香蕉粉干预对糖尿病大鼠肠道菌群调节作用研究

白永亮，彭真福，陈庆发，周洁静，杨公明
（华南农业大学食品学院，广东广州 510642）

摘要：观察香蕉粉干预对糖尿病大鼠肠道菌群的影响。将 SD 大鼠分为：正常对照组（NCG）、糖尿病对照组（DCG）、低剂量组（LDG）、中剂量组（MDG）和高剂量组（HDG），干预 4 周后检测 5 种常见肠道菌群的分布。结果表明：干预后高剂量组（263.50±8.71 g）和中剂量组（258.25±11.89 g）的体重显著低于糖尿病对照组（278.75±5.06 g）；各干预组的排便量（182.57±12.80 g、188.00±17.09 g、163.00±8.75 g）显著高于糖尿病对照组（146.57±20.44 g）；香蕉粉可显著增加双歧杆菌、拟杆菌、乳酸杆菌的菌落数，显著减少肠球菌菌落数，各干预组的 B/E 值（1.17±0.15、1.24±0.08、1.21±0.11）显著高于糖尿病对照组（1.13±0.07）；各干预组的短链脂肪酸含量（188.50±46.90 mmol/L、118.60±32.41 mmol/L、61.42±10.80 mmol/L）显著高于糖尿病对照组（32.46±8.34 mmol/L），同时 pH 值显著降低。香蕉粉有控制糖尿病大鼠体重增加和促进排便的作用，明显改善肠道菌群结构，并增加其酵解产物，降低肠道 pH 值，从而发挥其对机体的健康作用。

关键词：香蕉粉；抗性淀粉；糖尿病；肠道菌群；SCFA
文章篇号：1673-9078(2013)9-2110-2114

Influence of Raw Banana Powder on Intestinal Flora of Diabetic Rats

BAI Yong-liang, PENG Zhen-fu, CHEN Qing-fa, ZHOU Jie-jing, YANG Gong-ming
(College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: To investigate the influence of raw banana powder (RBP) on intestinal floras, SD rats were divided into 4 groups: normal control group (NCG, n=8), low-dose group (LDG, n=8), middle-dose group (MDG, n=8), and high-dose group (HDG, n=8). While gastric perfusion of distilled water was given to those in NCG and DCG. Collect the feces before and after the 4-week intervention to measure the distribution of intestinal flora (*Escherichia coli, Bacillus subtilis, Enterococci, Bifidobacterium, Lactobacillus*). Then the colon contents of the rats were collected, and their pH value and short chain fatty acid (SCFA) content were measured. Results showed that RBP can help to control weight gain. The body weight of HDG and MDG were 263.50±8.71 g and 258.25±11.89 g, respectively, after intervention, significantly below DCG (278.75±5.06 g). RBP had the effect of promoting defecation. The defecation amounts of the intervention groups (182.57±12.80 g, 188.00±17.09 g and 163.00±8.75 g) were significantly higher than that in DCG (146.57±20.44 g). RBP can increase the colony number of *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* and *Bacillus subtilis*, reduce the number of *Enterococci* falls and increase the B/E value. And the B/E values of the intervention groups (1.17±0.15, 1.24±0.08 and 1.21±0.11) were significantly higher than DCG (1.13±0.07). RBP can increase SCFA contents of different groups (188.50±46.90 mmol/L, 118.60±32.41 mmol/L and 61.42±10.80 mmol/L) and decrease the pH value of colon content in the intervention groups. Therefore, RBP can significantly improve the intestinal flora, increase their glycolytic products SCFA and reduce intestinal pH value.

