

岩藻多糖及其降解产物与人体肠道菌群相互作用的比较

宋浩然, 张玉姣*, 宋爽, 艾春青

(大连工业大学食品学院, 辽宁大连 116034)

摘要: 为了揭示岩藻多糖 (Fucoidan, FUC) 的结构特点与肠道菌群的相互作用关系, 该文制备了岩藻多糖的弱酸降解产物 (Weak Acid Degradation Products of Fucoidan, AFUC) 和氧化降解产物 (Oxidative Degradation Products of Fucoidan, OFUC) 并通过人体粪便体外发酵模型研究了岩藻多糖及其降解产物对肠道菌群的调控作用。首先, FUC 经降解得到的弱酸降解产物 AFUC 相对分子质量为 7.4 kDa, 硫酸基含量为 3.12%, 单糖组成为 Fuc:Gal=24.83:75.22; 而氧化降解产物 OFUC 相对分子质量降至 19.6 kDa, 研究发现低硫酸基含量的 AFUC 相比于 FUC 及 OFUC 更为显著的提高了发酵液中乙酸、丙酸、丁酸和戊酸的含量分别为提高了 34.96%、135.41%、13.45%、16.92%, 且异戊酸含量显著降低了 24.55%, 而 FUC 及 OFUC 两组间相比无显著差异。此外 AFUC 更为显著的促进拟杆菌门的富集 (38.54%), 降低厚壁菌门的相对丰度 (17.71%), 并更明显地抑制变形菌门的增殖 (46.88%)。该研究表明岩藻多糖的硫酸基含量可能是影响其调节肠道菌群的一项重要因素。该文的研究结果为岩藻多糖在肠道健康领域的产品开发提供了参考依据。

关键词: 岩藻多糖, 降解产物, 肠道菌群, 体外发酵

文章编号: 1673-9078(2025)03-134-142

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.3.0067

Comparative Analyses of Interactions of Fucoidan and Its Degradation Products with the Human Gut Microbiota

SONG Haoran, ZHANG Yujiao*, SONG Shuang, AI Chunqing

(School of Food Science and Technology, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China)

Abstract: To reveal the structural characteristics of fucoidan (FUC) and its interactions with the gut microbiota, weak acid degradation products (AFUC) and oxidative degradation products (OFUC) of fucoidan were prepared and the regulatory effects of fucoidan and its degradation products on gut microbiota were investigated through *in vitro* human fecal fermentation. The relative molecular mass of AFUC obtained from the degradation of FUC was determined to be 7.4 kDa, with a sulfate group content of 3.12% and a monosaccharide composition ratio of Fuc:Gal=24.83:75.22. The relative molecular mass of OFUC decreased to 19.6 kDa. Compared with FUC and OFUC, treatment using AFUC, which contains a low

引文格式:

宋浩然, 张玉姣, 宋爽, 等. 岩藻多糖及其降解产物与人体肠道菌群相互作用的比较 [J]. 现代食品科技, 2025, 41(3): 134-142.

SONG Haoran, ZHANG Yujiao, SONG Shuang, et al. Comparative analyses of interactions of fucoidan and its degradation products with the human gut microbiota [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(3): 134-142.

收稿日期: 2024-01-15

基金项目: 辽宁省自然科学基金计划项目 (2023-MS-278)

作者简介: 宋浩然 (1999-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品科学与工程, E-mail: 18104099219@163.com

通讯作者: 张玉姣 (1997-), 女, 硕士, 助理工程师, 研究方向: 食品科学与工程, E-mail: zhangyujiao3@126.com

sulfate group content, significantly increased the contents of acetic acid, propionic acid, butyric acid, and valeric acid in the fermentation broth by 34.96%, 135.41%, 13.45%, and 16.92%, respectively, whereas it significantly decreased isovaleric acid content (24.55%), which was not affected by FUC and OFUC treatments. In addition, AFUC significantly promoted the enrichment of Bacteroidetes (38.54%), decreased the relative abundance of Firmicutes (17.71%), and considerably inhibited the proliferation of Proteobacteria (46.88%). This study suggests that fucoidan sulfate group content may play a crucial role in influencing regulatory effects on the gut microbiota. The results of this study serve as a valuable resource for fucoidan-based product development aimed at improving intestinal health.

Key words: fucoidan; degradation products; gut microbiota; *in vitro* fermentation

岩藻多糖是一种含有岩藻糖和硫酸基团的大分子多聚糖, 主要来自于褐藻^[1]。岩藻多糖具有多种健康功效, 例如抗病毒^[2]、抗氧化^[3]、抗肿瘤^[4]和抗凝血^[5]等, 但岩藻多糖并不能被人体上消化道直接消化利用^[6]。研究表明, 岩藻多糖能够被肠道菌群利用增加拟杆菌门的相对丰度, 改善肠道菌群结构, 从而发挥有益健康的功效^[7]; Wang 等^[8]报道了岩藻多糖能够改善由环丙沙星-甲硝唑诱导的肠道菌群失调和结肠炎症。因此, 岩藻多糖在肠道健康领域具有良好的应用前景。需要注意的是, 与常见益生元不同, 有研究报道岩藻多糖很难被肠道菌群降解^[9], 但造成岩藻多糖难以被肠道菌群利用的原因仍不清楚, 可能由于硫酸化多糖在肠道中的降解需要特定的微生物^[10,11], 这可能也是岩藻多糖产生独特肠道菌群调控作用的关键。另外, 很多文献报道低分子量的多糖更容易被肠道菌群利用^[12]。因此, 岩藻多糖的高分子量、高度硫酸化特征可能影响肠道微生物对其降解利用, 进而影响其肠道菌群调控作用。但这一推测还有待实验证实。

为了揭示岩藻多糖的结构特性对其肠道菌群发酵行为的影响, 本文制备了两种结构不同的低分子量岩藻多糖, 采用体外人体粪便菌群发酵模型比较岩藻多糖与其降解产物与肠道菌群的相互作用, 从而揭示结构特点对岩藻多糖肠道菌群发酵特征的影响。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

