

# 马铃薯糖苷生物碱对血液胆碱酯酶抑制作用的实验 教学探讨

——以山东理工大学食品毒理学为例

宋越冬 朱继英

山东理工大学农业工程与食品科学学院, 山东 淄博 255049

**[摘要]**文章就工科院校食品毒理学实验——马铃薯糖苷生物碱对血液胆碱酯酶抑制作用实验教学的原材料准备、生物碱的提取与纯化、胆碱酯酶的获得以及生物碱对酶的抑制作用测定进行实验教学方法的探讨,并对实验过程中容易出现的问题进行分析 and 解决,使工科学学生能在教学计划学时内安全、顺利地完成任务,达到提升学生实验技能的目的。

**[关键词]**糖苷生物碱;胆碱酯酶;抑制作用;实验教学

**[中图分类号]** G642.423 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095-3437(2022)08-0117-03

食品毒理学是食品科学与工程本科专业的专业课,是讲述关于食品中可能含有的外源物质对人体健康的危害作用,并就这些物质进行检测和对相应食品的安全性进行评估的课程<sup>[1]</sup>,也是一门理论联系实际较强的课程。该课程在山东理工大学(以下简称“我校”)开课的时间为第六学期,总课时数为32课时,其中理论课时为24课时,实验课时为8课时。马铃薯糖苷生物碱对血液胆碱酯酶抑制作用作为实验项目之一,教学计划为6课时。该实验内容较多,操作步骤繁复,实验条件也较为苛刻。为了在规定学时内完成教学任务,实验指导老师要根据学生实际情况选择合适的实验方法,合理分配实验学时,并就实验中出现的总结和改进。本文现就实验教学进行总结,以期对工科院校开设相关实验提供可以借鉴的资料。

## 一、对实验内容做好充分分析,合理分配教学课时,圆满完成教学任务

现代教育学认为,要获得良好的教学效果,就必须对教学目标和教学内容进行充分的分析,可以说,对教学内容的分析是教师备课中的一项重要内容,是上好课和达到预期教学目标的前提和关键。马铃薯糖苷生物碱对血液胆碱酯酶的抑制作用实验类型为综合性实验,本实验将毒素的获得和毒性作用综合在一起,内容多、时间长,因此更需要对实验内容进行充分分析。实验的主要内容包括:马铃薯糖苷生物碱的获得、胆碱酯酶的获得、胆碱酯酶活性测定三个部分。由于课时限制和专

业特点,实验的原理部分只作为了解,实验的重点内容为马铃薯糖苷生物碱的获得、胆碱酯酶活性测定,难点是胆碱酯酶的获得。完整的马铃薯糖苷生物碱的获得部分如果全部由学生完成需要6~8课时,显然教学计划的课时是不足的,因此需要进行合理分配。实际上,教师在对学特点和内容重难点综合分析的基础上,对实验内容进行了适当取舍,采用一个实验两次完成的方法进行教学。第一次2课时,内容为马铃薯糖苷生物碱的获得,学生操作的部分仅为生物碱的提取,而提取物烘干和纯化由实验指导教师完成,这样可以节省4课时。一周之后进行第二次实验,为4课时,主要内容是胆碱酯酶的获得、胆碱酯酶活性测定。实践证明,这样的时间安排比较合理,既能突出重点,又能攻克难点,让学生在有限的实验课时内学习到更多的实际操作技能,从而圆满完成实验教学任务。

## 二、从有利于学生发展的角度出发,选择合适的实验方法

教育的目的之一,是要充分发挥学生的能动性<sup>[2]</sup>,在实验教学中这点显得尤为重要。马铃薯糖苷生物碱对血液胆碱酯酶抑制作用实验,是研究茄科植物马铃薯中的糖苷生物碱抑制血液中的胆碱酯酶的活性,使得生物体中乙酰胆碱浓度增大,引起生物体神经兴奋异常,进而中毒的现象。实验中的胆碱酯酶,可以直接购买生化试剂,也可以采集实验动物的新鲜血液。购买生化试剂简单、安全、省时省力,却背离了毒理学实验的根

**[收稿时间]**2020-12-18

**[基金项目]**山东理工大学校级教学项目(119229)。

**[作者简介]**宋越冬(1968—),女,山东人,硕士,高级实验师,研究方向:天然产物开发与利用。

本宗旨,因为毒理学实验的主要评价手段是动物实验。如果直接从动物身上取血,则实验的难度系数增大,因为我校的学生大多没有动物实验基础,学生对实验动物存在畏惧心理,在实验过程中就容易出现事故,比如被动物抓伤或咬伤、误伤动物、采不到血液等,甚至有的学生还因为惧怕而不参加实验。实验指导老师从有利于学生发展的角度出发,最终选择用昆明小鼠亚成体眼眶采血。采取这种方式,学生可以在教师的指导下,学会动物的抓取、固定、消毒、血液采集、血液抗凝保存及后续实验动物无害化处理等操作技术,让学生真正理解毒理学实验的宗旨,也为学生走向工作岗位打下基础。