Key words: raw banana powder; resistant starch; diabetes; intestinal floras; SCFA

香蕉粉有“植物奶粉”之美称，深受日本、北美、西欧市场的青睐[1]。目前，根据原料成熟度可将香蕉粉产品分为两种[2]，一种是以熟香蕉为原料加工成以糖类为主的产品，能较好的保持其原有的碳水化合物、蛋白质、脂肪、氨基酸、维生素及矿物质等营养成分；另一种是以青香蕉为原料加工得到的富含抗性淀粉的香蕉粉[3]，具有抗性淀粉所特有的生理功能和加工特性。抗性淀粉不能在小肠消化吸收，可进入大肠被生理性细菌发酵，产生多种短链脂肪酸和气体，降低大肠中 pH 值，抑制致病菌生长、繁殖，促进肠道有益菌丛生长，繁殖，还可增加粪便容量，对防便秘、盲肠炎和痔疮有重要作用[4]。

目前研究发现，肠道菌群数量与糖尿病的发生发展有一定的关系。当血糖值偏高时，肠道内的益生菌

收稿日期：2013-04-20
项目基金：东莞市科技计划资助项目（200910810100600）；广州市科技计划项目（12C12101661）
作者简介：白永亮（1986-），男，博士研究生，研究方向：食品科学
通讯作者：杨公明（1950-），男，教授，博士生导师，研究方向：农产品加工新工艺与装备

（双歧杆菌、乳酸杆菌等）数量减少；药物治疗后，血糖值降低，益生菌数量增加，从而表现出肠道菌群的数量变化与血糖值变化呈负相关[5]。Backhed 等[6]研究结果提示：相比无菌鼠，正常饲养的小鼠更容易发生胰岛素抵抗。因此，在研究糖尿病的营养干预机制过程中，肠道菌群的调节是不容忽视的一个环节。目前，国内外对于富含膳食纤维的香蕉粉在调节糖尿病大鼠肠道菌群方面的研究还未见报道。本文采用的原料是以青香蕉制得的香蕉粉，含有丰富的膳食纤维，其中天然抗性淀粉含量高达 60%以上（干基重）。通过观察香蕉粉干预对糖尿病大鼠肠道常见菌群的影响，为进一步研究香蕉粉的健康作用机制提供实验依据。同时，为香蕉粉系列功能性产品的开发提供了新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

香蕉粉：佛山蕉业生物科技有限公司提供。香蕉粉是从不成熟（绿色）香蕉（芭蕉属 ABB 类，东莞大蕉）中获得的。化学成分分析如表1。

表 1 香蕉粉的化学成分（%）

Table 1 The chemical compositions of raw banana powder

组分	水分	灰分	脂肪	蛋白质	淀粉	抗性淀粉	总膳食纤维	可溶性膳食纤维
含量	8.62±1.54	2.06±0.18	0.51±0.13	3.14±0.27	76.68±3.88	62.32±2.79	12.30±1.02	4.31±0.29

改良 GAM 培养基、EMB 琼脂、胆盐-七叶苷-叠氮钠琼脂、LBS 琼脂：青岛高科园海博生物技术有限公司；BBL 琼脂培养基：广东环凯微生物科技有限公司。

甲酸、乙酸、丙酸、丁酸标准品：广州齐云生物科技有限公司。

1.2 设备

pH 计 PB-10，Sartorius 公司；生化培养箱 LRH-250，上海一恒科技有限公司；高压灭菌锅 YX280A，上海三申医疗机械有限公司；超净工作台 SW-CJ-IF，上海新苗医疗机械制造有限公司；气相色谱仪 5975-7890：安捷伦科技有限公司。

1.3 动物实验设计

SPF 级雄性 SD 大鼠，60 只，80~90 g，环境温度为 20~25 ℃，室内湿度保持在 40~70%湿度，自由饮水，昼夜规律，喂食时间为每日下午 5 点至次日上午 8 点。在适应性饲养一周后，随机选取 8 只大鼠为正常对照组（NCG，N=8），喂以正常饲料，其它大鼠用高糖高脂饲料饲喂。4 周后，利用四氧嘧啶造模（空腹血糖≥11.1 mmol/L）并进行称重，纳入符合条件的 SD 大鼠 32 只，并进行分组：糖尿病对照组（DCG，N=8），低剂量组（LDG，N= 8），中剂量组（MDG，N= 8），高剂量组（HDG，N=8）。每日记录各组大鼠的体重与排便量。大鼠和饲料均由中国广东省医学实验动物中心提供。

