

# 复合代糖的通便功效及其对肠道菌群的调节作用

李国坤, 董嘉华, 肖健海, 白思晓, 陈晓熠, 苏立杰

(广州医科大学公共卫生学院, 广东广州 511436)

**摘要:** 本研究通过小鼠实验和菌群体外增殖实验探究复合代糖的通便功效及其对肠道菌群的调节作用。将 Balb/c 小鼠分为空白对照组、模型组、阳性对照组和复合代糖干预 G1 组(0.75 g/kg·BW)、G2 组(1.5 g/kg·BW)、G3 组(2.25 g/kg·BW)、G4 组(3 g/kg·BW)、G5 组(3.75 g/kg·BW), 用洛哌丁胺建立便秘模型, 酚酞和复合代糖进行干预, 14 d 后观察墨汁推进率、首粒黑便时间、6 h 的排便粒数和 6 h 粪便重量等指标, 评价复合代糖的通便效果。并通过体外培养实验探究复合代糖对小鼠肠道菌群的增殖影响。结果表明, 五种剂量的复合代糖干预组均可促进小鼠排便, 其中 3.75 g/kg·BW 剂量的通便功效最为显著, 相对于模型组, 墨汁推进率增加了 48.47%、首粒黑便时间减少了 67.25 min、6 h 排便粒数增加了 8.75 n、6 h 粪便重量增加了 0.20 g。体外培养实验发现 0.075 g/mL、0.15 g/mL、0.225 g/mL、0.3 g/mL、0.375 g/mL 浓度的复合代糖可促进双歧杆菌、乳酸杆菌的增殖和抑制肠杆菌、肠球菌的增殖, 并在 0.075 g/mL 至 0.375 g/mL 浓度内, 浓度越大, 促进双歧杆菌、乳酸杆菌增殖的趋势越明显。本研究的复合代糖具有通便效果, 对肠道菌群有调节作用。

**关键词:** 复合代糖; 通便; 小鼠; 菌群

文章编号: 1673-9078(2021)07-14-22

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.7.1067

## The Purgative Effect of Complex Sugar Substitute and Its Regulation Effect on Intestinal Flora

LI Guo-kun, DONG Jia-hua, XIAO Jian-hai, BAI Si-xiao, CHEN Xiao-yi, SU Li-jie

(School of Public Health, Guangzhou Medical University, Guangzhou 511436, China)

**Abstract:** The laxative effect and the regulation of intestinal flora of complex sugar substitutes were investigated by mice experiment and *in vitro* bacterial proliferation experiment in this study. To evaluate the laxative effect of compound substitute sugar, Balb/C mice were divided into blank control group, model group, positive control group, compound glucose-substituted G1 group (0.75 g/kg·BW), G2 group (1.5 g/kg·BW), G3 group (2.25 g/kg·BW), G4 group (3 g/kg·BW) and G5 group (3.75 g/kg·BW) to establish constipation model with loperamide, and phenolphthalein and five different concentrations of complex substitute sugars were used for intervention. The weight of mice before and after the experiment, the advance rate of ink, the time of the first black defecation, the number of defecation grains within 6 h and the weight of defecation were observed. The effect of compound sugars on the proliferation of intestinal flora in mice was explored through *in vitro* culture experiments. The results showed that five different doses of compound sugar substitute intervention group could promote the defecation of mice, among which the defecation effect of 3.75 g/kg·BW group was the most significant. Compared with the model group, the ink propulsion rate increased by 48.47%, the first black stool time decreased by 67.25 min, the number of defecation particles increased by 8.75 n in 6 h, and the fecal weight increased by 0.20 g in 6 h. The *in vitro* culture experiment showed that compound sugar at the concentration of 0.075 g/mL, 0.15 g/mL, 0.225 g/mL, 0.3 g/mL and 0.375 g/mL could promote the proliferation of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* and inhibit the proliferation of *Enterobacter* and *Enterococcus*. In the concentration from 0.075 g/mL to 0.375 g/mL, the higher the concentration of compound sugar, the

引文格式:

李国坤,董嘉华,肖健海,等.复合代糖的通便功效及其对肠道菌群的调节作用[J].现代食品科技,2021,37(7):14-22

LI Guo-kun, DONG Jia-hua, XIAO Jian-hai, et al. The purgative effect of complex sugar substitute and its regulation effect on intestinal flora [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(7): 14-22

收稿日期: 2020-11-19

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81773428; 81703219)

作者简介: 李国坤 (1997-), 男, 硕士, 研究方向: 营养与食品卫生学

通讯作者: 陈晓熠 (1965-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 营养与食品卫生学; 苏立杰 (1986-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 营养与食品卫生学

more obvious the trend of promoting the proliferation of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus*. Therefore, the compound sugar substitute in this study has a laxative effect and can regulate the intestinal flora.

**Key words:** complex substitute sugar; laxative; mice; flora

慢性便秘 (Chronic Constipation, CC) 是临床最常见的胃肠道病症之一, 表现为持续 2 周或更长时间排便困难, 在全球范围内的发病率为 15%<sup>[1,2]</sup>, 我国的便秘发病率大概在 3%~17%<sup>[3]</sup>。慢传输型便秘 (Slow Transit Constipation, STC) 是慢性便秘的一种主要类型, 其特点是肠道运输时间显著增加、肠道运动功能障碍<sup>[4]</sup>。大部分 STC 患者会有恶心、腹胀、食欲不振、情绪低落等症状, 严重者可能还出现结肠癌、直肠癌等病症<sup>[5]</sup>。导致 STC 的结肠动力障碍的潜在机制尚不清楚。大量研究表明, STC 患者会发生多种生理变化, 包括结肠 Cajal 的间质细胞 (Interstitial cells of Cajals, ICC) 减少、肠神经系统异常、肠道平滑肌收缩功能异常等<sup>[6]</sup>。现有的治疗方法主要有泻药、抗炎药等药物治疗和结肠切除术与回肠直肠吻合术等手术治疗, 但都有着严重的副作用和不良反应<sup>[7]</sup>。

肠道菌群是一个复杂的生态系统, 在维持宿主的健康和生理功能方面起着关键作用<sup>[8]</sup>。根据近些年的研究, STC 患者的肠道菌群生态系统与健康人群相比均出现不同程度的破坏。其中 STC 患者肠道菌群的组成相较于健康人群出现了较大的不同: 粪便中的双歧杆菌、乳酸杆菌、肠球菌、肠杆菌等出现了异常变化<sup>[9]</sup>。在动物研究中发现, 可以通过增加肠道内有益菌、减少肠道内有害菌来改善 STC 小鼠的便秘情况<sup>[10-14]</sup>。这提示我们可以通过调节肠道菌群来干预 STC<sup>[15,16]</sup>。

