

藜麦对小鼠肠道菌群及短链脂肪酸代谢的调控作用

马爽爽¹, 吴酉芝², 焦凌霞^{1*}, 朱明明¹, 冉军舰¹, 梁新红¹, 赵瑞香¹

(¹河南科技学院食品学院 河南新乡 453003

²上海中侨职业技术大学食品药品学院 上海 201514)

摘要 为研究藜麦对健康小鼠肠道菌群及其短链脂肪酸(SCFAs)代谢的影响,选取 40 只 SPF 级成年雄性小鼠,随机分为高、中、低浓度灌胃组和对照组,以 0.2 mL 的剂量隔天灌胃 1 次,持续灌胃 2 个月。收集第 9 周小鼠盲肠内容物,提取肠道菌群总 DNA,经 PCR 扩增 16S rRNA 基因 V3-V4 区域并分析测序数据。选用第 9 周小鼠粪便,采用乙醚萃取法提取小鼠粪便中的短链脂肪酸,高效液相色谱检测小鼠粪便中 SCFAs 的变化。结果表明,藜麦具有改变小鼠肠道微生物整体结构的功效。灌胃藜麦浆后,小鼠肠道菌群在门水平上,各实验组小鼠肠道拟杆菌门/厚壁菌门的比例显著提高;在科水平上,藜麦显著提高了拟杆菌门 S27 科、乳杆菌科、普雷沃氏菌科及理研菌科的相对丰度,降低了梭菌科_1、梭菌_vadinBB60 科及毛螺菌科的相对丰度。在属水平上,小鼠肠道中的优势菌属发生改变,且普雷沃氏菌属、拟普雷沃氏菌属、乳杆菌属、瘤胃球菌属的相对丰度显著升高,毛螺菌属的相对丰度显著降低,中浓度的乙酸、丙酸含量较对照组分别提高了 16.5%和 23.9%。上述结果说明藜麦在一定程度上抑制肠道微生物中有害菌的增长,并通过促进益生菌的增殖及 SCFAs 的产生来保持肠道菌群的平衡。研究结果为开发藜麦功能性食品奠定理论基础,并为今后的合理膳食及个性化精准营养提供科学依据。

关键词 藜麦; 肠道菌群; 短链脂肪酸; 调控作用

文章编号 1009-7848(2024)12-0153-10 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.12.014

膳食为肠道菌群结构及代谢的重要影响因素,膳食结构的差异导致肠道菌群的结构、代谢和功能的不同,对人体肠道中的优势菌群种类有显著影响,与人体健康的维持及疾病的发生、发展紧密相连^[1-2]。研究表明,肠道微生物组在决定营养如何影响健康方面发挥着重要作用。健康成年人每天摄入的碳水化合物中至少有 20~60 g 到达大肠与肠道菌群相互作用^[3],其中的膳食纤维在体内生物利用度较低,可以直接进入大肠,经过肠道菌群的发酵,生成短链脂肪酸(Short Chain Fatty Acids, SCFAs)^[4-6]。肠道内 SCFAs 的含量与肠道菌群的活力息息相关^[7],是肠道上皮细胞的主要能量来源,具有维持肠黏膜的完整性,调节肠道菌群平衡,促进肠道蠕动,抑制肠癌和炎性反应的发生等多种功能^[6,8-9]。据报道,膳食纤维的摄入与生成 SCFAs 存在直接联系^[10],人们可以利用膳食调节

肠道菌群,从而达到改善健康的目的。

藜麦营养丰富且含有多种生物活性物质,其中膳食纤维含量高达 7%^[10-11],对心血管疾病、肥胖、糖尿病等代谢疾病有很好的预防作用,可起到辅助治疗的作用,还具有降血糖、抑菌、抗氧化等保健功能,被列为全球十大健康营养食物之一^[11-12]。藜麦优良的营养和功能特性使其在儿童、老人、运动员等特殊人群以及乳糖不耐受症、骨质疏松、贫血、糖尿病、血脂异常、肥胖和胃肠道疾病等人群中有很大的应用前景^[13-15]。然而,目前关于藜麦的保健功效及作用机制缺乏深入系统的研究,制约了功能性藜麦深加工产品的开发利用,也影响藜麦产品走向大众餐桌。本文通过研究藜麦对小鼠肠道菌群及 SCFAs 含量的影响,从肠道营养学的角度探讨藜麦调节人体健康的作用,明确膳食-肠道菌群-疾病预防互作机制,为开发藜麦功能性食品,指导日常膳食提供参考。

收稿日期: 2023-12-24

基金项目: 河南省科技攻关项目(222102110064);河南省高校科技创新团队支持计划项目(21HIRT-STHN024)

第一作者: 马爽爽,女,硕士生

通信作者: 焦凌霞 E-mail: jiaolingxia@163.com

1 材料与方法

1.1 实验动物

C57BL/6J 雄鼠,SPF 级,6 周龄,体质量 18~21 g,购自北京市斯贝福生物技术有限公司,合格证

编号:1103241911013467。

1.2 材料与试剂

藜麦,市售,产自山东省;小鼠饲料,购自北京市斯贝福生物技术有限公司,合格证编号:1103241900009083。

E.Z.N.A. DNA 试剂盒,美国 OMEGA 公司;琼脂糖粉末、氢氧化钠、乙酸、丙酸、丁酸标准品,纯度 $\geq 99.4\%$,坛墨公司;无水乙醚、磷酸、盐酸(分析纯),乙腈(色谱纯,经 $0.22\mu\text{m}$ 滤膜过滤),天津市科密欧化学试剂有限公司;试验用水为超纯水。

1.3 仪器与设备

超低温冰箱(900 SERIES),Thermo Scientific(美国);单人双面净化工作台(SW-CJ-1G),苏州净化设备有限公司;台式高速冷冻离心机(H2050R),长沙湘仪离心机有限公司;打浆机(DJ12B-A11D),九阳股份有限公司;高效液相色谱仪(Waters e2695),美国 waters 公司;Ion Torrent 测序平台(508-U001),Ion One Touch™ 2 INS1005527、Ion OneTouch™ ES 8441-21, Life Technologies(美国);Agilent 2100 Bioanalyzer 331-1, Agilent(美国);GeneAmp PCR System 9700 N8050200,美国 ABI 公司;Qubit 2.0, Invitrogen(美国);Biowave DNA II-3,英国柏诺。