LDG 组，MDG 和 HDG 组的大鼠每天分别按照 2 g/kg，4 g/kg 和 6 g/kg 的剂量灌胃，持续 4 周。NCG 组和 DCG 组的大鼠每天灌胃同体积的蒸馏水。分别收集香蕉粉干预前后大鼠粪便检测 5 种菌群的含量。实验结束，处死大鼠取结肠内容物，测定大鼠结肠内容物中短链脂肪酸含量和 pH 值。

1.4 肠道菌群的培养

用一次性塑料带盖离心管取一定量新鲜便样，立即将盖封闭，送至实验室。称重后，加入 10 倍于粪便质量的生理盐水。然后将离心管至于震荡器上充分震荡，直至粪便分散均匀，再将粪便悬液稀释至适当浓度。然后在各选择性培养基上进行接种。培养后以菌落形成单位 CFU/g 计菌数。

1.5 结肠内容物 pH 值的测定

采用 pH 计法。老鼠处死解剖后，取各组大鼠结肠内容物 1 g，加入 2 mL 蒸馏水，充分搅拌均匀后，用 pH 计测定其 pH 值，并做好记录。

1.6 短链脂肪酸的测定[7]

采用气相色谱法。取结肠内容物 0.3 g，加 1.5 mL 磷酸缓冲液（pH=6.5），离心（4 ℃，10000 r/min，10 min）。吸取 100 μL 上清液，加入 280 μL 0.36 mol/L $HClO_4$ 和 270 μL 1mol/L NaOH，剧烈振荡。加入 50 μL 5 mol/L 磷酸，剧烈振荡。加入 300 μL 1%浓 H_2SO_4 的甲醇溶液，70 ℃回流 30 min。然后加入 300 μL 冷的正己烷提取。吸取 2 μL 有机层上柱分析。气相色谱的操作条件为：色谱柱型号为 HP-5（30 m×0.32 mm×0.25 μm）；柱温：150 ℃；进口温度：250 ℃；FID 检测温度：250 ℃；载气：氮气；流量：0.6 mL/min；分流比：50:1；升温程序：初始温度 100 ℃，以 2℃/min 升温至 200 ℃，保持 20 min。

同样的步骤处理短链脂肪酸标准化合物，标准化合物浓度：甲酸、乙酸、丙酸和丁酸均为25 mmol/L。根据实验结果按以下公式计算样品中各种短链脂肪酸的浓度，相加即为总短链脂肪酸的浓度。

$$样品短链脂肪酸浓度=\frac{样品短链脂肪酸峰面积}{标准品峰面积}\times 25mmol/L$$

1.7 数据处理

采用 SPSS1.7.3 统计软件进行数据分析，组间均值比较用单因素方差分析（One-Way ANOVA），结果用平均值±标准误差表示，P<0.05 表示差异具有显著性。

2 结果与讨论

2.1 大鼠的体重变化

表 2 香蕉粉干预后大鼠的体重变化(n=8)/g

Table 2 The weight changes after intervention of RBP

group	HDG	MDG	LDG	DCG	NCG
1st week	188.50±8.67	185.00±9.71	184.50±6.75	186.25±6.75	182.25±7.85
2nd week	223.75±9.58^{b}	216.25.±7.99	222.75±10.81^{b}	223.25±8.32	215.25±6.09
3rd week	254.00±10.10	236.00±11.87^{a}	252.25±3.78	258.00±8.31	230..00±5.83
4th week	263.50.±8.71^{ab}	258.25.±11.89^{ab}	271.75±7.50^{b}	278.75±5.06	243..25±8.89

