

蓖麻饼去毒 译文及试验报告汇编

〈下〉



北京市粮食科学研究所

奶牛食品中的蓖麻饼

摘 要

本实验是研究对蓖麻饼中的蓖麻毒经解毒处理后饲喂哺乳奶牛调查蓖麻毒和羟基脂肪酸向牛奶中转移的情况。喂入配以5%的蓖麻油的10%和20%的蓖麻饼；并以配入5%的棉籽油的10%的棉籽饼作对照。发现转移后的蓖麻碱、蓖麻毒、羟基脂肪酸和抗原却在可检测界限以下。长期喂蓖麻油和蓖麻饼的牛的牛奶喂小牛和白鼠没有造成损伤，组织中也未观察到残留物集聚。经14个月对母牛喂蓖麻饼没有发现异常现象。

简 介

蓖麻饼是榨油后剩下的残渣。因为在蓖麻籽中它和油各占一半，所以每年随蓖麻油需求量的增大，也会出现大量的蓖麻饼。1969年光美国本国就生产7720万公斤的蓖麻油，所以蓖麻饼的问题也就突出了。由于蓖麻饼中含有26~40%的粗蛋白，所以，它应成为牛饲料的有效蛋白来源。

蓖麻饼中含有几种影响它作饲料的物质，蓖麻毒是一种剧毒蛋白，但它经湿热处理后可去毒，蓖麻碱是一种中等毒性的碱，它在很大程度上对鸡的发育起抑制作用。蓖麻抗原是热稳定肽对过敏患者造成严重过敏反应。蓖麻醇酸是一种18碳羧基脂肪酸，大多数油和脂肪中却不含有这种酸。人们把它也包含在毒物内，因为对它在人体内的代谢产物毫无所知。经用蓖麻油对白鼠的饲养研究证明蓖麻醇酸对生长不造成危害，经尸体解剖表明它不会造成病变。

有多种类型的去毒方法，并报导了用蓖麻饼对菜牛（肉牛）进行饲养实验的情况。玛连发现用含有非特定量的蓖麻毒的蓖麻饼喂菜牛

在其肝、肾和组织中未测出蓖麻毒。施密特所进行的两次蓖麻饼喂奶牛的研究表明，这些奶牛仍能正常产奶和发育。

没有发现喂蓖麻付产物的奶牛的奶中有蓖麻成份转移之类的报告。本实验目的就是以定量的蓖麻饼在整个哺乳期内喂奶牛，研究转移的情况及对产奶的影响。

实验方法：

奶牛饲喂实验：试验用10只奶牛时间长达14个月。其中有4头奶牛在产犊前30天开始喂含10·5%蓖麻饼的饲料（食物A、表I）。产犊后每一种实验奶牛都放在一个长期实验组中，对每个实验组再加一头奶牛。在最初的34星期哺乳期内，由3头牛组成的每个实验组都喂规定好的食物。然后B组和C组（表I）分别改喂E组和F组食物。也就是在剩下的实验时间内喂20%的蓖麻饼。对照组B在整个实验中不改变食物。C~F食品组中的奶牛在哺乳期结束前三天加入F食品组。2星期后将其屠宰，进行病理检查和组织的毒素分析。

表I 食物组成表

食 物 主 成 份	编 号	% 组成，空气中干燥							计 算
		磨碎紫 苜蓿草	蓖麻 饼粉	棉籽 饼	蒸汽碾 制大麦片	蜂 蜜	蓖 麻 油	棉 籽 油	
普通蓖麻饼	A	50·0	10·5	...	33·50	5·0	...	...	10
蓖麻饼+蓖麻油	B	50·0	10·0	...	33·50	5·0	5·0	...	"
蓖麻饼+棉籽油	C	50·0	10·0	...	33·50	5·0	...	5	"
棉籽饼+棉籽油	D	50·0	...	10·0	33·50	5·0	...	5	"
蓖麻饼+蓖麻油	E	50·0	20·0	...	23·5	5·0	5·0	...	"
蓖麻饼+棉籽油	F	50·0	20·0	...	23·5	5·0	...	5	"

