

黑米联合膳食纤维的通便作用研究

李菲婷^{1,2}, 林武贞³, 马永轩², 郝娟², 刘志霞⁴, 林梦芝², 王佳佳², 钟立煌², 廖娜², 刘光², 李萍²,
周鹏飞², 张雁², 邓媛元^{2*}

(1. 华南农业大学食品学院, 广东广州 510642)(2. 广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所, 农业农村部功能食品重点实验室, 广东省农产品加工重点实验室, 广东广州 510610)(3. 陆丰市农业科学研究所, 广东陆丰 516500)(4. 广东省农业科学院水稻研究所, 广东广州 510635)

摘要: 为评价黑米单独和联合膳食纤维对便秘小鼠的通便效果, 将雄性 ICR 小鼠分为空白对照组、便秘模型组、黑米组(黑米 100%)、黑米联合菊粉组(黑米 90%+ 菊粉 10%)、黑米联合聚葡萄糖组(黑米 90%+ 聚葡萄糖 10%)、黑米联合膳食纤维组(黑米 80%+ 菊粉 10%+ 聚葡萄糖 10%)。小鼠喂养定制饲料 14 d 后连续 5 d 灌胃复方地芬诺酯造模, 恢复 2 d 后解剖进行分析。结果显示, 黑米单独或联合膳食纤维均具有较好的通便润肠作用。黑米单独作用时日常平均排便重量及排便粒数比模型组分别增加 11.65%、19.05%, 并且可以更好地维持肠道结构特征, 防止结肠粘液细胞数量减少, 显著提高肠道 GSH-Px 活性 105.32%, 降低 MDA 含量 33.27%。黑米单独或联合膳食纤维可以明显降低便秘小鼠血清的抑制性神经递质 NO、VIP 含量, 提高兴奋性神经递质 MTL、SP、ACh 含量; 其中黑米联合聚葡萄糖组下调水通道蛋白 AQP3、AQP4、AQP8 和 AQP9 基因表达效果更为显著。黑米单独或联合膳食纤维在上述不同指标上体现出差异化影响结果, 但都具有显著的通便作用。

关键词: 黑米; 膳食纤维; 菊粉; 聚葡萄糖; 便秘

文章编号: 1673-9078(2024)11-21-29

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.11.1300

Study of the Laxative Effect of Black Rice Combined with Dietary Fiber

LI Feiting^{1,2}, LIN Wuzhen³, MA Yongxuan², HAO Juan², LIU Zhixia⁴, LIN Mengzhi², WANG Jiajia²,
ZHONG Lihuang², LIAO Na², LIU Guang², LI Ping², ZHOU Pengfei², ZHANG Yan², DENG Yuanyuan^{2*}

(1.College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)
(2.Sericultural & Agri-Food Research Institute Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Functional Foods, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangdong Key Laboratory of Agricultural Products Processing, Guangzhou 510610, China) (3.Lufeng Institute of Agricultural Sciences, Lufeng 516500, China)
(4.Rice Research Institute Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510635, China)

Abstract: To evaluate the effects of black rice alone and in combination with dietary fiber on intestinal and bowel movements in mice with constipation, male ICR mice were divided into a blank control group, a constipation model group,

引文格式:

李菲婷,林武贞,马永轩,等.黑米联合膳食纤维的通便作用研究[J].现代食品科技,2024,40(11):21-29.

LI Feiting, LIN Wuzhen, MA Yongxuan, et al. Study of the laxative effect of black rice combined with dietary fiber [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(11): 21-29.

收稿日期: 2023-10-29

基金项目: 广州市科技计划项目(202201011834); 广东省农业科学院食品营养与健康研究中心建设运行经费(XTXM202205); 广东省农业科学院中青年学科带头人“金颖之光”培养项目(R2023PY-JG014); 广东省重点研发项目(2022B0202020003); 广东省财政厅专项(粤财农(2022)167号); 广东特支计划项目(2019BT02N112); 广东省农业科学院农业优势产业学科团队建设项目(202108TD)

作者简介: 李菲婷(1998-), 女, 硕士, 研究方向: 粮油加工, E-mail: tiffany206@outlook.com

通讯作者: 邓媛元(1982-), 女, 博士, 研究员, 研究方向: 粮油加工与营养健康食品, E-mail: yuanyuan_deng@yeah.net

a black rice group (100% black rice), a black rice combined with inulin group (90% black rice+10% inulin), a black rice combined with polydextrose group (90% black rice+10% polydextrose), and a black rice combined with dietary fiber group (80% black rice+10% inulin+10% polydextrose). Mice were fed custom feed for 14 days and continuously gavaged with diphenoxylate for 5 days to develop the model. After 2 days of recovery, the mice were dissected for analysis. The results showed that black rice alone or in combination with dietary fiber exhibited good laxative and intestinal-hydration effects. When black rice was used alone, the daily average defecation weight and number of defecated particles increased by 11.65% and 19.05%, respectively, compared to those in the model group. Moreover, black rice demonstrated retention of intestinal structural characteristics, prevention of the decrease in colonic mucus cell count, significant increase in intestinal glutathione peroxidase activity by 105.32%, and reduction of the malondialdehyde content by 33.27%. Black rice alone or in combination with dietary fiber significantly reduced the content of inhibitory neurotransmitters, nitric oxide and vasoactive intestinal polypeptide, in the serum of mice with constipation, and increased the content of excitatory neurotransmitters, MTL, SP, and acetylcholine. The combination of black rice and polydextrose showed a more significant downregulation effect on the expression levels of aquaporin (AQP) 3, AQP4, AQP8, and AQP9. These findings indicate that black rice alone or in combination with dietary fiber have remarkable laxative effects.

