

白玉菇多糖发酵乳对小鼠肠道微生物的影响及抗氧化作用

王圆圆^{1,2}, 杨晓桐¹, 陈伟^{1*}

(¹山东农业大学食品科学与工程学院 山东泰安 271018

²龙口市检验检测中心 山东龙口 265700)

摘要 在发酵乳中添加白玉菇水提多糖(WHN)和酶提多糖(WHE),研究白玉菇多糖发酵乳对小鼠肠道的保护作用,对肠道菌群的调节和抗氧化作用。结果表明:白玉菇多糖发酵乳增加了小鼠粪便含水量,白玉菇酶提多糖高剂量组小鼠结肠指数为 1.62,结肠长度为 9.59 cm,相比于空白组显著增加,白玉菇酶提多糖高剂量组结肠内容物中短链脂肪酸含量为 26.45 mmol/L,是空白组的 1.38 倍,其中还原糖和单糖的含量显著增加。Alpha 多样性指数分析表明,白玉菇水提多糖高剂量发酵乳组小鼠肠道菌群物种丰度最高,从门水平和属水平分析,增加了拟杆菌门、放线菌门以及乳酸菌属丰度。白玉菇酶提多糖高剂量组小鼠的抗高血脂和抗氧化效果最好,提高了小鼠 T-AOC、SOD、CAT 活性,同时降低了 MDA 含量。白玉菇多糖发酵乳通过改善小鼠肠道生理状况来调节肠道菌群结构,增强抗氧化能力,其中 WHE 发酵乳组效果优于 WHN 发酵乳组,有一定的剂量依赖性。

关键词 白玉菇; 水提多糖; 酶提多糖; 多糖发酵乳; 肠道微生物; 抗氧化

文章编号 1009-7848(2023)04-0127-09 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2023.04.013

人肠道内集聚了多种微生物,这些微生物与宿主相互作用,共同维持肠道微生态的动态平衡^[1]。多糖进入肠道内可以被特定的肠道微生物降解,产生各种寡糖,被人体直接吸收利用,而未消化的多糖被肠道微生物进一步发酵,产生包括乙酸、丙酸和丁酸等在内的短链脂肪酸,并发挥各种生理功能^[2]。多糖可以作为肠道菌群的碳源,一方面,可以改善肠道的生理状态,保护肠道屏障的结构功能完整性;另一方面,多糖可以促进有益菌增殖,抑制有害菌增殖,从而形成平衡健康的微生物群落结构。此外,多糖可以提高碳水化合物活性酶(CAZymes)的活性,促进短链脂肪酸的生成,对人体健康的维持具有强大的作用^[3]。

白玉菇(*White Hypsizigus marmoratus*)又名白玉蕈,是真姬菇稳定白色变异体菌株,隶属担子菌亚门,层菌纲,伞菌目,口蘑科,玉蕈属^[4]。白玉菇的菇体纯白,口感细腻爽脆,具有浓郁的海鲜味,因此又称海鲜菇^[5]。朱亚男等^[6]采用超声波辅助热水浸提法得到白玉菇精多糖,发现其对免疫抑制性小鼠的脾脏和胸腺具有明显的免疫调节作用。

Wu 等^[7]研究发现白玉菇多糖对链脲佐菌素诱导的糖尿病大鼠具有降血糖作用,表明该多糖有预防糖尿病患者高血糖的潜力。肠道微生物具有复杂的生物酶系统,多糖进入人体被其所酵解,产生各种小分子生物活性物质,因此认为肠道很有可能是多糖发挥生物活性的主要场所^[8]。不同的多糖因结构不同,对肠道微生物的调节作用也是不同的^[9]。目前白玉菇多糖对肠道微生物菌群的影响研究较少。本文探究肠道内白玉菇多糖的酵解过程及其对肠道菌群的影响。采用超声辅助法和酶法提取白玉菇多糖,进而添加到发酵乳中,制备一种功能性发酵制品,研究其对肠道的保护作用,对肠道菌群的调节及抗氧化作用。

1 材料与amp;方法

1.1 试验材料与试剂

白玉菇(*White Hypsizigus marmoratus*),购于泰安市大润发超市。洗净后置于 55 °C 烘箱,烘至恒重,粉碎至 80 目,置于干燥器中备用。

1.2 动物与饲料来源

ICR(SPF)级雄性小鼠,体质量(20±2)g,购于济南朋悦实验动物繁殖有限公司。实验动物生产许可证号 SCXK(鲁)20190003。小鼠饲料,购于丰硕实验动物器材店铺。

收稿日期: 2022-04-28

第一作者: 王圆圆,女,硕士生

通信作者: 陈伟 E-mail: chenwei@sdau.edu.cn

1.3 主要试剂

蜗牛酶, Biotopped 有限公司; 乙醇、硫酸、正丁醇、苯酚, 天津市凯通化学试剂有限公司; SOD 测试盒、CAT 测试盒、T-AOC 测试盒, 南京建成生物工程研究所。

1.4 主要仪器与设备

UV-2010PC Series 紫外分光光度计, 日本岛津公司; BS124S 分析天平, 赛多利斯科学仪器有限公司; Delta320 pH 计, METTLER TOLEDO; Chemray 800 全自动生化分析仪, 雷杜生命科技有限公司; SMP 500-1780 5-2BF0 酶标仪, 上海安亭科学仪器厂; SW-CJ-1CU 洁净工作台, 苏州安泰空气技术有限公司; DH6000 II 电热恒温培养箱, 天津泰斯特仪器有限公司; HH-4 数显恒温水浴锅, 国华电器有限公司; RE52CS-1 旋转蒸发器, 上海亚荣有限公司; TGL-16G 高速离心机, 上海安亭科学仪器厂; KQ5200E 型超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司。