结上表

	灰 分	CP	NFE	AD 木 质 素	NDF	
附 食 物 分 析 表 → b	B	8.9 ± .34	18.9 ± 1.62	51.8 ± .93	6.5 ± .49	49.2
	C	8.7 ± .30	17.1 ± 1.37	51.5 ± 1.82	7.1 ± .87	50.8
	D	8.8 ± .32	18.0 ± 1.17	53.9 ± 4.6	6.45 ± .80	

a、T D N是根据较低的公布数值计算

b、在营养成分相差不超过5 %

T D N=全部可消化营养；E E=乙醚提取物 CP=粗蛋白

CF=粗纤维 NFE=不含氮提取物 ADF=酸清洁纤维

NDF=中性清洁纤维。

在试验中这些牛都关在单独的栏内，单独加以记录。在哺乳期内所提供的饲料要根据有关哺乳奶牛的规定来搭配。每天饲喂和挤奶两次；收集一次所剩下的饲料每天早晨挤完奶后称体重。每次挤奶后收集一次有代表性的牛奶样品，每组每周汇集一次，样品要冷冻贮存。

苕麻壳的纤维含量很高，所以脱壳的程度就会影响所给定苕麻饼中纤维和蛋白的含量。表2列出本试验的苕麻饼组成。为便于比较还列出了克纳尔的早期报告和施密特所引述的参照文献中的数据。

分析方法

根据 A O A O 法进行近似分析。木质素、纤维素酸清洁纤维和

中性清洁纤维根据 万·塞叶斯特 法进行测定。

表2 苧麻饼的组成

组 成	资 料 来 源	
	引自施密特(24) 克纳尔 am 的参考文献 (10)a	现行试验 所得数据
灰 份%	6.7—8.3 7.5	9.8
乙醚提取物%	1.2—4.7 1.0	2.9
粗蛋白%	28.9—41.6 29.5	39.1
粗纤维%	24.7—41.9 35.5	30.8
不含氮提取物%	7.0—29.5 13.2	17.4
酸性净化纤维素%		43.4
木质素%		4.0
纤维素%		35.8
抗原素 P P _m		8, 000
苧麻毒 P P _m		11.6
苧麻碱 P P _m		1, 600—2850

Q 都根据 100% 的干基计算。

按 欣克森 等所述的萤光法的样式进行苧麻碱测定。用热水从苧麻饼中浸出或从牛奶中超滤出苧麻碱。将提取物或超滤物用水洗提, 通过凝胶过滤柱(50×2.5 Cm)、以10ml为一份加以收集。应用316nm的激励波长于375nm之下进行苧麻碱的萤光测定。

可用两种方法检测羟基脂肪酸向牛奶中的转移, 分离出的乳脂九

~68~

以皂化和甲基化：一种方法是将混合酯类直接用 $ECN^{SS}-S$ 柱上气液联合色谱液分离，另一种方法是将混合酯在一个硅酸柱上分离，然后用气液色谱再合成三种成份，鉴别柱子的分离物。硅酸分离所得的羟基脂类用带有 $SP-1000$ 柱子的气液色谱分析。

蓖麻抗原素用真皮内免疫性实验的途径对豚鼠进行皮肤过敏实验。牛奶样品中的抗原经用 80% 乙醇沉析、纯化去除原有的干扰性物质。

蓖麻毒试验是在老鼠腹腔内注入不同量的蓖麻毒，牛奶和组织的盐水提取物。此实验以 塞尤克 等的数据为依据。此人曾证实过老鼠的蓖麻毒最低致死剂量为 $0.3mg$ / 公斤体重。

