

文章编号:1673-1689(2009)04-0573-04

## 香菇酸乳对小鼠免疫力的影响

柯野, 朱曼菁, 曾松荣, 方白玉, 郑秋桦

(韶关学院 生物科学系, 广东 韶关 512005)

**摘要:** 为了研究自制的香菇酸乳对小白鼠免疫功能的影响, 作者采用小白鼠的体重增长率、脏器指数、血清抗菌活性、溶血素含量、溶菌酶活性和巨噬细胞吞噬功能等检测方法, 比较了自制的香菇酸乳与普通酸乳和生理盐水对小白鼠免疫功能的影响。结果表明, 与生理盐水相比, 香菇酸乳和普通酸乳能显著提高小白鼠的体重增长率、脏器指数和血清抗菌活性, 而两种酸乳之间差异不显著(香菇酸乳比普通酸乳更能显著地提高胸腺指数除外); 香菇酸乳显著地提高小白鼠血清的溶血素和巨噬细胞的吞噬能力, 但是普通酸乳和生理盐水不具有该功效; 香菇酸乳和普通酸乳与生理盐水相比较均能显著地提高小白鼠血清溶菌酶活性, 且香菇酸乳比普通酸乳提高溶菌酶活性的作用更显著。

**关键词:** 香菇酸乳; 小鼠; 免疫功能

**中图分类号:** TS 201.6

**文献标识码:** A

### Effects of *Lentinus edods* Yoghourt on Mice Immune Function

KE Ye, ZHU Man-jing, ZENG Song-rong, FANG Bai-yu, ZHENG Qiu-hua

(Department of Bioscience, Shaoguan University, Shaoguan, Guangdong 512005, China)

**Abstract:** In order to elucidate the effects of self-make *Lentinus edods* yoghurt on mice immune function, the rate of mice's growth, viscera index, anti-bacterial activity of serum, hemolysin content of serum, serum lysozyme activity and phagocytic function of mononuclear macro-phage were determined to compare the effects of the *Lentinus edods* yoghurt, yoghurt and physiological saline on mice immune function. The results showed that the *L. edods* yoghurt, or yoghurt, more significantly increased the rate of mice's growth and viscera index than physiological saline, but there were not significant difference between the two kinds of yoghurt, except that the *L. edods* yoghurt more significantly enhanced thymus index than yoghurt. The *L. edods* yoghurt could improve the hemolysin content of serum and the phagocytic function of mononuclear macro-phage, but both the yoghurt and physiological saline couldn't. Both the *L. edods* yoghurt and the yoghurt more significantly enhanced serum lysozyme activity than physiological saline, and the *L. edods* yoghurt had stronger effects than the yoghurt. In conclusion, the results proved the *L. edods* yoghurt was a new kind of yoghurt that was worth to be further exploited.

**Key words:** *Lentinus edods* yoghurt, mice, immune function

收稿日期: 2008-10-06

基金项目: 韶关学院科研项目(2007220).

作者简介: 柯野(1977-), 男, 四川泸县人, 理学硕士, 讲师, 主要从事有益微生物资源的开发与利用方面的研究。

Email: keye518@163.com

香菇(*Lentinus edodes* (Berk) Sing)俗称中国蘑菇,被人们誉为“菇中皇后”。研究表明,香菇的很多代谢产物如香菇多糖能提高人体免疫功能,抑制肿瘤细胞进一步生长与扩散、以及抗病毒等多种功效;菌丝体中的营养物质含量(如多糖和蛋白质)一般均高于子实体的含量,且菌丝体中的多糖与子实体多糖具有相似的功效<sup>[1-2]</sup>。粤北地区香菇品质好、产量高、资源丰富,但香菇产品形式单一,后加工简单粗糙,主要以新鲜香菇或干香菇出售。

