

# Research of *Monascus* Pigment Feed Additive Effect on Immune Function of Mice

Chao Liu<sup>1</sup>, Wanfeng Liang<sup>1\*</sup>, Zongzhi Zhang<sup>2</sup>, Min Zhang<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Veterinary Medicine, Yanbian University, Yanji

<sup>2</sup>The Bureau of Animal Husbandry in Yanji City, Yanji

Email: [450823964@qq.com](mailto:450823964@qq.com), \*[liangwf@ybu.edu.cn](mailto:liangwf@ybu.edu.cn)

Received: Sep. 11<sup>th</sup>, 2014; revised: Sep. 19<sup>th</sup>, 2014; accepted: Sep. 24<sup>th</sup>, 2014

Copyright © 2014 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## Abstract

**Objective:** To clarify the effects of *Monascus* on immune properties. **Method:** A 90 d feeding trial was conducted on Kunming mice. Three months after the administration, we have tested conventional indicators, blood parameters, organ coefficient and intraperitoneal injection of chicken erythrocytes phagocytosis on mice. **Result:** The results show no significant difference between conventional indicators of mice, blood parameters and that in the control group, but the immune organs and phagocytic capacity have increased. **Conclusion:** Experiments show that adding a small amount of *Monascus* can improve efficiency of feed utilization; *Monascus* can enhance immunity of mice.

## Keywords

*Monascus*, Mice, Immune Organ, Phagocytic Cells

# 红曲霉素添加剂饲料对小白鼠免疫功能的影响研究

刘 超<sup>1</sup>, 梁晚枫<sup>1\*</sup>, 张宗植<sup>2</sup>, 张 敏<sup>1</sup>

<sup>1</sup>延边大学, 动物医学系, 延吉

<sup>2</sup>延吉市畜牧局, 延吉

Email: [450823964@qq.com](mailto:450823964@qq.com), \*[liangwf@ybu.edu.cn](mailto:liangwf@ybu.edu.cn)

\*通讯作者。

收稿日期：2014年9月11日；修回日期：2014年9月19日；录用日期：2014年9月24日

## 摘要

**目的：**阐明红曲霉素对免疫性能的影响。**方法：**用昆明种小白鼠进行了90d喂养试验。在给药3个月后将小白鼠进行了常规指标、血液指标、脏器系数以及腹腔注射鸡红细胞吞噬试验。**结果：**试验结果表明，小白鼠的常规指标、血液指标与对照组无显著差异，但免疫器官及吞噬细胞能力有所提高。**结论：**实验证明添加少量红曲霉素可以提高饲料利用率，红曲霉素可以增强小白鼠的免疫能力。

## 关键词

红曲霉素，小白鼠，免疫器官，吞噬细胞

## 1. 引言

红曲霉素是用红曲霉菌在大米中培养发酵而成，红曲发酵后可分离到辅酶 Q10，辅酶 Q10 又名癸烯醌，是细胞代谢及细胞呼吸的激活剂，能改善线粒体呼吸功能，促进氧化磷酸化反应。它本身又是细胞自身产生的天然氧化剂，能抑制线粒体的过氧化，有保护生物膜结构完整性的功能。对免疫有非特异的增强作用，能提高吞噬细胞的吞噬率，增加抗体的产生，改善 T 细胞功能[1] [2]。

现在饲料安全的概念在全世界范围内已成为共识，针对抗生素作为饲料添加剂的残留问题，国内外学者进行了深入的研究，期望寻找一种无污染、无残留、多功能的新型促生长剂来代替抗生素[3]。因此，绿色饲料添加剂越来越受人们的青睐，红曲霉素作为将其运用于提升动物免疫力健康生长上必然会推动中药等添加剂在饲料行业上的推广与应用[4] [5]。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 试验材料

