

# 金柚幼果膳食纤维改善糖尿病小鼠的肠道健康

黄妙如, 宋海凤, 陈子钧, 胡悦, 林琪欣, 张浣悠, 马路凯, 刘祎帆

(仲恺农业工程学院轻工食品学院, 广东广州 510000)

**摘要:** 为了研究金柚幼果膳食纤维对小鼠肠道健康的影响。将小鼠随机分为6组,按照0.2 mL/10 g体重的剂量进行灌胃。灌胃4周后,HE染色观察结肠组织损伤情况,收集小鼠粪便及结肠,测定水分、pH值和短链脂肪酸(SCFAs)含量。通过试剂盒提取各组小鼠粪便细菌总DNA,利用高通量测序技术对16S rRNA基因的V4区域进行测序,最后通过生物信息学方法对测序数据进行分析,并结合前期研究进行血糖相关指标与肠道菌群的相关性分析。结果显示:金柚幼果膳食纤维实验组可提高糖尿病小鼠在结肠及粪便中的水分含量,SCFAs含量,降低pH值水平,其中水分含量以TDF组上升最为显著,分别提高了8.04%和21.36%;SCFAs含量在结肠、粪便中均在TDF组有显著变化,分别升高475.19%(乙酸)和702.56%(正丁酸)。同时HE染色实验表明金柚幼果膳食纤维在一定程度上可以减缓因糖尿病导致的肠道黏膜损伤;其能够促进有益菌群繁殖,同时抑制有害微生物增殖;该膳食纤维调节小鼠的血糖水平可能与其进入肠道后被益生菌发酵,产生短链脂肪酸有关。结果表明金柚幼果膳食纤维可以维持肠粘膜屏障的完整性,调节肠道菌群的结构,对小鼠的肠道健康具有改善调节的作用。

**关键词:** 金柚幼果膳食纤维; 糖尿病小鼠; 肠道健康; 肠道菌群; 高通量测序

文章编号: 1673-9078(2021)07-31-39

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.7.1099

## The Dietary Fiber of Pomelo Fruitlets Improves Intestinal Health of Diabetic Mice

HUANG Miao-ru, SONG Hai-feng, CHEN Zi-jun, HU Yue, LIN Qi-xin, ZHANG Huan-you, MA Lu-kai, LIU Hui-fan

(College of Light Industry and Food Sciences, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510000, China)

**Abstract:** In order to investigate the effect of dietary fiber from pomelo fruitlets on intestinal health in mice, the mice were randomly divided into 6 groups, in accordance with the dose of 0.2 mL/10 g body weight for intragastric administration. After 4 weeks of gavage, the mouse feces and colon were collected, and the water content, pH value and short-chain fatty acid (SCFAs) content were measured; HE staining was used to observe the damage of colon tissue. The total DNA of the fecal bacteria of each group of mice was extracted by the kit, and the V4 region of the 16S rRNA gene was sequenced using high-throughput sequencing technology. Finally, the sequencing data were analyzed by bioinformatics methods, and the correlation between blood glucose related indicators and intestinal flora was analyzed in combination with previous studies. The results showed that the water content, SCFAs content in the colon and feces of diabetic mice were increased, and the pH level was decreased in the dietary fiber experimental group. The water content in colon and feces of TDF group was increased most significantly, by 8.04% and 21.36%, respectively. SCFAs content in colon and feces were significantly increased in TDF group, increasing by 475.19% (acetic acid) and 702.56% (butyric acid), respectively. Meanwhile, the intestinal mucosal damage caused by diabetes was relieved by the dietary fiber of pomelo fruitlets to some extent in the HE staining experiment. Moreover, the growth of beneficial bacteria could be promoted and

引文格式:

黄妙如,宋海凤,陈子钧,等.金柚幼果膳食纤维改善糖尿病小鼠的肠道健康[J].现代食品科技,2021,37(7):31-39

HUANG Miao-ru, SONG Hai-feng, CHEN Zi-jun, et al. The dietary fiber of pomelo fruitlets improves intestinal health of diabetic mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(7): 31-39

收稿日期: 2020-11-27

基金项目: 广东省基础与应用基础研究基金项目(2019A1515011283)

作者简介: 黄妙如(1999-),女,本科生,研究方向:天然产物开发

通讯作者: 刘祎帆(1990-),女,博士,副教授,研究方向:天然产物开发

proliferation of harmful microorganisms could be inhibited. The blood glucose level of mice was regulated by the dietary fiber, which may be related to the fermentation of probiotics and the production of short-chain fatty acids after entering the intestinal tract. It can be seen that the dietary fiber of pomelo fruitlets can maintain the integrity of intestinal mucosal barrier, regulate the structure of intestinal flora, and improve the intestinal health of mice.

**Key words:** dietary fiber of pomelo fruitlets; diabetic mice; intestinal health; intestinal microbiota; high-throughput sequencing

在柚子种植中,有大量自然掉落的柚子幼果,该幼果皮厚肉少,销售价值大幅下降,造成经济损失与浪费。在之前的研究中<sup>[1]</sup>,提取了金柚幼果中的三种膳食纤维(dietary fiber, DF),分别是总膳食纤维(total dietary fiber, TDF)、可溶性膳食纤维(soluble dietary fiber, SDF)与不溶性膳食纤维(Insoluble dietary fiber, IDF)。对它们的结构和性质进行表征,研究发现三种膳食纤维的持水、持油和膨胀性均延缓了葡萄糖的扩散,抑制了 $\alpha$ -淀粉酶的合成,影响了胆固醇胶束的形成。通过四氧嘧啶诱导的糖尿病小鼠模型,研究发现金柚幼果的三种膳食纤维均可改善血糖浓度、降低血脂水平,并有利于影响肠道菌群的丰富度和多样性。

糖尿病是危害人体健康的非传染性慢性疾病之一<sup>[2]</sup>。膳食纤维在营养学上被作为一种十分重要的营养素<sup>[3]</sup>。膳食纤维可以有效延缓消化<sup>[4]</sup>,对糖尿病患者调节胰岛素敏感性、改善胆固醇的排泄等有一定的作用<sup>[5]</sup>。相关研究表明,膳食纤维可以使肠道内容物体积增大和水分含量升高,充盈肠胃腔<sup>[6]</sup>。膳食纤维经过肠道微生物发酵产生短链脂肪酸,肠道内pH值降低可导致微生态环境的变化,改善有益菌的繁殖,同时抑制肠道有害菌群的生长<sup>[7,8]</sup>。