Key words: black rice; dietary fiber; inulin; polydextrose; constipation

功能性便秘是肠道或者全身疾病所造成的原发性持续便秘，其发病机制复杂尚未完全阐明，常因为生活习惯、饮食因素、情绪和排便不良习惯所引起^[1]。流行病学资料表明，全球成年人的功能性便秘发生率大约为 16.0%，60 岁以上老年人可达 33.5%，且女性高于男性^[2]。便秘会导致胃肠功能失调，出现腹胀、食欲不振等症状，而长期的便秘则会导致结肠癌、心脑血管病、老年痴呆等多种危及生命的疾病发生。目前便秘主要有药物治疗和饮食治疗两种方法。药物治疗往往会带来腹部不适、恶心、痉挛等不良反应^[3]，且治疗效果持续性不强；饮食治疗安全有效，日益成为研究热点^[4]。已有研究发现蔬菜、水果、麸谷类等食物中含有的膳食纤维和植物活性物质具有促进肠道蠕动、调节肠道菌群等多种功能^[5]，进而促进排泄和预防便秘^[6]。

黑米作为代表性全谷物食品之一，含有丰富的花青素和膳食纤维等活性物质，被视作米中珍品。《本草纲目》记载：“黑米健脾胃、滋肾水、止肝火、养颜色、乌须发。”李帅等^[7]灌胃给予 SD 大鼠黑米花青素 15 d 后，发现肠球菌和肠杆菌的数量明显降低，但双歧杆菌和乳杆菌数量变化不明显。王慕文等^[8]通过体外实验发现从黑米花色苷分离的黑米矢车菊素-3-O-葡萄糖苷及其癸酸酰化物矢车菊素-3-O-(6'' 癸酰)葡萄糖苷具有促进双歧杆菌、乳酸菌生长、合成有机酸等作用，降低肠道内不良菌群的比例，改善肠道微生态，促进益生菌的合成。此外多种膳食纤维也被证实具有润肠通便作

用。人群试验结果显示^[9,11]，聚葡萄糖的干预剂量在 8~20 g 可缓解便秘的作用。Antje 等^[12]研究发现，每天 12 g 菊粉，持续 4 周，能明显增加排便频率，同时粪便软化，进而改善慢性便秘和肠道功能。但天然状态下的全谷物黑米与膳食纤维联合使用时对缓解便秘是否具有协同增效作用并不清楚。因此本研究以挤压膨化后的黑米粉为原料，探讨黑米粉单独或联合膳食纤维对便秘小鼠的通便润肠效果及机制，旨在为黑米功能性健康食品研发提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

黑米种植于广东省陆丰市。收获后经挤压膨化加工为黑米粉（可溶性膳食纤维含量 1.10 g/100 g，不可溶性膳食纤维含量 8.51 g/100 g；总酚含量 147.3 mg/100 g，其中游离酚含量 95.18 mg/100 g，结合酚含量 52.12 mg/100 g）。复方地芬诺酯片，常州康普药业有限公司；考马斯亮蓝蛋白测定试剂盒、一氧化氮（NO）试剂盒、血管活性肠肽（VIP）试剂盒、乙酰胆碱（Ach）试剂盒、胃动素（MTL）试剂盒、P 物质（SP）试剂盒、丙二醛（MDA）试剂盒、谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px）试剂盒均购自南京建成生物技术有限公司；阿利新蓝染色试剂盒，北京索莱宝科技有限公司；二甲苯，重庆川东化工公司；RT-PCR 试剂盒，MBIFermentas 公司；RNA 提取液 Trizol，美国 Invitrogen 公司；蛋白提

取试剂盒,江苏凯基生物技术股份有限公司。

1.2 仪器与设备

BSA224s-9420MBE 天平、3-18K 台式高速冷冻离心机,德国赛多利斯公司;ULTRA-TURRAX T8 组织匀浆机,德国 Stanfen IKA Labortechnik 公司;EYELA SB-1100 恒温水浴锅,东京理化机械株式会社;UV-1800 紫外分光光度计,日本岛津;TGL-16G 高速冷冻离心机,日本 HITACHI 公司;KS-300EII 超声波清洗机,宁波海曙科生超声设备有限公司;I×51 倒置荧光显微镜,日本 Olympus 株式会社;Hema9600 基因扩增仪,珠海黑马医学仪器有限公司;RNase free EP 管、RNase free 管,美国 Thermo 公司。

1.3 动物饲料

动物喂养饲料定制并购买于南通特洛菲饲料科技有限公司。基础饲料为 AIN-93-M 配方饲料,主要成分是玉米淀粉、酪蛋白、大豆油以及矿物质和纤维素;定制饲料用黑米粉替代 AIN-93-M 基础饲料中的玉米淀粉,黑米粉的添加量以正常人(60 kg 计算)每日摄入 60 g 为标准换算。具体如下:1 kg 定制饲料 R 配方为,AIN-93-M 配方饲料中以 66.67 g 黑米粉取代等量玉米淀粉,玉米淀粉取代量为 12.60%;定制饲料配方 RI 是用 60 g 黑米粉(90%)替换等量玉米淀粉,并添加了 6.67 g 菊粉(10%);定制饲料配方 RP 是用 60 g 黑米粉(90%)替换等量玉米淀粉,并添加了 6.67 g(10%)聚葡萄糖;定制饲料配方 RM 是用 53.33 g 黑米粉(80%)替换等量玉米淀粉,并添加了 6.67 g(10%)菊粉和 6.67 g(10%)聚葡萄糖。上述 3 个配方中通过减少原基础饲料中的蛋白质和油脂量进行能量调平,确保每组小鼠饲料能量相同。

1.4 方法

1.4.1 动物饲养

健康雄性 SPF 级 ICR 小鼠,18~22 g,购买于北京维通利华实验动物技术有限公司(实验动物许可证号 NO.11400700168530)。实验动物饲养于广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所,国家农业农村部功能食品重点实验室建有的 SPF 级实验动物房[许可证号:SYXK(粤)2015-0149]。动物饲养于相对湿度(55%±10%),温度为(23±2)℃,光照时间为 8:00~20:00 动物房里,每天每笼提供充足

