

薏米黄酒对机体免疫及肠道功能的调节作用研究 *

李 珊¹ 吴 海² 申可佳¹ 蔡光先¹ 谭周进^{1△} 蔡 锐¹ 李迎秋¹

(1 湖南中医药大学 湖南 长沙 410208 2 湖南中医药大学 2009 级研究生 湖南 长沙 410208)

摘要 目的:考察薏米黄酒对机体免疫和肠道功能的调节作用。方法:将 ICR 小鼠随机分为 3 组:对照组、模型组和给药组。首先对模型组和给药组注射环磷酰胺造模,0.15 ml/d/只,连续 3d,第 4d 开始对照组和模型组灌胃生理盐水 0.3 ml/d/只,给药组灌胃薏米黄酒 0.3 ml/d/只,连续灌胃 14d。第 1、4、18d 对各组小鼠称重,第 18d 处死小鼠解剖取脾脏、胸腺称重并计算脏器系数,取肠道内容物做肠道微生物培养。结果:薏米黄酒与小鼠的体重变化无关,给药组脾脏系数高于对照组有统计学意义($P<0.05$),胸腺系数高于对照组和模型组均有统计学意义($P<0.05$),给药组细菌总数、大肠杆菌数和乳酸菌数高于模型组和对照组且有显著统计学意义($P<0.01$),真菌数量低于模型组和对照组有统计学意义($P<0.05$)。结论:该薏米黄酒对机体免疫和肠道功能有一定的调节作用。

关键词 薏米黄酒;小鼠;免疫活性;肠道微生物

中图分类号 TS262.4 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273(2011)12-2251-03

Effects of Yellow Wine with Seeds of Job's Tears on Immunity and Intestinal Functions in Mice*

LI Shan¹, WU Ha², SHEN Ke-jia¹, CAI Guang-xian¹, TAN Zhou-jin^{1△}, CAI Rui¹, LI Ying-qiu¹

(1 TCM University of Hunan, Hunan Changsha, 410208, China; 2 2009 Postgraduate Courses, TCM University of Hunan, Hunan, Changsha, 410208, China)

ABSTRACT Objective: To observe the regulating function of Yellow Wine with the Seeds of Job's Tears on the immune and intestinal function. **Methods:** The ICR mice were randomly divided into 3 groups: the control group, the model group and the treated group. First, the model group and treatment group were injected with cyclophosphamide, then the control group and the model group were treated with normal saline only, the treated group were treated with Yellow Wine with the Seeds of Job's Tears. In the 18th day, The mice were killed, the weights of spleen and thymus were determined and the coefficients of viscera were calculated. In addition, the total number of intestinal microflora were measured. **Results:** The body weight of mice had nothing to do with Yellow Wine with the Seeds of Job's Tears. In the treated group the coefficient of spleen organ was higher than those in control group ($P<0.05$), and the coefficient of thymus organ was higher than those in control group and model group ($P<0.05$). The total number of bacteria colonies, *E. coli* and *Lactobacillus* in the intestinal were higher than those in control group and model group ($P<0.01$), and the number of fungi was lower than those in control group and model group ($P<0.05$). **Conclusion:** Yellow Wine with the Seeds of Job's Tears could enhance immune function and regulate intestinal function.

Key words: Yellow Wine with the Seeds of Job's Tears; Mice; Immune function; Intestinal microbes

Chinese Library Classification(CLC): TS262.4 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2011)12-2251-03

黄酒是世界上最古老的酒类之一,是以糯米、粳米或黍米为原料经酒药及曲中多种有益微生物的作用而酿制的发酵酒,属低度酿造酒,也是一种兼饮料、食疗、药疗及佐料等多种功能为一体的特殊酒种^[1],在世界三大酿造酒(黄酒、葡萄酒和啤酒)中占有重要的位置^[2]。随着生活水平的提高和保健意识的增强,人们转向崇尚健康、营养、保健的新饮酒价值观念^[3]。黄酒作为低度、营养、保健型的酿造酒,正适合当今社会新的消费价值趋向。湖南新化县的蚩尤酒厂另辟蹊径,以当地祖传工艺为基础,结合现代黄酒酿造技术,生产出了以薏米等为主要原料新型黄