1.4 实验方法

1.4.1 藜麦浆的制备 按照藜麦:蒸馏水(g:mL)分别为 1:25、1:50、1:75 的比例将蒸馏水加入藜麦中,过夜浸泡后煮沸 2 min,冷却后打浆,得到质量浓度分别为 0.04、0.02、0.013 g/mL 高、中、低浓度藜麦浆。

1.4.2 动物实验

1.4.2.1 动物分组及灌胃 SPF 级成年雄性小鼠共 40 只,正常喂养适应 1 周后随机分为 4 组,每组 10 只小鼠。鼠房室温 $22\sim 26\text{ }^{\circ}\text{C}$,空气湿度 $55\%\sim 70\%$ 。各组小鼠均自由进食鼠粮和水,空白对照组灌胃蒸馏水,实验组分别灌胃高、中、低浓度藜麦浆,每次 0.2 mL,每 2 d 灌胃 1 次,连续灌胃 60 d。

1.4.2.2 小鼠粪便采集 实验开始后,0~8 周每周早上 8:00,逼迫法采集藜麦灌胃组和空白组小鼠的新鲜清洁粪便样本,冻存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 备用。

1.4.2.3 小鼠肠道内容物采集 灌胃藜麦浆 60 d 后,采用颈关节脱臼处死小鼠,解剖后用弯角镊子

小心捋去盲肠及肠道内容物封装于 2 mL EP 管中,用液氮快速冻结, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱存放备用。

1.4.3 SCFAs 含量测定^[15]

1.4.3.1 小鼠粪便样品处理 取小鼠粪便 0.6 g,加入 4 mL 去离子水,12 000 r/min 离心 10 min,收集上清,加入 200 μL 浓盐酸,混匀后加入 10 mL 乙醚,充分混匀,室温萃取 20 min,3 500 r/min 离心 10 min,取上层有机相于新离心管中,加入 1 mL 1 mol/L NaOH,充分混匀,室温萃取 20 min,3 500 r/min 离心 10 min,取下层水相转移至 4 mL 离心管中,加入 200 μL 浓 HCl,混匀后用 0.22 μm 的滤膜过滤,所得滤液利用 HPLC 分析 SCFAs 含量。

1.4.3.2 色谱条件 色谱柱:symmetryC₁₈ 柱(美国 waters 公司,3.9 mm \times 150 mm,5 μm);流动相:乙腈的酸性水溶液(0.025%磷酸:乙腈=95:5);流速:0.5 mL/min;检测波长:210 nm;柱温: $30\text{ }^{\circ}\text{C}$;进样量:10 μL 。

1.4.3.3 SCFAs 标准曲线建立 将称取好的各为 0.2 g 的乙酸、丙酸、丁酸标准品,定容至 50 mL,制得混合溶液。分别量取 0.5、1、2、4、8、16 mL 混合溶液,将其定容到 50 mL,制备获得 SCFAs 标准溶液。用 0.22 μm 的滤膜处理后进样,建立以 SCFAs 质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标的 SCFAs 标准曲线。

1.4.4 16S rRNA 高通量测序 从小鼠盲肠内容物样品中提取的 DNA 为模板,以(F:5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3';R:5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 扩增细菌 16S rRNA 基因序列中的 V3-V4 区。PCR 反应体系(25 μL):上下游引物(5 $\mu\text{mol/L}$)各 1.0 μL ,3 μL BSA(2 ng/ μL),12.5 μL 2 \times Taq Plus Master Mix,30 ng 模板 DNA,无菌水补至 25 μL 。PCR 扩增反应程序:首先 $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 3 min;然后 $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 30 s,55 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min,共 28 个循环;最后 $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 7 min。每个样品有 3 个重复,将相同样品的 PCR 产物进行混合后,用 2% 的琼脂糖凝胶电泳进行检测,利用 AxyPrepDNA 凝胶回收试剂盒(AXYGEN 公司)回收纯化。用 Qubit® dsDNA HS Assay Kit(Invitrogen,美国)对已纯化的扩增产物进行 PCR 产物的定量分析。

基于 IlluminaMiseq PE 300 平台,构建 MiSeq PE 数据库,并对其进行高通量测序,利用 Trimmomatic、Pear 对测得的 Fastq 数据进行质控。首先去除 Fasta 序列的嵌合体,利用 uchime 方法参考已知数据库比对去除;使用自比对(Denovo)方法去除未知数据库部分,同时去除不符合要求的短序列获得高质量序列。然后使用 QIIME(Quantitative Insights Into Microbial Ecology)对 97%的相似水平下聚类而成的操作分类单元(Operational Taxonomic Units, OTUs)进行生物信息学分析。

1.4.5 测序数据生物信息学和多变量统计学分析

按照 QIIME 的分析流程进行物种分类地位的确定,并进行稀疏曲线(rarefaction curve)、Rank-abundance 曲线和物种累积曲线(species accumulation curves)的绘制,计算 Shannon 多样性指数(Shannon index)、observed_species 指数和 alpha 多样性指数。最后,计算结果采用 R(Version 3.1.3)作图,在上述所得到的 OTU table 的基础上,采用基于线性判别分析(LDA, linear discriminant analysis)的 LefSe(linear discriminant analysis effect size)算法对组间差异 OTU 进行筛选,并根据这些差异 OTU 的丰度采用 R(Version 3.1.3)作丰度聚类热图;使用 Cytoscape(Vesion 3.2.1)软件绘制互作网络图。

1.5 数据统计分析

每个样本 3 个重复,所得数据应用 Excel 2010 进行分析,采用 SPSS 22(IBM,美国)进行单因素方差分析(ANOVA),并用 Tukey 检验来判定显著性, $P < 0.05$ 表示显著性差异。