岩藻多糖, 青岛明月海琳岩藻多糖生物科技有限公司; 主要试剂均为市售分析纯或色谱纯。

主要仪器: LXQ 型液相色谱-线性离子阱质谱仪, 德国 Thermo 公司; 高效液相色谱仪 Waters Alliance 2695, Waters 公司; CF16RXII 型高速冷冻离心机, 日本日立公司; 气相色谱-质谱-嗅闻仪

联用仪 7890B-5977B, 美国安捷伦公司。

1.2 试验方法

1.2.1 低分子量岩藻多糖的制备

1.2.1.1 弱酸法降解岩藻多糖

称取 1 g 岩藻多糖 (Fucoidan, FUC) 溶于 10 mL 0.2 mol/L 的三氟乙酸溶液, 于烘箱中 110 °C 水解 2 h 后冷却至室温, 旋转蒸发干燥至无酸味。纯净水复溶后于 3 500 Da 的透析袋透析, 冻干后得到酸水解产物 (Weak Acid Degradation Products of Fucoidan, AFUC)。

1.2.1.2 自由基氧化法降解岩藻多糖

称取 2 g 岩藻多糖及 160 mg 乙酸铜-单水合物, 溶于 50 mL 蒸馏水中溶解后以 4 mL/h 的流量滴加 30% H₂O₂ 溶液 4 h。控制反应体系的 pH 值保持 7.3~7.5, 反应温度控制在 35 °C。反应结束后, 离心取上清液 (8 000×g, 20 min) 于 3 500 Da 透析袋透析, 冷冻干燥, 得到氧化降解产物 (Oxidative Degradation Products of Fucoidan, OFUC)。

1.2.2 岩藻多糖及其降解产物结构分析

岩藻多糖及其降解产物分子量测定参照 Zhu 等^[13]的方法并加以修改, 简单来说采用高效凝胶渗透色谱法 (High Performance Gel Permeation Chromatography, HPGPC) 配备示差折光检测器及 TSK-gel G4000PWxl (7.5 mm×30.0 cm) 凝胶色谱柱, 柱温度均为 30 °C, 以 0.1 mol/L 乙酸铵溶液为流动相, 保持流量为 0.6 mL/min。

FUC、AFUC 和 OFUC 三种岩藻多糖硫酸基团含量测定采用明胶比浊法^[14]。

单糖组成测定方法参照曹九零^[15]的方法加以修改, 简单来说, FUC、AFUC 和 OFUC 三种岩藻多糖水解后经苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮 (1-Phenyl-3-Methyl-4-Benzoyl-5-Pyrazolone, PMP) 衍生化后采用 Thermo HPLC 配备 PDA 检测器和 LXQ 线性离

子阱质谱仪进行单糖组成的测定；并配有 Silgreen ODS C18 (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱；柱温 30 °C；进样量 10 μL；流动相 20 mmol 乙酸铵-乙腈 (78:22, V/V)；流量 1 mL/min。

1.2.3 体外发酵

1.2.3.1 主要培养基和缓冲液

基础营养培养基 (1.0 L)：2.0 g 蛋白胨, 2.0 g 酵母提取物, 0.02 g 血红素, 0.5 g L-半胱氨酸, 0.5 g 胆酸盐, 0.1 g NaCl, 0.04 g K₂HPO₄, 0.04 g KH₂PO₄, 0.01 g MgSO₄·7H₂O, 0.01 g CaCl₂·6H₂O, 2 g NaHCO₃, 1.0 mL 刃天青 (1%, m/V), 2.0 mL Tween-80 和 10 μL vitamin K。

PBS 缓冲溶液 (1.0 L)：8 g NaCl, 0.2 g KCl, 1.44 g Na₂HPO₄, 0.24 g KH₂PO₄, 0.5 g 半胱氨酸-盐酸, 4 mL 刃天青。

1.2.3.2 人体粪便接种液的制备及分组

参照先前体外发酵实验取样条件^[16], 选择身体健康无消化道疾病且三个月内未服用抗生素类药物的年龄在 20~30 岁之间的志愿者 4 名 (2 男 2 女) 收集新鲜粪便, 取等量志愿者的新鲜粪便混合, 用改性灭菌生理盐水配制 10% (m/V) 的混合粪便菌液, 涡旋震荡 2 min, 500×g 离心 5 min, 取上清, 得到粪便菌悬液。取 7 mL 菌悬液接种至 30 mL 基础培养基中厌氧培养 2 h 后用 PBS 缓冲液清洗两次离心后菌体中加入 7 mL 无糖基础培养基, 混匀后得到菌群接种液得粪便混菌接种液以观察粪便菌与三种岩藻多糖样品的相互作用。

1.2.3.3 体外发酵

分别取 0.5 mL 菌群接种液接种于 4.5 mL 分别含 50 mg FUC、AFUC、OFUC 的基础培养基培养基中和不含上述三种岩藻多糖的基础培养基中 (Blank 组), 混合后在厌氧工作站中 37 °C 条件下培养 48 h, 每个样本重复三次。在发酵结束 (48 h), 各组取 1.5 mL 发酵液 10 000 r/min 离心 10 min, 上清液转移立即用 pH 计检测 pH 值, 后转移至 -80 °C 冰箱储存, 用于后续分析。

1.2.4 短链脂肪酸检测

短链脂肪酸的变化根据 Mao 等^[17]的方法并作以修改, 简单来说, 采用气相色谱-质谱-嗅闻仪联用, 以乙醚为溶剂液体进样; 色谱条件: 进样口温度 260 °C; 进样量 1 μL; 分流比 50:1; 溶剂延迟 2.5 min。升温程序: 80 °C 初始温度; 以 40 °C/min 程序升温至 120 °C, 10 °C/min 升温至 200 °C, 保持 2 min。