的饲料和水,为保证小鼠的成长环境清洁、舒适,每日更换一次垫料。整个实验期间,小鼠自由饮食,每天分别记录每只小鼠的体质量、摄食量。

1.4.2 实验设计及动物分组

选取雄性 ICR 小鼠 96 只,适应性喂养 7 d 后,随机分为 6 组:(1)空白对照组(NC, Normal Control),喂饲 AIN-93-M 基础饲料;(2)便秘模型组(CM, Constipation Model),喂饲 AIN-93-M 基础饲料;(3)黑米组(CM+R, Constipation Model+Rice),喂饲定制饲料 R 配方;(4)黑米联合菊粉组(CM+RI, Constipation Model+Rice and Inulin),喂饲定制饲料 RI 配方;(5)黑米联合聚葡萄糖组(CM+RP, Constipation Model+Rice and Polydextrose),喂饲定制饲料 RP 配方;(6)黑米联合膳食纤维组(CM+RM, Constipation Model+Rice and Inulin & Polydextrose Mixture),喂饲定制饲料 RM 配方。实验第一阶段造模前:每组小鼠 16 只,正常饮食,饲喂各组饲料 2 周。实验第二阶段造模后:从第 3 周开始,连续 5 d 对模型组和实验组灌胃复方地芬诺酯(10 mg/kg·bw)造模,空白组灌胃蒸馏水;之后 2 d 为恢复期,各组正常饲养,喂饲相应饲料。整个实验期间,小鼠自由饮食,每天分别记录每只小鼠的体质量、摄食量、日常平均排便质量和粒数。

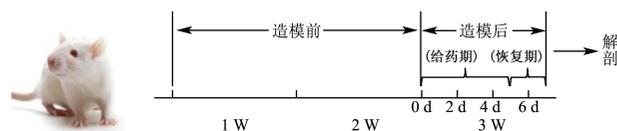


图 1 动物实验设计图

Fig.1 Animal experiment design diagram

1.4.3 样本采集

小鼠恢复期结束后,所有小鼠禁食不禁水 16 h,采用摘眼球取血,离心 15 min,4 000 r/min,取上清液,放置在 -20℃ 保存待测。颈椎脱臼处死小鼠,并对小鼠进行解剖,分别取距盲肠大约 3 cm 处的小肠组织 0.5 cm 和距盲肠 1 cm 左右处的结肠组织 0.5 cm,放置于 10% 中性福尔马林溶液中进行固定做 H&E 和阿利新蓝染色;取出结肠组织中的粪便,放置于冻存管中,迅速投入液氮冷冻,用于待检;将取出粪便后的结肠组织置于预冷的生理盐水中清洗,除去血迹,之后用滤纸拭干,分成两份,放置于冻存管中,迅速投入液氮冷冻,一份用于生化指标检测,一份用于水通道蛋白检测。

表 1 引物序列信息

Table 1 Primer sequence information

引物名称	登录号	引物序列 (5' to 3')	产物/bp
18S rRNA (内参)	NR_003278	F:CGGACACGGACAGGATTGACA R:CCAGACAAATCGCTCCACCAACT	94
AQP3	NM_016689.2	F:GTCAACCCTGCCCCGTGACTTTG R:CGAAGACACCAGCGATGGAACC	139
AQP4	NM_001308642.1	F:GCAGACAAGGTGCAACGTGGTT R:GGCGGAAGGCAAAGCAGTATGG	174
AQP8	NM_007474.2	F:AGCAGGAGCAGGTGGCAGAA R:TCCAAAGGCACGAGCAGGGT	200
AQP9	NM_022026.3	F:AGCGAGCAGACCTTGGTGGAA R:AGGTGCCCAGGAACCTCAGAGAG	147

1.4.4 血清神经递质测定

小鼠血清按试剂盒操作说明书测定一氧化氮(NO)、血管活性肠肽(VIP)、乙酰胆碱(Ach)、胃动素(MTL)、含量P物质(SP)。

1.4.5 结肠氧化指标测定

样品前处理:准确称取待测的结肠组织的质量,按照质量:体积=1:9(g:mL)的比例加入预冷的0.86%生理盐水^[13],先用眼科剪刀尽量将组织剪碎(在冰上进行),再冰水浴用组织均质机均质匀浆(12 000 r/min, 5 min),低温离心机离心15 min, 4 000 r/min,取上清液按试剂盒操作说明书测定丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)含量。

1.4.6 小肠H&E染色

留取近端结肠组织1 cm,沿结肠带将结肠剖开后,用生理盐水清洗,置于 $\phi=10\%$ 福尔马林内固定,标本用石蜡包埋、切片及H&E染色,使用数字病理切片扫描仪将病理切片扫描成为数字切片,使用QuPath 0.4.3软件进行分析^[14]。

1.4.7 结肠粘液细胞计数

结肠粘液细胞计数采用阿利新蓝染色。将福尔马林固定后的组织冰冻切片付贴于载片上,厚约3 μm ;用二甲苯进行脱蜡,再过梯度乙醇,之后用蒸馏水水化;接着阿利新蓝酸化液将其浸泡30 min;阿利新蓝染色液浸泡30 min;流水冲洗5 min;核固红染色液进行5~10 min的复染;流水冲洗1 min;用梯度酒精进行脱水,二甲苯洗至透明;中性树胶封片;显微镜观察^[15]。粘液细胞的计数在Motic Digital

microscop系统下采像,记录观察到的面积及粘液细胞的数量。

1.4.8 结肠水通道蛋白RNA表达水平分析

根据RNA提取试剂盒说明,提取小鼠结肠组织的RNA,检测其含量和纯度,然后逆转录合成cDNA,并用该cDNA作为模板对AQP3、AQP4、AQP8及AQP9进行PCR扩增。利用Primer 3 plus设计4对特异性引物,委托广州达晖生物技术有限公司合成(表1)。检测AQP3、AQP4、AQP8及AQP9的循环数(Ct值), $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算各组小鼠结肠中AQP3、AQP4、AQP8及AQP9水平表达。

