

低聚木糖调节 BALB/c 小鼠肠道菌群及润肠通便作用研究

魏涛, 赵建元, 高兆兰, 王莉, 李思钰, 黄雪, 郑梦蕊 (北京联合大学应用文理学院, 北京 100191)

摘要 [目的]研究低聚木糖对小鼠肠道菌群及润肠通便的影响。[方法]以 BALB/c 小鼠为试验对象,在连续给予高剂量(1.0 g/kg·bw)、低剂量(0.5 g/kg·bw)的低聚木糖 14 d 后,测定小鼠粪便中双歧杆菌、乳杆菌、肠杆菌、肠球菌的含量;在连续给予高、低剂量的低聚木糖 21 d 后,以复方地芬诺酯建立小鼠便秘模型,测定给予低聚木糖后便秘小鼠的排首黑便时间、6 h 内黑便重量及小肠推进率。[结果]与对照组相比,连续给予低聚木糖 14 d 后,低、高剂量组小鼠粪便内乳杆菌、双歧杆菌及 B/E 值均显著增加($P < 0.05$)。与灌服前相比,对照组肠球菌、乳杆菌显著增加($P < 0.05$);低、高剂量组肠杆菌显著减少($P < 0.05$),乳杆菌、双歧杆菌及 B/E 值显著增加。与模型对照组相比,连续给予低聚木糖 21 d 后,低、高剂量组的首粒排黑便时间显著缩短($P < 0.05$),排黑便总量显著增加($P < 0.05$),小肠推进率显著提高($P < 0.01$)。[结论]低聚木糖具有改善小鼠胃肠道菌群及润肠通便的功效。

关键词 低聚木糖;双歧杆菌;乳杆菌;小肠推进率;便秘

中图分类号 S182 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2013)01-00159-02

Studies on the Effects of Xylooligosaccharides Regulating Intestinal Microbial Flora Proliferation and Relieving Constipation Function in BALB/c Mice

WEI Tao et al (College of Applied Arts and Science of Beijing Union University, Beijing 100191)

Abstract [Objective] To study the effect of xylooligosaccharides on promoting multiplication of intestinal microbial flora and regulating constipation function. [Method] The BALB / C mice excrements CFUs of *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Enterobacter* and *Enterococci* were examined before and after to give high-doses (1 g/kg·bw) and low-doses (0.5 g/kg·bw) xylooligosaccharides for 14 days. After continuous administration of xylooligosaccharides for 21 days, the first black excrement, the weight of excrement within 6 hours and small intestine advance rate were determined on constipation mice. [Result] Compare with control group, with the administration of the high, low dose xylooligosaccharides for 14 days, the intestine CFUs of *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* were significantly increased ($P < 0.05$). Compared with the CFUs before to give test materials, the CFUs of *Enterococci* and *Lactobacillus* of control group were extremely raised ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The CFUs of *Enterococci* of high, low-doses group were distinctly decreased ($P < 0.05$). The CFUs of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* and B/E value were obviously increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.01$). With the administration for 21 days, compared with model group, the first black excrements of high, low-dose group were extremely shortened ($P < 0.05$), the weight of excrement within 6 hours and the small intestine advance rate obviously enhanced ($P < 0.05$, $P < 0.01$). [Conclusion] The low-doses (0.5 g/kg·bw) and high-doses (1 g/kg·bw) xylooligosaccharides have regulative effects on intestinal microbial flora and prevent mice from constipation.

Key words Xylooligosaccharides; *Bifidobacterium*; *Lactobacillus*; Rate of intestinal propulsion; Constipation

低聚木糖也称木寡糖(Xylooligosaccharides),是由 2~7 个木糖分子以 β -1,4-糖苷键结合而成的功能性聚合糖,其甜度比蔗糖和葡萄糖低,约为蔗糖的 40%。低聚木糖对 pH 及热的稳定性较好,即使是在酸性条件下加热也基本不分解,又因为机体胃肠道内缺乏水解低聚木糖的酶系统,因此低聚木糖可以顺利通过胃和小肠不被降解利用,而直接进入大肠内被双歧杆菌、乳酸杆菌等有益菌所利用,而有害菌利用率极低或不能利用,从而使有益菌大量生长繁殖^[1-2]。基于此,笔者研究了低聚糖对 BALB/c 小鼠肠道菌群及通便功能的影响,以期对低聚木糖的合理利用和监督提供科学依据。

1 材料与与方法

1.1 实验动物 选用 2 月龄 BALB/C 二级雌性小鼠(购自中国医学科学院动物中心繁殖场),体重为 22~28 g。选用的小鼠均按照体重随机分为正常对照组、低剂量组、高剂量组,润肠通便试验另设阴性对照组和模型对照组。