酸乳风味独特、营养丰富、可以缓解乳糖不耐症、提高钙磷铁等矿质元素的利用率、调节人体肠道内微生物菌群平衡、降低胆固醇、提高人体免疫力等保健功能。此外,常饮酸乳还有美容、润肤、明目、固齿等作用。作者以相关研究基础为依据,采用香菇菌丝体、菌丝体发酵液与牛乳混合,通过乳酸菌的发酵作用制备新型的香菇酸乳。对香菇酸乳的检测结果表明,该新型酸乳可改变传统酸乳的口感,增强酸乳的清新气味,而且能够提高酸乳中乳酸菌的活菌数量。作者通过对香菇酸乳对小白鼠免疫力影响的研究,探讨其保健功能。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

乳酸菌发酵菌种、香菇菌株、大肠杆菌和金黄色葡萄球菌:均由韶关学院生物科学系微生物学与免疫学教研室提供;香菇发酵培养基:改良的综合PDB培养基;新鲜牛奶:由韶关市乳香园奶牛场提供;小白鼠:昆明种小鼠,雌雄各半,健康,体重均匀(20~30 g),清洁级。购买于广东省实验动物饲养中心。购买后在动物实验室喂养4 d,适应环境后开始试验。

### 1.2 试验动物的分组和灌胃量

对于每个处理试验的小白鼠均采用随机分组,共分3组,每组5只,第1组灌胃香菇酸乳,第2组灌胃酸乳,第3组灌胃无菌生理盐水;以70 kg体重人每日服用1 000 mL酸乳计算,根据小鼠体重计算灌胃量。连续灌胃10 d,每天灌胃1次。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 酸乳的制作

1) 香菇酸乳的制备:将香菇菌株液体培养,然后将菌丝球和发酵液一起进行组织捣碎,水中浸提,过滤,取滤液,然后香菇发酵液与新鲜牛奶按照一定的比例混合,并加入蔗糖,混匀、灭菌、冷却后,按体积分数10%的接种量接种乳酸菌菌种,均质,于42~43℃恒温箱中培养3.5 h,待出现较好凝乳

后停止培养;然后置于4℃冰箱冷藏发酵24 h以上。

2) 一般酸乳的制作:按照香菇酸乳的制作方法,仅仅不加香菇菌丝体和发酵液的滤液。

3) 酸乳卫生标准的测定:按照国标GB19302-2003标准测定了感官指标,微生物指标,乳酸菌指标和酸度指标。

1.2.2 小鼠体重变化试验 称量灌胃1 d的小鼠体重( $W_1$ )和末次灌胃后24 h的体重( $W_2$ ),并计算小鼠体重的变化率,体重变化率= $(W_2 - W_1)/W_1$ 。

1.2.3 小鼠免疫器官胸腺、肝和脾质量试验 末次灌胃24 h后,采用颈椎脱臼处死小白鼠,并对其解剖,取其胸腺、肝和脾,吸干血迹称其湿重,并按公式计算其脏器指数并比较指数间的差异。脏器指数=脏器质量(mg)/体重(g)。

1.2.4 小鼠血清抗菌活力试验 小鼠血清的制备:末次灌胃结束后24 h,采用摘除眼球采血法取血,置于事先放有抗凝剂的试管中,2 000 r/min离心15 min,取上清液作为待测血清备用。

以*E. coli*为研究对象,用生理盐水缓冲液配制一定浓度的菌悬液( $OD_{600} = 0.282$ )。取5 mL菌悬液与100  $\mu$ L的血清混匀,在600 nm处测定其光密度值( $A_1$ ),然后置于37℃培养30 min后,再于600 nm处测定其光密度值( $A_2$ )。抗菌活力= $(A_1 - A_2)/A_1$ 。

1.2.5 小鼠血清溶血素试验 鸡红细胞悬液的制备:无菌条件下,对鸡进行心脏采血,采取的血液放置于装有玻璃珠的三角瓶中,然后加入相当于鸡血体积5倍的Alsever's溶液,混匀,以去除纤维蛋白,放置于4℃冰箱保存备用。临用前,用生理盐水洗涤数次后,通过离心除去上清液和界面的细胞层,最后直至细胞压积值恒定,用生理盐水配成体积分数为3%的鸡红细胞悬液。

