

魔芋葡甘露聚糖和香蕉抗性淀粉对小鼠肠道短链脂肪酸分泌及血脂影响的研究

贾彦, 魏秀秀, 赵培, 阎亚丽, 陈庆森

(天津商业大学生物技术与食品科学学院, 天津市食品生物技术重点实验室, 天津 300134)

摘要: 本研究意在探索一种 KGM 与 BRS 复合的益生元, 最终获得一种较好的有维持及增强肠道和心血管健康的益生元制剂。以健康雄性 BALB/c 小鼠为模型, 设定对照组和 6 个试验组, 设计制造三组不同添加剂量的 BRS 和三组不同配比 BRS+KGM 的 AIN93 纯化饲料饲喂小鼠, 4 周后测定小鼠盲肠 SCFA 含量和血脂指标。在 SCFA 分泌水平研究中, BRS 组 1、组 2 和 BRS+KGM 组 2 小鼠盲肠内容物中丙酸的分泌量显著增加 ($p < 0.05$), 而 BRS 组 3 和 BRS+KGM 组 2 乙酸、丁酸和总 SCFA 的分泌增加量极显著 ($p < 0.01$), BRS+KGM 组 3 丁酸分泌量明显增加 ($p < 0.01$)。在血脂水平研究中, BRS 组 3HDL-C 的含量极显著升高 ($p < 0.01$), 在 BRS+KGM 组 2 和组 3 中, 均为 TG、TC 含量分别极显著 ($p < 0.01$)、显著 ($p < 0.05$) 降低, HDL-C 含量显著升高 ($p < 0.05$)。BRS 和 KGM 对 SCFA 的分泌水平和血脂水平均表现明显的剂量依赖性。综合比较, BRS+KGM 组 2 复合制剂 (5%KGM+23.5%BRS) 为本研究中最复合益生元。

关键词: 魔芋葡甘露聚糖; 香蕉抗性淀粉; 短链脂肪酸; 丁酸; 血脂水平

文章编号: 1673-9078(2016)07-18-25

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.7.004

Effects of Konjac Glucomannan and Banana-resistant Starch on Intestinal Secretion of Short-chain Fatty Acids and Blood Lipids in Mice

JIA Yan, WEI Xiu-xiu, ZHAO Pei, YAN Ya-li, CHEN Qing-sen

(Tianjin Key Laboratory of Food Biotechnology, College of Biotechnology and Food Science, Tianjin University of Commerce, Tianjin 300134, China)

Abstract: A type of prebiotic combining konjac glucomannan (KGM) and banana-resistant starch (BRS) was evaluated, to yield an optimized prebiotic formulation that could maintain and improve intestinal and cardiovascular health. Healthy male BALB/c mice were used as models, and one control group and six experimental groups were established. AIN93 purified diets classified into three groups with different amounts of added BRS and three groups with different proportions of BRS and KGM were designed and fed to the mice. Four weeks later, the cecal short-chain fatty acid (SCFA) levels and blood lipid indices in mice were determined. In the analysis of SCFA levels, the secretion of propionic acid in cecal contents of the mice in group BRS 1, group BRS 2, and group BRS + KGM 2 increased significantly ($p < 0.05$). Additionally, the secretions of acetic acid, butyric acid, and total SCFAs in group BRS 3 and group BRS + KGM 2 were also significantly increased ($p < 0.01$), as was butyric acid secretion in group BRS + KGM 3. In the analysis of blood lipid levels, the high-density lipoprotein-cholesterol (HDL-C) levels were significantly increased in group BRS 3 ($p < 0.01$). In both groups BRS + KGM 2 and BRS + KGM 3, levels of total cholesterol (TC) and triglycerides (TGs) were significantly decreased ($p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively), whereas HDL-C levels were significantly increased ($p < 0.05$). In conclusion, SCFA secretion levels and blood lipid levels were altered in a dose-dependent manner in response to BRS and KGM consumption. The comprehensive comparisons performed in this study revealed that the compound formulation (5% KGM + 23.5% BRS) of group BRS + KGM 2 was the best composite prebiotic formulation.

Key words: konjac glucomannan; banana-resistant starch; short-chain fatty acids; butyric acid; blood lipid levels

收稿日期: 2015-06-16

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31071522); 国家科技攻关计划重大专项项目 (2006BAD04A08)

作者简介: 贾彦 (1990-), 女, 硕士研究生, 主要从事发酵生物技术研究

通讯作者: 阎亚丽 (1960-), 女, 副教授, 主要从事食品生物技术研究; 陈庆森 (1957-), 男, 教授, 主要从事生物活性物质与肠道健康, 蛋白(酶)资源研究开发的研究

近年来随着人们生活水平的提高, 结肠疾病和心脑血管等疾病的发病率越来越高, 饮食因素已被确认是影响结肠癌和心脑血管疾病发生发展的重要环境因素之一。目前研究表明, 膳食纤维或聚糖在结肠中经厌氧菌发酵产生短链脂肪酸 (short-chain fatty acids, SCFA), 能预防和治疗肠道相关疾病; 可调节血脂降低血清总胆固醇含量, 增加高密度脂蛋白的含量, 降低心脑血管疾病的发生风险^[1-2]。

魔芋葡甘露聚糖 (Konjac Glucomannans, KGM) 为水溶性的膳食纤维, 是自然界分子量最大、粘度最高的膳食纤维。其特殊的葡萄糖和甘露糖的 β -1-4 链式结构不被人体的消化酶所作用。KGM 具有最强的持水能力, 可吸附其自身体积 200 倍的水分子形成粘稠的溶液。现代医学证明, 它能够有效地降低胆固醇、血糖和减肥, 可用于防治高血脂、糖尿病、肥胖和便秘等^[3-6]。