2 结果与分析

2.1 藜麦干预后小鼠肠道微生物整体特征

2.1.1 各组样品中 OTU 分布比较 本研究中,12 个样本共获得 724 882 条优质序列,其中 99.93% 的序列的长度在 400~480 bp 之间,因为细菌的 16S rRNA 基因 V3-V4 区的平均长度为 464 bp,因此此次实验的基因序列长度能够覆盖 V3-V4 区。以 16S rRNA 基因序列相似度与细菌分类地位之间的相关性研究为依据,在 97%的序列相似性水平上划分 OTU,12 个样本得到 1 405 个 OTU(表 1)。不同分组之间 OTU 的相似性及重叠情况

如图 1 所示,对照组的 OTU 数目为 1 049 个,与灌胃藜麦组共有 OTU 数目为 612 个。其中高浓度藜麦组的 OTU 数目最多,为 1 160 个,特有 71 个;中浓度藜麦组 OTU 共有 904 个,特有 21 个;低浓度藜麦组的 OTU 共有 1 051 个,特有 41 个;对照组的 OTU 共有 1 049 个,特有 57 个。说明高浓度藜麦浆的摄入促进了小鼠肠道菌群物种丰富度的提升。OTU 和物种之间为映射关系,是分析全部肠道菌群的依据。在 OTU 聚类结果的基础上,可对 α 多样性、 β 多样性、物种组成和差异性分析等方面做进一步的研究。

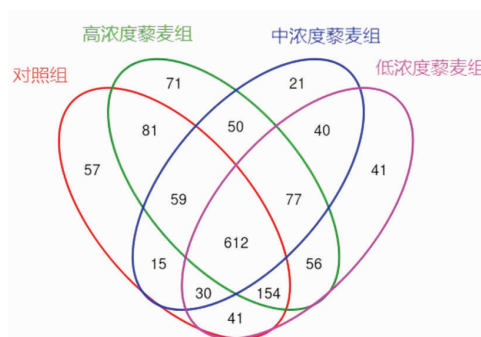


图 1 各组样品 OTU 数目的 Venn 图

Fig.1 Venn diagram of OTU number in different groups

表 1 各样品中序列和 OTU(97%相似水平)分布

Table 1 Numbers of reads and OTUs (97% similarity level) in the library of each sample

样品	高质量序列数	参与 OTU 划分的序列数	OTU 数目
C1	109 974	108 489	533
C2	43 993	41 279	800
C3	45 192	43 768	789
H1	123 844	120 196	863
H2	33 792	33 271	579
H3	40 656	40 377	563
M1	71 766	71 180	576
M2	68 736	68 206	529
M3	84 765	83 811	595
L1	37 693	37 197	668
L2	34 219	33 665	588
L3	44 780	43 443	791

2.1.2 藜麦干预后小鼠肠道微生物整体结构的变化 将从12个样本中鉴定出的1405个OTU核心序列与Greengene(version 1308)数据库进行比对注释获取每个OTU的物种注释情况,共检测出9个门、16个纲、24个目、37个科和95个属。在细菌门水平上(图2),各组小鼠肠道中的优势菌门拟杆菌门(Bacteroidetes)和厚壁菌门(Firmicutes),占总序列数的97.49%。对照组小鼠肠道中厚壁菌门(Firmicutes)的含量最丰富,约占总序列数的63.43%,而拟杆菌门(Bacteroidetes)占总序列数的34.58%。其余的如放线菌门(Actinobacteria)、变形菌门(Proteobacteria)、软壁菌门(Tenericutes)、螺旋体门(Saccharibacteria)和蓝细菌门(Cyanobacteria)的相对丰度较低,均小于1%。另外,不能明确特定分类地位的细菌所占比例约占0.05%。与普通饲料喂养的对照组小鼠相比,灌胃藜麦浆的各组小鼠肠道中厚壁菌门(Firmicutes)细菌相对丰度降低,高、中、低浓度组分别为43.12%、43.53%和39.26%。而拟杆菌门(Bacteroidetes)细菌的相对丰度增加,高、中、低浓度组分别增加至52.65%、54.54%和58.86%。此外,灌胃组检测到对照组中未出现的绿菌门(Chlorobi)细菌。

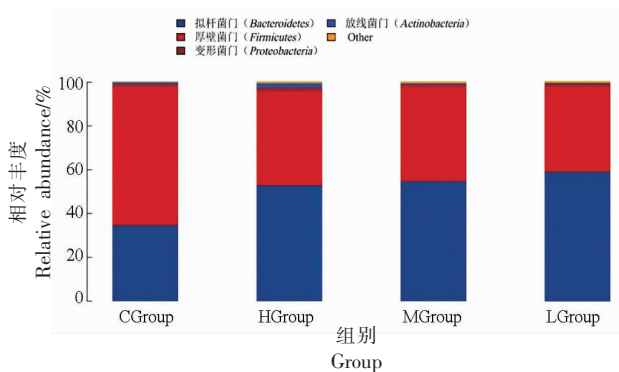


图2 藜麦对小鼠肠道菌群门水平上相对丰度的影响
Fig.2 Effect of quinoa on relative abundances of dominant phyla in mice

属水平的物种组成及差异分析由图4所示。在属水平上,中浓度组菌群与对照组菌群组成比较接近,但是高浓度组菌群与对照组的菌群组成有很大不同。说明藜麦的摄入显著改变了小鼠肠道的属水平菌群构成。与对照组相比,灌胃藜麦浆

在科水平上,各组小鼠肠道菌群主要物种相对丰度的变化如图3所示。对照组小鼠肠道中丰度占主要优势的分别是拟杆菌门S27科(*Bacteroidales S24-7 group*)、厚壁菌门毛螺菌科(*Lachnospiraceae*)、韦荣球菌科(*Erysipelotrichaceae*)和瘤胃菌科(*Ruminococcaceae*)的细菌。丰度比较低的科主要是乳杆菌科(*Lactobacillaceae*)、理研菌科(*Rikenellaceae*)、红蜻菌科(*Coriobacteriaceae*)和螺杆菌科(*Helicobacteraceae*)。经藜麦浆干预后,拟杆菌门S27科(*Bacteroidales S24-7 group*)、乳杆菌科(*Lactobacillaceae*)、普雷沃氏菌科(*Prevotellaceae*)及理研菌科(*Rikenellaceae*)的相对丰度有所增加,而毛螺菌科(*Lachnospiraceae*)的相对丰度显著下降。瘤胃菌科(*Ruminococcaceae*)和韦荣球菌科(*Erysipelotrichaceae*)的相对丰度随灌胃藜麦浆的浓度不同而出现波动,饲喂高浓度藜麦浆使瘤胃菌科(*Ruminococcaceae*)的细菌丰度降低,饲喂中浓度和低浓度藜麦浆却使该科的细菌丰度有所升高。而韦荣球菌科(*Erysipelotrichaceae*)及红蜻菌科(*Coriobacteriaceae*)的细菌丰度在饲喂高浓度藜麦浆时上升,饲喂中浓度和低浓度藜麦浆时下降。

