

灌装、封口为关键控制点。对关键控制点实施控制措施后,桶装纯净水的微生物及亚硝酸盐含量均能得到保证。因此,纯净水厂内部应建立健全各项卫生规章制度,加强内部管理机制,依照 HACCP 计划

进行严格管理;卫生监督部门定期到纯净水厂监督 HACCP 计划的实施情况,不需对桶装纯净水进行检验就能有效地保证纯净水的卫生安全。

[收稿日期:2003-04-28]

中图分类号:R15;TS275.1 文献标识码:C 文章编号:1004-8456(2003)05-0425-05

## 碧萝芷对小鼠免疫系统的影响

陈世伟<sup>1</sup> 张 丁<sup>1</sup> 刘翠娥<sup>1</sup> 张 杰<sup>1</sup> 王海玉<sup>1</sup> 张 焱<sup>1</sup> 孟 光<sup>1</sup> 陈炳卿<sup>2</sup>

(1. 河南省卫生防疫站,河南 郑州 450003;2. 哈尔滨医科大学,黑龙江 哈尔滨 150001)

**摘要:**为了探讨碧萝芷对小鼠免疫系统的影响,采用 128 只 BalB/c 雄性小鼠,按体重随机分为 8 组,每组 16 只,每四组为 1 批。每批 4 组小鼠每天分别经口给予 0、5.0、16.7、50.0 mg/kg BW 的碧萝芷,30 d 后,第一批小鼠测定足跖肿胀度、抗体生成细胞数、腹腔巨噬细胞吞噬率和半数溶血值。第二批小鼠测定 NK 细胞活性。结果显示,16.7 mg/kg BW 与 50.0 mg/kg BW 剂量组能明显提高 BalB/c 雄性小鼠的迟发型变态反应、抗体生成细胞数、单核-巨噬细胞吞噬功能、NK 细胞活性及半数溶血值,提示碧萝芷能够促进 BalB/c 雄性小鼠的免疫功能。

**关键词:**碧萝芷;小鼠;免疫,细胞

### The effects of pycnogenol on immune system in BalB/c mice

Chen Shiwei ,et al.

(Health and Anti-epidemic Station of Henan Province ,Henan Zhengzhou 450003 ,China)

**Abstract:** In order to investigate the effect of pycnogenol on immune system,128 male BalB/c mice were divided into 8 groups randomly according to their body weight ,16 for each group ,every 4 group was considered as one batch for test .Mice in the 4 groups were orally administrated pycnogenol 0 ,5.0 ,16.7 ,50.0 mg/kg BW d<sup>-1</sup> respectively for 30 days .One batch were used to observe foot-metatarsus thickening (FMT) ,antibody formation cell (APC) ,phagocyte function and 50 % haemolysis value (HLV) .The other was utilized for examination of the activity of natural-killer cells (NK) .The result showed that groups of 16.7 mg/kg BW d<sup>-1</sup> and 50.0 mg/kg BW d<sup>-1</sup> were found to have significantly increased levels of FMT ,APC ,PF ,NK and HLV than the control .It was concluded that the pycnogenol can enhance the immunological response in BalB/c male mice .

**Key Words:** Pycnogenol ;Mice ;Immunity ,Cellular

碧萝芷(Pycnogenol)是从法国沿海松树树皮中提取的,主要由低聚前花青素和其他生物类黄酮等活性成分组成。它能有效清除体内自由基,<sup>[1]</sup>促进人乳腺癌细胞凋亡,<sup>[2]</sup>改善衰老模型动物以及某些患有免疫性疾病的病人免疫功能。<sup>[3,4]</sup>本文探讨了碧萝芷对正常小鼠免疫系统的影响。

### 1 材料和方法

#### 1.1 受试物 碧萝芷为棕红色粉末,对光敏感,具

有吸湿性。它是法国沿海松树树皮(The bark of the French maritime pine *Pinus maritima*)的水提取物,主要由前花青素(procyanidins)和酚酸(phenolic acids)组成。主要成分前花青素(Porter 法检测)作为碧萝芷的质控指标(65%)。避光密闭干燥储存。

