

大蒜多糖对健康小鼠肠道菌群及免疫功能的影响

赵人杰, 白芯嫣, 项璐, 卢晓明*, 乔旭光

(山东农业大学食品科学与工程学院 山东省高等学校食品营养与健康重点实验室 山东泰安 271018)

摘要 采用体外模拟消化评价大蒜多糖的消化特性,研究其对健康小鼠免疫机能及肠道菌群的影响。结果显示,大蒜多糖表现出较好的抗消化特性,约 93%的大蒜多糖经过口腔及胃肠道消化后不被水解而被肠道内微生物利用。动物实验表明,大蒜多糖可以促进小鼠脾脏的生长发育,同时显著提高血清 IgA(34.56%)、IgM(39.56%)、IgG(106.22%)以及粪便 SIgA(61.54%)的含量。此外,大蒜多糖还可以改善小鼠肠道环境,包括促进有益菌(例如双歧杆菌及乳酸杆菌)的增殖,抑制有害菌的生长并提高乙酸及丙酸的水平。这一结果表明大蒜多糖可作为益生元,增强机体的免疫功能。

关键词 大蒜多糖; 体外模拟消化; 免疫活性; 益生元

文章编号 1009-7848(2023)08-0132-10 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2023.08.015

大蒜(*Allium sativum* L.)为百合科葱属植物的地下鳞茎,作为一种药食两用的植物,被广泛应用于食品和调味品中,并作为民间药物来预防疾病^[1]。多糖是大蒜的重要组成成分,具有多种生理功能。大蒜多糖(GPs)是菊糖型多糖,主要由果糖及葡萄糖组成,主链是(2→1)- β -D-吡喃果糖在非还原末端连接(2→1)- β -D-吡喃葡萄糖构成的,支链为(2→6)- β -D-吡喃果糖,聚合度为 28^[2]。由于采用的原材料产地、品种以及提取方式不同,因此 GPs 的分子质量存在差异。研究表明,大蒜多糖具有多种生物活性,例如免疫调节、抗氧化、抗癌、降血糖以及抗炎等^[3-5],作为保健食品,具有很好的开发前景。

作为人体最大、最复杂的“器官”,肠道菌群因强大的功能而被广泛关注。宿主与肠道微生物的良好平衡不仅可以预防肥胖和提高免疫功能^[6-7],还与代谢综合征^[8]、结肠炎^[9]、心脑血管疾病^[10]、癌症^[11]等疾病密切相关。多糖被认为是益生元的主要来源,它们可以通过选择性刺激结肠中一种或有限数量的细菌(例如乳杆菌和双歧杆菌)的生长和活性来改善宿主健康^[12]。最近的研究表明 GPs

可以通过调节肠道微生物群来缓解 DSS 诱导的结肠炎^[4],提示它可能具有潜在的益生活性。然而,鲜有研究报道 GPs 对健康小鼠肠道菌群及免疫机能的影响。本研究首先评价 GPs 的消化特性,然后研究其对健康小鼠免疫功能及肠道菌群的影响,从而评价其免疫及益生活性。

1 材料与方法

1.1 动物、材料与试剂

6 周龄雄性 C57BL/6 小鼠[(20±1)g]、配套标准饲料及垫料均由济南朋悦实验动物繁育有限公司提供。大蒜购自泰安。低聚果糖(FOS)购自明治制果株式会社(日本);免疫球蛋白 A(IgA)、免疫球蛋白 M(IgM)、免疫球蛋白 G(IgG)、分泌型免疫球蛋白 A(SIgA)试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司;Fast DNA SPIN Kit 试剂盒,安倍医疗器械贸易(上海)有限公司;人工唾液、人工胃液、人工小肠液购买自上海源叶生物科技有限公司。

1.2 仪器与设备

ELEYA N-1100 旋转蒸发仪,东京理化器械株式会社;LC-20AT 高效液相色谱仪、气相色谱-质谱联用仪,日本岛津公司;流动分析仪,济南博纳生物科技有限公司;电热鼓风干燥箱 DHG-9030A,上海一恒科学仪器有限公司。

1.3 多糖的提取

根据蒋秋燕等^[13]所描述的方法,将新鲜大蒜匀浆后与去离子水按照质量比 1:6 的比例混合并在 80 °C 下提取 2.5 h,上清液浓缩后通过 Seville

收稿日期: 2022-08-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(31801559);山东省重点研发计划重大科技创新项目(2019JZZY020607);山东省泰山领军人才专项基金项目(tscy20200121)

第一作者: 赵人杰,男,硕士生

通信作者: 卢晓明 E-mail: xxalxm@126.com

法以及添加 10% 的 CaCl_2 以除去蛋白质与果胶。将 4 倍体积的无水乙醇加入浓缩液中以沉淀多糖。然后将多糖用水复溶并通过超滤(2 000 u)除去单糖和低聚糖后冷冻干燥得到 GPs。

1.4 GPs 的体外消化

GPs 的消化过程按照 Zhao 等^[14]所描述的方法进行。将 GPs(80 mg/mL)和模拟唾液(含唾液淀粉酶 200 U/mL)按照体积比 1:1 的比例加入到离心管中,在 37 °C 下孵育 1 h,随后将唾液消化液与模拟胃液($V_{\text{唾液消化液}}/V_{\text{模拟胃液}}=1:1$)混合,并立即将混合物的 pH 值调节至 2.0,在 37 °C 下消化 6 h。随后将唾液-胃消化液的 pH 值增加到 7.0,与人工小肠液按照体积比 10:3 进行混合并在 37 °C 下孵育 6 h。在唾液消化的 0,0.5 h 和 1 h 以及胃、肠消化的 0,1,2,4 h 和 6 h 从混合物中取样并煮沸 5 min 以灭活酶并进行进一步分析。

1.5 多糖分子质量测定

使用凝胶排阻色谱测定多糖组分的分子质量(Mw)。具体测定方法为:标准品及样品溶液均配制成 5 mg/mL;色谱柱采用 Shodex OHpak SB-803HQ、Shodex OHpak SB-802.5HQ 和 Shodex OHpak SB-802HQ(300 mm × 38 mm, 6 μm)串联;色谱流动相为 0.3 mol/L NaNO_3 ;流速为 0.3 mL/min;进样量为 20 μL;柱温为 30 °C。