1.5 白玉菇水提多糖的提取

参考王金玺^[10]的方法, 准确称取白玉菇干粉 50 g, 按料液比 1:49 加入去离子水, 在超声功率 200 W 下超声 14 min, 在 70 °C 水浴锅中提取 131 min, 取出冷却至室温, 5 000 r/min 离心 15 min, 取上清液, 旋转蒸发浓缩至原体积的 1/4, 经脱蛋白、脱色、透析后, 加入 4 倍体积无水乙醇, 静置过夜后收集沉淀, 冷冻干燥后获得白玉菇水提多糖 (WHN)。

1.6 白玉菇酶提多糖的提取方法

参考闫永兰^[11]的方法, 准确称取白玉菇干粉 50 g, 按料液比 1:49 加入去离子水, 加入 1.3% 的蜗牛酶, 调节 pH 4.6, 在 70 °C 水浴锅中提取 79 min, 取出冷却至室温, 5 000 r/min 离心 15 min, 取上清液, 后续步骤同上, 冷冻干燥后获得白玉菇酶提多糖 (WHE)。

1.7 白玉菇多糖发酵乳的制作

在新鲜生牛乳中添加 1.2% 的蔗糖、0.3% 明胶, 分别添加 0.06%、0.12%、0.24% 的白玉菇水提多糖和酶提多糖, 95 °C 杀菌 5 min, 冷却至 45 °C 后接种发酵剂, 分装于玻璃瓶中, 置于 40 °C 培养箱中发酵培养, 发酵完成后在 4 °C 冰箱中后熟^[12]。

1.8 动物分组及处理方法

选取 64 只昆明种雄性小鼠, 按照动物管理条例标准饲养, 鼠房环境控制恒温、恒湿, 适应性饲养 1 周后随机分成 8 组, 每组 8 只, 自由饮食、饮水。分组设置为空白组、对照组、WHN 发酵乳低 (60 mg/kg)、中 (120 mg/kg)、高剂量组 (240 mg/kg), WHE 发酵乳低 (60 mg/kg)、中 (120 mg/kg)、高剂量组 (240 mg/kg)。

1.9 小鼠粪便含水量的测定

分别于 10, 20, 30 d 使用拎尾法采集小鼠粪便, 然后, 迅速将粪便收集于干燥无菌 EP 管中, 称重 (m_1) 后置于 100 °C 的烘箱中烘至恒重, 取出称重 (m_2), 按照公式 (1) 计算。

$$\text{小鼠粪便含水量 (\%)} = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100 \quad (1)$$

1.10 小鼠结肠指数及结肠长度的测定

称取小鼠体质量 (m_3), 取小鼠的结肠, 将其内容物小心刮出, 准确测量其长度及质量 (m_4), 按照公式 (2) 计算结肠器官指数 A 。

$$A = \frac{m_4}{m_3} \quad (2)$$

1.11 小鼠结肠内容物中短链脂肪酸的测定

称取小鼠的结肠内容物于无菌离心管中, -80 °C 冻存, 待测。以 4 000 r/min 离心, 取上清液, 用气-质谱联用仪检测短链脂肪酸的组成。色谱及质谱条件是: 色谱柱: VF-MAXms 石英毛细管柱 (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm); 进样口温度 280 °C, EI 离子源温度 220 °C, 四极杆温度 150 °C, 载气为氦气, 进样量 3 μL, 不分流进样; 柱流量 1 mL/min, 138 kPa 恒压模式; 升温程序: 初始温度 80 °C 保持 2 min, 以 20 °C/min 升温至 240 °C, 保持 5 min; 采用全自动扫描模式进行质谱检测, 质谱检测范围 30~150^[13]。

1.12 小鼠大肠内容物中还原糖及各单糖组分的测定

采用 DNS 法测定还原糖。各单糖组分的检测: 取各组结肠内容物上清液, 用 0.45 μm 的水性滤器过滤, 用离子液相色谱测定单糖成分。其中, 离子色谱分析条件是: CarboPac TMPA10 (4 mm × 250 mm) 柱, 柱温 30 °C, 积分培安法分析, 流动相 A 为水, 流动相 B 为 100 mmol/mL NaOH, 流动相

C 为 200 mmol/mL NaOH^[14]。

1.13 多糖对小鼠肠道菌群的影响

使用拎尾法快速采集小鼠粪便,用液氮冷冻,干冰保存送至青岛欧易生物科技股份有限公司,采用 16S rDNA 高通量测序技术进行测序^[15]。

1.14 血液指标测定

按南京建成生物工程试剂盒说明书所示测定小鼠血清 MDA 含量以及 SOD、CAT、T-AOC 活性。重复测定 3 次。

2 结果与分析

2.1 白玉菇多糖发酵乳对小鼠粪便含水量的影响

粪便含水量是反映肠道健康的一个指标。由图 1 可知,在小鼠灌胃实验初期,由于生长环境以及饮食相同,因此初始各组小鼠粪便含水量没有显著变化。随着摄入不同剂量的 WHN 和 WHE 发酵乳,相比于空白组 and 对照组,多糖发酵乳组小鼠的粪便含水量显著升高($P<0.05$),并呈一定的剂量依赖性,而添加 WHN 的发酵乳组的效果优于添加 WHE 的发酵乳组。结果表明,白玉菇多糖发酵乳具有提高小鼠粪便含水量的功能。这有利于增加粪便体积,使粪便便于携带各种机体代谢废物及毒素排出体外,从而减少肠道疾病的发生^[16]。

2.2 白玉菇多糖发酵乳对小鼠结肠生理状况的影响

结肠是肠道微生态的重要组成,位于肠道的最末端,具有在粪便排出体外前吸收水分和盐的作用,一旦出现肠道疾病,结肠器官指数会下降,长度也会缩短,其生理状态会影响多糖的酵解^[17]。由表 1 可知,空白组的结肠指数和结肠长度分别为 0.78 和 7.24 cm。白玉菇多糖发酵乳具有修复结肠长度和指数的功能,其中 WHE 高剂量组效果最显著($P<0.05$),结肠指数和结肠长度分别为 1.62 和 9.59 cm(表 1)。随着白玉菇多糖剂量的增加,实验组小鼠的结肠器官指数和结肠长度均升高,并呈一定的剂量依赖性,说明白玉菇多糖可能有增强肠道屏障,维持肠道生理健康状态的作用。