1.5 数据处理和统计分析

本实验数据结果用均数 \pm 标准差(Mean \pm SD)表示。以SPSS软件进行数据分析,并以单因素方差分析(one-way ANOVA)来进行多组间比较。

2 结果与分析

2.1 小鼠体质量变化、摄食量、日常平均排便质量及排便粒数

各组动物体质量、摄食量、日常平均排便质量和排便粒数如图2所示。在实验开始后的第一阶段,即饲养的第1~2周,各组小鼠体质量及摄食量均呈增加趋势并较接近,但在第二阶段,即小鼠进行给药灌胃处理后,小鼠体质量和摄食量呈下降状态,各组之后又呈回升趋势,说明灌胃初期可能引起小鼠应激反应,摄食量减少,体质量降低,但没有对小鼠造成持续影响和伤害。

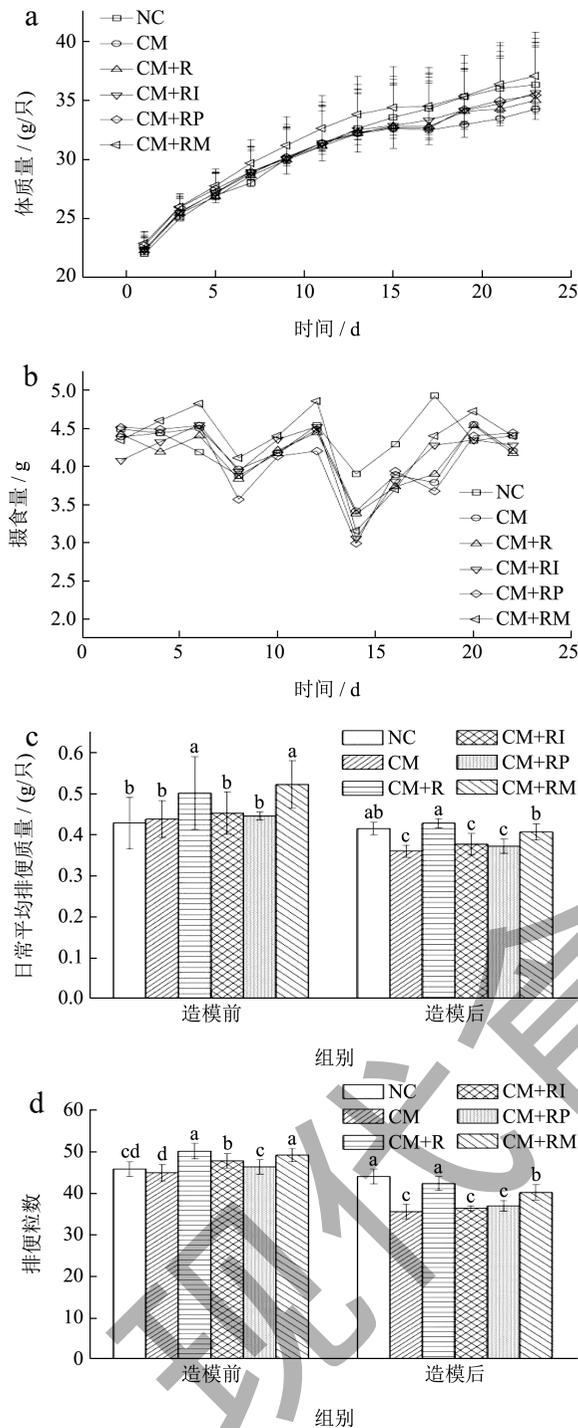


图2 小鼠体重变化、摄食量、日常平均排便质量及排便粒数

Fig.2 The changes in body weight, food intake, average daily weight and the number of grains in stool of mice in different groups

注: NC: 空白对照组; CM: 便秘模型组; CM+R: 黑米组; CM+RI: 黑米联合菊粉组; CM+RP: 黑米联合聚葡萄糖组; CM+RM: 黑米联合膳食纤维组。数据结果用均数 ± 标准差表示,不同字母表示相互之间有显著性差异 ($P < 0.05$)。图 5、6 同。

实验第一阶段,正常小鼠给予各组定制饲料均提高了小鼠的日常平均排便粒数,并且黑米组和黑米联合膳食纤维组小鼠日常平均排便质量也显著增加。实验第二阶段,从图 2 的实验结果可以看出,在给药的基础上,用复方地芬诺酯可以显著减低小鼠的排便粒数和排便质量,与同期正常对照组相比,分别是 NC 小鼠的 86.74%、80.85%,具有统计学意义 ($P < 0.05$),提示便秘模型制备成功;各组小鼠日常平均排便质量和排便粒数均降低,黑米组和黑米联合膳食纤维组小鼠排便质量显著性高于其余各实验组,与正常组接近;与便秘组相比,黑米组的日常平均排便质量及排便粒数分别增加 11.65%、19.05%,且黑米组的排便粒数也与正常组无显著差异,提示黑米可以基本消除复方地芬诺酯引起的肠道便秘效应,恢复到正常水平;黑米联合膳食纤维效果次之;但黑米联合菊粉和黑米联合聚葡萄糖效果不明显。