1.6 动物实验

1.6.1 动物实验设计 将小鼠饲养在温度(22 °C)和湿度受控的房间中,严格控制 12 h 光照/黑夜,允许小鼠自由进食和进水。适应性喂养 1 周后,将小鼠随机分为 3 组(每组 $n=10$)。对照组与实验组通过灌胃法分别接受 FOS 和大蒜多糖(4 g/kg),空白组接受等体积的生理盐水。在 3 周的干预期内,每天记录小鼠的体质量、食物和水摄入量。在 21 d 后,分别收集每只小鼠的粪便并立即在液氮中冷冻,然后储存在 -80 °C 以供后续分析。在禁食 12 h 后,通过摘除眼球收集血液样品并在 3 000 r/min 下离心 15 min 以得到血清(-20 °C 储存),最后通过颈椎脱臼处死小鼠。

1.6.2 器官指数测定 将小鼠处死后收集各实验组小鼠的器官脾、肝、肾、心,并用滤纸吸收器官上的多余液体,称重记录数据,计算器官指数。

器官指数(%)=器官质量/小鼠体质量×100

1.6.3 血清中 IgA、IgM、IgG 及粪便中 SIgA 含量测定 将粪便与 PBS 缓冲液按照 1:9 进行匀浆,然后离心取上清液。采用 ELISA 试剂盒测定血清中 IgA、IgM、IgG 以及粪便上清液中的 SIgA 的含量。

1.6.4 粪便中短链脂肪酸(SCFAs)的测定 准确称量粪便(100 mg)并加入 200 μL H_2SO_4 (10%)酸化,然后加入 800 μL 乙酸乙酯混匀并剧烈振荡 10 min 进行 SCFAs 的萃取。离心后取上清液在配备有 VF-WAXms 柱(60 m × 0.25 mm × 0.25 μm)色谱柱的 GC-MS 系统(日本 Shimadzu)上进行分析。使用高纯度氦气作为载气。初始柱温为 100 °C,以 3.5 °C/min 的速度升至 140 °C,然后以 30 °C/min 的速度升至 200 °C 并保持 9 min。进样器和电子轰击离子源的温度分别为 250 °C 和 220 °C。

1.6.5 DNA 提取和 16S rRNA 测序 使用 Fast DNA SPIN Kit 试剂盒获得粪便内容物微生物基因组。细菌 16S rRNA 的 V3-V4 高变区用引物进行 PCR 扩增。基于 Illumina Miseq 测序平台利用双末端测序(Paired-End)的方法,构建小片段文库并进行双末端测序。使用 QIIME(version 1.8.0)软件用于序列分析,UCLUST 对高质量的序列进行去嵌合体处理,再对去重复序列以 97% 的一致性将序列聚类成为 OTUs。并通过数据库 Greengenes 或 Silva 然后对 OTUs 的代表序列进行物种注释。稀释曲线和香农曲线用于评价测序数据量是否足够。Alpha 多样性分析包括 Chao 1、ACE、Shannon 和 Simpson 指数。

2 结果与讨论

2.1 GPs 的体外消化特性

2.1.1 GPs 在口腔及胃肠道消化过程中的变化 提取的 GPs 总糖含量为(93.10±0.69)%,平均分子质量为 3 656,主要由果糖(79.23%)及葡萄糖(18.92%)组成,此外还含有少量的半乳糖与阿拉伯糖。

消化的初级阶段在口腔内进行,通过咀嚼作用以及唾液的分泌将食物转化为颗粒或者小分子物质^[15]。不同人的唾液虽然各成分的含量不同但成分相似,均由电解质、润滑剂、抗菌化合物和各种酶组成,其中唾液淀粉酶为最主要的酶^[16-17]。如

图1所示,在口腔消化过程中,GPs的保留时间和响应值无明显变化,说明唾液淀粉酶不会水解GPs,与之前的报道一致^[18],唾液淀粉酶可以水解淀粉和其它碳水化合物中的 α -(1 \rightarrow 4)键,而GPs是菊糖型多糖,因此在口腔中不会被水解。

在胃部消化阶段,每日膳食的排空通常需要大约4 h^[18]。如图1所示。在模拟胃部的消化过程

中出现的新峰(I)被证明是单糖峰,同时GPs的峰面积减少,说明GPs在胃液中会发生降解,这主要是因为酸性条件下多糖的糖苷键发生了断裂。在模拟肠液消化的过程中GPs的保留时间及响应值几乎无变化,说明GPs对小肠液具有很好的耐消化性,不会在肠液中被降解。这与已报道的南瓜多糖以及桑果多糖的体外消化结果相似^[18-19]。