1.2 受试样品及饲喂剂量 低聚木糖为白色粉末,由山东龙力生物科技股份有限公司生产。低聚木糖的饲喂剂量采用 0.5 和 1.0(g/kg·bw)为低、高剂量。采取灌胃法,每日灌

胃 1 次,剂量为 0.02(ml/g·bw),连续灌胃 14 d。空白对照组和模型对照组灌等量蒸馏水。

1.3 试验方法^[3]

1.3.1 肠道菌群的计数。给予受试物前及最后 1 次给受试物后 24 h,无菌采取小鼠粪便,放入已灭菌的装有 3 ml 稀释液的试管中,称重后振荡混匀,使粪便完全均质于稀释液中。采取 10 倍系列稀释至 10^{-8} 。选择合适的稀释度分别接种在 BBL 培养基、EMB 培养基、叠氮钠-结晶紫-七叶苷琼脂培养基及 LBS 琼脂培养基上。培养 24、48 h 后,以菌落形态,革兰氏染色镜检计数菌落,计算每克湿便中的双歧杆菌、大肠杆菌、肠杆菌及乳杆菌菌数,取对数后进行统计处理。

1.3.2 小肠推进试验。在连续给予受试物 14 d 后,各组小鼠禁食 24 h。试验开始前各剂量组给予受试物,正常对照组及模型对照组给予等量蒸馏水。30 min 后,除正常对照组外,其余各组灌喂复方地芬诺酯 50 mg(kg·bw)。20 min 后,各组灌喂 15% 碳黑墨水 0.5 ml/只。20 min 后,颈脱臼处死动物,立即取出自幽门至盲肠部的整段小肠,不加牵引平铺成直线。测量小肠全长和幽门至墨水运动前沿位移,按照以下公式计算小肠推进率: 小肠推进率(%) = 墨水移动距离(cm)/小肠全长(cm) × 100%。

1.3.3 小鼠排便试验。在连续给予受试物 14 d 后,各组小鼠禁食 24 h。除正常对照组外,其余各组灌胃复方地芬诺酯 10 mg/(kg·bw)。将小鼠放入鼠笼单独饲养,正常饮水进

基金项目 北京市属高等学校人才强教计划资助项目(PHR201008-293)。

作者简介 魏涛(1969-),女,山西太原人,副教授,硕士,从事功能食品研究。

收稿日期 2012-11-12

食。1 h 后,给各组小鼠灌胃 15% 碳黑墨水 0.5 ml/只(试验组碳黑墨水含相应剂量的受试物)。观察记录每只小鼠自灌胃复方地芬诺酯起的首黑便时间以及 6 h 内排便重量。

2 结果与分析

2.1 低聚木糖对小鼠体重的影响 由表 1 可知,灌胃低、高剂量的低聚木糖对小鼠的体重没有影响。

表 1 低聚木糖对小鼠体重的影响($\bar{x} \pm SD, n=10$) g

组别	灌胃前体重	灌胃后体重
空白对照组	25.34 ± 1.51	24.63 ± 1.91
低剂量组(0.5(g/kg·bw))	26.67 ± 1.35	26.23 ± 2.16
高剂量组(1.0(g/kg·bw))	26.12 ± 1.30	25.43 ± 1.66

2.2 低聚木糖对小鼠肠道菌群的影响 由表 2 可知,在灌胃前肠道菌群无差异的小鼠,连续给予低剂量组(0.5 g/kg·bw)、高剂量组(1.0 g/kg·bw)低聚木糖 14 d 后,与对照组相比,肠杆菌及肠球菌数量并无显著变化,乳杆菌及双歧杆菌数量均有显著提高。其中,低剂量组乳杆菌增长 5% ($P < 0.05$),双歧杆菌增长 9% ($P < 0.05$);高剂量组乳杆菌增长 5% ($P < 0.05$),双歧杆菌增长 9% ($P < 0.05$)。与灌胃前相比,灌胃后空白对照组肠球菌显著增加 14% ($P < 0.05$),乳杆菌增长 10% ($P < 0.01$);灌胃后低剂量组肠杆菌减少 5.2% ($P < 0.05$),乳杆菌增长 9% ($P < 0.05$),双歧杆菌增长 14% ($P < 0.01$);灌胃后高剂量组肠杆菌减少 9% ($P < 0.05$),乳杆菌增长 8% ($P < 0.05$),双歧杆菌增长 16% ($P < 0.01$)。

