量的18.09%、8.95%、4.02%,与文献报道的刺参中相应氨基酸比例有差异,但含量排序上是一致的,甘氨酸>脯氨酸>羟脯氨酸^[13],这说明刺参体壁的主要成分胶原蛋白经酶解、离心、干燥后仍能得以保留。

2.3 仿刺参酶解提取物对小鼠体重、脾脏和胸腺重量的影响

仿刺参酶解提取物对小鼠体重及脏器/体重比值的影响见表3。从表中可以看出小鼠经灌胃30 d后,各剂量组体重增重、脾脏/体重比值、胸腺/体重比值与生理盐水对照组比较,差异均无显著性意义(p > 0.05),表明仿刺参酶解提取物对小鼠的体重生长无明显影响、对小鼠的脾脏重量和胸腺重量亦无明显影响。

绵羊红细胞(SRBC)诱导的小鼠迟发型变态反应试验、ConA诱导的小鼠脾淋巴细胞转化试验结果见表4。从表中可以看出仿刺参酶解提取物低、中、高三个剂量组小鼠对绵羊红细胞诱导的足趾肿胀度与对照组比较,差异均无显著性意义(p > 0.05);仿刺参酶解提取物对ConA诱导的小鼠脾淋巴细胞转化反应,其低、中、高三个剂量组光密度差值均高于对照组,中、高剂量组与对照组比较差异极其显著(p < 0.01),低剂量组与对照组比较差异显著(p < 0.05)。依据《保健食品检验与评价技术规范》(2003版)中增强免疫力功能评价标准判断,细胞免疫测定项目中的两个试验结果均为阳性,或任一试验的两个剂量

组结果阳性,可判定细胞免疫功能测定结果阳性,仿刺参酶解提取物小鼠脾淋巴细胞转化实验三个剂量组结果为阳性,说明受试样品具有增强细胞免疫的功能。

2.5 仿刺参酶解提取物对小鼠体液免疫功能的影响

表5 仿刺参酶解提取物对小鼠体液免疫功能的影响

($n=12, \bar{x} \pm SD$)

Table 5 Effect of enzymatic extract of sea cucumber

Apostichopus japonicus on humoral immune function of mice

组别	剂量 (g/kg bw)	半数溶血 值/HC ₅₀	溶血空斑数 /($\times 10^3$ /全脾)
生理盐水对照组	-	60.8 \pm 8.8	27.4 \pm 8.0
低剂量	0.1	78.2 \pm 9.8**	29.5 \pm 7.5
中剂量	0.2	71.4 \pm 7.9*	29.8 \pm 4.7
高剂量	0.6	78.5 \pm 6.9**	37.6 \pm 6.8**

仿刺参酶解提取物对小鼠血清溶血素、抗体生成细胞数的试验结果见表5。其受试的3个剂量组中半数溶血值(HC₅₀)均高于对照组,与对照组比较低、高剂量组能极显著提高小鼠半数溶血值(HC₅₀)($p < 0.01$),与对照组比较中剂量组能显著提高小鼠半数溶血值($p < 0.05$);仿刺参酶解提取物高剂量组能提高小鼠溶血空斑数,与对照组比较有极显著差异($p < 0.01$),而中、低剂量组对小鼠溶血空斑数影响不显著($p > 0.05$)。依据《保健食品检验与评价技术规范》(2003版)中增强免疫力功能评价标准判断,体液免疫功能测定项目中的两个试验结果均为阳性,或任一个试验的两个剂量组结果阳性,可判定体液免疫功能测定结果阳性。仿刺参酶解提取物对小鼠血清溶血素试验结果阳性,表明仿刺参酶解提取物具有提高小鼠体液免疫的功能。

2.6 仿刺参酶解提取物对小鼠NK细胞活性的影响

仿刺参酶解提取物对小鼠NK细胞活性的影响,采用乳酸脱氢酶(LDH)测定法,由表6可见,仿刺参酶解提取物低剂量组对小鼠NK细胞活性无显著影响($p > 0.05$),而中、高剂量组能极显著提高小鼠NK细胞活性,与对照组比较存在极显著差异($p < 0.01$)。依据《保健食品检验与评价技术规范》(2003版)中增强免疫力功能评价标准判断,NK细胞活性测定实验的一个以上剂量组结果阳性,可判定NK细胞活性结果阳性,表明仿刺参酶解提取物具有提高小鼠NK

细胞的活性。

表6 仿刺参酶解提取物对小鼠NK细胞活性的影响

($n=12, \bar{x} \pm SD$)

Table 6 Effect of enzymatic extract of sea cucumber

Apostichopus japonicus on NK cell activity of mice

组别	剂量(g/kg bw)	NK细胞活性
生理盐水对照组	-	24.8 \pm 4.5
低剂量	0.1	28.4 \pm 8.3
中剂量	0.2	42.1 \pm 8.6**
高剂量	0.6	38.4 \pm 8.7**

