

# 神秘果混合果粉营养成分及其抗疲劳和免疫作用

黄巨波, 刘红\*, 祁海兰, 卢圣楼

(海南师范大学化学与化工学院, 海口 571127)

**[摘要]** 目的:评价神秘果、杨桃、木瓜和南瓜等 4 种水果组成的混合果粉(SDMFP)的营养成分和其抗疲劳、调节免疫作用。方法:运用费林试剂热滴定法测定总糖含量,直接干燥法测定水分含量,酸水解法测定粗脂肪含量,凯氏定氮法测定粗蛋白含量,原子吸收法测定微量元素含量来分析 SDMFP 的营养成分。取昆明种雄性小鼠,随机分成空白对照组(生理盐水),SDMFP 低、中、高剂量组(100,200,400 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>),连续 ig 14 d,通过测定小鼠负重游泳时间、血乳酸(BLA)、血清尿素氮(BUN)和肝糖原(LG)的含量变化探索 SDMFP 对小鼠抗疲劳能力影响,测定小鼠单核巨噬细胞吞噬功能和迟发型变态反应(DTH)分析 SDMFP 对小鼠免疫作用的影响。结果:SDMFP 的营养成分为总糖 42.12% ± 1.10%,粗脂肪 1.97% ± 0.36%,粗蛋白 0.33% ± 0.08%,水分 11.31% ± 0.37%,K 5926.15 μg·g<sup>-1</sup>,Mg 826.75 μg·g<sup>-1</sup>,Ca 600.83 μg·g<sup>-1</sup>。与空白对照组比较,SDMFP 高剂量组的小鼠负重游泳时间显著延长(P < 0.01),运动后血中 BLA 和 BUN 含量低于空白对照组,肌肉中的肝糖原含量高于空白对照组(P < 0.05),同时其巨噬细胞吞噬指数和胸腺、脾脏免疫器官质量得到明显的改善。结论:SDMFP 能显著提高小鼠抗疲劳能力,并能一定程度增强细胞免疫作用。

**[关键词]** 神秘果;混合果粉;抗疲劳;免疫作用

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)14-0195-04

## Anti-fatigue and Immune Function by Nutritional Constituents from *Synsepalum dulcificum* Mixing Fruit Power

HUANG Ju-bo, LIU Hong\*, QI Hai-lan, LU Sheng-lou

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Hainan Normal University, Haikou 571127, China)

**[Abstract]** **Objective:** The anti-fatigue and immune properties by nutritional constituents from *Synsepalum dulcificum* mixing averrhoa carambola, carica papaya and pumpkin fruit powders (SDMFP) were evaluated. **Method:** The nutrition ingredients from SDMFP were analyzed as follows, the amount of total sugar using Fehling reagent hot titration, the content of moisture by directly dried, contents of crude fat and protein, were assayed by acid hydrolysis and Kjeldahl method respectively, trace elements contents were determined through the

**[收稿日期]** 20111230(006)

**[基金项目]** 海南省社会发展专项(2010SF007);海口市重点科技计划(2010-086);海南师范大学科技成果转化项目(JJCG1101)

**[第一作者]** 黄巨波,硕士研究生,从事食品科学研究, Tel:18789282876, E-mail:andly9726242@163.com

**[通讯作者]** \*刘红,博士,教授,从事食品科学专业研究, E-mail:lhyd123@sohu.com

- [7] 夏新华,刘亚敏,赵光峰,等. 麝香配伍冰片对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的脑保护机制[J]. 中国实验方剂学杂志,2009,15(2):42.
- [8] 翟从永,胡建鹏,王键,等. 三种中药复方对脑缺血再灌注大鼠血浆血管性血友病因子对血栓调节蛋白影响的比较研究[J]. 中国中医急症,2008,17(10):1419.
- [9] Kelemen E, Cserhati I, Tanos B. Demonstration and some properties of human thrombopoietin in thrombocythaemic sera [J]. Acta Haematol, 1958, 20(6):350.
- [10] 周霞,万军,黄国钧,等. 脑缺血动物模型检测指标研究进展[J]. 时珍国医国药,2008,19(11):2802.
- [11] 马铁柱,万琪. 脑梗死患者血浆炎症因子、纤溶性的变化及对神经功能的影响[J]. 中国临床康复,2003,7(13):1875.
- [责任编辑 聂淑琴]