抗性淀粉 (Resistant Starch, RS) 为水不溶性的膳食纤维, 据其来源和物理化学性质的不同可将其分为五类 (RS₁, RS₂, RS₃, RS₄, RS₅), 而香蕉抗性淀粉 (Banana Resistant Starch, BRS) 主要是 RS₂^[8]。1992 年, 联合国粮农组织 (FAO) 将其正式定义为: “在健康的人类小肠中不能被消化, 但能在大肠中发酵或部分发酵的淀粉和淀粉降解产物”^[7]。BRS 有减肥、通便等功效^[9-10], 主要是通过在大肠内被细菌发酵所产生的代谢产物, 维持肠道酸性环境, 促进肠道内毒素的分解与排出, 同时能产生丰富的微量元素, 呵护肠道的健康^[11]。

短链脂肪酸 (short-chain fatty acids, SCFA) 是由 1~6 个碳原子组成的有机脂肪酸, 包括: 乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸、戊酸、异戊酸、己酸和异己酸, 其中乙酸、丙酸、丁酸含量最高, 约占 SCFA 总量的 90%~95%^[12]。SCFA 对于维持人体肠道健康有着重要的作用。尤其是丁酸, 作为结肠粘膜的生长诱导剂和炎症的抑制剂^[13], 能诱导癌细胞凋亡, 防止结肠癌变的发生^[14]。肠道中 SCFA 的含量可以反映细菌活性, 影响肝脂质与碳水化合物的调控^[15-18]。因此, SCFA 在肠道中含量水平的变化对营养、微生物和环境的研究有重要的科学价值。

目前, 国内外针对膳食纤维对肠道保健功能的研究大多集中在单一的膳食纤维或多种低聚糖的复合, 甚少有复合膳食纤维的研究报道, 且对 SCFA 合成水平的研究多集中在体外发酵^[19-28]。本研究通过探究 BRS+KGM 复合制剂对小鼠肠道 SCFA 分泌和血脂水平的变化, 全面评价了 BRS+KGM 复合制剂的生物学功效, 对人类益生元产品的消费具有指导作用。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 试验动物

SPF 级 7 周龄 BALB/c 雄性健康小鼠 20~25 g (试验动物饲养许可证号 SYXK(津)2011-0008。), 购自中国人民解放军军事医学科学实验动物中心。

1.1.2 试验原料及试剂

KGM (纯度>92%) 购于湖北惠葡生化科技有限公司; BRS (纯度=53%) 华南农业大学杨公明教授实验室提供。

色谱纯试剂: 乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸 天津光复研究所; 检测试剂: 血清总胆固醇 (TC) 检测试剂盒 (批号: 110104)、血清甘油三酯 (TG) 检测试剂盒 (批号: 110301)、血清高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 检测试剂盒 (批号: 110407) 由长春汇力生物技术有限责任公司供应。其他化学试剂 (分析纯) 天津市化学试剂一厂。

1.2 研究方法

1.2.1 不同剂量 BRS 及不同配比 BRS+KGM 纯化特制饲料的配制

不同组别饲养相应的特制 AIN-93 纯化饲料 (AIN93 标准饲料是按照美国营养学会 (AIN) 1993 年颁布的标准制作的饲料), 不同剂量的 BRS 和不同配比 BRS+KGM 纯化特制饲料组成及分组如表 1 所示。

1.2.2 BALB/c 小鼠的饲养与管理

7 周龄的健康 BALB/c 雄性小鼠 70 只, 适应性喂养 1 周后随机分为 7 组, 每组 10 只 (分组见表 1)。试验小鼠在屏障系统中饲养, 室温保持在 20±2 °C, 相对湿度 50±10%。记录小鼠每天的摄食量, 一周称量体重 2 次, 小鼠垫料及饮用水 1 周内更换 3 次。

1.2.3 小鼠取血和盲肠内容物的收集

饲喂 4 周后, 通过眼球摘除取血, 用 1.5 mL 离心管收集, 置 4 °C 冰箱 15~30 min, 3000 r/min 离心 10 min, 取血清-20 °C 冰箱保存, 以备检测血清学指标检测 (TG、TC、HDL-C)。解剖小鼠, 无菌条件下取其盲肠, 纵向切开, 用无菌刀片迅速刮取盲肠内容物, 并放置于预冷的 5 mL 离心管中, -20 °C 储存用于短链脂肪酸的检测。

1.2.4 不同剂量 BRS 及 BRS+KGM 复合制剂对小鼠盲肠中 SCFA 分泌的影响研究

提取盲肠内容物中 SCFA 的方法参考文献^[29]。取

2 mL 制备的样品, 加入 50% 的硫酸溶液 0.2 mL, 再加入无水乙醚 2.0 mL, 振荡 30 次后离心 (>10 000 r/min, 5 min) (美国 Sigma 公司), 置冰箱 4 °C 内放置 30 min,

取上层乙醚溶液进行气相色谱 (GC) (美国安捷伦公司) 分析。气相色谱法条件及检测方法见文献^[30]。

表 1 试验纯化饲料组成 (g/kg) 与试验动物分组

Table 1 Composition of experimental diets (g/kg diet) and grouping of experimental animals