代糖是低热量的甜味剂, 具有甜度高、热量低、不易发生龋齿、安全性高等特性。研究不同代糖的功能特性是如今食品研究的热点之一<sup>[17]</sup>。一种代糖常存在功能单一、口感不好等缺陷, 因此市面上常采用多种代糖复合。本研究所采用的复合代糖由赤藓糖醇、菊粉、甜菊糖苷、罗汉果苷组成。研究表明, 菊粉、罗汉果苷具有润肠通便效果<sup>[18]</sup>, 菊粉可有效的改善肠道菌群紊乱<sup>[19-22]</sup>, 甜菊糖苷可促进双歧杆菌和乳酸杆菌生长<sup>[23]</sup>。这提示复合代糖可能有通便作用和调节肠道菌群作用。所以本研究拟通过小鼠实验和菌群体外增殖实验, 探究该复合代糖是否能显著改善小鼠的便秘情况和探究其对小鼠肠道菌群的影响。本研究探究复合代糖的通便效果及其对肠道菌群的作用, 为 STC 患者的治疗和功能型食品的开发提供了新的思路和方法。

## 1 材料与与方法

### 1.1 材料与试剂

复合代糖, 广州莱品健康科技有限公司 (产品标准号: GB26687; 生产许可证编号: SC1244419014023); 阿拉伯树胶, 天津市福晨化学试剂厂; 酚酞, 亚宝药业集团股份有限公司; 羧甲基纤维素钠, 国药集团化学试剂有限公司; 盐酸洛哌丁胺胶囊, 西安杨森制药有限公司; 氯化钠, 无锡市亚泰联合化工有限公司。

### 1.2 仪器与设备

SPX-250B 微机生化培养箱, 上海悦丰仪器仪表有限公司; FE20pH 计, 梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司; T6773 电子天平, 普利赛斯科学仪器有限公司 (瑞士); ZHJH-C1106B 超净工作台, 上海智城分析仪器制造有限公司; MULTISKAN GO 全自动酶标仪, 广东丹利科技有限公司; MLS-3750 高压蒸汽灭菌机, 日本三洋; 纯水机, 南京贝登医疗股份有限公司; DZF-6050 真空干燥, 上海-恒科学仪器有限公司。

### 1.3 动物及动物粪便

SPF 级 Balb/c 小鼠, 雄性, 体质量 22±2 g, 合格证号: NO. 44007200049595, 许可证号: SCXK(粤) 2013-0002, 由广东省医学实验动物中心提供。

### 1.4 动物实验方法

#### 1.4.1 试剂的配制

取 9 g 氯化钠粉末溶于 1 L 纯水, 高温灭菌, 即得 0.9% 的生理盐水。

取 32 mg 洛哌丁胺粉末溶于 32 mL 生理盐水, 配成 1 mg/mL 的洛哌丁胺溶液。

取 20 mg 酚酞粉末溶于 4 mL 生理盐水, 配成 5 mg/mL 的酚酞溶液。

分别取 0.25 g、0.45 g、0.675 g、0.9 g、1.125 g 复合代糖溶于 3 mL 生理盐水中, 分别配成 0.075 g/mL、0.15 g/mL、0.225 g/mL、0.3 g/mL、0.375 g/mL 复合代糖溶液。分别作为小鼠 G1、G2、G3、G4、G5 组的干预试剂。

取 10 g 阿拉伯树胶溶于 100 mL 纯水中, 煮沸至透明后, 加入 5 g 碳粉, 混匀再煮沸即可得。

### 1.4.2 小鼠灌胃实验

小鼠适应性喂养 5 d 后随机分成 8 组, 每组 8 只, 分别为空白对照组、模型组、阳性对照组和复合代糖干预 G1 组 (0.75 g/kg·BW)、G2 组 (1.5 g/kg·BW)、G3 组 (2.25 g/kg·BW)、G4 组 (3 g/kg·BW)、G5 组 (3.75 g/kg·BW)。根据各组小鼠体重按量给药, 模型组、阳性对照组和 G1 组 (0.75 g/kg·BW)、G2 组 (1.5 g/kg·BW)、G3 组 (2.25 g/kg·BW)、G4 组 (3 g/kg·BW)、G5 组 (3.75 g/kg·BW) 分别给予 10 mg/kg·BW 的盐酸洛哌丁胺溶液, 空白对照组给予相应的生理盐水。0.5 h 后, 按照体重给予空白对照组、模型组生理盐水, 阳性对照组给予 50 mg/kg·BW 的酚酞溶液, 复合代糖组给予相应浓度的复合代糖。按时对其进行 14 d 的灌胃实验。

### 1.4.3 小鼠黑便实验

灌胃实验进行 14 d 后, 各组小鼠禁食不禁水 12 h。空白对照组灌胃给予生理盐水, 阳性对照组、模型组和复合代糖组灌胃给予 10 mg/kg·BW 的盐酸洛哌丁胺溶液。在 0.5 h 后, 按照体重给予空白对照组、模型组生理盐水, 阳性对照组给予 50 mg/kg·BW 的酚酞溶液, 复合代糖组给予不同浓度的代糖溶液, 并给予 0.2 mL 的墨汁。从每只小鼠的墨汁灌胃时间开始, 记录每只动物首粒排黑便时间、在 6 h 内排粪便粒数和粪便重量。

### 1.4.4 墨汁推进率实验

黑便实验后, 各组小鼠禁食不禁水 12 h。阳性对照组、模型组和复合代糖组给予 0.2 g/mL 的盐酸洛哌丁胺溶液, 空白对照组给予蒸馏水灌胃。给予洛哌丁胺 0.5 h 后, 按照体重给予空白对照组、模型组生理盐水, 阳性对照组给予 3 mg/mL 的酚酞溶液, 复合代糖组给予不同浓度的代糖溶液, 并给予 0.2 mL 的墨汁。在每只小鼠灌墨汁 30 min 后立即脱颈椎处死, 用镊子剪开腹腔, 将幽门至盲肠的肠管剪取, 置于洁净实验台上, 将其拉成直线测量长度, 记为小肠总长度, 将幽门至墨汁前沿处记为墨汁推进长度。按下列公式计算墨汁推进率:

$$\text{墨汁推进率}/\% = \frac{\text{墨汁推进长度 (cm)}}{\text{小肠总长度 (cm)}} \times 100\%$$

## 1.5 菌群体外增殖实验方法

### 1.5.1 培养基的制备

分别用 TPY 琼脂培养基、EBM 培养基、BEA 琼脂培养基、BBL 琼脂培养基作为乳酸杆菌、肠杆菌、肠球菌、双歧杆菌的选择培养基。称取复合代糖 10 g 于离心管中, 加入 10 mL 水, 混合均匀, 紫外线照射