后运行 230 °C 保持 3 min。质谱条件: 电子轰击离子源 (EI), 离子源温度 230 °C, 四级杆温度 150 °C, 传输线温度 250 °C, 电子能量 70 eV。扫描方式为全扫描模式 (SCAN), 质量扫描范围: m/z: 30~300。色谱柱: VF-WAXms; 30 m×0.250 mm; 0.25 μm。

1.2.5 16S rRNA 测序

16S 扩增子测序采用 SDS 方法提取粪便发酵液菌群基因组的 DNA, 然后通过琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的纯度和浓度。对基因组 DNA 中的 16S rRNA 基因 V3-4 区扩增, 引物选用 806R 和 515F。根据 TruSeq® DNA 无 PCR 样品制备试剂盒 (Illumina, 美国) 的说明生成测序文库, 并在 Qubit@2.0 荧光计 (Thermo Scientific) 上进行了评估。粪便发酵液样品测序由百迈客生物科技有限公司完成。粪便发酵液菌群主成分分析、聚类分析、菌群的相对丰度等在网站上操作得出 (<https://magic.novogene.com>)。

1.3 数据统计分析

采用 SPSS 20.0 软件进行数据分析, GraphPad Prism 7 及 Origin 2021 进行作图。所有数据均表示为平均值 ± 标准误差。两组或两个样本间的比较使用 Student's t-test 检验。检验三组之间的差异使用单因素方差分析 (ANOVA) 中 Duncan's range 检验。P<0.05 的值被认为具有统计学意义。基于 Illumina-Miseq 测序平台, 使用 BMKCloud 进行微生物群落结构分析。

2 结果与分析

2.1 岩藻多糖和其降解产物的结构分析

表 1 FUC、OFUC 和 AFUC 的分子量和化学组成

Table 1 Molecular weight and chemical composition of FUC, OFUC and AFUC

样品名称	FUC	OFUC	AFUC
分子量/kDa	188.6	19.6	7.4
硫酸基质量分数/%	28.32 ± 4.41	28.23 ± 3.11	3.12 ± 0.76
单糖组成摩尔比	Fuc, Gal	Fuc, Gal	Fuc, Gal
岩藻糖: 半乳糖	48.61:51.43	47.96:52.11	24.83:75.22

多糖的分子量、硫酸基含量、单糖种类往往是影响其生物活性的重要因素^[18]。前期实验研究两种岩藻多糖降解产物的相对分子质量变化, 并对其单糖组成及硫酸基含量进行了测定^[19], 结果如表 1 所示与 FUC 相比 AFUC 和 OFUC 的相对分子质量分

别下降至 7.4 kDa 和 19.6 kDa 说明两种方法都成功的降解了高分子量的岩藻多糖，其液相凝胶渗透色谱图如图 1 所示；但弱酸水解法在降解过程中多糖的硫酸基含量由原来的 28.33% 下降至 3.12%，而自由基氧化降解可以最大程度的保留岩藻多糖自身的硫酸基；单糖组成分析发现 FUC、AFUC 和 OFUC 的主要组成均为岩藻糖（Fucose, Fuc）和半乳糖（Galactose, Gal）组成，FUC 和 OFUC 中 Fuc 与 Gal 的比例均接近 1:1，但 AFUC 具有更高比例的半乳糖。

前期实验研究表明^[19]FUC 主要由硫酸化的(1-3)- α -L-岩藻糖为重复单元，具体单元结构图根据前期研究^[19]如图 2 所示，Hou 等^[20]研究发现氧化降解并不会造成硫酸基的破坏，这也与我们的研究结果相同，而酸降解会对多糖的硫酸基含量造成严重破坏^[21]，进而生成脱硫酸化的岩藻多糖，因此构成 OFUC 和 AFUC 两种岩藻多糖降解产物的重复单元与 FUC 相同。