表 3 以含蓖麻饼的食物喂奶牛的产犊率

牛	编 号	次 序	喂食物 A 的 时间 (天)	性别	牛犊 体重	妊娠 日期	结 论
霍尔斯坦	4		28	M	44	279	死胎
霍尔斯坦	3		30	F	37	284	死胎
杰 西	10		28	F	21	278	生育正常
霍尔斯坦	9		42	M	55	289	72 天死去 ^c 生育正常 ^d 4 天后死去

- A、病理诊断：先天性肺膨胀不全和肝病，进行了彻底的组织病理研究。
- B、这个牛犊在出生前不久死掉所以是典型的死胎，没有进行组织病理研究未有严重损害。
- C、牛犊至十二月初以前一直正常巴州的兽医按肺炎和腹泻病处理的。
- D、暂定诊断为肺炎，没有严重损害，没有进行组织病理检查。

结 果 和 讨 论

为测定其适口性，先用含有10·5%的苧麻饼的食物A饲喂分娩前的四头奶牛（表3）。当没有明显的证据说明食物是它的主要原因时，在牧群中出现2个死胎和一个原来正常的大公牛犊早亡的现象就很不寻常了。产犊完毕后，4号牛开始进行食物C（然后食物F）的实验，连续饲喂苧麻饼食品，经单一交配怀孕并照表4所示除妊娠期的最后2个星期外，整年都喂苧麻饼食品后，生下一个正常的小牛犊。3号牛进行B食物的饲喂试验，交配后也生了一个正常的小牛犊。4号牛和10号牛在开始阶段以后就没有再喂苧麻饼。试验没有表明，繁殖力明显减退或生育前后发生死亡现象。这些食物对以前未接触过它的动物是否会引起中毒及在短时间内能否适应并进行解毒的可能性有待进一步研究。

表5 列出哺乳期间的实验数据。

表4 开始阶段饲喂和全部用苧麻饼喂的奶牛的交配和产犊记录

牛	食 物	饲喂苧 麻饼的天数	交配 次数	牛 性别	犊 体重(公斤)	评论
霍尔斯坦4	C—F	365	1	M	40	正常
霍尔斯坦3	B—E	343	1	M	45	“ ”
杰 西10	A	0	2	...	...	“ ”
霍尔斯坦9	D	0	2	M	45	正常
霍尔斯坦1	B—E	276	3	...	...	b
霍尔斯坦2	B—E	303 ^c	3	M	39	正常
杰 西6	C—F	303	4	...	...	e
霍尔斯坦5	C—F	300	1	M	58	正常

- a、使奶牛停止产奶，饲喂普通饲料，然后怀胎卖出。
- b、诊断为怀孕，后来发现开放，没再交配。
- c、6号牛停止产奶后饲喂含20%苕麻饼+2.5%苕麻油的食物，14天内消耗饲料199公斤，屠宰后的组织样品上没看到严重的，组织病理上的损害，母牛怀孕，怀一个公牛犊。

表5 试验母牛的单独试验数据

牲畜 编号	产犊前30 天的喂养	试验 食物	以前哺乳期 调节至305 天的体重 公斤	试验中哺乳 期调节至 305天的体重 公斤	每日 饲料 用量 公斤	总体重 变化 公斤
1	a	B-E	3,675.9	3,661.7	9.8	-75.3
2	a	B-E	5,589.1	5,506.4	20.3	+205.4
3	食物A	B-E	3,806.0	3,740.3	14.3	+132.0
4	" " "	C-F	5,693.6	5,351.9	14.7	+34.2
5	a	C-F	7,048.7	7,008.4	16.8	+151.5
6	a	C-F	3,775.2	3,685.9	12.3	+66.7
7	a	D	无	2,840.2	7.8	-34.6
8	a	D	5,716.7	5,754.9	16.6	+97.9
9	食物A	D	b	c	c	c
10	" " "	...	...			