30 min 灭菌, 即得 1 g/mL 的代糖溶液。用 1 g/mL 的代糖溶液和营养肉汤培养基配制成 0.075、0.15、0.225、0.3、0.375 g/mL 的代糖培养基。

### 1.5.2 试验用菌种分离

准备一个 5 mL 无菌 EP 管, 使用无菌棉签接取小鼠排出的新鲜粪便, 转入管内称重, 记录下粪便的质量为  $m$ 。加入 99 倍  $m$  的无菌生理盐水, 与小鼠的粪便混匀。得  $10^{-2}$  粪便稀释液, 依次用生理盐水稀释成  $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$  和  $10^{-5}$ 。将浓度为  $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$  和  $10^{-5}$  的粪便稀释液涂布于四种不同的选择培养基上, 放入 37 °C 的微生物培养箱里, 培养的时间为 24~48 h。参考《伯杰氏系统细菌学手册》第九版, 在单菌落明显以及菌落数在 20~30 CFU 的平板里进行菌种鉴定和分离。将密度为 108 CFU/mL 的目标菌接种在 0.075 g/mL、0.15 g/mL、0.225 g/mL、0.3 g/mL、0.375 g/mL 的代糖培养基上, 37 °C 下培养 24 h。在 600 nm 的波长下, 每 2 h 测定一次菌液的 OD 值。

## 1.6 数据处理与统计分析

所有数据均独立平行测定, 数据结果以平均值±标准差的形式表示, 采用 SPSS 24.0 软件对试验数据进行统计学分析, 通过独立样本  $t$  检验和单因素方差检验做显著性分析,  $p < 0.05$  为有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 复合代糖对小鼠体重的影响

将实验前各组小鼠的体重与模型组进行比较, 如表 1 所示, 没有出现显著差异 ( $p > 0.05$ ), 说明实验前小鼠的分组具有一定的科学合理性。比较实验后各组小鼠与空白组的体重, 体重没有出现显著的差异 ( $p > 0.05$ ), 说明灌胃 10 mg/kg·BW 洛哌丁胺 14 d 对小鼠来说不会产生严重的影响。姚一博等在洛哌丁胺给药剂量和造模时间对小鼠慢传输型便秘模型建立的研究中, 0.5 mg/kg·BW~50 mg/kg·BW 给药浓度和 3 d~14 d 的造模时间都未出现小鼠体重下降的情况<sup>[24]</sup>。这也与 Ren X 和 Li C 等研究中洛哌丁胺对体重无太大影响的结果研究一致<sup>[10,12]</sup>。

世界卫生组织建议蔗糖的摄入量应该在总热量的 10% 以内<sup>[25]</sup>, 而美国医学研究所建议蔗糖的能量占总热量的比应小于 25%<sup>[26]</sup>。在美国 2003~2006 年的流行病学调查中, 摄入蔗糖的占能比大于 25% 的人口达到了 13%<sup>[27]</sup>; 在南非, 摄入蔗糖的占能比大于 10% 的人口超过了 10%<sup>[28]</sup>。在瑞典, 摄入蔗糖的占能比大于 15% 的人群超过了 10.56%<sup>[29]</sup>。过量蔗糖

摄入可能会导致龋齿、肥胖、2型糖尿病和心血管疾病等健康问题<sup>[30,31]</sup>,因此寻找能够代替蔗糖的功能性代糖是当今食品研究的热点之一。但一种代糖常存在功能单一、口感不好等缺陷,因此常采用多种代糖复合。本研究所用的复合代糖由赤藓糖醇、菊粉、甜菊糖苷、罗汉果苷组成。赤藓糖醇作为糖替代品广泛用于各种食品和口腔护理产品中,具有抗糖尿病、降血糖作用、抗龋齿作用<sup>[32]</sup>;菊粉是一种可溶性膳食纤维,具有促进消化,促进脂质代谢和维持葡萄糖和胰岛素水平功效<sup>[33]</sup>;甜菊糖苷是从甜叶菊植物的叶中提取的一种天然甜味剂,在Ilić V的研究中,低剂量甜菊糖苷对糖尿病小鼠有着维持血糖的功效<sup>[34]</sup>;罗汉果苷是从罗汉果果实中分离出的天然化合物,具有通便、降血糖、抗炎等功效<sup>[35]</sup>。由此可知,由赤藓糖醇、菊粉、甜菊糖苷、罗汉果苷混合的复合代糖可能会具有抗糖尿病、降血糖、通便、抗龋齿作用等功效。而在此次实验中,复合代糖干预组体重实验前后与空白组前后体重无显著性差异( $p>0.05$ ),说明0.75 g/kg·BW、1.5 g/kg·BW、2.25 g/kg·BW、3

g/kg·BW、3.75 g/kg·BW剂量的复合代糖在灌胃14 d不会显著地引起小鼠的体重变化。

## 2.2 小鼠便秘模型的建立结果

将实验后空白对照组和模型组的各排便指标进行比较,如表2所示,模型组的首粒黑便时间(156.63 min)相对于空白对照组(63.75 min)显著增加( $p<0.05$ );6 h排便粒数(11.75 n)相对于空白对照组(21.63 n)显著减少( $p<0.05$ );6 h粪便重量(0.19 g)相对于空白对照组(0.29 g)显著减少( $p<0.05$ );墨汁推进率(38.45%)相对于空白对照组(70.58%)显著减少( $p<0.05$ )。国内外研究表明洛哌丁胺剂量在2 mg/kg·BW~20 mg/kg·BW、给药时间在4 d~42 d均有成功建立小鼠便秘模型的案例<sup>[24,36]</sup>。根据小鼠便秘模型建立的判定:干预组首粒黑便时间、6 h排便粒数、6 h粪便重量、墨汁推进率与空白组具有显著性差异,可说明该小鼠便秘模型成功建立<sup>[37,38]</sup>。所以可判定此次用10 mg/kg·BW的盐酸洛哌丁胺溶液灌胃14 d的小鼠便秘模型成功建立。