组别	对照组	BRS 组 1	BRS 组 2	BRS 组 3	BRS+KGM 组 1	BRS+KGM 组 2	BRS+KGM 组 3
酪蛋白	200	200	200	200	200	200	200
玉米淀粉	529.5	413.5	297.5	181.5	363.5	247.5	131.5
蔗糖	100	100	100	100	100	100	100
玉米油	70	70	70	70	70	70	70
AIN-93MX	35	35	35	35	35	35	35
AIN-93VX	10	10	10	10	10	10	10
L-胱氨酸	3	3	3	3	3	3	3
重酒石酸胆碱	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
二丁基羟基甲苯	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014
纤维素	50	50	50	50	50	50	50
BRS	0	116	232	348	116	232	348
KGM	0	0	0	0	50	50	50

1.2.5 不同剂量 BRS 及 BRS+KGM 复合制剂对小鼠血脂水平的影响研究

血脂水平的检测利用 SpectraMax②M3 多功能酶标仪 (Molecular Devices USA) 和 UV-752 型紫外分光光度计 (上海欣茂仪器有限公司), 按试剂盒使用说明书检测 (1) TC 的测定 (COD-PAP 法)、(2) TG 的测定 (GPO-PAP 法)、(3) 直接法测定 HDL-C。

1.3 数据处理

所有数据均做平行试验, 采用 SPSS11.5 统计软件对结果进行分析, 各组数据结果以均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 并进行单因素方差分析, LSD 法两两比较, $p < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

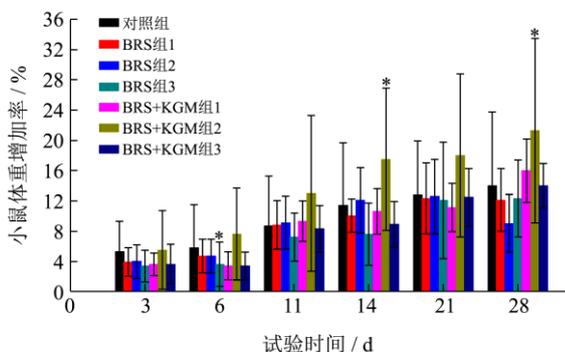


图 1 不同剂量 BRS 及 BRS+KGM 复合制剂对小鼠体重增加率的影响

Fig.1 Effects of different doses of BRS and different proportions of KGM and BRS on weight gain in mice

注: *表示与对照组比较有显著性差异 ($p < 0.05$), 小鼠体

重增加率 = (各试验阶段体重 - 初始体重) / 初始体重。

2 结果与讨论

2.1 不同剂量 BRS 及 BRS+KGM 复合制剂对小鼠体重变化及状态的影响

七组健康 BALB/c 雄性小鼠 (7 周龄) 喂食不同剂量 BRS 和不同配比 BRS+KGM 的特制 AIN-93 纯化饲料, 自由采食, 记录小鼠每天的摄食量, 一周称量体重 2 次, 其体重增加率如图 1 所示。

试验期间, 各组小鼠的毛发干净柔顺, 饮食和活动正常, 体重逐渐增加。如图 1 所示各组小鼠的体重增加率总体呈增加趋势, 但存在一定的差异。从试验结果看出, 在试验第 3 d 各试验组与对照组相比, 体重增加率无显著差异, 在试验前 6 d, 除 BRS+KGM 组 2 外, 各组体重增加缓慢。其中, BRS 组 1 和 BRS 组 2 在前 21 d 体重增加率相当, 与对照组相比无显著差异; BRS 组 3 在前 14 d 的体重总体增加缓慢, 第 6d 与对照组差异显著 ($p < 0.05$); BRS+KGM 组 2 在各时期体重增加率均高于其他各组, 在试验第 14 d 和第 28 d 与对照组相比差异显著 ($p < 0.05$); BRS+KGM 组 1 与 BRS+KGM 组 3 体重增加率在各时期和对照组相比无显著差异, BRS+KGM 组 1 在第 28 d 体重增加率有增长趋势。尽管一定剂量的 BRS 具有较好的膳食纤维的功效^[9], 但从分析小鼠体重增加率变化情况来看, BRS 组 3 体重增加缓慢, 可能因摄入高剂量的

BRS, 增加了小鼠胃的饱腹感, 造成小鼠消化吸收的能力减弱; 另外, 从本研究的结果可以揭示, 适宜剂量的 BRS 与 KGM 复配有利于促进小鼠的生长。

2.2 不同剂量 BRS 及 BRS+KGM 复合制剂对

小鼠盲肠中 SCFA 含量影响的研究

2.2.1 色谱纯 SCFA 的标准气相色谱

在方法 1.2.4 气相色谱条件下, 4 种色谱纯 SCFA 的色谱图如图 2 所示。

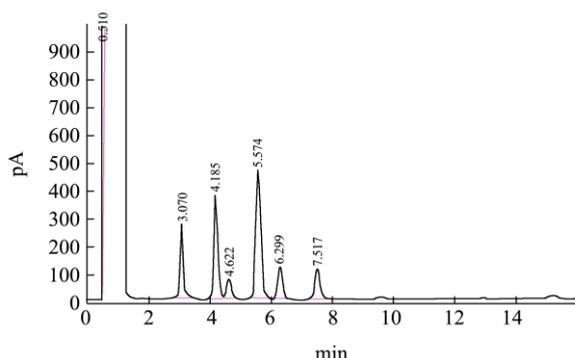


图 2 4 种 SCFA 的 GC 色谱图

Fig.2 GC chromatograms of four SCFAs

注: 出峰顺序依次是溶剂、乙酸 (3.070 min)、丙酸 (4.185 min)、异丁酸 (4.822 min)、丁酸 (5.574 min)、后面两个峰未经鉴定。