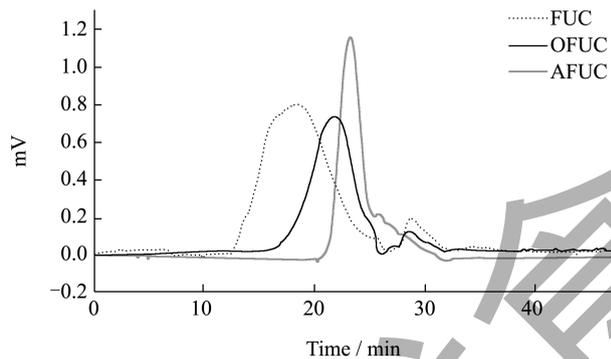


图 1 岩藻多糖及其降解产物的凝胶渗透色谱图

Fig.1 Gel permeate on chromatography of FUC and its degradation products

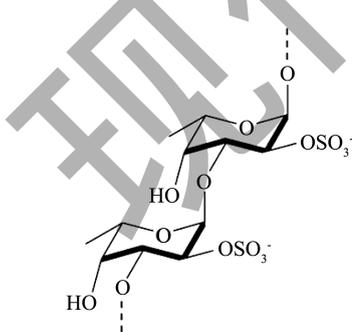


图 2 岩藻多糖单元结构

Fig.2 Unit structure of fucoidan

2.2 岩藻多糖及其衍生物发酵产生的短链脂肪酸产量比较

短链脂肪酸（Short Chain Fatty Acids, SCFAs）

是多糖经过肠道菌群发酵产生的主要代谢产物^[22]，SCFAs 具有降低人肠道 pH，维持肠道渗透压，调节人肠道细胞的分化等功能^[23]。该文采用 GC-MS 法检测了粪便菌群（A 组）发酵液中的 SCFAs 的产量，如图 3 所示，粪便菌群发酵 FUC、AFUC、OFUC 后均可产生多种 SCFAs，其中添加 FUC 和 OFUC 的发酵液与 Blank 组相比较在经过 48 h 发酵后，发酵液中的丙酸、异丁酸、戊酸的含量都发生了显著增加 ($P < 0.05$)，且异戊酸含量对比空白组显著降低 ($P < 0.05$)，但 FUC 和 OFUC 两种多糖并不会对于乙酸和丁酸的含量造成显著的改变 ($P > 0.05$)。与此同时对比发酵后发酵液中各短链脂肪酸的含量发现，二者与空白组对比具有同样的影响效果，且 FUC 组和 OFUC 组发酵液中各短链脂肪酸含量均无显著差异 ($P > 0.05$)，武苏凤^[24]的研究也说明了添加海带岩藻多糖的粪菌发酵液在经 48 h 发酵后总短链脂肪酸含量相比于空白组无显著差异，这与我们的实验结果相一致，与此同时窦祖满^[25]的研究也发现分子量并不会影响黑莓多糖在酵解过程中总短链脂肪酸产生的水平。这说明了在硫酸基含量及单糖组成相似的情况下，降低了岩藻糖的相对分子量并不会影响粪便菌群产生短链脂肪酸的水平，相对分子量水平并不是影响粪便菌群利用岩藻多糖产生短链脂肪酸的主要因素。但经过弱酸降解得到的 AFUC 在添加至发酵液 48 h 发酵后相比于 FUC 组和 OFUC 组，发酵液中的短链脂肪酸水平呈现了更加显著的变化。具体来说添加 AFUC 的发酵液经 48 h 发酵后相比于 Blank 组，发酵液中的乙酸含量提高了 34.96%、丙酸含量提高了 135.41%、丁酸含量提高了 13.45%、戊酸含量提高了 16.92%，且异戊酸含量降低了 24.55%。与此同时，对比 OFUC（或 FUC 组）与 AFUC 组发酵液中乙酸、丙酸和丁酸的含量显著提高 ($P < 0.05$) 了 25.17% (22.71%)、88.64% (87.53%)、17.03% (17.03%)，但对比异丁酸、戊酸和异戊酸的水平无显著影响 ($P > 0.05$)，其中乙酸和丙酸含量的升高可能是由于单糖组成中高比例的半乳糖发酵产生的，这也与樊莹润等^[26]的研究结果相一致。总体的短链脂肪酸水平结果说明了单糖组成会影响发酵过程中不同短链脂肪酸的产量差异，并且硫酸基含量可能是影响人肠道菌群利用岩藻多糖产生短链脂肪酸的一个主要因素。

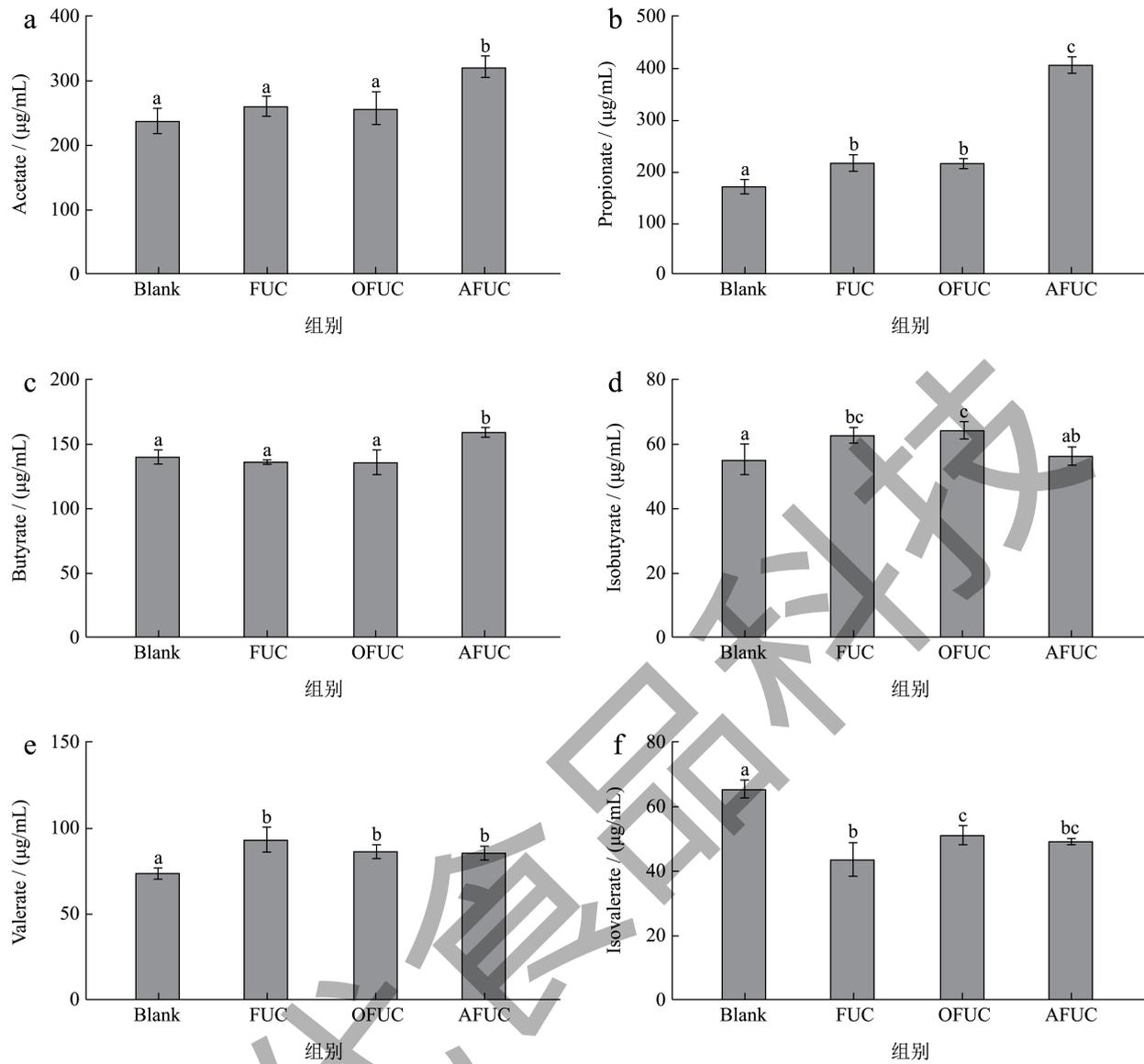


图3 发酵前后短链脂肪酸含量测定结果

Fig.3 Determination results of short chain fatty acids before and after fermentation