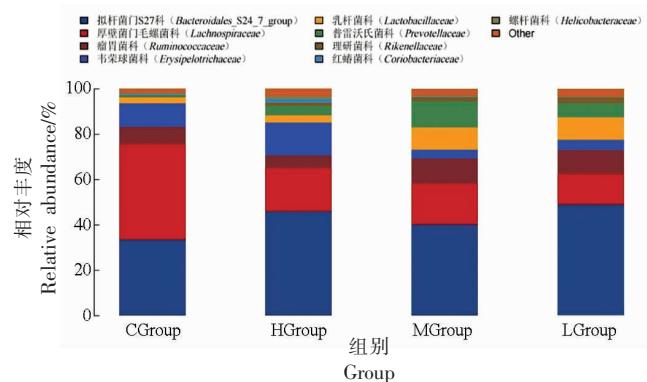


图3 藜麦对小鼠肠道菌群科水平上相对丰度的影响
Fig.3 Effect of quinoa on relative abundances of major bacterial family in mice

组小鼠肠道中普雷沃氏菌属(*Prevotellaceae*)、拟普雷沃氏菌属(*Alloprevotella*)、乳杆菌属(*Lactobacillus*)及瘤胃球菌属(*Ruminococcus*)的相对丰度显著升高($P<0.05$),与对照组相比,中浓度组这3个菌属的相对丰度提升幅度最大,分别提高了

10.21 倍、79.67 倍和 3.71 倍。而毛螺菌属 (*Lachnospiraceae*) 的相对丰度显著降低 ($P < 0.05$), 相比

对照组, 高、中、低浓度组该菌属分别降低了 65.75%、61.67% 和 74.17% (表 2)。

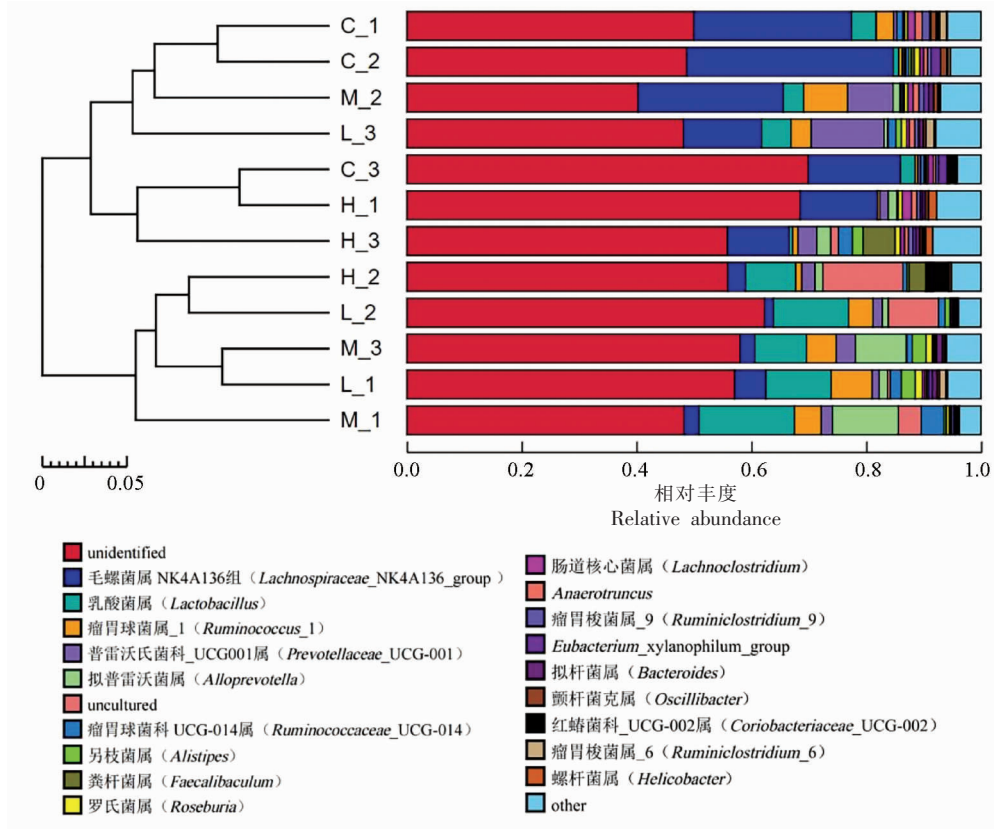


图 4 小鼠肠道菌群属水平物种组成分析柱状图

Fig.4 Histogram of genus level species composition analysis of intestinal flora in mice

表 2 藜麦对小鼠肠道菌群主要属水平的影响 (n=3)

Table 2 Effects of quinoa on relative abundance of main genera in intestinal flora of mice (n=3)

组别	普雷沃氏菌属_UCG-001 相对丰度/%	拟普雷沃氏菌 属相对丰度/%	乳杆菌属相对 丰度/%	瘤胃球菌属相 对丰度/%	毛螺菌属_NK4A136 相对丰度/%
对照组	0.43	0.09	2.62	1.39	26.48
高浓度组	2.34	1.76	3.12	0.81	9.07
中浓度组	4.39	7.17	9.72	5.86	10.15
低浓度组	5.17	1.04	9.86	4.98	6.84