根据图 2 做单标确定出峰时间, 再进行混标做标准曲线, 4 种 SCFA 的线性关系及相关系数如下表。从相关性系数可以看出, 在测定的范围内, 各样品均具有较好的线性关系, 相关系数均达到 0.999 以上。

表 2 4 种 SCFA 的回归方程及相关系数

Table 2 Regression equations and correlation coefficients of four of SCFAs

名称	回归方程	相关系数(R ²)	线性范围
乙酸	$y=2 \times 10^{-4}x+0.1236$	0.9992	0.04~4
丙酸	$y=1 \times 10^{-4}x+0.066$	0.9996	0.04~4
异丁酸	$y=1 \times 10^{-4}x+0.0377$	0.9998	0.04~4
丁酸	$y=1 \times 10^{-4}x+0.0377$	0.9998	0.04~4

2.2.2 不同剂量 BRS 及 BRS+KGM 复合制剂对小鼠盲肠内 SCFA 含量的影响

各组小鼠盲肠内容物中 SCFA 的分泌量检测结果见图 3 所示。

由图 3 分析可知, 不同剂量 BRS 及 BRS+KGM 复合制剂对小鼠肠道中乙酸的产生均有促进作用。由统计学分析的结果可知, 与对照组相比, BRS 组 3 小鼠盲肠中乙酸的分泌量增加了 30.62%, 具有显著性差异 ($p < 0.05$), 而 BRS+KGM 组 2 增加了 33.24% 有极

显著性差异 ($p < 0.01$), 其它各组的分泌量有升高的趋势, 但与对照组比较不具有统计学意义。该研究表明各试验组纯化饲料会对小鼠盲肠内容物中乙酸的产生均有促进作用, 其中 BRS+KGM 组 2 的配比为最佳。

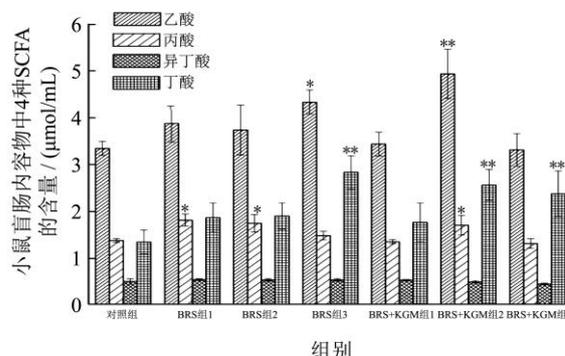


图 3 不同剂量 BRS 及 BRS+KGM 复合制剂对小鼠盲肠内容物中 SCFA 的影响

Fig.3 Effects of different doses of BRS and different proportions of BRS and KGM on SCFAs in the cecal contents of mice

注: *表示与对照组比较有显著性差异 ($p < 0.05$), **表示与对照组比较有极显著性 ($p < 0.01$)。

不同剂量 BRS 和 BRS+KGM 复合制剂对小鼠肠道中丙酸的产生量也均有促进作用, 其中 BRS 组 1 小鼠盲肠内容物丙酸的产生量最高, 其次是 BRS 组 2 和 BRS+KGM 组 2。与对照组相比, BRS 组 1 和组 2 小鼠盲肠内容物中丙酸的分泌量分别增加了 33.33% 和 29.58%, 具有显著性差异 ($p < 0.05$); BRS+KGM 组 2 小鼠盲肠内容物中丙酸的分泌量呈增加的趋势, 与对照组比较存在显著性差异 ($p < 0.05$)。该结果表明, 摄入一定剂量 BRS 的纯化饲料对小鼠肠道中丙酸的分泌有促进作用, 且有明显的量效关系; 研究结果证实 BRS+KGM 复合纤维对丙酸的分泌也有一定的促进作用。

通过对各试验组异丁酸的分析检测发现, 异丁酸含量的分泌水平没有变化, 说明不同剂量 BRS、BRS+KGM 复合制剂对小鼠盲肠中异丁酸的产生没有明显作用。

从图 3 分析可知, 各试验组小鼠盲肠内容物丁酸产生量均有不同程度的增加。其中 BRS 组 3 丁酸分泌量最高, 其次是 BRS+KGM 组 2 和组 3。从统计学分析的结果可知, BRS 组 3 和 BRS+KGM 组 2 小鼠盲肠内容物中丁酸的分泌量分别增加了 113.09% 和 93.47%, 与对照组相比均具有极显著性差异 ($p < 0.01$); BRS+KGM 组 3 与对照组比较丁酸的分泌量增加了 76.83%, 与对照组比较存在显著性差异 ($p < 0.05$)。试验结果说明摄入一定量的 BRS 在小鼠

盲肠中有明显促进丁酸分泌的优势,提示高剂量的BRS(34.79%)具有显著的促进肠道内相关微生物分泌丁酸的水平,同时本研究还证实合适比例的复合膳食纤维(5%KGM+23.2%BRS)的摄入对丁酸的分泌也具有较好的促进作用。

2.2.3 不同剂量 BRS 与 BRS+KGM 复合制剂对小鼠盲肠内总 SCFA 含量的影响

根据不同剂量 BRS 和 BRS+KGM 复合制剂对小鼠盲肠内各种 SCFA 的分析检测结果,对各试验组总 SCFA 进行综合分析,以了解小鼠摄入 KGM 和 BRS 的过程中,具有促进肠道菌群分泌 SCFA 代谢产物的发生发展趋势,结果见图 4。