肠道菌群的各种反应在肠道健康中都起关键性的作用,工作良好的健康肠道是人体全面健康的基础和保障。因此,本研究以金柚幼果膳食纤维为样品,通过小鼠4周灌胃喂养,观察和检测小鼠肠道内环境健康相关指标的变化;以小鼠粪便中的16S rDNA基因为研究对象,通过高通量测序技术解读微生物群落的多样性、丰富度及群落结构,研究金柚幼果的膳食纤维对糖尿病小鼠肠道菌群的影响,进一步阐明肠道菌群在金柚幼果膳食纤维降糖效果中的作用,为金柚幼果膳食纤维改善肠道健康提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

梅州沙田柚幼果,幼果为同一批次落果,个头大小相仿。

BN1680型四氧嘧啶, Bioswamp公司;戊巴比妥钠, Merck公司;耐高温 $\alpha$ -淀粉酶(4000 U/g),纤维

素酶(400 U/mg),木瓜蛋白酶(800 U/mg),上海瑞永生物科技有限公司;糖化酶,中性蛋白酶,河南万邦实业有限公司;P3761型戊巴比妥钠, Sigma Merck公司。

### 1.2 仪器与设备

360型血糖仪,鱼跃公司;J21070型手术直剪、WA3040型显微镊、WA1020型显微剪,金钟公司;ME203E/02电子天平,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;FD-1D-50真空冷冻干燥机,北京博医康实验仪器公司;HY-200标准分样筛,金源筛网;BCD-192TGN冰箱,青岛海尔股份有限公司;L600离心机,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;DHG-9023A恒温干燥箱,飞迪科技有限公司;HH-2s数显恒温水浴锅,金坛市科杰仪器厂;榨汁机、密封袋、保鲜纸、一次性培养皿、一次性手套,市售。

### 1.3 实验动物

雄性无特定病原体的昆明小鼠,六周龄,体重 $20.0 \text{ g} \pm 0.20 \text{ g}$ ,购于武汉华联科生物技术有限公司,许可证号:SYXK(鄂)2018-0104。

### 1.4 实验方法

#### 1.4.1 金柚幼果的预处理

清洗柚子幼果,切成小于4 cm的小块,经鼓风干燥器完全干燥后( $55 \text{ }^\circ\text{C}$ , 24 h),再粉碎样品转移到烧杯中,用封口膜密封并在 $-4 \text{ }^\circ\text{C}$ 条件下保存备用。

#### 1.4.2 膳食纤维的提取

参考Liu等人的方法<sup>[1]</sup>,具体实验步骤如下:

##### 1.4.2.1 总膳食纤维(TDF)制备

取10 g柚子粉置于250 mL锥形瓶中,以1:10的比例加入去离子水搅拌,微波振荡15 min,沸水浴糊化15 min,再次振荡后( $50 \text{ }^\circ\text{C}$ , 30 min),依次加入耐高温 $\alpha$ -淀粉酶( $95 \text{ }^\circ\text{C}$ , 60 min)、糖化酶(60  $^\circ\text{C}$ , 60 min)、中性蛋白酶( $55 \text{ }^\circ\text{C}$ , 120 min)进行酶解,最后沸水灭酶15 min,冷却,4倍无水乙醇处理,过夜放置,抽滤,冻干,得总膳食纤维。

##### 1.4.2.2 水溶性膳食纤维(SDF)制备

取10 g柚子粉,加入20 mL乙酸-乙酸钠缓冲液混

匀,在沸水浴中煮沸 1 h,冷却,加入 0.03% (体积分数) 纤维素酶,50 °C 条件下酶解 1.5 h。加热混合物到 85 °C,10 min 灭酶,再加入 0.06% 木瓜蛋白酶在 60 °C 酶解 30 min,冷却,4 倍 95% 乙醇处理,过夜放置。

#### 1.4.2.3 不溶性膳食纤维 (IDF) 制备

取 10 g 柚子粉,以 1:10 的比例加入去离子水进行溶解,离心分离 (1500×g, 15 min) 后取沉淀,进行酶法处理 ( $\alpha$ -淀粉酶,温度 70 °C, pH 5.5, 加酶量 0.6%, 时间 80 min), 继而过滤,取滤渣烘干,得水不溶性膳食纤维。

### 1.4.3 动物实验

#### 1.4.3.1 糖尿病小鼠模型的制备

参照 Liu 等人方法<sup>[9]</sup>, 详见图 1。六周龄的雄性昆明小鼠 (20.0 g±2.0 g), 按体质量随机分为 6 组: 空白对照组 (CON 组)、糖尿病组 (DM 组)、总膳食纤维

组 (TDF 组)、可溶性膳食纤维组 (SDF 组)、不可溶性膳食纤维组 (IDF 组)、阿卡波糖阳性对照组 (ACAR 组), 每组 6 只, 并随机提供食物和水。对照组给予生理盐水腹腔注射, 另外 5 组, 禁食 24 h, 经腹腔注射四氧嘧啶 (200 mg/kg 体重)。36 h 后禁食 12 h, 尾部取血测其空腹血糖值, 当血糖小于 15 mM 并在注射后 1 周内保持血糖浓度为 15 mmol/L~30 mmol/L 时, 建立糖尿病小鼠模型 (DM 组)。每天以 0.2 mL/10 g 体重的剂量分别将蒸馏水 (CON 组、DM 组)、TDF、SDF、IDF、阿卡波糖 (ACAR 组: 阳性对照组) 给予小鼠进行灌胃, 连续灌胃 4 周。