胆碱酯酶活性的测定方法,目前有碱性羟胺—三氯化铁分光光度法、Ellman 法、便携式胆碱酯酶测定仪、毛细管电泳法<sup>[3-5]</sup>等。毛细管电泳法实验精确度高,然而实验过程中学生更多时间用于等仪器跑样,学生参与度低、能动性差;便携式胆碱酯酶测定仪精度较差,主要用于户外,显然不适合学生实验;碱性羟胺—三氯化铁分光光度法为国标法,该法适用于全血中胆碱酯酶活性的测定,操作步骤较多,对学生操作技巧要求较高;Ellman 法和碱性羟胺—三氯化铁分光光度法原理相似,只是测定基质改为溴化物。综合考虑几种测试方法,我们选定了碱性羟胺—三氯化铁分光光度法。在实际上课时,实验指导教师根据实验室条件和学生课时需要,对实验步骤进行了必要的调整,具体步骤见表1。实践证明,虽然该方法的实验步骤和操作有些复杂,但稳定性好,同时能较好地增强学生的动手能力,能够在计划学时内较好地完成教学目标。

表1 碱性羟胺—三氯化铁法测定胆碱酯酶活性反应体系构建步骤

操作步骤	处理名称			
	标准	样品	样品对照	空白
1	全血 100 ul	全血 100 ul	全血 100 ul	磷酸缓冲液 2 ml
2	磷酸缓冲液 1.9 ml	马铃薯糖苷生物碱溶液 1.9 ml	磷酸缓冲液 1.9 ml	盐酸羟胺溶液 8 ml
3	37℃水浴 33 min	37℃水浴 5 min	37℃水浴 5 min	盐酸 4 ml
4	盐酸羟胺溶液 8 ml	氯化乙酰胆碱基质(预热到 37℃)2 ml	氯化乙酰胆碱基质(预热到 37℃)2 ml	显色剂三氯化铁溶液 4 ml
5	氯化乙酰胆碱基质(预热到 37℃)2 ml	37℃水浴 30 min	37℃水浴 30 min	氯化乙酰胆碱基质(预热到 37℃)2 ml
6	盐酸 4 ml	盐酸羟胺溶液 8 ml	盐酸羟胺溶液 8 ml	
7	静置 2 min	盐酸 4 ml	盐酸 4 ml	
8	显色剂三氯化铁溶液 4 ml	显色剂三氯化铁溶液 4 ml	显色剂三氯化铁溶液 4 ml	

三、提供有代表性的实验样品,提高学生对食品毒理学知识的认知度

样品是检测的主体,样品的选择要有代表性和多样性,要能反映实验的目的性<sup>[6]</sup>。糖苷生物碱是茄科植物中典型的次生代谢产物,在发芽的马铃薯或表皮变绿的块茎中含量较高<sup>[7]</sup>,食用不当会引起食物中毒甚至死亡,而能正常食用的表皮没变色的土豆,其糖苷生物碱含量较低。为了加深学生对于食品毒性的认知,实验需要准备不同类型的土豆做样品,分别是能正常食用的土豆、发芽或表皮变绿的土豆。为了获得这些样品,实验指导教师需要提前一周左右把土豆曝光,促使其表皮变绿甚至发芽。在实验课讲解原理部分,教师要讲解关于土豆糖苷生物碱生成的相关知识,对其毒理作用做简要介绍,现场展示不同样品,并就不同样品的食用安全性问题做简要说明。而不同样品的实验结论的差异,则可以验证相关理论,从而加深学生对相关理论知识的理解和对毒理学知识的认知,从而提高学生对食品安全性问题的关注度。

四、科学示范,提供足够的实验动物,给学生以充分锻炼的机会

实验操作的科学规范与否关系到实验的成败,有时不正确的操作甚至会威胁到生命安全。实验指导教师一定要传授学生正确的操作方法,强调细节性的问题,保证学生在安全的情况下完成教学任务<sup>[8]</sup>。由于我校学生大多缺乏动物实验的相关基础,所以在本次实验中,在从昆明鼠眼眶采血时,实验指导教师要科学示范整个采血过程,从最初的防护措施(戴双层手套:内部是一次性医用手套,外部是线手套)开始,示范抓取和固定小鼠的手法,强调对小鼠腹部轻触按摩,消除小鼠的紧张情绪;用 75% 的酒精对小鼠面部进行消毒后,迅速按照眼眶法采血。教师要做到给每个小组都要示范一次,要给每组提供 4~6 只小鼠,确保每个学生有 2 只以上的实验用鼠,保证采到实验用血。这个过程需要 1 课时左右,主要是因为学生心存畏惧,不敢操作,然而这又是学生必须要面对的。教师要强调实验用鼠是不带病原菌的,要适当鼓励学生,让学生克服畏惧心理,大胆尝试。通过这样的措施,确保每个参与的学生都有锻炼的机会。实践证明,通过本次实验,90% 的学生能克服对实验动物的畏惧心理,这为学生后续开展有关动物学实验奠定了必要的操作基础,有效提高了学生的操作技能。

