

燕麦麸皮体外调节肥胖人群肠道微生物及抗氧化性

张亚琨, 张美莉*, 谢念念, 白雪

(内蒙古农业大学食品科学与工程学院 呼和浩特 010018)

摘要 燕麦麸皮是燕麦加工过程中的副产品,含有丰富的膳食纤维、多酚等植物化学物质。通过模拟体外消化、发酵过程,评估不同剂量(1%,3%和5%)燕麦麸皮对肥胖人群粪便微生物群组成和短链脂肪酸、抗氧化的影响,结果表明:燕麦麸皮消化后,其抗氧化性显著提高($P<0.05$)。微生物测定结果表明:在门水平上的主要优势菌为变形杆菌(29.01%~46.55%)、放线菌(7.82%~16.18%)、厚壁菌(44.63%~51.98%)及拟杆菌(0.05%~2.58%)。与对照组相比,添加燕麦麸皮后微生物 α -多样性降低,厚壁菌和放线菌数量降低,说明燕麦麸皮具有抑菌作用。燕麦麸皮发酵后主要的短链脂肪酸为乙酸、丙酸和丁酸。总短链脂肪酸含量在 FOB5 组中含量为 161.21 $\mu\text{g/mL}$,显著低于其它各组($P<0.05$)。结论:燕麦麸皮具有很好的抗氧化性,能够体外调节肠道微生物的丰度,降低短链脂肪酸含量,且呈剂量依赖性。本研究结果为燕麦麸皮减肥降脂机制提供了试验依据。

关键词 燕麦麸皮; 肥胖; 体外消化、发酵; 抗氧化性; 短链脂肪酸; 肠道微生物

文章编号 1009-7848(2023)05-0059-10 **DOI**: 10.16429/j.1009-7848.2023.05.007

肥胖为多基因调控、受多因素影响的慢性代谢性疾病,其病因尚未完全阐明^[1-2]。越来越多的研究表明,肠道微生物群的失调在肥胖的发展中起关键作用^[3]。由微生物利用膳食纤维发酵产生的短链脂肪酸(Short-chain fatty acids, SCFA)被认为是微生物群诱导影响宿主代谢的关键介质^[4]。

燕麦为一种传统的谷类食品,可调节人体肠道微生物群,并具有益生元特性^[5]。燕麦麸皮是燕麦加工后的主要副产物,其营养价值高,含有丰富的膳食纤维,然而,目前大量燕麦麸皮被作为饲料使用,利用率及经济效益低。众所周知,燕麦麸皮中的主要益生元是 β -葡聚糖,它是一种已知的能降低血糖、血脂和促进肠道健康功能的活性成分^[6-7]。此外,燕麦麸皮中还富含酚酸类物质,具有抗氧化、抗炎作用。有研究表明酚酸类物质是潜在的益生元,可以优化肠道微生物的组成和结构,从而对健康产生积极影响^[8-9]。影响这些营养物质发挥作用的因素之一就是机体的消化过程。模拟体外消化可反映食物摄入后的消化利用情况,具有耗时短、成本低、可重复性强且不受道德伦理约束等优点^[10-11],已经成为一种研究食物在人体中如何变化

的重要手段。目前燕麦麸皮体外消化、发酵的过程中抗氧化性的变化以及对肠道微生物的影响鲜有研究报道。

本试验以燕麦麸皮为原料,模拟胃肠道环境进行体外消化,测定不同剂量燕麦麸皮的抗氧化性,并采集肥胖人群的粪便进行体外发酵试验。分别采用 16S rRNA 高通量测序技术和气-质谱联用仪分析燕麦麸皮对肠道微生物组成和短链脂肪酸的影响,以期对燕麦麸皮改善肥胖提供理论依据,为燕麦麸皮的开发利用提供参考。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

燕麦麸皮,内蒙古西贝汇通农业科技有限公司。

6个肥胖供体的粪便样本(3个月内没有服用抗生素,体重指数在“超重范围”内,采样前1周未服用过益生菌、益生元,无胃肠疾病,采样过程尽量保持无菌)。

α -淀粉酶、胃蛋白酶、牛血清白蛋白、脂肪酶、胰蛋白酶、猪胆盐、乙酸、丙酸、丁酸、异丁酸等标准品,美国 Sigma 公司;Tirs-HCl、L-半胱氨酸、吐温 80、树脂天青,上海麦克林试剂公司;胰蛋白酶、酵母、葡萄糖、麦芽糖、1- α 苯基-2-三硝基苯肼(1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)、乙醇、

收稿日期: 2022-05-12

基金项目: 国家自然科学基金项目(32060515)

第一作者: 张亚琨,女,博士生

通信作者: 张美莉 E-mail: zhangmeili22@sina.com

水杨酸、 $MgSO_4$ 、 $FeCl_3$ 、 H_2O_2 等试剂均为分析纯级, 国药集团化学试剂有限公司; E.Z.N.A.® Soil DNA 抽提试剂盒, 美国 Omega Bio-Tek 公司; NEXTflex™ Rapid DNA-Seq 试剂盒, 美国 Bio Scientific 公司; 总抗氧化性试剂盒, 南京建成生物工程研究所。

1.2 仪器与设备

8890B-5977B GC/MSD 气-质谱联用仪, 安捷伦公司; UV2300 II 系列双光束紫外-可见分光光度计, 上海天美科学仪器有限公司; SIGMA 3-18K 冷冻离心机, 深圳市凯铭杰仪器有限公司; 冷冻干燥机, 北京四环科学仪器厂有限公司; 恒温振荡培养箱, 上海高致精密仪器有限公司; 超微粉碎机, 济南普莱申机械设备有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 样品制备 用微波炉(800 W)将燕麦麸皮(200 g)加热 2 min 后, 超微粉碎处理 5 min, 装袋密封, 置-20 °C 冰箱中贮存, 备用。

