

# 黑豆花青素免疫调节作用研究

## Research on Immunoregulatory Function of Anthocyanin from Black Soybean

◎ 曹柏营, 乔新宇, 王媛媛, 曹大妹, 马寒初, 刘月

(吉林工程技术师范学院食品工程学院, 吉林 长春 130052)

CAO Baiying, QIAO Xinyu, WANG Yuanyuan, CAO Damei, MA Hanchu, LIU Yue

(Food Engineering College, Jilin Engineering Normal University, Changchun 130052, China)

**摘要:** 以免疫器官系数、体液免疫功能、巨噬细胞吞噬功能为试验指标, 评价黑豆花青素的免疫调节作用。试验结果表明, 与阴性对照组比较, 黑豆花青素可显著提高小鼠胸腺系数 ( $p < 0.01$ ) 和脾脏系数 ( $p < 0.01$ ), 提高血清抗体水平 ( $p < 0.01$ ), 提高巨噬细胞的吞噬功能 ( $p < 0.01$ ), 并表现出一定的剂量依赖关系, 黑豆花青素具有一定的免疫增强作用。

**关键词:** 黑豆; 花青素; 免疫调节; 体液免疫; 巨噬细胞

**Abstract:** The immunoregulatory function of anthocyanins from black soybean were studied with experimental index of immune organs weight coefficient, humoral immune function and macrophagous phagocytosis. The results were as follows, the thymus and spleen coefficient of mice was significantly increased ( $p < 0.01$ ), the antibody levels in serum was increased ( $p < 0.01$ ), the phagocytic function of macrophages were improved ( $p < 0.01$ ). It showed good dose-dependent relationship. The anthocyanins from black soybean could strengthen the immune function.

**Keywords:** black soybean; anthocyanin; immune regulation; humoral immunity; macrophages

中图分类号: TS264.4

免疫系统是机体抵抗疾病的一道重要防线, 研究表明, 免疫力低下与衰老、肥胖、肿瘤等疾病的发生呈现出一定的关联性, 越来越多的人开始重视机体免疫功能的调节<sup>[1]</sup>, 因此, 天然的免疫调节剂成为研究的热点。

植物源花青素因其结构中带有多个羟基而具有较强的抗氧化、抗肿瘤和免疫调节活性, 植物源花青素是天然免疫调节剂的重要来源<sup>[2]</sup>。潘利华等验证了蓝莓花青素的免疫调节活性<sup>[3]</sup>。但关于黑豆花青素免疫活性的研究较少。

本文探讨了黑豆花青素对正常小鼠的免疫调节作

用, 从动物水平评价黑豆花青素的生物活性, 为黑豆资源的综合利用及黑豆花青素在食品领域更广泛的应用提供重要的理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

#### 1.1.1 材料

选取乌皮青仁豆(农贸市场购买), 取黑豆皮, 粉碎过筛(60目)备用。

#### 1.1.2 试剂与仪器

BK-400全自动生化分析仪; 济南鑫贝西生物

**基金项目:** 吉林省教育厅“十三五”科学技术项目“黑豆花青素提取、结构鉴定及生物活性研究”(编号: JJKH20190771KJ)。

**作者简介:** 曹柏营(1979—), 男, 博士, 副教授; 研究方向为保健食品研究与开发。

技术有限公司; SPECTRA MAX 190 酶标仪: 美国 Molecular Devices 公司; LRH-70 型生化培养箱: 上海一恒科学仪器有限公司。

昆明小鼠(合格证号: SCXK(辽)2015-003): 辽宁长生生物技术有限公司; 绵羊红细胞, Hank's 液, 牛血清白蛋白, 鸡红细胞: 郑州百基生物科技有限公司。

### 1.2 黑豆花青素的提取工艺

黑豆花青素的提取工艺条件为: 料液比(60% (v/v) 乙醇水溶液) 1:15, 提取温度 60 °C, 时间 3 h, 2 次回流提取, 冷冻干燥备用(花青素 28.14%)<sup>[4]</sup>。

### 1.3 黑豆花青素的精制工艺

黑豆花青素的精制工艺条件为: 吸附条件: 上样液浓度 2 mg·mL<sup>-1</sup>, pH3.0, 体积 15 mL; 解吸条件: 60% 乙醇水溶液(pH4.0), 流速 1.5 mL·min<sup>-1</sup>, 冷冻干燥备用(花青素 84.92%)<sup>[5]</sup>。

### 1.4 动物试验

#### 1.4.1 分组与给药

4 周龄昆明小鼠(18~22 g) 120 只(雌雄各半), 适应饲喂 1 周后, 随机分成 4 组, 即阴性对照组(生理盐水 100 mg·kg<sup>-1</sup>)、黑豆花青素高剂量组(200 mg·kg<sup>-1</sup>)、中剂量组(100 mg·kg<sup>-1</sup>)和低剂量组(50 mg·kg<sup>-1</sup>), 每天灌胃给药 1 次, 小鼠自由采食、饮水, 试验周期为 30 d。