atomic absorption method. The male mice were divided randomly into 4 groups: blank control group, low, medium, high group (SDMFP, 100, 200, 400 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>). The SDMFP were orally given to mice daily for 14 days, the loaded swimming time and some biochemistry indexes including blood lactic acid (BLA), hepatic glycogen (HG), and blood urea nitrogen (BUN) were tested to evaluate the anti-fatigue property. The function of macrophage cell and the delayed type hypersensitivity (DTH) were detected for the immune function. **Result:** The analysis result of SDMFP was: total sugar 42.12%, crude fat 1.97%, protein 0.33%, water 11.31%, and the content of K, Mg, Ca were 5 926.15, 826.75, 600.83 μg·g<sup>-1</sup> respectively. Compared with the blank group, the mice in the high group (SDMFP, 400 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>) prolonged the loaded swimming time ( $P < 0.01$ ), reduced the blood lactic acid and blood urea nitrogen, and the content of hepatic glycogen were increased ( $P < 0.05$ ), the index of phagocytic macrophage cell and the weight of thymus and spleen were increased highly. **Conclusion:** The research results showed that the SDMFP could significantly enhance the ability of anti-fatigue and heighten the immune function of mice at a certain extent.

[**Key words**] *Synsepalum dulcificum*; mixing powder; anti-fatigue; immune function

神秘果属山榄科神秘属,常绿灌木,原产于西非,自然分布在西非至刚果一带,印度尼西亚的丛林中也有发现。神秘果中含有神秘果素,能改变人的味觉,吃神秘果后几小时内吃酸性的食物,味觉明显变甜。近些年来,科学家们对其作用机制以及分子生物学方面进行了深入的研究<sup>[1-3]</sup>。果肉中含有丰富维生素 C、柠檬酸、琥珀酸、草酸等,种子中含有天然固醇等。但神秘果产量少,价格高,本试验依托海南富产木瓜、南瓜、杨桃的资源优势,通过复合神秘果、木瓜、南瓜、杨桃粉,测定其基本营养成分,并探讨神秘果混合果粉的抗疲劳和免疫作用<sup>[4]</sup>。

## 1 材料

**1.1 药物** 本试验所采用的神秘果混合果粉 SDMFP(神秘果、木瓜、南瓜、杨桃)均来自海南,鲜果采集于 2011 年 10 月,由海南师范大学生命科学院钟琼芯副教授鉴定,神秘果 *Synsepalum dulcificum*。将新鲜果肉打浆,冷冻干燥后制成干粉按照神秘果:木瓜:南瓜:杨桃的质量比为 1:3:10:8 混合成 SDMFP,批号 20111201。然后将 SDMFP 溶于蒸馏水配制成 0.2 g·mL<sup>-1</sup> 混合溶液。

**1.2 动物** 昆明种小鼠,雄性,(20 ± 2)g,四川大学华西试验动物中心提供,生产许可证 SCXK(川)-10-2006。

**1.3 仪器与试剂** AA7000 型原子吸收分光光度计(北京东西仪器厂),721 分光光度计(上海第三分析仪器厂)。血清尿素氮(BUN)测定试剂盒,血乳酸(BLA)测定试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号 20110510),肝糖原测定试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号 20110502);印度墨汁(西安罗森伯科技有限公司)乙二胺四乙酸二钠(天津福晨化

学试剂厂,批号 20101115) 酒石酸钾钠(国药集团化学试剂有限公司,批号 T20110919)。

## 2 方法

**2.1 营养成分分析** SDMFP(批号 20111201)中水分含量测定(直接干燥法)<sup>[5]</sup>,粗脂肪含量测定(酸水解法)<sup>[5]</sup>,粗蛋白含量测定(凯氏定氮法)<sup>[6]</sup>,总糖含量测定(费林试剂热滴定定糖法)<sup>[7]</sup>,微量元素的测定(原子吸收法)。