1.3.2 体外模拟口腔、胃、肠消化 参照 Kristek 等^[12]的方法并适当修改。准确称取 30 g 燕麦麸皮样品, 加入 150 mL 蒸馏水搅拌均匀, 依次加入 250 mg α -淀粉酶, 6.25 mL 1 mmol/L NaCl 溶液, 混合均匀, 在 37 °C 搅拌消化 20 min, 然后, 调节 pH 值至 2.0, 将 2.7 g 胃蛋白酶、1 g 牛血清蛋白和 6 mL 1 mmol/L $CaCl_2$ 溶液溶于 30 mL 0.1 mol/L HCl 中混合均匀, 加到上一步的混合物中, 于 37 °C 摇床消化 2 h, 得到胃消化悬浊液, 做下一步肠消化试验。调节 pH 值至 7.0, 然后加入含有 0.75 g 胆酸盐、胰酶脂肪酶、1 g 牛血清蛋白、6 mL $CaCl_2$ (1 mmol/L)、100 mL $NaHCO_3$, 于 37 °C 摇床消化 3 h, 将消化所得残渣进行冷冻干燥, 收集样品后保存于-80 °C 冰箱, 用于抗氧化性的测定和结肠发酵, 其中未消化燕麦麸皮(Undigested oat bran), 记为 UOB; 已消化燕麦麸皮(Digested oat bran), 记为 DOB。

1.3.3 体外抗氧化性测定

1.3.3.1 燕麦麸皮水提取物的制备 参考 Ozkaya 等^[13]的方法并稍加改进。分别称取 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6 g 燕麦麸皮于 50 mL 离心管中, 加入 20 mL 蒸馏水, 配制成质量分数为 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6% 的燕麦麸浆, 将离心管置磁力搅拌器

上, 连续搅拌 40 min, 样品 6 000 r/min 离心 5 min, 收集上清液, 用于抗氧化特性的测定。

1.3.3.2 总抗氧化性(T-AOC)的测定 采用南京建成试剂盒测定 T-AOC。

1.3.3.3 DPPH·清除率的测定 DPPH·清除率的测定参考 Tohma 等^[14]的方法。

$$DPPH \text{ 自由基清除率 } (\%) = [1 - (A_1 - A_2) / A_0] \times 100 \quad (1)$$

式中, A_0 ——以蒸馏水代替样品的空白吸光度; A_1 ——样品吸光度; A_2 ——以无水乙醇代替 DPPH 溶液的吸光度。

1.3.3.4 ·OH 清除率的测定^[15] 将 6.0 mmol/L 硫酸亚铁溶液和 6.0 mmol/L 水杨酸-乙醇溶液各 2 mL 混合均匀, 加入 1.5 mL 上清液, 混合后加入 1 mL 8.8 mmol/L 双氧水, 静置 10 min, 6 000 r/min 离心 5 min, 取上清液在 510 nm 处测定吸光度值。

$$\cdot OH \text{ 清除率 } (\%) = \frac{A_0 - (A_1 - A_{10})}{A_0} \times 100 \quad (2)$$

式中 A_0 ——以蒸馏水代替样品的空白吸光度; A_1 ——样品吸光度; A_{10} ——以蒸馏水代替双氧水的吸光度。

1.3.3.5 ABTS⁺清除率的测定^[16] 将 100 mL 7 mmol/L ABTS 与 100 mL 2.45 mmol/L 过硫酸钾混合均匀, 在黑暗条件下室温孵育 14 h, 制成 ABTS 储备液。使用前用 PBS 缓冲液(0.05 mol/L, pH 7.4) 稀释, 直到 734 nm 处的吸光度值为 0.70±0.02, 制备 ABTS 工作液。将 2.85 mL 工作液与 150 μ L 样品混合摇匀, 在黑暗条件下室温静置 10 min, 6 000 r/min 离心 5 min, 取上清液在 734 nm 处测定吸光度值, 用蒸馏水调零, 同时测定以蒸馏水代替样品的对照组。

$$ABTS^+ \text{ 清除率 } (\%) = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100 \quad (3)$$

式中: A_0 ——对照组的吸光度; A_1 ——样品的吸光度。

1.3.4 体外模拟结肠发酵 体外结肠发酵试验参照邹青飞等^[17]的方法并稍作修改。将 6 个肥胖人群的粪便样品各取 10 g 混合均匀, 用 100 mmol/L、pH 7.0 的磷酸盐缓冲溶液(灭菌)按照 1:3 的比例稀释并过滤, 以过滤的浑浊液作为粪便接种物。在无菌管中加入 2 mL 粪便接种液和 8 mL 结肠发酵

培养基(灭菌),之后按照 0%,1%,3%,5%的比例加入燕麦麸皮消化残渣,记为 FOB0(对照组)、FOB1、FOB3、FOB5。将试管置于厌氧密闭袋中厌氧培养 24 h(37 ℃,160 r/min),6 000 r/min 离心 10 min。收集离心后的残渣,储存于-80 ℃冰箱,用于分析短链脂肪酸和微生物多样性。

1.3.5 粪便微生物 DNA 测序 根据 E.Z.N.A.[®] soil DNA 试剂盒说明书抽提微生物群落总 DNA。

使用 1%的琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的提取质量,采用 NanoDrop2000 测定 DNA 浓度和纯度。采用 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTC-TAAT-3') 对 16S rRNA 基因 V3~V4 可变区进行 PCR 扩增,使用 NEXTflexTM Rapid DNA-Seq 试剂盒建库,利用 Illumina 公司的 Miseq PE300/NovaSeq PE250 平台测序。使用 Fastp 软件对原始测序序列进行质控;使用 FLASH 软件进行拼接;根据 97%的相似度,使用 UPARSE 软件对序列进行 OTU 聚类并剔除嵌合体;利用 RDP classifier 比对 Silva 16S rRNA 数据库对每条序列进行物种分类注释,并用 R 语言工具统计和作图,获得图表结果。

1.3.6 短链脂肪酸的测定 取 100 mg 发酵残渣于 2 mL 研磨管中,加入 1 颗研磨珠,加入 900 μL 甲醇和 100 μL 内标(1 mg/mL 2-乙基丁酸,甲醇配制),于冷冻研磨仪 50 Hz 研磨 3 min,共 2 次。冰水浴超声 30 min,-20 ℃静置 30 min,13 000 r/min 离心 15 min (4 ℃)。将上清转移到 1.5 mL 离心管中,加入 50 mg 无水硫酸钠,涡旋,13 000 r/min 离心 15 min(4 ℃),取 1 μL 上清溶液上机分