注:(a) 乙酸, (b) 丙酸, (c) 丁酸, (d) 异丁酸, (e) 戊酸, (f) 异戊酸。不同的小写字母表示具有显著差异 ($P < 0.05$)。

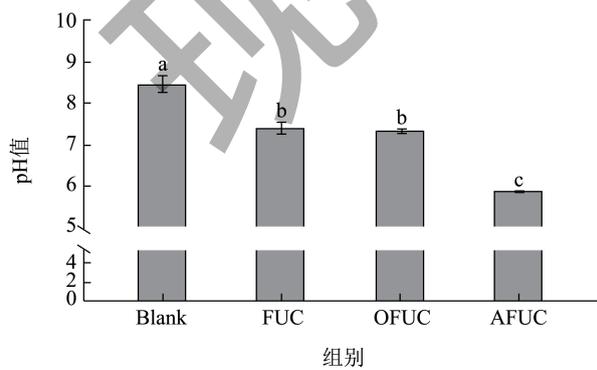


图4 三种岩藻糖对发酵液 pH 值的影响

Fig.4 Effect of three fucose on pH value of fermentation solution

注: 不同的小写字母表示具有显著差异 ($P < 0.05$)。

发酵过程中 SCFAs 的生成会引起发酵液 pH 值变化, pH 值的改变标志着碳水化合物被肠道菌群所利用^[16]。如图 4 所示发酵 48 h 后 FUC、OFUC 和 AFUC 三组添加多糖的发酵液的 pH 值对比 Blank 组均有显著降低。其中 FUC 组和 OFUC 组发酵液的 pH 值相比于 Blank 组显著下降 ($P < 0.05$) 约 12.93% 和 13.16%, 但两组发酵液之间的 pH 值无显著差异, 这也与之前短链脂肪酸水平的结果相吻合。与此同时, 以 AFUC 为碳源的发酵液的 pH 值降低的程度更为明显, 与 Blank 组相比下降了 31.06%, 这也与 SCFAs 的水平分析结果一致。以 AFUC 为碳源的发酵液在发酵过程中产生了更多的乙酸和丙酸, 二者相比其它短链脂肪

酸解高度更高，可以解离出更多地 H^+ 使得发酵液的 pH 值下降程度更大酸度更高，这也与 AFUC 组相比于其余实验组 pH 值显著下降 ($P < 0.05$) 的结果相一致。这些结果说明，相对分子质量可能并不是影响肠道菌群对岩藻多糖利用效率的关键性因素，其关于多糖的相对分子量大小与肠道菌群利用效率之间的关系需要更加深入的研究，而 AFUC 更易被肠道菌群发酵代谢产生短链脂肪酸并且富含硫酸基的 FUC 和 OFCU 代谢率相对较低，也说明了更低的硫酸基含量是导致肠道菌群对岩藻多糖利用效率增加的原因之一。此前 Zhang 等^[9]的研究发现，高度硫酸化的海带岩藻多糖在体外发酵过程中不易被肠道菌群利用，本研究也提示，硫酸化取代会阻碍肠道菌群对多糖的利用。

2.3 岩藻多糖及其降解产物对肠道菌群的调控作用比较

为了比较三种岩藻多糖对人肠道菌群结构的影

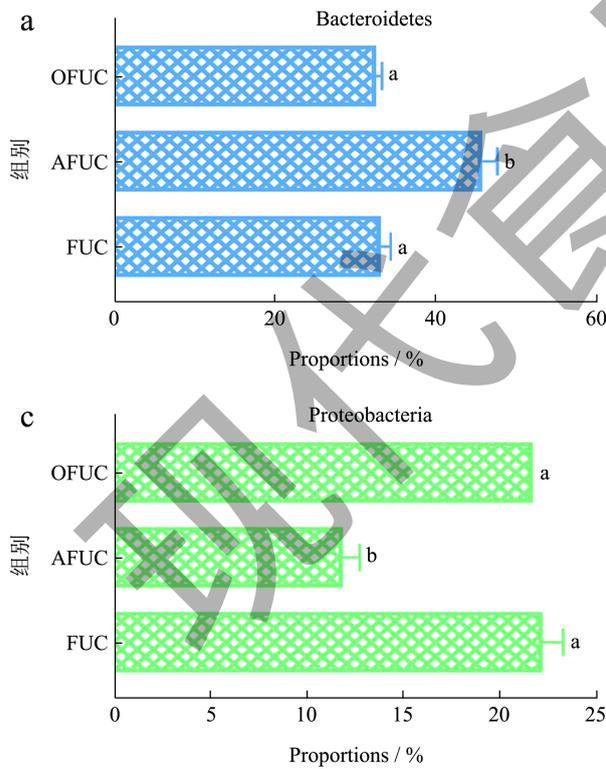


图 6 FUC、AFUC 和 OFUC 对人体粪便肠道菌群在门水平 (a、b、c) 及属水平 (d) 上的影响

Fig.6 The effects of FUC, AFUC and OFUC on human fecal gut microbiota at the phylum level and genus level

注: a~c 中标有不同字母表示根据单因素方差分析 (ANOVA) 和邓肯检验得出组间具有显著差异 ($P < 0.05$), 而标有相同字母则表示组间没有显著差异。