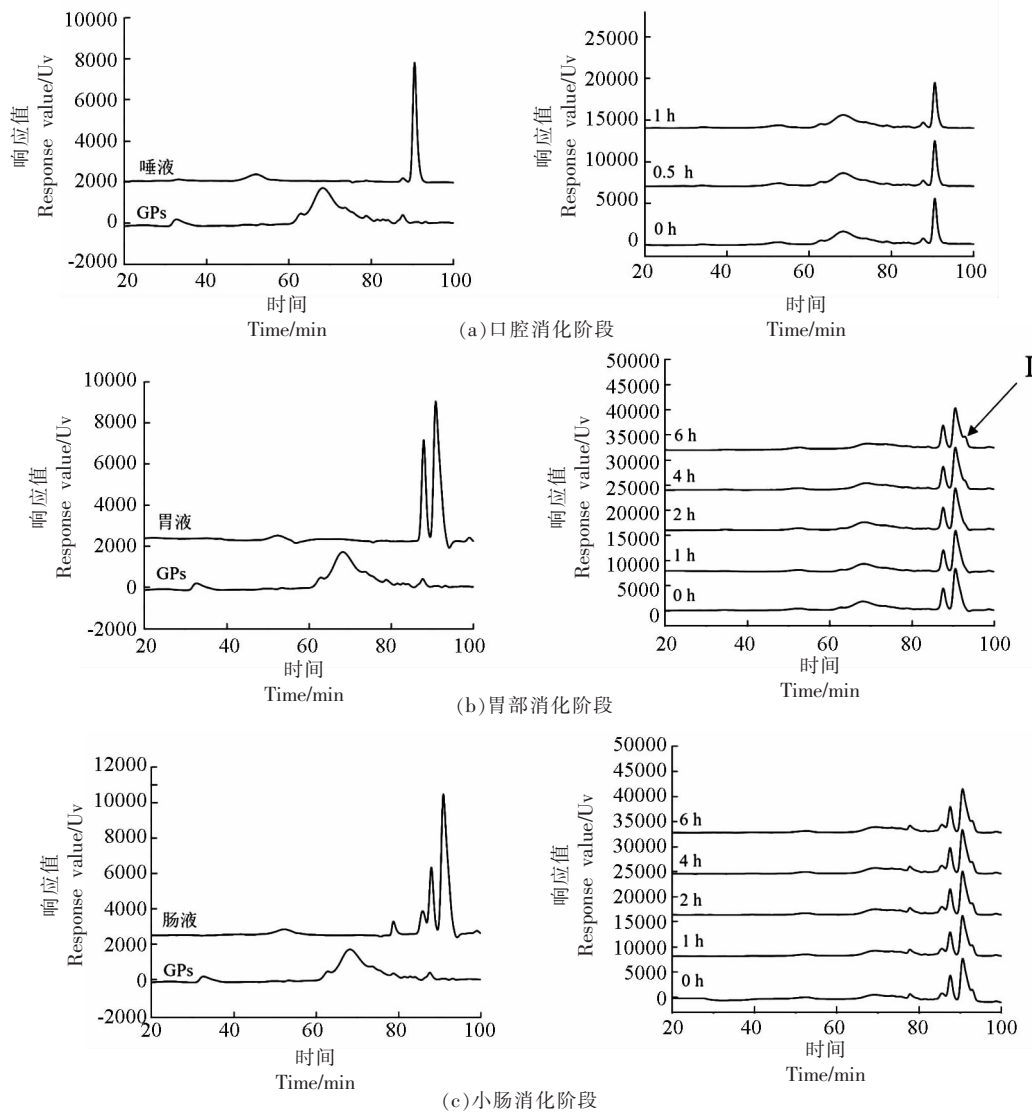


图1 GPs在体外消化过程中分子质量的变化

Fig.1 Changes in molecular weight of GPs during digestion *in vitro*

2.1.2 口腔、胃肠道消化过程对GPs水解度的影响 如表1所示,在唾液以及肠液消化阶段,还原糖含量及水解度并没有显著的变化($P > 0.05$)。在胃消化阶段水解程度显著增加($P < 0.05$),还原糖含量从(2.54 \pm 0.10)mg/mL(0 h)增加到(4.45 \pm 0.11)

mg/mL(6 h),水解度增加至5.64%。综合3个消化阶段的总水解度为(6.75 \pm 0.84)%,这表明GPs具有较好的抗消化特性,超过93%的GPs在经过口腔及胃肠道消化后不被水解而被肠道内微生物利用。

表 1 GPs 在消化过程中还原糖及水解度的变化

Table 1 Changes in reducing sugars and hydrolysis degree of GPs during digestion

| | 时间/h | 还原糖含量/ mg·mL ⁻¹ | 水解度/% | | 时间/h | 还原糖含量/ mg·mL ⁻¹ | 水解度/% |
|----|------|-------------------------------|--------------------------|-----|--------------------------|-------------------------------|--------------------------|
| 唾液 | 0.0 | 1.76 ± 0.07 ^a | 0.70 ± 0.09 ^a | 小肠液 | 0 | 4.99 ± 0.28 ^e | 5.62 ± 0.34 ^f |
| | 0.5 | 1.61 ± 0.06 ^a | 0.52 ± 0.07 ^a | | 1 | 4.90 ± 0.40 ^e | 5.75 ± 1.02 ^f |
| | 1.0 | 1.65 ± 0.06 ^a | 0.56 ± 0.08 ^a | | 2 | 5.02 ± 0.17 ^e | 6.05 ± 0.42 ^f |
| 胃液 | 0 | 2.54 ± 0.10 ^b | 0.85 ± 0.23 ^a | 4 | 5.06 ± 0.22 ^e | 6.17 ± 0.54 ^f | |
| | 1 | 2.83 ± 0.05 ^c | 1.58 ± 0.13 ^b | 6 | 5.30 ± 0.33 ^e | 6.75 ± 0.84 ^f | |
| | 2 | 3.25 ± 0.15 ^d | 2.62 ± 0.29 ^c | | | | |
| | 4 | 3.90 ± 0.07 ^e | 4.25 ± 0.16 ^d | | | | |
| | 6 | 4.45 ± 0.11 ^f | 5.64 ± 0.28 ^e | | | | |

注:同列之间不同字母表示差异显著($P<0.05$)。

2.2 GPs 对健康小鼠生长及器官指数的影响

如表 2 所示,经过 3 周的干预期,各组小鼠体质量、进食量、进水量无显著性差异($P>0.05$),这说明 FOS 和 GPs 的摄入并不会影响小鼠正常生长及进食、进水行为。在脏器指数方面,脾脏指数

显著升高($P<0.05$),而心、肾及肝脏指数没有显著变化。脾作为体内最大的次级淋巴器官,具有广泛的免疫功能^[20]。因此,它的增大可以反映免疫系统的强弱。FOS 以及 GPs 都可以通过促进脾脏的发育来增强免疫功能。

表 2 各组小鼠体质、摄食、饮水量及器官指数的变化

Table 2 Changes body weight and organ index of mice in each group

| | 体质量变化/ % | 每只小鼠 食物摄入量/ g·d ⁻¹ | 每只小鼠 水摄入量/ g·d ⁻¹ | 器官指数/% | | | |
|-----|--------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | | | | 心 | 肝 | 脾 | 肾 |
| 空白 | 6.10 ± 1.37 ^a | 2.67 ± 0.21 ^a | 4.15 ± 0.10 ^a | 0.51 ± 0.03 ^a | 3.91 ± 0.14 ^a | 0.24 ± 0.01 ^b | 1.22 ± 0.04 ^a |
| FOS | 5.79 ± 2.94 ^a | 2.51 ± 0.27 ^a | 4.05 ± 0.24 ^a | 0.51 ± 0.03 ^a | 3.89 ± 0.15 ^a | 0.28 ± 0.02 ^a | 1.24 ± 0.03 ^a |
| GPs | 6.11 ± 1.37 ^a | 2.48 ± 0.22 ^a | 4.18 ± 0.14 ^a | 0.52 ± 0.03 ^a | 3.91 ± 0.24 ^a | 0.29 ± 0.02 ^a | 1.26 ± 0.06 ^a |