析。采用气-质谱联用仪,HP-FAP 毛细管柱,分流进样,分流比 10:1,进样口温度 260 ℃,溶剂延迟 3 min。柱温箱初始温度 80 ℃,以 40 ℃/min 程序升温至 120 ℃,10 ℃/min 升温至 230 ℃后保持 6 min。以高纯氦气(纯度不小于 99.999%)为载气,流速 1.0 mL/min。

1.4 数据处理

所有数据均为 3 次独立重复试验的平均值,结果以平均值±标准偏差表示。采用 Excel、Origin 进行数据计算和作图,采用 SPSS 软件进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 体外模拟胃肠道消化对燕麦麸皮抗氧化性的影响

表 1 为不同剂量燕麦麸皮对抗氧化性的影响。与 UOB 相比,DOB 的抗氧化性显著提高($P < 0.05$)。以 3%含量的 DOB 为例,与 UOB 相比,DPPH·自由基清除率提高了 77.68%,ABTS⁺自由基清除率提高了 60.43%,·OH 自由基清除率提高了 75.32%,总抗氧化性提高了 172.51%。这可能是因为多酚能够与食物中蛋白质、碳水化合物等大分子通过共价键和非共价键相结合^[18],在胃肠消化过程中,酸碱环境和各种消化酶的作用有利于多酚从食物基质中释放出来,使总酚和类黄酮含量提高,进而使燕麦麸皮消化后抗氧化活性得到提高^[19]。此外,随着质量分数的增加,DOB 抗氧化性也逐渐升高。其中 1% DOB 的 ABTS⁺自由基清除率和·OH 自由基清除率在 50%以上,5% DOB 的 DPPH·自由基清除率在 50%以上。由此得

表 1 不同剂量燕麦麸皮对抗氧化性的影响

Table 1 Effect of antioxidant activity of oat bran with different contents

质量分数/%		T-AOC/U·g ⁻¹ 麸皮	DPPH·清除率/%	ABTS ⁺ 清除率/%	·OH 清除率/%
DOB	1	152.72 ± 1.15 ^f	22.53 ± 0.79 ^f	65.40 ± 0.26 ^f	62.34 ± 3.89 ^e
	2	168.23 ± 5.77 ^e	28.42 ± 1.01 ^e	70.87 ± 1.49 ^e	89.95 ± 2.18 ^b
	3	183.21 ± 1.15 ^d	37.90 ± 0.23 ^d	73.54 ± 0.18 ^d	93.36 ± 0.16 ^{ab}
	4	210.50 ± 2.60 ^c	46.42 ± 0.56 ^c	77.70 ± 0.26 ^c	94.50 ± 1.24 ^{ab}
	5	222.95 ± 1.62 ^b	56.21 ± 0.23 ^b	82.55 ± 1.67 ^b	97.36 ± 0.31 ^a
	6	232.61 ± 1.73 ^a	68.15 ± 1.13 ^a	88.63 ± 0.61 ^a	97.62 ± 0.26 ^a
UOB	3	67.23 ± 1.84 ^e	21.33 ± 0.45 ^f	45.84 ± 8.36 ^e	53.25 ± 3.45 ^d

注:表中同列不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

出,燕麦麸皮经胃肠消化后,其抗氧化能力明显上升,且随浓度的升高而显著升高($P<0.05$)。有研究发现糙米经体外消化后,更多的多酚类物质被释放出来,且具有更好的抗氧化性,尤其是在胃和小肠阶段更为显著^[1]。复合果蔬汁体外消化后,其各项抗氧化指标均得到很大的提升^[20]。

2.2 燕麦麸皮对肥胖人群肠道微生物组成和结构的影响

2.2.1 肠道微生物 α -多样性分析

微生物多样性分析中有 3 个空间尺度, α -多样性, β -多样性, γ -多样性^[21]。图 1 为不同剂量燕麦麸皮对肥胖人群肠道微生物 α -多样性的影响。每个样品组平均含有 45 283 条序列,其中最多为 52 237 条,最少为 39 600 条。

Chao 指数代表微生物群落的丰富度,从表 2 可知,FOB0、1、3、5 组在 OTU 水平下 Chao 指数分别为 337.43,297.99,231.50,219.26,各组间存在

显著差异性($P<0.05$)。此外,与对照组相比,随着燕麦麸皮剂量的增加,肠道微生物的 Sobs 指数、Ace 指数、Chao 指数呈显著下降趋势($P<0.05$)。Shannon 指数与 Simpson 指数常用于反映微生物 α -多样性。Shannon 值越大,微生物群落多样性越高;Simpson 指数代表的含义则正好相反^[21]。由表 1 可知,与对照组相比,麸皮组的 Shannon 指数显著降低($P<0.05$),Simpson 指数显著增高($P<0.05$),说明添加燕麦麸皮可能使微生物多样性降低。这可能是因为体外消化后燕麦麸皮释放出更多的多酚类抗氧化物质,这些物质抑制微生物的多样性。Huang 等^[22]采用体外发酵法比较儿茶素、槲皮素和葛根素对肠道微生物的调节作用,发现三者均可以降低肠道微生物多样性,其中儿茶素最为明显。不同剂量的燕麦麸皮对肥胖人群微生物的多样性影响较为明显。因此燕麦麸皮对肥胖人群肠道微生物组成具有一定的调节作用。

表 2 不同剂量燕麦麸皮对肥胖人群肠道微生物 α -多样性的影响

Table 2 Effects of different doses of oat bran on intestinal microbial α -diversity in obese people

样品分组	Sobs 指数	Shannon 指数	Simpson 指数	Ace 指数	Chao 指数
FOB0	292.00 ± 5.03 ^a	3.20 ± 0.01 ^a	0.11 ± 0.00 ^b	333.83 ± 12.84 ^a	337.43 ± 8.35 ^a
FOB1	238.25 ± 5.85 ^b	2.54 ± 0.07 ^b	0.20 ± 0.01 ^b	290.77 ± 12.52 ^b	297.99 ± 11.91 ^b
FOB3	192.25 ± 8.96 ^c	2.23 ± 0.11 ^c	0.25 ± 0.04 ^a	230.99 ± 12.42 ^c	231.50 ± 12.09 ^c
FOB5	178.75 ± 8.62 ^d	2.06 ± 0.12 ^d	0.28 ± 0.04 ^a	217.35 ± 12.03 ^c	219.26 ± 12.83 ^c