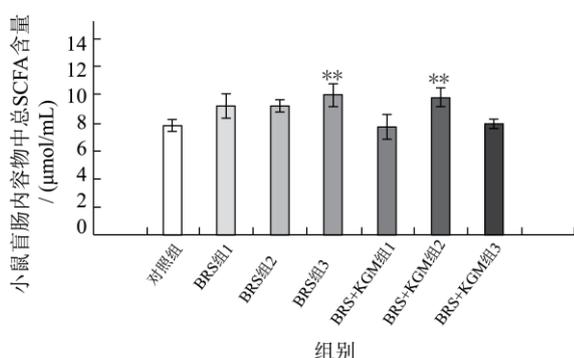


图 4 不同剂量的 BRS 与 BRS+KGM 复合制剂对小鼠盲肠内容物中总 SCFA 的影响

Fig.4 Effects of different doses of BRS and different proportions of KGM and BRS on total SCFAs in the cecal contents of mice

注: **表示与对照组比较有极显著性差异 ($p < 0.01$)。

由图 4 检测结果可知,试验组小鼠盲肠内容物中总 SCFA (乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸) 的产生量有不同程度的变化,其中 BRS 组 3 和 BRS+KGM 组 2 增加量最高,分别增加了 30.78% ($p < 0.01$) 和 28.53% ($p < 0.01$)。试验结果显示不同剂量 BRS、不同配比 BRS+KGM 复合制剂的摄入对肠道中总 SCFA 的代谢水平存在一定的量效关系。

2.3 不同剂量 BRS 及 BRS+KGM 复合制剂对小鼠血脂水平影响的研究

对各组小鼠血脂水平检测的结果见图 5。

由图 5 可知,饲喂小鼠四周后,与对照组相比,各试验组小鼠的 TG 含量均有所下降,其中 BRS+KGM 组 2 和组 3 的 TG 含量分别显著下降了 34.93% ($p < 0.01$) 和 33.27% ($p < 0.01$),而其他试验组变化不明显。与对照组相比,各试验组小鼠的 TC 含量也均有所下降,其中 BRS+KGM 组 2 和组 3 小鼠

的 TC 含量分别下降 26.82% ($p < 0.05$) 和 19.18% ($P < 0.05$),其他各组不具有显著性。与对照组比较,各试验组小鼠的 HDL-C 的含量有升高的趋势,其中 BRS 组 3 的 HDL-C 的含量升高 112.47%,与对照组比较有极显著性差异 ($p < 0.01$); BRS+KGM 组 2 和组 3 分别升高了 68.26%、68.73% ($p < 0.05$)。结果显示,摄入一定量 and 不同复合膳食纤维制剂能降低 TC 和 TG 含量,升高 HDL-C 含量,说明 BRS 与 BRS+KGM 膳食纤维有较好的调节血脂的作用;且 BRS 与 KGM 复配对比单一的 BRS、KGM 有更好的调节血脂的作用。

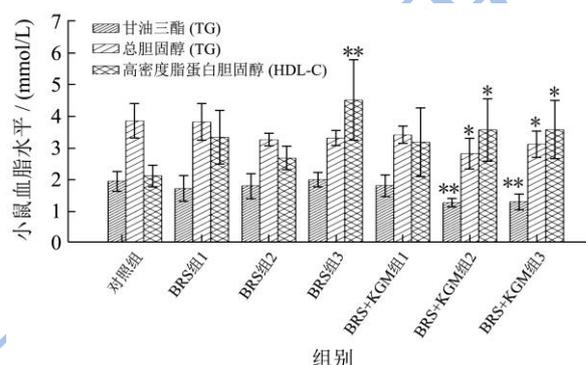


图 5 不同剂量 BRS 及 BRS+KGM 复合制剂对雄性 BALB/c 小鼠血脂相关指标含量的影响

Fig.5 Effects of different doses of BRS and different proportions of KGM and BRS on related blood lipid indices in male BALB/c mice

注: *表示与对照组比较血脂水平有显著性差异 ($p < 0.05$), **表示与对照组比较血脂水平有极显著性差异 ($p < 0.01$)。

2.4 讨论

膳食纤维能通过改变肠道微生物菌群结构,相应代谢产物的种类及数量发生改变进而改变结肠环境,达到维持结肠健康的目的^[31-36]。血脂异常是 CVD 危险因子之一,通常表现在血清 TC、TG 含量升高以及血清 HDL-C 含量降低。膳食纤维可以通过调节血脂降低 TC 含量,提高脂蛋白脂肪酶和卵磷脂胆固醇酰基转移酶的活性,增加 HDL-C 的含量从而促进脂质的分解代谢,降低 CVD 的发生风险^[1-2]。

本文在 KGM 对小鼠 SCFA 影响研究^[30]基础上,进一步探究了不同剂量 BRS 及 BRS+KGM 复合制剂对小鼠生长状况、肠道 SCFA 分泌量和血脂水平的影响。试验数据测试分析结果说明小鼠摄入添加不同剂量 BRS 及 BRS+KGM 复合制剂的饲料后,均能正常生长,且生长状态良好。其中,摄入高剂量 BRS (组 3) 的小鼠体重增加缓慢,且增加量显著低于对照组。可能是因 BRS 的摄入,增加了小鼠胃的饱腹感,减缓了胃排空,降低食欲所致,从而使小鼠体重维持较低的增长速率。而摄入 BRS+KGM (组 2) 的小鼠体重