**1.2 实验动物及分组** BalB/c 雄性小白鼠,体重 18~22 g,共 128 只,由上海西普尔必凯实验动物有限公司提供,动物合格证号:医动字第 02-49-2 号。按体重随机分为 8 组,每组 16 只,每四组为 1 批。第一批 4 组动物分别每日给予 0,5.0,16.7,50.0 mg/kg BW 碧萝芷,共 30 d。灌胃量为 0.4 mL/20 g bw。

作者简介:陈世伟 男 主管医师

1.3 试剂与仪器 鸡红细胞,绵羊红细胞(SRBC),补体,Hank's液(pH7.2~7.4),小牛血清,RPMI1640完全培养液,LDH基质液(乳酸锂 $5 \times 10^{-2}$  mol/L、硝基氯化四氮唑 $6.6 \times 10^{-4}$  mol/L、吩嗪二甲酯硫酸盐 $2.8 \times 10^{-4}$  mol/L、氧化型辅酶 I $1.3 \times 10^{-3}$  mol/L,以上试剂溶于0.2 mol/L的Tris-HCl缓冲液中,pH8.2),NP40。

OL YMPUS显微镜,CO<sub>2</sub>培养箱(日本),低速自动平衡离心机(LDZ5-2,北京),电子天平(ER-180,湖南),全自动酶标分析仪(V1.2,芬兰)。

#### 1.4 试验方法和观察指标

1.4.1 迟发型变态反应 采用足跖肿胀法(DTH),<sup>[5]</sup>测量足跖同一部位被攻击24 h后厚度的变化。

1.4.2 半数溶血值(HC<sub>50</sub>)的测定<sup>[5]</sup> 每只鼠腹腔注射0.2 mL 2% SRBC免疫5 d后,取血分离血清。血清用SA缓冲液稀释300倍,取稀释后的血清1 mL,依次加入10% SRBC 0.5 mL,补体1 mL(用SA缓冲液按1:8稀释),另设不加动物血清对照管(用SA缓冲液代替)。余步骤见参考文献。

1.4.3 抗体生成细胞检测 采用Jerne改良载片法,<sup>[5]</sup>每只鼠腹腔注射0.2 mL 2% SRBC免疫5 d后,取出脾脏,磨碎后用200目筛网过滤制成细胞悬液,Hank's液洗2遍,最后将细胞用RPMI1640培养液调整为 $5 \times 10^6$ 个/mL。取25 μL脾细胞悬液( $5 \times 10^6$ 个/mL),迅速混匀,倾倒于已刷琼脂薄层的玻片上,做平行片,待琼脂凝固后,将玻片水平扣放在片架上,放入二氧化碳培养箱中温育1.5 h,然后将用SA缓冲液稀释的补体(1:6)加入到玻片架凹槽内,继续温育1.5 h后,计数溶血空斑数。

1.4.4 单核-巨噬细胞功能测定 小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞试验——半体外法。

1.4.4.1 鸡红细胞悬液制备 用Hank's液配成1%鸡红细胞悬液。

1.4.4.2 吞噬功能测定 每只鼠腹腔注射0.2 mL SRBC(2%)5 d后,于刚处死的鼠腹腔注射含5%小牛血清的Hank's液4~5 mL,轻揉鼠腹部后抽出腹水1~2 mL于试管中。腹水与1%鸡红细胞等体积混合均匀,取0.3~0.4 mL涂片,放入垫有湿布的瓷盘内,置37℃孵箱温育20~25 min。孵毕,用生理盐水从玻片背面冲洗,凉干。甲醇固定2 min,姬姆萨染色15 min,自来水从背面冲洗干净。晾干后油镜下计数巨噬细胞,每片计数100个,计算吞噬百分率和吞噬指数。