#### 1.4.3.2 样品采集

实验结束, 收集粪便样品, 随后通过异氟烷处理处死小鼠, 收集结肠内容物, 所有结肠和粪便样品均保存在 -20 °C 备用。

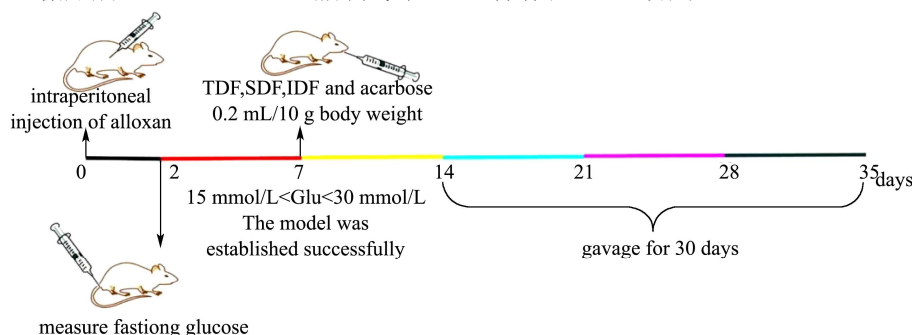


图 1 动物模型建立过程图

Fig.1 Animal model establishment process diagram

#### 1.4.4 样品成分的测定方法

##### 1.4.4.1 HE 染色

将结肠置于中性福尔马林固定液中固定, 经脱水、包埋、切片后, 石蜡切片常规脱蜡, 梯度乙醇水化, 苏木精染色 4 min, 体积分数 1% 盐酸乙醇分化 20 s, 自来水和蒸馏水各洗 2 min; 稀氨水返蓝 30 s, 水洗 2 min; 伊红染色 20 s, 水洗 2 min。脱水、透明、中性树胶封片, 于显微镜下观察结肠组织<sup>[10,11]</sup>。

##### 1.4.4.2 水分测定

每只小鼠称取 50 mg 结肠及粪便样品, 然后保存在 -20 °C 中。融化样品并立即放入 120 °C 的干燥箱中, 记录粪便样品的恒定重量。水分含量的计算参考 Hu<sup>[12]</sup> 等人的方法。

##### 1.4.4.3 pH 值测定

每只小鼠称取 50 mg 结肠及粪便样品, 解冻后用五倍超纯水稀释, 离心 (3900×g, 15 min)。收集上清液, 用微量 pH 计测量 pH 值。

##### 1.4.4.4 短链脂肪酸测定

用五倍超纯水稀释每只小鼠的 10 mg 粪便样品后离心 (3900×g, 15 min), 收集上清液用于测定 SCFAs。

分别稀释一定浓度梯度的乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸和戊酸标准品用于后期的气相色谱分析, 根据绘制保留时间与有机酸浓度的标准曲线用于求解样品中 6 种有机酸的含量。有机酸标准品和所有样品使用 Agilent 7890A GC 和 Agilent 5975C MS 系统, 气相色谱柱 (HP-INNOWAX, 190901N-213; J & W Scientific, Santa Clara, CA, USA), 使用 30 m×250  $\mu$ m I.S., 0.25  $\mu$ m 的色谱柱<sup>[9]</sup>。

#### 1.4.5 DNA 的提取和测序

使用粪便基因组 DNA 提取试剂盒提取各组小鼠粪便样品中微生物总 DNA, 并以此为模板, 使用引物 515F (5'-GTGYCAGCMGCCGCGGTAA-3') 和 806R (5'-GGACTACNVGGGTWCTAAT-3') 对细菌 16S rDNA 基因 V4 区域进行聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR) 扩增。PCR 条件: 反应体系 25  $\mu$ L, DNA 模板 50 ng, 上下引物各 2.5  $\mu$ L, PCR MIX 12.5 mL, 用双蒸水定容至 25  $\mu$ L; 反应条件: 98 °C 预变性 30 s, 98 °C 变性 10 s, 54 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 42 s, 35 个循环, 72 °C 终延伸 10 min。

PCR 扩增产物利用 AxyPrep PCR Cleanup Kit 回

收试剂盒回收 DNA。利用 Qubit dsDNA HS Assay Kit 在 Promega Quanti Fluor 荧光定量系统上进行文库定量, 梯度稀释浓度大于 2 nM 的上机序列文库, 根据所需测序量按相应比例混合, 经 NaOH 变性为单链, 最后上机测序。

#### 1.4.6 数据分析

利用 Illumina MiSeq 测序仪对样品进行 2×250 bp 的双端测序, overlap 将双端数据进行拼接, 并进行质控、嵌合体过滤, 获得高质量 cleandata.DADA2 (Divisive Amplicon Denoising Algorithm), 通过“去重复”(Dereplication, 相当于以 100%相似度聚类)等步骤获得单碱基精度的代表序列。DADA2 的核心是去噪, 使用 ASVs (Amplicon Sequence Variants) 的概念构建类 OUT (Operational Taxonomic Units), 获得最终的特征表以及特征序列, 进一步进行多样性分析、物种分类注释和差异分析等。

以上实验均设置 3 个平行, 结果使用平均值±标准差 (Mean±SD) 的方式表示。采用美国 IBM 公司 SPSS Statistics 25 软件, 进行单因素方差分析 (one-way ANOVA) 中的邓肯法 (Duncan) 分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 膳食纤维对结肠组织形态结构的影响

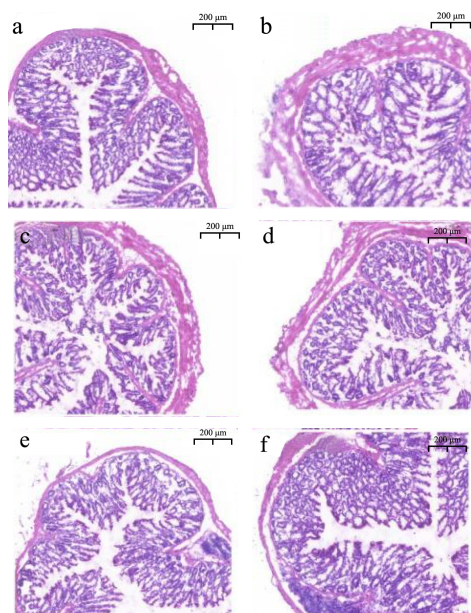


图 2 小鼠结肠组织学染色结果 (200x)

Fig.2 Results of histologically-stained islet in pancreas

注: a: CON; b: DM; c: TDF; d: SDF; e: IDF; f: ACAR。

肠道是机体最大的免疫器官, 肠道黏膜担任着消化吸收和人体第一道防线的任务, 维持黏膜的完整性

至关重要<sup>[13]</sup>。本试验结果如图 2 所示, CON 组和 ACAR 组的小鼠结肠黏膜上皮形态清晰, 结构完整, 未见溃疡及损伤情况; DM 组结肠黏膜的结构遭到破坏, 坏死甚至脱落。摄入三种膳食纤维的高血糖小鼠在形态结构上有改善作用。在李耀东等人的研究中<sup>[14]</sup>, 复方海藻膳食纤维可以降低经四氧嘧啶处理的糖尿病小鼠血糖, 减轻高血糖对机体的毒害作用, 本研究与其结果具有相似性。