表1 小鼠实验前后体重

Table 1 Weight of mice before and after the experiment

组别	动物数	实验前体重		实验14 d后体重	
		体重/g	<i>p</i> 值	体重/g	<i>p</i> 值
空白对照组	8	21.63±1.32	0.37	26.41±2.00	0.45
模型组	8	22.25±1.20		27.23±1.18	
阳性对照组	8	21.13±1.36	0.12	26.85±2.05	0.68
代糖 G1 组	8	21.25±1.48	0.19	26.04±2.11	0.22
代糖 G2 组	8	20.13±0.78	0.06	26.45±1.41	0.28
代糖 G3 组	8	22.13±1.27	0.85	26.20±0.63	0.06
代糖 G4 组	8	21.50±1.41	0.30	25.66±1.88	0.08
代糖 G5 组	8	22.38±1.11	0.84	26.98±2.07	0.78

表2 洛哌丁胺对小鼠各排便指标的影响

Table 2 Effects of loperamide on various defecation indexes in mice

组别	首粒黑便时间/min	6 h 排便粒数/n	6 h 粪便重量/g	墨汁推进率/%
空白对照组	63.75±2.77 <sup>a</sup>	21.63±1.32 <sup>a</sup>	0.29±0.05 <sup>a</sup>	70.58±12.58 <sup>a</sup>
模型组	156.63±5.76 <sup>b</sup>	11.75±1.56 <sup>b</sup>	0.19±0.05 <sup>b</sup>	38.45±22.62 <sup>b</sup>

注:不同组间同列小写英文字母不同表示差异性显著( $p<0.05$ )。下表同。

## 2.3 复合代糖对小鼠小肠墨汁推进率、首次黑便时间、排便粒数、6 h 粪便重量的影响

比较各组与模型组的墨汁推进率,如表3所示,五组复合代糖干预组的墨汁推进率相对于模型组均显著增加( $p<0.05$ )。其中代糖 G3 组的墨汁推进率相对于模型组(38.45%)增加了49.41%,其次是代糖

G5 组增加了48.47%、代糖 G4 组增加了47.77%。将模型组与阳性对照组、代糖各组的各排便指标进行比较,如表4所示,发现阳性对照组和代糖各组的首粒黑便时间相对于模型组均显著减少,其中代糖 G5 组的首粒黑便时间相对于模型组(156.63 min)减少了67.25 min,其次是代糖 G3 组减少了57.50 min、代糖 G4 组减少了50.25 min。比较各组与模型组的6 h 排便粒数,发现阳性对照组和代糖各组的6 h 排便粒数

相对于模型组均显著增加,其中代糖 G2 组的 6 h 排便粒数相对于模型组 (11.75 n) 增加了 9.38 n, 其次是代糖 G5 组增加了 8.75 n、代糖 G1 组增加了 8.38 n。比较各组与模型组的 6 h 粪便重量, 发现阳性对照组和代糖各组的 6 h 粪便重量相对于模型组均显著增加, 其中代糖 G5 组的 6 h 粪便重量相对于模型组 (0.19 g) 增加了 0.20 g, 其次是代糖 G1 组增加了 0.14 g、代糖 G2 组增加了 0.12 g。

表 3 复合代糖对便秘小鼠小肠推进的影响

Table 3 Effects of complex substitute sugar on intestinal propulsion in constipated mice

组别	小肠全长/cm	墨汁推进长度/cm	墨汁推进率/%
空白对照组	46.56±1.57	32.94±16.45	70.58±12.58 <sup>a</sup>
模型组	47.53±1.59	18.13±21.39	38.45±22.62 <sup>b</sup>
阳性对照组	46.61±2.65	25.88±15.84	54.84±19.87 <sup>a</sup>
代糖 G1 组	44.31±2.22	31.25±16.29	70.83±17.13 <sup>a</sup>
代糖 G2 组	45.38±1.93	29.50±16.00	65.59±19.13 <sup>a</sup>
代糖 G3 组	45.50±2.18	40.06±16.69	87.86±11.44 <sup>a</sup>
代糖 G4 组	46.88±3.18	40.19±15.82	86.22±12.02 <sup>a</sup>
代糖 G5 组	46.38±1.80	40.13±17.52	86.92±14.51 <sup>a</sup>

表 4 复合代糖对小鼠各排便指标的影响

Table 4 Influence of complex substitute sugar on various defecation indexes in mice

组别	首粒黑便时间/min	6 h 排便粒数/n	6 h 粪便重量/g
模型组	156.63±5.76 <sup>b</sup>	11.75±1.56 <sup>b</sup>	0.19±0.05 <sup>b</sup>
阳性对照组	98.50±12.83 <sup>c</sup>	19.50±1.58 <sup>c</sup>	0.31±0.07 <sup>c</sup>
代糖 G1 组	111.50±14.62 <sup>c</sup>	20.13±2.32 <sup>c</sup>	0.33±0.07 <sup>c</sup>
代糖 G2 组	110.25±8.36 <sup>c</sup>	21.13±2.52 <sup>c</sup>	0.31±0.08 <sup>c</sup>
代糖 G3 组	99.13±9.10 <sup>c</sup>	19.00±1.73 <sup>c</sup>	0.31±0.05 <sup>c</sup>
代糖 G4 组	106.38±14.66 <sup>c</sup>	19.13±1.36 <sup>c</sup>	0.30±0.04 <sup>c</sup>
代糖 G5 组	89.38±18.87 <sup>c</sup>	20.50±1.66 <sup>c</sup>	0.39±0.09 <sup>c</sup>

根据保健食品的通便功能检验方法: 6 h 排便粒数和 6 h 粪便重量任一项结果显著, 同时墨汁推进率和首粒黑便时间任一项结果显著, 可判定该受试样品对便秘小鼠具有通便功效<sup>[39]</sup>, 所以可判定 0.75 g/kg·BW、1.5 g/kg·BW、2.25 g/kg·BW、3 g/kg·BW、3.75 g/kg·BW 剂量的复合代糖可显著的改善小鼠的便秘情况, 不同剂量复合代糖的通便效果无显著的线性关系。比较五组复合代糖干预组通便结果, 发现代糖 G5 组 (3.75 g/kg·BW) 的通便功效最为显著, 相对于模型组, 墨汁推进率增加了 48.47%、首粒黑便时间减少了 67.25 min、6 h 排便粒数增加了 8.75 n、6 h 粪便重量增加了 0.20 g。

