

辣木发酵物对大鼠生长、骨骼代谢和骨密度的影响

刘佩佩 赵森 蒋罗昕 张京 徐维娜 徐建雄*

上海交通大学农业与生物学院,上海市兽医生物技术重点实验室,上海 200240

中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2018) 05-0573-04

摘要: **目的** 研究辣木发酵物对大鼠生长发育、骨骼代谢和骨密度的影响。**方法** 选用 24 只体重(74.38 ± 0.63)g、生长状况良好的清洁级雄性 SD 大鼠,随机分为实验组和对照组,每组 3 个重复,每个重复 4 只。对照组饲喂基础日粮,实验组在基础日粮中添加 0.5% 辣木发酵物,试验期 10 周。测量大鼠体重、采食量、股骨湿重、干重和股骨长,血清中钙、磷含量和碱性磷酸酶活性以及腰椎骨骨密度(BMD)。**结果** 试验组和对照组采食量无明显差异($P > 0.05$),实验组大鼠体重较对照组有显著增加($P < 0.01$);与对照组相比,实验组大鼠的股骨湿重显著增加($P < 0.05$),股骨长与腰椎骨密度有极其显著的提高($P < 0.01$),股骨干重有增加的趋势($P = 0.0538$);实验组血清钙含量显著低于对照组($P < 0.01$),血清磷含量显著高于对照组($P < 0.05$),两组碱性磷酸酶活性无显著差异($P > 0.05$)。**结论** 日粮中添加辣木发酵物能够促进大鼠生长发育,促进大鼠骨骼钙的沉积和骨骼生长,增强骨骼强度。

关键词: 辣木发酵物;体重;骨骼生长;骨密度;大鼠

The effect of fermented moringa on growth, bone metabolism, and bone mineral density in rats

LIU Peipei, ZHAO Sen, JIANG Luoxin, ZHANG Jing, XU Weina, XU Jianxiong*

School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiaotong University, Shanghai Key Laboratory of Veterinary Biotechnology, Shanghai 200240, China

* Corresponding author: XU Jianxiong, Email: jxxu1962@sjtu.edu.cn

Abstract: Objective To study the effect of the dietary fermented moringa on growth, skeletal metabolism, and bone mineral density (BMD) in growing rats. **Methods** In the experiment, 24 male SD rats with weight of 74.38 ± 0.63 g and good growth status were selected. The rats were randomly allocated to the control group and the experimental group, with 3 repeats in each group and 4 rats in each repeat. The rats in the control group were fed with basic diet, while rats in the experimental group were fed with basic diet supplemented with 5% fermented moringa. All the rats were fed for 10 weeks. The body weight, food intake, the wet and dry weight and length of the femurs were measured. The serum calcium (Ca), phosphorus (P), the activity of alkaline phosphatase, and BMD of lumbar (L_2-L_5) were measured. **Results** The food intake had no significant difference between rats in the experimental group and in the control group. Rats in the experimental group had obvious weight gain than those in the control group ($P < 0.01$). Compare with the control group, the wet weight of the femurs in the experimental group increased significant ($P < 0.05$), the length of femurs and the lumbar BMD improved significantly ($P < 0.01$), and the dry weight of femurs had a trend of increase ($P = 0.0538$). Serum Ca content in the experimental group was lower than that in the control group ($P < 0.01$), while P content increased significantly ($P < 0.05$). Alkaline phosphatase activity had no remarkable difference ($P > 0.05$). **Conclusion** Dietary supplemented with 5% fermented moringa notably promotes weight gain, Ca deposition of bones, and BMD in rats.

Key words: Fermented Moringa; Body weight; Bone growth; BMD; Rat

骨质疏松是以骨量减少、骨组织微观结构退化为特征致使骨骼脆性增加及骨折危险性增加的一种代谢性疾病,常见于老年人。全国第六次人口普查数据显示,2010 年 60 岁以上人口占全国人口

13.26%,这个比例仍在提高^[1],随着我国老龄化现象日益严重,骨质疏松症患者大幅度增加,对家庭、社会带来严重的经济负担。骨密度(Bone mineral density, BMD)是诊断骨质疏松和预测骨质疏松骨折的重要手段^[2]。钙、磷是影响骨密度的主要营养因素,其中钙与骨密度的关系非常的密切,足量钙摄入

* 通讯作者: 徐建雄, Email: jxxu1962@sjtu.edu.cn

是骨骼健康发育的基本保证和骨骼正常生长及形成峰值骨量的物质基础。已经有研究证明,钙对峰值骨量起重要作用^[3,4]。在骨组织内磷构成了骨骼最重要的无机成分,并且参与骨无机基质与有机基质形成的过程^[5]。碱性磷酸酶是一种存在于除了高等植物外几乎所有生物体内的非特异性磷酸单酯酶,其活性是反映骨细胞活性、骨生成状况和钙、磷代谢的重要生化指标^[6]。