### 2.2 膳食纤维对结肠及粪便水分的影响

由图 3a 可知, 与 DM 组水分含量 (72.87%) 相比, 其它组结肠中的水分含量均有显著差异 ( $p<0.5$ ); 其中在 TDF、ACAR 组中结肠的水分含量高于 CON 组, 且 TDF 组 (78.73%) 中结肠水分含量略高于 ACAR 组 (78.43%), 说明金柚幼果膳食纤维的干预可以使糖尿病小鼠在结肠中的水分含量有所改善, TDF 的改善效果最为显著。各实验组小鼠粪便的水分含量相比于 CON、DM 组均有所升高, 与 DM 组的差异极显著 ( $p<0.5$ ), 另外 ACAR 组在粪便中的水分含量为 60.32%, 高于各膳食纤维组。说明膳食纤维的摄入可以促进小鼠粪便的保湿能力。研究发现<sup>[15]</sup>, 甘薯渣膳食纤维可改善大鼠便秘情况, 提高肠道推进率, 有效提高粪便内的含水量。在王娟<sup>[16]</sup>等人对香蕉膳食纤维的研究中, 与模型组相比, 中、高剂量组小鼠粪便含水量分别比模型组高了 25.7% 和 36.7%, 香蕉膳食纤维在体内显示出良好的吸水效果, 能够增加小鼠粪便含水率。本研究结果与上述学者的研究结果相似, 说明金柚幼果膳食纤维具有良好的吸水膨胀能力, 促进排便, 减少有毒有害物质对肠道的损伤。

### 2.3 膳食纤维对结肠及粪便 pH 值的影响

各组小鼠在结肠及粪便的 pH 值如图 3b 所示, 从图中可以看出 DM 组之外各组小鼠 pH 值无统计学差异, 且 DM 组显著高于正常组, 说明小鼠患有糖尿病使肠道 pH 值升高, 不利于双歧杆菌和乳酸杆菌等肠道有益菌的生存<sup>[17]</sup>; 但是膳食纤维处理后各组小鼠肠道 pH 值显著下降, 说明金柚幼果膳食纤维能降低糖尿病小鼠肠道 pH 值, 更有利于有益菌的生长, 改善肠道菌群。在杨光<sup>[7]</sup>等人的研究中, 不同剂量的山楂膳食纤维, 对小鼠粪便的 pH 值均有明显降低; 同时, 与对照组相比, 低剂量组结肠内容物 pH 值降低了 10.75%; 在本研究中, TDF 组小鼠结肠内容物 pH 值降低了 19.14%, 作用效果更显著。这证明金柚幼果膳食纤维可调节肠道内 pH 值, 对维持肠道内环境的稳定性有一定的作用。

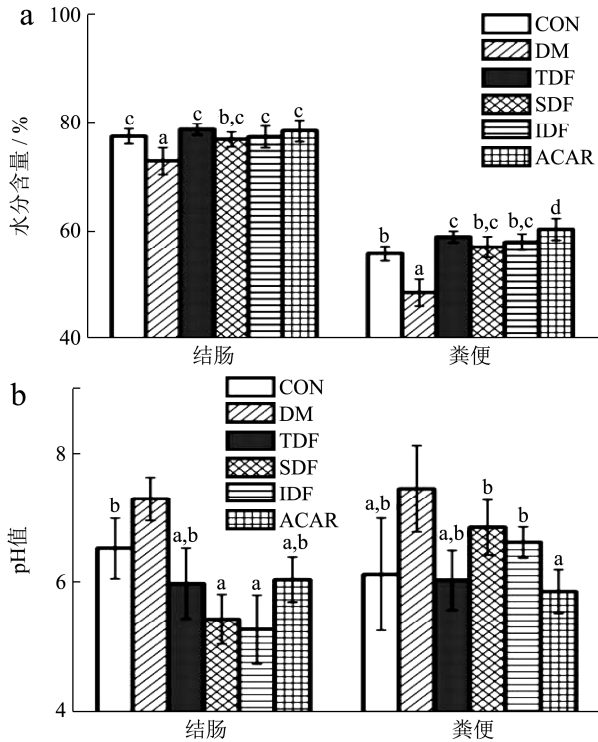


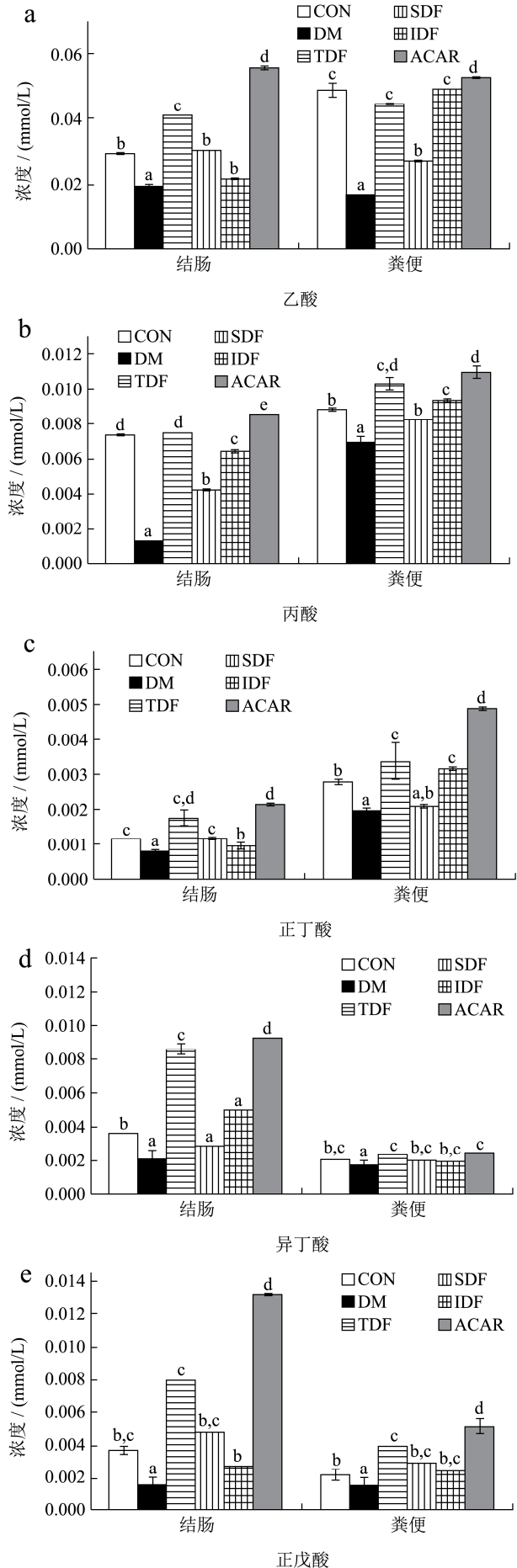
图3 膳食纤维对糖尿病小鼠结肠和粪便中水分含量(a)、pH值(b)的影响

Fig.3 Effects of dietary fiber on water content (a) and pH (b) in colon and feces of diabetic mice

