

# 菊糖酸奶对小鼠免疫器官指数和血清免疫球蛋白的影响

熊政委<sup>1,2</sup>, 郑 韵<sup>1</sup>, 兰 洋<sup>1</sup>, 苟珍琼<sup>1</sup>, 刘 卫<sup>1</sup>, 董 全<sup>1,\*</sup>

(1.西南大学食品科学学院, 重庆 400715; 2.重庆第二师范学院生物与化学工程系, 重庆 400067)

**摘 要:** 以脾脏指数、胸腺指数、体质量及免疫球蛋白 (immunoglobulin, Ig) IgG、IgA、IgM含量为评价指标, 研究菊糖酸奶对小鼠免疫器官指数和血清免疫球蛋白的影响。结果表明: 菊糖能够刺激酸奶中乳酸菌的增加。与普通酸奶相比, 菊糖酸奶能够更好地提高小鼠免疫功能, 经相关性分析发现IgG、IgA与酸奶中乳酸菌的含量显著相关。由此可见, 菊糖刺激了酸奶中乳酸菌的增加, 从而增强了酸奶对机体免疫功能的影响。在菊糖添加量为50 g/L时, 菊糖酸奶对小鼠的免疫增强效果最好。

**关键词:** 菊糖酸奶; 小鼠; 脾脏指数; 胸腺指数; 血清免疫球蛋白

## Effect of Inulin-Supplemented Yogurt on Immune Organ Indexes and Serum Immunoglobulin in Mice

XIONG Zheng-wei<sup>1,2</sup>, ZHENG Yun<sup>1</sup>, LAN Yang<sup>1</sup>, GOU Zhen-qiong<sup>1</sup>, LIU Wei<sup>1</sup>, DONG Quan<sup>1,\*</sup>

(1. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China; 2. School of Biological and Chemical Engineering, Chongqing University of Education, Chongqing 400067, China)

**Abstract:** Feeding experiments were carried out on mice to research the effect of yogurt with added inulin on spleen and thymus indices, body weight and the serum levels of immunoglobulin (Ig) G, IgA and IgM. Inulin could stimulate the growth of lactobacilli in yogurt. Compared with ordinary yogurt, inulin-fortified yogurt could improve the immune function of mice. Correlation analysis showed that IgG and IgA were associated with the significant number of lactic acid bacteria in yogurt. Thus, yogurt with added inulin had an enhanced effect on immune function by facilitating the growth of lactic acid bacteria. Yogurt with 50 g/L inulin was the most effective in enhancing the immune function of mice.

**Key words:** inulin-supplemented yogurt; mice; spleen index; thymus index; serum immunoglobulin

中图分类号: TS252.59

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2014) 21-0216-03

doi:10.7506/spkx1002-6630-201421042

菊糖 (inulin) 是一种生物多糖, 由D-呋喃果糖分子经 $\beta$  (2 $\rightarrow$ 1) 糖苷键连接而生成, 末端常含有一个葡萄糖基, 聚合度通常为2~60, 平均聚合度为 $10^{[1]}$ 。菊糖具有降低血清中血脂和胆固醇含量、促进矿物质的吸收、预防便秘和治疗肥胖等功能<sup>[2]</sup>。我国广泛种植富含菊糖的植物如菊芋等, 其资源丰富、价格便宜, 是加工生产菊糖及其制品的良好原料<sup>[3]</sup>。菊糖作为新的天然食品配料具有极广阔的应用前景<sup>[4]</sup>。

关于菊糖对免疫功能的影响已有研究报道<sup>[5-7]</sup>, 但将菊糖添加到酸奶中, 将菊糖酸奶作为一个整体对免疫功能的影响还尚不清楚。本实验利用小鼠实验, 研究菊糖酸奶对小鼠免疫器官指数、血清免疫球蛋白 (immunoglobulin, Ig) 的影响。以脾脏指数、胸腺指数、体质量及IgG、IgA、IgM含量为评价指标, 研究菊