2.3 白玉菇多糖发酵乳对小鼠结肠内容物中短链脂肪酸的影响

多糖在结肠内可以酵解成各种短链脂肪酸,

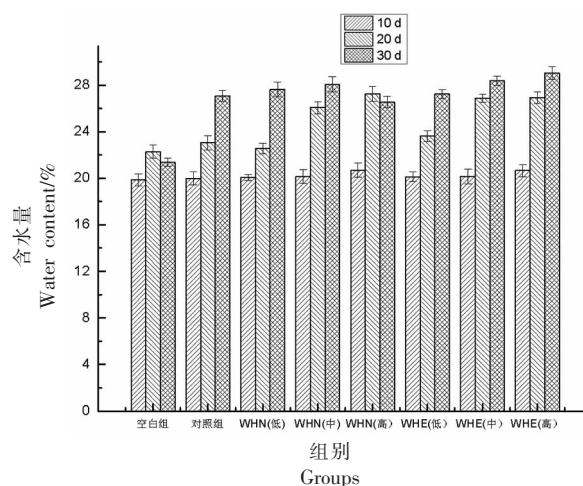


图 1 白玉菇多糖发酵乳对小鼠粪便含水量的影响

Fig.1 Effects of *White Hypsizyugus marmoreus* polysaccharide fermented milk on water content of mice feces

表 1 小鼠结肠指数与结肠长度

Table 1 Colon index and length in mice

组别	结肠指数	结肠长度/cm
空白组	0.78 ± 0.06 ^a	7.24 ± 0.56 ^a
对照组	0.85 ± 0.03 ^b	7.56 ± 0.51 ^a
WHN(低)	1.23 ± 0.03 ^c	8.02 ± 1.02 ^b
WHN(中)	1.36 ± 0.04 ^c	8.68 ± 0.89 ^c
WHN(高)	1.53 ± 0.05 ^c	9.12 ± 0.54 ^d
WHE(低)	1.33 ± 0.06 ^c	8.51 ± 0.94 ^c
WHE(中)	1.45 ± 0.09 ^{cc}	8.98 ± 0.14 ^d
WHE(高)	1.62 ± 0.12 ^d	9.59 ± 0.45 ^e

注:每列中字母相同者表示差异未达显著水平($P>0.05$),字母不同者表示差异达显著水平($P<0.05$)。

包括乙酸、丙酸、丁酸等,这些小分子物质进一步发挥其生物活性^[18]。测定小鼠结肠内容物中短链脂肪酸的含量可以反映结肠内多糖的酵解情况。由表 2 可知,WHE 高剂量组结肠内容物中短链脂肪酸含量是空白组的 1.38 倍,高于 WHN 高剂量组。本文共检测到 4 种短链脂肪酸,按照含量高、低排序为乙酸、丙酸、丁酸、戊酸。对于乙酸,相比于空白组,两个多糖高剂量组乙酸含量分别上升 33.3%和 39.7%。对于丙酸,两个多糖高剂量组较空白组丙酸含量分别提高 8.7%和 11.5%,差异显著($P<0.05$),而低剂量和中剂量组不显著($P>0.05$)。对于丁酸,两个多糖发酵乳组的丁酸浓度均显著升高($P>0.05$)。对于异戊酸,两个多糖发酵

乳组较空白组和对照组均无明显差异。高剂量多糖发酵乳对小鼠结肠内容物的短链脂肪酸有提高作用,其中WHE高剂量组结肠内容物中短链脂

肪酸含量高于WHN高剂量组。小鼠结肠中发生的各种短链脂肪酸变化可能是摄入不同剂量、不同种类的白玉菇多糖发酵乳酵解所致。

表2 小鼠结肠中短链脂肪酸含量

Table 2 Contents of short chain fatty acids of colon in mice

组别	总短链脂肪酸/ mmol·L ⁻¹	乙酸/ mmol·L ⁻¹	丙酸/ mmol·L ⁻¹	丁酸/ mmol·L ⁻¹	戊酸/ mmol·L ⁻¹
空白组	19.23 ± 0.49 ^a	12.49 ± 0.16 ^a	6.86 ± 0.91 ^a	0.75 ± 0.03 ^a	0.52 ± 0.03 ^a
对照组	19.96 ± 0.84 ^a	13.15 ± 0.54 ^a	7.12 ± 0.13 ^b	0.82 ± 0.12 ^b	0.54 ± 0.03 ^a
WHN(低)	22.34 ± 0.26 ^b	14.56 ± 0.45 ^b	7.15 ± 0.26 ^b	0.86 ± 0.16 ^c	0.51 ± 0.06 ^a
WHN(中)	24.16 ± 0.56 ^c	16.16 ± 0.74 ^c	7.16 ± 0.15 ^b	0.92 ± 0.26 ^d	0.53 ± 0.12 ^a
WHN(高)	23.64 ± 0.54 ^b	16.65 ± 0.48 ^d	7.46 ± 0.32 ^c	0.98 ± 0.18 ^c	0.56 ± 0.06 ^a
WHE(低)	23.15 ± 0.45 ^b	15.49 ± 1.14 ^c	7.20 ± 0.25 ^b	0.85 ± 0.23 ^c	0.54 ± 0.05 ^a
WHE(中)	25.26 ± 0.64 ^d	16.87 ± 0.79 ^d	7.23 ± 0.59 ^b	0.95 ± 0.56 ^{de}	0.56 ± 0.04 ^a
WHE(高)	26.45 ± 0.46 ^e	17.45 ± 0.49 ^f	7.65 ± 0.46 ^d	0.97 ± 0.64 ^e	0.51 ± 0.16 ^a