注：柱状图上的不同小写字母表示在 0.05 水平存在显著性差异。图 4、5 同。

### 2.4 膳食纤维对结肠及粪便 SCFAs 的影响

由图 4 可知，除异戊酸外，各实验组结肠内酵解产物 SCFAs 均显著高于 DM 组，其中 TDF 组中的 SCFAs 含量最高。与 DM 组相比，TDF 组结肠内酵解产物，6 种短链脂肪酸含量分别提高 111.46%、475.19%、121.79%、316.67%、410.97%、197.16%。说明添加膳食纤维能明显提升肠道内 SCFAs 含量。各实验组小鼠粪便中 SCFAs 含量相较于 DM 组均有显著性升高，IDF 组乙酸提高量最显著，为 196.36%，其余 5 种短链脂肪酸含量，以 TDF 组的变化最为显著，分别提高 489.05%、702.56%、385.55%、162.00%、140.43%。说明金柚幼果膳食纤维具有提高结肠内容物质酵解反应发生速度的作用，产生大量短链脂肪酸。短链脂肪酸的增加可有效降低结肠内的 pH 值，从而促进有益菌增殖，抑制有害微生物繁殖<sup>[18]</sup>。研究发现<sup>[19]</sup>，山楂膳食纤维在肠道内被微生物利用后，发生酵解反应，能促使乙酸、丙酸、丁酸等短链脂肪酸的产生。此外，苹果作为一种富含膳食纤维的水果，JIANG TT 等人表明随着苹果摄入量的增加，粪便中乙酸的浓度也有增加的趋势<sup>[20]</sup>。这与本试验结果一致，且在本试验中 TDF 组效果最佳。



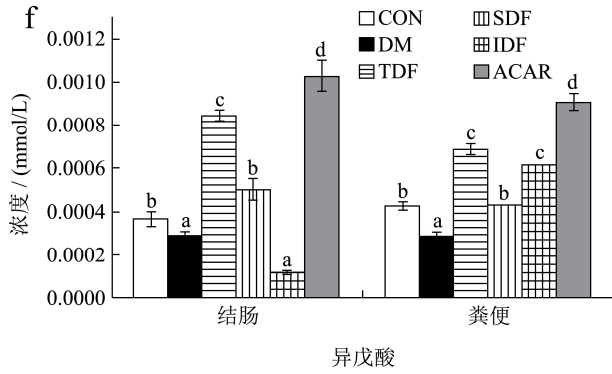


图4 膳食纤维对糖尿病小鼠结肠和粪便中乙酸(a)、丙酸(b)、正丁酸(c)、异丁酸(d)、正戊酸(e)、异戊酸(f)含量的影响  
**Fig.4 Effect of dietary fiber on acetic acid (a), propanoic acid (b), butyric acid (c), isobutyric acid (d), n-valeric acid (e), isovaleric acid (f) content in colon and feces of diabetic mice**

2.5 膳食纤维对高血糖小鼠肠道菌群的多样性分析

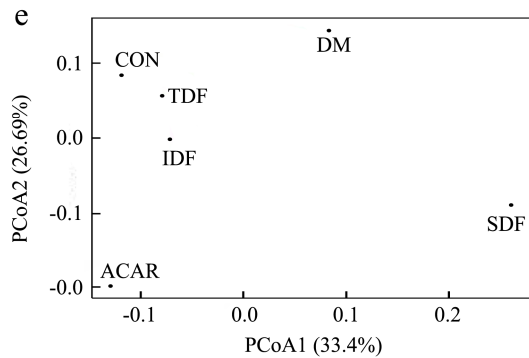
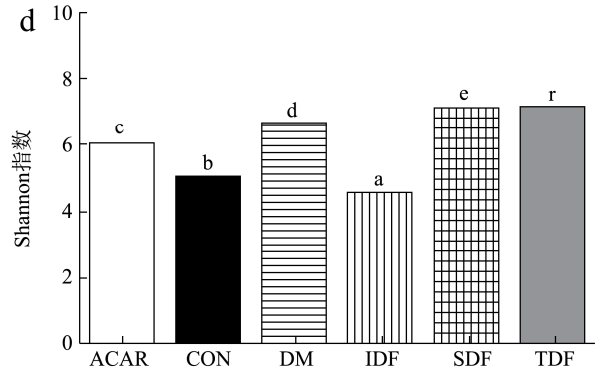
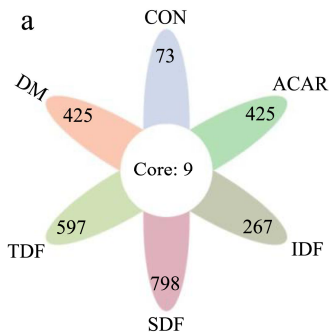
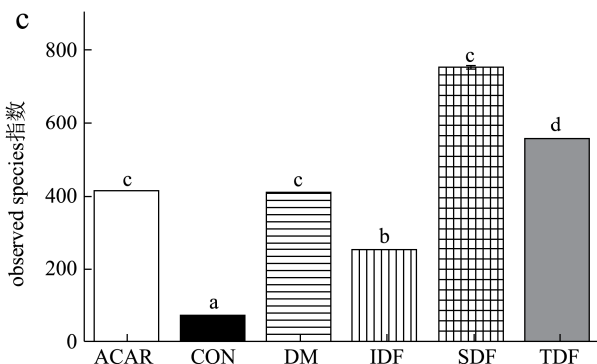
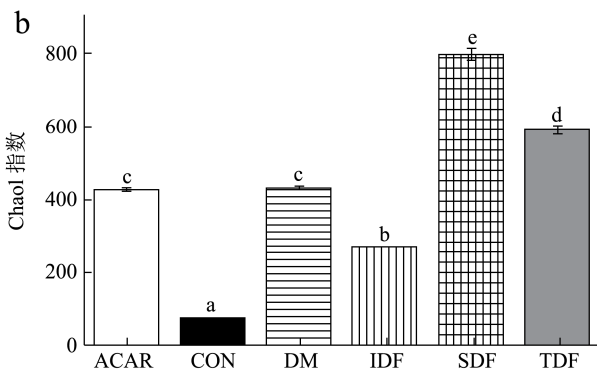