糖酸奶对小鼠免疫功能的影响, 以期找到菊糖最佳添加量, 为菊糖酸奶的生产与应用提供理论参考。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料与试剂

清洁级雄性昆明小鼠, 体质量18~22 g, 购自重庆腾鑫比实验动物销售有限公司, 许可证号: SCXK (渝) 2012-0006; 菊糖 广州市泽玉生物科技有限公司; 纯牛奶 (蛋白质含量2.9%, 脂肪含量3.6%) 内蒙古蒙牛乳业股份有限公司; 酸奶冻干发酵剂 (*m* (嗜热链球菌): *m* (保加利亚乳杆菌) = 1:1) 常州益菌加生物科技有限公司。

收稿日期: 2014-01-24

基金项目: 国家高技术研究发展计划 (863计划) 项目 (2011AA100805-2)

作者简介: 熊政委 (1989—), 男, 硕士研究生, 研究方向为食品安全与质量控制。E-mail: 842406970@qq.com

\*通信作者: 董全 (1962—), 男, 教授, 博士, 研究方向为现代食品加工理论与技术。E-mail: dongquan@swu.edu.cn

1.2 仪器与设备

SW-CJ-1FD超净工作台 苏净集团苏州安泰空气技术有限公司; YLS-Q6灌胃器 北京吉安得尔科技有限公司; FA2004A电子天平 上海精天电子仪器有限公司; JJ0.3/25均质机 廊坊通用机械制造有限公司。

1.3 方法

1.3.1 菊糖酸奶的制备

1.3.1.1 工艺流程

菊糖→与鲜牛乳混合→均质→杀菌→冷却→添加发酵剂、稳定剂→培养→冷却→冷藏→成品

1.3.1.2 操作要点

菊糖与鲜牛乳混合: 将菊糖添加到鲜牛乳中分为4组, 添加质量浓度分别为0、40、50、60 g/L, 同时每组添加50 g/L的白糖。

均质: 混合溶液用均质机在25 MPa条件下均质1~2次<sup>[8]</sup>。

杀菌: 将混合溶液放在水浴锅中, 85 °C条件下持续杀菌30 min<sup>[9]</sup>。

冷却: 杀菌后将原料乳冷却到42 °C, 然后接种发酵。

接种: 在超净工作台中, 将混合发酵剂添加到鲜牛乳中。

发酵: 在42 °C条件下, 发酵4~6 h, 待乳达到凝固状态, 酸度达到70~80 °T时停止发酵<sup>[10]</sup>。

冷却后熟: 将发酵后的酸乳冷却至10~15 °C, 于0~4 °C的冰箱中放置24 h<sup>[11]</sup>。

1.3.1.3 发酵剂的制备

酸奶发酵剂必须先经过活化。在无菌操作台上取约2.5 g乳酸菌干冻粉, 接种到经121 °C灭菌15 min处理过的脱脂乳培养基进行培养至凝固。用灭过菌的吸管从培养基底部吸取1~2 mL培养液, 在无菌条件下接种到灭菌脱脂乳中培养至凝固。反复接种3次, 使菌种充分的活化, 最后接入灭菌过的脱脂乳培养基的三角瓶中进行培养至凝固, 4 °C冷藏, 作为工作发酵剂使用<sup>[12]</sup>。

1.3.1.4 乳酸菌数的测定

使用MRS培养基, 经过梯度稀释, 将平皿倒置于40 °C恒温箱内培养24~48 h, 观察长出的细小菌落, 计菌落数目, 按照常规的方法选择有30~300个菌落的平皿进行计算<sup>[13]</sup>。酸奶中乳酸菌活菌数以CFU/mL表示。

1.3.2 菊糖酸奶对小鼠免疫功能的影响

脾脏指数、胸腺指数的变化可以反映小鼠体内免疫能力的变化<sup>[14]</sup>。本实验通过测定灌胃菊糖酸奶一段时间后小鼠的脾脏指数、胸腺指数的变化来探讨菊糖酸奶对于小鼠免疫功能的影响<sup>[15]</sup>。