注:每列中字母相同者表示差异未达显著水平($P>0.05$),字母不同者表示差异达显著水平($P<0.05$)。

2.4 白玉菇多糖发酵乳对小鼠结肠内容物中单糖的影响

白玉菇多糖主要由葡萄糖、木糖、半乳糖、岩藻糖构成,本试验主要测定了这几种单糖在小鼠肠道内的含量变化。如表3所示,灌胃白玉菇多糖发酵乳的小鼠肠道内还原糖总量以及各单糖组分较空白组和对照组均增加,差异显著($P<0.05$),并呈现一定的剂量依赖性。其中两个多糖高剂量组

还原糖含量是空白组的2.95倍和2.75倍,WHN高剂量组的葡萄糖含量为29.89%,高于WHE高剂量组,而半乳糖、木糖和岩藻糖的含量均低于WHE发酵乳组。说明白玉菇多糖可以在小鼠肠道内被酵解成葡萄糖等单糖,这些葡萄糖又能继续被肠道菌群分解,分解成小分子活性物质,这可能是结肠内容物短链脂肪酸含量升高的原因之一。

表3 小鼠单糖结肠内容物含量

Table 3 Monosaccharide content of colonic in mice

组别	还原糖含量/mg·mL ⁻¹ ·g ⁻¹	葡萄糖/%	木糖/%	半乳糖/%	岩藻糖/%
空白组	0.55 ± 0.12 ^a	21.20 ± 0.65 ^a	1.58 ± 0.21 ^a	1.24 ± 0.41 ^a	1.02 ± 0.30 ^a
对照组	0.65 ± 0.15 ^a	22.39 ± 0.47 ^b	1.98 ± 0.36 ^b	1.65 ± 0.25 ^b	1.21 ± 0.06 ^a
WHN(低)	0.85 ± 0.26 ^b	25.46 ± 0.25 ^b	3.21 ± 0.32 ^c	1.85 ± 0.11 ^c	1.34 ± 0.21 ^b
WHN(中)	1.02 ± 0.32 ^c	27.69 ± 0.18 ^c	3.49 ± 0.85 ^d	1.99 ± 0.28 ^d	1.49 ± 0.25 ^c
WHN(高)	1.62 ± 0.15 ^d	29.89 ± 0.28 ^d	3.98 ± 0.14 ^e	2.41 ± 0.66 ^e	1.39 ± 0.14 ^b
WHE(低)	0.95 ± 0.36 ^b	22.86 ± 0.28 ^d	3.85 ± 0.36 ^{de}	3.65 ± 0.95 ^f	2.56 ± 0.26 ^d
WHE(中)	1.24 ± 0.11 ^c	23.96 ± 0.54 ^e	3.95 ± 0.67 ^e	4.26 ± 0.85 ^g	2.96 ± 0.84 ^e
WHE(高)	1.51 ± 0.36 ^d	25.21 ± 0.64 ^f	4.21 ± 0.48 ^f	4.95 ± 0.55 ^h	3.02 ± 0.51 ^e

注:每列中字母相同者表示差异未达显著水平($P>0.05$),字母不同者表示差异达显著水平($P<0.05$)。

2.5 白玉菇多糖发酵乳对小鼠粪便菌群多样性分析

共24个样本,质控后的clean tags数据量分布在65 372~76 801之间,clean tags经去除嵌合体得到validtags(即最终用于分析的数据),数据

量分布在51 772~70 555之间,validtags平均长度分布在410.69~420.02 bp,各样本OTU个数分布在1 684~2 637之间,且各组测序深度基本覆盖样品中所有物种。

各组小鼠粪便菌群的Alpha多样性指数见表

4。Chao 指数反映物种群落丰富度,Shannon 指数是评价肠道菌群丰富度的指数,与菌群丰富度呈正比。Sobs 指数表示样品中所含物种数目,物种指数越高样品丰度越高。Coverage 指数是各样品文库的覆盖率,反映样品的测序深度。Spcaccum 物种累计曲线描述随着样本量的加大,物种增加的状况,是调查样本的物种组成和预测样本中物种丰度的有效工具,被广泛用于样本量是否能充分判断以及物种丰富度的估计^[19]。如图 2 所示,随着样本量的不断增大,曲线逐渐平缓,OTU 数不再明显增加,说明样本量已足够反映群落物种丰富度状况。由表 4 可知,相较于空白组和对照组,各白玉菇多糖发酵乳组的菌群多样性均得到提升。白玉菇水提多糖高剂量发酵乳的菌群多样性最高,Chao 指数为 3 209.29,Sobs 指数为 2 409.68,Shannon 指数为 7.69,显著高于空白组(Chao 指数 2 683.33,Sobs 指数 1 942.71,Shannon 指数 7.66)。

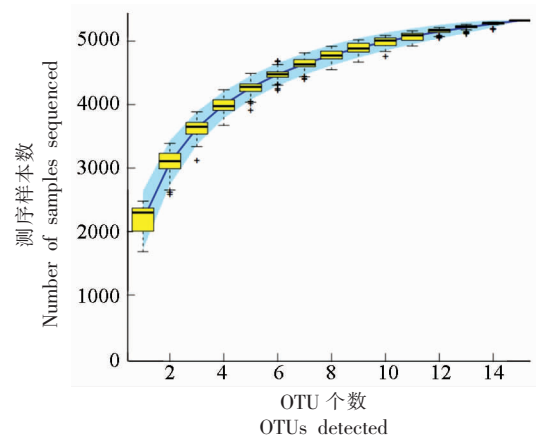


图 2 Spcaccum 物种累计曲线

Fig.2 Spcaccum species accumulation curves

各组样品的 Coverage 指数均在 0.89 以上,表明样品中序列未被检测到的可能性较低。这表明一定浓度的白玉菇多糖发酵乳,对小鼠肠道菌群产生了影响,物种群落丰富度有所增加。