注:表中同列不同字母表示差异显著($P<0.05$)。

2.2.2 肠道微生物 β -多样性分析

β -多样性指样本间多样性,其值大小反映每个组内各个样本间的群落物种组成差异^[23]。图 1 是燕麦麸皮对肠道微生物 β -多样性的影响。通过 Weighted unifrac 距离的非度量多维标度分析法(Non-metric multidimensional scaling, NMDS) 分析不同剂量燕麦麸皮干预肠道微生物的群落组成,通过胁强系数(Stress)判断模型的优劣,通常 stress <0.1 表示模型可以被接受,数值越接近 0,模型效果越好^[24]。该 NMDS 分析的 Stress 为 0.023(<0.05),表明该分组具有很好的代表性。添加燕麦麸皮的肠道微生物群落的组成相似,而与未添加组(FOB0)相比,群落组成存在显著性差异。随着燕麦麸皮剂量的增加,麸皮组渐渐远离对照组,差异变大,其中 FOB5 组更远离对照组,说明燕麦麸皮对肠道菌群具有显著的调节作用。

2.2.3 肠道微生物群落结构分析

门水平下肥胖人群肠道微生物群落结构分析见图 2,结果表明燕麦麸皮经体外发酵后主要存在 4 种优势菌门,分别为厚壁菌门(Firmicutes)、变形杆菌门(Proteobacteriota)、放线菌门(Actinobacteria)以及拟杆菌门(Bacteroidetes)。随着燕麦麸皮剂量的增加,厚壁菌门、放线菌门以及拟杆菌门相对丰度呈下降趋势,而变形杆菌门的相对丰度呈上升趋势。

由表 3 可知,燕麦麸皮经体外发酵后,使厚壁菌门相对丰度达到 50%,变形杆菌门的相对丰度 30%~46%,放线菌门的相对丰度为 7%~16%,拟杆菌门占比较低。另外,FOB5 组的厚壁菌门、放线菌门以及拟杆菌门的相对丰度显著低于其它各组($P<0.05$),而变形杆菌门的相对丰度显著高于其它各组($P<0.05$)。综上,肥胖人群肠道微生物优势菌门的相对丰度与燕麦麸皮添加量有极大的关系。

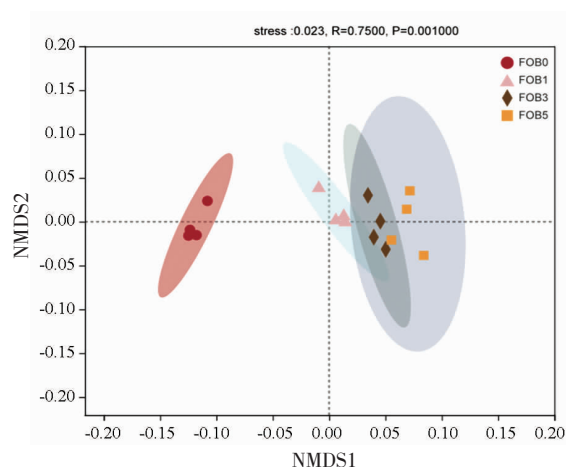


图 1 燕麦麸皮体外干预后基于属水平上肥胖人群肠道微生物微生物 β -多样性的 NMDS 排序

Fig.1 NMDS ranking of gut microbial β -diversity in obese people after oat bran *in vitro* intervention (genus level)

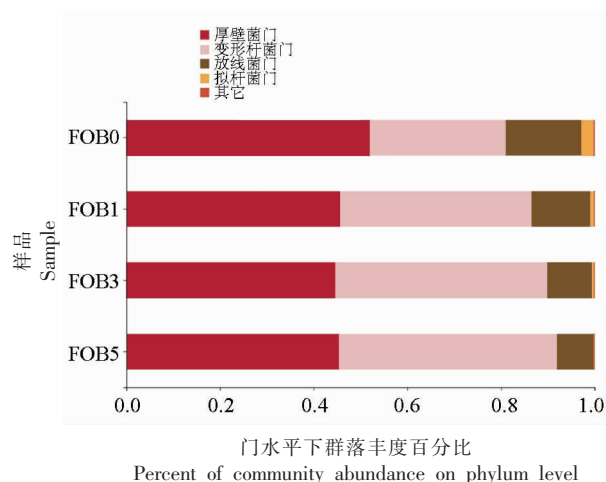


图 2 燕麦麸皮体外干预后肥胖人群肠道微生物优势菌门

Fig.2 The predominant gut microbes in obese people after oat bran *in vitro* intervention (phylum level)

表 3 燕麦麸皮体外发酵对肥胖人群肠道微生物细菌组成及其相对丰度的影响(门水平,%)

Table 3 Effect of oat bran *in vitro* fermentation on the composition and relative abundance of gut microbes in obese people (phylum level, %)

组别	变形菌门	厚壁菌门	放线菌门	拟杆菌门	其它菌门
FOB0	29.01 ^d	51.98 ^a	16.18 ^a	2.58 ^a	0.25 ^a
FOB1	40.81 ^c	45.70 ^b	12.58 ^b	0.74 ^b	0.16 ^b
FOB3	45.28 ^b	44.63 ^c	9.57 ^c	0.35 ^c	0.17 ^b
FOB5	46.55 ^a	45.40 ^d	7.82 ^d	0.05 ^d	0.18 ^b