小鼠经过3 d的适应性饲养后, 取体质量为20~23 g的小鼠, 按体质量随机分为4组, 每组8只, 分别灌胃菊糖质量浓度为0 (对照组)、40、50、60 g/L的酸奶, 灌

胃量为0.5 mL/次, 每天1次, 正常饮食饮水, 连续灌胃10 d<sup>[16]</sup>, 再禁食1 d, 禁食后第2天摘眼球取血, 再用颈椎脱臼法处死小鼠, 取其脾脏和胸腺, 电子天平称质量, 并按照下式计算脾脏指数、胸腺指数。

$$\text{脏器指数} / (\text{mg/g}) = \frac{\text{脏器质量} / \text{mg}}{\text{体质量} / \text{g}}$$

1.3.3 菊糖酸奶对小鼠体质量的影响

每隔3 d对小鼠空腹称取体质量, 计算每次的体质量平均增量。

1.3.4 菊糖酸奶对小鼠免疫球蛋白 (IgA、IgM、IgG) 的影响

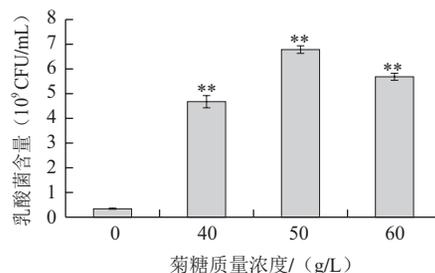
将摘眼球取血得到的血液置于4 °C冰箱里过夜后, 3 000 r/min离心15 min, 分离上清液即得到血清<sup>[17]</sup>, 标记组别、日期, 采用间接酶联免疫吸附分析法测定IgA、IgM和IgG的含量。

1.4 数据处理

数据采用SPSS 17.0软件进行统计分析, 不同组间与对照组的比较采用方差分析,  $P < 0.05$ 为差异具有显著性。

2 结果与分析

2.1 菊糖添加量对酸奶中乳酸菌含量的影响



\*.与0 g/L (对照) 组相比, 差异显著 ( $P < 0.05$ );  
\*\*.与0 g/L 组相比, 差异极显著 ( $P < 0.01$ )。下同。

图1 不同菊糖添加量条件下酸奶中的乳酸菌数

Fig.1 Effect of added insulin on the number of lactobacilli in yoghurt

如图1所示, 菊糖能够极显著地刺激酸奶中乳酸菌的增加, 菊糖质量浓度为50 g/L时乳酸菌含量最高, 为  $(6.80 \pm 0.15) \times 10^9$  CFU/mL。

2.2 菊糖酸奶对小鼠体质量的影响

由表1可知, 灌胃菊糖酸奶的小鼠的体质量增长速率比对照组 (0 g/L剂量组) 的小鼠增长速率快, 尤其是灌胃前3 d, 菊糖质量浓度为50 g/L组增长最快。到第10天, 灌胃菊糖酸奶的组别与对照组 (0 g/L剂量组) 相比, 体质量存在显著或极显著差异。因此, 菊糖酸奶对小鼠体质量的增加有促进作用。

表1 菊糖酸奶对小鼠体质量的影响

Table 1 Effect of inulin-supplemented yogurt on body weight in mice

| 菊糖质量浓度/(g/L) | 1 d      | 3 d       | 6 d        | 10 d       |
|--------------|----------|-----------|------------|------------|
| 0            | 23.4±1.0 | 25.0±1.4  | 27.3±1.7   | 30.0±1.4   |
| 40           | 21.9±1.7 | 26.1±1.1  | 28.8±1.3   | 32.0±1.7*  |
| 50           | 23.1±1.2 | 27.5±1.8* | 30.4±1.8** | 33.9±1.6** |
| 60           | 22.6±1.6 | 26.8±1.3  | 29.7±1.4*  | 33.1±2.0** |