表 4 Alpha 多样性指数

Table 4 Alpha diversity index

组别	Chao 指数	Shannon 指数	Sobs 指数	Coverage 指数
空白组	2 683.33 ± 10.52 ^a	7.66 ± 0.025 ^c	1 942.71 ± 4.25 ^a	0.985
对照组	2 808.15 ± 1.27 ^b	7.34 ± 0.054 ^d	2 071.42 ± 3.54 ^{ab}	0.986
WHN(低)	2 715.33 ± 5.54 ^c	7.40 ± 0.066 ^a	2 169.35 ± 4.52 ^b	0.985
WHN(中)	2 866.64 ± 5.50 ^b	7.31 ± 0.065 ^a	2 164.68 ± 3.45 ^b	0.984
WHN(高)	3 209.28 ± 14.25 ^d	7.69 ± 0.042 ^b	2 409.68 ± 12.65 ^d	0.983
WHE(低)	2 619.68 ± 42.52 ^a	7.18 ± 0.099 ^c	1 969.95 ± 23.65 ^a	0.985
WHE(中)	3 088.15 ± 16.11 ^{bc}	7.48 ± 0.098 ^a	2 235.25 ± 15.64 ^b	0.986
WHE(高)	3 111.02 ± 26.54 ^d	7.38 ± 0.035 ^d	2 254.42 ± 27.59 ^c	0.983

注:每列中字母相同者表示差异未达显著水平($P>0.05$),字母不同者表示差异达显著水平($P<0.05$)。

2.6 小鼠肠道菌群花瓣图

花瓣图可用于表示多组或多个样本中所共有和独有的 OTU 数目,可比较直观地表现环境样本的 OTU 数目组成相似性及重叠情况。以花瓣颜色一致表示相同一组的重复,花瓣颜色不同表示不同的组别。由图 3 可知,空白组的 OTU 数目为 1 632,WHN 高剂量组的 OTU 数目最高,为 2 263。

2.7 小鼠肠道微生物菌群组成分析

1) 门水平的组成及分布 门水平主要包括 8 种:拟杆菌门(Bacteroidetes)、厚壁菌门(Firmicutes)、变形菌门(Proteobacteria)、大肠杆菌门(Epsilonbacteraeota)、脱铁杆菌门(Deferribac-

