

低聚乳果糖对断奶大鼠肠道发育的影响

黄小流¹, 阮征^{1,*}, 张梅英², 周艳¹, 张翠¹, 李玲¹, 印遇龙^{1,3}

(1.南昌大学食品科学与技术国家重点实验室, 江西 南昌 330047; 2.南昌大学附属医院, 江西 南昌 330031;

3.中国科学院亚热带农业生态研究所, 湖南 长沙 410125)

摘要:目的: 研究低聚乳果糖(lactosucrose, LS)对断奶期SD大鼠肠道发育的影响。方法: 选取24只SD大鼠, 分为3个组: 空白对照组、低聚乳果糖组、双歧杆菌组。记录0、7、14、21、28、35d的体质量及每周总采食量。35d后处死取样, 准确称量大鼠脾脏质量, 记录小肠长度, 测定回肠中SOD活力、MDA含量, 应用组织学方法对回肠的形态学指标及淋巴细胞数进行检测。结果: 与空白对照组相比, 低聚乳果糖显著增加大鼠7、28、35d的体质量生长率($P < 0.05$), 分别增加了10.4%、21.0%和55.8%; 显著增加大鼠体质量、小肠长度与回肠中的淋巴细胞数($P < 0.05$), 分别增加了18.9%、17.7%、77.9%; 显著降低回肠中MDA的含量($P < 0.05$)。结论: 低聚乳果糖能促进大鼠肠道发育。

关键词: 低聚乳果糖; 大鼠; 肠道; 发育; 双歧杆菌

Effect of Lactosucrose on Intestinal Development of Weaned Rats

HUANG Xiao-liu¹, RUAN Zheng^{1,*}, ZHANG Mei-ying², ZHOU Yan¹, ZHANG Cui¹, LI Ling¹, YIN Yu-long^{1,3}

(1. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China; 2. Campus Hospital, Nanchang University, Nanchang 330031, China; 3. Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences,

Changsha 410125, China)

Abstract: Objective: To explore the effect of lactosucrose on intestinal development of weaned rats. Methods: Totally 24 weaned rats were randomly divided into 3 groups including normal group, lactosucrose group and *Bifidobacterium* group. The body weight of each rat at the 0, 7th, 14th, 21st and 35th day and total food consumption per week were recorded. The spleen weight and the length of small intestine, the contents of SOD and MDA, ileum morphology and lymphocytes in the ileum were measured after all rats were killed at the 35th day. Results: The body weight at the 7th, 28th and 35th day, the growth rate of body weight, the length of small intestine and lymphocytes in the ileum for rats treated with lactosucrose were significantly increased when compared with those of the rats from the normal control group ($P < 0.05$), and ileum MDA content was significantly lower than that in the rats from the normal control group ($P < 0.05$). Conclusion: Lactosucrose can improve intestine development of weaned rats.

Key words: lactosucrose; rats; intestine; growth; bifidobacteria

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)09-0226-04

动物或人的肠道功能正常与否对营养素的消化、吸收和代谢, 及其对发育和生长具有重要影响, 可因断奶、食品、药物和环境等因素变化导致机体肠道产生免疫应激, 比如肠道免疫功能失衡、炎症性肠病。近年来, 益生元和益生菌等功能性原料应用于保健性食品、婴幼儿食品与食品添加剂方面的研究日益受到国内外的重视^[1-4]。低聚乳果糖是一种新型的功能性低聚糖, 它是 β -半乳糖苷酶催化乳糖和蔗糖而生成的产物(3个单糖通过糖苷键结合), 具有改善机体内微生态环境, 提

高机体免疫功能, 增强免疫细胞的活性, 杀灭侵入机体内的细菌和病毒等作用^[5]。本研究的目的是通过对SD大鼠灌胃低聚乳果糖(lactosucrose, LS), 观察它对大鼠肠道发育的影响。