#### 2.1.1. 试验动物

供试昆明小白鼠由延边大学医学院实验动物中心提供，引入后准备投入试验。SPF 鸡 4 只，由延边大学医学院实验动物中心提供，于喂养试验结束当天引入备用。

#### 2.1.2. 受试物

红曲霉素、小白鼠基础日粮由延边大学医学院实验动物中心购置。

#### 2.1.3. 试验器材及设备

超净工作台(SW-CJ-IFD 型，上海新苗医疗器械机械制造有限公司)、高压灭菌锅(SX-700 型，日本 TOMY 公司)、高速台式离心机(Z400K 型，SIGMA 公司，德国)、培养箱(DNP-9082135-III型，上海新苗医疗器械机械制造有限公司)、电子天平(FA1104N 型，上海精密科学有限公司)、注射器(1 ml、5 ml)、解剖器械、鼠笼、饮水器、生理盐水、淀粉溶液、5% EDTA、吉姆萨染液、载玻片、显微镜等。

### 2.2. 试验方法

#### 2.2.1. 试验动物的饲养标准

饲料为全价营养饲料，试验组的饲料成分是在标准饲料的基础上添加不同比例的红曲霉素。饲养条

件为室温 20℃~25℃，湿度 30%~50%，动物自由进食及饮水，人工昼夜饲养管理[6]。

### 2.2.2. 90 d 饲养试验[7] [8]

取 18~22 g 小白鼠，每组 40 只，其中雄性 15 只，雌性 25 只，设 2 个剂量组(作为高低剂量组的影响比对试验)、1 个对照组和 1 个空白组。分别在饲料中添加红曲霉素 0.5% (组 1)、1% (组 2)，将添加剂混在基础饲料中连续给药 90 d。对照组饲喂基础饲料(其中不添加任何添加剂)，在水中添加左旋咪唑 0.04 g/250 g (少量激发免疫力)[9]。

### 2.2.3. 观察指标

一般性指标：每天观察小白鼠的一般健康情况，采食、饮水、发病及死亡情况，记录小鼠采食量，每周称量小鼠体重。计算增重、采食量及饲料利用率。

血液以及免疫细胞指标：红白细胞计数、血红蛋白数、淋巴细胞数。

### 2.2.4. 吞噬细胞吞噬能力检查[10]

在饲喂 90 d 时，在测定吞噬细胞试验前 24 h 预先于小白鼠腹腔注射 5% 淀粉溶液 1 ml 后轻柔腹部，以刺激小白鼠腹腔巨噬细胞的渗出。对 SPF 鸡进行无菌采血(1% EDTA)，1:5 生理盐水洗涤备用。采后的全血需进行离心沉淀后取悬液备用。对各组随机抽取 10 只小鼠进行腹腔注射，注入 20% 鸡红细胞悬液 1 ml，轻柔腹部，计时 30 min。再向受试小鼠腹腔内注射生理盐水 1 ml，轻柔腹部，使腹腔液稀释。5 分钟后吸取腹腔液进行涂片，置于 37℃ 恒温箱中 30 min，1:1 丙酮甲醇溶液固定后进行吉姆萨染色，镜检。

### 2.2.5. 脏器系数测定

取肝、脾、胸腺、称重，计算脏器体重比值(脏/体 × 100)。

### 2.2.6. 结果分析

数据用  $\bar{x} \pm s$  表示，统计软件 SPSS 进行分析，组间试验数据显著性差异用单因素方差分析及多组间均数两两比较，量效相关显著性差异用相关性检验分析  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 3. 结果与分析

### 3.1. 小白鼠平均摄食量、日增重量、饲料利用率的测定

在饲料中添加 0.5%、1% 剂量的红曲霉中药合生元饲料饲喂小白鼠 90 d 后，各组动物摄食、饮水、粪便均正常，未出现中毒性临床症状。试验期间，计算各组小白鼠的平均增重、采食量及饲料利用率，结果见表 1。

由表 1 可知，小鼠受试 90 d 后各试验组与对照组之间增重、采食量及饲料利用率差异均不显著( $P > 0.05$ )，各试验组之间差异也不显著( $P > 0.05$ )。与对照组相比，1% 剂量添加组饲料利用率提高了 9.89%。

### 3.2. 小白鼠血液指标分析

在饲料中按 0.5%、1% 剂量加入红曲霉与健胃中药合生素饲喂小鼠 90 d，测定淋巴细胞指标，结果见表 2。

由表 3 可知，小鼠受试 90 d 后，各试验组与对照组之间的红细胞计数、白细胞计数、血红蛋白及淋巴细胞数含量差异不显著( $P > 0.05$ )，各试验组之间差异也不显著( $P > 0.05$ )。