酒。薏米营养价值非常丰富,药用历史悠久,湖南有大面积种植,也是常用的利水渗湿药材。明代李时珍认为“健脾益胃,补肺清热,风胜湿,赠食欲,治冷气,煎饮利水,治热淋”。近年来的实验证明,薏米中的薏米酯、薏八醇及 β 、 γ 2 种谷甾醇等具有防癌、抗癌作用^[4]。该薏米黄酒口感好,不上头,适合日常饮用,为了检测该酒对机体活性调节作用,特做动物实验研究,报告如下:

1 材料与方法

* 基金来源:湖南省重点项目(2010SK2002),湖南新化县蚩尤酒厂科研资助。

作者简介:李珊(1976-),女,讲师,硕士,主要从事微生物学研究,Email:lishan3393@Yahoo.com.cn。

△通讯作者:谭周进(1969-),湖南涟源人,教授,博士后,博士生导师,发表微生物学论文 140 多篇,主要从事微生物生态学及微生物资源利用研究,Email:tanzhjin@sohu.com。

(收稿日期:2011-01-07 接受日期:2011-01-31)

1.1 材料

1.1.1 薏米黄酒 由湖南省新化蚩尤酒厂提供，产品黑褐色，以薏米、糯米为主要原料，按照传统黄酒生产工艺优化酿造而成，产品具体成分为：蛋白质 5.8%，总酯 3.5g/L，糖度为 134g/L，酒度为 22%，总酸 6g/L，氨基酸态氮 1.05g/mL，pH4.1。

1.1.2 试验动物 ICR 小鼠 30 只，其中雄性 14 只，雌性 16 只，体重 20± 2g。由上海斯莱克斯实验动物有限公司 / 中国科学院上海动物实验中心提供。饲料由湖南中医药大学动物实验中心提供。

1.1.3 药物 注射用环磷酰胺、江苏恒瑞医药股份有限公司。(1) 配制环磷酰胺：10 ml 生理盐水配一瓶(200 mg)，浓度即为 20 mg/mL。(生理盐水 - 氯化钠注射液，湖南科伦制药有限公司，100 ml/ 瓶)。(2)腹腔注射剂量选择：参考关于体表面积计算的文献，拟定成年人身高 170 cm，体重 60 kg，体表面积为 1.6521 m²。环磷酰胺用量为 826.05-1652.1 mg。以 20 g 小鼠换算为 2.383-4.765 mg。

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组及给药方法 将上述小鼠随机分为 3 组：对照组 10 只，雌性 6 只、雄性 4 只；模型组 10 只，雌雄各半；给药组(灌薏米黄酒)10 只，雌雄各半。首先对模型组和实验组进行造模，腹腔注射环磷酰胺 0.15 ml/ 只。每天一次，连续 3 天，第 4 天开始每天对照组和模型组灌胃生理盐水 0.3 ml/d/ 只，给药组灌胃薏米黄酒(原液，未稀释)0.3 ml/d/ 只，连续灌胃 14d。

1.2.2 实验动物临床观察 第 1、4、18d 对小鼠称重记录，观察并记录动物的饮食活动、毛色、精神状态、死亡等情况。

1.2.3 对小鼠免疫器官胸腺、脾脏指数的影响 小鼠称重，取脾脏、胸腺，称重，并计算脏体指数，计算公式如下^[5]：

脾指数(%)= 脾重量(g) / 小鼠体重(g) × 100
胸腺指数(%)= 胸腺重量(g) / 小鼠体重(g) × 100

1.2.4 薏米黄酒对小鼠肠道微生物的影响 将处死的小鼠立即于超净工作台上，无菌采集各组从空肠到直肠的一段肠道，并尽快按组放入无菌匀浆机内磨碎，取出后分别放入无菌玻璃小瓶内备用。4 种微生物均采用平板菌落计数，求其平均值并计算每克肠道内容物所含的细菌数。选择合适的稀释度，采用混菌法计数，细菌及大肠杆菌在 37℃ 培养箱中培养 24 h 后计数菌落，真菌在 30℃ 培养箱中培养 96 h 后计数菌落，乳酸菌厌氧培养 48h 后计数菌落，每一个稀释度做 3 个重复，求其平均值并计算每克肠道内容物所含的菌数。