#### 1.4.2 小鼠免疫器官系数的测定

试验结束前 1 d 晚上禁食不禁水, 称重后采血(摘眼球法)处死(颈椎脱臼法)小鼠, 解剖小鼠, 取脾脏和胸腺, 以滤纸吸干血液, 生理盐水清洗后吸干水分, 称重, 按式(1)计算小鼠免疫器官系数。

$$\text{胸腺/脾脏系数} = \frac{\text{胸腺/脾脏重量 (g)}}{\text{小鼠体重 (g)}} \times 100\% \quad (1)$$

#### 1.4.3 腹腔巨噬细胞吞噬能力测定

吞噬能力按郝云涛等<sup>[6]</sup>方法测定, 吞噬率按式(2)计算。

$$\text{吞噬率} = \frac{\text{吞噬鸡红细胞数}}{\text{巨噬细胞总数}} \times 100\% \quad (2)$$

#### 1.4.4 血清溶血素的测定

血清溶血素按陈致羽<sup>[7]</sup>的方法测定并记录血球凝集程度, 计算抗体水平。

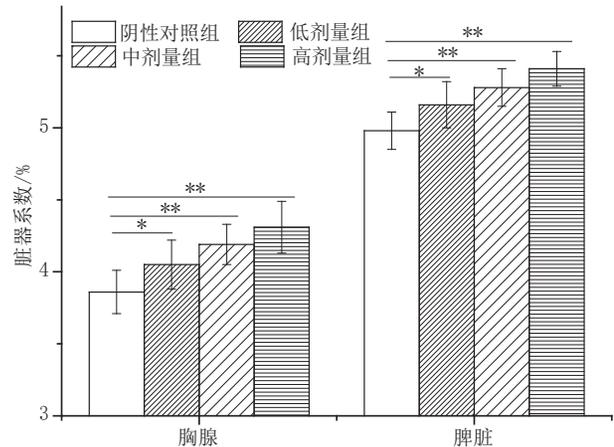
### 1.5 数据处理

试验数据记录为  $\bar{x} \pm s$ , 以 SPSS 19.0 软件进行差异显著性分析, 以 Origin 8.5 软件进行图形绘制。

## 2 结果与分析

### 2.1 黑豆花青素对小鼠免疫器官系数的影响

由图 1 可知, 与阴性对照组比较, 黑豆花青素中、高剂量组的胸腺系数和脾脏系数都极显著增加( $p < 0.01$ ), 低剂量组显著增加( $p < 0.05$ )。黑豆花青素可提高小鼠的胸腺系数和脾脏系数, 促进小鼠免疫器官的发育, 提高小鼠的免疫力。

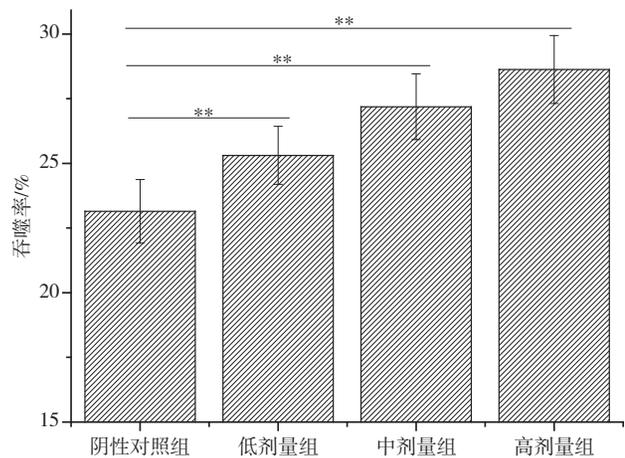


注: 与阴性对照组 \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ 。

图 1 黑豆花青素对小鼠免疫器官系数的影响图

### 2.2 黑豆花青素对巨噬细胞吞噬能力的影响

由图 2 可知, 与阴性对照组比较, 黑豆花青素低、中、高剂量组可极显著提高小鼠巨噬细胞吞噬鸡红细胞的能力( $p < 0.01$ )。黑豆花青素可提高小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬能力, 增强小鼠的免疫力。



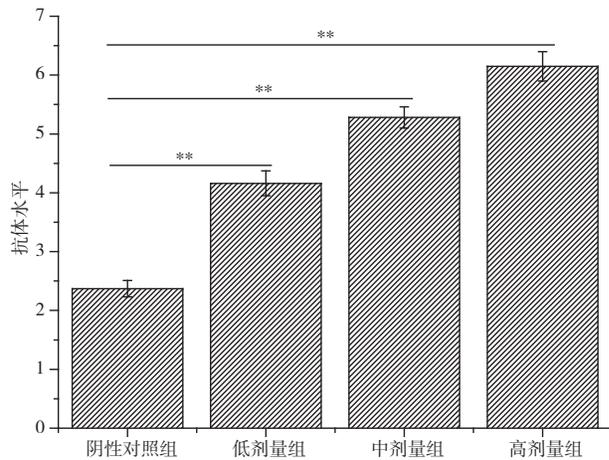
注: 与阴性对照组 \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ 。