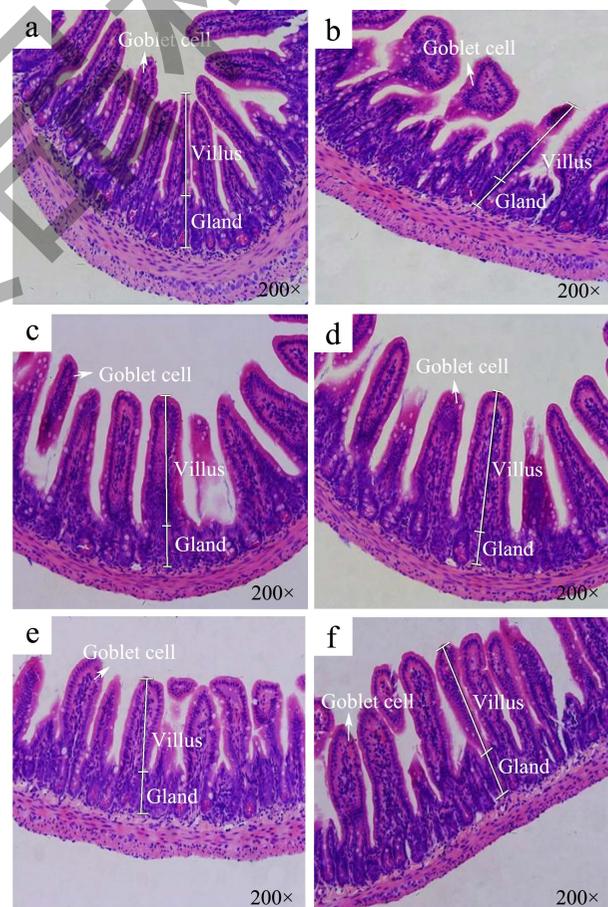


图3 小肠组织形态学观察 (H&E 染色, 200 ×)

Fig.3 Morphological observation of small intestine

注: a-f 依次为 NC、CM、CM+R、CM+RI、CM+RP、CM+RM 组,图 4 同。

2.2 小肠H&E染色

各组小鼠小肠组织切片 H&E 染色如图 3 所示, 正常对照组小鼠的肠粘膜厚度均匀, 绒毛排列整齐, 结构完整, 腺体丰富而清晰。而模型组的小鼠肠粘膜层的厚度变薄, 绒毛排列紊乱、短粗及部分明显的断裂、脱落, 腺体受损明显, 部分毛细血管出现大量充血情况, 说明便秘会对小肠黏膜造成明显的损伤, 从而影响小肠正常的运行。四个实验组小肠状态有不同程度恢复。与模型组相比, 小肠绒毛结构比较完整, 但仍有部分绒毛排列高矮不一、脱落, 腺体稍有损伤, 说明黑米单独或联合菊粉及聚葡萄糖对便秘造成的小肠损伤有缓解治疗功效。

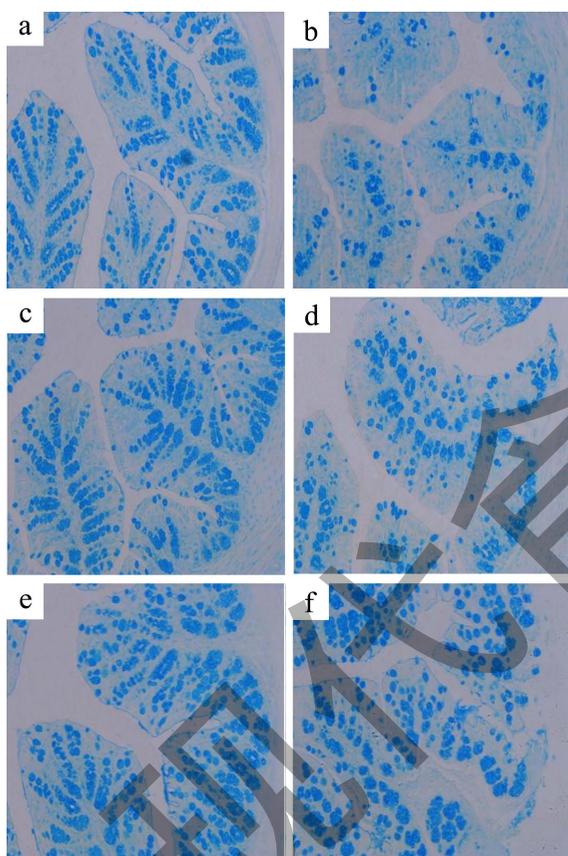


图 4 结肠组织阿利新蓝染色

Fig.4 Alisin blue staining of colon tissue

2.3 结肠粘液细胞计数

图 4 和 5 为各组小鼠结肠组织切片阿利新蓝染色计数粘液细胞。Zou 等^[16]研究发现便秘会造成结肠中粘液细胞的减少, 从而降低粘液量产生, 影响粪便排出。本实验中模型组小鼠粘液细胞数量明显减少。与模型组相比, 各实验组粘液细胞数都显著增加 ($P < 0.05$), 其中黑米组达到正常组水平 ($P > 0.05$), 黑米联合聚葡萄糖组效果次之。本研究表明, 黑米

能够对小鼠肠道起到良好的屏障修复作用, 从而更好地抵抗外来病原体的入侵, 有利于便秘疾病的缓解。徐灼辉等^[17]通过对结肠粘液细胞进行计数, 发现荔枝干果肉膳食纤维-结合酚加合物能够增加结肠粘液细胞数量和防止它们凋亡, 从而促进粘液分泌, 起通便作用。