### 2.2 小鼠抗疲劳实验<sup>[8]</sup>

**2.2.1 动物分组与给药** 选取雄性小鼠 120 只,随机分成 4 组,每组 30 只,分别为对照组(生理盐水)、SDMFP 低、中、高剂量组(100, 200, 400 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>),每只小鼠给药 0.3 mL,按剂量 ig 给药,自由进食与饮水。

**2.2.2 负重游泳试验** 小鼠连续 ig 给药 14 d,末次 ig 30 min 后,每组随机选取 8 只小鼠,放于游泳箱(60 cm × 40 cm × 50 cm)中,水温 28 ℃,尾部负重 5% 体重的铅丝,小鼠投入水箱前将其全身润湿,记录小鼠从开始游泳到鼻孔沉入水下 8 s 没能浮出水面的时间,即为小鼠负重游泳时间。

**2.2.3 生化指标测试** 小鼠连续 ig 给药 14 d,末次 ig 30 min 后,每组随机选取 8 只小鼠。①于游泳箱中游泳 10 min,水温 28 ℃,游泳后立即和游泳后休息 20 min 后分别眼部取血,分离血清,采用试剂盒,测定血 BLA 含量,并计算其清除率:BLA 清除率 = (泳后 BLA 含量 - 20 min 后 BLA 含量) ÷ 20 × 100。②于游泳箱中游泳 10 min,水温 28 ℃,休息 20 min 后眼部取血,采用血清 BUN 试剂盒测定 BUN 含量;③于游泳箱中游泳 10 min,水温 28 ℃,休息 20 min 后将各组小鼠脱臼法引颈处死,取出肝脏由

生理盐水漂洗后用滤纸吸干,迅速称取一定质量的肝脏(不大于 100 mg),然后测定肝糖原(LG)含量。

### 2.3 小鼠免疫功能试验 动物分组与给药同 2.2.1。

**2.3.1 正常小鼠单核巨噬细胞免疫功能测定** 采用碳粒廓清试验。小鼠连续给药 7 d,每组随机选取 8 只小鼠,末次 ig 1 h 后每鼠尾静脉注入经稀释(20%)的印度墨汁( $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),2 min( $t_1$ )和 12 min( $t_2$ )后分别从眼部静脉丛取血 20  $\mu\text{L}$ ,溶于 2 mL 0.1%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ (置于比色皿中),分光光度计测 650 nm 处吸光度(A),以 0.1%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液作空白调零,取血完毕,用颈椎脱臼法处死小鼠,称量体重、肝脏质量和脾脏质量,计算吞噬指数(K)和校正吞噬指数( $\alpha$ )。

$$K = (\lg A_1 - \lg A_2) / (t_2 - t_1)$$

$$\alpha = K^{1/3} \times \text{体重} / (\text{肝质量} + \text{脾质量})$$

**2.3.2 迟发型变态反应(DTH)测定** 小鼠连续灌胃 14 d,每组随机选取 8 只小鼠,给药第 8 天,腹腔注射 2% 鸡红细胞(CRBC)0.2 mL/只进行致敏,于免疫后第 5 天每只小鼠左后足跖皮下注射 20% 鸡红细胞 20  $\mu\text{L}$ /只,进行攻击。测量攻击前和攻击后 24 h 每只小鼠左后足跖同一部位厚度,计算攻击前、攻击后的厚度差,同时取出胸腺和脾脏称质量。

**2.4 数据处理方法** 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS 13.0 统计分析软件进行统计学处理,通过单因素方差分析来评价结果的统计差异性。 $P < 0.05$  有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 SDMFP 中营养成分及微量元素含量分析** 神秘果混合果粉中各营养成分含量见表 1。SDMFP 中 K, Mg, Ca 含量分别为 5 926.15, 826.75, 600.83  $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ,

较其他常见水果中微量元素含量高很多。

表 1 神秘果混合果粉中各营养成分含量( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

营养成分	含量/%
总糖	42.12 $\pm$ 1.10
粗脂肪	1.97 $\pm$ 0.36
粗蛋白	0.33 $\pm$ 0.08
水分	11.31 $\pm$ 0.37