细菌总数分析培养基用牛肉膏蛋白胨培养基^[6]，大肠杆菌分析培养基用伊红美蓝琼脂(EMB)^[5]，乳酸菌分析培养基用 MRS 琼脂培养基^[7]，真菌分析培养基用马丁氏培养基^[6]。

1.2.5 统计结果处理 各分组所得计量数据采用均数± 标准差($\bar{x} \pm S$)表示，用 DPS v7.55 软件处理数据，两组间均数比较用 t 检验，P<0.05 有统计学意义。

2 结果

2.1 临床观察结果

模型组和给药组小鼠相对正常对照组饮水量减少，体毛光泽度下降，活动稍差，给药组小鼠的情况稍优于模型组。

造模后给药组和模型组小鼠的体重减轻，与对照组比较有统计学意义(P<0.05)，但灌胃结束后给药组小鼠的体重变化与模型组和对照组比较均无统计学意义(P>0.05)，提示该薏米黄酒对小鼠体重影响不大，见表 1。

表 1 各组小鼠体重及体重变化($\bar{x} \pm S$)
Table1 Weight and weight change in mice($\bar{x} \pm S$)

Group	n	①初始体重(g) Initial body weight	②第 4 天体重(g) Weight in the 4th day	体重变化 1(g)(②-①) Weight changes1(②-①)	③第 18 天体重(g) Weight in the 18th day	体重变化 2(g)(③-②) Weight changes2(③-②)
给药组 The treated group	10	26.96± 2.00	26.65± 2.30	-0.31± 0.73a	31.03± 4.19	4.38± 2.63
模型组 The model group	10	26.89± 1.93	26.37± 2.29	-0.40± 0.79a	30.00± 3.89	3.41± 1.85
对照组 The control group	10	27.30± 2.81	28.32± 3.21	1.02± 0.83	31.17± 4.19	2.84± 1.52

注 a 与对照组相比 p<0.05。
Note: a Compared with the control group (P<0.05)

2.2 对小鼠免疫器官的影响

由表 2 可知，脾脏系数给药组高于对照组有统计学意义(P<0.05)，与模型组比较无统计学意义(P>0.05)，模型组高于对照组有统计学意义(P<0.05)，胸腺系数给药组高于对照组和模型组，且与二者比较均有统计学意义(P<0.05)，模型组低于对照组有统计学意义(P<0.05)，结果提示该薏米黄酒能刺激胸腺发育提高胸腺指数，而脾脏指数的增高可能与薏米黄酒无关。

2.3 对小鼠肠道微生物的影响

由表 3 可知，给药组细菌总数、大肠杆菌数和乳酸菌明显

增多，与模型组和对照组比较有显著统计学意义(P<0.01)，真菌数量减少与模型组和对照组比较有统计学意义(P<0.05)；模型组细菌总数和真菌数高于对照组有统计学意义(P<0.05)，大肠杆菌数低于对照组有统计学意义(P<0.05)。结果提示该薏米黄酒能使肠道正常菌群数量明显增多，而模型组大肠杆菌数减少，其细菌总数的增多可能与真菌数量的增多有关。

3 讨论

黄酒中含丰富的蛋白质、多糖、无机盐及微量元素，随着黄酒生产技术的提高，产品不断创新，酒质不断提高。除糯米黄酒

表 2 薏米黄酒对小鼠免疫器官影响($\bar{x} \pm S$)

Table2 Effect of Yellow Wine with the Seeds of Job's Tears beverage on the immune organ of mice($\bar{x} \pm S$)

Group	n	脾脏系数(%)	胸腺系数(%)
		The coefficient of spleen	The coefficient of Thymus
给药组	10	0.505± 0.062 ^a	0.145± 0.013 ^{ab}
The treated group			
模型组	10	0.532± 0.052 ^a	0.120± 0.011 ^a
The model group			
对照组	10	0.478± 0.044	0.132± 0.012
The control group			