注:同列之间不同字母表示差异显著($P<0.05$)。

2.3 GPs 对小鼠血清中免疫球蛋白(IgA、IgM 和 IgG)及粪便 SIgA 的影响

多糖的摄入对小鼠体液免疫的影响可以通过小鼠血清中 IgA、IgM 和 IgG 的水平来确定。如图 2 所示,与空白组相比,FOS 的摄入显著增加了血清中 IgG 的含量($P<0.05$),而 GPs 的作用效果更显著,其促进小鼠血清中的 IgA、IgM 和 IgG 含量分别增加了 34.56%,39.56%和 106.22%($P<0.05$)。因此,GPs 可以通过增加小鼠血清中 IgA、IgM 和 IgG 的含量来增强体液免疫。此外,SIgA 作为黏膜分泌物中的主要抗体类别,能够调节肠道微生物群组成以及防止对来自微生物和食物中抗原的不当免疫反应而参与维持肠道稳态^[21]。结果

表明,FOS 和 GPs 的摄入皆显著促进了结肠中 SIgA 的分泌($P<0.05$),提高了肠道免疫能力。

2.4 GPs 对小鼠粪便 SCFAs 的影响

益生元不仅能够改变结肠内微生物的组成,其发酵产物(如乳酸和 SCFAs)还可以降低 pH 值以抑制致病细菌的生长。如图 3 所示,乙酸、丙酸和丁酸是粪便中主要的 SCFAs,摄入 FOS 及 GPs 能显著增加小鼠粪便中乙酸、丙酸和总 SCFAs 的含量($P<0.05$)。乙酸能在结肠被进一步利用以产生丁酸或丙酸^[22],丙酸在结肠中被吸收并进一步影响肝脏和胆固醇代谢^[23]。丁酸可通过调节炎症途径发挥抗炎作用并增加整体肠道屏障的完整性^[24]。

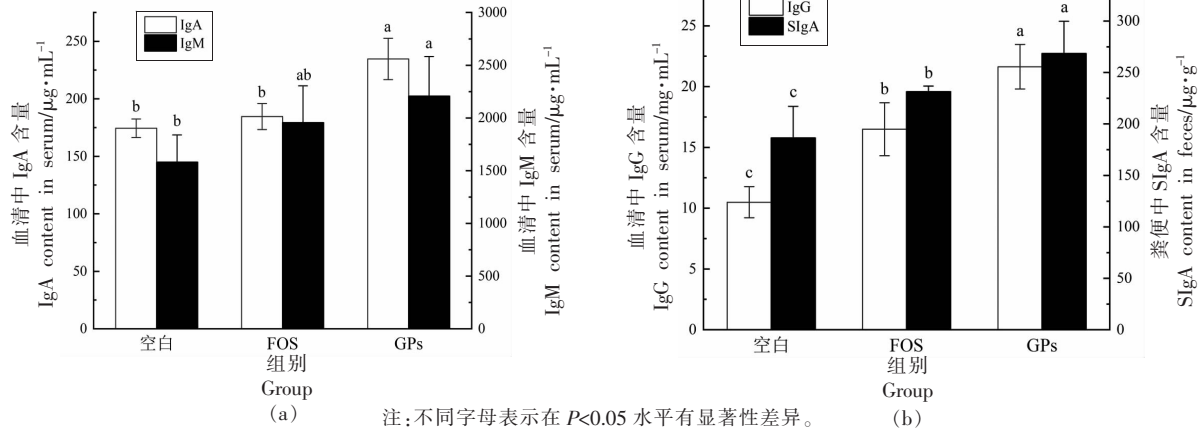
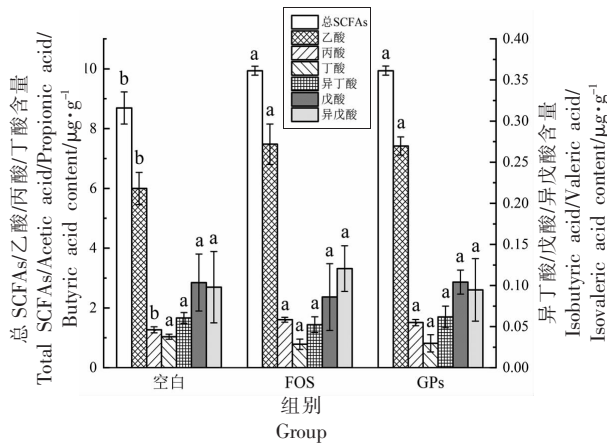


图2 各组小鼠血清中免疫球蛋白及粪便中 SIgA 的含量

Fig.2 The content of immunoglobulin in serum and SIgA in feces of each group of mice