辣木是一种尚未充分开发的多功能树种,具有产量高、营养丰富、适应性广、栽培简便及抗逆性强等特点。辣木含有丰富的多种矿物质、维生素和人体必需氨基酸,其中辣木叶、茎含有的 VC 是柑桔的 6 倍,VA 是胡萝卜的 4 倍,钙和蛋白质含量分别是牛奶的 4 倍和 2 倍^[7]。据测定,新鲜辣木叶中钙、磷含量分别为 440mg/100g、70mg/100g^[8],干叶中钙、磷含量更是高达 2000.3mg/100g、228mg/100g^[9]。研究证明,在饲料中添加辣木叶粉对提高肉鸡胫骨完整性与胫骨无机成分有显著效果^[8]。辣木经益生菌发酵后更能提高养分的利用率,辣木发酵物能否改善大鼠骨骼代谢,促进大鼠骨密度还未见相关的报道。本试验以辣木发酵物饲喂大鼠,观察其对大鼠生长、腰椎骨密度和钙磷代谢的影响,旨在为促进骨骼生长,改善骨骼强度的研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物、分组和饲养管理

24 只 4 周龄健康清洁级雄性 SD 大鼠(体重 74.38 ± 0.63 g,购于上海杰思捷实验动物有限公司,许可证号:SCXK(沪)2013-0006),按体重随机分为两组,两组初始体重无统计学差异($P > 0.05$),每组 3 个重复,每个重复 4 只,分笼饲养。对照组饲喂基础日粮,试验组在基础日粮中添加 0.5% 辣木发酵物,颗粒饲料,试验期 10 周。

试验方案通过上海交通大学动物管理委员会颁布的实验动物使用和管理指南。大鼠饲养环境温度 为 20 ℃ ~ 25 ℃,相对湿度 50% ~ 60%,光照明暗各 12 h,自由饮水与采食。

辣木发酵物由上海普缇康生物科技有限公司提供。辣木发酵物由辣木粉碎后经复合益生菌发酵液(上海创博生态工程有限公司生产,主要成分为乳酸杆菌、枯草芽胞杆菌和酵母菌等)厌氧发酵而成。

1.2 样品采集与测定

1.2.1 体重与采食量:记录实验开始与结束时大鼠的体重、实验周期中各组大鼠的采食量。

1.2.2 血样的采集与测定:试验第 10 周,禁食 24 h,按 0.3 mL/100 g 腹腔注射 10% 水合氯醛麻醉后心脏取血,3 000 r/min 离心 15 min,取血清分装于 eppendorf 管中,−80 ℃ 冷冻保存待测。

血清中钙、磷含量分别采用钙测定试剂盒(比色法)和磷测定试剂盒(磷钼酸法)测定,碱性磷酸酶活性采用碱性磷酸酶测定试剂盒(微板法)测定。以上试剂盒均由南京建成生物研究所生产,操作严格按相应试剂盒说明书进行。

1.2.3 骨骼的采集与测定:(1)股骨长度和重量:采血后大鼠处死,分离左侧后肢股骨,剔除表面肌肉与结缔组织后,以游标卡尺测量股骨长度,称取股骨重(湿重)后,105 ℃ 烘干,称重(干重)。

(2)腰椎骨密度:剥离并取下第 2 ~ 第 5 腰椎骨(L₂ ~ L₅),剔干净骨周边肌肉,将纱布用生理盐水沾湿,包裹住骨样品,外面再包裹一层锡箔纸,防止水分蒸发,存放在 −20 ℃ 冰箱备用,用于测定骨密度。从 −20 ℃ 冰箱中取出腰椎骨(L₂ ~ L₅),室温自然解冻,用 Hologic Discovery A 密度仪测定骨密度(BMD)。

1.3 统计学处理

所有数据均以“平均值 ± 标准差”表示,采用 SPSS 17.0 软件进行分析。组间差异显著性采用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为显著性差异标准,以 $P < 0.01$ 为极显著性差异标准。

2 结果与分析

2.1 大鼠生长性能

试验初期两组大鼠体重上无统计学差异($P > 0.05$),试验期内实验组与对照组平均采食量无显著变化($P > 0.05$),试验结束后实验组大鼠体重显著高于对照组($P < 0.01$)。结果见表 1。

表 1 不同处理大鼠的体重和采食量($n = 12$)

Table 1 The body weight and food intake of rats with different treatment ($n = 12$)

项目	初始体重 (g/头)	终末体重 (g/头)	采食量 (g/(天*头))
对照组	74.24 ± 3.39	292.75 ± 30.81	18.97 ± 1.01
实验组	74.51 ± 2.94	337.34 ± 26.81**	19.94 ± 0.69

注:与对照组比较,* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。
Compared with control group,* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.