注：a 表示该干预组与 DCG 相比较有显著性差异，P<0.05；b 表示该干预组与 NCG 相比较有显著性差异 P<0.05。

由表 2 可以看出，大鼠每周的体重呈现较大幅度的增加，干预四周后，NCG 大鼠体重增长最小，DCG 大鼠体重增长最快。与 DCG 比较，在喂食高糖高脂饲料的情况下，各剂量干预组大鼠体重增长较慢，这说明香蕉粉有助于控制体重增加。但香蕉粉灌胃剂量与大鼠体重的变化不存在相关性。干预四周后，各干预组大鼠仍然高于喂食正常饲料的 NCG 大鼠，HDG 和 MDG 大鼠的体重显著低于 DCG 大鼠。目前，肥胖一般都伴随着 2 型糖尿病的发生，有 60~90%的 2 型糖尿病患者是肥胖者[11]。本研究中，在喂食高糖高脂饲料的情况下，中剂量组和高剂量组显著低于糖尿病对照组。可能由于香蕉粉中大量的膳食纤维（抗性淀粉）对血脂代谢的调节作用[8~10]。也可能由于香蕉粉中大量的膳食纤维（包括抗性淀粉)通过胃肠中枢反馈延缓胃排空，使大鼠产生“饱腹感”，发挥能量缓释作用，从而反馈性地引起摄食量减少，控制体重[12]。目前已经有研究证明了香蕉抗性淀粉有控制体重和缓解胰岛素抵抗的作用[6]。

2.2 大鼠的排便情况

表 3 香蕉粉干预后的排便量变化(n=8)/g

Table 3 The defecate quantity changes after the intervention of RBP

group	HDG	MDG	LDG	DCG	NCG
1st week	128.57±17.71^{b}	127.00±23.84^{b}	121.29±18.91^{b}	125.14±19.60	140.43±13.22
2nd week	174.86±17.34^{ab}	177.86±7.55^{ab}	146.71±11.98	129.14±18.20	143.57±36.55
3rd week	175.29±14.28^{ab}	185.43±19.00^{ab}	157.81±33.09^{b}	137.71±21.23	158.55±32.14
4th week	182.57±12.80^{ab}	188.00±17.09^{ab}	163.00±8.75^{a}	146.57±20.44	155.14±14.89

注：a 表示该干预组与 DCG 相比较有显著性差异，P<0.05；b 表示该干预组与 NCG 相比较有显著性差异 P<0.05。

表 3 为香蕉粉干预后大鼠的排便情况。由表中的数据显示，干预前糖尿病大鼠的排便量显著低于正常对照组。随着香蕉粉干预时间的推移，其排便量明显增加。在灌胃一周后，HDG 和 MDG 大鼠的排便量显著高于 DCG 和 NCG。可见，香蕉粉具有显著的促进排便的作用。这可能与香蕉粉中的膳食纤维不容易被消化有关，未降解的抗性淀粉增加了粪便通量，加速了有毒物质的排出。另外，可能由于肠道 pH 变化刺激了肠道的蠕动，促进了排便。

2.3 香蕉粉对大鼠肠道菌群的变化

肠道微生物群是极其复杂的微生态系统，每克粪便（湿重）中约有 10^{11}~10^{12} 个细菌，约占粪便干重的 1/3[13]。肠道菌群间形成的相互协调、制约的微生态环境与宿主健康密切相关。本研究所选择的 5 种细菌在肠道菌群中具有一定代表性，是肠道菌群的常见组成菌。其中双歧杆菌和乳酸杆菌是肠道有益菌，是最具生理意义的两种菌，在肠道内可产生乳酸和乙酸，能抑制有害菌产生。而肠杆菌与肠球菌为条件致病菌，可将食物中的一些成分变为多种有害物质，如胺、吲哚、酚类，从而引起某些肠道疾病[13]。健康状态下，拟杆菌是肠道菌群的重要组成部分，与其它菌共同行

使肠道菌群的正常功能，但过量的脆弱拟杆菌却能引起各种感染。从表 4 可以看出，与正常对照组大鼠相比，糖尿病大鼠的肠道菌群结构已发生不同程度的变化，特别是双歧杆菌已显著低于正常大鼠，且 B/E 值显著降低。此外，大部分糖尿病大鼠的乳酸杆菌数量也已经显著低于正常大鼠。用不同剂量的香蕉粉干预 4 周后，再次测定各组大鼠粪便中的肠道菌群，结果见表 5。肠杆菌与肠球菌数量干预前后各组大鼠没有规律性变化，各干预组大鼠的变化也没有一致性；各干预组糖尿病大鼠的拟杆菌的数量均显著高于 NCG 大鼠和 DCG 大鼠，这可能与高脂饲料有关[14]；各干预组大鼠的乳酸杆菌与双歧杆菌菌落数相对于干预前均有所升高，且各干预组大鼠均显著高于 DCG 大鼠，却低于 NCG；各干预组大鼠的 B/E 值均有所增大，显著高于 DCG 大鼠。B/E 值被认为是评价肠道菌群状态的一个重要指标。双歧杆菌是肠道有益微生物的典型代表，而肠杆菌被认为是肠道正常菌群结构向不利于机体健康方向转变的重要警示因子，可以作为有害菌的代表菌。二者比值可以从正反的对比来评价肠道菌群结构的状况。