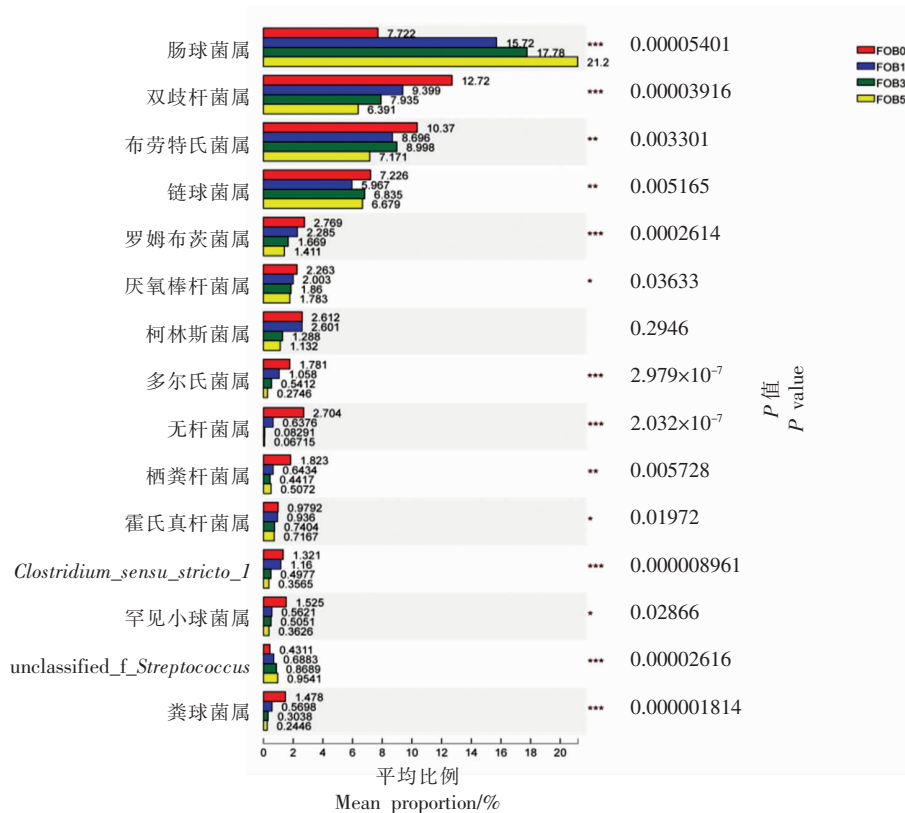
注:表中同列不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

2.2.4 肠道微生物差异物种分析结果 属水平肥胖人群肠道微生物群落差异物种(相对丰度前 15)见图 3a~3b。结果表明,经燕麦麸皮干预后,肠道菌群在属水平上有显著性变化。在属的生物学分类水平上丰度相对较高的为肠球菌属(*Enterococcus*)、双歧杆菌属(*Bifidobacterium*)和布劳特氏菌属(*Blautia*),其中双歧杆菌属是众所周知对人体健康具有重要作用的益生菌^[25]。添加燕麦麸组的肠球菌属和 *unclassified_f_Streptococcus* 菌属的丰度,极显著高于 FOB0 组($P < 0.01$)。随着燕麦麸皮剂量的增大,双歧杆菌属、罗姆布茨菌属(*Romboutsia*)、多尔氏菌属(*Dorea*)、无杆菌属(*Agathobacter*)、*Clostridium_sensu_stricto_1*、粪球菌属(*Coprococcus*)的丰度呈极显著下降趋势($P < 0.001$)。其中,双歧杆菌属的丰度在 6.39%~12.72%

之间,罗姆布茨菌的丰度占比为 1.41%~2.77%。布劳特氏菌属菌属、链球菌属(*Streptococcus*)、栖粪杆菌属(*Faecalibacterium*)的丰度呈极显著下降趋势($P < 0.01$)。厌氧棒杆菌属(*Anaerostipes*)、霍氏真杆菌属(*Eubacterium-hallii-group*)、罕见小球菌属(*Subdoligranulum*)的丰度显著降低($P < 0.05$)。此外,柯林斯菌属(*Collinsella*)各组间无显著变化($P > 0.05$)。

2.3 短链脂肪酸分析

短链脂肪酸是肠道微生物的主要代谢物,其中乙酸、丙酸以及丁酸是主要代谢物(占 SCFA 含量的 95%以上)^[26]。SCFA 对肠道健康,以及作为信号分子具有重要意义,可以调节肠道微生物生长环境,促进有益菌的生长繁殖,抑制有害菌的生长,进而预防和抵消肥胖及其相关的糖代谢紊乱



注:注:*表示 $P<0.05$,**表示 $P<0.01$,***表示 $P<0.001$ 。

图3 燕麦麸皮体外干预后肥胖人群肠道微生物群落(属水平)差异物种

Fig.3 Different species of intestinal microbial community (genus level) in obese people after oat bran intervention *in vitro*

和胰岛素抵抗^[27]。燕麦麸皮经肠道微生物代谢后产生多种短链脂肪酸,见表4。乙酸在短链脂肪酸含量占比最高,约为丙酸和丁酸含量的两倍。丁酸、异丁酸和异戊酸含量随燕麦麸皮消化物添加量的增加而有所降低。厚壁菌门产生的短链脂肪酸是丁酸,丁酸的减少可能与厚壁菌门减少有关。丙酸含量先增后降,各组间存在显著性差异($P<$

0.05)。FOB1与FOB3组间各类短链脂肪酸含量无显著差异($P>0.05$)。除乙酸和戊酸外,FOB5组的其它短链脂肪酸含量均显著低于FOB0组($P<0.05$)。此外,FOB5组的总短链脂肪酸含量最低。短链脂肪酸变化可能与肠道菌群种类发生变化有关。

表4 不同剂量燕麦麸皮对肥胖人群粪便中短链脂肪酸(SCFA)含量的影响

Table 4 Effects of different doses of oat bran on the content of SCFA in the stool of obese people

样品 分组	乙酸/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	丙酸/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	异丁酸/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	丁酸/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	异戊酸/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	戊酸/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	总短链脂肪酸/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
FOB0	99.13 ± 9.09 ^a	58.34 ± 9.40 ^b	2.48 ± 0.33 ^a	46.45 ± 7.01 ^a	3.73 ± 0.56 ^a	3.65 ± 0.56 ^a	214.35 ± 26.83 ^a
FOB1	101.97 ± 8.59 ^a	68.98 ± 7.21 ^a	2.46 ± 0.32 ^a	44.19 ± 4.52 ^a	3.52 ± 0.37 ^b	3.43 ± 0.36 ^a	225.15 ± 21.28 ^a
FOB3	93.93 ± 2.45 ^a	67.00 ± 3.26 ^a	2.07 ± 0.18 ^{ab}	39.29 ± 1.99 ^a	2.97 ± 0.18 ^{bc}	3.19 ± 0.18 ^a	209.13 ± 8.04 ^a
FOB5	105.85 ± 5.82 ^a	20.09 ± 1.80 ^c	1.68 ± 0.13 ^b	27.28 ± 2.66 ^b	2.25 ± 0.24 ^c	3.14 ± 0.33 ^a	161.21 ± 11.02 ^b