增加量高于其他各组小鼠,表明摄入适合配比的KGM与BRS能促进小鼠的体重的增长,有利于小鼠健康水平。

在小鼠盲肠内容物中SCFA含量分析中,总体看各试验组小鼠均有不同程度的增加趋势,且各种SCFA分泌量也存在较为明显的差异。从单一添加BRS的角度分析,不同剂量的BRS各组与对照组相比,BRS组1和组2小鼠盲肠内容物中丙酸的分泌量显著增加,BRS组3(34.8%)小鼠盲肠内容物中乙酸、丁酸和总SCFA的分泌量有显著上升趋势,说明SCFA分泌量与BRS剂量有量效关系,并对肠道内菌群多样性的改变以及重建具有一定的作用;各复合制剂组与对照组相比,BRS+KGM组2(5%+23.5%)小鼠盲肠内容物中乙酸、丙酸、丁酸及总SCFA的分泌量显著增加,BRS+KGM组3丁酸分泌量显著增加,说明SCFA分泌量与不同配比的BRS+KGM摄入水平有密切关系。其中丁酸含量增加显著的为BRS组3、BRS+KGM组2和BRS+KGM组3,说明丁酸分泌量与BRS的剂量及丁酸发酵底物的种类密切相关。分析得出34.8%BRS和5%KGM+23.5%BRS的添加量为肠道益生作用最佳剂量。

已有研究证实了BRS或KGM对肠道菌群的调节作用。Hsiao-Ling^[34]等人报道了KGM可以明显的提高肠道中双歧杆菌的数量,提高结肠中乙酸的发酵产量。乙酸作为膳食纤维在肠道内微生物发酵的主要代谢产物,能被许多组织吸收和利用,能有效的调节人体的生理代谢水平。同时,乙酸也是产丁酸菌的主要发酵基质,二者共同作用可以提高SCFA的含量。BRS可以增加结肠末端的SCFA的浓度,尤其是丁酸浓度来降低肿瘤发生和结肠损伤^[36]。在BRS的发酵过程中,瘤胃球菌和双歧杆菌是产生影响的主要菌属^[31],并且BRS可以改善双歧杆菌和乳酸杆菌的生长^[33,37],从而增加SCFA的含量。

此外,众多研究表明抗性淀粉对TC、TG在人体内含量的降低以及减肥^[9]有积极促进作用。白永亮^[10]等人发现BRS可降低血清TC和TG,而使HDL-C升高,LDL-C降低。Giacco R^[38]等人研究,患有代谢综合征的病人连续食用含BRS的食物12周后,体内血浆中TG的水平降低了43%。BRS通过增加粪便容量和释放短链脂肪酸,增加胆汁酸的排泄,减少脂肪酸的合成,可明显降低血清胆固醇和三酰甘油水平^[39]。我们开展不同剂量BRS和BRS+KGM复合制剂对实验动物肠道分泌SCFA与血清中血脂水平相关性的研究发现,各实验组小鼠血清中血脂水平均有所改善,小鼠血液中TG和TC含量都有所下降,HDL-C的含

量有明显的升高趋势。其中,BRS组3的HDL-C的含量极显著升高,而TG和TC含量下降不显著;而BRS+KGM组2和组3小鼠的TG和TC含量都极显著下降,HDL-C的含量有显著升高的趋势,且BRS+KGM组2小鼠的TG和TC含量下降程度均高于BRS+KGM组3;分析检测中发现BRS+KGM组2的HDL-C的含量升高程度低于BRS组3,但TG和TC含量下降程度比BRS组3显著。三组相比,BRS+KGM组2的复合制剂对血脂水平的调节作用明确,效果最佳。与单一BRS组相比,复合制剂组对小鼠血脂水平具有更好的调节作用,并且调节效果与复合制剂的各组分含量有依赖关系。提示了合理地摄入膳食纤维可改善血脂水平,从而降低心血管疾病发生的风险。

3 结论

本研究采用正常健康BALB/c小鼠为对象,在AIN-93特制饲料基础上配制不同剂量BRS与不同配比KGM+BRS的纯化饲料直接进行饮食干预。通过对小鼠体重、肠道短链脂肪酸分泌水平以及血脂水平的分析,证实了①BRS+KGM组2(5%+23.5%)的肠道益生元效果最佳,能显著性提高小鼠盲肠内乙酸、丙酸、丁酸和总SCFA产量($p<0.05$);②各试验组小鼠的TG和TC含量有所下降,HDL-C的含量有升高的趋势,BRS+KGM组2(5%+23.5%)对小鼠血脂的调节作用最佳。综合比较,BRS+KGM组2在维护和促进小鼠的正常生长的前提下,不仅具有最佳的促进肠道分泌SCFA效果(特别是乙酸和丁酸),表现出明确的益生元功效,同时还具有显著调控血清中血脂水平的能力,因此5%KGM+23.5%BRS可作为促进肠道分泌SCFA和调节血脂水平的最佳复合益生元。综上所述,适宜配比的BRS与KGM复合制剂能改善小鼠肠道短链脂肪酸分泌水平和血脂水平,维持小鼠的健康状态,而BRS和KGM对肠道短链脂肪酸分泌水平以及血脂水平的调节作用机理还有待进一步研究。

参考文献

- [1] Theuwissen E, Mensink RP. Water-soluble dietary fibers BRS and cardiovascular disease [J]. *Physiol. Behav.*, 2008, 94 (2): 285-292
- [2] Mellen PB, Walsh TF, Herrington DM. Whole grain intake and cardiovascular disease: A meta-analysis [J]. *Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 2008, 18(4): 283-290
- [3] 庞杰,李斌,谢笔钧,等.氧化魔芋葡甘聚糖的结构研究[J].结