表 4 香蕉粉干预前各组大鼠肠道菌群数量（n=8，$\bar{x}$ ±s, log cfu/g）

Table 4 The colony number of intestinal flora of rats before RBP intervention

组别	肠杆菌	双歧杆菌	乳酸杆菌	拟杆菌	肠球菌	双歧杆菌/肠杆菌(B/E)
NCG	6.92±0.54	8.87±0.20	7.73±0.47	7.54±0.33	8.31±0.39	1.28±0.05
DCG	7.17±0.35	8.19±0.19^{b}	7.28±0.30^{b}	7.59±1.65	8.23±0.10	1.15±0.15^{b}
HDG	6.91±0.59	8.01±0.29^{b}	7.59±0.44	7.01±1.58^{b}	8.16±1.03	1.15±0.29^{b}
MDG	7.10±0.37	8.24±0.33^{b}	7.21±0.35b	7.57±0.35	8.13±1.14	1.17±0.10^{b}
LDG	7.29±0.48	8.43±0.26^{b}	7.11±0.29b	7.42±0.05	7.81±0.81^{b}	1.16±0.13^{b}

注：b 表示该组与 NCG 相比较有显著性差异 P<0.05。

表 5 香蕉粉干预后各组大鼠肠道菌群数量(n=8，$\bar{x}$ ±s, log cfu/g)

Table 5 The colony number of intestinal flora of rats after RBP intervention

组别	肠杆菌	双歧杆菌	乳酸杆菌	拟杆菌	肠球菌	双歧杆菌/肠杆菌(B/E)
NCG	7.01±0.16^{a}	8.72±0.62^{a}	8.15±0.24^{a}	7.25±0.45^{a}	7.73±0.16^{a}	1.26±0.09^{a}
DCG	7.39±0.47^{b}	8.21±0.18^{b}	7.19±0.38^{b}	7.87±0.65^{b}	8.11±0.50^{b}	1.13±0.07^{b}
HDG	7.29±0.48^{b}	8.43±0.52^{ab}	7.75±0.34^{ab}	8.21±0.18^{ab}	8.25±0.31^{b}	1.17±0.15^{ab}
MDG	6.95±0.43^{a}	8.61±0.29^{a}	7.96±0.31^{ab}	8.43±0.52^{ab}	8.11±0.34^{ab}	1.24±0.08^{a}
LDG	7.12±0.38^{ab}	8.51±0.59^{ab}	7.47±0.69^{ab}	8.15±0.24^{ab}	8.20±0.34^{b}	1.21±0.11^{a}

注：a 表示该组与 DCG 相比较有显著性差异，P<0.05；b 表示该组与 NCG 相比较有显著性差异 P<0.05。

2.4 大鼠结肠发酵产物和 pH 值的变化

在所选择的气相色谱条件下，对各组大鼠结肠内容物的短链脂肪酸含量和 pH 值进行分析，见表 6。

表 6 香蕉粉对大鼠结肠内容物中 SCFA 和 pH 值影响（n=8）

Table 6 The effect of RBP on SCFA and pH of colon content of rats

group	SCFA/(mmol/L)	pH
NCG	50.30±10.59^{a}	7.24±0.40^{a}
DCG	32.46±8.34^{b}	7.76±0.45^{b}
HDG	188.50±46.90^{ab}	5.67±0.30ab
MDG	118.60±32.41^{ab}	6.18±0.74^{ab}
LDG	61.42±10.80^{ab}	6.74±0.91^{ab}