响, 分别对以 FUC、AFUC、OFUC 三种岩藻多糖为碳源的发酵 48 h 后的菌群进行测序分析。主坐标分析 (PCoA) 评分图 (图 5) 表明, FUC、AFUC 和 OFUC 三组之间存在明显差异, 其中 FUC 组与 OFUC 组发酵后菌群结构更为相似, AFUC 组与二者的差距较大。

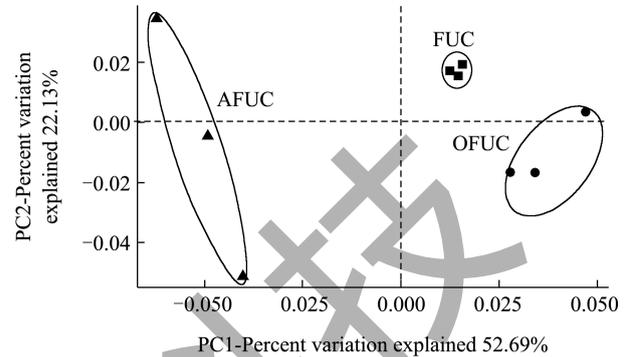


图 5 三种岩藻多糖对对人体粪便肠道菌群的结构调节 PCoA 图

Fig.5 PCoA diagram of the structural regulation of human fecal intestinal microbiota by three types of fucoidin

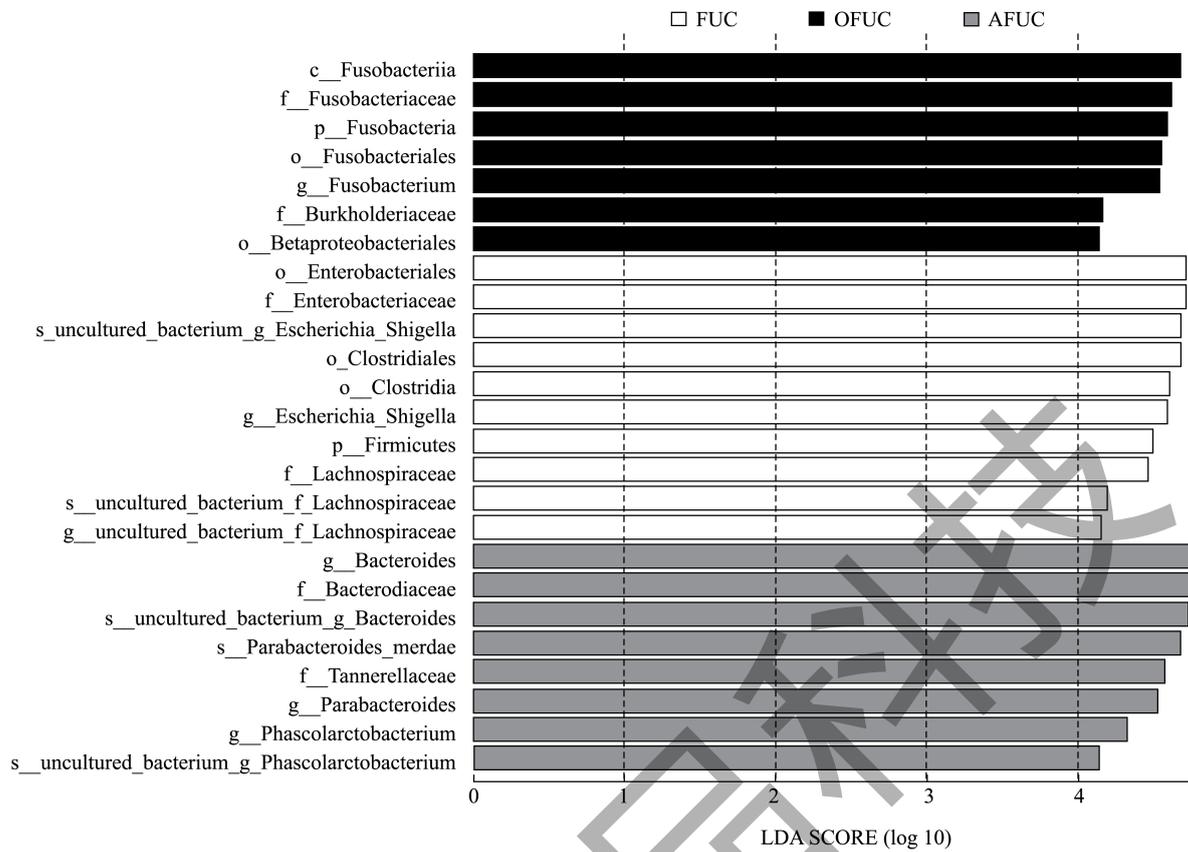


图 7 LEfSe 分析确定 FUC, OFUC 与 AFUC 组之间具有统计学差异的肠道菌群分类类型 (LDA > 4)

Fig.7 Intestinal microbiota classification types with statistical differences between FUC, OFUC and AFUC groups determined by LEfSe analysis (LDA > 4)

厚壁菌门 (Firmicutes)、拟杆菌门 (Bacteroidetes) 和变形菌门 (Proteobacteria) 是肠道菌群结构中相对丰度最高的三种菌门, 其在菌群结构中占据主导地位, 进一步分析了三种多糖对肠道菌群中这三种菌的门水平差异, 如图 6a~6c 所示, 对比 FUC、OFUC 和 AFUC 组三组发酵液中菌群门水平菌群结构差异, 发现硫酸基含量较低的 AFUC 组发酵液中的拟杆菌门和变形菌门在门水平上与 FUC 和 OFUC 组具有显著差异, 且与添加 FUC 相比, 添加 AFUC 后可以更显著地促进 ($P < 0.05$) 拟杆菌门的富集 (相对丰度提高约 38.54%), 降低 ($P < 0.05$) 厚壁菌门的相对丰度 (降低约 17.71%), 从而达到降低厚壁菌门 / 拟杆菌门的比值, 并更明显地抑制 ($P < 0.05$) 变形菌门的增殖 (降低约 46.88%)。与此同时, 硫酸基含量相似、相对分子量存在差异的 FUC 和 OFUC 两组发酵相比较, OFUC 组除厚壁菌门相对丰度显著降低 ($P < 0.05$) 约 22.54% 之外, 拟杆菌门, 和变形菌门的相对丰度两组之间无显著差异 ($P > 0.05$), 且厚壁菌门相对丰度与 AFUC 组之间无显著差异 ($P > 0.05$)。这可能说明

