

江西野桂花蜂蜜对动物免疫力及降血脂功能的影响

张丽珍 颜伟玉 王子龙 曾志将*

(江西农业大学蜜蜂研究所 南昌 330045)

摘要 探讨野桂花蜂蜜对小鼠免疫力及大鼠降血脂功能的影响。设计高、中、低 3 个剂量组,对雌性小鼠、雄性大鼠每天灌胃野桂花蜂蜜。对照组给予同量的超纯水。每周同一时间观察和称重。41 d 后分别检测小鼠的体重、脏器比重、脾淋巴细胞转化及 NK 细胞活性以及大鼠的体重、食物利用率、血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)及高密度脂蛋白(HDL-C)。试验结果表明:高剂量组[8 400 mg/(kg bw·d)]的小鼠 NK 细胞活性显著高于对照组($P<0.05$),而体重、脏器比重及脾淋巴细胞转化各剂量组均无显著差异($P>0.05$)。高剂量组、中剂量组及低剂量组与对照组相比,大鼠血清 TC、TG 均有所下降,且差异不显著;体重、食物利用率及 HDL-C 也无显著差异。

关键词 野桂花蜂蜜; 雌性小鼠; 雄性大鼠; 免疫力; 降血脂功能

文章编号 1009-7848(2013)04-0028-05

蜂蜜是工蜂采集植物的花蜜或分泌物,经过充分酿造而贮藏在巢脾内的甜物质^[1]。据记载有“安五脏,益气补中,止痛解毒,除众病,和白药,久服轻身延年”的功效^[2]。现代研究表明,蜂蜜具有多种医疗功效,如 Gheldof 等发现蜂蜜中的酚类化合物具有一定的抗氧化能力^[3];Hamzaoglu 等报道,蜂蜜能使植入大鼠的肿瘤细胞明显下降,可以防止肿瘤细胞扩增^[4];蜂蜜还可以增加机体免疫能力,肿瘤患者服用蜂蜜制剂后,血清中 IgG 水平与对照组相比明显提高^[5]。

野桂花属于于山茶科、柃属(*Eurya* spp.),又名山桂,广泛分布在江西铜鼓、分宜、修水、吉安、遂川、赣州、上饶、萍乡等山区,是江西省一种富有特色且重要的蜜源植物^[6-8]。野桂花蜂蜜呈水白透明,结晶洁白,颗粒很细。质地纯净,味极清香,色味具佳,属于特等蜂蜜,被称为“蜜中之王”,具有很好的经济效益。

目前,对野桂花蜂蜜的特殊功能及作用机制尚未深入的研究。本文依照《保健食品检验与评价技术规范》,研究江西野桂花蜂蜜对雌性小鼠免疫力及雄性大鼠降血脂功能的影响,为深入开发与

利用野桂花蜂蜜资源提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 实验动物 ICR 小鼠 56 只,雌性,SPF 级,体重 20.8~25.6 g;SD 大鼠 48 只,雄性,SPF 级,体重 189~217 g,湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供。

1.1.2 剂量与分组 免疫力实验小鼠按体重随机分组。设 3 个剂量组和 1 个阴性对照组,每组 14 只。以人体推荐量 25g/人/d 的 10 倍为中间剂量组,各组剂量如下:高剂量组 8 400 mg/(kg bw·d),中剂量组 4 200 mg/(kg bw·d),低剂量组 2 100 mg/(kg bw·d)。对照组在喂饲相同饲料的同时,经口给予同量的超纯水。

降血脂实验设 3 个剂量组和 1 个阴性对照组,根据血清总胆固醇 TC 值随机分组,每组 12 只,以人体推荐量 25g/人/d 的 5 倍为中间剂量组,各组剂量如下:高剂量组 4 200 mg/(kg bw·d)、中剂量组 2 100 mg/(kg bw·d)、低剂量组 1 050 mg/(kg bw·d)。对照组在喂饲相同饲料的同时,经口给予同量的超纯水。

1.1.3 主要材料与仪器 NK 细胞活性测定靶细胞:YAC-1 细胞,由中国科学院上海细胞生物研究所提供。培养液:1640 培养基(北京 Solarbio 生

收稿日期:2012-04-25

基金项目:江西省主要学科学术和技术带头人培养计划

作者简介:张丽珍,女,1982 年出生,硕士

通信作者:曾志将

物技术)、四季青胎牛血清。LDH 基质液:0.2 mol/L Tris-HCl 缓冲液中含以下终浓度物质:乳酸锂 5×10^{-2} mol/L、硝基氯化四氮唑 6.6×10^{-4} mol/L、吩嗪二甲酯硫酸盐 2.8×10^{-4} mol/L、氧化型辅酶 1.3×10^{-3} mol/L,临用前配制。MTT、ConA 均由 Solarbio 公司生产。灭菌饲料由北京科澳协力饲料有限公司提供。