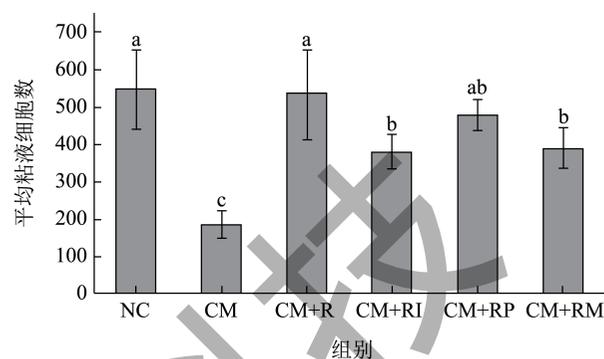


图 5 结肠平均粘液细胞数

Fig.5 Average number of colonic mucous cells

2.4 结肠中MDA含量和GSH-Px活性

表 2 结肠中MDA含量和GSH-Px活性

Table 2 MDA content and GSH-Px activity in colon

组别	MDA/(nmol/mg prot)	GSH-Px/U
NC	2.17 ± 0.45 ^b	36.33 ± 4.68 ^a
CM	4.79 ± 0.78 ^a	16.52 ± 2.33 ^b
CM+R	3.10 ± 0.65 ^b	33.93 ± 7.88 ^a
CM+RI	2.74 ± 0.40 ^b	28.57 ± 5.76 ^{ab}
CM+RP	3.41 ± 0.82 ^b	28.35 ± 9.72 ^{ab}
CM+RM	3.24 ± 0.74 ^b	25.46 ± 3.81 ^b

注: 数据结果用均数 ± 标准差表示, 不同字母表示相互之间有显著性差异 ($P < 0.05$)。表 3 同。

MDA 和 GSH-Px 可以反映机体氧化防御体系水平^[18]。表 2 结果显示, 造模后小鼠结肠中 MDA 含量均较正常对照组升高, 且 GSH-Px 活性有所下降, 说明复方地芬诺酯造模后小鼠结肠发生了氧化损伤。而黑米和膳食纤维干预后, 具有一定改善作用。处理组中添加全黑米粉组改善效果最显著, 显著提高肠道 GSH-Px 活性 105.32%, 降低 MDA 含量 33.27%。推测与该组中黑米花青素含量相对较高有关。已有研究报道全谷物中花青素在小肠的生物利用率不超过 50%, 大量的花青素进入结肠后发酵^[19], 提高肠道抗氧化能力, 对肠道病原菌有抑制作用^[20]; Huang 等^[21]研究发现在饲料中加入苹果多酚可以改善肠道内的抗氧化作用。

表 3 小鼠血清神经递质含量

Table 3 NO and Ach contents in serum and colon of mice

组别	NO/($\mu\text{mol/L}$)	VIP/(pg/mL)	Ach/($\mu\text{g/mL}$)	MTL/(ng/L)	SP/(ng/L)
NC	2.50 ± 0.33^d	17.58 ± 2.55^c	33.28 ± 7.02^a	219.54 ± 27.96^a	36.30 ± 4.64^a
CM	5.75 ± 0.37^a	29.15 ± 5.38^a	20.93 ± 6.13^b	179.97 ± 15.08^b	19.81 ± 2.69^c
CM+R	3.64 ± 0.52^c	25.86 ± 2.24^{ab}	28.86 ± 4.58^{ab}	190.08 ± 17.94^{ab}	29.64 ± 5.31^b
CM+RI	3.23 ± 0.31^c	19.83 ± 3.11^c	30.38 ± 4.13^a	194.18 ± 11.97^{ab}	25.66 ± 4.64^b
CM+RP	4.86 ± 0.41^b	21.97 ± 4.24^{bc}	28.37 ± 6.69^{ab}	192.91 ± 15.12^{ab}	30.55 ± 2.14^b
CM+RM	3.56 ± 0.21^c	20.89 ± 5.32^c	25.38 ± 3.17^{ab}	201.11 ± 28.80^{ab}	32.88 ± 3.29^{ab}

2.5 小鼠血清神经递质含量

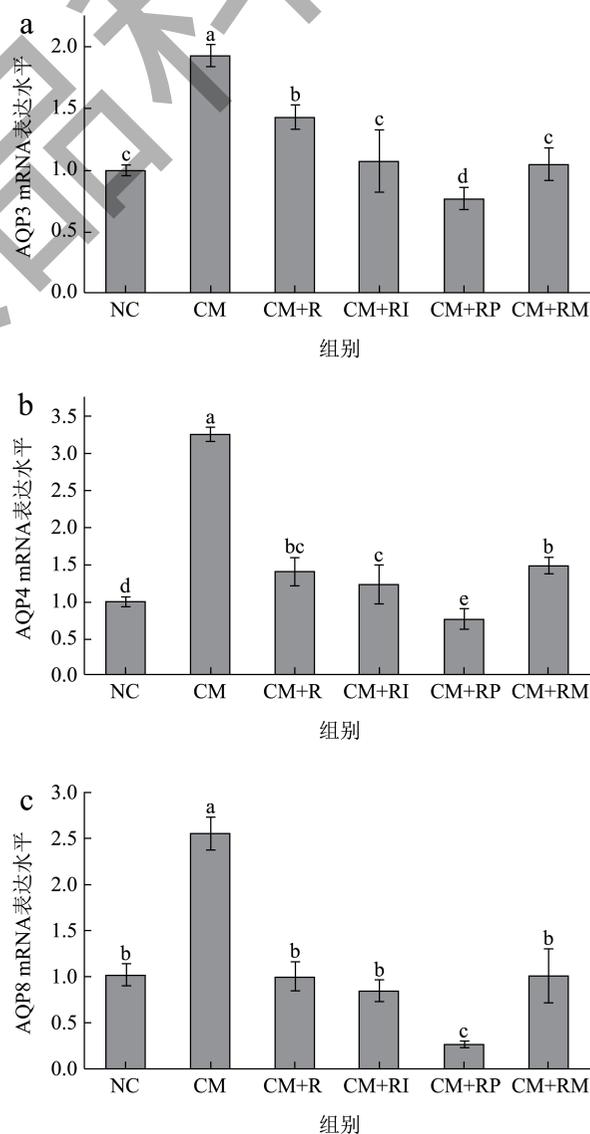
便秘与血清神经递质异常密切相关，而其含量的变化或者兴奋性和抑制性神经递质之间失去平衡可能是导致便秘形成原因之一^[22]；MTL、SP、Ach 是兴奋性神经递质，其可通过与其受体结合，可以使肠道平滑肌进行收缩，从而促进肠道的蠕动。NO、VIP 是抑制性神经递质，其可松弛肠道平滑肌，进而抑制肠道蠕动^[23,24]。NO 和 VIP 过高会使肠管平滑肌松弛，大肠动力减弱，导致肠道的蠕动减弱引起便秘。