3 结论

3.1 研究结果表明仿刺参酶解提取物保留了刺参体壁原有的营养物质及活性成分,粗蛋白、多糖等营养活性物质有所提高、灰分有所降低,从这3项指标可以看出仿刺参酶解提取物作为保健食品开发的原材料从一般营养成分角度评价要明显优于刺参体壁干粉。

3.2 仿刺参酶解提取物是利用蛋白酶将刺参体壁中以糖肽键与蛋白相连的蛋白聚糖的蛋白部分水解断开,更利于人体的消化和吸收;鲜味氨基酸经酶解后得以充分的释放,占氨基酸总量的55.6%,使得其具有浓郁的海鲜风味,因此仿刺参酶解提取物特别适合开发为咀嚼片、颗粒剂等剂型的海参保健食品。

3.3 海参多糖、皂苷、多肽均具有提高免疫力的活性^[2,4,7],以往报道更倾向于单一活性物质的研究,对于仿刺参酶解提取物这一复合物提高免疫力的作用还未见报道。本研究结果显示在实验所设的(0.1 g/kg bw、0.2 g/kg bw、0.6 g/kg bw)3个剂量组中,均具有提高免疫力的活性。该研究结果为以仿刺参酶解提取物为原料来源的保健食品开发提供了实验依据。

参考文献

- [1] 赵学敏.本草纲目拾遗[M].北京:商务印书馆,1965
Zhao Xue-min. Ben cao gang mu shi yi [M]. Beijing: The Commercial Press,1965
- [2] Na Gao, Mingyi Wu, Shao Liu, et al. Preparation and characterization of o-acylated fucosylated chondroitin sulfate from sea cucumber [J]. Mar Drugs, 2012, 10(8): 1647-1661
- [3] Wang Zenglei, Zhang Hongwei, Yuan Weihua, et al. Antifungal nortriterpene and triterpene glycosides from the sea cucumber *apostichopus japonicus* selenka [J]. Food Chemistry, 2012, 132(1): 295-300
- [4] Kim SK, Himaya SW. Triterpene glycosides from sea

- cucumbers and their biological activities [J]. *Adv Food Nutr Res*, 2012(65): 297-319
- [5] Dmitry L Aminin, Alexandra S Silchenko, Sergey A Avilov, et al. Immunomodulatory action of monosulfated triterpene glycosides from the sea cucumber *cucumaria okhotensis*: stimulation of activity of mouse peritoneal macrophages [J]. *Natural Product Communications*, 2010, 5(12): 1877-1880
- [6] 袁文鹏,张绵松,胡炜,等.响应面法优化仿刺参酶解工艺及其改善睡眠活性的研究[J].食品工业科技, 2014, 35(24): 198-202
YUAN Wen-peng, ZHANG Mian-song, HU Wei, et al. Study on optimization of enzymolysis technology of sea cucumber *apostichopus japonicus* by response surface method and its sleep improvement activities [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2014, 35(24): 198-202
- [7] Sara Bordbar, Farooq Anwar, Nazamid Saari. High-value components and bioactives from sea cucumbers for functional foods-a review [J]. *Mar. Drugs*, 2011, 9: 1761-1805
- [8] 廖玉麟.中国动物志(第1卷)[M].北京:科学出版社,1997
Liao Yu-lin. *Zhong Guo Dong Wu Zhi (Vol.1)* [M]. Beijing: Science Press, 1997
- [9] 刘小芳,薛长湖,王玉明,等.乳山刺参体壁和内脏营养成分比较分析[J].水产学报,2011,35(4):587-593
LIU Xiao-fang, XUE Chang-hu, WANG Yu-ming, et al. Comparative analysis of nutritive composition in body wall and internal organs of sea cucumber (*apostichopus japonicus*) at rushan [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2011, 35(4): 587-593
- [10] 袁文鹏,刘昌衡,王小军,等.仿刺参不同部位营养成分的分析及综合评价[J].食品工业科技,2010,31(5):340-350
YUAN Wen-peng, LIU Chang-heng, WANG Xiao-jun, et al. Evaluation and analysis of nutritional composition of different parts of sea cucumber *apostichopus japonicus* [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2010, 31(5): 340-350
- [11] 王天明,苏意钢,马永钧,等.海地瓜多肽分离及抗氧化活性研究[J].现代食品科技,2014,30(5):75-81
WANG Tian-ming, SU Yi-gang, MA Yong-jun, et al. Separation and antioxidant activity evaluation of *acaudina molpadioides* peptide [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2014, 30(5): 75-81
- [12] 孙伟红,冷凯良,林洪,等.刺参不同部位中主要营养成分分析与评价[J].动物营养学报,2010,22(1):212-220
SUN Wei-hong, LENG Kai-liang, LIN Hong, et al. Analysis and evaluation of chief nutrient composition in different parts of *stichopus japonicas* [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2010, 22(1): 212-220
- [13] 王永辉,李培兵,李天,等.刺参的营养成分分析[J].氨基酸和生物资源,2010,32(4):35-37
WANG Yong-hui, LI Pei-bing, LI Tian, et al. Study on nutritional components of *stichopus japonicus* [J]. *Amino Acids & Biotic Resources*, 2010, 32(4): 35-37