短链脂肪酸（SCFA）是不易消化的碳水化合物在结肠内受肠道细菌酵解生成的主要产物。由表 6 可以看出，SCFA 总量随香蕉粉干预剂量的增大而增高，相反，pH 值逐渐减小。可见，肠道内酸碱度受 SCFA 影响很大。香蕉粉作为益生元能促进结肠内有益微生物的生长或活性，其具体的相关机理需要进一步研究，但本实验的数据表明香蕉粉在大鼠体内的作用和结肠发酵物有关。

3 结论

本文研究表明，香蕉粉的摄入有助于控制糖尿病大鼠的体重增加，促进糖尿病大鼠的排便，且能够调节糖尿病大鼠肠道菌群结构，可以作为益生元促进有益菌的生长，抑制有害菌的生长，使其代谢产物 SCFA 增多，降低肠道内 pH 值，从而促进肠道健康。

参考文献

[1] 李积华,黄茂芳,钟业俊.我国香蕉粉制备现状[J].中国热带农业,2008,3:33-34
Li Jihua, Huang Maofang, Zhong Yejun. The preparation status of banana powder in China [J]. China Tropical Agriculture, 2008, 3: 33-34

[2] 刘林林,马超,刘志勇.香蕉粉的研究进展[J].食品工业,2012,33(10):140-143
Liu Lin-lin, Ma Chao, Liu Zhi-yong, et al. The Research Progress of Banana Powder [J]. The Food Industry, 2012, 33(10): 140-143

[3] Menezes E W, Tadini C C, Tribess T B, et al. Chemical Composition and Nutritional Value of Unripe Banana Flour (Musa acuminata, var. Nanicao) [J]. Plant Foods for Human Nutrition (Formerly Qualitas Plantarum), 2011: 1-7

[4] Topping DL, Clifton PM. Short-chain fatty acids and human colonic function, roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides [J]. Physiol. Rev., 2001, 81: 1031-1064

[5] 王霞.肠道菌群与维吾尔族 2 型糖尿病的关联研究[D].新疆医科大学,2007
Wang Xia. The relationship between intestinal microflora and 2 diabetes mellitus in xinjiang uygur [D]. Xinjiang Medical University, 2007

[6] Backhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, et al. Hostbacterial mutualism in the human intestine [J]. Science, 2005, 307: 1915-1920

[7] Drzikova B, Dongowski G, Gebhardt E, et al. The composition of dietary fibre-rich extrudates from oat affects bile acids binding and fermentation in vitro [J]. Food Chemistry, 2005, 90 (12): 181-192

[8] Ble-Castillo JL, Aparicio-Trapala MA, Francisco-Luria MU, et al. Banana Resistant Starch Flour Supplementation Reduces Body Weight and Insulin Resistance in Obese Type 2 Diabetics [J]. OBESITY, 2008, 16: S152-S153

[9] C M Brites, M J Trigo, B Carrapiço, et al. Maize and resistant starch enriched breads reduce postprandial glycemic responses in rats [J]. Nutrition Research, 2011, 31(4): 302-308

[10] A Mitra, D Bhattacharya, S Roy. Role of resistant starches particularly rice containing resistant starches in type2 diabetes [J]. Journal of Human Ecology, 2007, 21(1): 47-51

[11] Stumvoll M, Goldstein BJ, van Haeften TW. Type 2 diabetes, principles of pathogenesis andtherapy [J]. Lancet, 2005, 365, 1333-1346

[12] Slavin JL, Green H. Fibre and satiety [J]. Nutr. Bull, 2007, 32: 32-42

[13] 陈贵堂,赵霖,鲍善芬.不同植物蛋白质对大鼠肠道菌群的影响[J].中国食品学报,2006,6(1):238-242
Chen Guitang, Zhao Lin, Bao Shanfen, et al. Effects of Diet Formulations Containing Proteins from Different Sources on Intestinal Flora in Growing Rats [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2006, 6 (1): 238-242

[14] 陈辉.滥用抗生素肠道菌群数月难恢复[N].羊城晚报,2012,12(28):第 B07 版
Chen Hui. Misuse of antibiotics causes difficulty in restoring intestinal flora after a few months [N]. Yangcheng Evening News, 2012-12-28, B07