菊粉是一种可溶性膳食纤维, 在临床研究中, 每天食用 12~20 g 的菊粉可通过增加慢性便秘患者的排便频率、降低粪便稠度有效地改善患者的病情<sup>[40-42]</sup>, 而在动物实验中, 1.0 g/kg·BW 的菊粉未能有效地改善小鼠便秘情况, 其阴性结果的原因可能是剂量太小<sup>[43]</sup>。罗汉果苷是罗汉果的主要成分, 在陈瑶的研究中, 300 mg/kg·BW、900 mg/kg·BW 的罗汉果苷可通过减少首次排便时间和增加 6 h 粪便重量等来改善小鼠便秘情况<sup>[18]</sup>, 其机制可能是通过减少血液中 LPS 内毒素的含量, 从而修复肠屏障<sup>[44]</sup>。这提示我们该复合代糖中的菊粉和罗汉果苷可能是其通便作用的有效成分。

## 2.4 复合代糖对小鼠有益菌 (双歧杆菌、乳酸杆菌) 的影响

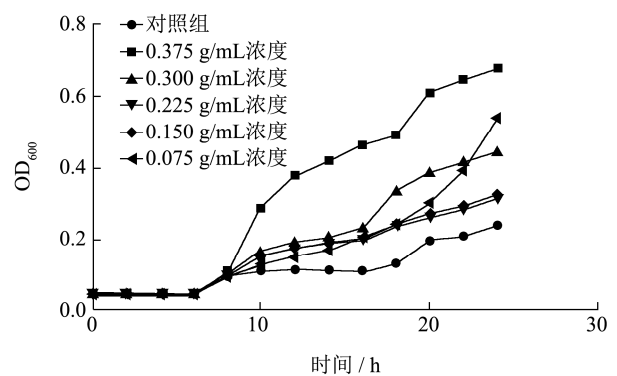


图 1 复合代糖对双歧杆菌增殖的影响

Fig.1 Effects of complex glucosubstitutes on the proliferation of bifidobacterial

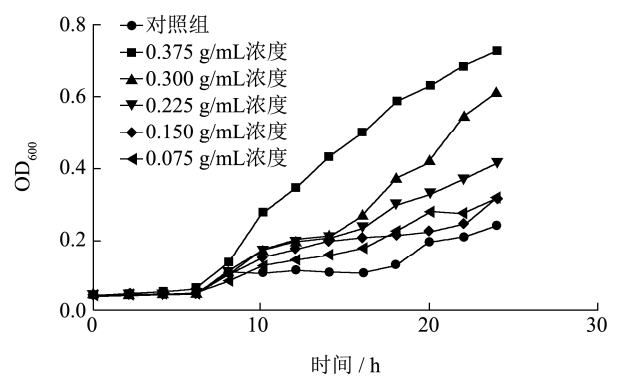


图 2 复合代糖对乳酸杆菌增殖的影响

Fig.2 Effects of complex glucose on lactobacillus proliferation

将小鼠粪便中分离出的双歧杆菌和乳酸杆菌接种在 0.075 g/mL、0.15 g/mL、0.225 g/mL、0.3 g/mL、0.375 g/mL 复合代糖浓度的培养基, 在 600 nm 的波长下 OD 值。由图 1 可得, 对照组和 5 组不同浓度的复合代糖组在前 8 h 内双歧杆菌的数量相差不大。在 8 h 之后, 0.375 g/mL 代糖浓度组呈现近对数生长的趋势。另外,

在 8 h 后, 5 组不同浓度的复合代糖组双歧杆菌数量均高于对照组, 并有高浓度的复合代糖组双歧杆菌数量高于低浓度复合代糖组的趋势。由图 2 可得, 对照组和 5 组不同浓度的复合代糖组在前 6 h 内乳酸杆菌的数量相差不大, 在 6 h 之后, 0.375 g/mL 和 0.3 g/mL 代糖浓度组均呈现近对数生长的趋势, 且 5 组不同浓度的复合代糖组在 6 h 后乳酸杆菌的数量均高于对照组, 并有高浓度的复合代糖组乳酸杆菌的数量高于低浓度复合代糖组的趋势。这说明 0.075 g/mL、0.15 g/mL、0.225 g/mL、0.3 g/mL、0.375 g/mL 浓度的复合代糖组均可促进双歧杆菌和乳酸杆菌的增殖, 相较于双歧杆菌, 复合代糖能更早地促进乳酸杆菌的增殖。并在 0.075 g/mL 至 0.375 g/mL 浓度内, 复合代糖浓度越大, 促进双歧杆菌、乳酸杆菌增殖的趋势越明显。

人类的肠道微生物群非常复杂, 其数量是宿主细胞的 10 倍, 可帮助肠道吸收、分解和代谢各类营养物质, 是维持机体正常运转的重要因素<sup>[45]</sup>。其中双歧杆菌、乳酸杆菌是人类和动物胃肠道中重要的益生菌。目前研究认为体内双歧杆菌与保护肠道粘膜、增加 IgA 数量、抑制肿瘤、改善便秘等密切相关<sup>[46]</sup>。而乳酸杆菌有着预防和改善便秘、治疗腹泻等功效, 可通过饮食提高肠道内数量<sup>[47]</sup>。饮食是影响结肠微生物群组成和代谢的主要因素, 饮食中的营养素数量、种类对肠道微生物群有很大影响<sup>[45]</sup>。菊粉是由重复果糖基单元组成的纤维, 易被肠内细菌发酵, 并产生大量短链脂肪酸 (SCFA)。在每日的饮食外补充 5 g~20 g 菊粉, 可检测到肠道内双歧杆菌和乳酸杆菌的增加<sup>[48]</sup>。Wu X 的研究表明, 往小鸡的饮食中添加 100~3200 mg/kg 的甜菊糖苷, 可检测到其肠道内双歧杆菌显著增加, 并有促进乳酸杆菌生长的趋势<sup>[49]</sup>。这提示我们该复合代糖中的菊粉和甜菊糖苷可能是其扶植作用的有效成分。