主要仪器:细胞培养箱、酶标仪、显微镜、低温离心机等。

1.2 实验方法

1.2.1 给药途径 免疫力和降血脂实验:各剂量组每天经口给予受试样品 1 次,灌胃量 0.2 mL/10 g bw,受试样品时间 41 d。对照组给予同量的超纯水。

1.2.2 日常观察 每日观察小鼠和大鼠的活动、进食及饮水情况。每周称量体重。

1.2.3 脾淋巴细胞转化实验 将制备好的脾细胞悬液调整为 3×10^8 个/mL,将每份细胞悬液加入 24 孔培养板中,每孔 1 mL,加 2 孔。每份细胞悬液的 1 个孔中加入 75 μ L CofIA 液(终质量浓度 7.5 μ g/mL),另一孔为对照。置 5% CO_2 、37 $^\circ\text{C}$ 细胞培养箱中培养 68 h。每孔轻轻吸去上清液 0.7 mL,加入同量不含小牛血清的细胞培养液,同时加入 50 μ L MTT(5mg/mL),继续培养 4 h。72 h 培养结束后,每孔加入 1 mL 酸性异丙醇,吹打混匀,溶解紫色结晶。将反应后的每孔溶液分 3 个平行样加入 96 孔板中,用酶标仪在波长 570 nm 处测定光密度值(OD)。以加 ConA 孔 OD 值减去不加 ConA 孔 OD 值差值代表增殖反应强弱。

1.2.4 NK 细胞活性测定 取靶细胞和效应细胞

各 100 μ L(效靶比 50:1),加入 96 孔板,即:靶细胞自然释放孔加靶细胞和培养液各 100 μ L,靶细胞最大释放孔加靶细胞和 2.5% Triton 各 100 μ L。各设 3 个平行孔,于 5% CO_2 、37 $^\circ\text{C}$ 细胞培养箱中培养 4 h。将 96 孔板以 1 500 r/min 离心 5 min,每孔吸取上清 100 μ L,置另一 96 孔板中,同时加入 LDH 基质液 100 μ L,反应 8 min,每孔加入 30 μ L 1 mol/L HCL 中止反应,用酶标仪在波长 490 nm 处测定光密度值(OD)。

NK 细胞活性 = $\frac{\text{反应孔 OD} - \text{自然释放孔 OD}}{\text{最大释放孔 OD} - \text{自然释放孔 OD}} \times 100\%$

1.2.5 降血脂功能实验 试验结束前 16 h 禁食,处死前称大鼠体重并取腹股动脉血测定血清 TC, TG, HDL-C 水平。

1.3 数据分析

用 Dunnett t(2-sided) 统计方法,3 个剂量组个指标均数均与对照组的均数进行两两比较,检验统计学差异。

1.4 检测单位

委托江西省职业病防治研究院检测。

2 结果

2.1 小鼠周平均体重变化

日常观察记录,试验期间,各组动物生长情况良好,无异常行为。试验中,对照组死亡 1 只,经尸检未见器质性病变,可能是灌胃等实验操作所致。由表 1 可知,各组小鼠体重稳步增长,经统计,各周及处死前空腹体重(终体重)在组间均无显著性差异($P > 0.05$)。

表 1 小鼠平均体重变化

Table 1 The changing results of the average body weights of mouse

组别	初体重/g	第 1 周体重/g	第 2 周体重/g	第 3 周体重/g	第 4 周体重/g	第 5 周体重/g	终体重/g
对照组	23.05	25.62	27.27	28.40	29.76	29.54	28.41
低剂量组	22.79	25.09	26.75	27.48	29.31	30.06	27.51
中剂量组	23.01	25.56	26.76	27.55	28.81	29.78	27.29
高剂量组	22.82	25.57	26.34	27.44	29.28	29.34	27.51

2.2 小鼠主要脏器比重

统计表 2 中数据,3 个试验组和对照组的小

鼠胸腺体重比和脾脏体重比都差异不显著。

表2 小鼠主要脏器比重

Table 2 The results of the main organ proportion of mouse

组别	动物数/只	胸腺体重比	脾脏体重比
对照组	13	2.68 ± 0.68	3.36 ± 0.81
低剂量组	14	2.85 ± 0.60	3.39 ± 0.73
中剂量组	14	2.43 ± 0.51	3.35 ± 0.75
高剂量组	14	2.75 ± 0.59	3.64 ± 0.92

2.3 小鼠脾淋巴细胞转化

本试验过程中低剂量组 1 个样本被污染。高、中、低剂量组各 1 个样本,在细胞计数时细胞存活

率小于 95%。各剂量组剩余样本量均在 10~15 只之间,符合实验样本数要求。从表 3 可见,各剂量组的均值均高于对照组,但与对照组比较均无统计学意义($P>0.05$)。