**3.2 SDMFP 对小鼠负重游泳时间及各项生化指标的影响** 连续 14 d 的 SDMFP 灌胃,各实验组的小鼠负重游泳时间均明显长于空白对照组,其中以 SDMFP 高剂量游泳时间最长,与空白对照组相比,延长率达 36%,差异非常显著( $P < 0.01$ )。通过测定小鼠游泳后以及游泳后休息一段时间后的血 BLA 含量,并计算 BLA 清除率,发现各实验组的 BLA 含量降低与空白对照组比有明显差异( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。小鼠运动后,与空白对照组相比,SDMFP 各剂量组血清 BUN 含量均降低,其中 SDMFP 高剂量组差异显著( $P < 0.05$ )。实验组小鼠肝糖原(LG)含量较空白对照组明显增加,差异显著( $P < 0.05$ )。见表 2。

**3.3 SDMFP 对正常小鼠免疫功能的影响** 由表 3 可知,用 SDMFP 喂食小鼠的实验组,各 SDMFP 剂量组吞噬指数(K)有明显提高,其中高剂量组差异显著( $P < 0.05$ ),修正吞噬指数( $\alpha$ )也都有提高,但差异不明显。喂食 SDMFP 实验组小鼠足跖位厚度差和脾脏指数,较空白对照组,都有增加,但无显著差异。各 SDMFP 实验组胸腺指数,与空白对照组相比,都有提高,其中高剂量组胸腺指数提高差异显著( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 2 SDMFP 对运动后小鼠各项生化指标的影响( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

分组	给药剂量 $/\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$	负重游泳时间 $/\text{s}$	泳后 BLA $/\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	20 min 后 BLA $/\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	BLA 清除率 $/\text{mmol} \cdot 100 \text{ L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$	血清 BUN $/\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	肝糖原 $/\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$
空白对照	-	486 $\pm$ 38	5.63 $\pm$ 1.02	4.82 $\pm$ 0.86	4.05	19.57 $\pm$ 1.17	4.05 $\pm$ 1.22
SDMFP	100	562 $\pm$ 22	4.68 $\pm$ 1.05	3.75 $\pm$ 0.65	4.65	18.70 $\pm$ 0.44	5.78 $\pm$ 2.17
	200	598 $\pm$ 35 <sup>1)</sup>	4.47 $\pm$ 1.56 <sup>1)</sup>	3.42 $\pm$ 0.84 <sup>1)</sup>	5.25	18.22 $\pm$ 1.30	4.32 $\pm$ 1.21
	400	660 $\pm$ 37 <sup>2)</sup>	4.11 $\pm$ 1.91 <sup>1)</sup>	3.01 $\pm$ 1.04 <sup>2)</sup>	5.50	17.16 $\pm$ 1.07 <sup>1)</sup>	5.96 $\pm$ 0.80 <sup>1)</sup>

注:与空白对照组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ (表 3 同)。

## 4 讨论

营养成分分析研究结果表明神秘果混合果粉富含糖,蛋白质, K, Mg, Ca 等微量元素,它们是人体所必需的营养元素,在人体的生理功能中起着特殊且重要的生理作用,尤其抗疲劳和免疫方面。

运动耐力的提高是抗疲劳能力加强的最直接和最客观的表现,小鼠持续游泳时间延长,则运动耐力提高<sup>[9]</sup>。乳酸是糖无氧酵解的产物,血液中乳酸含量是评价机体疲劳的重要标志。血清尿素氮含量随机体运动负荷的增加而增加,累积后,机体表现出疲