图 2 黑豆花青素对巨噬细胞吞噬率的影响图

### 2.3 黑豆花青素对血清溶血素的影响

由图 3 可知, 与阴性对照组比较, 黑豆花青素低、中、高剂量组可极显著提高小鼠血清抗体水平

( $p < 0.01$ )。黑豆花青素提高小鼠的体液免疫活性增强小鼠的免疫力。



注：与阴性对照组 \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ 。

图3 黑豆花青素对血清血溶素的影响图

### 3 结论

本文探讨了精制黑豆花青素对小鼠的免疫调节作用。试验结果表明，黑豆花青素可显著提高小鼠的胸腺系数和脾脏系数 ( $p < 0.01$ )，提高小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬能力 ( $p < 0.01$ )，提高小鼠血清抗体水平 ( $p < 0.01$ )，根据《保健食品检验与评价技术规范(2003版)》中增强免疫力保健食品判断标准，黑豆花青素具备2项(体液免疫功能和单核-巨噬细胞功能)指标阳性，因此，黑豆花青素具有增强免疫力作用。

### 参考文献：

- [1]Chalamaiah M, Hemalatha R, Jyothirmayi T, et al. Chemical composition and immunomodulatory effects of enzymatic protein hydrolysates from common carp (*Cyprinus carpio*) egg[J]. Nutrition, 2015, 31 (2) : 388-398.
- [2]Migliorini A A, Piroski C S, Daniel T G, et al. Red Chicory (*Cichorium intybus*) Extract Rich in Anthocyanins: Chemical Stability, Antioxidant Activity, and Antiproliferative Activity In Vitro[J]. Journal of Food Science, 2019, 84 (5) : 990-1001.
- [3]潘利华, 王建飞, 叶兴乾, 等. 蓝莓花青素的提取工艺及其免疫调节活性[J]. 食品科学, 2014, 35 (2) : 81-86.
- [4]曹柏营, 张雅婷, 孙睿彤, 等. 黑豆花青素提取及抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(6) : 94-99.
- [5]高秀娥, 梁雪晴, 刘薇, 等. 黑豆花青素精制及降血糖活性研究[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(16) : 51-56.
- [6]郝云涛, 珠娜, 刘欣然, 等. 菠萝蜜低聚肽的免疫调节作用研究[J]. 食品工业科技, 2020, 41 (7) : 284-288, 294.
- [7]陈致羽, 管昭巍, 王家镇, 等. 桂皮姜糖饮的开发及对小鼠免疫调节作用的研究[J]. 食品工业科技, 2020, 41 (18) : 135-142.

(上接第170页)

格的质量控制，同时选择有代表性的检出样品送国家指定的食品复检机构进行比对和确证，全部比对结果均显示良好的一致性<sup>[1-2]</sup>。

从抽检结果分析来看，本次共抽检272样次、1957项次中，检出不合格5样次、5项次，样品和项目合格率分别达到98.16%和99.74%，可见泉州市网络餐饮服务网食品安全情况总体良好，这得益于泉州市推行的“企业主责、行业自律、社会监督、政府监管”的理念，但仍不能掉以轻心，本次不合格项均出在食品添加剂使用上，因此，应强化食品添加剂的规范使用。①加强对生产经营者的宣传教育，规范生产经营秩序，严厉打击超限量、超范围，非法添加食品添加剂行为。②加强餐饮企业的监督力度，尤其是小型餐饮企业的监督力度，发现和消除安全隐患，规范生产加工行为<sup>[3]</sup>。③从源头上进行把控，将食品安全风险

降至最低。④积极推行食安封签的使用，减少送餐途中滴、撒、漏和人为打开等被污染的概率。⑤继续推行“一品一码”食品安全信息追溯系统，彻查源头。⑥开展专项行动，集中力量打击“两非一超”，查办一批社会影响大、群众反映强烈的案件，在全社会形成高压态势，有效震慑违法犯罪行为。

### 参考文献：

- [1]刘萌, 黄英栋, 何绍萍, 等. 食品监督和抽检的质量控制分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11 (20) : 7622-7627.
- [2]陶庆会, 杨雪, 宋玉洁, 等. 2017~2019年全国食品安全抽检情况分析[J/OL]. 食品工业科技: 1-14[2020-12-01]. <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020070341>.
- [3]林燕芝. 食品安全抽检监测工作的现状及改进措施[J]. 现代食品, 2020 (17) : 68-70.