1.4.5 NK细胞活性测定 乳酸脱氢酶法。<sup>[5]</sup>

1.5 数据处理 用SYSTAT软件进行方差分析及

多个实验组与一个对照组间的比较。

## 2 结果

2.1 碧萝芷对绵羊红细胞(SRBC)诱导小鼠DTH的影响(表1)

表1 碧萝芷对绵羊红细胞诱导小鼠DTH的作用( $\bar{x} \pm s$ ) mm

组别 mg/kg BW	动物数 n	足跖厚初值	24 h 后	24 h 足跖
			足跖厚	肿胀度
对照组	16	2.66 ±0.15	2.94 ±0.12	0.28 ±0.09
5.0	16	2.63 ±0.15	2.97 ±0.12	0.33 ±0.12
16.7	16	2.66 ±0.17	3.06 ±0.18	0.40 ±0.15 <sup>(1)</sup>
50.0	16	2.61 ±0.11	3.01 ±0.11	0.41 ±0.12 <sup>(1)</sup>

注:(1)与对照组比较,P<0.05。

由表1可见,16.7 mg/kg BW与50.0 mg/kg BW剂量组的足跖肿胀度显著高于对照组(P<0.05)。

2.2 碧萝芷对体液免疫作用的影响(表2)

由表2可见,50.0 mg/kg BW组的HC<sub>50</sub>值及16.7 mg/kg BW与50.0 mg/kg BW组的溶血空斑数均明显高于对照组(P<0.05)。

表2 碧萝芷对小鼠半数溶血值(HC<sub>50</sub>)和抗体生成细胞的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别 mg/kg BW	动物数 n	HC <sub>50</sub>	溶血空斑数
			(个/ $1.25 \times 10^5$ 脾细胞)
对照组	16	118.5 ±65.8	107.3 ±58.5
5.0	16	152.7 ±71.6	138.9 ±73.1
16.7	16	164.6 ±58.2	178.3 ±64.6 <sup>(1)</sup>
50.0	16	180.5 ±55.6 <sup>(1)</sup>	188.8 ±80.4 <sup>(2)</sup>

注:与对照组比较,<sup>(1)</sup>P<0.05,<sup>(2)</sup>P<0.01。

表3 碧萝芷对小鼠巨噬细胞吞噬鸡红细胞能力与对NK细胞活性的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别 mg/kg BW	动物数 n	单核-巨噬细胞吞噬功能	NK细胞活性
		吞噬率 %	吞噬指数 %
对照组	16	9.0 ±10.1	0.11 ±0.13
5.0	16	16.1 ±13.0	0.18 ±0.16
16.7	16	17.8 ±13.5	0.23 ±0.19 <sup>(1)</sup>
50.0	16	19.4 ±16.0 <sup>(1)</sup>	0.24 ±0.20 <sup>(1)</sup>
			27.12 ±3.79 <sup>(1)</sup>

注:(1)与对照组比较,P<0.05。

## 3 讨论

自1970年测出碧萝芷是前花青素和有机酸等黄酮类的复合物以来,特别是发现碧萝芷具有维生素C样作用后,许多学者对其进行了广泛的研究。<sup>[1]</sup>主要集中于对心血管病、注意力涣散症、肿瘤以及免疫系统疾病的影响。<sup>[1]</sup>研究发现碧萝芷具有极大的生物学活性,不但在防晒、缓解高血压、预防心脏病等方面的作用已得到证实,<sup>[6~8]</sup>而且对小球隐孢子虫感染引起小鼠免疫低下及反转录病毒或酒精所致免疫功能紊乱均有明显的改善作用。<sup>[9,10]</sup>

本实验结果表明碧萝芷不仅能增强由T细胞介

导的细胞免疫(表1)与由B细胞介导的体液免疫(表2),而且还能增强单核-巨噬细胞吞噬功能与NK细胞活性等非特异性细胞免疫功能(表3),与国外报道较为一致。<sup>[3,9,10]</sup>说明当机体受到外来抗原物质刺激时,碧萝芷不仅可增强T淋巴细胞的增殖,还能增加其抗体的产生,使机体尽快消除异源物质。同时还能增强非特异性细胞免疫系统的单核-巨噬细胞吞噬与NK细胞活性功能,在无需活化的条件下即可清除异源物质,提示碧萝芷能促使机体调动全方位的免疫防御系统,增强免疫作用阻止外来物质的侵入。