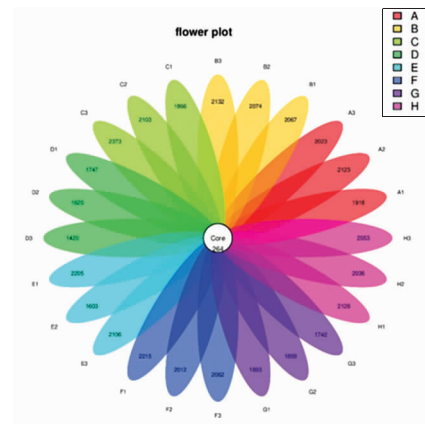


图 3 各组小鼠粪便样品菌群花瓣图

Fig.3 Petal diagram of fecal flora of mice in each group

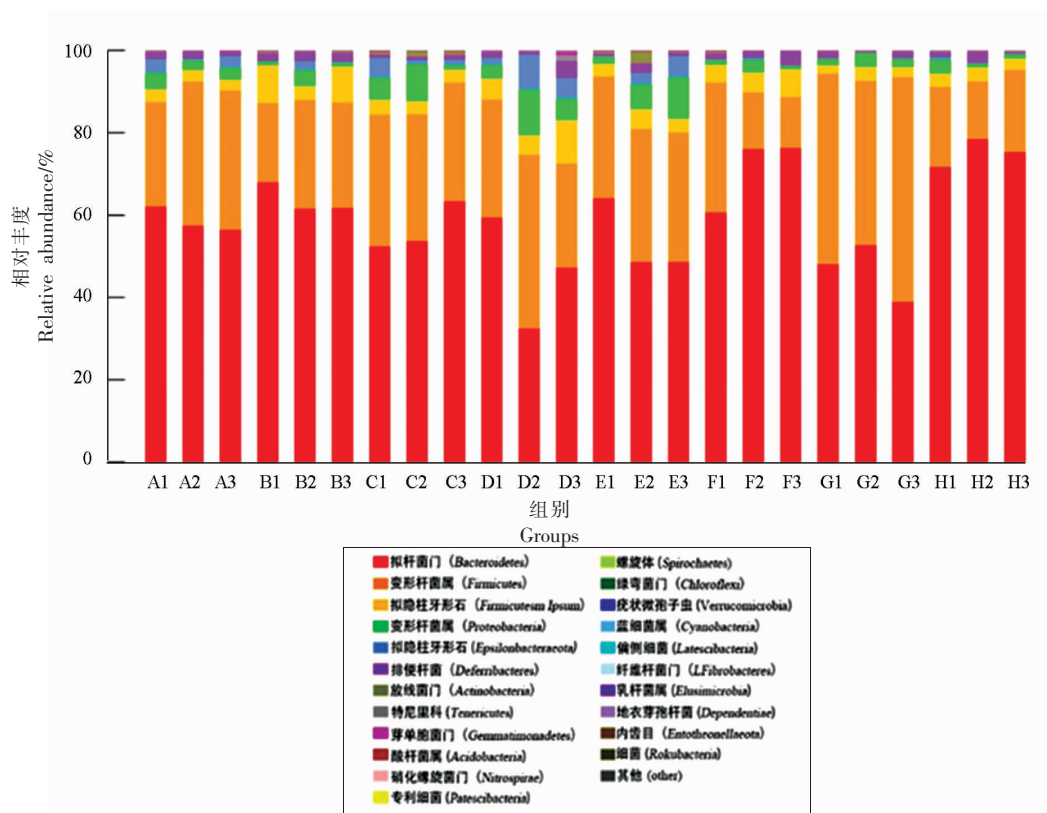


图4 肠道微生物在门水平的组成及分布

Fig.4 Composition and distribution of intestinal microorganisms at phylum level

teres)、放线菌门 (Actinobacteria)、软壁菌门 (Tenericutes) 和芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes)。其中前 5 种菌门是 8 个分组共有的。由图 3 可知, 拟杆菌门和厚壁菌门是最高两大菌门, 与对照组相比, 多糖发酵乳处理组使厚壁菌门比例降低, 差异显著 ($P<0.05$), 而拟杆菌门和放线菌门相对丰度极显著增加 ($P<0.01$), WHE 高剂量组的拟杆菌门所占比例最多, 达 72%。相比于 WHN 组, WHE 组使软壁菌门和脱铁杆菌门的相对丰度增加。

2) 属水平的组成及分布 属水平主要有拟杆菌属 (*Bacteroides*)、毛螺菌 (*Lachnospiraceae*)、螺杆菌属 (*Helicobacter*)、乳酸菌属 (*Lactobacillus*)、嗅菌属 (*Odoribacter*)、粘螺旋菌属 (*Mucispirillum*) 等。白玉菇多糖发酵乳组的拟杆菌属和乳酸菌属相对丰度较空白组和对照组不同程度地增加。Rooks 等^[20]研究发现拟杆菌属丰度增加不仅通过合成糖基水解酶来分解抗性淀粉, 而且有利于缓解高脂饮食小鼠的结肠炎, 对于降低肠道疾病发

病率有一定帮助。WHN 组效果不如 WHE 组。另外, WHE 发酵乳组的毛螺菌属和螺杆菌属相对丰度较 WHN 组增加, 脱铁杆菌科粘螺旋菌属 (*Mucispirillum*) 也增加, 该菌属近几年才被分离、发现, 主要定植于肠道黏膜黏液层。WHN 组的布劳氏菌属 (*Blautia*) 显著增加 ($P<0.05$)。有研究表明布劳氏菌属 (*Blautia*) 中的一些物种与肥胖和胰岛素抵抗相关, 且与粪便中的炎症因子水平相关。在体外培养的布劳氏菌属 (*Blautia*) 表现出一定的抗炎效应^[21]。随着摄入不同剂量的白玉菇多糖发酵乳, 各菌属的相对丰度均发生变化, 说明 WHN 和 WHE 发酵乳均在不同程度上改变肠道菌群的组成和结构。

2.8 白玉菇多糖发酵乳对小鼠抗氧化因子水平的影响

总抗氧化能力 (T-AOC) 反映非酶抗氧化防御系统能力。灌胃不同剂量的白玉菇多糖发酵乳后, T-AOC 有不同水平的增加, 且 WHE 高剂量组总抗氧化能力较空白组升高 33.1%, 差异显著 ($P<$

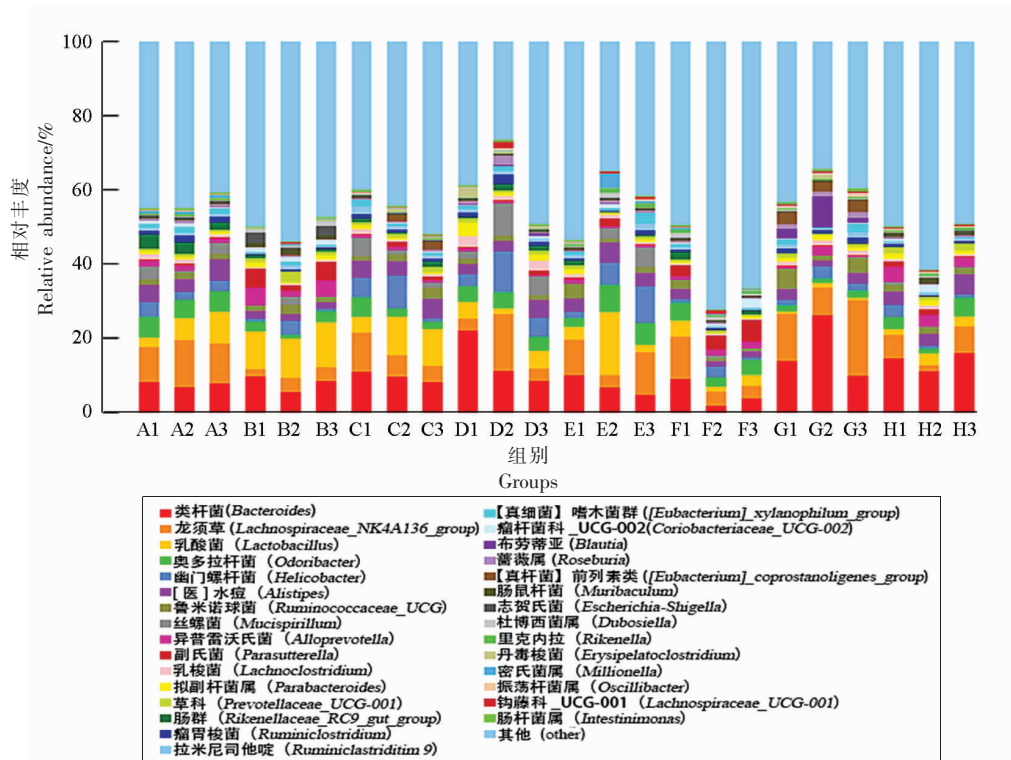


图 5 肠道微生物在属水平的组成及分布

Fig.5 Composition and distribution of intestinal microorganisms at genus level

0.05)。抗氧化酶和过氧化氢酶(SOD、CAT)在保护宿主组织免受超氧阴离子引发的氧化应激中起关键作用^[22]。测定其活性可以间接反映机体的抗氧化能力。从表 5 可以看出,白玉菇多糖发酵乳在不同程度上提高了小鼠血清中 SOD、CAT 活性,且 WHE 高剂量组小鼠较空白组分别增加了 22.9% 和 31.1%, 表明 WHE 在体内有较好的抗氧化活性。丙二醛(MDA)是脂质过氧化作用的终产物,参