2.4 小鼠 NK 细胞活性

本试验过程中低剂量组 3 个样本、中剂量组 2 个样本和高剂量组 1 个样本,在细胞计数时细胞存活率小于 95%,各剂量组剩余样本量均在 10~15 之间,符合实验样本数要求。由表 4 可知,各剂量组 NK 活性值都高于对照组,且呈线性升高趋势。高剂量组与对照组比较具有显著性差异($P<0.05$)。

表3 小鼠淋巴细胞增殖活性(OD)差值

Table 3 The OD difference of lymphocyte proliferation activity of mouse

组别	样本数	OD 差值	P 值
对照组	13	0.0113 ± 0.0043	-
低剂量组	12	0.0141 ± 0.0051	0.231
中剂量组	13	0.0136 ± 0.0034	0.37
高剂量组	13	0.0137 ± 0.0041	0.329

表4 小鼠 NK 细胞活性

Table 4 The NK cell activity of mouse

组别	样本数	NK 细胞活性	P 值
对照组	13	50.01 ± 18.77	-
低剂量组	11	54.35 ± 15.80	0.849
中剂量组	12	61.85 ± 14.43	0.172
高剂量组	13	66.22 ± 14.3	0.035*

2.5 大鼠周平均体重变化

试验期间,各组动物生长情况良好,无异常行为。中剂量组及高剂量组各死亡 1 只大鼠,经尸检未见器质性病变,可能为灌胃操作所致。

由表 5 可知,各组大鼠体重稳步增长,统计表明:每周平均体重均无显著性组间差异($P>0.05$)。试验终止前,禁食后各组间大鼠平均体重(终体重)比较,也无显著性差异($P>0.05$)。

表5 大鼠周平均体重

Table 5 The average body weights of rats in every week

组别	初体重/g	第 1 周体重/g	第 2 周体重/g	第 3 周体重/g	第 4 周体重/g	第 5 周体重/g	终体重/g
对照组	205.00	248.50	281.33	323.17	346.33	376.50	370.58
低剂量组	204.67	250.50	291.92	318.67	325.92	376.08	370.33
中剂量组	201.00	248.42	295.67	325.67	333.75	386.75	383.09
高剂量组	203.08	243.67	290.25	314.83	322.73	385.00	376.27

2.6 大鼠食物利用率

表 6 可知,各组食物利用率中、高剂量组高于对照组,低剂量组低于对照组,但差别不大。

2.7 大鼠血清总胆固醇 TC、甘油三酯 TG 及高密度脂蛋白 HDL-C

由表 7 可知,对照组血清总胆固醇值在试验

结束后(终 TC)较试验分组时(初 TC)明显提高,具有显著性差异($P < 0.05$),表明本次试验造模成功。试验结束时各剂量组与对照组比较总胆固醇及血清甘油三酯均有所降低,但未见显著性差异

($P > 0.05$)。实验结束后各剂量组的高密度脂蛋白呈线性上升趋势,与对照组相比,无显著性差异($P > 0.05$)。

表 6 大鼠食物利用率

Table 6 The utilization ratio of food of rats

组别	体重/g·组 ⁻¹			饲料消耗量/ g·组 ⁻¹	食物利用率/%
	始重	终重	增重		
对照组	2 460	4 447	1 987	9 944	19.98
低剂量组	2 456	4 444	1 988	10 033	19.81
中剂量组	2 412	4 530	2 118	10 032	21.11
高剂量组	2 437	4 455	2 018	9 724	20.75

表 7 大鼠血清 TC、TG 及 HDL-C 浓度

Table 7 The concentration of serum TC, TG and HDL-C of rats

组别	样本数	TC/mmol·L ⁻¹		TG/mmol·L ⁻¹	HDL-C/mmol·L ⁻¹
		初	终		
对照组	12	1.66 ± 0.28	3.30 ± 1.30*	0.61 ± 0.36	1.42 ± 0.3
低剂量组	12	1.64 ± 0.16	2.97 ± 0.99	0.57 ± 0.20	1.36 ± 0.25
中剂量组	11	1.65 ± 0.23	3.06 ± 0.61	0.46 ± 0.21	1.52 ± 0.19
高剂量组	11	1.67 ± 0.23	2.76 ± 0.84	0.52 ± 0.14	1.58 ± 0.16

3 讨论

人体免疫力下降可导致多种疾病的发生。利用天然产物中的活性物质增强免疫力,是人类所希望的途径。本研究通过检测小鼠 NK 细胞活性和脾淋巴细胞转化来判断野桂花蜂蜜增强免疫力功能。