注:表中同列不同字母表示差异显著($P<0.05$)。

2.4 肠道微生物与短链脂肪酸相关性分析

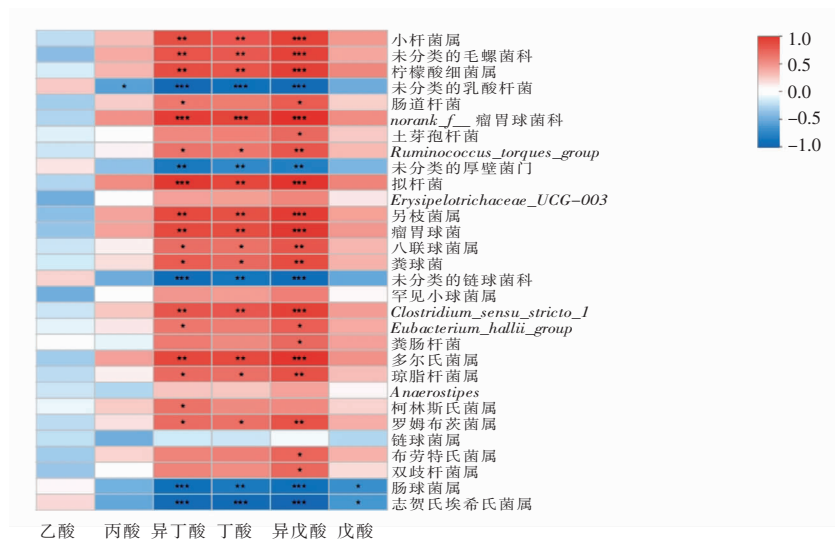
肠道微生物与SCFA相关性热图分析见图4。

乙酸与丰度前30的肠道微生物无显著相关性($P>0.05$)。丙酸含量仅与乳酸杆菌呈显著负相关($P<$

0.05),与其它肠道微生物无显著相关性($P>0.05$)。丁酸与粪球菌属、八联球菌属(*Sarcina*)、*Ruminococcus_torques_group*、罗姆布茨菌属、琼脂杆菌属呈显著正相关($P<0.05$),与未分类的毛螺杆菌科(*unclassified_f_Lachnospiraceae*)、另枝菌属(*Alistipes*)、多尔氏菌属、瘤胃球菌属(*Ruminococcus*)、柠檬酸杆菌属(*Citrobacter*)、*Clostridium_sensu_stricto_1*、小杆菌属(*Dialister*)、拟杆菌属(*Bacteroides*)呈显著正相关($P<0.01$);与未分类的厚壁菌门、肠球菌属、未分类的链球菌科(*unclassified_f_Streptococcaceae*)呈显著负相关($P<0.01$)。与未分类的乳酸杆菌(*unclassified_o_Lactobacil-*

ales)和志贺氏埃希氏菌属(*Escherichia-Shigella*)呈极显著负相关($P<0.001$)。

乳杆菌与丙酸呈极显著负相关($P<0.05$),与异丁酸、丁酸和异戊酸呈极显著负相关($P<0.001$),与其它 SCFA 无显著相关性。拟杆菌属与异丁酸、异戊酸呈极显著正相关($P<0.001$)。多尔氏菌属与异戊酸呈极显著正相关($P<0.001$),与异丁酸和丁酸呈显著正相关($P<0.01$)。未分类的厚壁菌门与异丁酸、丁酸、异戊酸呈显著负相关($P<0.01$)。布劳特氏菌属和双歧杆菌仅与异戊酸呈显著正相关关系($P<0.05$)。



注: * 表示 $P<0.05$, ** 表示 $P<0.01$, *** 表示 $P<0.001$ 。

图 4 肠道微生物(属水平)与 SCFA 相关性分析

Fig.4 Correlation analysis between intestinal microorganisms and SCFA

3 讨论

本研究发现,消化后的燕麦麸皮抗氧化性显著升高,降低了微生物 α -多样性,这可能是因为燕麦麸皮中的多酚类物质影响肠道微生物的生长。Kristek 等^[12]利用正常人的粪便进行体外消化发酵试验,发现燕麦麸皮降低 α -多样性,同时具有双歧化作用,可提高拟杆菌属(*Bacteroides*)和肠杆菌属(*Enterobacter*),尤其是青春双歧杆菌属(*B.adolescentis*)的丰度,较高剂量的燕麦麸皮会产生乙酸的量较高,然而会降低丁酸产量,这与本试验结果相似。此外,本研究与 Dong 等^[9]的研究结果也相似,与肥胖组相比,添加燕麦麸皮后会降

低肥胖大鼠结肠中厚壁菌和拟杆菌的丰度,其原因一方面是燕麦麸皮中含有大量的膳食纤维和 β -葡聚糖,另一方面可能是燕麦麸皮中功能性成分间存在相互作用,影响肠道微生物组成。有研究表明,高膳食纤维可降低厚壁菌属的丰度,提高 Bacteroides 的丰度,二者的比例与肥胖相关^[28],本试验结果表明:添加燕麦麸皮后,厚壁菌属和 Bacteroides 的丰度均下降,但二者的比值为升高趋势,与 Schwartz 等^[29]和 Turnbaugh 等^[30]的研究结果相一致,与 Zhang 等^[31]的研究结果不同,因此肠道菌群中 B/F 的比例失调与肥胖的关系仍需不同人群的大样本研究。