注 a 与对照组相比 (P <0.05) b 与模型组相比 (P <0.05)。

Note: a Compared with the control group (P <0.05), b Compared with The model group (P <0.05)

表 3 薏米黄酒对小鼠肠道微生物的影响($\bar{x} \pm S$)

Table3 The effect of Yellow Wine with the Seeds of Job's Tears beverage on intestinal microbes in mice ($\bar{x} \pm S$)

Group	n	细菌总数($\times 10^7$ cfu/g)	大肠杆菌($\times 10^5$ cfu/g)	真菌($\times 10^2$ cfu/g)	乳酸菌($\times 10^4$ cfu/g)
		Total number of bacteria	<i>E. coli</i>	Fungi	<i>Lactobacillus</i>
给药组	3	776.67± 32.63 ^{AB}	12191.67± 789.12 ^{AB}	96.67± 6.81 ^{ab}	1934.17± 13.77 ^{AB}
The treated group					
模型组	3	26.88± 2.55 ^a	57.50± 21.07 ^a	225.63± 15.44 ^b	338.13± 11.25
The model group					
对照组	3	14.37± 1.04	100.57± 12.47	116.09± 4.34	250.00± 10.77
The control group					

注 a 与对照组相比 (P <0.05) A 与对照组相比 (P <0.01) b 与模型组相比 (P <0.05), B 与模型组相比 (P <0.01)。

Note: a Compared with the control group (P <0.05), A Compared with the control group (P <0.01)

b Compared with The model group (P <0.05), B Compared with The model group (P <0.01)

外,开发了黑米黄酒、荞麦黄酒、薯干黄酒、青稞黄酒等,薏米黄酒就是新型黄酒中的典型代表。脾脏是重要的外周免疫器官,外界物质刺激可使其内的免疫细胞增殖,从而使脾脏指数增高,本实验给药组和模型组小鼠的脾脏系数增高,可能与造模有关,为注射环磷酰胺影响,胸腺是中枢免疫器官,给药组的胸腺系数均高于模型组和对照组,模型组低于对照组,说明造模使胸腺系数降低,而薏米黄酒能纠正此影响,提高胸腺指数增强机体的免疫活性。这与薏米中丰富的蛋白质、脂肪、碳水化合物、多糖以及维生素等物质有一定的关系^[8,9]。

肠道中有大量的正常菌群寄居,这些正常菌群在维护机体的免疫和消化吸收功能方面起着积极的作用。本实验给药组细菌总数、大肠杆菌数和乳酸菌数明显增高,真菌数降低。乳酸菌是肠道内主要益生菌,能将碳水化合物发酵成乳酸,促进营养的吸收,并 pH 值降低能抑制致病菌的生长,减少有害物质的产生,改善肠道功能,大肠杆菌是肠道条件致病菌,能与肠道其他细菌相互作用维持肠道内环境的微生态平衡,有报道乳酸菌对大肠杆菌有拮抗作用^[10,11],本实验结果是乳酸菌与大肠杆菌数均增高,可能与不同肠段的解剖结构不同,其细菌组成的比例各不相同有关^[12]。真菌是肠道内的致病菌或条件致病菌,其数量的减少有利于机体的健康,其原因可能与黄酒用酒曲酿制的过程有关,有研究表明:多糖进入肠道后能被肠道有益菌利用,促进有益微生物的生长,从而改善肠道微生物区系^[13],Troy EB 等^[14]通过研究发现,多糖不仅能够促进机体肠道有益菌群的生长,还能够激活 T 细胞依赖的免疫反应,调节免疫系统,起到免疫促进的作用。此外黄酒中含有较高的功能性低聚糖,具

有显著的双歧杆菌增殖功能,能改善肠道的微生态环境,促进 B 族维生素的合成和 Ca、Mg、Fe 等矿物质的吸收,提高机体新陈代谢水平,提高免疫力和抗病力,能分解肠内毒素及致癌物质,预防各种慢性病及癌症,降低血清中胆固醇及血脂水平^[15]。本实验结果表明该薏米黄酒对机体的免疫活性和肠道功能有一定的促进作用,为日常饮用保健佳品。

参考文献 (References)