- 构化学,2004,23(8):912-917
- PANG Jie, LI Bin, XIE Bi-jun, et al. Studies on the structure of oxidized konjac glucomannan [J]. Chinese J. Struct. Chem., 2004, 23(8): 912-917
- [4] 吴贤聪,梁存均,郭森炎.魔芋甘露聚糖的提取、鉴定及其应用的研究[J].食品科学,1988,3:20-22
- WU Xian-cong, LIANG Cun-jun, GUO Sen-yan. The extraction, identification and application research of konjac glucomannan [J]. Food Science, 1988, 3: 20-22
- [5] 施航,于敏星,王三玲.从魔芋中提取葡甘露聚糖的研究[J].食品研究与开发,1998,4:20-23
- SHI Hang, YU Min-xing, WANG San-ling. The study of the extracted from konjac glucomannan [J]. Food Research and Development, 1998, 4: 20-23
- [6] 宫晓梅,严睿文,徐洪耀,等.魔芋葡甘露聚糖提纯及性能研究[J].精细化工,2002,8:486-488
- GONG Xiao-mei, YAN Rui-wen, XU Hong-yao, et al. Study of the extraction methods and properties of konjac glucomannan [J]. Fine Chemistry, 2002, 8:486-488
- [7] 宋彦显,闵玉涛.抗性淀粉防治糖尿病和肥胖症功能的研究进展[J].中国食物与营养,2009,7:48-50
- SONG Yan-xian, MIN Yu-tao. The research progress of prevention and control of diabetes and obesity resistant starch [J]. Food and Nutrition in China, 2009, 7: 48-50
- [8] 朱平,孔祥礼,包劲松.抗性淀粉在食品中的应用及功效研究进展[J].核农学报,2015,29(2):327-336
- ZHU Ping, KONG Xiang-li, BAO Jing-song. Current progress on the applications and health benefits of resistant starch in foods [J]. Journal of Nuclear Agricultural Science, 2015, 29(2): 327-336
- [9] 唐健,夏雨,杜冰,等.香蕉抗性淀粉对营养型肥胖大鼠减肥机理的探究[J].现代食品科技,2014,30(8):12-18
- TANG Jian, XIA Yu, et al. Mechanism of weight loss with resistant starch from banana in diet-induced obese rats [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(8): 12-18
- [10] 白永亮,徐勇,黄志强,等.香蕉粉毒理学安全评价及减肥功效研究[J].食品工业科技,2012,33(24):406-409
- BAI Yong-liang, XU Yong, HUANG Zhi-qiang, et al. Study on safe toxicology evaluation of banana powder and function in reducing weight [J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(24): 406-409
- [11] Homayouni A, Amini A, Keshtiban A K, et al. Resistant starch in food industry: A changing outlook for consumer and producer [J]. Starch-Starke, 2014, 66(1/2): 102-114
- [12] 徐运杰,方热军,戴求仲.短链脂肪酸的营养生理作用[J].饲料研究,2007,8:26-27
- XU Yun-jie, FANG Re-jun, DAI Qiu-zhong. The nutritional physiology effects of short-chain fatty acid [J]. Feed Research, 2007, 8: 26-27
- [13] German JB, Dillard CJ. Saturated fats: what dietary intake? [J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2004, 80: 550-559
- [14] 李可洲,李宁,黎介寿,等.短链脂肪酸对大鼠移植小肠形态及功能的作用研究[J].世界华人消化杂志,2002,10(6): 720-722
- LI Ke-zhou, LI Ning, LI Jie-shou, et al. The study of the effect of Short-chain fatty acids on rat's transplantation small intestine morphology and function [J]. World Chinese Journal of Digestology, 2002, 10(6): 720-722
- [15] NAKAYAMA K, et al. Stimulation of butyrate production in the large intestine of weaning piglets by dietary fructooligosaccharides and its influence on the histological variables of the large intestinal mucosa[J]. Journal of Nutritional Science and Vitaminology, 2003, 49(6): 414-421
- [16] VERNIA P, ANNESE V, BRESCI G, et al. Topical butyrate improves efficacy of 5-ASA in refractory distal ulcerative colitis: Results of a multicentre trial[J]. European Journal of Clinical Investigation, 2003, 33(3): 244-248
- [17] 耿珊珊,蔡东联.短链脂肪酸对结肠肿瘤细胞增殖分化的影响[J].肠外与肠内营养,2005,(5):295-298
- GENG Shan-shan, CAI Lian-dong. Short-chain fatty acids effects on colon cancer cell proliferation differentiation [J]. Parenteral & Enteral Nutrition, 2005, (5): 295-298
- [18] 詹彦,支兴刚.短链脂肪酸的再认识[J].实用临床医学,2007,8:134-136
- ZHAN Yan, ZHI Xing-gang. Reconsideration of short-chain fatty acid [J]. Practical Clinical Medicine, 2007, 8: 134-136.
- [19] Mozaffarian D, Kumanyika S K, Lemaitre R N, et al. Cereal fruit and vegetable fiber intake and the risk of cardiovascular disease in elderly individuals [J]. Jama, 2003, 289(13): 1659-1666
- [20] 王彦玲,刘冬,付全意,等.膳食纤维的国内外研究进展[J].中国酿造,2008,182(5):1-3
- WANG Yan-ling, LIU Dong, FU Quan-yi, et al. Research progress on dietary fiber in the world [J]. China Brewing, 2008, 182(5): 1-3
- [21] 张志旭,陈岳文,刘东波.苦瓜膳食纤维的抗氧化活性研究[J].现代食品科技,2012,28(8):933-935
- ZHANG Zhi-xu, CHEN Yue-wen, LIU Dong-bo. Antioxidant activity of dietary fiber from balsam pear [J].