注:不同字母表示在 $P < 0.05$ 水平有显著差异。

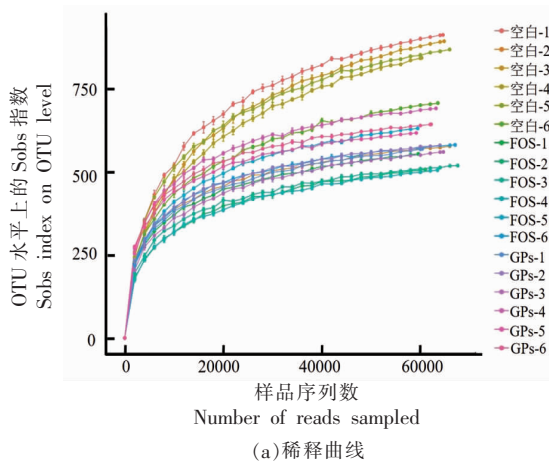
图3 小鼠粪便中的 SCFAs 含量

Fig.3 SCFAs content in mouse feces

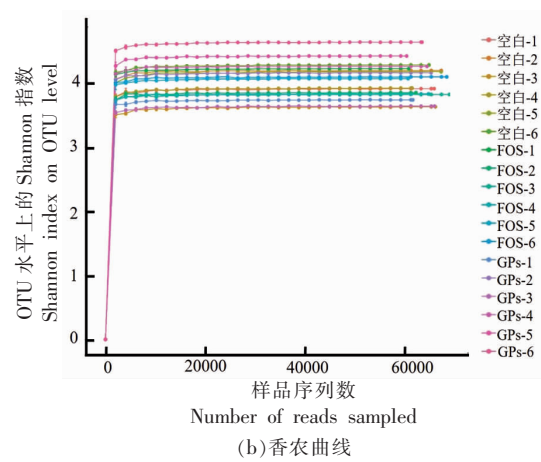
2.5 GPs 对小鼠肠道微生物的影响

从 18 个粪便样本中共获得 1 163 232 条清晰的序列,平均长度为 421 bp。根据这些数据,不重复的序列被汇总为 1 440 个 OTUs,序列相似度为 97%。各组的稀释曲线和香农指数曲线显示,随着采样读数的增加,曲线逐渐达到平衡(图 4a 和 4b),这说明测序深度足以描述小鼠肠道微生物群的特征。

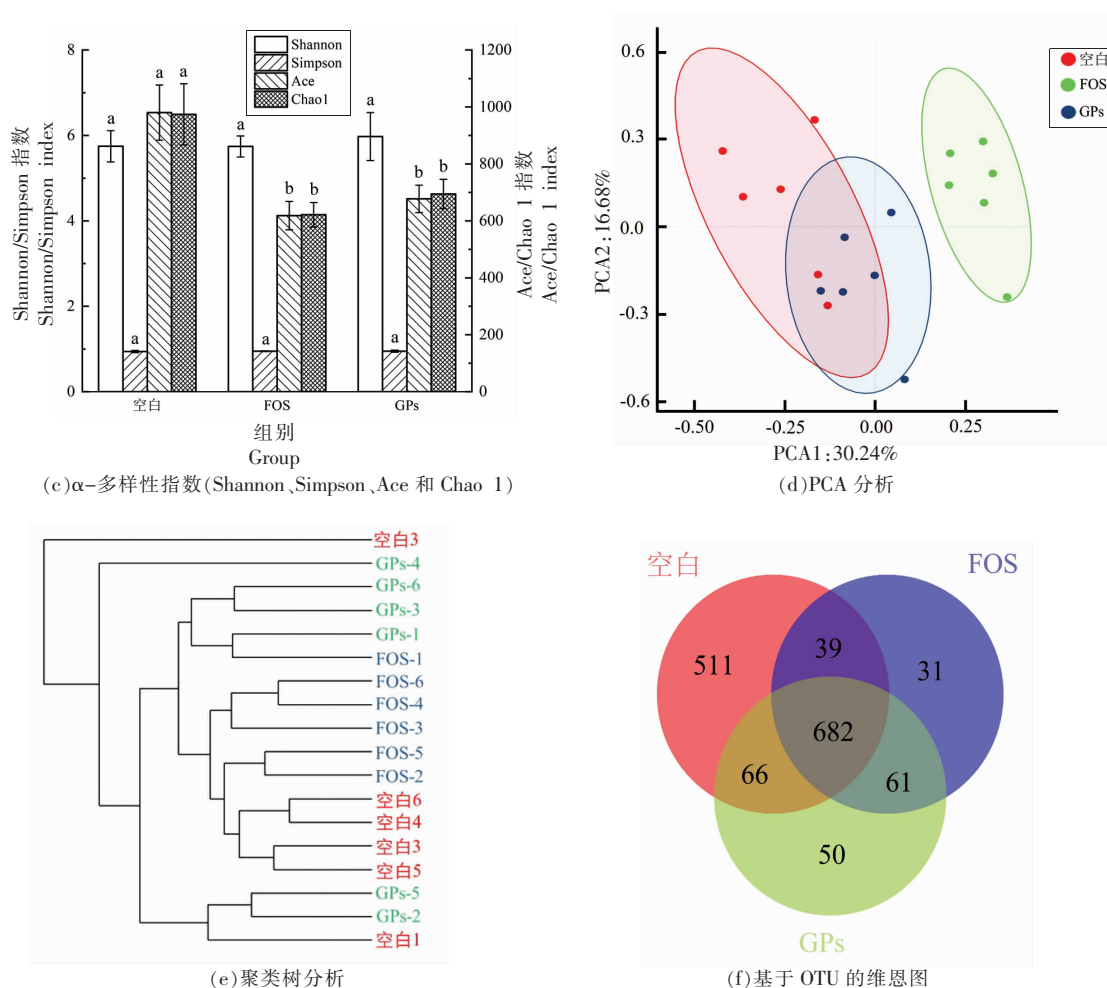
2.5.1 小鼠肠道微生物多样性 α -多样性指数中的 Shannon、Simpson、Ace 和 Chao 1 指数可以反映出样品中微生物群落的丰富性和多样性^[25]。图 4c 显示,与空白组相比,FOS 及 GPs 的摄入虽降低了小鼠的肠道微生物的丰度($P < 0.05$),但并未对多样



(a) 稀释曲线



(b) 香农曲线



注:不同字母表示在 $P < 0.05$ 水平有显著差异。

图 4 FOS 和 GPs 对小鼠肠道微生物菌群的影响

Fig.4 Effects of FOS and GPs on intestinal microflora of the mice

性造成影响。PCA 和系统发育树可用来评估不同组之间肠道微生物的差异。PCA 结果显示,空白组主要分布在左上象限,可以与实验组明显分开(图 4d)。聚类树(图 4e)显示了与 PCA 类似的结果。OTUs 的数量代表了样品的物种丰富度,并根据独特和共享的 OTUs 的数量生成了维恩图。如图 4f 所示,所有组别中 682 个 OTUs 是共有的,在空白组、FOS 及 GPs 处理组中分别发现 511,31 和 50 个独特的 OTUs。FOS 及 GPs 处理组中 OTUs 数量的减少表明肠道微生物群丰度下降,这与 Chao 1 指数与 Ace 指数的结果一致。