SCFA可在人体结肠中产生酸性条件,抑制病原体的生长,降低肠道中有害的酶活性,同时它们也作为肠道上皮细胞的能量来源^[32-33]。Tengeler等^[34]研究发现丙酸盐可以降低高脂饮食诱导小鼠的空腹胰岛素水平,减轻非酒精性脂肪肝,从而改善肥胖。Schwartz等^[35]对比正常人与肥胖人粪便中SCFA含量,发现肥胖受试者组的SCFA总量显著高于正常受试者组,尤其是丙酸盐浓度。本研究发现利用肥胖人群粪便发酵燕麦麸皮后,其短链脂肪酸含量随着燕麦麸皮添加量的增加呈先增大后减小趋势,其中剂量1%时,短链脂肪酸含量最大,然而不具有显著差异。本试验中丙酸的含量呈先增大后减小趋势,因此选择合适剂量的燕麦麸皮对改善非酒精性脂肪肝以及肥胖具有重要意义。乙酸盐是由大多数厌氧菌产生的,可能会导致肥胖。Perry等^[36]证明肠道微生物发酵产生的乙酸盐通过激活副交感神经,增加胰腺胰岛素、胃泌素分泌,促进食物摄入,从而使体重增加。乙酸盐在控制炎症和抵抗病原体入侵方面也起重要的作用^[37]。本试验中,乙酸盐含量各组间没有显著性变化,由此可得燕麦麸皮不会加重肥胖。

4 结论

1) 体外消化使燕麦麸皮抗氧化性显著增加,且随剂量的增加,抗氧化性增强。这说明体外消化增加了燕麦麸皮的生物有效性,可促进人体的健康。

2) 与对照组相比,添加燕麦麸皮后肥胖人群粪便中微生物 α -多样性降低,厚壁菌门和放线菌门数量降低,说明燕麦麸皮具有抑菌的效果。在属水平上的主要差异菌为肠球菌属、双歧杆菌、布劳特氏菌。添加燕麦麸皮改变肥胖人群肠道微生物的分布和结构,对肠道环境有一定调节作用。

3) FOB1组中丙酸和异戊酸含量最高,然而,随着燕麦麸皮剂量的增加,总短链脂肪酸含量呈下降趋势,与肠道微生物多样性和丰富度降低有一定关系。

参 考 文 献

[1] DHURANDHAR E J, KEITH S W. The aetiology of

obesity beyond eating more and exercising less [J]. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 2014, 28(4): 533-544.

- [2] SHEU N W, LIN Y C, CHEN C J. Mechanisms, pathophysiology, and management of obesity[J]. *The New England Journal of Medicine*, 2017, 376(15): 1490.
- [3] STEPHENS R W, ARHIRE L, COVASA M. Gut microbiota: From microorganisms to metabolic organ influencing obesity[J]. *Obesity*, 2018, 26(5):801.
- [4] FLUITMAN K S, WIJDEVELD M, NIEUWDORP M, et al. Potential of butyrate to influence food intake in mice and men [J]. *Gut*, 2018, 67 (7): 1203-1204.
- [5] DONG J L, ZHU Y Y, MA Y L, et al. Oat products modulate the gut microbiota and produce anti-obesity effects in obese rats[J]. *Journal of Functional Foods*, 2016, 25: 408-420.
- [6] ZHOU A L, HERGERT N, ROMPATO G, et al. Whole grain oats improve insulin sensitivity and plasma cholesterol profile and modify gut microbiota composition in C57BL/6J mice [J]. *The Journal of Nutrition*, 2014, 145(2): 222-230.
- [7] DAVIDSON M H, DUGAN L D, BURNS J H, et al. The hypocholesterolemic effects of beta-glucan in oatmeal and oat bran. A dose-controlled study [J]. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 1991, 265(14): 1833-1839.
- [8] REQUENA T, MONAGAS M, POZO-BAY?N MA, et al. Perspectives of the potential implications of wine polyphenols on human oral and gut microbiota [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2010, 21(7): 332-344.
- [9] LARROSA M, LUCERI C, VIVOLI E, et al. Polyphenol metabolites from colonic microbiota exert anti-inflammatory activity on different inflammation models. [J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2010, 53(8): 1044-1054.
- [10] FAILLA M L, CHITCHUMROONCHOKCHAI C. *In vitro* models as tools for screening the relative bioavailabilities of provitamin a carotenoids in foods [J]. *Journal of Atmospheric & Oceanic Technology*, 2005, 3: 1-36.
- [11] 倪香艳, 钟葵, 佟立涛, 等. 糙米体外消化过程中酚类物质含量及抗氧化活性[J]. *食品科学*, 2018, 39(16): 105-111.