## 2.3 菊糖酸奶对小鼠脾脏指数、胸腺指数的影响

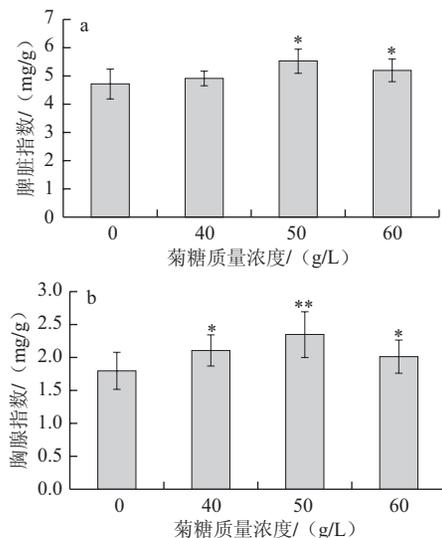


图2 菊糖酸奶对小鼠脾脏指数(a)、胸腺指数(b)的影响

Fig.2 Effect of inulin-supplemented yogurt on spleen index (a) and thymus index (b) in mice

如图2所示,灌胃菊糖质量浓度为50 g/L时小鼠脾脏指数、胸腺指数均最高。灌胃菊糖酸奶的组别均高于对照组(0 g/L)。40、50、60 g/L剂量组的胸腺指数与对照组相比存在显著或极显著差异,50、60 g/L剂量组的脾脏指数与对照组相比存在显著性差异,说明菊糖酸奶具有增强免疫功能。其主要原因有两方面:1)菊糖本身具有增强免疫功能<sup>[18]</sup>;2)菊糖刺激酸奶中有益微生物的增加,酸奶的免疫刺激功能与乳酸菌密切相关<sup>[19]</sup>。在菊糖质量浓度为50 g/L时,乳酸菌等微生物含量最高,菊糖酸奶对小鼠的免疫功能影响也最为明显。60 g/L剂量组的乳酸菌含量明显少于50 g/L剂量组,因此其对小鼠的免疫功能也稍逊于50 g/L剂量组。

## 2.4 菊糖酸奶对血清免疫球蛋白的影响

免疫球蛋白是介导体液免疫的主要抗体,血清抗体含量的高低在一定程度上反映了机体对疾病的抵抗能力<sup>[20]</sup>。血清免疫球蛋白的测定是检查体液免疫水平常用的方法,通常检测IgG、IgA、IgM这三类免疫球蛋白就可以代表血清免疫球蛋白的总体水平。由表2可知,菊糖酸奶与普通酸奶(0 g/L)相比,能显著提高血清中的IgG、IgA含量,但对IgM含量的效果不显著。其中50 g/L剂量组小鼠的血清中IgG、IgA的含量最高。

表2 菊糖酸奶对小鼠血清免疫球蛋白含量的影响

Table 2 Effect of inulin-supplemented yogurt on serum immunoglobulin levels in mice

| 菊糖质量浓度/(g/L) | IgG含量/(g/L)  | IgA含量/(g/L)  | IgM含量/(g/L) |
|--------------|--------------|--------------|-------------|
| 0            | 0.175±0.056  | 0.112±0.031  | 0.142±0.063 |
| 40           | 0.196±0.068* | 0.118±0.042  | 0.138±0.047 |
| 50           | 0.211±0.059* | 0.121±0.036* | 0.145±0.056 |
| 60           | 0.201±0.072* | 0.117±0.042* | 0.139±0.042 |

将菊糖酸奶乳酸菌数与小鼠IgG、IgA含量做相关性分析,发现乳酸菌数与IgG含量显著相关( $r=0.992$ ,  $P=0.008$ ),同时与IgA含量( $r=0.951$ ,  $P=0.049$ )也显著相关。因此,菊糖可以通过刺激酸奶中的有益微生物的增加,使小鼠免疫力得到增强。