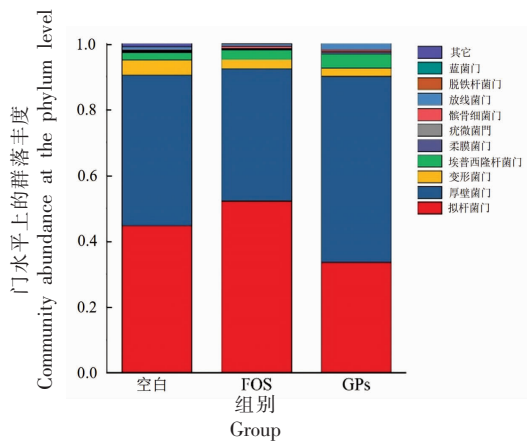
2.5.2 GPs 对健康小鼠肠道菌群在门、属水平上的影响 在门水平上,厚壁菌门、拟杆菌门和变形菌门是小鼠粪便中的主要菌群,超过总菌群的

90%(图 5a 和 5b)。此外,在 3 个实验组中的 5 个门之间存在着显著的差异($P < 0.05$)。厚壁菌门和拟杆菌门比率的增加可以提高肠道中 SCFA 的水平并降低感染风险^[26],GPs 的摄入显著增加了厚壁菌门以及脱铁杆菌门的丰度,同时降低了拟杆菌门及变形菌门的丰度。研究表明几乎所有的变形菌都是致病菌(如大肠杆菌和沙门氏菌),并且与糖尿病、炎症和癌症的发生有关^[27]。因此,变形菌门丰度的降低表明 GPs 具有抑制有害细菌增殖和降低这些疾病风险的潜力。

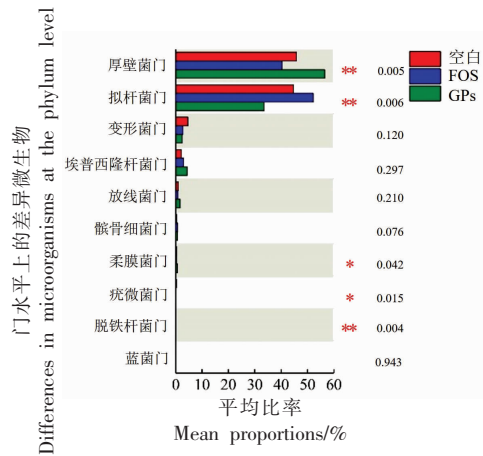
2.5.3 GPs 对健康小鼠肠道菌群在属水平上的影响 如图 5c 和 5d 所示,3 个实验组中 8 个属的丰度存在显著差异($P < 0.05$)。FOS 的摄入可以显著增加双歧杆菌属、普雷沃氏菌属 Ga6A1、候选单

胞生糖菌属以及考拉杆菌属的丰度 ($P < 0.05$, 图中未体现显著性差异)。GPs 的摄入显著增加了小鼠肠道中乳酸杆菌属、双歧杆菌属、毛螺旋菌属 NK4A136、普雷沃氏菌属 Ga6A1、木质真菌属以及考拉杆菌属的丰度 ($P < 0.05$, 图中未体现显著性差异)。双歧杆菌属与乳酸杆菌属作为公认的益生菌有益于人体健康^[28-29], 毛螺旋菌属在抗结肠炎方面发挥了重要作用^[30]。此外, 慢生根瘤菌属的丰度在

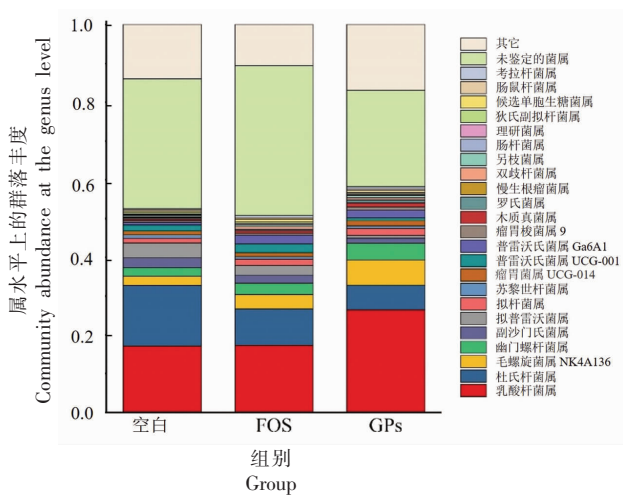
FOS 及 GPs 组中均显著降低, 仅在 GPs 处理组中观察到杜氏杆菌属和拟普雷沃菌属丰度的减少 ($P < 0.05$, 图中未体现显著性差异)。杜氏杆菌属的丰度与与肠道炎症呈正相关^[31]。GPs 摄入能够改变小鼠肠道中某些菌属的相对丰度, 对健康 C57BL/6J 小鼠肠道菌群结构有调节作用, 或许能在增强免疫功能及抗炎等方面发挥作用。



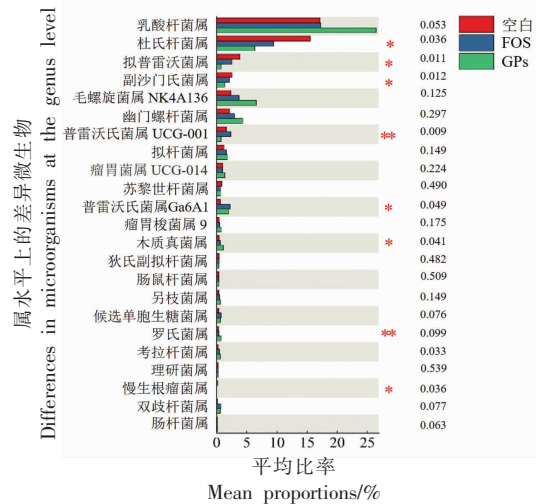
(a) FOS 和 GPs 在门水平上肠道微生物的组成



(b) FOS 和 GPs 在门水平上肠道微生物的差异



(c) FOS 和 GPs 在属水平上肠道微生物的组成



(d) FOS 和 GPs 在属水平上肠道微生物的差异

注: 通过 Kruskal-Wallis 检验进行 3 组间差异分析; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 5 FOS 和 GPs 在门及属水平对肠道微生物组成的影响

Fig.5 Effects of FOS and GPs on the intestinal microbial compositions at the level of phylum and genus