1 材料与方法

1.1 动物及饲养管理

SD大鼠, SPF级, 雌性, 体质量60~80g, 2~3周龄, 处在断奶期, 购自上海西普乐-必凯实验动物

收稿日期: 2011-05-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(31001014); 黎介寿院士肠道屏障研究专项基金项目(LJS_201006)

作者简介: 黄小流(1976—), 男, 硕士研究生, 研究方向为低聚糖营养调控。E-mail: huangxl1976@163.com

*通信作者: 阮征(1978—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为功能食品与营养代谢。E-mail: ezruan@yahoo.com

有限公司。本实验在江西省疾病预防控制中心动物饲养室进行,温度维持在23℃,相对湿度为65%左右环境中常规饲养。

1.2 试剂与仪器

普通饲料由南昌大学实验动物中心提供;低聚乳糖(纯度55%) 本实验室自制;双歧杆菌 广州拜晴公司;SOD、MDA试剂盒 南京建成生物试剂研究所。

SC-3614 离心机 科大创新股份有限公司中佳分公司;722E 分光光度计 上海光谱仪器有限公司;切片机 德国Leica公司。

1.3 低聚乳糖制备

以蔗糖和乳糖为底物,按照参考文献[6-7]用 β -呋喃果糖苷酶的酶液合成低聚乳糖。经过纯化使得低聚乳糖含量为55%。

1.4 实验设计

实验分为3个处理组,每组8只。分别灌喂蒸馏水、低聚乳糖(250mg/(kg·d))、双歧杆菌(1.0×10^{10} CFU/(只·d)),每日上午一次,同时给予普通饲料,自由饮水,连续35d。

1.5 检测指标及方法

至第35天,各组大鼠禁食24h后,称体质量;用断头法处死大鼠,剖腹,游离小肠,测量长度,剪取回肠中间两段,大约2~3cm,一份置于体积分数10%中性甲醛固定液中,一份用液氮固定,−80℃保存备用;取出脾脏,去除其他组织,称体质量。

1.5.1 大鼠体质量生长率的计算^[8]

记录0、7、14、21、28、35d各大鼠的体质量,按式(1)计算。

$$\text{体质量生长率}/\% = \frac{m - m_0}{m_0} \times 100 \quad (1)$$

式中: m_0 为0d时大鼠的体质量/kg; m 为7、14、21、28、35d各大鼠的体质量/kg。

1.5.2 肠道中SOD活力的测定

组织匀浆,采用试剂盒法(黄嘌呤氧化酶法),单位为U/mL。

1.5.3 肠道中MDA含量的测定

组织匀浆,采用试剂盒法(硫代巴比妥酸比色法),单位为nmol/mL。

1.5.4 脾脏及小肠长度指数测定^[9-10]

在实验至第35天,对各大鼠准确称体质量后,断头法处死,剖腹,小心取出脾脏和小肠并剔除附着的组织,脾脏用滤纸吸干血水后进行准确称质量,小肠直接小心测量其自然长度。记录各实验大鼠的脾脏质量、小肠长度,计算脾脏指数及小肠长度指数。

$$\text{脾脏指数}/(\text{g}/\text{kg}) = \frac{m_1}{m} \quad (2)$$

$$\text{小肠长度指数}/(\text{cm}/\text{g}) = \frac{L}{m} \times 10^{-3} \quad (3)$$

式中: m_1 为脾脏质量/g; m 为大鼠体质量/kg; L 为小肠长度/cm。

1.5.5 常规石蜡切片的制作及小肠黏膜形态指标和淋巴细胞数的测定^[11]

将置于体积分数10%中性甲醛固定液中固定的回肠组织脱水,经二甲苯透明、浸蜡、组织包埋、切片、贴片和干燥等步骤。而后进行切片脱蜡、水化、苏木素染液、伊红染液和脱水,透明封固。用Motic Med6.0数码医学图像采集处理系统采图后,绒毛高度,从绒毛基部(肠腺与绒毛联接处)到绒毛顶端的距离,隐窝深度指肠腺的基部到肠腺开口的距离,采用麦克奥迪显微图像分析软件进行形态学指标观察测量。淋巴细胞数,在40倍目镜下选取每张切片5个全视野,记录每个视野下的淋巴细胞数,取平均值。