## 3 结论

将菊糖添加到酸奶中,能够刺激酸奶中乳酸菌的增长,与未添加菊糖的普通酸奶相比,菊糖酸奶能够显著提升小鼠的脾脏指数和胸腺指数、血清中IgG和IgA含量,进过相关性分析发现,乳酸菌数与血清中IgG、IgA的含量显著相关。因此,菊糖可以通过刺激酸奶中乳酸菌含量的增加进一步提高小鼠的免疫功能。在菊糖质量浓度为50 g/L时,菊糖酸奶对小鼠免疫功能提升的效果最好。

## 参考文献:

- [1] 刘宏. 菊粉的功能特性与开发应用[J]. 中国食物与营养, 2010(12): 25-27.
- [2] 王姗姗, 孙爱东, 何洪巨. 菊粉的功能性作用及开发利用[J]. 中国食物与营养, 2009(11): 57-59.
- [3] 熊政委, 董全. 菊糖的生理功能和在食品中应用的研究进展[J]. 食品工业科技, 2012, 33(20): 351-354.
- [4] 饶志娟, 郑建仙, 贾呈祥. 功能性食品基料-菊粉的研究进展[J]. 中国甜菜业, 2002(4): 26-30.
- [5] LAYTON R C, PETROVSKY N, GIGLIOTTI A P, et al. Delta inulin polysaccharide adjuvant enhances the ability of split-virion H5N1 vaccine to protect against lethal challenge in ferrets[J]. Vaccine, 2011, 29(37): 6242-6251.
- [6] 崔钰, 李超, 尤健, 等. 白茅根多糖改善糖尿病小鼠糖脂代谢作用的研究[J]. 食品科学, 2012, 33(19): 302-304.
- [7] 赵立, 荀萍, 王霞, 等. 大蒜活性物质对高脂小鼠血脂代谢的影响[J]. 中成药, 2013, 35(1): 28-32.
- [8] 张倍宁, 周文凯, 赖健. 姜花酸奶加工工艺的研究[J]. 食品科技, 2011, 36(4): 54-57.
- [9] 蔡健, 施佳康. 黄桃酸奶的加工工艺研究[J]. 食品科技, 2011, 36(2): 76-78.
- [10] 周志伟, 许永红. 不同成胶温度对酸奶凝胶流变特性的影响[J]. 食品工业科技, 2000, 21(3): 11-12.
- [11] 王丽娜, 黄素珍. 柠檬红茶酸奶的加工工艺[J]. 中国乳品工业, 2010, 38(2): 30-32.
- [12] 李春和. 苦荞牛乳混合发酵酸奶工艺研究[J]. 食品科学, 2010, 31(24): 335-336.
- [13] 牛天贵. 食品微生物学实验技术[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2002: 15-18.
- [14] 李汉臣, 赵希艳, 吉志新, 等. 黄粉虫脱脂粉对小鼠血糖和血脂水平的影响[J]. 食品研究与开发, 2012, 34(1): 12-14.
- [15] OFFNER H, SUBRAMANIAN S, PARKER S M, et al. Experimental stroke induces massive, rapid activation of the peripheral immune system[J]. Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism, 2006, 26(5): 654-665.
- [16] 黄亮, 肖开庆, 郑菲. 菊糖对小白鼠消化吸收免疫功能及血糖的影响评价[J]. 食品与机械, 2009, 25(1): 90-92.
- [17] 上官明君, 王芳, 张红岗, 等. 菊粉对蛋鸡生长性能、免疫器官指数和血清免疫球蛋白的影响[J]. 动物营养学报, 2009, 21(1): 118-122.
- [18] CEREZUELA R, CUESTA A, MESEGUER J, et al. Effects of dietary inulin and heat-inactivated *Bacillus subtilis* on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune parameters[J]. Beneficial Microbes, 2012, 3(1): 77-81.
- [19] SAADOUN S, WATERS P, BELL B A, et al. Intra-cerebral injection of neuromyelitis optica immunoglobulin G and human complement produces neuromyelitis optica lesions in mice[J]. Oxford Journals, 2010, 133(2): 349-361.
- [20] EHRENSTEIN M R, NOTLEY C A. The importance of natural IgM: scavenger, protector and regulator[J]. Nature Reviews Immunology, 2010, 11(10): 778-786.