2.2 藜麦对小鼠肠道微生物的物种多样性影响

为深入探讨藜麦对小鼠肠道菌群整体结构的作用, 本研究依据样品在 97% 相似水平上划分的 OTU 数据, 利用 QIIME 对各样品的 α 多样性和 β 多样性进行分析。 α 多样性针对单一样品中微生物物种多样性的度量指标, 它包括了两个因素, 样品中的物种类别的多样性 (丰富度) 和每个物种所占比例 (均匀度)。 利用稀释性曲线对不同样本进

行了丰富度分析, 并对不同样本的测序深度进行了评估。 由图 5a 可以看出, 小鼠肠道菌群的稀释曲线趋于平坦, 再多的测序数据量只能产生少量新 OTU, 说明测序结果能够反映样本中绝大多数的微生物信息。 Shannon 指数经常被用来反映菌群多样性, Shannon 指数值越大, 表示群落多样性越高。 由图 5b 可知, 与对照组相比, 中浓度组与空白组 Shannon 指数较为接近, 高浓度和低浓度组

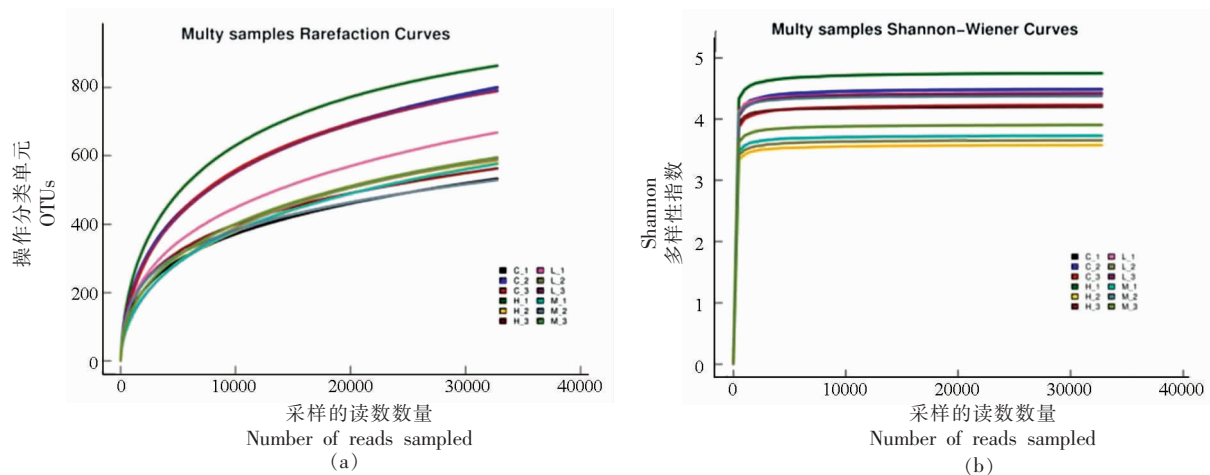


图5 肠道菌群的稀释性曲线(a)和 Shannon 曲线(b)

Fig.5 Rarefaction curves (a) and Shannon curves (b) of intestinal flora

Shannon 指数略有下降,说明灌胃藜麦浆后,在某种程度上对小鼠肠道微生物 α 多样性产生了影响。

2.3 藜麦对小鼠粪便中 SCFAs 含量的影响

SCFAs 是肠道微生物种群发酵不易消化碳水化合物形成的主要产物,在维持肠道正常功能中起着非常重要的作用。与对照组相比,灌胃藜麦浆的各组小鼠粪便中乙酸和丙酸的含量均有所上升,丁酸含量没有明显提高(图6)。中浓度组乙酸含量较对照组上升了 16.5%,差异显著($P < 0.05$),低浓度组和高浓度组乙酸含量分别升高了 4.3% 和 2.5%。高浓度组、中浓度组和低浓度组的丙酸含量分别比对照组提高了 16.2%, 23.9% 和 5.8%,而丁酸含量不仅没有提高,反而有所下降。表明饮食藜麦可以有效提高小鼠肠道中乙酸和丙酸的含量,而对丁酸含量的影响不显著。

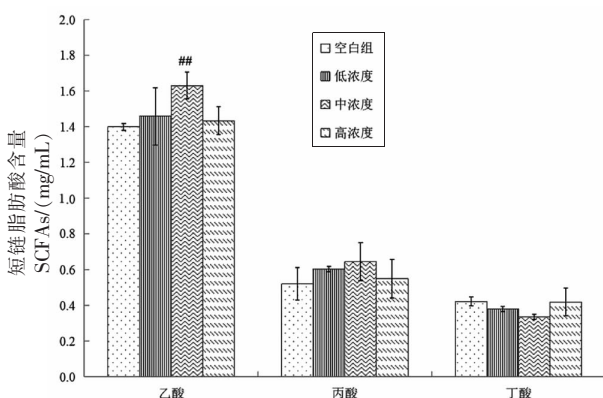


图6 小鼠粪便中 SCFAs 含量

Fig.6 Intestinal SCFAs content in mice

3 讨论

定植于人体肠道的各种微生物与机体一直处于动态的相互作用中,肠道菌群的结构和组成多样性受饮食结构和营养的摄入等因素的影响^[16-18]。食物的摄入不但会对肠道菌群的结构产生影响,其中一些难以被人体吸收的成分还会通过肠道菌群的作用对食物的营养产生影响^[19]。研究膳食对肠道菌群的调控作用对通过饮食促进人类健康状况的改善具有重要意义。

本实验采用 16S rRNA 高通量测序技术,研究不同浓度的藜麦浆对小鼠肠道菌群结构的影响。研究发现,实验组小鼠肠道内菌群多样性虽然没有发生显著变化,但小鼠的肠道菌群结构发生了显著变化。在门水平上,厚壁菌门和拟杆菌门的比例变化显著。作为肠道菌群的两大优势菌门,二者占肠道细菌的 90% 以上,它们的平衡对宿主生理活动具有重要影响^[20],但也有研究认为,二者的比例对肠道健康影响不大^[21]。本研究中,与对照组相比,试验组中厚壁菌门的相对丰度显著下降,而拟杆菌门的相对丰度显著上升。据报道,厚壁菌门的代表性有益菌的作用是产生丁酸盐,属于该门类的大多数细菌被发现是丁酸盐产生菌^[19,22]。本研究中实验组小鼠厚壁菌门比例均有所降低,可能导致产生丁酸盐的细菌数量也有所下降。在测定小鼠粪便中 SCFAs 含量时也发现高、中、低剂量组小鼠粪便中的丁酸含量较对照组分别降低了 0.71%, 20.38% 和 9.72%。在人体结肠中,拟杆菌参