1.6 数据统计与分析

实验结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,用SPSS11.5软件中ANOVA进行统计分析,用Duncan's检验两组之间的差异显著性, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 各组大鼠体质量生长率变化

表1 低聚乳糖对大鼠体质量生长率的影响($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Table 1 Effect of lactosucrose on growth rate of body weight of weaned rats($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	体质量生长率/%					
	0d	7d	14d	21d	28d	35d
空白对照组	0	0.48 ± 0.05 ^a	0.97 ± 0.14	1.20 ± 0.22	1.43 ± 0.17 ^a	1.20 ± 0.10 ^a
低聚乳糖组	0	0.53 ± 0.07 ^b	1.04 ± 0.17	1.35 ± 0.17	1.73 ± 0.20 ^b	1.87 ± 0.19 ^c
双歧杆菌组	0	0.51 ± 0.06 ^{ab}	0.98 ± 0.11	1.39 ± 0.19	1.74 ± 0.15 ^b	1.76 ± 0.17 ^{bc}

注:同列字母不同表示差异显著($P < 0.05$)。下同。

由表1可见,与空白对照组相比,低聚乳糖组显著增加大鼠7、28、35d的体质量生长率($P < 0.05$),分别增加了10.4%、21.0%和55.8%,双歧杆菌组显著增加大鼠28、35d的体质量生长率($P < 0.05$),分别增加了21.7%和46.7%;低聚乳糖组和双歧杆菌组在各检测时间点上没有差异性($P > 0.05$)。

2.2 各组大鼠脾脏、小肠长度指数的变化

由表2可见,与空白对照组比,低聚乳糖组显著增加大鼠体质量和小肠长度($P < 0.05$),分别增加了18.9%

和 17.7%，双歧杆菌粉组显著增加大鼠体质量和小肠长度 ($P < 0.05$)，分别增加了 23.1% 和 20.1%；低聚乳果糖组、双歧杆菌粉组之间没有统计学意义；与空白对照组相比，低聚乳果糖组和双歧杆菌粉组的大鼠脾脏质量有所增加 ($P > 0.05$)，分别增加了 2.17% 和 13%；各组之间的脾脏指数、小肠长度指数没有显著性差异 ($P > 0.05$)。

表 2 低聚乳果糖对大鼠体质量、脾质量、小肠长度、脾脏及小肠长度指数的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Table 2 Effect of lactosucrose on body weight, spleen weight, small intestine length, spleen index and small intestine length index ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	体质量/g	脾脏指数/(g/kg)	脾脏质量/g	小肠长度指数/(cm/g)	小肠长度/cm
空白对照组	161.25 $\pm$ 18.09 ^a	2.85 $\pm$ 0.05	0.46 $\pm$ 0.09	0.45 $\pm$ 0.05	73.25 $\pm$ 6.67 ^a
低聚乳果糖组	191.75 $\pm$ 21.63 ^b	2.45 $\pm$ 0.05	0.47 $\pm$ 0.13	0.45 $\pm$ 0.02	86.25 $\pm$ 10.53 ^b
双歧杆菌粉组	198.50 $\pm$ 12.42 ^b	2.62 $\pm$ 0.04	0.52 $\pm$ 0.07	0.44 $\pm$ 0.04	88.00 $\pm$ 9.37 ^b

2.3 各组大鼠回肠中的 SOD 活力、MDA 含量的变化

表 3 低聚乳果糖对大鼠回肠中 SOD 活力和 MDA 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Table 3 Effect of lactosucrose on SOD and MDA contents in rat ileum ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	SOD 活力/(U/mL)	MDA 含量/(nmol/mL)
空白对照组	211.02 $\pm$ 22.71 ^a	2.58 $\pm$ 0.29 ^a
低聚乳果糖组	245.37 $\pm$ 32.34 ^a	1.63 $\pm$ 0.52 ^b
双歧杆菌粉组	291.78 $\pm$ 16.25 ^b	1.49 $\pm$ 0.38 ^b