灌胃小鼠第1天用鸡红细胞悬液腹腔注射0.2 mL进行免疫,末次灌胃2 h后,对每组小鼠采用摘除眼球采血法取血,将采得血液置于放有抗凝剂的试管中,2 000 r/min离心15 min,取上清液作为待测血清备用。取2.5 mL红细胞悬液,加0.1 mL鼠血清,25℃保温1 h后,1 000 r/min离心2 min,于540 nm处测吸光度值。

1.2.6 小鼠血清溶菌酶活性测定 采用牛肉膏蛋白胨琼脂双层平板法培养金黄色葡萄球菌,金黄色葡萄球菌采用上层混菌法,待上层培养基凝固后,在上层平板上打孔,将小鼠血清(小鼠血清的制备方式同1.2.3)点样于琼脂平板的小孔中,置37℃

培养 24 h,测定溶菌环的直径,每组的每个小鼠点样 3 个孔。

**1.2.7 小鼠巨噬细胞吞噬试验的测定** 末次灌胃后,给小鼠腹腔注射 6% 淀粉肉汤 1 mL。24 h 后给每只注射过淀粉肉汤的小白鼠腹腔注射 1% 鸡红细胞悬液 1 mL,轻揉小白鼠腹部,使悬液分散。30 min 后,用拉颈法处死小鼠。将小鼠解剖,充分暴露腹膜于腹腔靠上部位,用镊子轻轻夹起腹膜,将腹膜剪一小口,同时用手反复揉搓腹腔约 1~2 min,以便尽可能多地冲洗出小鼠腹腔的吞噬细胞,用不装针头的注射器吸取腹腔液。取一张洁净的载玻片,滴一滴腹腔液,镜检巨噬细胞吞噬鸡红细胞现象,并计数 100 个已吞噬鸡红细胞的巨噬细胞中的鸡红细胞总数。

**1.2.8 统计学处理** 试验结果以“均数±标准差”表示,然后运用 SPSS 14.0 软件对每个处理的数据进行单因素方差分析,比较试验中组与组间的差异,检验水平为 0.05。

## 2 结果与讨论

### 2.1 普通酸乳和香菇酸乳的制作结果

两种酸乳的感官指标、微生物指标、乳酸菌指标和酸度指标均符合国家酸乳卫生标准;香菇酸乳与普通酸乳相比,感官指标、和乳酸菌数量指标均好些。

### 2.2 小鼠体重和免疫器官质量试验结果

由表 1 结果可见,香菇酸乳和酸乳对小鼠体重的增长有显著促进作用,这主要由于两种酸乳均含有丰富的营养物质,促进了小鼠的生长。脏器指数是反映动物机体免疫功能的最基本和最常规的指数,已被广泛用于评价机体的整体免疫状态的初步指标<sup>[6]</sup>。由表 1 可见,这两种酸乳对小鼠的胸腺指数、肝脏指数和脾脏指数有显著的提高作用,说明二者均对小鼠的免疫力具有增强作用。

表 1 小鼠体重和免疫器官质量试验结果

Tab.1 Effects of mice's weights and the weights of immune organs

组别	体重平均 增长率/%	胸腺指数/ (mg/g)	肝脏指数/ (mg/g)	脾脏指数/ (mg/g)
香菇酸乳	6.96± 1.25*	2.95± 0.20*▼	45.3± 3.06*	6.60± 0.47*
酸乳	6.84± 1.17*	2.73± 0.08*	47.96± 2.30*	6.50± 0.12*
生理盐水	2.20± 0.69	1.43± 0.11	39.68± 1.20	4.90± 0.53