表 2 低聚木糖对小鼠肠道菌群的影响 logCFU/g

组别	处理	肠杆菌	肠球菌	乳杆菌	双歧杆菌
空白对照组	灌胃前	6.38 ± 0.62	5.43 ± 0.84	7.22 ± 0.68	7.65 ± 0.93
	灌胃后	6.31 ± 0.40	6.20 ± 0.43#	7.94 ± 0.31###	8.39 ± 0.52
低剂量组	灌胃前	6.33 ± 0.38	5.60 ± 0.63	7.62 ± 0.74	8.00 ± 0.31
	灌胃后	6.00 ± 0.48#	5.84 ± 0.34	8.34 ± 0.51*#	9.11 ± 0.68*##
高剂量组	灌胃前	6.59 ± 0.76	5.99 ± 0.78	7.75 ± 0.63	7.93 ± 0.43
	灌胃后	6.01 ± 0.44#	6.06 ± 0.56	8.35 ± 0.44*#	9.16 ± 0.62*##

注:#表示与灌胃前差异显著($P < 0.05$);##表示与灌胃前差异显著($P < 0.01$);*表示与空白对照组差异显著($P < 0.05$)。

粪便中双歧杆菌与肠杆菌数量的比值(B/E 值)可作为肠道微生物定植抗力的指标用于临床,能从正反 2 个方面来评价肠道菌群结构的状况。 B/E 值 ≥ 1 表示肠道定植抗力正常, B/E 值 < 1 表示肠道定植抗力降低^[4]。由表 3 可知,在饲喂受试物前后,各组小鼠的 B/E 值均大于 1,说明小鼠肠道定植力正常。在饲喂前,各组小鼠 B/E 值无显著差异。服用低聚木糖 14 d 后,对照组的 B/E 值与饲喂前没有差异,低、高剂量组与饲喂前相比分别提高 28% 和 26% ($P < 0.01$);与对照组相比,分别提高 14% 和 13% ($P < 0.05$)。这说明低、高剂量的低聚木糖具有可以改善肠道菌群结构的功能。

2.3 对小鼠小肠推进率的影响 连续给予受试物 21 d 后,阴性对照组和模型对照组的小肠推进率分别为 72.5% 和 38.2%,阴性对照组小鼠小肠推进率高于模型对照组 90% ($P < 0.01$),说明造模成功。低剂量组和高剂量组的小肠推进率分别为

77.4% 和 84.0%。与模型对照组相比,低、高剂量组的小肠推进率分别提高 102% 和 120% ($P < 0.01$)。这说明低、高剂量的低聚木糖具有改善小鼠小肠推进率的功能。

表 3 低聚木糖对小鼠肠道菌群 B/E 值的影响($n=10$) $\bar{x} \pm SD$

组别	灌胃前	灌胃后
空白对照组	1.24 ± 0.14	1.34 ± 0.15
低剂量组	1.20 ± 0.08	1.53 ± 0.15##*
高剂量组	1.21 ± 0.14	1.52 ± 0.13##*

注:##表示与灌胃前差异极显著($P < 0.01$);*表示与空白对照组差异显著($P < 0.05$)。

2.4 对小鼠排便功能的影响 由表 4 可知,在连续给予受试物 21 d 后,与阴性对照组相比,模型对照组的首次排黑便时间增加 186.5% ($P < 0.01$),6 h 内排黑便重量减少 55.5% ($P < 0.01$),说明造模成功。与模型对照组相比,低、高剂量组首次排黑便时间分别降低 76.7% 和 85.6% ($P < 0.01$);6 h 内排黑便重量分别提高 126% 和 183% ($P < 0.05$)。这说明低、高剂量的低聚木糖具有有效改善便秘小鼠的通便作用。

表 4 低聚木糖对小鼠排首粒黑便时间及黑便重量的影响

组别	首次排黑便时间//min	6 h 内排黑便重量//mg
模型对照组	304.2 ± 72.8	21.8 ± 10.3
低剂量组	70.8 ± 57.8**	49.3 ± 21.6*
高剂量组	43.8 ± 33.7**	61.6 ± 38.4**
阴性对照组	106.1 ± 96.3**	91.6 ± 36.5**