与了许多关键的代谢活动,具有消化膳食纤维多糖和聚糖的能力,能通过多糖利用位点 PUL 介导的菌群交叉喂养给其它肠道菌提供营养物质,通过荚膜多糖 A 进行免疫调节,是人类免疫系统免疫调节的关键参与者^[23],具有维生素 K 合成能力从而可以防治骨质疏松^[24-25]。拟杆菌属在人体肠道中产生的 SCFAs 主要以乙酸和丙酸的形式存在,对维持肠道内稳态具有重要作用^[26]。本研究发现,试验组小鼠肠道中拟杆菌门比例明显增加,相比对照组,小鼠粪便中乙酸和丙酸的含量也明显增加。表明藜麦能够通过调节这两个肠道优势菌门的比例,提升肠道中乙酸和丙酸的含量,从而对人类健康起到有益的作用。有研究报道,与肥胖鼠和肥胖人相比,瘦鼠盲肠内容物和瘦人粪便的拟杆菌门数量更多^[27],表明拟杆菌数量增加还可能有助于体质量控制。

在科水平上,藜麦显著提高了拟杆菌门 S27 科 (*Bacteroidales_S24-7_group*)、乳杆菌科 (*Lactobacillaceae*)、普雷沃氏菌科 (*Prevotellaceae*) 及理研菌科 (*Rikenellaceae*) 的相对丰度,降低了梭菌科_1 (*Clostridiaceae_1*)、梭菌_vadinBB60 科 (*Clostridiales_vadin_BB60_group*) 及毛螺菌科的相对丰度。拟杆菌目 S27 科细菌具有降解各种复杂碳水化合物的能力^[28],也是丁酸盐产生菌,丁酸盐具有抗炎和免疫调节功能,对人体健康十分重要^[29]。乳杆菌科是肠道中的主要有益菌,利用竞争排斥作用,可以有效的抑制病原菌在肠道中的定植,从而提高肠道屏障功能,减轻炎症反应^[30]。普雷沃氏菌科帮助分解蛋白质及碳水化合物,通常被认为是一种与健康的植物性饮食相关的菌,在人体中发挥“益生菌”的作用。普雷沃氏菌属的减少与自闭症、过敏、多发性硬化症等某些疾病相关。而肠道内普雷沃氏菌的高水平与肥胖、非糖尿病患者的 BMI 指数、胰岛素抵抗、高血压和非酒精性脂肪性肝显著相关^[31]。Dubin 等^[32]在关于药物对转移性黑色素瘤患者的疗效研究发现,在经过药物治疗之后,一些患者会出现肠炎,与那些没有肠炎副作用的患者比较起来,其体内的拟杆菌群,尤其是理研菌科的含量明显减少,因此推测理研菌科对肠道具有保护作用,降低应激条件下发生肠炎的几率。而梭杆菌门是主要的肠道致病菌,与癌症等多种疾病相

关^[33]。毛螺菌科 (*Lachnospiraceae*) 参与许多碳水化合物的代谢,尤其对果胶的代谢能力较强,发酵产生的乙酸和丁酸是宿主能量的主要来源^[34]。藜麦中膳食纤维含量较高,果胶含量相对较低,这可能是毛螺菌科丰度降低的原因。

在属水平上,除普雷沃氏菌属、拟普雷沃氏菌属、乳杆菌属丰度显著提升外,瘤胃球菌属的相对丰度也显著提升。瘤胃球菌是“降解抗性淀粉的关键菌”,具有肠壁稳固、减轻腹泻、降低结直肠癌风险、减少肾结石、增加能量等功能,与溃疡性结肠炎、婴儿过敏及脑瘫等多种疾病呈负相关^[35-36]。研究发现,瘤胃球菌科和拟普雷沃氏菌属具有抗炎作用^[37]。有研究发现摄食更多富含膳食纤维的食物非非洲儿童肠道中拟杆菌门 (*Bacteroides*) 的数量较高,尤其普雷沃氏菌属 (*Prevotella*),它们可以利用纤维素和木聚糖^[38]。因此推测可能是藜麦膳食纤维促进了这些有益菌的增殖。在盲肠内膳食纤维等复杂碳水化合物可降低菌群对蛋白质的代谢^[39],同时还可以抑制有害菌,促进有益菌生长,并对其进行发酵,从而产生乙酸、丙酸和丁酸等,可以调节代谢,改善肠屏障,降低心血管疾病、2 型糖尿病、结直肠癌和乳腺癌等疾病的患病风险^[40]。本研究结果也显示,饮食藜麦的各浓度组小鼠肠道中乙酸和丙酸的含量均较对照组有所提高。推测藜麦的摄入促进了不同种类的益生菌生长,改善了肠道内多种益生菌的丰度,提高了肠道中乙酸、丙酸含量,降低与梭杆菌相关疾病的发生风险,维持人体健康。

4 结论

本实验探究了灌胃藜麦浆对小鼠肠道菌群组成及 SCFAs 代谢的影响。结果表明,藜麦能使小鼠肠道微生物的结构发生改变,灌胃藜麦浆后,小鼠肠道中的优势菌属发生变化,且普雷沃氏菌属、拟普雷沃氏菌属、乳杆菌属、瘤胃球菌属及毛螺菌属的相对丰度改变,提高了肠道中乙酸、丙酸含量。表明藜麦浆能在一定程度上抑制肠道微生物中有害菌的增长,并通过促进益生菌的发酵及 SCFAs 的产生来保持肠道菌群的平衡,为深入研究藜麦制品对肠道菌群的影响提供理论依据和探究基础。