图5 韦恩图及基于OTU总数的多样性指数图

**Fig.5 Venn diagram and diversity index graph based on the total number of OTUs**

注：韦恩图(a)、Chao1 指数(b)、observed species 指数(c)、Shannon 指数(d)、PCoA 分析图(e)。

Venn 图可以直观反映不同样本中共有和特有的 OTU 数，并且可以看出不同组别之间的关系及差异。同时 Chao1 指数、observed species 指数和 Shannon 指数常用于表征菌群物种多样性<sup>[12]</sup>。从图 5a 可得出，SDF、TDF 组的 OTU 数分别为 789 和 597，明显高于空白对照组（73）和糖尿病组（425），其中 SDF 组的增加尤为显著，IDF 组菌群含量处于空白对照组和糖尿病组之间。图 5b~d 显示对高血糖小鼠给予三种膳食纤维灌胃后，三种膳食纤维表现出不同的影响：TDF、SDF 能在一定程度上改善糖尿病小鼠肠道菌群的丰富度，IDF 未表现出对菌群丰富度和均匀度的上调作用。通过 PCoA 分析（图 5e）可以看出，糖尿病组与其余组中细菌的组成差异性很大，其中 SDF 组相差最大，IDF 组和 TDF 组中细菌组成相似度相对较高。可以看到 SDF 组与 ACAR 组是最接近的，这说明 SDF 组的效果相对明显。白冰瑶等研究发现<sup>[21]</sup>，红枣膳食纤维在 0.60 g/(kg·d)条件下具有明显改善肠道菌群的生理功效。研究表明<sup>[13]</sup>，添加甘薯渣可溶性膳食纤维能够调节小鼠肠道菌群，且当添加 0.5 g/L 的可溶性膳食纤维能够最显著改变肠道菌群的数量及结构。本研究结果表明三种膳食纤维均能调节糖尿病小鼠的肠道



菌群,并且膳食纤维的添加存在最适种类,当添加 SDF 能够显著改善小鼠肠道菌群的数量和结构,这与上述研究具有相似性。

### 2.6 肠道菌群物种组成分析

在门 (phylum) 的分类水平上 (图 6a), 可以得到在所有组别中, 拟杆菌门 (Bacteroidetes)、厚壁菌门 (Firmicutes)、变形菌门 (Proteobacteria), 这三种菌占肠道菌群总构成 95% 以上的含量。拟杆菌门在对照组和各实验组中均为优势菌群, 第二优势菌群为厚壁菌门。由图可得厚壁菌门, 在添加膳食纤维的组别中数量明显增多。厚壁菌门是肠道的有益菌, 在肠道中能够帮助多糖发酵, 维持肠道的健康。同时可以发现添加金柚幼果膳食纤维可以改变 Firmicutes 与 Bacteroidetes 的比率, 并提高 Firmicutes 的数量, 这与高美玲等人的研究结果一致<sup>[13]</sup>, 其中本试验以 TDF 组的效果最为明显。

在属 (genus) 水平上 (图 6b), 可以看出, 拟杆菌属 (*Bacteroides*)、乳杆菌属 (*Lactobacillus*) 等在实验组和对照组中均有不同的含量。拟杆菌属 (*Bacteroides*) 在 IDF 组中含量最为丰富, 在 SDF 组中含量最低。乳杆菌属 (*Lactobacillus*) 在 ACAR 组为优势菌种, 而在其他实验组中的含量则低于空白组, SDF 组与空白组的差异极小。乳杆菌是一种优质的益生菌, 已有大量文献资料表明其具有促进肠上皮细胞

增殖、参与调解结肠粘液层、重塑黏蛋白糖基化等功能<sup>[22,23]</sup>。

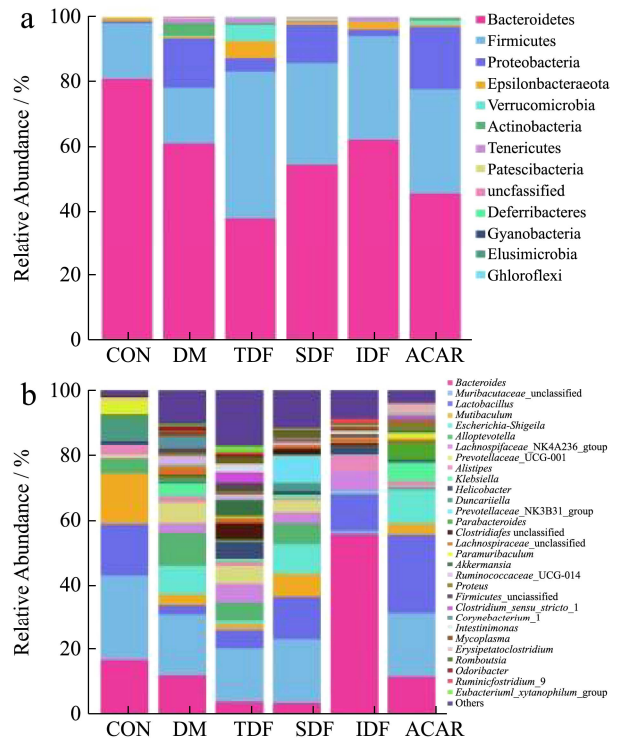


图 6 小鼠肠道菌群在门与属水平上的物种组成分析柱状图  
Fig.6 Analysis of the composition of intestinal flora in mice at the level of phylum and genus