注:*表示与模型对照组相比差异显著($P < 0.05$);**表示与模型对照组相比差异极显著($P < 0.01$)。

3 讨论

随着对肠道生态系统的深入研究,人们越来越认识到肠道微生物对人类健康的作用。正常的微生物群落决定宿主的许多生物过程,因此菌群失调可以引起多种疾病^[5]。该研究表明,低聚木糖可以有效增加小鼠肠道内双歧杆菌与乳杆菌的数量并且肠杆菌数量明显减少,其机制可能是双歧杆菌等有益菌能分泌 D-木糖苷酶和阿拉伯糖苷酶,将低聚木糖水解成单糖并加以利用,而有害菌不能分泌该酶^[6]。该试验结果还表明,低聚木糖在促进小肠运动及排便功能方面具有较好效果。由于消化道内缺乏分解低聚木糖的酶,因此低聚木糖的消化吸收速度缓慢,大量摄入低聚木糖后,大部分将被运送至肠道内,在肠道内形成高浓度,引起渗透压上升,使得水分进入肠腔内,从而起到润肠通便的作用。另外,有益菌以其为养分得到大量增殖,而这些菌群代谢的终产物——短链脂肪酸又使得肠道内 pH 降低,不仅抑制了致病菌的生长繁殖,还可以刺激肠道的蠕动^[7]。该试验结果表明,低、高剂量的低聚木糖具有相似的改善小鼠肠道菌群及润肠通便的功能,因此在实际应用中可以选用低剂量。

参考文献

- [1] BHAT M K. Oligosaccharides as functional food ingredients and their role in improving the nutritional quality of human food and health[J]. Recent Res Dev Agric Food Chem, 1998, 2: 787-802.
- [2] YUAN X, WANG J, YAO H. Feruloyl oligosaccharides stimulate the growth of *Bifidobacterium*[J]. Bifidum Anaerobe, 2005, 11: 225-229.

4685 位点多态性比较的前提下^[12],重点对我国吉林省特有牛品种草原红牛、延边黄牛中 4685 位点与肉质嫩度是否同样具有相关性进行了研究,结果表明在 2 个牛群体中 CAPN1 基因 4685 位点同样与肉质嫩度相关指标存在密切相关,为通过 CAPN1 基因 4685 位点对高档肉牛品种选育奠定理论基础。

肉质嫩度决定牛肉的口感,影响着消费者的购买倾向,是高档牛肉的重要衡量指标,在很大程度上决定了牛肉的价格,因此提高肉质嫩度是高档肉牛育种的重要方向。肉质嫩度是一项综合指标,是众多肉质特性共同影响的结果,其中包括肉质系水力、肌内脂肪含量、肌纤维直径等。钙蛋白酶系统通过降解肌肉细胞中蛋白中半胱氨酸,同样能够提高肉质嫩度。Juszczuk-Kubiak 等最先报道 CAPN1 基因 4685 位点在不同牛群体中存在多态性并与肉质嫩度密切相关^[5],前期研究结果同样证实存在不同牛群体中存在相关性,进一步研究结果也表明该位点多态性与肉质嫩度相关指标同样密切相关,而与屠宰性状相关性不大。这表明不同群体间 CAPN1 基因 4685 位点作用的一致性。

该研究中同样证明 TT 基因型对肉质嫩度的影响。含有 T 等位基因的个体在各相关指标中均表现出提高肉质嫩度的趋势,验证了延边黄牛与草原红牛 CAPN1 基因 4685 位点遵循以往的规律。以前在草原红牛中并未检测出 C 等位基因,笔者进一步优化检测体系,如更换适应直接用于 PCR 产物酶切的 *Fok I* 酶及延长酶切反应时间并扩大检测群体,证明在草原红牛群体中存在 C 等位基因,但是 C 等位基因频率只占 35%,而 CC 基因频率则更低,只有 17% 左右,究其原因可能是草原红牛在品种选育过程中随着导入外血而新近导入的 4685 位点。草原红牛作为我国优良的地方培育品种,尽管有着鲜明的特点,但是在肉质嫩度特性方面较其他品种并非十分突出,似乎与 CAPN1 基因 4685 位点高的 T 等位基因频率相矛盾,其可能原因是由于目前国内尚无统一标准化的饲养标准,东北地区环境相对恶劣,环境、饲料等其他因素稀释了 CAPN1 基因 4685 位点的作用,因此与处于类似环境中的延边黄牛表现出类似的肉质性状。另外,延边黄牛比较草原红牛中 T 等位基因频率高的也可能与其选育策略有关^[14-15]。CAPN1 基因 4685 位点与肉质性状相关性研究还需要建立标准的饲养、管理体系,以排除非遗传因素对各种检测指标测量值的影响。同时由于草原红牛 CAPN1 基因