与脂质自由基的形成和氧的吸收,被认为是内源性脂质过氧化作用的标志物^[23]。灌胃白玉菇多糖发酵乳各组小鼠血清 MDA 含量都有不同程度的降低,差异显著($P<0.05$),表明白玉菇多糖发酵乳对小鼠血清抗氧化因子水平起到促进作用,增强小鼠机体的抗氧化能力,且 WHE 发酵乳效果优于 WHN 发酵乳。

表 5 白玉菇多糖发酵乳对小鼠抗氧化因子水平的影响

Table 5 Effects of polysaccharide fermented milk on the level of antioxidant factors in mice

组别	总抗氧化能力 (T-AOC)/U·mL ⁻¹	超氧化物歧化酶 (SOD)/U·mL ⁻¹	过氧化氢酶 (CAT)/U·mL ⁻¹	丙二醛 (MDA)/U·mL ⁻¹
空白组	2.26 ± 0.26 ^a	72.93 ± 1.39 ^a	5.02 ± 0.15 ^a	12.12 ± 0.64 ^a
对照组	2.35 ± 0.64 ^c	74.15 ± 0.59 ^d	5.48 ± 0.69 ^a	11.55 ± 1.06 ^b
WHN(低)	2.58 ± 0.69 ^b	77.06 ± 1.52 ^b	5.49 ± 0.63 ^b	10.85 ± 1.34 ^c
WHN(中)	2.94 ± 0.65 ^d	82.61 ± 0.89 ^d	5.88 ± 0.65 ^c	9.86 ± 0.55 ^d
WHN(高)	3.26 ± 0.58 ^{cd}	89.22 ± 2.65 ^{cd}	6.25 ± 0.34 ^d	7.99 ± 0.65 ^e
WHE(低)	2.36 ± 0.51 ^c	84.54 ± 1.54 ^c	5.98 ± 0.35 ^c	10.84 ± 1.22 ^c
WHE(中)	2.76 ± 0.54 ^{bc}	88.24 ± 2.64 ^{cd}	6.02 ± 0.54 ^d	10.06 ± 1.44 ^{bc}
WHE(高)	3.01 ± 0.85 ^{bc}	89.65 ± 3.26 ^{bc}	6.58 ± 0.95 ^e	9.46 ± 0.36 ^d

注:每列中字母相同者表示差异未达显著水平($P>0.05$),字母不同者表示差异达显著水平($P<0.05$)。

3 结论

白玉菇水提多糖和酶提多糖发酵乳均在不同程度上改善小鼠肠道生理状况,调节肠道菌群结构和抗氧化因子水平,对小鼠产生有利影响。

参 考 文 献

- [1] JACOBS D M, GAUDIER E and VAN D J. Non-digestible food ingredients, colonic microbiota and the impact on gut health and immunity: A role for metabolomics[J]. *Current Drug Metabolism*, 2009, 10(1): 41-54.
- [2] GAN Q L, FAN Z H, XIONG Z W. Impact of integrating high calcium yogurt on weight control of over-weight and obese adults[J]. *Modern Preventive Medicine*, 2009, 4: 29-32.
- [3] SUN Y, CHEN S, WEI R, et al. Metabolome and gut microbiota variation with long-term intake of: Panax ginseng extracts on rats[J]. *Food and Function*, 2018, 9(6): 3547-3556.
- [4] 吴新君, 毛培宏, 金湘. 食(药)用真菌多糖的研究[J]. *化学与生物工程*, 2004, 21(1): 14-16.
WU X J, MAO P H, JIN X. Study on fungal polysaccharides for edible (medicinal) use[J]. *Chemistry & Bioengineering*, 2004, 21(1): 14-16.
- [5] CHEN G, WU F. Volatile components of *White Hypsizyugusmarmoratus* detected by electronic nose and HS-SPME-GC-MS: Influence of four drying methods[J]. *International Journal of Food Properties*, 2017, 20(9/10/11/12): 2901-2910.
- [6] 朱亚男, 徐松阳, 丁慧敏, 等. 白玉菇多糖对免疫抑制型小鼠的免疫调节作用[J]. *食品工业科技*, 2019, 41(7): 295-308.
ZHU Y N, XU S Y, DING H M, et al. Immunomodulatory immunomodulatory effects of *White Hypsizyugusmarmoratus* polysaccharides on immunosuppressive mice[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2019, 41(7): 295-308.
- [7] WU D M, DUAN W Q, LIU Y. Anti-inflammatory effect of the polysaccharide of *Golden needle* mushroom in burned rats[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2010, 46(1): 100-103
- [8] XU J, CHEN H B, LI S L. Understanding the molecular mechanisms of the interplay between herbal medicines and gut microbiota[J]. *Med Res Rev*, 2017, 37(5): 1140-1185.
- [9] 吕歌, 张智, 杨可心, 等. 高通量测序分析益生菌对冷食小鼠肠道菌群的干预[J]. *现代食品科技*, 2019, 35(4): 50-55.
LÜ G, ZHANG Z, YANG K X, et al. High-throughput sequencing analysis of probiotics intervention in intestinal flora of cold-fed mice[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2019, 35(4): 50-55.
- [10] 王金玺. 平菇多糖分离纯化、结构表征与修饰及抗氧化性的研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2013.
WANG J X. Isolation, purification, structure characterization, modification and antioxidant activity of polysaccharides from *Pleurotusododes*[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2013.
- [11] 闫永兰. 酶提羊肚菌子实体多糖的抗氧化和抗衰老作用[J]. *中国食用菌*, 2020, 39(1): 42-45.
YAN Y L. Antioxidation and anti-aging effects of polysaccharides from Zymotic fruit bodies of morchella[J]. *Edible Fungi of China*, 2020, 39(1): 42-45.
- [12] 李靖. 灵芝白灵菇酸奶的研制及发酵液组分对酸奶品质的影响[D]. 泰安: 山东农业大学, 2012.
LI J. Preparation of ganoderma bailing mushroom yogurt and effect of fermentation liquor composition on the quality of yogurt [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2012.
- [13] 黄诗铭. 龙须菜多糖调节脂质代谢及肠道菌群功效研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2019.
HUANG S M. Regulating lipid metabolism effect and modulation on intestinal microfloras of polysaccharide extracted from *GracilariaLemaneiformis*[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2019.
- [14] 刘孟洋. 绣球菌多糖醇解特征体系及其对小鼠肠道微生态系统的影响[D]. 太谷: 山西农业大学, 2019.
LIU M Y. Fermentation characteristic system of *Sparassis Crispa* polysaccharides and its effect on intestinal microecosystem in mice[D]. Taigu: Shanxi Agricultural University, 2019.
- [15] 郝敏, 李殿龙, 徐俊亭, 等. 黑木耳胞外多糖对小鼠肠道微生态及免疫调节的影响[J]. *中国食品学报*, 2021, 21(3): 63-70.
HAO M, LI D L, XU J T, et al. Effects of extracellular polysaccharide from *Auricularia auricula* on intestinal microecology and immune regulation of mice[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science*