[1] 邵秋莲.黄酒的药用价值[J].中国食物与营养,2007,10:457-458
Shao Qiu-lian.The medicinal value of Yellow wine [J].Food and Nutrition in China,2007,10:457-458

[2] 王星玉.黄酒[J].食品科技,1992,1:42-43,40
WANG Xing-yu. Yellow Wine [J]. Food science and technology, 1992,1:42-43,40

[3] 郑校先,李艳,徐维菲等.黄酒的抗氧化活性研究[J].酿酒科技,2009,10(184):57-59
Zheng Xiao-xian,Li Yan,Xu Wei-fei 等 .Research on the Antioxidation of Yellow Rice Wine [J].Liquor-making science & technology,2009,10(184):57-59

[4] 刘月好.薏米的营养及其在食品中的开发应用[J].食品科技,2003,(9):47-49
Liu Yue-hao.The nutrition value of seed of jobs tears and its application in the food industry [J].Food Science and Technology, 2003,(9):47-49

[5] 《免疫学实验》第一版.林清华编,武汉大学出版社,1999
《Immunology experiment》First edition. Lin Qing-hua.Edited,Wuhan University Press,1999

(下转到第 2257 页)

果一致,充分说明白藜芦醇通过调节 PCNA 的表达,促进细胞 DNA 复制,进而推动细胞进程。

由此可见,白藜芦醇对 MCF-7 细胞具有双相调节作用,表现出植物雌激素的特性,且作为天然中草药提取物,具有一定的开发前景。

参考文献(References)

- [1] Adlercreutz H. Phytoestrogens and breast cancer[J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2002, 83(1-5): 113-118
- [2] Al-Azzawi F, Wahab M. Effectiveness of phytoestrogens in climacteric medicine[J]. Ann N Y Acad Sci, 2010, 1205(9): 262-267
- [3] Sassarini J, Lumsden MA. Hot flushes: are there effective alternatives to estrogen?[J]. Menopause Int, 2010, 16(2): 81-88
- [4] 孟庆书,何平,朱晓燕等.植物雌激素的作用机制[J].生命的化学, 2007, 27(2):141-143
Meng Qing-shu, He Ping, Zhu Xiao-yan, et al. The Mechanism of phytoestrogen[J]. Chem Life, 2007, 27(2): 141-143(In Chinese)
- [5] Madsen S. Phytoestrogens and menopausal symptoms [J]. Tidsskr Nor Laegeforen, 2009, 129(21): 2238-2239
- [6] Lewiecki EM. Phytoestrogens and their role in the management of postmenopausal osteoporosis [J]. South Med J, 2009, 102 (1): 111-112
- [7] 高碌春,张金超,陈瑶.植物雌激素的化学分类和药理作用[J].国外医药, 2006, 21(6):231-237
Gao Lu-chun, Zhang Jin-chao, Chen Yao. Chemical Classification and Pharmacologic Action of Phytoestrogens [J]. Foreign Med Sci, 2006, 21(6): 231-237(In Chinese)
- [8] Kumar A, Kaundal RK, Iyer S, et al. Effects of resveratrol on nerve functions, oxidative stress and DNA fragmentation in experimental diabetic neuropathy[J]. Life Sci, 2007, 80(13): 1236-1244
- [9] Yoshida Y, Shioi T, Izumi T. Resveratrol ameliorates experimental