与生理盐水比较:\* $P<0.05$ ,与酸奶比较:▼ $P<0.05$

万方数据

### 2.3 小鼠血清抗菌活力试验结果

血清中含有大量的抗菌物质如补体系统等,血清抗菌能力的增强表明,小鼠对病原菌的抑制作用提高了机体对病原菌的抵抗能力,整体上加强了小鼠的免疫力。从表 2 可见,两种酸乳与生理盐水相比较,两种酸乳均有显著提高小鼠血清抗菌活力的能力。

表 2 小鼠血清抗菌活力试验结果

Tab.2 Effects of anti-bacterial activity

组别	抗菌活力/U
香菇酸乳	0.205 6±0.0063*
酸乳	0.197 4±0.0056*
生理盐水	0.135 4±0.0089

与生理盐水比较:\* $P<0.05$

### 2.4 小鼠血清溶血素试验结果

溶血素能使血液的粘稠性保持在一个适当的范围内,血栓不容易形成,能起到保护心血管作用,是反映机体体液免疫功能状况的一种方法。溶血素生成的增多,则出现红细胞溶血时的吸光度值提高,表明对小鼠机体的体液免疫具有增强作用<sup>[7]</sup>,结果见表 3。香菇酸乳对小鼠的血清溶血素的生成具有显著的促进作用,但是酸乳与生理盐水相比没有促进作用。

表 3 对小白鼠血清溶血素试验结果

Tab.3 Effect of hemolysin content of serum

组别	溶血素含量/OD
香菇酸乳	1.266±0.003 082*
酸乳	1.128 5±0.055 093
生理盐水	1.103 667±0.040 849

与生理盐水比较:\* $P<0.05$

### 2.5 小鼠血清溶菌酶活性试验结果

血清溶菌酶是中性粒细胞、单核巨噬细胞合成并能迅速释放到细胞外的一种水解酶,是吞噬细胞杀菌的物质基础,在抗感染中是一种重要的非特异性免疫因子,是机体非特异性免疫反应的重要指标;血清溶菌酶存在于多种体液、白细胞和血清中,在机体的炎症、修复和再生等过程的调节中发挥重要作用,能部分反映细胞免疫功能和机体抗感染能力<sup>[10]</sup>。由表 4 可见,香菇酸乳和酸乳均有显著提高小鼠血清溶菌酶活性的作用,但香菇酸乳提高血清中溶菌酶活性的作用更显著。

表4 小白鼠血清溶菌酶活性试验结果

Tab.4 Effect of serum lysozyme activity

组别	溶菌环直径/mm
香菇酸乳	12.252±0.241 62* <sup>▼</sup>
酸乳	11.426±0.241 62*
生理盐水	10.876±0.0887 69

与生理盐水比较: \*  $P < 0.05$ , 与酸奶比较: <sup>▼</sup>  $P < 0.05$

## 2.6 小鼠巨噬细胞吞噬试验的结果

巨噬细胞在非特异性免疫中发挥极为重要的作用,是消除致病微生物的重要效应细胞,具有摄取、处理、加工、清除外来异物、呈递抗原等功效,在调节免疫功能和免疫应答的各环节中起重要作用<sup>[6]</sup>。由表5可见,香菇酸乳显著地提高了巨噬细胞吞噬鸡红细胞的能力,但是酸乳没有促进作用。