NK 细胞(Natural Killer Cell)是一种杀伤细胞,具有抗肿瘤、抗感染作用,参与自身免疫过程,NK 细胞活性高低代表了免疫力强弱。本试验中高剂量组 [8 400 mg/(kg bw·d)]NK 细胞活性显著高于对照组,说明野桂花蜂蜜对小鼠有提高免疫力效果。各剂量组脾淋巴细胞增殖活性(OD)与对照组差异不显著,分析其原因,可能是实验剂量偏低,具体机理待查。

高血脂的发生与机体血清中高胆固醇含量和脂质过氧化的损伤有关。当机体氧化系统和抗氧化系统失去平衡时,就会产生大量的自由基,形成过氧化物损伤血管内皮细胞,导致胆固醇的堆积,形成早期的高血脂^[9]。本研究表明野桂花蜂蜜高、中及低剂量组与对照组相比,大鼠总胆固醇及血清甘油三酯均有所降低,但差异不显著。这表明野桂花蜂蜜可以预防高血脂的发生,可能是由于野桂花蜂蜜含有丰富的酚类化合物,而蜂蜜中的酚类化合物有抗氧化能力,能消除阴离子自由基、亚硝酸盐自由基、脂质过氧化自由基等^[10],进而降低胆固醇的堆积;也可能由于野桂花蜂蜜中的丰富维生素,促进了肝脏的脂肪代谢,从而防止胆固醇沉淀在血管壁上^[11]。

参 考 文 献

- [1] 曾志将. 养蜂学[M]. 2 版. 北京:中国农业出版社, 2009: 146.
- [2] 李莉颖. 蜂蜜-天然的健康佳品[J]. 绿色中国, 2007, (10): 21-23.

- [3] Gheldof N, Engeseth NJ. Antioxidant capacity of honeys from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of in vitro lipoprotein oxidation in human serum samples[J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2002, 50: 3050-3055.
- [4] Hamzaoglu I, Saribeyoglu K, Durak H, et al. Protective covering of surgical wounds with honey impedes tumor implantation[J]. Archives of Surgery, 2000, 135(12): 1414-1417.
- [5] 王金庸. 中貽蜂疗学[M]. 沈阳:沈阳出版社, 1997: 151.
- [6] 徐万林. 中国蜜粉源植物[M]. 哈尔滨:黑龙江科学技术出版社, 1992: 121.
- [7] 陈盛祿. 中国蜜蜂学[M]. 北京:中国农业出版社, 2001: 253.
- [8] 柯贤港. 蜜粉源植物学[M]. 北京:中国农业出版社, 1998: 199.
- [9] 严建刚, 张名位, 杨公明, 等. 芹菜提取物的降血脂与抗氧化作用的研究[J]. 中国食品学报, 2005, 5(3): 1-4.
- [10] 穆雪峰, 徐响, 孙丽萍, 等. 蜂蜜中酚类物质及其抗氧化活性研究进展[J]. 食品科学, 2011, 32(21): 278-282.
- [11] 王以真. 蜜蜂的降血脂作用[EB/OL]. (2008-10-31)[2012-3-7]. http://blog.sina.com.cn/s/blog_5d241de90100bb5z.html.

Effect of Honey *Eurya Spp.* in Jiangxi on the Immunity and Cholesterol-lowering Function of Animals

Zhang Lizhen Yan Weiyu Wang Zilong Zeng Zhijiang*

(Honeybee Research Institute, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045)

Abstract The effects of honey *Eurya spp.* on the immunity of mouse and cholesterol-lowering function of rats was explored in this study. Female mouse and male rats were intragastrically administrated daily with honey *Eurya spp.* in the high, low and moderate dosage group, respectively. Saline water was intragastrically administrated with the same dosage in the control group. The observation and weighting was performed on the same time weekly. After 41 days' experiment, the body weight, organ proportion, spleen lymphocyte transformation and the CK cell activity of female mouse, and the body weight, utilization ratio of food, serum total cholesterol (TC), triglyceride (TG) and the high-density lipoprotein (HDL-C) of male rats were detected, respectively. The experimental results showed that the CK cell activity of female mouse detected in the high dosage group [8 400 mg/(kg bw·d)], is significantly higher than the control ($P<0.05$). However, no significant difference is found on the body weight, organ proportion, spleen lymphocyte transformation among these groups ($P>0.05$). Compared with the control group, the serum TC and TG of the male rats in the high, low and moderate dosage groups are all found declined, however, the difference was not significant. Meanwhile, no significant difference is found in the body weight, the utilization of food and HDL-C in this study.

Key words honey *Eurya spp.*; female mouse; male rats; immunity; cholesterol-lowering function

【版权声明】

《中国食品学报》著作权许可声明

本刊已许可中国学术期刊(光盘版)电子杂志社在中国知网及其系列数据库产品中以数字化方式复制、汇编、发行、信息网络传播本刊全文。该社著作权使用费与本刊稿酬一并支付。作者向本刊提交文章发表的行为即视为同意我社上述声明。

《中国食品学报》杂志社