### 2.7 血糖相关指标与肠道菌群的相关性分析

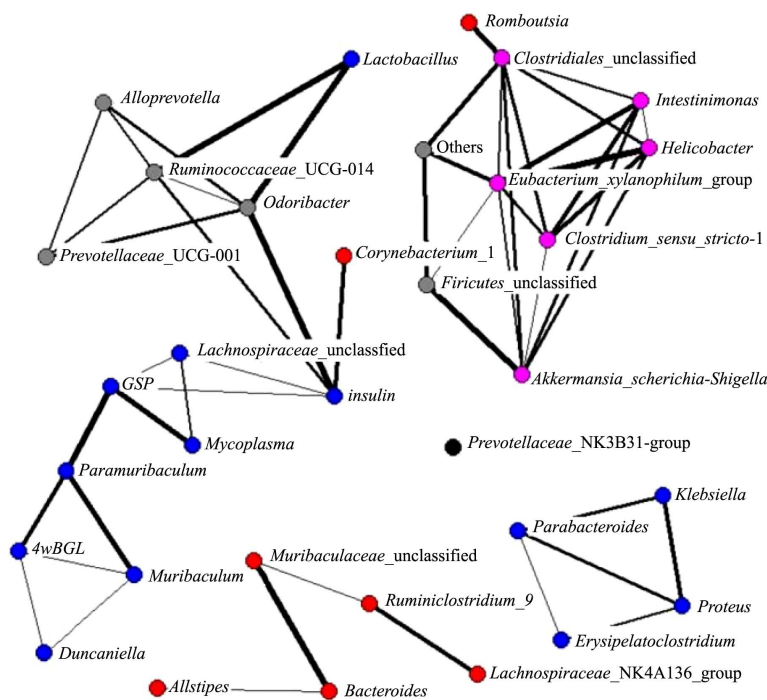


图 7 相关性网络图  
Fig.7 Correlation network diagram

基于前期研究结果<sup>[1]</sup>与本实验结果,通过相关性分析得到图7的相关性网络图,可以看出与血糖相关指标关联较大的主要是 *Mycoplasma* (在 Mollicytes 纲中对照组占 0%, SDF 组占 95%)、*Paramuribaculum* (在 Muribaculaceae 科中对照组占 9%, SDF 组占 0%)、*Odoribacter* (在 Muribaculaceae 科中对照组占 100%, SDF 组占 71%) 和 *Lactobacillus* 这几种细菌。在杨慧等人的研究中<sup>[24]</sup>,具有促进肠道细胞生长特性的副干酪乳杆菌 N115 作为一种益生菌,有利于减缓糖尿病患者肠道微环境失衡问题,为更好地稳定血糖提供可能性。本研究使用 Krona 软件快速定位 *Lactobacillus* 在样品中的表达情况观察到,糖尿病小鼠的未分类副干酪乳杆菌 (*Lactobacillus\_unclassified*) 占比较小 (16%),而正常小鼠占比 89%,ACAR 组达 49%,SDF 组则高达 98%,可以得知在 *Lactobacillus* 中,未分类副干酪乳杆菌 *Lactobacillus\_unclassified* 是众多调节血糖菌群中关键的一类。此与上述研究结果相似。研究发现<sup>[25]</sup>,糖尿病患者血糖异常的同时常常存在肠道菌群失调,而菌群的紊乱又会加重糖尿病,造成恶性循环。高膳食纤维低血糖生成指数饮食可有效改善糖尿病患者的肠道菌群失调,从而改善高血糖引起的代谢紊乱<sup>[23]</sup>。还有研究发现,长链菊粉型果聚糖的摄入可使厚壁菌门与拟杆菌门的比例增加,使抗糖尿病水平提高,进而抑制糖尿病的发病率<sup>[26]</sup>。结合上述研究,本试验发现金柚幼果膳食纤维对糖尿病小鼠血糖的影响可能与其进入肠道后被益生菌发酵,产生短链脂肪酸有关,从而改善肠道内环境,提高与降糖作用相关的肠道菌群的多样性和丰富度。

### 3 结论

HE 染色实验表明金柚幼果膳食纤维在一定程度上可以减缓因糖尿病导致的肠道黏膜损伤,从而维持肠粘膜的完整性。同时,金柚幼果膳食纤维可提高糖尿病小鼠在结肠及粪便中的水分含量、SCAFs 含量,降低 pH 值水平,表明金柚幼果膳食纤维对糖尿病小鼠肠道内环境具有调节作用。在肠道菌群的影响方面,金柚幼果膳食纤维可以调节肠道菌群的结构,促进厚壁菌门、副干酪乳杆菌等有益菌群繁殖,同时抑制厚壁菌门、变形菌门等微生物的增值,调节拟杆菌门与厚壁菌门菌群的比例,可以为有益微生物提供有利生长条件,有效预防因肠道有害微生物繁殖引起相关肠道疾病,从而保障肠道健康。本实验提供金柚幼果膳食纤维改善糖尿病小鼠肠道健康的可能机制是其进入肠道后,通过提高有益菌的比例,促进短链脂肪酸的生成。本实验也为金柚幼果膳食纤维进一步的开发与

应用提供了一定的理论依据。

### 参考文献

- [1] H Liu, X Zeng, J Huang, et al. Dietary fiber extracted from pomelo fruitlets promotes intestinal functions, both *in vitro* and *in vivo* [J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 252(15): 117186
- [2] M Kubota, R Watanabe, M Hosojima, et al. Rice bran protein ameliorates diabetes, reduces fatty liver, and has renoprotective effects in Zucker diabetic fatty rats [J]. Journal of Functional Foods, 2020, 70: 103981
- [3] G Liu, S Xu, L Chen. Chemical composition and bioactivities of a water-soluble polysaccharide from the endodermis of shaddock [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2012, 51(5): 763-766
- [4] Farooqui, A Akhlaq. Importance and roles of fiber in the diet [J]. Springer International Publishing, 2015, 7: 193-218
- [5] Jie Cui, Xin Gu, Qiaohui Zhang, et al. Production and anti-diabetic activity of soluble dietary fiber from apricot pulp by *Trichoderma viride* fermentation [J]. Food & Function, 2015, 6(5): 1635-1642
- [6] R Jha, J F D Berrococo. Dietary fiber and protein fermentation in the intestine of swine and their interactive effects on gut health and on the environment: a review [J]. Animal Feed Science & Technology, 2016, 212: 18-26
- [7] 杨光,周茜,董立军,等.膳食纤维强化冻干山楂果对小鼠肠道健康的影响[J].现代食品科技,2016,12:26-31,44  
YANG Guang, ZHOU Qian, DONG Li-jun, et al. Effect of dietary fiber reinforced Freeze-dried Hawthorn fruit on intestinal health of mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2016, 12: 26-31, 44
- [8] B R Hamaker, Y E Tuncil. A perspective on the complexity of dietary fiber structures and their potential effect on the gut microbiota [J]. Journal of Molecular Biology, 2014, 426(23): 3838-3850
- [9] H Liu, F Gong, F Wei, et al. Artificial simulated gastrointestinal digestion of four carbohydrates containing beta-d-1 → 4 linkages and new GC-TQ/MS-MS method for characterising released monosaccharides [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2018, 53(8): 1992-2005
- [10] 刘丹凤,聂少平,刘昕,等.膳食摄入染料木素对 ICR 小鼠血脂及肝脏的影响[J].食品科学,2014,35(23):292-296  
LIU Dan-feng, NIE Shao-ping, LIU Xin, et al. Effects of dietary intake of genistein on blood lipid and liver in ICR