2.2 大鼠股骨生长和腰椎骨密度

与对照组相比,实验组大鼠股骨湿重提高了 10% ($P < 0.05$),股骨干重提高了 9.3% ($P = 0.05388$),股骨长度增长了 3.3% ($P < 0.01$)。实验

组大鼠的 $L_2 \sim L_5$ 腰椎骨密度较对照组提高了 8.03% ($P < 0.01$)。结果见表 2。

表 2 不同处理大鼠股骨生长和腰椎骨密度 ($n = 12$)

Table 2 The growth of the femurs and the lumbar BMD of rats with different treatments ($n = 12$)

项目	股骨湿重 (g)	股骨干重 (g)	侧股骨长 (cm)	腰椎骨密度 (g/cm^2)
对照组	0.99 ± 0.12	0.68 ± 0.07	3.55 ± 0.09	0.249 ± 0.18
实验组	$1.10 \pm 0.19^*$	0.75 ± 0.05	$3.67 \pm 0.05^{**}$	$0.269 \pm 0.15^{**}$

注:与对照组比较, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$
Compared with control group, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$

3.3 血清 Ca 和 P 含量、血清碱性磷酸酶活性

与对照组相比,实验组大鼠血清中 Ca 含量降低了 18.4%,差异极显著 ($P < 0.01$),血清 P 含量显著提高 ($P < 0.05$)。实验组与对照组血清中碱性磷酸酶活性并无显著差异 ($P > 0.05$)。结果见表 3。

表 3 辣木发酵物对大鼠血中钙、磷含量与碱性磷酸酶活性的影响 ($n = 12$)

Table 3 The effect of fermented moringa on Ca content, P content, and alkaline phosphatase activity in rat ($n = 12$)

项目	Ca 含量 (mmol/L)	P 含量 (mmol/L)	碱性磷酸酶活性 (金氏单位 /100 mL)
对照组	$2.23 \pm 0.25^{**}$	2.61 ± 0.65	29.42 ± 7.26
实验组	1.82 ± 0.11	$3.55 \pm 0.52^*$	29.93 ± 5.18

注:与对照组比较, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$
Compared with control group, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$

4 讨论

骨质疏松症已经成为严重威胁中老年人健康的疾病之一。随着我国人口老龄化现象的加重,骨质疏松症将对家庭与社会带来严重的经济负担。因此对骨质疏松症预防与治疗的研究显得十分重要。

辣木含有丰富的淀粉,蛋白质,维生素 A、B、C 以及矿质元素,营养素全面,且适口性好。有实验证明,采用胃蛋白酶-胰蛋白酶两步外消化法测定多种热带或灌木的叶片蛋白质的表观消化率,发现辣木蛋白质体外消化率最高,达 79.2%^[10];在肉鸡日粮中添加辣木叶粉,能改善仔鸡免疫功能,对肉鸡的增重和降低料肉比有显著作用^[11];Mohammed 等^[12]报道,用辣木鲜叶饲喂蛋鸡发现能在一定程度上提高产蛋率和饲料转化率。本试验中在基础日粮中添加辣木发酵物对大鼠的采食量没有明显的作用,但大鼠增重有显著提高,可能是辣木发酵物有提高大鼠的饲料转化率、降低料肉比的功效,从而促进了大鼠的生长。

辣木发酵物可促进大鼠骨骼发育和骨骼强度。

辣木具有高钙高磷的特点,同时含有多种维生素,对骨骼骨质增加、沉淀钙磷有积极作用。另有报道,辣木叶中总黄酮含量高达 46.17 mg/g^[13],黄酮类物质能够通过不同转导途径促进成骨细胞生成、抑制破骨细胞分化,有提高骨密度与骨矿含量的作用^[14]。有实验证明,用灌胃法给 SD 大鼠饲喂添加不同浓度辣木叶粉的饲料,对大鼠血清碱性磷酸酶活性并无显著影响^[15],这与本实验结果一致。本实验发现实验组大鼠血清磷含量提高,而血清钙水平降低。磷作为动物体生长重要的矿物元素,有着形成和维持骨骼组织、影响血钙的吸收沉积等作用,而辣木含有丰富的钙(辣木干叶中钙、磷含量分别为 2000.3 mg/100 g、228 mg/100 g),且辣木钙磷易吸收。Thobela Nkukwana^[8]发现饲料中添加辣木叶粉对提高肉鸡胫骨完整性与胫骨无机成分有显著效果,本实验饲喂辣木发酵物后大鼠血清钙降低可能是由于血钙大量沉积于骨骼所致,实验组大鼠股骨重量、长度和腰椎骨密度显著提高的结果也印证了该推测。