- and Technology, 2021, 21(3): 63–70.
- [16] 陆红佳, 张磊, 刘金枝, 等. 纳米甘薯渣纤维素对高脂膳食大鼠肠道内环境及形态的影响[J]. 食品科学, 2015, 36(5): 172–178.
- LU H J, ZHANG L, LIU J Z, et al. Effect of cellulose nanocrystals from sweet potato residue on intestinal morphology and environment in rats fed with high fat diet[J]. Food Science, 2015, 36(5): 172–178.
- [17] JADERT C, PHILLIPSON M, HOLM L. Preventive and therapeutic effects of nitrite supplementation in experimental inflammatory bowel disease[J]. Redox Biology, 2014, 2: 73–81.
- [18] 胡婕伦. 大粒车前子多糖体内外消化与酵解特征体系构建及其促进肠道健康的作用[D]. 南昌: 南昌大学, 2014.
- HU J L. Intestinal health effects of large plantago polysaccharides *in vitro* and *in vivo*[D]. Nanchang: Nanchang university, 2014.
- [19] WADA J, MAKINO H. Innate immunity in diabetes and diabetic nephropathy[J]. Nature Reviews. Nephrology, 2016, 12(1): 13–26.
- [20] ROOKS M G, GARRETT W S. Gut microbiota metabolites and host immunity[J]. Nature Reviews Immunology, 2016, 16(6): 341–352.
- [21] ALFONSO B P, EVA M G P, INMACULADA L A, et al. Depletion of blautia species in the microbiota of obese children relates to intestinal inflammation and metabolic phenotype worsening[J]. Msystems, 2020, 5(2): 1–13.
- [22] 熊川, 罗强, 李强. 六妹羊肚菌多糖部分理化性质及抗氧化活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2017, 29(7): 102–107.
- XIONG C, LUO Q, LI Q. Study on the physico-chemical properties and antioxidant activity of the polysaccharides from *Morchella uui*[J]. Research and Development of Natural Products, 2017, 29(7): 102–107.
- [23] HUANG X, NIE S, CAI H. Study on dendrobium officinale O-acetyl- β -glucomanan (Dendronan®): Part VI. Protective effects against oxidative stress in immunosuppressed mice[J]. Food Research International, 2015, 72: 168–173.

Effects of Polysaccharide Fermented Milk from *White Hysizygmarmoreus* on Intestinal Microflora in Mice and Antioxidant Capacity

Wang Yuanyuan^{1,2}, Yang Xiaotong¹, Chen Wei^{*}

¹College of Food Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Taian 271018, Shandong

²Longkou Inspection & Testing Center, Longkou 265700, Shandong)

Abstract To explore the protective effects of polysaccharide fermented milk from *White Hysizygmarmoreus* on intestinal tract, intestinal flora and antioxidant of mice, the polysaccharide fermented milk was prepared by using water extracted polysaccharide (WHN) and enzyme extracted polysaccharide (WHE) as experimental materials. The results showed that polysaccharide fermented milk increased fecal water content of mice. Colon index and colon length of mice in high-dose polysaccharide extraction group were 1.62 and 9.59 cm, which were significantly increased compared with blank group. Short chain fatty acids content in colon contents of high-dose polysaccharide extraction group was 26.45 mmol/L, 1.38 times of that in blank group. The contents of reducing sugars and monosaccharides increased significantly. Moreover, the intestinal flora species abundance in the group of the high dosage of fermented milk with WHN was highest, and the abundances of *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* and *Lactobacillus* were increased at the genus and phylum levels by analyzing the Alpha diversity indexes. While the effects of the high dosage of fermented milk with WHE on antioxidant and anti-hyperlipidemic were the best, it could increase the activities of T-AOC, SOD and CAT, decrease the content of MDA. The findings indicated that the polysaccharide fermented milk from *White Hysizygmarmoreus* could play a key role in improving the intestinal physiology, regulating gut microbiota and enhancing antioxidant capacity in mice, providing research ideas and a theoretical basis for the polysaccharide fermented milk of from *White Hysizygmarmoreus*, WHE fermented milk group is better than WHN fermented milk group, in a certain dose dependence.

Keywords *White Hysizygmarmoreus*; polysaccharide extracted with water; polysaccharide extracted with enzyme; polysaccharide fermented milk; intestinal microorganism; antioxidant