由表 3 可见，与空白对照组相比，低聚乳果糖组和双歧杆菌粉组都能显著降低大鼠回肠组织中 MDA 的含量 ($P < 0.05$)，低聚乳果糖组和双歧杆菌粉组之间没有差异性 ($P > 0.05$)。低聚乳果糖能提高回肠组织中 SOD 的活力，提高了 16.3% ($P > 0.05$)，双歧杆菌粉组提高了 38.3% ($P < 0.05$)。

2.4 各组大鼠回肠黏膜绒毛高度、隐窝深度、淋巴细胞数的变化

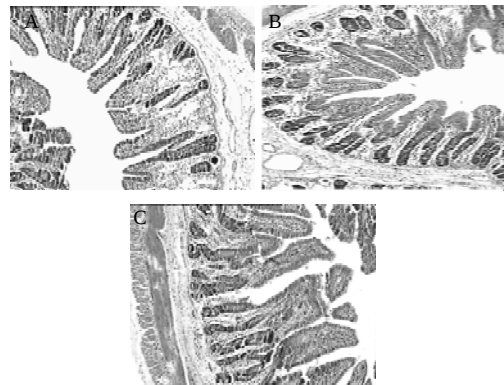
表 4 低聚乳果糖对大鼠回肠黏膜绒毛高度、隐窝深度、淋巴细胞数的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Table 4 Effect of lactosucrose on villus height, crypt depth and lymphocytes in rat ileum ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	绒毛高度/ μm	隐窝深度/ μm	绒毛高度/隐窝深度	淋巴细胞数
空白对照组	191.15 $\pm$ 53.63	134.25 $\pm$ 27.85	1.42 $\pm$ 0.13	87.25 $\pm$ 9.63 ^a
低聚乳果糖组	197.55 $\pm$ 24.39	120.15 $\pm$ 20.17	1.67 $\pm$ 0.23	155.25 $\pm$ 29.86 ^b
双歧杆菌粉组	242.25 $\pm$ 55.56	148.93 $\pm$ 26.52	1.62 $\pm$ 0.11	162.75 $\pm$ 25.08 ^b

通过图 1 形态学观察发现，低聚乳果糖组大鼠回肠末端绒毛高度与空白对照组无变化，隐窝深度无明显变化。由表 4 可知，与空白对照组相比，低聚乳果糖组

绒毛高度增加了 3.3%，隐窝深度降低了 10.5%，绒毛高度与隐窝深度的比值升高了 17.6%；低聚乳果糖和双歧杆菌粉组都能显著增加回肠黏膜中的淋巴细胞数量，分别增加了 77.9% 和 86.5% ($P < 0.05$)，低聚乳果糖和双歧杆菌粉组之间没有差异性 ($P > 0.05$)；空白对照组和低聚乳果糖组的绒毛高度与隐窝深度比值分别为 1.42 和 1.67，说明低聚乳果糖干预后刺激了绒毛的生长。结合两组间体质量增加率、小肠长度与回肠 MDA 生成量的显著性差异，说明低聚乳果糖能增强大鼠小肠的吸收与抗氧化功能。



A. 空白对照组；B. 低聚乳果糖组；C. 双歧杆菌粉组。

图 1 回肠末端 HE 染色的黏膜形态 ($\times 100$)

Fig.1 Mucosal morphology of terminal ileum (HE staining, $\times 100$)