4685 位点高的 T 等位基因频率的存在,说明草原红牛较延边黄牛更具有培育高档肉牛品种(系)的潜力。

参考文献

- [1] SORIMACHI H, FREIBURG A, KOLMERER B, et al. Tissue-specific expression and alpha-actinin binding properties of the Z-disc titin; implications for the nature of vertebrate Z-discs[J]. *Journal of Molecular Biology*, 1997, 270(5): 688-695.
- [2] GEESINK G H, MILLAN, MORTON J D, et al. Involvement of calpains in post-mortem tenderisation: a review of recent research[J]. *Proc N Z Soc Anim Prod*, 2000, 60: 99-102.
- [3] SMITH T P, CASAS E, REXROAD C E, et al. Bovine CAPN1 maps to a region of BTA29 containing a quantitative trait locus for meat tenderness[J]. *Journal of Animal Science*, 2000, 78(10): 2589-2594.
- [4] PAGE B T, CASAS E, HEATON M P, et al. Evaluation of single-nucleotide polymorphisms in CAPN1 for association with meat tenderness in cattle[J]. *Journal of Animal Science*, 2002, 80(12): 3077-3085.
- [5] JUSZCZUK-KUBIAK E, SAKOWSKI T, FLISIKOWSKI K, et al. Bovine mu-calpain (CAPN1) gene; new SNP within intron 14[J]. *Journal of Applied Genetics*, 2004, 45(4): 457-460.
- [6] PAGE B T, CASAS E, QUAAS R L, et al. Association of markers in the bovine CAPN1 gene with meat tenderness in large crossbred populations that sample influential industry sires[J]. *Journal of Animal Science*, 2004, 82(12): 3474-3481.
- [7] WHITE S N, CASAS E, WHEELER T L, et al. A new single nucleotide polymorphism in CAPN1 extends the current tenderness marker test to include cattle of *Bos indicus*, *Bos taurus*, and crossbred descent[J]. *Journal of Animal Science*, 2005, 83(9): 2001-2008.
- [8] MORRIS C A, CULLEN N G, HICKEY S M, et al. Genotypic effects of calpain 1 and calpastatin on the tenderness of cooked *M. longissimus dorsi* steaks from Jersey x Limousin, Angus and Hereford-cross cattle[J]. *Animal Genetics*, 2006, 37(4): 411-414.
- [9] RINCON G, MEDRANO J F. Assays for genotyping single nucleotide polymorphisms in the bovine CAPN1 gene[J]. *Animal Genetics*, 2006, 37(3): 294-295.
- [10] Van EENENNAAM A L, LI J, THALLMAN R M, et al. Validation of commercial DNA tests for quantitative beef quality traits[J]. *Journal of Animal Science*, 2007, 85(4): 891-900.
- [11] CHEONG H S, YOON D H, PARK B L, et al. A single nucleotide polymorphism in CAPN1 associated with marbling score in Korean cattle[J]. *BMC Genet*, 2008, 9: 33.
- [12] 张立春, 胡成华, 李志志, 等. 不同牛群体间钙蛋白酶 1 基因第 14 内含子 4685 bp 位点的多态性分析[J]. *中国畜牧兽医*, 2010(8): 107-111.
- [13] ZHOU G L, CAO Y, LI M, et al. Meat quality and carcass traits in relation to HGD-BstXI and HGD-HaeIII PCR-RFLP polymorphism in Chinese red cattle[J]. *Meat Science*, 2010, 85(2): 270-273.
- [14] 吴健, 张国梁, 刘基伟, 等. 吉林省中国草原红牛培育及选育提高进程[J]. *中国畜牧兽医*, 2008, 35(11): 152-155.
- [15] 文力正, 张国梁, 张嘉保, 等. 利木赞牛杂交改良对草原红牛肉质的影响[J]. *中国畜牧兽医*, 2007, 34(10): 139-141.
- [16] 马丽娜, 李颖康. 动物钙蛋白酶系统基因与肉质嫩度关联研究进展[J]. *畜牧与饲料科学*, 2011, 32(1): 100-101.

(上接第 160 页)

- [3] 中华人民共和国卫生部. 保健食品检验与评价技术规范[S]. 2003: 159-162.
- [4] 吴仲文, 李兰娟, 马伟杭, 等. 肠道微生物定植抗力的新指标——B/E 值[J]. *浙江预防医学*, 2000, 12(7): 4-5.
- [5] ZHU B L, WANG X, LI L J. Human gut microbiome: the second genome of

- human body[J]. *Protein Cell*, 2010, 1(8): 718-725.
- [6] MICHAEL A C, TERENCE R W. Xylooligosaccharide utilization by the ruminal anaerobic bacterium *Selenomonas ruminantium*[J]. *Current Microbiology*, 1998, 36: 183-189.
- [7] 姜竹茂, 尹吉增, 陈英乡. 低聚木糖与人体肠道有益菌[J]. *中国乳品工业*, 2009, 37(2): 42-52.