2.6 小鼠肠道菌群与 SCFAs、免疫球蛋白、SIgA 以及器官指数之间的相关性

图 6 显示了小鼠器官指数、血清中免疫球蛋白 (IgA、IgM、IgG)、SCFAs 以及粪便 SIgA 含量与

肠道微生物之间的关系。结果表明双歧杆菌属、考拉杆菌属、普雷沃氏菌 Ga6A1 以及候选单胞生糖菌属的丰度与短链脂肪酸(主要是乙酸或丙酸)的含量呈正相关关系。此外, 双歧杆菌属还能促进粪

便 SIgA 以及免疫球蛋白(IgG、IgM)含量的增加,并与脾脏指数呈正相关关系。同时,罗氏菌属、瘤

胃梭菌属 9 以及木质真菌属等菌群的丰度与血清免疫球蛋白(IgA 或 IgA)的含量呈正相关关系。

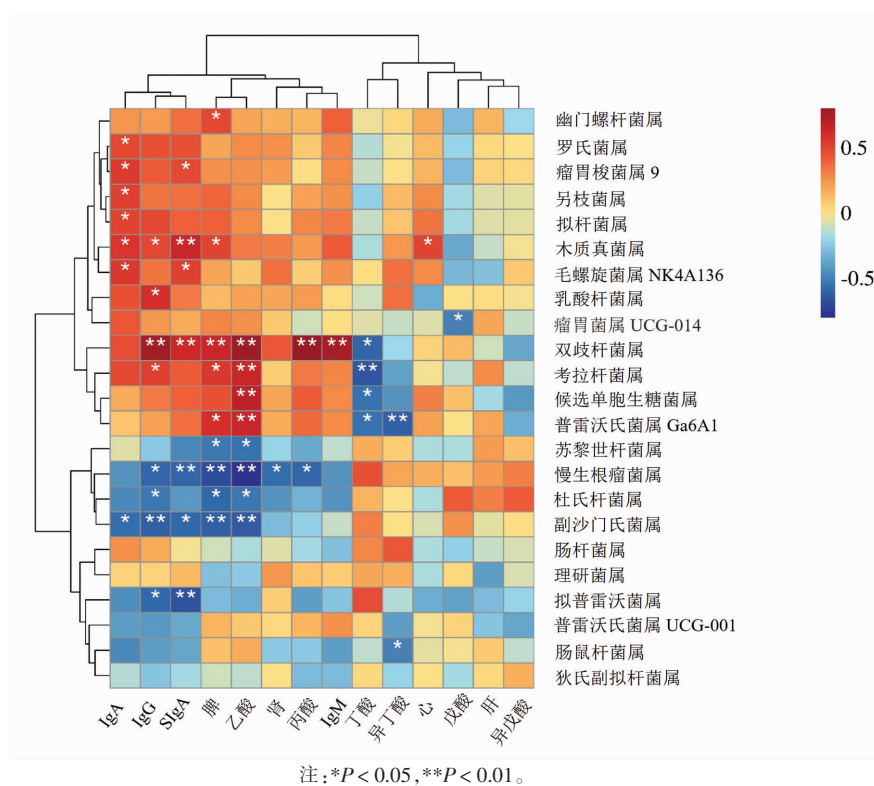


图 6 小鼠指标与肠道菌群之间相关性

Fig.6 Correlation between mouse indicators and gut microbiota

3 结论

GPs 在体外表现出良好的抗消化特性。同时,在体内可以显著增加健康小鼠的脾脏指数,促进血清中 IgA、IgM、IgG 以及粪便中 SIgA 含量的增加从而发挥免疫增强作用。16S rRNA 测序结果显示,GPs 可以促进双歧杆菌属、乳酸杆菌属和普雷沃氏菌属 Ga6A1 等有益菌丰度的增加,同时抑制杜氏杆菌属等有害菌的增长从而调节小鼠肠道菌群结构,并发酵产生更多的 SCFAs 改善小鼠的肠道环境,提示 GPs 可以作为益生元,在增强免疫功能方面发挥作用。

参 考 文 献

[1] BO R N, JI X, YANG H F, et al. The characterization of optimal selenized garlic polysaccharides and its immune and antioxidant activity in chickens[J]. International Journal of Biological Macromolecules,

2021, 182: 136-143.

[2] CHEN J, CHEONG K, SONG Z, et al. Structure and protective effect on UVB-induced keratinocyte damage of fructan from white garlic[J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 92(1): 200-205.

[3] YAN J K, WANG C, YU Y B, et al. Physicochemical characteristics and *in vitro* biological activities of polysaccharides derived from raw garlic (*Allium sativum* L.) bulbs via three-phase partitioning combined with gradient ethanol precipitation method [J]. Food Chemistry, 2021, 339: 128081.

[4] CHENG H, HUANG G L. Extraction, characterisation and antioxidant activity of *Allium sativum* polysaccharide [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 114: 415-419.

[5] SHAO X, SUN C Z, TANG X, et al. Anti-inflammatory and intestinal microbiota modulation properties of Jinxiang garlic (*Allium sativum* L.) polysaccharides toward dextran sodium sulfate-induced coli-