综上所述,生长期大鼠日粮中添加辣木发酵物可显著促进大鼠生长发育,促进大鼠骨骼中钙的沉积和骨骼生长,提高骨骼强度。

【参 考 文 献】

[1] 丁超,孙强. 老年性骨质疏松症相关问题研究进展. 中国骨质疏松杂志,2016,22,(3):372-375.
Ding Chao,Sun Qiang. Research progress of relevant problems for senile osteoporosis. Chin J Osteoporos,2016,22(3):372-375.
[2] 何渝煦,魏庆中,熊启良,等. 骨质疏松性骨折与骨密度关系的研究. 中国骨质疏松杂志,2014,20(2):219-224.
HE Yuxu, WEI Qingzhong, XIONG Qiliang, et al. Research progressof the relationship between osteoporotic fractures and bone mineral density. Chin J Osteoporos,2014,20(2):219-224.
[3] 黄何平. 骨密度的影响因素分析. 中国临床康复,2006,10(40):124-126.
Huang Heping. Influential factors of bone density. Chinese Journal of Clinical Rehabilitation, October 25, 2006. 10(40):

124-126.

[4] LaneNE, BlochDA, Jones HH, et al. Long-distancerunning, bonedensity, and osteoarthritis. JAMA, 1986, 255 (9): 1147-1151

[5] 夏志道,赵玉芬.骨代谢的磷化学.中国骨质疏松杂志,1998, 4(2):71-73.
Xiao Zhidao, Zhao Yufen. The phosphorus chemistry of bone metabolism. Chin J Osteoporos, 1998, 4(2):71-73.

[6] 王秋颖.碱性磷酸酶特性极其应用的研究进展.中国畜牧兽医. 2011,38(1):157-161.
Wang Qiying. Advances on Characteristic and Application of Alkaline Phosphatase. China Animal Husbandry&Veterinary Medicine, 2011, 38(1):157-161.

[7] 董小英,唐胜球.辣木的营养价值及生物学功能研究.广东饲料,2008,17(9):39-41.
Dong Xiaoying, Tang Shengqiu. Research progress of nutritive value and biological functions for Moringa oleifera. Guangdong Feed, 2008, 17(9):39-41.

[8] Thobela Nkukwana, Voster Muchenje, Louwrens C Hoffman, et al. The effect of Moringa oleifera leaf meal supplementation on tibia strength, morphology and inorganic content of broiler chickens. South African Journal of Animal Science, 2014, 44 (3): 227-239.

[9] 丁音琴.微波消除 ICP-OES 法测定辣木叶中的矿物质元素.福建农业技,2014,10:11-14.
Ding Yinqin. Determination of mineral elements in Moringaoleifera leaves by microwave digestion and ICP-OES method. Fujian Agricultural Science and Technology, 2014, 10: 11-14.

[10] 吴頔,蔡志华,魏焯昕,等.辣木作为新型植物性蛋白质饲料的研究进展.动物营养学报,2013,25(3):503-511.
Wu Di, Cai zhihua, Wei Yexin, et al. Research advances in Moringa as a new plant protein food. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2015, 25(3):503-511.

[11] Oun P N, Aniebo A O. Influence of Moringa oleifera leaf meal on the performance and blood chemistry of starter broilers. International Journal of Food, Agricultural and Veterinary Sciences, 2011, 1(1):38-44.

[12] Mohammed K A E F, Sarmiento-Francol, Santos-Ricalder, et al. The nutritional effect of Moringa oleifera fresh leaves as feed supplement on Rhode Island Red hen egg production and quality. Tropical Animal Health and Production, 2012, 44 (5): 1035-1040.

[13] 张婧.辣木组织培养及有效成分分析.福建农业大学硕士论文,2013.
Zhang Jing. The study on tissue culture system and determine the effective content of Moringa oleifera. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, MSc. 2013.

[14] 龚凌霄,迟海林,曹文燕,等.黄酮类物质预防骨质疏松症的研究进展.现代食品科技,2017,33(7):328-335.
Gong Lingxiao, Chi Hailin, Cao Wenyan, et al. Research progress into the prevention of the osteoporosis using flavonoids. Modern food science and technology, 2017, 33(7):328-335.

[15] 闫文龙,任安祥,余敏嫦,等.辣木粉对肉仔鸡血液生理生化指标的影响.中国兽医杂志,2009, 45(5):36-37.
Yan Wenlong, Ren Anxiang, Yu Minchang, et al. Effects of Moringa oleifera leaves on the physiological and biochemical indexes of blood in broiler. Chinese journal of veterinary medicine, 2009, 45(5):36-37.

(收稿日期:2017-09-27;修回日期:2017-10-29)