- a、立即用紫背宿草喂。
- b、原实验牛(9)因有病退出实验。
- c、更换了原用牛一所以不用那个数据了。

苕麻饼—苕麻油组(食物B—E)，所有这些动物有时中断饲料

供给（一关八天）。一头牛有不很严重的乳腺炎。另一头牛由于腿部受伤瘸了近16天。基本上所有牛却达到了它们原来的305日产奶期，奶与饲料之比为·95。

苕麻饼—棉籽油组（食物C—E）：本组内未发生严重病变。除一头外都基本达到原产奶期。本组的奶和饲料比为1·20，在哺乳期内，所有头体重都增加了。

棉籽饼—棉籽油组（食物D）：本组内有一头牛在早期哺乳期内两次出现轻微至中等程度的乳腺炎。9号牛得病了，所以在第11星期将它去除。在第13星期换了一头牛，但这头牛的产奶量未能达到预先的期望。本组的奶饲比为1·07。

实验动物时食物的适口性与生理反应与我们所预料的正常值没有多大区别。只有一头牛在实验中体重减轻（食物B—E），还有一头牛与它先前的哺乳期不很接近（食物B—E）；而喂苕麻饼食物的那一组比对照组体重和产奶期都增加了。如果对照组（食物D）所替换的牛能达到预期的产奶天数（15），那末整个对照组就会赶上或超过其它组。当饲料中加入大量苕麻饼以后的两个星期内饲料的摄入量减少，对苕麻饼—苕麻油（食物B—E）少为95·3%，对苕麻饼—棉籽油（食物C—E）少到94·9%，但同时，饲料成份未改变的组（食物D）净饲料摄入量减少至92%。这种摄入量的减少只有从蛋白增加和蛋白能量转换比例本身会降低饲料消耗的观点去看。

除去给牛犊喂奶时，吃含有苕麻饼饲料奶牛所产的奶都丢掉了。这样做是为了测定饲料中的某些成份会随奶转移到牛犊体内，形成一定的代谢分布。一月份用B组和C组所产的奶喂了牛犊5天，结果出现几起腹泻症状，牛奶被退回去。三月份又用这种牛奶喂，结果在牛

犊的粪便中发现很多的损害，但没有形成腹泻。从4月29日—5月9日，分别用这种牛奶喂13只牛犊，其中4头出生不过一星期，3头在4~6星期，另6头在9~10星期间，第二星期未观察到明显的消化不良和腹泻的三个病例。一头是最年轻的一组，另两头是中间组。后来三头都恢复健康发育良好。牛奶中没有什么有毒物质引起它们的不适和病理变化。

在配合运送饲料时要带分手指的塑料手套和过滤口罩。但即使这样在仲夏期间，一个饲养员手上急性过敏，臂上出了疹。我们找不到很确切的原因，但不能排除蓖麻饼致疹的可能性。然而在以后接触蓖麻饼过程中没有出现典型的蓖麻过敏的症状。

原料蓖麻籽内蓖麻毒的含量比表I所列值高5000倍。说明在加工过程中大量的蓖麻毒被去除了，然而加工只能去掉抗原素的 $1/2$ 。蓖麻饼含3%的油，所以加蓖麻油的饲料中蓖麻饼的蓖麻醇酸含量至少为20,000 P P_m或更高。

表6所示结果表明只有很少的可以测出的抗原转移到奶中去。在对照样品中出现类抗原物是由于牛奶中存有组氨酸类的杂质纯化时很难完全除掉。如果不经过纯化步骤对照组和喂蓖麻饼组奶牛所产奶的类抗原物含量大约为500 P P_m上下。

虽然喂蓖麻饼组奶牛所产奶比对照组奶牛所产奶的抗原多零点几 P P_m。经计算可看出食物中的抗原素只有0.02%会转移至奶中。牛奶中这样的抗原含量是否会对人有害，目前还不能给出满意的解答。对人体所摄入的蓖麻抗原还没有一个绝对的标准。莱顿等在一次标准皮肤抓伤实验中，用含有5 P P_m蓖麻抗原素的溶液检测蓖麻过敏患者。潘纳尼和莱顿指出，300个严重蓖麻过敏患