参 考 文 献

- [1] 魏慧, 段丽萍. 膳食对肠道菌群结构, 代谢和功能影响的研究进展[J]. 中华消化杂志, 2017, 37(9): 642-644.
WEI H, DUAN L P. Research progress on the effect of diet on the structure, metabolism and function of gut microbiota[J]. Chinese Journal of Digestion, 2017, 37(9): 642-644.
- [2] WU G D, CHEN J, HOFFMANN C, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes[J]. Science, 2011, 334(6052): 105-108.
- [3] 石塔拉, 高蔚娜, 郭长江. 膳食成分与肠道菌群相互作用[J]. 营养学报, 2016, 38(6): 530-536.
SHI T L, GAO W N, GUO C J. Interaction between dietary components and gut microbiota[J]. ACTA Nutrimenta SINICA, 2016, 38(6): 530-536.
- [4] CHAMP M, LANGKIDE A M, BROUNS F, et al. Advances in dietary fibre characterisation. 1. Definition of dietary fibre, physiological relevance, health benefits and analytical aspects[J]. Nutrition Research Reviews, 2003, 16(1): 71.
- [5] HAMAKER B R, TUNCIL Y E. A perspective on the complexity of dietary fiber structures and their potential effect on the gut microbiota[J]. Journal of Molecular Biology, 2014, 426(23): 3838-3850.
- [6] SAWICKI C, LIVINGSTON K, OBIN M, et al. Dietary fiber and the human gut microbiota: Application of evidence mapping methodology[J]. Nutrients, 2017, 9(2): 125.
- [7] 王慧美, 刘乐文, 刘丽英, 等. 脂肪酸对动物肠道微生物菌群的影响[J]. 畜牧与兽医, 2021, 53(10): 133-137.
WANG H M, LIU L W, LIU L Y, et al. Effects of fatty acids on gut microbiome in animals[J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2021, 53(10): 133-137.
- [8] 刘小华, 李舒梅, 熊跃玲. 短链脂肪酸对肠道功效及其机制的研究进展[J]. 肠外与肠内营养, 2012, 19(1): 56-58.
LIU X H, LI S M, XIONG Y L. Research progress on effect and mechanism of short chain fatty acid for intestinal tract[J]. Parenteral & Enteral Nutrition, 2012, 19(1): 56-58.
- [9] PAN X D, CHEN F Q, WU T X, et al. Prebiotic oligosaccharides change the concentrations of short-chain fatty acids and the microbial population of mouse bowel[J]. Journal of Zhejiang University: Science B, 2009, 10(4): 258-263.
- [10] DUNCAN S H, BELENGUER A, HOLTROP G, et al. Reduced dietary intake of carbohydrates by obese subjects results in decreased concentrations of butyrate and butyrate-producing bacteria in feces[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(4): 1073-1078.
- [11] 王启明, 张继刚, 郭仕平, 等. 藜麦营养功能与开发利用研究进展[J]. 食品工业科技, 2019, 40(17): 340-356.
WANG Q M, ZHANG J G, GUO S P, et al. Progress on nutrition function and exploitation utilization of quinoa[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(17): 340-346.
- [12] ZAMUDIO F V, CAMPOS M R S. Amaranth, quinoa and chia bioactive peptides: A comprehensive review on three ancient grains and their potential role in management and prevention of Type 2 diabetes[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2020, 62(10): 2707-2721.
- [13] BHARGAVA A, SHUKLA S, OHRI D. Chenopodium quinoa: An indian perspective[J]. Industrial Crops & Products, 2006, 23(1): 73-87.
- [14] VEGAGLVEZ A, MIRANDA M, VERGARA J, et al. Nutrition facts and functional potential of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) an ancient andean grain: A review[J]. Journal of the Science of Food & Agriculture, 2010, 90(15): 2541-2547.
- [15] 胡一波, 杨修仕, 陆平, 等. 中国北部藜麦品质性状多样性和相关性分析[J]. 作物学报, 2017, 43(3): 464-470.
HU Y B, YANG X S, LU P, et al. Diversity and correlation of quality traits in quinoa germplasms from north China[J]. Acta Agron Sin, 2017, 43(3): 464-470.
- [16] LEY R E, LOZUPONE C A, HAMADY M, et al. Worlds within worlds: Evolution of the vertebrate gut microbiota [J]. Nature Reviews Microbiology, 2008, 6(10): 776-788.
- [17] ZHANG C H, ZHANG M H, PANG X Y, et al. Structural resilience of the gut microbiota in adult mice under high-fat dietary perturbations [J]. Isme