3 讨论

断奶期为幼年哺乳动物生长发育过程中关键期之一^[12]。在此期间，幼年哺乳动物免疫力比较低，消化器官发育及功能还未健全，容易受到饮食结构改变及其他各种因素影响而造成消化和吸收紊乱，进而导致幼年哺乳动物营养不良、生长受阻甚至死亡。现代免疫学表明消化道既是一个消化器官，还是一个免疫器官，约 1/4 的肠黏膜是淋巴组织，在系统免疫器官中存在的 70% 以上免疫细胞分布于肠组织内^[13]。低聚糖是一种高效的益生元，它是人体在内肠腔内益生菌的食物，能促进乳酸菌和双歧杆菌生长增殖^[14]。以双歧杆菌为代表的有益菌对机体发挥健康作用：通过竞争性结合肠道黏膜上皮位点抑制病原微生物^[15]；通过发酵低聚乳果糖等不易消化营养素产生酸性物质，降低肠道内 pH 值，抑制大肠杆菌、沙门氏菌等有害菌生长^[16]；并具有直接消除自由基、脂质过氧化物等功能^[17-18]。

本实验结果表明低聚乳果糖和双歧杆菌对大鼠的肠道发育和体质量增加都有良好的促进作用，这与陈岗^[19]在用芽孢杆菌 PAS38 制剂和 β -甘露聚糖制剂对家兔小肠

内分泌免疫的影响研究中结果相一致的。由实验可知,低聚乳果糖有促进大鼠体质量生长率增加的作用,且在作用的时间上要短于双歧杆菌;低聚乳果糖还有增加大鼠回肠黏膜绒毛高度,降低隐窝深度趋势,部分研究暗示,隐窝的上升有利于促进肠道的消化力^[20-21]。

Fernandez 等^[22]的研究表明,低聚糖不被前段消化道降解,直接到达后段肠道,这些物质在粪中不能检出,说明低聚糖已经被后段肠内的微生物发酵降解。低聚糖具有促进益生菌生长和调节机体免疫作用,李国平等^[23]证实,哺乳仔猪口服复合菌制剂能提高淋巴细胞转化率 46.5%。脾脏属于外周免疫器官,它能产生大量的淋巴细胞和丰富的 B 细胞。免疫器官称质量法是目前研究机体免疫状况的方法之一。一般认为免疫器官质量降低为免疫抑制所致,而免疫器官质量增加则为免疫增强的表现。免疫器官的绝对质量皆随日龄的增加而增大,其相对质量有随其日龄的增加而有减小的趋势。本实验结果显示,低聚乳果糖和双歧杆菌都有刺激大鼠回肠黏膜淋巴细胞增殖的效果,暗示低聚乳果糖在提高淋巴细胞数的作用上与双歧杆菌具有一致性;低聚乳果糖和双歧杆菌还增加了断奶大鼠脾脏绝对质量,而脾脏相对质量有下降趋势。

低聚乳果糖和双歧杆菌都能降低回肠组织中 MDA 含量,但是低聚乳果糖对回肠组织中的 SOD 活力却没有影响,这暗示低聚乳果糖和双歧杆菌对改善大鼠抗氧化功能的作用机制可能有所不同。

总之,本实验研究表明,低聚乳果糖和双歧杆菌通过增加大鼠回肠中淋巴细胞数和降低回肠组织中 MDA 水平,增加小肠长度来促进大鼠的生长发育,低聚乳果糖可作为功能性成分应用于保健食品与婴幼儿食品中。

参考文献:

- [1] 岑路,陈蕾,张小利,等. 益生菌和黄芪多糖临床改善仔猪生长性能的研究[J]. 中国畜牧兽医, 2009, 36(12): 17-19.
- [2] 付果花. 发酵乳杆菌: *Lactobacillus fermentum* F-6 对肉鸡生长性能及消化功能的影响[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2010.
- [3] 伍淳操. 不同益生菌对断奶仔猪生长特性的影响[D]. 重庆: 重庆大学, 2010.
- [4] FAK F, AHRNE S, MOLIN G, et al. Maternal consumption of *Lacto-*