者之中只有25人(少于10%)对101~1 P P m含量的苧麻抗原起皮肤反应(搔痒)。本试验中牛奶里的抗原含量在这含量范围的中间。

表6 牛奶中的抗原和苧麻毒含量

食 物	哺乳 周数	抗 原 P P m	苧麻毒 P P m
B	16	.32	0
B	28	.28	0
B	30	...	1.5
E	37	.14	0
C	19	.38	0
C	25	.30	0
C	28	...	0
C	30	...	0
F	43	.77	0
D (对照)	30	.03	0

对苧麻过敏反应的典型症状是鼻子烫痛、眼睛发红和气喘。这些症状在过敏患者吸入或接触苧麻尘时经常会发生。据我们所知对人体口服低剂量的苧麻抗原所引起后果还没有进行研究。对过敏的猴子进行过类似的实验。但根据我们的实验目的，口服不会比抓破或静脉注射途径更灵敏。食物B—E组的牛在哺乳期最后两星期喂食品其肝和肌肉组织中苧麻抗原的含量为0.3和0.4 P P m。在未喂含苧麻饼食物的牛的牛肉中发现0~.9 P P m的抗原。在对照样品中组氨酸类物质的干扰现象表明，在低浓度下抗原试验不是特别可靠的而苧麻碱向动物组织中的转移仍值得怀疑。如果喂去除过敏素的苧麻饼，抗原

~74~

向牛奶和组织中转移的问题可以很容易解决。

在一些牛奶样品中我们能检测出一个类似苈麻碱的峰。但对大多数牛奶样品我们还不能明确断定出苈麻碱的含量。如果在标准情况下所有荧光确定是苈麻碱而不是一种未知的磷化合物，可以计算出食物中苈麻碱的最高转移率是·5%以下。试验后期当苈麻碱摄入量增加一倍，而分析方法的检测限度保持恒定，我们就得到相差不多的值。这样我们只能假定任何苈麻碱都在可测限度以内。对于饲喂E、F、D食物，其中最多可能含2·4，2·8和1·8 P P_m苈麻碱的牛。对其中奶中含量的最好统计为·6、1·0和0 P P_m，说明转移率很低。

表7 牛奶脂肪的组成

成 份	食 物		对 照
	E	F	
硅柱分离出的脂肪酸%			
非充氧饱和的	94·8	96·5	96·8
酮软脂肪酯	2·2	2·4	2·3
羟 基	2·0	·87	·88
液色谱分离出的单个脂肪酸%			
C·4和C·4以下	26·4	27·0	23·4
C16	26·4	26·8	33·3
C16:1	2·23	·74	1·87
C18	11·0	13·0	8·0
C18:1	18·8	22·0	21·9
C18:2	2·76	3·74	5·10
高于C18	·77	·72	1·00
C18: (统计的 最大数值)	·60	·70	·80
其 它	11·0	6·1	5·5

表7所示数据表示饲喂苈麻油食物的母牛的牛奶脂肪中的羟基脂

肪酸的含量约为2·0%，而对照饲喂组只有·9%食物使牛奶中脂肪的组成出现轻微变化，但所统计的C18的一元不饱和一元羟基脂肪酸的最高含量（苈麻醇酸或其异构体）对所有食品都相同。气液色谱所检测的羟基化脂肪酸的含量恰好在检测的限度值上，也是所要研究的问题之一。因为限定值含量的羟基脂肪酸出现在普通的牛奶样品中。两种气液色谱方法基本上给出相同的结果，我们所得证据的主要之点更印证了如下的试验发现，即反刍动物瘤胃的微生物菌落使苈麻饼或油中的大多数苈麻醇酸还原成脂肪酸。这些脂肪酸以通常的方式与牛奶脂肪结合。