- mice [J]. Food Science, 2014, 35(23): 292-296
- [11] 张柳婧.三种不同来源甘露聚糖对炎症小鼠肠道健康的影响[D].南昌:南昌大学,2016  
ZHANG Liu-jing. Effects of three different sources of glucomannan on intestinal health in inflammatory mice [D]. Nanchang: Nanchang University, 2016
- [12] J L Hu, S P Nie, C Li, et al. *In vitro* effects of a novel polysaccharide from the seeds of *Plantago asiatica* L. on intestinal function [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 54: 264-269
- [13] 黄佳铭,杨冬雪,李晓曦,等.肠道黏膜免疫与炎症小体的研究进展[J].微生物与感染,2019,14(2):53-63  
HUANG Jia-ming, YANG Dong-xue, LI Xiao-xi, et al. Inflammasome and intestinal mucosal immunity [J]. Journal of Microbes and Infections, 2019, 14(2): 53-63
- [14] 李耀冬,叶静,肖美添.复方海藻膳食纤维对糖尿病小鼠降血糖作用的研究[J].食品工业科技,2014,35(10):341-345  
LI Yao-dong, YE Jing, XIAO Mei-tian. Study on hypoglycemic effect of compound seaweed dietary fiber on diabetic mice [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(10): 341-345
- [15] 高美玲.甘薯渣中可溶性膳食纤维对肠道菌群的影响[D].南昌:南昌大学,2019  
GAO Mei-ling. Effects of soluble dietary fiber in sweet potato residue on intestinal flora [D]. Nanchang: Nanchang University, 2019
- [16] 王娟,汪雨亭,杨公明.香蕉不溶性膳食纤维的理化特性与通便功能研究[J].食品工业科技,2017,38(2):337-341  
WANG Juan, WANG Yu-ting, YANG Gong-ming. Study on physical and chemical properties and laxative function of insoluble dietary fiber in banana [J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(2): 337-341
- [17] 陈德义.抗性富硒米制备及其对 2 型糖尿病模型小鼠肠道菌群和炎症因子的干预作用[D].合肥:合肥工业大学,2015  
CHEN De-yi. Preparation of resistant Se-rich rice flour and its effect on the gut bacteria and inflammatory factors in type 2 [D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2015
- [18] 韩冬.膳食纤维与肠道健康[J].中国微生态学杂志,2013, 25(10):1225-1228  
HAN Dong. Dietary fiber and intestinal health [J]. Chinese Journal of Microecology, 2013, 25(10): 1225-1228
- [19] 刘田,崔同,高哲,等.山楂膳食纤维的研究进展[J].食品研究与开发,2020,379(6):207-212  
LIU Tian, CUI Tong, GAO Zhe, et al. Recent advances in dietary fiber of hawthorn [J]. Food Research and Development, 2020, 379(6): 207-212
- [20] 李文远,冯涛,姚凌云.果蔬膳食纤维在肠道菌群调控中的应用研究进展[J].中国果菜,2020,6:29-34  
LI Wen-yuan, FENG Tao, YAO Ling-yun. Research progress on regulation of gut microbiota by fruit and vegetable dietary fiber [J]. China Fruit & Vegetable, 2020, 6: 29-34
- [21] 白冰瑶,刘新愚,周茜,红枣膳食纤维改善小鼠功能性便秘及调节肠道菌群功能[J].食品科学,2016,37:254  
BAI Bing-yao, LIU Xin-yu, ZHOU Qian. Dietary fiber of red jujube ameliorates functional constipation and improves intestinal health in mice [J]. Food Science, 2016, 37: 254
- [22] P A S II, A Kumar, S Samarin, et al. Enteric commensal bacteria potentiate epithelial restitution via reactive oxygen species-mediated inactivation of focal adhesion kinase phosphatases [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011, 108(21): 8803-8808
- [23] 刘贺,赵亚凡,杨立娜,等.膳食纤维的结构特性及其调控肠道菌群改善糖尿病的研究进展[J].渤海大学学报(自然科学版),2019,122(4):5-13  
LIU He, ZHAO Ya-fan, YANG Li-na, et al. Progress in the study of dietary fiber structure and its regulation of intestinal flora to improve diabetes [J]. Journal of Bohai University (Natural Science Edition), 2019, 122(4): 5-13
- [24] 杨慧,郭慧,郝红伟,等.副干酪乳杆菌 N1115 发酵乳对 II 型糖尿病人群血糖的影响[J].食品科学,2018,3:14-19  
YANG Hui, GUO Hui. HAO Hong-wei, et al. Deputy lactobacillus casei N1115 fermented milk affect II diabetes blood glucose [J]. Food Science, 2018, 3: 14-19
- [25] 白钰,吕全胜,马晓丽.高膳食纤维低血糖生成指数饮食对 2 型糖尿病患者肠道菌群和血糖的影响研究[J].中国全科医学,2016,19(20):2469-2472  
BAI Yu, LYU Quan-sheng, MA Xiao-li. Effect of high fiber and low glycemic index diet on gut microflora and blood glucose in patients with type 2 diabetes mellitus [J]. Chinese General Practice, 2016, 19(20): 2469-2472
- [26] K Chen, H Chen, M M Faas, et al. Specific inulin-type fructan fibers protect against autoimmune diabetes by modulating gut immunity, barrier function, and microbiota homeostasis [J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2017, 61(8): 1601006