## 参考文献:

- [1] Rohdewold P. A review of the French maritime pine bark extract (Pycnogenol), a herbal medication with a diverse clinical pharmacology[J]. Int J Clin Pharmacol Ther, 2002, 40(4): 158—168.
- [2] Huynh H T, Teel R W. Selective induction of apoptosis in human mammary cancer cells (MCF - 7) by pycnogenol [J]. Anticancer Res, 2000, 20(4): 2417—2420.
- [3] Liu F J, Zhang Y X, Lau B H. Pycnogenol enhances immune

and haemopoietic functions in senescence accelerated mice [J]. Cell Mol Life Sci, 1998, 54(10): 1168—1172.

- [4] Stefanescu M, Matache C, Onu A, et al. Pycnogenol efficacy in the treatment of systemic lupus erythematosus patients [J]. Phytother Res, 2001, 15(8): 698—704.
- [5] 保健食品功能学检验程序与方法[Z]. 1996—09—15.
- [6] Rihm B, Saliou C, Bottin M C, et al. From ancient remedies to modern therapeutics: pine bark uses in skin disorders revisited [J]. Phytother Res, 2001, 15(1): 76—78.
- [7] Koch R. Comparative study of venostasin and pycnogenol in chronic venous insufficiency [J]. Phytother Res, 2002, 16(Suppl 1): S1—S5.
- [8] Spadea L, Balestrazzi E. Treatment of vascular retinopathies with pycnogenol [J]. Phytother Res, 2001, 15(3): 219—223.
- [9] Cheshier J E, Ardestani Kaboudanian S, Liang B, et al. Immunomodulation by pycnogenol in retrovirus-infected or ethanol-fed mice [J]. Life Sci, 1996, 58(5): 87—96.
- [10] Kim H C, Healey J M. Effects of pine bark extract administered to immunosuppressed adult mice infected with Cryptosporidium parvum [J]. Am J Chin Med, 2001, 29(3-4): 469—475.

[收稿日期:2003-03-02]

中图分类号:R15;TS218 文献标识码:C 文章编号:1004-8456(2003)05-0429-03

## 对一起“工业用盐”作为食品用盐生产酱油案的分析

王正飞<sup>1</sup> 蒋 曜<sup>1</sup> 何仁尧<sup>2</sup> 丁 艺<sup>3</sup>

(1. 浙江省卫生监督所,浙江 杭州 310009;2. 衢州市卫生监督所,浙江 衢州 324000;  
3. 开化县卫生监督所,浙江 开化 324200)

**摘要:**为保证食用盐的安全,对某盐业公司违规将“工业用盐”当作食品用盐销售,某酱油生产厂购买制作酱油用盐时未索证,将“工业用盐”用于酱油生产的食品污染案进行了查处。对目前个别盐业部门存在的问题进行了分析,对如何作好食盐的安全工作提出了建议。

**关键词:**盐,工业,调味品;法学

### Analysis of an event of producing soy sauce using industrial salt

Wang Zhengfei, et al.

(Zhejiang Provincial Institution of Public Health Inspection, Zhejiang Hangzhou 310009, China)

**Abstract:** For ensuring salt safety, an event that a soy sauce factory using industrial salt to make soy sauce was investigated and prosecuted. The problems existed in some salt companies were analyzed. Some suggestions about how to ensure the salt safety were made.

**Key Words:** Salt, Industry; Condiments; Jurisprudence

作者简介:王正飞 男 主管医师

对一起“工业用盐”作为食品用盐生产酱油案的分析——王正飞 蒋 曜 何仁尧等

— 431 —