autoimmune myocarditis[J]. Circ J, 2007, 71(3): 397-404

- [10] Vetvicka V, Volny T, Saraswat-Ohri S, et al. Glucan and resveratrol complex--possible synergistic effects on immune system [J]. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub, 2007, 151(1): 41-46
- [11] Wang WW, Smith ED, Stuff J E, et al. Cholesterol-lowering effects of soy protein in normcholesterolemic and hypercholesterolemic men [J]. Am J Clin, 1998, 68(9):1385
- [12] Oseni T, Patel R, Pyle J, Selective estrogen receptor modulators and phytoestrogens[J]. Planta Med, 2008, 74(13): 1656-1665
- [13] Turner JV, Agatonovic-Kustrin S, Glass BD. Molecular aspects of phytoestrogen selective binding at estrogen receptors [J]. J Pharm Sci, 2007, 96(8): 1879-1885
- [14] Valachovicova T, Slivova V, Sliva D. Cellular and physiological effects of soy flavonoids [J]. Mini Rev Med Chem, 2004, 4 (8): 881-887
- [15] Dervan PA, Magt HM, Carney DN, et al. Proliferating cell nuclear antigen counts in foramlin-fixed paraffin-embedded tissue correlate with Ki-67 in fress tissue[J]. Am J Pathol, 1992, 140(2): 521-530
- [16] Chen T, Li E. Establishment and maintenance of DNA methylation patterns in mammals [J]. Curr Top Microbiol Immunol, 2006, 301: 179-201
- [17] Li GM. Mechanisms and functions of DNA mismatch repair[J]. Cell Res, 2008, 18(1): 85-98
- [18] Lee KY, Myung K. PCNA modifications for regulation of post-replication repair pathways[J]. Mol Cells, 2008, 26(1): 5-11
- [19] Kirik OV, Beznin GV, Korzhevski? DE. Proliferation markers used in histological studies[J]. Morfologiya, 2009, 136(6): 95-100
- [20] Moldovan GL, Pfander B, Jentsch S. PCNA, the maestro of the replication fork[J]. Cell, 2007, 129(4): 665-679

(上接第 2253 页)

- [6] 沈萍,陈向东.微生物学实验第四版.高等教育出版社,2008
Shen Ping,Chen Xiang-dong.《Experiment Microbiology》Fourth Edition. High Education Press,2008
- [7] 凌代文.乳酸细菌分类鉴定及实验方法.中国轻工业出版社,1999
Lin Dai-wen.《Identification and experimental methods of Lactobacillus》.Chinese Light Industry Press,1999
- [8] 王琛,李韬,张宏宇,等.薏米营养保健酒的研制及其甘油三酯的测定[J].酿酒,2008,35(2):75-76
WANG Shen, LI Tao, ZHANG Hong-yu, et al. Development of Coix Lachrymal-jobi Nutritional Health Wine and Determination of Triglyceride[J].Liquor making, 2008,35(2):75-76
- [9] 庄玮婧,吕峰,郑宝东.薏米营养保健功能及开发应用[J].福建轻纺, 2006,11:103-106
ZHUANG Wei-jing, LV Feng, ZHENG Bao-dong. The Nutrition of Seed of Jobs Tears And Its Development And Application [J].Fujian Light Textile, 2006, 11:103-106
- [10] 万荣峰,江善祥.3株乳酸菌体外拮抗致病性大肠杆菌试验[J].畜牧与兽医,2007,39(3):50-52
Wan Rong-feng,Jiang Shan-xiang. The Antagnism of 3 strains of lactic acid bacteria and Pathogenic Escherichia coli in Vitro [J].

Animal Husbandry & Veterinary Medicine,2007,39(3):50-52

- [11] 李南薇,李宁.乳酸菌代谢产物对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌抑制作用的研究[J].中国酿造,2009,(5):49-52
Li Nan-wei,LI Ning. Inhibitory effects of Lactobacillus metabolites on Escherichia coli and Staphylococcus aureus [J]. China Brewing,2009, (5):49-52
- [12] 范薇.实验小鼠肠道正常菌群[J].中国比较医学杂志,2004,4(1): 58-60
Fan Wei.Normal intestinal Microfolora of mice[J].Chinese Journal of comparative Medicine,2004,4(1):58-60
- [13] Kohmoto T, Fukui F, Takaku H, et al. Dose - response test of isomaltooligosaccharides for increasing fecal bifidobacteria [J]. Agricultural and Biological Chemistry,1991,55(6): 2157 -2159
- [14] Troy EB, Kasper DL. Beneficial effects of Bacteroides fragilis polysaccharides on the immune system [J]. Frontiers in Bioscience, 2009,15(1): 25-34
- [15] 谢广发,戴军,赵光鳌,等.酒中的功能性低聚糖及其功能[J].中国酿造,2005(2): 39-40
Xie Guang-fa,Dai Jun,Zhao Guang-ao, et al. Functional oligosaccharides in rice wine and its health function[J]. CHINA BREWING,2005 (2): 39-40