五、用辩证的观点教授学生知识,开阔学生知识视野,促进学生科研思维的形成

教师在教授知识时,不能局限于课堂知识,要有塑造学生创造性人格的意识<sup>[9]</sup>,有意识地引导学生拓宽知识面,发挥学生的想象力和创造潜力,同时要让学生树立辩证唯物主义思想。在实验结束时,教师要把这种理念传授给学生,比如实验中的糖苷生物碱能让胆碱酯酶失去活性而引起人体内乙酰胆碱浓度增大,从而引起人体中毒甚至死亡。而糖苷生物碱同时对动物及人类具有较好的生理益处,比如具有抗肿瘤特性、抗病毒等病

原微生物、作为疫苗的免疫佐剂、降低胆固醇和消炎镇痛作用<sup>[10-12]</sup>。教师要适当引导学生思考,怎样将糖苷生物碱的这些作用与所学的其他知识结合起来,做创新研究:是否可以就其具有降低胆固醇的作用,对天然植物中的糖苷生物碱进行提取纯化,在食用安全的前提下研发一款药膳,专门提供给有高胆固醇症的人食用;又或者就其具有抗病毒和能作为免疫佐剂的特性,开发出一款生物制剂用于植物保护,特别是抗病毒的天然农药,从而降低化学农药对自然环境的污染,同时减少农产品农药残留;再比如能否通过转基因技术,把茄科植物生产糖苷生物碱的基因转移到牧草中,比如豆科的苜蓿,让苜蓿等牧草具有抗病毒降糖等特性,从而生产出具有抗病毒降糖的牛奶。事实证明,这样的教学方式,可以有效提高学生对所学知识的兴趣,开阔学生的知识视野,有利于学生科研思维的构建和形成,对于培养学生的创新思想具有促进作用。

## 六、结语

马铃薯糖苷生物碱对血液胆碱酯酶的抑制作用是一个综合性很强的实验,集食品中有毒物质的提取与纯化、实验动物取血、胆碱酯酶活性的测定等内容于一体。该实验使用了常规和发芽的马铃薯做对比样品、用浸提法提取马铃薯糖苷生物碱、用眼睑法从昆明鼠亚成体取血、用碱性羟胺—三氯化铁测胆碱酯酶活性方法。该实验在我校已开设多次,实验结果证明其设计合理,可以在规定的教学课时内圆满地完成教学任务。通过实验,学生学会了从实验动物取血的基本操作技能,并对不同马铃薯中有毒物质含量有了具体感知,对糖苷生物碱对胆碱酯酶的抑制作用有了更加清楚的认知。在完成教学计划的前提下,还可以通过对糖苷生物碱特性的生理活性介绍,开阔学生视野,让学生形成辩证的科学观,这将有利于学生科研思维的形成,对培养学生创新创业思想具有促进作用。总之,该实验设计对提高学生动手能力、培养高素质的应用型人才打下了扎实的

实验操作基础。

## [参 考 文 献]

- [1] 单毓娟.食品毒理学[M].北京:科学出版社,2019.
- [2] 缪明星,丁启龙,季晖,等.食品毒理学综合性、设计型实验教学体系构建[J].齐鲁药事,2014(4):237-238.
- [3] 许兴兴,刘艳芹,李莉,等.紫外分光光度法测定全血胆碱酯酶活性测定试纸中溴化乙酰胆碱含量方法的建立[J].职业卫生与应急救援,2019(4):360-363.
- [4] 张剑,张博,贺茂芳,等.毛细管电泳法测定天麻素对乙酰胆碱酯酶活性的抑制[J].色谱,2020(9):1102-1106.
- [5] 黄新次.使用四种不同底物测定血清胆碱酯酶活性的观察[J].国际检验医学杂志,2008(7):632-633.
- [6] 宋越冬.食品化学实验:食品中单宁含量测定教学心得[J].农产品加工,2020(17):104-105,109.
- [7] 李玉珠,郭华春,王琼.马铃薯不同品种各器官糖苷生物碱累积规律研究[J].食品工业科技,2020(22):1-7,13.
- [8] 宋越冬.工院校食品营养与卫生学实验-膳食计算教学的几点体会:以山东理工大学食品科学与工程专业为例[J].山东化工,2020(17):182-183.
- [9] 尹照涵.大学生创新创业人才的培育研究[D].沈阳:沈阳建筑大学,2019.
- [10] 吴桐,王建农.茄科植物糖苷生物碱抗肿瘤活性及其构效关系研究进展[J].天然产物研究与开发,2020(12):2142-2147,2002.
- [11] 苏樞,牛明慧,成新平,等.马铃薯糖苷生物碱对化疗性静脉炎兔t-PA、PAI-1及兔耳注射部位温度的影响[J].西部中医药,2020(1):25-29.
- [12] LAN L, WANG J N, SUN C X, et al. Anti-angiogenic activities of glycoalkaloids isolated from *Solanum lyratum* in tumor-derived vascular endothelial cells [J]. Phytochemistry Letters, 2019(29):212-219.

[责任编辑:刘风华]