在全奶中加入原料苈麻饼所进行的实验表明：牛奶蛋白和苈麻毒之间不会发生不可逆结合来干扰样品中苈麻毒的分析。除去一份样品含苈麻毒1·5 P P m是个不好解释的例外，所有食物组所得牛奶样品都不含苈麻毒。这一例外样品取自苈麻饼—苈麻油食物组，在注射之前把样品煮沸，所有老鼠吃了以后都活下来了。它雄辩地说明苈麻毒是强烈致死剂。然而，从这一食物组中不管早些或晚些所取的其它样品就没有检测出苈麻毒（表6）。我们结论是这份样品不知出于什么原因被苈麻毒所污染，而在正常情况下，苈麻毒不会自食物转移到牛奶中去。

表8 用饲喂试验牛的牛奶喂老鼠的生长数据

食 物	最后体重 (克)	器官重量克/100克体重				
		肝	肾	脾	心脏	睾丸
基本饲料	392	3·46	·76	·13	·33	·85
基本饲料+D	460	3·05	·65	·14	·30	·72
" " " " + B—E	473	3·03	·68	·14	·33	·74
" " " " + C—F	489	3·09	·70	·16	·30	·70

关98天试验 六只公的S—D白鼠/组 开始平均体重85克
当用三种食物组的牛的牛奶所制的奶制品喂老鼠时，其生长十分良好。老鼠的食物以玉米和大豆为主加入20%的压热牛奶固体，或20%的玉米粉作对照。98天后的试验结果见表8，所有喂牛奶的老鼠都超过对照组，即使牛奶固体与经生物试验证明含1·5 P P m 苈麻毒的牛奶相同，所得结果也是肯定的。在所有各例中，最后体重、器官重量、尿分析数据和血分析数据都完全正常。

根据我们的想法，所有数据说明苈麻饼可以作为奶牛哺乳期内的令人满意的蛋白填充剂。它还可以安全地用于饲料，有极少量的抗原转移到牛奶中去。微量的苈麻碱和苈麻醇酸也会转移到牛奶中间去，剩余的问题就是苈麻喂牛后所得牛奶是人食用是否安全。

蓖麻籽胚乳蛋白体

蛋白组分的分离，分馏及其特性择要：

蓖麻籽胚乳蛋白体含有植酸钙镁球状体和含在非晶蛋白基质中的蛋白晶体，蛋白体明显的被单一的隔膜包围着。在丙三醇中用研磨和离心方法对蛋白体进行分离，这些分离的蛋白体在细胞稳定之后几乎与在原来位置中观察的那些完全一样。只是失去了球状体，但是出现的膜状结构包围了球状体。分离蛋白体的组织化学分析：说明了碳水化合物（配糖蛋白）只有在基质范围内是定域化的。

对丙三醇中的蛋白体加水引起基质的溶解并放出球状体和晶体。在蔗糖密度梯度下将晶体进行离心时发现了一种平衡的密度，从1.29——1.30克/毫升，在大多液体缓冲液中晶体只微微的溶解了一点点，但在12烷基硫酸钠中，在尿素和氢氧化钠中溶解能力很强。

在12烷基硫酸钠存在下和聚乙烯酰胺存在下，胶体电泳离子交换器纤维仪上的色谱说明了蛋白体包括一种主要的和几种次要的阳极蛋白。伴随着几种次要蛋白，主要蛋白在晶体中是定域化的。

用缩硫醇乙醇可将主要蛋白转化为次单位，其分子量为32000和15800，建议用二硫化物桥连接由两个最小的次单位和一个比较大的次单位组成蛋白。晶体蛋白体没有出现葡基盐化。

水溶基质部分主要包括两种蛋白。在胶体上分子量为12.500和10.300。两种蛋白都不是糖脂蛋白，都与缩硫醇乙醇产生次单位而不减少，溶解部分也包含几种糖蛋白植物凝血素的减少成分。其中元——是蓖麻毒D，在蛋白体中它是主要的糖脂。