- Modern Food Science and Technology, 2012, 28(8):933-935
- [22] 姜士. 麦草膳食纤维的制备研究[J]. 现代食品科技, 2007, 23(11):64-67
JIANG Tu. Preparation of dietary fiber from wheat straw [J]. Modern Food Science and Technology, 2007, 23(11):64-67
- [23] 刘敬科, 赵巍, 刘莹莹, 等. 小米糠膳食纤维制备工艺及通便特性的研究[J]. 食品科技, 2014, 39(2):177-181
LIU Jing-ke, ZHAO Wei, LIU Ying-ying, et al. Preparation of dietary fiber from millet bran and its catharsis function [J]. Food Science and Technology, 2014, 39(2): 177-181
- [24] 张宁, 曾艳华, 吴希阳, 等. 中性大蒜果聚糖体外发酵产短链脂肪酸[J]. 食品与发酵工业, 2013, 39(1):51-54
ZHANG Ning, ZENG Yan-hua, WU Xi-yang, et al. Effect of neutral garlic fructans on short-chain fatty acids by human fecal bacteria *in vitro* [J]. Food and Fermentation Industries, 2013, 39(1): 51-54
- [25] VESTER BOLER B M, HERNOT D C, BOILEAU T W, et al. Carbohydrates blended with polydextrose lower gas production and short-chain fatty acid production in an *in vitro* system [J]. Nutrition Research, 2009, 29(9): 631-639
- [26] 房新平, 翟红梅, 贾树妍, 等. 三种具有不同保健功能趋势的益生元组合的筛选及确定[J]. 食品工业, 2012, 33(11):1-3
FANG Xin-ping, ZHAI Hong-mei, JIA Shu-yan, et al. Screening and determining of 3 kinds of combination of prebiotics that has the trend of different health care function [J]. Food Industry, 2012, 33(11): 1-3
- [27] Moro G E, Stahl B. Dietary prebiotic oligosaccharides are detectable in the faeces of formula-fed infants [J]. Acta Paediatr Suppl., 2005, 94(449): 27-30
- [28] 罗剑鸣, 饶洁, 冯嘉韵, 等. 3 种不溶性复合膳食纤维对小鼠肠道内短链脂肪酸产生的影响[J]. 食品科学, 2012, 33(3): 225-227
LUO Jian-ming, RAO Jie, FENG Jia-yun, et al. Effects of insoluble compound dietary fibers on short-chain fatty acid production in the intestinal tract of rats [J]. Food Science, 2012, 33(3): 225-227
- [29] 贾益群, 叶福媛, 王双, 等. 生物样品中短链脂肪酸的快速提取与分析方法[J]. 实验室研究与探讨, 2012, 33(3):262-264
JIA Yi-qun, YE Fu-yuan, WANG Shuang, et al. Extraction and determination of short-chain fatty acid in biological samples [J]. Research and Exploration Laboratory, 2012, 33(3): 262-264
- [30] 魏秀秀, 陈庆森, 阎亚丽, 等. 魔芋葡甘露聚糖对小鼠盲肠内分泌短链脂肪酸水平的影响[J]. 食品科学, 2014, 35(19): 214-219
WEI Xiu-xiu, CHEN Qing-sen, YAN Ya-li, et al. Effect of konjac glucomannans on short-chain fatty acids in cecal contents of mice [J]. Food Science, 2014, 35(19): 214-219
- [31] Socott K P, Flint H J. Dietary fiber and the gut microbiota [J]. Br Nutr Found Bull, 2008, 33(3): 201-211
- [32] Bird A R, Vuaran M, Crittenden R, et al. Comparative effects of a high-amylose starch and a fructooligosaccharide on fecal bifidobacteria numbers and short-chain fatty acids in pigs fed *Bifidobacterium animalis* [J]. Digestive Diseases & Sciences, 2009, 54(5): 947-954
- [33] Sekirov I, Russell S L, Antunes L C M, et al. Gut Microbiota in Health and Disease [J]. Physiol. Rev., 2010, 90(3): 859-904
- [34] Hsiao-Ling Chen, Ying-Hsin Fan, Mei-En Chen, et al. Unhydrolyzed and hydrolyzed konjac glucomannans modulated cecal and fecal microflora in Balb/c mice [J]. Nutrition, 2005, 21 (10): 1059-1064
- [35] Ala Alwan, Tim Armstrong, Douglas Bettcher, et al. World Health Organization . Global Status Report on Noncommunicable Diseases 2010 [R]. Geneva, 2011
- [36] Le Leu R K L, Hu Y, Brown I, et al. Effect of high amylose maize starches on colonic fermentation and apoptotic response to DNA-damage in the colon of rats [J]. Nutrition & Metabolism, 2009, 6: 11
- [37] Bird A R, Vuaran M, Crittenden R, et al. Comparative effects of a high-amylose starch and a fructooligosaccharide on fecal bifidobacteria numbers and short-chain fatty acids in pigs fed *Bifidobacterium animalis* [J]. Digestive Diseases & Sciences, 2009, 54(5): 947-954
- [38] Giacco R, Costabile G, Della P G, et al. A whole-grain cereal-based diet low BRS postprandial plasma insulin and triglyceride levels in individuals with metabolic syndrome [J]. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases, 2014, 24(8): 837-844
- [39] 李洁, 赵明. 抗性淀粉与代谢综合征[J]. 肠外与肠内营养, 2006, 13(4):247-249
LI Jie, ZHAO Ming. Resistant starch and metabolic syndrome [J]. Parenteral & Enteral Nutrition, 2006, 13(4): 247-249