- Journal, 2012, 6(10): 1848–1857.
- [18] TURNBAUGH P J, BACKHED F, FULTON L, et al. Diet-induced obesity is linked to marked but reversible alterations in the mouse distal gut microbiome[J]. Cell Host and Microbe, 2008, 3(4): 213–223.
- [19] 臧凯丽, 贾彦, 崔文静, 等. 瑞士乳杆菌调控小鼠肠道菌群变化规律的研究[J]. 食品科学, 2018, 39(1): 156–164.
- ZANG K L, JIA Y, CUI W J, et al. Modulation of probiotic *Lactobacillus helveticus* on gut microbiota in mice[J]. Food Science, 2018, 39(1): 156–164.
- [20] BRUCE-KELLER A J, SALBAUM M J, LUO M, et al. Obese-type gut microbiota induce neurobehavioral changes in the absence of obesity[J]. Biological Psychiatry, 2015, 77(7): 607–615.
- [21] ZHANG M X, MA W, ZHANG J, et al. Analysis of gut microbiota profiles and microbe-disease associations in children with autism spectrum disorders in China[J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 13981.
- [22] MACFARLANE S, MACFARLANE G T. Regulation of short-chain fatty acid production[J]. Proceedings of the Nutrition Society, 2003, 62(1): 67–72.
- [23] ZAFAR H, SAIER M H. Gut Bacteroides species in health and disease[J]. Gut Microbes, 2021, 13(1): 1–20.
- [24] SHEARER M J, ALEXANDRA B, MARTIN K. Chemistry, nutritional sources, tissue distribution and metabolism of vitamin K with special reference to bone health[J]. Journal of Nutrition, 1996, 126(4 Suppl): 1181S.
- [25] BARBARA W, PHILIP K J, BOOTH S L, et al. Menaquinones, bacteria, and the food supply: The relevance of dairy and fermented food products to vitamin K requirements[J]. Advances in Nutrition, 2013, 4(4): 463–473.
- [26] SHIMIZU J, KUBOTA T, TAKADA E, et al. Propionate-producing bacteria in the intestine may associate with skewed responses of IL10-producing regulatory T cells in patients with relapsing poly-chondritis[J]. Plos One, 2018, 13(9): e0203657.
- [27] LEY R E, BACKHED F, TURNBAUGH P, et al. Obesity alters gut microbial ecology[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2005, 102(31): 11070–11075.
- [28] LAGKOUVARDOS I, LESKER T R, HITCH T C A, et al. Sequence and cultivation study of Muribaculaceae reveals novel species, host preference, and functional potential of this yet undescribed family[J]. Microbiome, 2019, 7(1): 28.
- [29] SIDDIQUI M T, CRESCI G A M. The Immunomodulatory functions of butyrate[J]. Journal of Inflammation Research, 2021, 14: 6025–6041.
- [30] POURGHOLAM M A, KHARA H. Dietary administration of *Lactobacillus plantarum* enhanced growth performance and innate immune response of siberian sturgeon, *Acipenser baerii*[J]. Probiotics & Antimicrobial Proteins, 2016, 8(4): 1–7.
- [31] LARS C, STINE V, ROAGER H M, et al. Prevotella abundance predicts weight loss success in healthy, overweight adults consuming a whole-grain diet ad libitum: A post Hoc analysis of a 6-Wk randomized controlled trial[J]. Journal of Nutrition, 2019, 149(12): 2174–2181.
- [32] DUBIN K, CALLAHAN M K, REN B, et al. Intestinal microbiome analyses identify melanoma patients at risk for checkpoint-blockade-induced colitis [J]. Nature Communications, 2016, 7: 10391.
- [33] JAGER R, MOHR A E, CARPENTER K C, et al. International society of sports nutrition position stand: Probiotics[J]. J Int Soc Sports Nutr, 2019, 16(1): 62.
- [34] XI Y, YUEFEN P, WEI W, et al. Analysis of prognosis, genome, microbiome, and microbial metabolome in different sites of colorectal cancer[J]. Journal of Translational Medicine, 2019, 17(1): 353.
- [35] NI Y H, CHUA H H, CHOU H C C, et al. Gut dysbiosis featured by abundant ruminococcus gnavus heralds the manifestation of allergic diseases in infants[J]. Gastroenterology, 2017, 152(5): S214.
- [36] 刘欢. 新疆地区溃疡性结肠炎患者肠道菌群及代谢的多组学研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2021.
- LIU H. Multiomics study on intestinal flora and metabolism of patients with ulcerative colitis in Xinjiang[D]. Urumqi: Xinjiang Medical University, 2021.
- [37] ZHANG C C, WU W C, XIN X T, et al. Extract of ice plant (*Mesembryanthemum crystallinum*) ameliorates hyperglycemia and modulates the gut microbiota composition in type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats[J]. Food & Function, 2019, 10(6): 3252–3261.

- [38] DE FILIPPO C, CAVALIERI D, DI PAOLA M, et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa.[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2010, 107(33): 14691–14696.
- [39] PORTUNE K J, BEAUMONT M, DAVILA A M, et al. Gut microbiota role in dietary protein metabolism and health-related outcomes: The two sides of the coin [J]. Trends in Food Science & Technology, 2016, 57: 213–232.
- [40] PARTULA V, DESCHASAUX M, DRUESNE – PECOLLO N, et al. Associations between consumption of dietary fibers and the risk of cardiovascular diseases, cancers, type 2 diabetes, and mortality in the prospective NutriNet-Sante cohort [J]. American Journal of Clinical Nutrition, 2020, 112(1): 195–207.

Regulation Effect of Quinoa on Intestinal Microflora and Short-chain Fatty Acid Metabolism in Mice

Ma Shuangshuang¹, Wu Youzhi², Jiao Lingxia^{*}, Zhu Mingming¹, Ran Junjian¹, Liang Xinhong¹, Zhao Ruixiang¹

¹School of Food Science, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, Henan

²School of Food and Drug, Shanghai Zhongqiao Vocational and Technical University, Shanghai 201514)

Abstract To study the effects of quinoa on intestinal microflora and short-chain fatty acid (SCFAs) metabolism in healthy mice. Select 40 SPF (Specific Pathogen Free) adult male mice were randomly divided into high, medium and low concentration gavage group and control group. The mice were administered intragastrically at 0.2 mL/2 d for 2 months. Collect the contents of the cecum of mice in the ninth week, extract the total DNA of the gut microbiota, amplify the V3–V4 region of the 16S rRNA gene through PCR, and analyze the sequencing data. SCFAs were extracted from the feces of mice at the ninth week by ethyl ether extraction method, and the changes of SCFAs in mouse feces were detected by high performance liquid chromatography. Quinoa has the effect of altering the overall structure of mice intestinal microbiota. The proportion of Firmicutes and Bacteroidetes in the intestinal microbiota of three test groups significantly increased at the phylum level compared to the control group after feeding with quinoa syrup. At the family level, quinoa significantly increased the relative abundances of *Bacteroidetes* S24 -7_group, *Lactobacillaceae*, *Prevotellaceae* and *Rikenellaceae*, and decreased the relative abundances of *Clostridiaceae* 1, *Clostridium vadinBB60* group and *Lachnospiraceae*. At the genus level, the dominant genera in the mouse gut were changed. The relative abundances of *Prevotellaceae*, *Alloprevotella*, *Lactobacillus* and *Ruminococcus* were significantly increased, while the relative abundance of *Lachnospira* was significantly decreased. The contents of acetic acid and propionic acid at the medium concentration were increased by 16.5% and 23.9% respectively compared with the control group. Quinoa can inhibit the growth of harmful bacteria in intestinal microbiota to a certain extent, and maintain the balance of intestinal microbiota by promoting the proliferation of probiotics and the production of SCFAs. The results lay a theoretical foundation for the development of quinoa functional foods, and provide scientific basis for future rational diet and personalized precise nutrition.

Keywords quinoa; intestinal flora; short-chain fatty acids; regulation effect