- bacillus plantarum* 299v affects gastrointestinal growth and function in the suckling rat[J]. British Journal of Nutrition, 2008, 100: 332-338.
- [5] 葛文光. 低聚乳果糖的生理功能及加工特性[J]. 食品科学, 1998, 19(6): 16-20.
- [6] 廖春龙, 印遇龙, 阮征, 等. β - 呋喃果糖苷酶法合成低聚乳果糖工艺优化[J]. 食品科学, 2011, 32(4): 102-106.
- [7] HAN W C, BYUN S H, KIM M H, et al. Production of lactosucrose from sucrose and lactose by a levansucrase from *Zymomonas mobilis*[J]. J Microbiol Biotechnol, 2009, 19(10): 1153-1160.
- [8] KOETZNER L, GROVER G, BOULET J, et al. Plant-derived polysaccharide supplements inhibit dextran sulfate sodium-induced colitis in the rat[J]. Dig Dis Sci, 2010, 55: 1278-1285.
- [9] 张世昌, 王志祥. 复方中草药添加剂对断奶仔猪生长性能、抗氧化和免疫器官指数的影响[J]. 畜牧与兽医, 2010, 42(10): 56-59.
- [10] VRUBLOVA E, VOSTALOVA J, EHRMANN J, et al. The phyto-genic feed additive Sangrovit modulates dextran sulfate sodium-induced colitis in rats[J]. Veterinarni Medicina, 2010, 55(12): 610-618.
- [11] 朱南山. 多糖对早期断奶仔猪免疫功能的影响及其部分机制的研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2007.
- [12] 夏利宁, 陶刚, 王凤英, 等. 改进型中草药 921 合剂结合 α - 酮戊二酸对断奶大鼠肠道免疫的影响[J]. 新疆农业大学学报, 2004, 27(2): 91-95.
- [13] 赵宏艳, 肖诚, 鞠大宏, 等. 中医药对肠道黏膜免疫系统调节作用的研究进展[J]. 中国中医基础医学杂志, 2008, 14(2): 160-163.
- [14] SPILLER R. Probiotics and prebiotics in irritable bowel syndrome[J]. Alimentary Pharmacology & Therapeutics, 2008, 28(4): 385-396.
- [15] SCHROCKSNADDEL K, WIRLEITNER B, WINKLER C, et al. Monitoring tryptophan metabolism in chronic immune activation[J]. Clinica Chimica Acta, 2006, 364(1/2): 82-90.
- [16] 阎桂玲, 袁建敏, 闵于明, 等. 啤酒酵母甘露寡糖对肉鸡肠道微生物及免疫机能的影响[J]. 中国农业大学学报, 2008, 13(6): 85-90.
- [17] 李大军. 低聚糖的功能及对断奶仔猪生产性能和非特异性免疫功能的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2003.
- [18] 朱桂兰. 低聚乳果糖及在食品中的应用[J]. 安徽教育学院学报, 2007, 25(6): 86-88.
- [19] 陈岗. 芽孢杆菌 PAS38 制剂和 β -甘露寡糖制剂对家兔小肠内分泌免疫的影响研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2008.
- [20] 陈珍, 周作红, 管远红, 等. 60 日龄内玉山黑猪小肠形态学发育的研究 I. 小肠绒毛的密度、高度、宽度和杯状细胞数量的变化[J]. 江西农业大学学报, 2008, 30(2): 297-301.
- [21] YANG Haiying, LIU Aiping, ZHANG Ming, et al. Oral administration of live *Bifidobacterium* sub strains isolated from centenarians enhances intestinal function in mice[J]. Curr Microbiol, 2009, 59: 439-445.
- [22] FERNANDEZ F, HINTON M, van GILS B. Dietary mannan-oligosaccharides and their effect on chicken caecal microflora in relation to *Salmonella enteritidis* colonization[J]. Avian Pathology, 2002, 31(1): 49-58.
- [23] 李国平, 邵良平, 周伦江, 等. 口服复合菌制剂对哺乳仔猪免疫功能的影响[J]. 福建农业大学学报, 1999, 28(3): 341-344.