人们很久以来就认识到种子储存蛋白是储藏在蛋白体中即糊粉层

~78~

中。罗斯特在总结他以前对蛋白体的研究时，描述了三种类型：非晶体蛋白结构，（不包括花生、黄豆和玉米的结构类型）在蛋白基质中（棉花）含有植酸钙镁的球状蛋白结构，既含有球状蛋白体，也含有蛋白晶体的结构蛋白（大麻、葫芦、丝兰）。罗斯特错误地把苾麻放在第二组。其蛋白体实际上包括两种类型。

虽然谷物蛋白体在蔗糖密度上可以分离，但许多油料种子蛋白体必须进行无水分离，因为它们在液体介质中会分裂。这种不同的程序已获得了发展。其方法是将棉籽、大麻或花生在棉子油中研磨，将南瓜籽或棉籽在甘油中研磨，将苾麻在丙酮中研磨从中分离了蛋白体。鉴于分离物的溶解能力不同，将分离的蛋白体进行分馏。在棉籽油——CCl₄梯度与液体的氯化钠/50% 溶液中处理分离的蛋白体以制备大麻晶体。这种溶液可使膜破裂并溶于基质蛋白中。然后使晶体成为丸状，为了进一步对蛋白进行研究将其放在磷酸盐缓冲剂中进行溶解。用70%甘油对其进行处理，这样就制备了球状体和苾麻蛋白体晶体。70%的甘油溶解在基质蛋白中。在丙酮——CCl₄不断增加浓度的混合物中进行反复的悬浮和分离从而提纯了球状体和晶体。

虽然在苾麻蛋白体球状体的特性上做了很多工作，但基质和晶体部分还尚未进行广泛地鉴定，为了分离和离析基质和晶体，从未发芽的苾麻籽的胚乳中离析蛋白体。基质和晶体部分蛋白的组分用柱状色谱和胶化电泳分离出来。用已知蛋白对比测定了分子的重置。苾麻子的苾麻毒和巨毒植物凝血素，由于细胞体的核糖体是蛋白合成的有效的抑制剂，在蛋白体中的多价螯合作用类似于糖 植物凝血素在菜豆中巢菜碱的作用，从而说明了为什么它在胚乳组织中是无毒的。这一可能性也已测定。

材料与amp;方法

蛋白体的离析和分馏:

采用了亚森和杰克斯无水方法。用130毫升的甘油、130毫升的蓖麻籽。通过在甘油中再悬浮和再离心方法冲洗蛋白体丸,放在2℃温度下进行储存,需要时取出。将10毫升的5毫克分子的三个氯化氢缓冲剂(PH值8.5)加入蛋白体丸中,提取了可溶白朊(溶解部分),非溶晶体沉积并在同样的缓冲剂中进行冲洗。

电子显微镜检查法

根据劳特等人方法将样品悬浮于5%的戒二醛及90%的甘油混合物中,在室温下达2小时,将干种子完整无损的胚乳和蛋白体置于甘油中稳定下来,然后在0.2M的卡可基缓冲剂中,PH值为7.4进行冲洗,并稳定在0.1% O_2O_4 或1KMnO₄中。水溶液中的蛋白晶体被稳定在卡可基缓冲戒二醛一甲醛中,PH值为7.4达2小时,然后将全部材料在丙酮系中脱水并埋置在硬的Spurr's树脂中。将金银色薄的部分放在带有宝石刀的超微量切割器上进行切割,然后置于7.5%的双氧铀镁醋酸溶液中染色达10分钟;然后放入0.4%的柠檬酸铅中达2分钟。用一个传递电子微型显微镜对这些部分进行观查和拍照。厚的部分(1——2mm)用轻型显微镜检查法,用玻璃刀切割成数份,然后用相位对比旋光进行观查。

蛋白体周期酸——Schitt (PAS)² 染体

所使用的方法主要是蔡恩等人的方法。在放入苦酸盐甲醛溶液之前,甘油离析的蛋白体首先被传送到95%的乙醇中。对没有进行周期处理的对照样品也进行了检验。

电泳:根据费尔班克斯等人的方法制备了含有5.6%丙烯酰胺和
~80~