硫酸基含量是岩藻多糖影响拟杆菌门和变形菌门增殖的关键因素, 硫酸基含量较低的 AFUC 更加易被拟杆菌利用从而促进其自身相对丰度提高, 而与之相反低硫酸基含量的岩藻多糖无法有效被变形菌门利用; 值得注意的是 FUC 组发酵液中厚壁菌门的相对丰度高于其余两组, 这可能暗示着分子量大小可能是影响厚壁菌门利用岩藻多糖的关键因素。拟杆菌门、厚壁菌门和变形菌门是人肠道菌群的主要“家族成员”, 拟杆菌门是降解食物中的复杂非消化性多糖的“主力军”^[27], 并且很多文献报道厚壁菌门 / 拟杆菌门的比值降低能够防治宿主肥胖^[28]。变形菌门可代谢产生脂多糖, 当脂多糖含量过高时会导致人体产生炎症反应^[29]。许多研究表明拟杆菌属有助于产生短链脂肪酸, 并且, AFUC 对的拟杆菌门的显著增殖作用也与其发酵液中乙酸、丙酸和丁酸产量增加的结果相一致。

随后进一步对三个实验组发酵后菌群中相对丰度排名的前 15 菌属进行分析, 结果如图 6d 所示 FUC、AFUC 和 OFUC 对人体粪便肠道菌群在属水平上的影响, 其中, AFUC 组中拟杆菌属

(*Bacteroides*)、副拟杆菌属(*Parabacteroides*)和考拉杆菌属(*Phascolarctobacterium*)的丰度与FUC、OFUC两组相比明显增加;且与FUC和OFUC组相比AFUC组发酵液中埃希氏-志贺氏菌属(*Escherichia-Shigella*)的水平也有明显降低,埃希氏-志贺氏菌属是一类潜在的致病菌,有研究表明非酒精性脂肪性肝病患者肠道菌群中的埃希氏-志贺氏菌属比例相助增高^[30]。如图7所示,LEfSe分析(LDA得分 $\log_{10} > 4$)结果也证实了上述变化的统计学意义,其中AFUC组中拟杆菌属(*Bacteroides*)、副拟杆菌属(*Parabacteroides*)和考拉杆菌属(*Phascolarctobacterium*)是与FUC和OFUC组相比相对丰度显著提高的特异性菌株,许多研究表明*Bacteroides*和*Parabacteroides*是两种有益菌对人肠道菌群健康有着重要作用,且具可以将人体难以消化的多糖降解为低聚糖和短链脂肪酸^[31,32];考拉菌属(*Phascolarctobacterium*)也有助于分解复杂的多糖代谢产生短链脂肪酸^[33],且其与宿主的代谢状态和情绪也存在一定的相关性^[34];FUC组中Lachnospiraceae菌属的相对丰度也相对提高,这也与我们前期的实验结果相符合^[19]。综上所述,AFUC可以通过调节肠道菌群结构,尤其是厚壁菌门/拟杆菌门的比值及降低变形菌门的相对丰度,从而调节短链脂肪酸的合成及降低机体炎症的发生达到维持人体的健康的作用,硫酸基含量可能是影响拟杆菌门和变形菌门对岩藻多糖的利用效果,而分子量可能是影响岩藻多糖被厚壁菌门利用的潜在因素。

3 结论

本研究通过体外发酵模型,比较了三种分子量和硫酸基具有差异的岩藻多糖及其降解产物对SCFAs产量的影响及肠道菌群的调控功效。实验结果表明,硫酸基含量最少的AFUC能显著提高SCFAs的水平,说明硫酸基含量是影响肠道菌群利用效率的关键因素,二者之间呈反比关系。通过对发酵液中的菌群进行测序,发现三种岩藻多糖均具有调节菌群结构的能力,其中AFUC可以显著促进拟杆菌门增殖,降低厚壁菌门/拟杆菌门比值,还可以显著促进拟杆菌属、拟杆菌属、副拟杆菌属及考拉杆菌属等有益菌属的相对丰度并抑制变形菌门等有害菌的增值。因此,低硫酸基含量被证实是影响岩藻多糖肠道菌群利用效率、调节菌群结构的关