### 3.3. 小白鼠吞噬细胞指标检测

对各组随机抽取的 10 只小鼠进行该试验测定，得表 3。

**Table 1.** The average food intake measurement results in mice average daily gain, feed utilization  
**表 1.** 小白鼠平均摄食量、日增重量、饲料利用率的测定结果

组别	始重/g	末重/g	平均体重/g	采食量/g	饲料利用率/g
空白组	18.75 ± 1.21	48.35 ± 4.48	29.60 ± 5.47	660.83 ± 154.55	4.75 ± 1.62
试验 1 组	19.50 ± 0.91	50.17 ± 6.13	30.67 ± 7.03	601.43 ± 103.42	5.22 ± 1.63
试验 2 组	19.75 ± 1.04	50.74 ± 3.00	30.99 ± 2.63	696.83 ± 111.16	4.52 ± 0.64
对照组	19.13 ± 1.70	49.66 ± 4.36	30.53 ± 4.21	683.55 ± 159.23	4.74 ± 1.73

**Table 2.** Analysis results of blood parameters in mice  
**表 2.** 小白鼠血液指标分析结果

组别	红细胞数(RBC) × 10 <sup>12</sup> /L	白细胞数(WBC) × 10 <sup>9</sup> /L	血红蛋白(HGB) g/L	淋巴细胞数(LYM) × 10 <sup>9</sup> /L
空白组	9.33 ± 0.75	10.27 ± 0.40	149.33 ± 6.66	2.00 ± 0.26
试验 1 组	9.90 ± 0.20	10.23 ± 0.31	147.33 ± 8.50	2.07 ± 0.23
试验 2 组	9.49 ± 0.78	10.27 ± 0.50	145.67 ± 3.06	2.07 ± 0.49
对照组	9.57 ± 0.55	10.07 ± 0.15	147.00 ± 6.56	1.77 ± 0.67

**Table 3.** Phagocytic index test results in mice  
**表 3.** 小白鼠吞噬细胞指标检测结果

组别	吞噬百分率	吞噬指数
空白组	37.86 ± 2.76	72.59 ± 5.00
实验 1 组	45.36 ± 1.12	89.26 ± 6.55
实验 2 组	42.38 ± 1.98	85.46 ± 7.99
对照组	39.75 ± 2.14	81.38 ± 5.74

从表 3 中看到实验小白鼠的腹腔巨噬细胞吞噬功能明显增高, 吞噬百分率和吞噬指数均显著高于对照组( $P < 0.01$ ), 镜检时观察到实验组吞噬细胞明显增大, 胞浆丰富, 染色变淡, 所吞噬的红细胞的消化程度级数提高。

### 3.4. 小白鼠脏器系数的测定

在饲料中以 0.5%、1% 剂量加入红曲霉素饲喂小鼠 90 d, 捕杀受试鼠, 取主要脏器称重, 测定脏器系数, 结果见表 4。

由表 4 可知, 给予受试物 90 d 后, 各试验组与对照组之间脏器系数差异不显( $P > 0.05$ ), 各试验组间差异也不显著( $P > 0.05$ )。

## 4. 讨论

### 4.1. 对小白鼠生长性能的影响

小白鼠的生长过程中, 体重的增加实际是脂肪组织的沉积, 蛋白质的合成增加和全身结缔组织水分的积聚, 此即中医的湿, 湿盛必然导致脾失健运, 只有脾的功能得到全面正常的发挥, 才能使机体血脉畅通, 营养物质输送到全身, 特别是肌肉的生长, 脾气健运则肌红润、结实。现已经受到很多学者的试验证明, 孙冬岩(2007)于育肥猪饲料中添加 0.05% 合生素能够促进生长, 并优于抗生素组[11]。张敏(2010)添加 0.5% 红曲霉合生素能够提高延边黄牛饲料表观消化率[12]。在 90 d 给药饲养试验中, 小鼠增重、采食量和饲料利用率的数据表明, 饲料利用率、免疫器官比重 0.5% 组与对照组相比, 均有所提高。这说明红曲霉素饲料添加剂在喂养一段时间后起到了益脾健胃促生长的性能。