已有研究表明，改善血清神经递质异常可改善便秘小鼠的便秘症状^[25]。表 3 结果显示，相对于正常组，模型组血清中起兴奋性的 MTL、SP、Ach 含量均显著性降低，抑制性的神经递质 NO 和 VIP 含量均显著性提高，说明复方地芬诺酯造模后的小鼠机体代谢紊乱，并导致了结肠损伤。黑米单独或联合膳食纤维可以明显降低便秘小鼠血清的抑制性神经递质 NO、VIP 含量，提高兴奋性神经递质 MTL、SP、Ach 含量，且对抑制性神经递质的影响强于对兴奋性神经递质的影响水平。张华南等^[26]通过功能性低聚糖改善便秘作用机理研究中得出，与模型对照组相比，膳食纤维样品在不同程度上提高了 SP 的浓度 ($P>0.05$)，降低了 VIP 浓度 ($P>0.05$)。本研究表明，膳食纤维与黑米共用比黑米单独使用能够更好地调控血清神经递质水平。

2.6 小鼠结肠组织水通道蛋白相关基因表达水平

AQPs 是一类与水分代谢关系密切的蛋白质，主要分布上皮细胞和内皮细胞，与体液的吸收、分泌关系密切，其病理学意义重大。其中 AQP3 主要分布在远端结肠与胃贲门腺黏膜，它不仅能促进结肠对水分的吸收，还能促进结肠对甘油、尿素

等的转运^[27]。AQP4 主要表达于吸收上皮细胞，而 AQP9 主要表达于杯状细胞，分别参与肠道的吸收和分泌功能。AQP8 的高表达可增加结肠对水分的吸收，从而引起便秘^[28]。本实验中结肠中 AQP3、AQP4、AQP8、AQP9 mRNA 表达水平分别如图 6 所示。



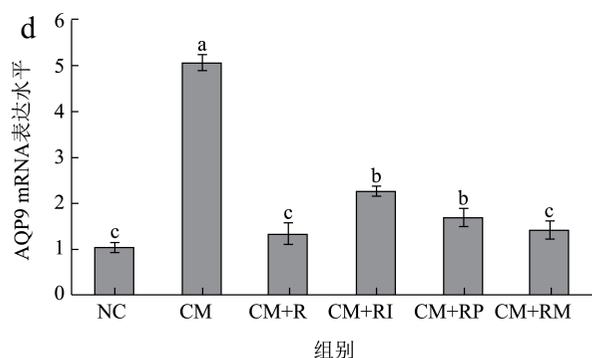


图6 各组小鼠水通道蛋白 mRNA 的表达

Fig.6 Expression of aquaporin mRNA in mice

与 NC 组相比, CM 组 AQP3、AQP4、AQP8 和 AQP9 水平表达极显著升高 47.99%、69.10%、60.40% 和 80.03% ($P < 0.05$), 便秘小鼠结肠中 AQP3、AQP4、AQP8 和 AQP9 mRNA 基因的转录水平较空白组有显著增加, 表示结肠中 AQPs 基因转录水平的增加会促进对肠腔内水分的吸收, 从而导致粪便干硬, 排便困难, 甚至导致长期便秘状况的形成^[13,29]。有试验证明, 通过抑制 AQP3、AQP9 信号通路的激活, 可有效减缓番泻叶诱导的脾虚证慢传输型便秘^[30]。数据结果表明了黑米单独或联合膳食纤维饲喂后, 可以显著降低 AQPs 表达至正常水平, 甚至低于正常水平。黑米中含有的大量不溶性膳食纤维具有较强的吸水性和溶胀性, 能够通过生成更多的食物残渣, 增大粪量, 软化粪便, 容易排泄。而水溶性膳食纤维聚葡萄糖相较于菊粉具有更好的持水性, 可以更显著抑制水通道蛋白的表达。

3 结论

本研究评价了黑米单独及联合膳食纤维对便秘小鼠的作用效果及影响机制。结果表明, 黑米单独作用或联合膳食纤维均具有较好的通便润肠作用。黑米单独作用可以更好地增加便秘小鼠日常平均排便重量及粒数, 提高肠道抗氧化能力, 减少脂质氧化损伤, 维持肠道结构特征, 防止结肠粘液细胞数量减少。黑米单独或联合膳食纤维都可以显著提高兴奋性神经递质水平, 降低抑制性神经递质水平, 且对抑制性神经递质的影响强于对兴奋性神经递质的影响; 膳食纤维与黑米共用比黑米单独使用能够更好地调控胃肠神经递质水平。此外, 膳食纤维协同黑米可以更好地抑制水通道蛋白基因表达, 防止肠腔内水分过度吸收, 粪便干结, 而聚葡萄糖协同效果最优。总体而言, 黑米单独或联合膳食纤维在上述不同指标上体现出差异化影响结果, 但都具有