- NI X Y, ZHONG K, TONG L T, et al. Changes in polyphenols content and antioxidant activity during *in vitro* digestion of brown rice[J]. Food Science, 2018, 39(16): 105–111.
- [12] KRISTEK A, WIESE M, HEUER P, et al. Oat bran, but not its isolated bioactive β -glucans or polyphenols, have a bifidogenic effect in an *in vitro* fermentation model of the gut microbiota[J]. British Journal of Nutrition, 2019, 121(5): 549–559.
- [13] OZKAYA H, ZKAYA B, DUMAN B, et al. Effect of dephytinization by fermentation and hydrothermal autoclaving treatments on the antioxidant activity, dietary fiber, and phenolic content of oat bran[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65(28): 5713–5719.
- [14] TOHMA H, GÜLÇİN İ, BURSAL E, et al. Antioxidant activity and phenolic compounds of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) determined by HPLC–MS/MS[J]. Journal of Food Measurement and Characterization, 2016, 11(2): 1–11.
- [15] WANG K, JIN P, CAO S, et al. Methyl jasmonate reduces decay and enhances antioxidant capacity in Chinese bayberries [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(13): 5809–5815.
- [16] ZHU K X, LIAN C X, GUO X N, et al. Antioxidant activities and total phenolic contents of various extracts from defatted wheat germ[J]. Food Chemistry, 2011, 126(5): 1122–1126.
- [17] 邹青飞, 杨士花, 李永强, 等. 体外结肠发酵对青稞膳食纤维中酚类化合物的含量及抗氧化活性的影响[J]. 食品科学, 2020, 41(2): 94–100.
- ZOU Q F, YANG S H, LI Y Q, et al. Effects of *in vitro* colonic fermentation on phenolic content and antioxidant activity in dietary fiber from highland barley[J]. Food Science, 2020, 41(2): 94–100.
- [18] GULLÓN B, PINTADO M E, BARBER X, et al. Bioaccessibility, changes in the antioxidant potential and colonic fermentation of date pits and apple bagasse flours obtained from co-products during simulated *in vitro* gastrointestinal digestion[J]. Food Research International, 2015, 78: 169–176.
- [19] KAMILOGLU S, CAPANOGLU E. Investigating the *in vitro* bioaccessibility of polyphenols in fresh and sun-dried figs (*Ficus carica* L.)[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2013, 48(12): 2621–2629.
- [20] 陈树俊, 郑婕. 复合果蔬发酵汁有机酸动态分析及体外模拟消化抗氧化活性和功能成分分析[J]. 食品科学, 2021, 42(7): 90–97.
- CHEN S J, ZHENG J. Dynamic analysis of organic acids in a mixture of vegetable and fruit juices during fermentation and changes in antioxidant activity and functional constituents during simulated gastrointestinal digestion[J]. Food Science, 2021, 42(7): 90–97.
- [21] 姜伟, 白红梅, 薛国萍, 等. 基于高通量测序的设施连作果类菜根际土壤细菌群落结构和多样性分析[J]. 华北农学报, 2021, 36(4): 82–89.
- JIANG W, BAI H M, XUE G P, et al. Analysis of bacterial community structure and diversity in rhizosphere soil of different fruit vegetables in greenhouse continuous cropping on high-throughput sequencing [J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2021, 36(4): 82–89.
- [22] HUANG J, CHEN L, XUE B, et al. Different flavonoids can shape unique gut microbiota profile *in vitro*[J]. Journal of Food Science, 2016, 81(9): H2273–H2279.
- [23] WHITTAKER R H. Vegetation of the Siskiyou Mountains, Oregon and California [J]. Ecological Monographs, 1960, 30(4): 407.
- [24] 黄媛. IDF对膳食能量摄入及肠道菌群的影响[D]. 成都: 西华大学, 2020.
- HUANG A. Effect of IDF on dietary energy intake and gut microbiota [D]. Chengdu: Xihua University, 2020.
- [25] BOTTACINI F, D VAN SINDEREN, VENTURA M. Omics of bifidobacteria: Research and insights into their health-promoting activities[J]. Biochemical Journal, 2017, 474(24): 4137–4152.
- [26] CUMMINGS J H, POMARE E W, BRANCH W J, et al. Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood[J]. Gut, 1987, 28(10): 1221–1227.
- [27] CANFORA EMANUEL E, JOCKEN JOHAN W, BLAAK ELLEN E. Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity[J]. Nature Reviews Endocrinology, 2015, 11(10): 571–591.
- [28] TURNBAUGH P J, BÄCKHED F, FULTON L, et al. Diet-induced obesity is linked to marked

- but reversible alterations in the mouse distal gut microbiome[J]. *Cell Host Microbe*, 2008, 3(4): 213–223.
- [29] SCHWIERTZ A, TARAS D, SCHAFER K, et al. Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects[J]. *Obesity (Silver Spring)*, 2010, 18(1): 190–195.
- [30] TURNBAUGH P J, HAMADY M, YATSUNENKO T, et al. A core gut microbiome in obese and lean twins[J]. *Nature*, 2009, 457: 480–484.
- [31] ZHANG C, ZHANG M, PANG X, et al. Structural resilience of the gut microbiota in adult mice under high-fat dietary perturbations[J]. *ISME J*, 2012, 6(10): 1848–1857.
- [32] FOOKS L J, GIBSON G R. Probiotics as modulators of the gut flora [J]. *British Journal of Nutrition*, 2002, 88(S1): S39–S49.
- [33] RUSSELL W R, HOYLES L, FLINT H J, et al. Colonic bacterial metabolites and human health[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2013, 16(3): 246–254.
- [34] TENGELER A C, GART E, WIESMANN M, et al. Propionic acid and not caproic acid, attenuates nonalcoholic steatohepatitis and improves (cerebro) vascular functions in obese *Ldlr*^{-/-}. Leiden mice[J]. *The FASEB Journal*, 2020, 34(7): 9575–9593.
- [35] SCHWIERTZ A, TARAS D, SCHÄFER K, et al. Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects[J]. *Obesity*, 2010, 18(1): 190–195.
- [36] PERRY R J, LIANG P, BARRY N A, et al. Acetate mediates a microbiome–brain– β -cell axis to promote metabolic syndrome[J]. *Nature*, 2016, 534(7606): 213–227.
- [37] 黄馨仪, 郭飞, 曾祥昌, 等. 短链脂肪酸作为信号分子在肠道炎症中的研究进展[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2019, 24(11): 1293–1299.
- HUANG X Y, GUO F, ZENG X C, et al. Short-chain fatty acids as signal molecules in intestinal inflammation[J]. *Chin J Clin Pharmacol Ther*, 2019, 24(11): 1293–1299.

Oat Bran Regulates Gut Microbes and Antioxidant Properties in Obese People *in Vitro*

Zhang Yakun, Zhang Meili*, Xie Niannian, Bai Xue

(College of Food Science and Engineering, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010018)

Abstract Oat bran is a by-product of oat, which is an excellent source of phytochemicals such as dietary fiber and polyphenols. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effects of different levels (1%, 3% and 5%) of oat bran on fecal microbiota composition, short-chain fatty acids and antioxidant capacity in an obese population, by simulating *in vitro* digestion and fermentation processes. The results showed that the antioxidant activity of oat bran was significantly increased after digestion ($P < 0.05$) and the antioxidant activity was higher with increasing levels. The microbial results showed that the main dominant bacteria at the phylum level were Proteobacteria (29.01%–46.55%), Actinobacteria (7.82%–16.18%), Firmicutes (44.63%–51.98%) and Bacteroides (0.05%–2.58%). The microbial α -diversity decreased in the group with the addition of oat bran compared to the control group, as well as the number of *Firmicutes* and *Actinobacteria*, indicating that oat bran had an inhibitory effect. In addition, it was found that the main short chain fatty acids after oat bran fermentation were acetic acid, propionic acid and butyric acid. The total short chain fatty acid content in the FOB5 group was 161.21 $\mu\text{g}/\text{mL}$, significantly lower than other groups. In conclusion, oat bran has good antioxidant properties. And it reduces the content of short-chain fatty acids by regulating the abundance of intestinal microorganisms. It is promising to provide a theoretical basis for the weight loss and lipid reduction mechanism of oat bran.

Keywords oat bran; obesity; *in vitro* digestion and fermentation; antioxidant properties; short-chain fatty acids; intestinal microbes