## 2.5 复合代糖对小鼠有害菌 (肠杆菌、肠球菌) 的影响

肠杆菌和肠球菌是人和动物肠道内一类常见的致病菌, 具有生殖力强、分布广等特点, 常引起各类感染, 研究其抑制方法是当今研究热点之一<sup>[50,51]</sup>。将肠杆菌和肠球菌接种在 5 种不同复合代糖浓度的培养基, 在 600 nm 的波长下 OD 值。由图 3 可得, 对照组和 5 组不同浓度的复合代糖组在前 4 h 内肠杆菌的数量相差不大。在 4 h 之后, 0.075 g/mL、0.15 g/mL、0.225 g/mL、0.3 g/mL、0.375 g/mL 浓度的复合代糖组肠杆菌的数量均低于对照组。由图 4 可得, 0.075 g/mL、

0.15 g/mL、0.225 g/mL、0.3 g/mL、0.375 g/mL 浓度的复合代糖组肠球菌数量在 24 h 内均低于对照组。

肠杆菌适宜 pH 值在 4.5~8.0 之间, 肠球菌喜在高盐高碱的环境生长, 而菊粉、甜菊糖苷在进入肠道后会被益生菌分解, 进而降低肠道内的 pH 值, 从而抑制肠杆菌和肠球菌等有害菌的增殖。复合代糖对肠球菌的增殖抑制效果比肠杆菌明显, 肠杆菌数量在 4 h 后才逐渐呈现出下降的趋势, 这可能与肠杆菌不能在酸性环境中长时间存活, 但可以在适度的酸性环境下生长有关。这与陈樱萌研究中槲皮素酸奶对小鼠肠道菌群的调节作用基本一致<sup>[52]</sup>。上述结果说明 0.075 g/mL、0.15 g/mL、0.225 g/mL、0.3 g/mL、0.375 g/mL 浓度的复合代糖组均可抑制肠杆菌和肠球菌的增殖, 而菊粉和甜菊糖苷可能是该复合代糖抑制其增殖作用的有效成分。

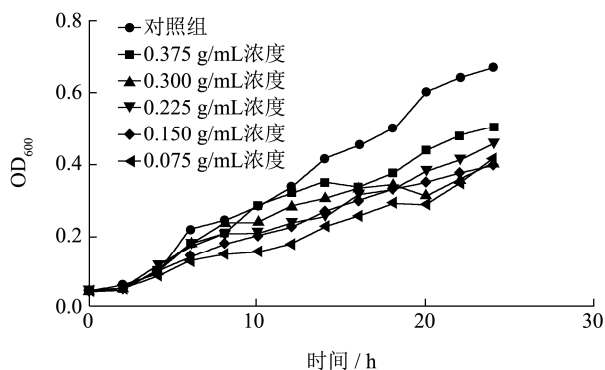


图 3 复合代糖对肠杆菌增殖的影响

Fig.3 Effects of complex glucosubstitutes on the proliferation of Enterobacteriaceae

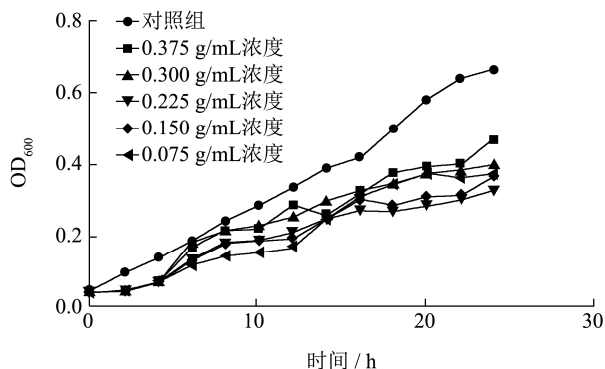


图 4 复合代糖对肠球菌增殖的影响

Fig.4 Effects of complex glucosubstitutes on enterococcus proliferation

## 3 结论

本研究所采用的复合代糖由赤藓糖醇、菊粉、甜菊糖苷、罗汉果苷组成。通过小鼠实验, 用洛哌丁胺建立便秘模型, 酚酞和复合代糖进行干预, 14 d 后观察墨汁推进率、首粒黑便时间、6 h 的排便粒数和 6 h

粪便重量等指标,评价复合代糖的通便效果。发现 0.75 g/kg·BW、1.5 g/kg·BW、2.25 g/kg·BW、3 g/kg·BW、3.75 g/kg·BW 剂量的复合代糖具有通便效果,可有效改善小鼠的便秘情况。其中 3.75 g/kg·BW 的通便功效最为显著,相对于模型组,墨汁推进率增加了 48.47%、首粒黑便时间减少了 67.25 min、6 h 排便粒数增加了 8.75 n、6 h 粪便重量增加了 0.20 g。而复合代糖中的菊粉和罗汉果苷可能是其通便作用的有效成分。另外,通过体外菌群增殖实验,动态观察空白组和复合代糖干预组双歧杆菌、乳酸杆菌和肠杆菌、肠球菌的数量变化,发现 0.075 g/mL、0.15 g/mL、0.225 g/mL、0.3 g/mL、0.375 g/mL 浓度的复合代糖可促进肠道内有益菌双歧杆菌、乳酸杆菌的增殖和抑制有害菌肠杆菌、肠球菌的增殖。并在 0.075 g/mL 至 0.375 g/mL 浓度内,复合代糖浓度越大,促进双歧杆菌、乳酸杆菌增殖的趋势越明显。复合代糖中的菊粉和甜菊糖苷可能是其促进双歧杆菌、乳酸杆菌增殖和抑制有害菌肠杆菌、肠球菌增殖的有效成分。综上所述,该复合代糖口感良好,具有通便功效,可调节肠道菌群,作为一种新型甜味剂,应用前景广阔。