表 3 SDMFP 对正常小鼠免疫功能的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

分组	给药剂量 /mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>	K	α	足跖位厚度差 /mm	脾脏指数 /mg·10 g <sup>-1</sup>	胸腺指数 /mg·10 g <sup>-1</sup>
空白对照组	-	0.017 ± 0.008	2.57 ± 0.87	0.232 ± 0.114	1.20 ± 0.38	4.51 ± 0.55
SDMFP	100	0.021 ± 0.011	2.78 ± 1.05	0.241 ± 0.106	1.26 ± 0.12	4.66 ± 0.97
	200	0.025 ± 0.018	2.93 ± 1.21	0.293 ± 0.125	1.47 ± 0.95	5.23 ± 1.21
	400	0.033 ± 0.007 <sup>1)</sup>	3.21 ± 0.82	0.347 ± 0.136	1.85 ± 0.88	5.64 ± 0.66 <sup>1)</sup>

劳现象<sup>[10]</sup>。糖原代谢供能在机体大强度运动能量供应中占有重要地位,机体内糖原含量高,则表现出较强的抗疲劳能力<sup>[11]</sup>。从表 2 中可以看出,SDMFP 延长了小鼠游泳时间,降低了血乳酸和血清尿素氮含量,增加肌肉中肝糖原含量,具有显著增强小鼠抗疲劳能力效用。

碳粒廓清试验是一个整体试验,根据血液中碳粒被廓清的速度,判断单核巨噬细胞的吞噬能力,其血流中颗粒清除率可反映单核细胞吞噬功能,而单核巨噬细胞的吞噬率则反映机体的非特异性免疫功能<sup>[12]</sup>。胸腺和脾脏作为机体的主要免疫器官,也是受抗原等异物刺激后发生免疫应答的主要部位<sup>[13]</sup>。由表 3 中可知,SDMFP 提高了小鼠单核巨噬细胞系统吞噬异物能力和免疫器官指数,能在一定程度上增强小鼠细胞的免疫功能。

[参考文献]

[ 1 ] 成翠兰. 神秘果的生物学特性及提取物的应用[J]. 云南热作科技,2000,23(1):34.  
 [ 2 ] 刘成伦,梁廷霞. 神秘果素的研究进展[J]. 食品研究与开发,2008,29(3):147.  
 [ 3 ] Chen C C, Liu I M, Cheng J T. Improvement of insulin resistance by miracle fruit (*Synsepalum dulcificum*) in fructose-rich chow-fed rats[J]. *Phytother Res*, 2006,20(11):987.  
 [ 4 ] Kong K W, Chew L Y, Prasad K N, et al. Nutritional

constituents and antioxidant properties of indigenous kembayau (*Dacryodes rostrata* (Blume) H. J. Lam) fruits [J]. *Food Research International*, 2011, 44(7):2332.  
 [ 5 ] 林宏凤,黎瑞珍,吴清. 五指山特色蔬菜守宫木、马齿苋中水分、粗脂肪含量的测定[J]. 琼州学院学报, 2009,16(2):57.  
 [ 6 ] 谢飞文. 凯氏定氮法测定饲料粗蛋白的注意事项[J]. 饲料广角,2003(14):17.  
 [ 7 ] 马丽辉,陈卫民. 葡萄酒、果酒、配制酒总糖检验方法的改良研究[J]. 酿酒,2004,31(3):71.  
 [ 8 ] 王丛笑,周军. 对中药抗运动性疲劳研究中动物模型的一些思考[J]. 中国实验方剂学杂志,2009,15(3):83.  
 [ 9 ] 邓子煜,高建. 参苓白术丸抗疲劳作用实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2009,15(3):69.  
 [ 10 ] 何双,李忠海,钟海燕,等. 槟榔提取物对小鼠抗疲劳作用的研究[J]. 食品与机械,2009,25(2):67.  
 [ 11 ] 李永进,杨睿悦,扈学俸,等. 火麻仁蛋白对小鼠抗疲劳和免疫调节功能的初步研究[J]. 卫生研究,2008,37(2):175.  
 [ 12 ] 袁红波,赵文,赵仁邦,等. 金丝小枣糖浆对小鼠免疫功能的影响[J]. 中国食品学报,2008,8(1):13.  
 [ 13 ] 吴君,黄萍,成金乐,等. 党参破壁粉粒增强免疫功能及抗疲劳作用的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011,17(4):179.

[责任编辑 聂淑琴]