## 3 结 语

作者从小鼠的体重增长率、脏器指数、血清抗

## 参考文献(References):

- [1] 刘美琴,李建中,孔繁祚. 香菇菌丝体多糖的分离鉴定与免疫功能研究[J]. 生物化学与生物物理学报, 1999, 31(1): 46.  
LIU Mei-qin, LI Jian-zhong, KONG Fan-zuo. Purification, characterization and immunological function of a new polysaccharide protein complex (LE) from cultured mycelia of *Lentinus edodes*[J]. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 1999, 31(1): 46. (in Chinese)
- [2] 柯野,梁小敏,曾松荣,等. 粤北地区香菇多糖和可溶性蛋白的研究[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(3): 5-8.  
KE Ye, LIANG Xiao-min, ZENG Song-rong, et al. Studies on polysaccharide and soluble protein of *Lentinus edodes* in the north of Guangdong province[J]. *Food Research and Development*, 2008, 29(3): 5-8. (in Chinese)
- [3] 牛生洋,赵瑞香,孙俊良. 嗜酸乳杆菌在现代乳品中的应用研究进展[J]. 中国乳品工业, 2005, 33(10): 31-34.  
NIU Sheng-yang, ZHAO Rui-xiang, SUN Jun-liang. Research and development of the *Lactobacillus acidophilus* on fermented milk [J]. *China Dairy Industry*, 2005, 33(10): 31-34. (in Chinese)
- [4] 中华人民共和国卫生部,中国国家标准化管理委员会. 中华人民共和国国家标准 GB19302-2003(酸乳卫生标准)[S]. 北京:中国标准出版社, 2004: 1-3.
- [5] 沈萍,范秀容,李广武. 微生物学实验(第三版)[M]. 北京:高等教育出版社, 2004: 97-99, 162-163.
- [6] 李春燕,李先辉,吕江明,等. 黄瓜香对小鼠免疫功调节的实验研究[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(1): 40-41.  
LI Chun-yan, LI Xian-hui, LU Jiang-ming, et al. Study on the effect of the aqueous extraction from *Viola diffusa* Ging on immune function in mice[J]. *Lishizhen Medicine and Material Medical Research*, 2008, 19(1): 40-41. (in Chinese)
- [7] 邓超,邹敏辰. 茶树菇多糖对小鼠免疫功能影响的研究[J]. 青岛农业大学(自然科学版), 2007, 2(1): 42-44.  
DENG Chao, WU Min-chen. Study on the effect immunity function of *Agrocybe aegirit* polysaccharide in mice[J]. *Journal of Qingdao Agricultural University(Natural Science)*, 2007, 2(1): 42-44. (in Chinese)
- [8] 曾献春,刘金宝,江岩. 番茄、胡萝卜混合汁乳酸菌发酵液对小鼠免疫功能的影响[J]. 解放军预防医学杂志, 2005, 23(4): 248-251.  
ZENG Xian-chun, LIU Jin-bao, JIANG Yan. Effect of *lactobacillus* fermented juice from tomato and carrot on mice immune function[J]. *Journal of Preventive Medicine of Chinese People's Liberation Army*, 2005, 23(4): 248-251. (in Chinese)
- [9] 徐静娟,邹敏辰,朱劫,等. 茶树菇多糖免疫调节作用的研究[J]. 食品与生物技术学报, 2007, 26(6): 36-39.  
XU Jing-juan, WU Min-chen, ZHU Jie, et al. Study on immunoregulatory function of *Agrocybe cylindracea* polysaccharide (ACP) [J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2007, 26(6): 36-39. (in Chinese)
- [10] 王慧芳,曾林,赵爱珍,等. 生姜对小鼠血清溶菌酶活性的影响[J]. 动物医学进展, 2001, 22(4): 70-71.  
WANG Hui-fang, ZENG Lin, ZHAO Ai-zheng, et al. Effects of *Rhizoma zingiberis* on activities of serum lysozyme in mice[J]. *Progress in Veterinary Medicine*, 2001, 22(4): 70-71. (in Chinese)

(责任编辑:李春丽)

菌活性、溶血素和吞噬细胞等方面探讨了酸乳和香菇酸乳对小鼠体非特异性免疫功能的影响。结果表明,酸乳和香菇酸乳对小鼠的这些非特异性免疫功能均有不同程度的增强作用,特别是香菇酸乳增强作用更显著。因此,香菇酸乳是一种较好的新型乳制品饮料,可以满足现代消费者对饮料在保健功能等方面的需求。

表5 每100个小白鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞的數量

Tab.5 Effect of phagocytic function of mononuclear macrophage

组别	吞噬鸡红细胞的个数/个
香菇酸乳	476±65.421 71*
酸乳	346±29.664 79
生理盐水	390±54.772 26

与生理盐水比较: \*  $P < 0.05$