## 参考文献

- [1] Walia R, Mahajan L, Steffen R. Recent advances in chronic constipation [J]. *Curr Opin Pediatr*, 2009, 21(5): 661-666
- [2] Bharucha Adil E, Lacy Brian E. Mechanisms, evaluation, and management of chronic constipation [J]. *Gastroenterology*, 2020, 158: 1232-1249
- [3] 叶飞,王巧民.慢性便秘的流行病学研究进展[J].中国临床保健杂志,2010,13(6):665-667  
YE Fei, WANG Qiao-min. Progress in the epidemiology of chronic constipation [J]. *Chinese Journal of Clinical Health*, 2010, 13(6): 665-667
- [4] HE Qiu-lan, HAN Chang-peng, HUANG Liang, et al. Astragaloside IV alleviates mouse slow transit constipation by modulating gut microbiota profile and promoting butyric acid generation [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(2): 9349-9361
- [5] Forootan M, Bagheri N, Darvishi M. Chronic constipation: a review of literature [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2018, 97(20): e10631
- [6] 张东旭,朱安龙.慢传输型便秘的发病机制与诊治[J].中华胃肠外科杂志,2016,19(12):1447-1450  
ZHANG Dong-xu, ZHU An-long. Pathogenesis, diagnosis and treatment of slow transit constipation [J]. *Chinese Journal of Gastrointestinal Surgery*, 2016, 19(12): 1447-1450
- [7] 单铁莲,肖国辉.慢传输型便秘的治疗进展[J].安徽医药, 2008,12(3):273-274  
SHAN Tie-lian, XIAO Guo-hui. Progress in the treatment of slow transit constipation [J]. *Anhui Med Medicine*, 2008, 12(3): 273-274
- [8] Singh R K, Chang H W, Yan D, et al. Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health [J]. *Journal of Translational Medicine*, 2017, 15: 73
- [9] Chassard C, Dapoigny M, Scott K P, et al. Functional dysbiosis within the gut microbiota of patients with constipated-irritable bowel syndrome [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2012, 35: 828-838
- [10] Ren X, Liu L, Gamallat Y, et al. Enteromorpha and polysaccharides from *Enteromorpha* ameliorate loperamide-induced constipation in mice [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 96: 1075-1081
- [11] Kakino M, Izuta H, Ito T, et al. Agarwood induced laxative effects via acetylcholine receptors on loperamide-induced constipation in mice [J]. *Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan*, 2010, 74(8): 1550-1555
- [12] Li C, Nie S P, Zhu K X, et al. Effect of *Lactobacillus plantarum* NCUI16 on loperamide-induced constipation in mice [J]. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 2015, 7(2): 1-6
- [13] Kim B J, Jung H K, Jeong Y S, et al. Effect of microencapsulated *Bacillus subtilis* strain CBD2-fermented grain on loperamide-induced constipation in mice [J]. *Applied Biological Chemistry*, 2016, 59(3): 1-12
- [14] Hayeeawaema F, Wichienchot S, Khuituan P. Amelioration of gut dysbiosis and gastrointestinal motility by konjac oligo-glucomannan on loperamide-induced constipation in mice [J]. *Nutrition*, 2019, 73: 110715
- [15] Tian H L, Chen Q Y, Yang B, et al. Effects of fecal microbiota transplantation in different routes on the clinical efficacy of slow transit constipation [J]. *Chinese Journal of Gastrointestinal Surgery*, 2020, 23: 63-68
- [16] Pilipenko V I, Burlyaeva E A, Shakhovskaya A K, et al. Efficacy of using inulin fortified fermented milk products in patients with functional constipation [J]. *Voprosy Pitaniia*, 2009, 78(3): 56.
- [17] 苟明.甜味剂:掀起你的盖头来[J].消费指南,2015,7:17-19  
GOU Ming. Sweeteners: lift your hijab [J]. *Consumer Guide*, 2015, 7: 17-19
- [18] 陈瑶,王永祥,范小兵,等.罗汉果甜苷的润肠通便和抗炎作用研究[J].解放军药学报,2011,27(3):202-204  
CHEN Yao, WANG Yong-xiang, FAN Xiao-bing, et al. Study

- on the antiinflammatory and laxative effects of Rosinosin on bowel movement [J]. Chinese People's Liberation Army Pharmaceutical Journal, 2011, 27(3): 202-204
- [19] Baştürk A, Artan R, Yılmaz A. Efficacy of synbiotic, probiotic, and prebiotic treatments for irritable bowel syndrome in children: a randomized controlled trial [J]. Turk J Gastroenterol, 2016, 27(5): 439-443
- [20] Cudmore S, Doolan A, Lacey S, et al. A randomised, double-blind, placebo-controlled clinical study: the effects of a synbiotic, Lepicol, in adults with chronic, functional constipation [J]. Int J Food Sci Nutr, 2017, 68(3): 366-377
- [21] Marteau P, Jacobs H, Cazaubiel M, et al. Effects of chicory inulin in constipated elderly people: a double-blind controlled trial [J]. Int J Food Sci Nutr, 2011, 62(2): 164-170
- [22] Kleessen B, Sykura B, Zunft H J, et al. Effects of inulin and lactose on fecal microflora, microbial activity, and bowel habit in elderly constipated persons [J]. Am J Clin Nutr, 1997, 65(5): 1397-1402
- [23] 王飞生,叶荣飞,闵建.甜菊糖苷的特性及应用[J].中国调味品,2009,34(10):91-95,117  
WANG Fei-sheng, YE Rong-fei, MIN Jian. Characteristics and application of stevia glycosides [J]. Chinese Flavoring, 2009, 34(10): 91-95, 117
- [24] 姚一博,王迪,王钱陶,等.盐酸洛哌丁胺诱导的小鼠慢传输型便秘模型的实验研究[J].中国实验动物学报,2020,28(3): 370-375  
YAO Yi-bo, WANG Di, WANG Qian-tao, et al. Experimental study of loperamide hydrochloride induced slow transit constipation in mice [J]. Journal of Experimental Animals of China, 2020, 28(3): 370-375
- [25] Organization W H. WHO | Sugars intake for adult and children [J]. World Health Organization, 2015, 26(4): 34-36.
- [26] Nishida Chizuru, Uauy Ricardo, Kumanyika Shiriki, et al. The joint WHO/FAO expert consultation on diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: process, product and policy implications [J]. Public Health Nutr, 2004, 7: 245-250
- [27] Marriott Bernadette P, Olsho Lauren, Hadden Louise, et al. Intake of added sugars and selected nutrients in the United States, National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2003-2006 [J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2010, 50: 228-258
- [28] Steyn N P, Temple N J. Evidence to support a food-based dietary guideline on sugar consumption in South Africa [J]. BMC Public Health, 2012, 12: 502
- [29] Warfā K, Drake I, Wallström P, et al. Association between sucrose intake and acute coronary event risk and effect modification by lifestyle factors: malm diet and cancer cohort study [J]. Br J Nutr, 2016, 116: 1611-1620
- [30] Hodoniczky J, Morris C A, Rae A L. Oral and intestinal digestion of oligosaccharides as potential sweeteners: a systematic evaluation [J]. Food Chemistry, 2012, 132(4): 1951-1958
- [31] Farnaz, Keyhani-Nejad, Margrit, et al. Effects of palatinose and sucrose intake on glucose metabolism and incretin secretion in subjects with type 2 diabetes [J]. Diabetes Care, 2016, 39(3): e38-39
- [32] Wölnerhanssen Bettina K, Meyer-Gerspach Anne Christin, Beglinger Christoph, et al. Metabolic effects of the natural sweeteners xylitol and erythritol: a comprehensive review [J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2020, 60: 1986-1998
- [33] Ahmed Waqas, Rashid Summer. Functional and therapeutic potential of inulin: a comprehensive review [J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2019, 59: 1-13
- [34] Ilić Vladimírka, Vukmirović Saša, Stilinović Nebojša, et al. Insight into anti-diabetic effect of low dose of stevioside [J]. Biomed Pharmacother, 2017, 90: 216-221
- [35] ZHOU Gui-sheng, ZHANG Yu-long, LI Yang, et al. The metabolism of a natural product mogrosin V, in healthy and type 2 diabetic rats [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2018, 1079: 25-33
- [36] Eun K J, Bin Y W, Eun S J, et al. Characterization the response of Korl: ICR mice to loperamide induced constipation [J]. Laboratory Animal Research, 2016, 32(4): 231-240
- [37] Kim Ji Eun, Park Ji Won, Kang Mi Ju, et al. Laxative effect of spicatoside a by cholinergic regulation of enteric nerve in loperamide-induced constipation: ICR mice model [J]. Molecules, 2019, 24(5): 896
- [38] CHEN Zhuo-yi, LIN Su-su, JIANG Yu, et al. Effects of bread yeast cell wall beta-glucans on mice with loperamide-induced constipation [J]. J Med Food, 2019, 22: 1009-1021
- [39] 中华人民共和国卫生部.卫监发[2003]42号保健食品检验与评价技术规范[S]  
Ministry of Health of the People's Republic of China. Technical Specification for Inspection and Evaluation of Health Food, [2003] No. 42, Health Supervision and Development [S]
- [40] Watson Anthony W, Houghton David, Avery Peter J, et al. Changes in stool frequency following chicory inulin consumption, and effects on stool consistency, quality of life