- tis[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(44): 12295–12309.
- [6] THAISS C A, ZMORA N, LEVY M, et al. The microbiome and innate immunity[J]. Nature, 2016, 535(7610): 65–74.
- [7] DING G Q, GONG Q Y, MA J Y, et al. Immunosuppressive activity is attenuated by *Astragalus* polysaccharides through remodeling the gut microenvironment in melanoma mice [J]. Cancer Science, 2021, 112(10): 4050.
- [8] VIJAY-KUMAR M, AITKEN J, CARVALHO F, et al. Metabolic syndrome and altered gut microbiota in mice lacking toll-like receptor 5[J]. Science, 2010, 328(5975): 228–231.
- [9] GUO C L, WANG Y Q, ZHANG S H, et al. *Crataegus pinnatifida* polysaccharide alleviates colitis via modulation of gut microbiota and SCFAs metabolism[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 181: 357–368.
- [10] YOSHIDA N, YAMASHITA T, HIRATA K I. Gut microbiome and cardiovascular diseases[J]. Diseases, 2018, 6(3): 56.
- [11] PENG M, LEE S H, RAHAMAN S O, et al. Dietary probiotic and metabolites improve intestinal homeostasis and prevent colorectal cancer[J]. Food & Function, 2020, 11(12): 10724–10735.
- [12] GIBSON G R, ROBERFROID M B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics[J]. The Journal of Nutrition, 1995, 125(6): 1401–1412.
- [13] 蒋秋燕, 张振华, 乔旭光. 大蒜中性多糖的分离纯化(II)[J]. 中国食品学报, 2006, 6(2): 54–58.
- JIANG Q Y, ZHANG Z H, QIAO X G. Separation and purification of garlic neutral polysaccharide (II) [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2006, 6(2): 54–58.
- [14] ZHAO L Y, QIN Y J, GUAN R W, et al. Digestibility of fucosylated glycosaminoglycan from sea cucumber and its effects on digestive enzymes under simulated salivary and gastrointestinal conditions [J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 186: 217–225.
- [15] HONG J H, DUNCAN S E, O'KEEFE S F, et al. Ultrafiltration as a tool to study binding of copper to salivary proteins[J]. Food Chemistry, 2009, 113(1): 180–184.
- [16] RAMASUBBU N, PALOTH V, LUO Y G, et al. Structure of human salivary α -amylase at 1.6 Å resolution: Implications for its role in the oral cavity [J]. Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography, 1996, 52(3): 435–446.
- [17] CARVALHO E, MATEUS N, PLET B, et al. Influence of wine pectic polysaccharides on the interactions between condensed tannins and salivary proteins[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(23): 8936–8944.
- [18] LIANG L, LIU G M, ZHANG F M, et al. Digestibility of squash polysaccharide under simulated salivary, gastric and intestinal conditions and its impact on short-chain fatty acid production in type-2 diabetic rats [J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 235: 115904.
- [19] CHEN C, ZHANG B, FU X, et al. The digestibility of mulberry fruit polysaccharides and its impact on lipolysis under simulated saliva, gastric and intestinal conditions[J]. Food Hydrocolloids, 2016, 58: 171–178.
- [20] MEBIUS R E, KRAAL G. Structure and function of the spleen[J]. Nature Reviews Immunology, 2005, 5(8): 606–616.
- [21] PIETRZAK B, TOMELA K, OLEJNIK-SCHMIDT A, et al. Secretory IgA in intestinal mucosal secretions as an adaptive barrier against microbial cells [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(23): 9254.
- [22] SHI Y Q, LIU J, YAN Q J, et al. *In vitro* digestibility and prebiotic potential of curdlan (1→3)- β -D-glucan oligosaccharides in *Lactobacillus* species [J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 188: 17–26.
- [23] VENTER C S, VORSTER H H, CUMMINGS J H. Effects of dietary propionate on carbohydrate and lipid metabolism in healthy volunteers[J]. American Journal of Gastroenterology (Springer Nature), 1990, 85(5): 549–553.
- [24] CANANI R B, COSTANZO M, LEONE L, et al. Potential beneficial effects of butyrate in intestinal and extraintestinal diseases[J]. World Journal of Gastroenterology: WJG, 2011, 17(12): 1519.
- [25] MA H R, ZHAO Y, LI L Q, et al. Effects of combinations of goat milk and oligosaccharides on altering the microbiota, immune responses, and short chain fatty acid levels in the small intestines of mice[J]. Journal of Agricultural and Food Chem-

- istry, 2021, 69(31): 8828–8837.
- [26] MOLIST F, MANZANILLA E G, PÉREZ J, et al. Coarse, but not finely ground, dietary fibre increases intestinal Firmicutes : Bacteroidetes ratio and reduces diarrhoea induced by experimental infection in piglets[J]. *British Journal of Nutrition*, 2012, 108(1): 9–15.
- [27] SHIN N R, WHON T W, BAE J W. Proteobacteria: Microbial signature of dysbiosis in gut microbiota[J]. *Trends in Biotechnology*, 2015, 33(9): 496–503.
- [28] HOU Z Q, HU X X, LUAN L Q, et al. Prebiotic potential of RG–I pectic polysaccharides from *Citrus subcompressa* by novel extraction methods[J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 124: 107213.
- [29] CHEN P, CHEN X Q, HAO L L, et al. The bioavailability of soybean polysaccharides and their metabolites on gut microbiota in the simulator of the human intestinal microbial ecosystem (SHIME)[J]. *Food Chemistry*, 2021, 362: 130233.
- [30] HU S W, WANG J H, XU Y L, et al. Anti–inflammation effects of fucosylated chondroitin sulphate from *Acaudina molpadioides* by altering gut microbiota in obese mice[J]. *Food & Function*, 2019, 10(3): 1736–1746.
- [31] LI Y Y, YAN H M, ZHANG Y W, et al. Alterations of the gut microbiome composition and lipid metabolic profile in radiation enteritis[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2020, 10: 642.

Effects of Garlic Polysaccharide on Intestinal Flora and Immune Function of Healthy Mice

Zhao Renjie, Bai Xinyan, Xiang Lu, Lu Xiaoming*, Qiao Xuguang

(College of Food Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Key Laboratory of Food Nutrition and Healthy in Shandong Province, Taian 271018, Shandong)

Abstract The digestive properties of garlic polysaccharides were evaluated by simulating digestion *in vitro* and their effects on the immune function and intestinal flora of healthy mice were investigated. The results showed that garlic polysaccharides exhibited good anti–digestive properties, and approximately 93% of garlic polysaccharides could not hydrolyzed after oral and gastrointestinal digestion and were utilized by microorganisms. The results of animal experiments showed that garlic polysaccharides could promote the growth and development of mouse spleen, and significantly promote the levels of IgA (34.56%), IgM (39.56%) and IgG (106.22%) in serum as well as SIgA (61.54%) in feces. It also improved the intestinal environment of mice, including promoting the proliferation of beneficial bacteria (such as *Bifidobacterium* and *Lactobacillus*), inhibiting the growth of harmful bacteria, and increasing the levels of acetic acid and propionic acid. This result demonstrated that garlic polysaccharides could act as prebiotics and enhance the immune function of the body.

Keywords garlic polysaccharides; *in vitro* simulated digestion; immune activity; prebiotic activity