键因素,为岩藻多糖在肠道健康领域的产品开发提供了参考依据。

参考文献

- [1] LI B, LU F, WEI X, et al. Fucoidan: structure and bioactivity [J]. *Molecules*, 2008, 13(8): 1671-1695.
- [2] SUN Q L, LI Y, NI L Q, et al. Structural characterization and antiviral activity of two fucoidans from the brown algae *Sargassum henslowianum* [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 229(1): 115487.
- [3] PALANISAMY S, VINOSHAM, MANIKANDAKRISHNAN M, et al. Investigation of antioxidant and anticancer potential of fucoidan from *Sargassum polycystum* [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 116: 151-161.
- [4] OLIVEIRA C, FERREIRA A S, NOVOA-CARBALLAL R, et al. The key role of sulfation and branching on fucoidan antitumor activity [J]. *Macromolecular Bioscience*, 2016, 17(5): 201600340.
- [5] JIN W, ZHANG Q, WANG J, et al. A comparative study of the anticoagulant activities of eleven fucoidans [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2013, 91(1): 1-6.
- [6] 武晓琳,常耀光,王静凤,等.不同分子量海参岩藻聚糖硫酸酯的制备及消化吸收特性的初步研究[J].*中国海洋药物*,2011,30(3):20-24.
- [7] YANG J Y, LIM S Y. Fucoidans and bowel health [J]. *Marine Drugs*, 2021, 19(8): 436.
- [8] WANG L, AI C, WEN C, et al. Fucoidan isolated from *Ascophyllum nodosum* alleviates gut microbiota dysbiosis and colonic inflammation in antibiotic-treated mice [J]. *Food & Function*, 2020, 11(6): 5595-606.
- [9] ZHANG T, WU S, AI C, et al. Galactofucan from *Laminaria japonica* is not degraded by the human digestive system but inhibits pancreatic lipase and modifies the intestinal microbiota [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 166: 611-620.
- [10] SHANG Q, SHI J, SONG G, et al. Structural modulation of gut microbiota by chondroitin sulfate and its oligosaccharide [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2016, 89: 489-498.
- [11] SHANG Q, YIN Y, ZHU L, et al. Degradation of chondroitin sulfate by the gut microbiota of Chinese individuals [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2016, 86: 112-118.
- [12] WEI B, XIA W, WANG L, et al. Diverse prebiotic effects of isomaltodextrins with different glycosidic linkages and molecular weights on human gut bacteria *in vitro* [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2022, 279: 118986.
- [13] ZHU Z, ZHU B, SUN Y, et al. Sulfated polysaccharide

- from sea cucumber modulates the gut microbiota and its metabolites in normal mice [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 120(Pt A): 502-512.
- [14] 陈乾,马天翔,郭宏举,等.硫酸钡-比浊法测定褐藻糖胶中硫酸根的含量[J].*药学实践杂志*,2012,2:118-120.
- [15] 曹九零.20种海洋贝类中多糖成分的分析[D].大连:大连工业大学,2015.
- [16] TONG, CHEN, GUIJIE, et al. *In vitro* digestion by saliva, simulated gastric and small intestinal juices and fermentation by human fecal microbiota of sulfated polysaccharides from *Gracilaria rubra* [J]. *Journal of Functional Foods*, 2018, 40: 18-27.
- [17] MAO B, LI D, AI C, et al. Lactulose differently modulates the composition of luminal and mucosal microbiota in C57BL/6J Mice [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, 64(31): 6240-6247.
- [18] 陈丽萍,王弘.硫酸多糖的结构与生物活性关系研究现状[J].*广州化工*,2005,33(5):21-23.
- [19] 张玉姣,孙晓娜,田伟功,等.岩藻多糖及其降解物在小鼠肠道中的代谢及对肠道代谢产物的影响[J].*现代食品科技*,2022,38(12):26-33.
- [20] HOU Y, WANG J, JIN W, et al. Degradation of *Laminaria japonica* fucoidan by hydrogen peroxide and antioxidant activities of the degradation products of different molecular weights [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2012, 87(1): 153-159.
- [21] PIELESZ A, BINIAŚ W, PALUCH J. Mild acid hydrolysis of fucoidan: characterization by electrophoresis and FT-Raman spectroscopy [J]. *Carbohydrate Research*, 2011, 346(13): 1937-1944.
- [22] 李翠茹,彭买姣,谭周进.肠道菌群相关短链脂肪酸的研究进展[J].*世界华人消化杂志*,2022,30(13):9.
- [23] AMANDINE, EVERARD, VLADIMIR, et al. Responses of gut microbiota and glucose and lipid metabolism to prebiotics in genetic obese and diet-induced leptin-resistant mice [J]. *Diabetes*, 2011, 60(11): 2775-2786.
- [24] 武苏凤.海带岩藻聚糖硫酸酯的体外消化与酵解特征研究[D].大连:大连工业大学,2019.
- [25] 窦祖满.不同分子量黑莓多糖的制备、结构解析及其体外消化、酵解特性研究[D].广州:华南理工大学,2022.
- [26] 樊莹润,郑婷婷,李泽林,等.黄皮疣柄牛肝菌多糖体外模拟消化和酵解特性研究[J/OL].*食品科学技术学报*,1-12[2024-11-04].
- [27] PEREIRA G V, ABDEL-HAMID A M, DUTTA S, et al. Degradation of complex arabinoxylans by human colonic Bacteroidetes [J]. *Nature Communications*, 2021, 12(1): 459.
- [28] STOJANOV S, BERLEC A, ŠTRUKELJ B. The influence of probiotics on the Firmicutes/Bacteroidetes ratio in the treatment of obesity and inflammatory bowel disease [J]. *Microorganisms*, 2020, 8(11): 1175.
- [29] HOOGLAND I C M, HOUBOLT C, VAN WESTERLOO D J, et al. Systemic inflammation and microglial activation: systematic review of animal experiments [J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2015, 12(1):114.
- [30] XIN F, ZHAO Z, LIU X, et al. *Escherichia fergusonii* promotes nonobese nonalcoholic fatty liver disease by interfering with host hepatic lipid metabolism through its own msRNA 23487 [J]. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, 2022, 13(3): 827-841.
- [31] O. SHERIDAN P, MARTIN J C, LAWLEY T D, et al. Polysaccharide utilization loci and nutritional specialization in a dominant group of butyrate-producing human colonic Firmicutes [J]. *Microbial Genomics*,2016, 2(2): e000043.
- [32] MEDAWAR E, HAANGE S-B, ROLLE-KAMPCZYK U, et al. Gut microbiota link dietary fiber intake and short-chain fatty acid metabolism with eating behavior [J]. *Translational Psychiatry*, 2021, 11(1): 500.
- [33] ZHOU Y, CHEN C, YU H, et al. Fecal microbiota changes in patients with postpartum depressive disorder [J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2020, 10: 567268.
- [34] WU F, GUO X, ZHANG J, et al. *Phascolarctobacterium faecium* abundant colonization in human gastrointestinal tract [J]. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2017, 14(4): 3122-3126.