Table 4. Organ coefficient of determination results in mice

表 4. 小白鼠脏器系数的测定结果

组别	脾/体 × 100	胸腺/体 × 100	肝/体 × 100
空白组	0.27 ± 0.03	0.57 ± 0.01	4.81 ± 0.53
试验 1 组	0.31 ± 0.03	0.61 ± 0.10	5.07 ± 0.05
试验 2 组	0.30 ± 0.06	0.60 ± 0.09	5.12 ± 0.76
对照组	0.28 ± 0.04	0.58 ± 0.08	4.87 ± 0.30

## 4.2. 对小白鼠吞噬细胞能力的影响

巨噬细胞是机体防御功能的重要组成部分，具有特异性和非特异性的吞噬作用。正常情况下，巨噬细胞处于休止状态，活性较低，但一经激活，其形态代谢和功能均可发生显著变化。主要是膜活性增高，溶酶体和溶菌酶含量增高，杀伤病原微生物的能力增强[13]。在 90 d 给药喂养试验中，各项血液指标、脏器系数均表明，各试验组与对照组之间差异不显著，各试验组之间差异也不显著，但吞噬细胞吞噬能力 0.5% 组与对照组相比，有所提高。这说明红曲霉素增加了巨吞噬能力。

## 4.3. 高剂量组(1%组)对小白鼠的影响指标

对捕杀后的动物脏器进行了肉眼观察，观察后发现，0.5% 组与对照组之间未见明显异常变化，但 1% 组在肝脏称重时可见大部分肝脏有肿大现象，而 1% 组对小白鼠免疫性能的影响与 0.5% 组相比并未有所提高。由此可见，添加大剂量红曲霉中药合生元时可能对实质性器官造成损害。

## 5. 结论

该试验得出，添加少量红曲霉素可以提高饲料利用率，红曲霉素可以增强小白鼠的免疫能力。

## 基金项目

吉林省“十二五”重点项目(20110236)。

## 参考文献 (References)

- [1] 徐彩菊, 孟佳, 傅剑云, 陈玉满, 毛光明, 陈江 (2007) 辅酶 Q10 在免疫调节中的作用. *中国卫生检验杂志*, **2**, 17-22.
- [2] 符华林 (2002) 中药调节动物免疫作用的研究进展. *兽药与饲料添加剂*, **4**, 30-34.
- [3] 聂兵, 王玉峰, 王实, 梁爽, 李明轩, 张敏 (2009) 红曲霉与健胃中药合生素对小鼠常规指标影响的研究. *安徽农业科学*, **6**, 2524-2526.
- [4] 房兴堂 (2001) 绿色饲料添加剂的开发现状. *中国牧业通讯*, **11**, 46-47.
- [5] 刘亚力, 么霞红, 杨建策 (2001) 绿色饲料添加剂的研究与应用. *饲料博览*, **6**, 23-26.
- [6] 崔明勋, 宋光宇, 姜成哲, 王智航, 聂兵, 张敏 (2009) 红曲霉复合制剂对小鼠肝和肾抗氧化能力的影响. *畜牧与饲料科学*, **9**, 12-13.
- [7] 沈建忠 (2002) 动物毒理学. 中国农业出版, 北京.
- [8] 史志诚 (2001) 动物毒理学. 中国农业出版, 北京.
- [9] 王慧珍 (2007) 盐酸左旋咪唑搽剂可安全方便地提高机体免疫力. *中国社区医师*, **13**, 23-13.
- [10] 陈琳, 张俊丰 (2000) 病菌净 II 对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞功能的影响试验. *中兽医学杂志*, **1**.
- [11] 孙冬岩, 潘宝海 (2007) 合生素在生长育肥猪生产中的应用效果. *饲料研究*, **2**, 62-64.
- [12] 丛明柱, 张敏 (2010) 红曲霉合生素对延边黄牛瘤胃 VFA 浓度变化及饲料表观消化率的影. *反刍动物营养与饲料*, **2**, 72-76.
- [13] 杨履渭, 等 (1986) 微生物学及检验技术. 广东科技出版社, 广州, 91.