- and composition of gut microbiota [J]. Food Hydrocoll, 2019, 96: 688-698
- [41] 王学敏,陈朝青,孙丰义,等.5 种益生元润肠通便功能的比较研究[J].食品工业科技,2019,40(24):291-295  
WANG Xue-min, CHEN Chao-qing, SUN Feng-yi, et al. Comparative study on the defecation function of five prebiotics [J]. Food Industry Science and Technology, 2019, 40(24): 291-295
- [42] Collado Yurrita Luis, San Mauro Martín, María José Ciudad-Cabaas, et al. Effectiveness of inulin intake on indicators of chronic constipation; a meta-analysis of controlled randomized clinical trials [J]. Nutr Hosp, 2014, 30: 244-252
- [43] Bărboi Oana-Bogdana, Ciortescu Irina, Chirilă Ioan, et al. Effect of inulin in the treatment of irritable bowel syndrome with constipation (review) [J]. Exp Ther Med, 2020, 20: 185
- [44] Xiao Juan, Huang Kai, Lin Houmin, et al. Mogroside IIE inhibits digestive enzymes via suppression of interleukin 9/interleukin 9 receptor signalling in acute pancreatitis [J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 859
- [45] Scott K P, Gratz S W, Sheridan P O, et al. The influence of diet on the gut microbiota [J]. Pharmacological Research, 2013, 69(1): 52-60
- [46] Mianzhi Yao, Shah Nagendra P. Contemporary nucleic acid-based molecular techniques for detection, identification, and characterization of *Bifidobacterium* [J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2017, 57: 987-1016
- [47] Khare Aditi, Gaur Smriti. Cholesterol-lowering effects of *Lactobacillus* species [J]. Curr Microbiol, 2020, 77: 638-644
- [48] Le Bastard Quentin, Chapelet Guillaume, Javaudin François, et al. The effects of inulin on gut microbial composition: a systematic review of evidence from human studies [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2020, 39: 403-413
- [49] Wu Xuezhuan, Yang Peilong, Sifa Dai, et al. Effect of dietary stevioside supplementation on growth performance, nutrient digestibility, serum parameters, and intestinal microflora in broilers [J]. Food Funct, 2019, 10: 2340-2346
- [50] Kolenda Rafał, Burdukiewicz Michał, Schierack Peter. A systematic review and meta-analysis of the epidemiology of pathogenic *Escherichia coli* of calves and the role of calves as reservoirs for human pathogenic *E.coli* [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2015, 5: 23
- [51] García-Solache Mónica, Rice Louis B. The *Enterococcus*: a model of adaptability to its environment [J]. Clin Microbiol Rev, 2019, 32(2): 1-28
- [52] 陈樱萌,苏立杰,丁静华,等.槲皮素酸奶的研制及其对小鼠肠道菌群的调节作用[J].现代食品科技,2019,35(12):189-196,275  
CHEN Ying-meng, SU Li-jie, DING Jing-hua, et al. Development of quercetin yogurt and its regulation on intestinal microflora in mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(12): 189-196, 275

---

(上接第 120 页)

- [23] Tagliazucchi D, Verzelloni E, Bertolini D, et al. *In vitro* bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols [J]. Food Chemistry, 2010, 120(2): 599-606
- [24] 周勤飞,王永才.动物胃肠微生态及其调控[J].家畜生态, 2004,4:214-217  
ZHOU Qin-fei, WANG Yong-cai. Microecology in animal gastrointestinal tracts and regulation [J]. Journal of Domestic Animal Ecology, 2004, 4: 214-217
- [25] Marchese A, Coppo E, Sobolev A P, et al. Influence of *in vitro* simulated gastroduodenal digestion on the antibacterial activity, metabolic profiling and polyphenols content of green tea (*Camellia sinensis*) [J]. Food Research International, 2014, 63: 182-191
- [26] 赵瑞香,李元瑞,孙俊良,等.嗜酸乳杆菌在模拟胃肠环境中抗性的研究[J].微生物学通报,2002,2:35-38  
ZHAO Rui-xiang, LI Yuan-rui, SUN Jun-liang, et al. Studies on the antagonistic properties of *Lactobacillus acidophilus* in the imitative gastroenteric environment [J]. Microbiology China, 2002, 2: 35-38
- [27] 杜淑霞,欧士益,贝惠玲,等.茶多酚与牛奶蛋白互作对蛋白质离体消化率的影响[J].食品与发酵工业,2010,2:76-79  
DU Shu-xia, OU Shi-yi, BEI Hui-ling, et al. Effects of tea polyphenols on *in vitro* protein digestibility in milk tea [J]. Food and Fermentation Industries, 2010, 2: 76-79