显著的通便作用。

参考文献

- [1] LI X, WANG X, WANG Z, et al. Baizhu-Baishao herb pair ameliorates functional constipation and intestinal microflora disorder in rats [J]. *Animal Models and Experimental Medicine*, 2023, 6(6): 598-608.
- [2] FABRIZIO A C, ALIMY Y, KUMAR A S. Methods of evaluation of anorectal causes of obstructed defecation [J]. *Clinics in Colon and Rectal Surgery*, 2017, 30(1): 46-56.
- [3] 白晓丽. 普洱茶膳食纤维结构特性及改善便秘作用机理研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2022.
- [4] GONG H, QIN F, HE H. Herbal formula modified Buzhong-Yiqi-Tang for functional constipation in adults: A meta-analysis of randomized controlled trials [J]. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018, 2018: 1-12.
- [5] HAN X, MA Y, DING S, et al. Regulation of dietary fiber on intestinal microorganisms and its effects on animal health [J]. *Animal Nutrition*, 2023, 14: 356-369.
- [6] 张想, 李立郎, 杨娟, 等. 发酵刺梨果渣膳食纤维润肠通便功能研究[J]. *食品与发酵科技*, 2021, 57(2): 30-34.
- [7] 李帅, 陈玮, 刘洪, 等. 黑米花青素对大鼠肠道菌群调节作用及抗氧化研究[J]. *成都医学院学报*, 2011, 6(3): 219-221, 234.
- [8] 王慕文, 孙汉巨, 刘淑芸. 黑米花色苷的酰基化及产物对肠道菌群的益生作用[J]. *现代食品科技*, 2023, 39(3): 18-26.
- [9] COSTABILE A, FAVA F, RÖYTIÖ H, et al. Impact of polydextrose on the faecal microbiota: a double-blind, crossover, placebo-controlled feeding study in healthy human subjects [J]. *British Journal of Nutrition*, 2012, 108(3): 471-481.
- [10] TIMM D A, THOMAS W, BOILEAU T W, et al. Polydextrose and soluble corn fiber increase five-day fecal wet weight in healthy men and women [J]. *The Journal of Nutrition*, 2013, 143(4): 473-478.
- [11] SHIMADA M, NAGANO N, GOTO S, et al. Effect of polydextrose intake on constipation in japanese dialysis patients: A triple-blind, randomized, controlled Trial [J]. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 2015, 61(4): 345-353.
- [12] MICKA A, SIEPELMEYER A, HOLZ A, et al. Effect of consumption of chicory inulin on bowel function in healthy subjects with constipation: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial [J]. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 2017, 68(1): 82-89.
- [13] 柴茂. 双歧杆菌对便秘的缓解作用及其机制分析[D]. 无锡: 江南大学, 2021.

- [14] 饶啸天,黄林樞,郑培森,等.肠制大黄对便秘模型小鼠排便功能及结肠组织病理变化的影响[J].中医杂志,2023,64(18):1916-1921.
- [15] 晏亚萍.MAPK4敲除对炎症性肠病模型的影响及机制研究[D].遵义:遵义医科大学,2022.
- [16] ZOU Y, HU T, LIAO S. Mulberry (*Morus Atropurpurea*) supplementation relieve constipation in mice based on gut microbiota regulation [J]. *Current Developments in Nutrition*, 2020, 4: nzaa052_064.
- [17] 徐灼辉.荔枝干果肉膳食纤维—结合酚加合物结构表征及其润肠通便作用机制[D].广州:广州大学,2020.
- [18] 薛艳君,吴娟娟,张旭东,等.电针“太冲”对自发性高血压大鼠海马MDA、SOD、GSH-Px含量的影响[J].中国中医基础医学杂志,2022,28(9):1439-1442.
- [19] TIAN L, TAN Y, CHEN G, et al. Metabolism of anthocyanins and consequent effects on the gut microbiota [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2019, 59(6): 982-991.
- [20] KYLLI P, NOHYNEK L, PUUPPONEN-PIMIÄ R, et al. Rowanberry phenolics: compositional analysis and bioactivities [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(22): 11985-11992.
- [21] HUANG T, CHE Q, CHEN X, et al. Apple polyphenols improve intestinal antioxidant capacity and barrier function by activating the Nrf2/Keap1 signaling pathway in a pig model [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2022, 70(24): 7576-7585.
- [22] 刘志刚,于永铎.慢传输型便秘病因病机的研究进展[C]//中华中医药学会肛肠分会换届会议暨便秘专题研讨会论文专刊.中华中医药学会,2007:193-194.
- [23] 计树灵,韩佳瑞,贺璐璐,等.大黄素对洛哌丁胺致小鼠便秘的治疗作用[J].中国病理生理杂志,2019,35(12):2262-2268.
- [24] LI M, GUO C, WANG Y, et al. Nostoc sphaeroids Kütz polysaccharide and powder enrich a core bacterial community on C57BL/6j mice [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 162: 1734-1742.
- [25] 韩伟林,洗俊思,李容娣,等.桑叶粉的润肠通便作用[J].蚕业科学,2023,49(3):277-282.
- [26] 张华南,朱杰,于立芹,等.功能性低聚糖对急性便秘模型小鼠通便功能的影响[J].中国药业,2022,31(18):44-48.
- [27] OKADA S, MISAKA T, MATSUMOTO I, et al. Aquaporin-9 is expressed in a mucus-secreting goblet cell subset in the small intestine [J]. *FEBS Letters*, 2003, 540(1-3): 157-162.
- [28] CHAO W W, HONG Y H, CHEN M L, et al. Inhibitory effects of *Angelica sinensis* ethyl acetate extract and major compounds on NF- κ B trans-activation activity and LPS-induced inflammation [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2010, 129(2): 244-249.
- [29] ZHAI X C, LIN D H, ZHAO Y, et al. Bacterial cellulose relieves diphenoxylate-induced constipation in Rats [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(16): 4106-4117.
- [30] 汤文娟,夏旭婷,刘富林.枳术丸对脾虚证慢传输型便秘小鼠结肠黏膜AQP3、AQP9的影响[J].湖南中医药大学学报,2023,43(6):999-1005.