

天麻多糖 PGEB-3-H 对大鼠肠道内短链脂肪酸的影响

令 博¹, 赵国华^{1,2}, 明 建^{1,2,*}

(1. 西南大学食品科学学院, 重庆 400715; 2. 重庆市特色食品工程技术研究中心, 重庆 400715)

摘 要: 研究天麻多糖 PGEB-3-H 对大鼠肠道内短链脂肪酸(SCFA)的影响。以 SD 大鼠为实验模型, 进行分组喂养, 分别以高剂量(400mg/(kg·d))、中剂量(200mg/(kg·d))、低剂量(100mg/(kg·d))的天麻多糖 PGEB-3-H 灌胃, 为期 4 周, 定期收集大鼠粪便样。粪便处理后通过气相色谱法测定其中 SCFA 的含量。结果表明: 天麻多糖 PGEB-3-H 对大鼠肠道内乙酸、丙酸、丁酸、异丁酸、戊酸和己酸的产生有较大影响, 而对异戊酸和庚酸作用不明显; 不同灌胃剂量对大鼠肠道 SCFA 的影响也有较大差异, 以中剂量和低剂量多糖对 SCFA 的产生影响明显, 各剂量组大鼠肠道内 SCFA 含量在 7~14d 时最多。

关键词: 天麻; 多糖; 短链脂肪酸; 大鼠

Effect of Polysaccharide PGEB-3-H from *Gastrodia elata* Blume on Short Chain Fatty Acids in the Intestinal Tract of Rats

LING Bo¹, ZHAO Guo-hua^{1,2}, MING Jian^{1,2,*}

(1. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China;

2. Chongqing Special Food Programme and Technology Research Center, Chongqing 400715, China)

Abstract: In this paper, the effect of polysaccharide PGEB-3-H on short chain fatty acids in the intestinal tract of rats was investigated. SD rats were used as experimental models and administered with PGEB-3-H at high, medium and low doses (400, 200 mg/(kg·d) and 100 mg/(kg·d) for 4 consecutive weeks. The stool samples of rats were collected at the designed time points. The short chain fatty acids in the intestinal tract of rats were analyzed by gas chromatography. Results indicated that polysaccharide PGEB-3-H had an obvious effect on the production of ethanoic acid, propionic acid, butyric acid, isobutyric acid, valeric acid and caproic acid; in contrast, it did not reveal an obvious effect on the production of isovaleric acid and heptanoic acid. Meanwhile, different administration doses of PGEB-3-H also revealed different effects on short chain fatty acids. An obvious effect on the production of short chain fatty acids was observed in the medium and low dose groups of PGEB-3-H. The highest level of short chain fatty acid production in the intestinal tract of rats was observed in the period of 7–14 d after the administration of PGEB-3-H.

Key words: *Gastrodia elata* Blume; polysaccharide; short chain fatty acid; rat

中图分类号: R972.6

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)11-0284-04

天麻(*Tall Gaxtraodia Tuber*)为明兰科植物天麻(*Gastrodia elata* Blume)的块茎。主产于我国云南、四川、贵州、湖北和陕西等地。《本草纲目》记载天麻具有息风定惊、镇静安眠、平肝息风、去湿活血等功效。现代医学研究证明天麻对增强视神经分辨能力、提高记忆力、延缓衰老均有明显作用^[1-4]。早期对天麻的研究主要集中在天麻素、天麻苷元等方面^[5-6], 近年

来随着植物多糖类化合物不断受到学者关注, 天麻多糖也被认为是天麻中的一种重要活性物质^[7-8]。

短链脂肪酸(short-chain fatty acids, SCFA)是碳链为 1~6 的有机脂肪酸, 主要由膳食中不消化性碳水化合物(非淀粉多糖、抗性淀粉、低聚糖、糖醇等 4 大类物质)在结肠内经厌氧菌酵解而产生, 其中乙酸、丙酸、丁酸约占总量的 90%~95%^[9-10]。SCFA 对人体健康具有

收稿日期: 2010-10-11

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(XDJK2009C044); 西南大学博士基金项目(SWU109005)

作者简介: 令博(1986—), 男, 硕士研究生, 研究方向为食品化学与营养学。E-mail: 61b61b@163.com

* 通信作者: 明建(1972—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为食品化学与营养学。E-mail: mingjian1972@163.com

重要意义,能够影响结肠上皮细胞的转运,促进结肠细胞和小肠细胞的代谢、生长、分化,为肠黏膜上皮细胞及肌肉、肾、心、脑提供能量,增加肠道血供,影响肝脂质与碳水化合物的调控等^[11-15]。

本实验以SD大鼠为实验模型,进行分组饲养,分别灌胃不同剂量的天麻多糖PGEB-3-H,定期收集大鼠便样,处理后利用气相色谱法测定其中SCFA的含量,了解肠道内SCFA的变化情况,从而间接获得天麻多糖PGEB-3-H对肠道SCFA的影响,为进一步探明天麻多糖在体内的代谢过程提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物与饲料

SD大鼠:体质量(220±15)g,雌雄各半,由重庆腾鑫生物技术有限公司提供。

基础饲料配方/%:面粉25、麦片25、玉米面25、豆面10、鱼粉8、骨粉4、酵母粉2,精盐1。高脂饲料配方/%:基础饲料88.2、胆固醇1.5、猪油10、猪胆盐0.3。

1.2 材料与试剂

天麻多糖(polysaccharides from *Gastrodia elata* Blume, PGEB-3-H):由本实验室按文献[16]方法分离纯化所得。

标准品乙酸、丙酸、丁酸、异丁酸、戊酸、异戊酸、己酸、庚酸、2-乙基丁酸(色谱纯) 美国Sigma公司;HCl(分析纯) 成都科龙试剂厂。

1.3 仪器与设备

GC2010型气相色谱 日本岛津公司;LXJ-64-01型高速台式离心机 北京医疗仪器厂;JA5002型电子天平 上海精天电子仪器有限公司。

1.4 方法

1.4.1 大鼠分组饲养及粪便收集^[17]

取SD大鼠30只,雌雄各半,实验前喂养基础饲料10d后,空腹称质量。根据体质量、性别随机分为5组,正常对照组(NC)、高脂对照组(MC)、低剂量组(LD)、中剂量组(MD)和高剂量组(HD),每组6只。NC组喂基础饲料,其余各组均喂高脂饲料,且LD组、MD组和HD组分别按100、200mg/(kg·d)和400mg/(kg·d)的剂量给予受试多糖,给予方式为灌胃。实验大鼠自由进食及饮水,实验期为4周。在大鼠饲养的过程中,每隔一周采集一次大鼠粪便,编号待测。共计收集5次,每次分为5组,并做好记录。

1.4.2 短链脂肪酸的测定(气相色谱法^[18])

标准曲线的制作:按文献[18]分别配制不同浓度的乙酸、丙酸、丁酸、异丁酸、戊酸、异戊酸、己

酸、庚酸、2-乙基丁酸(内标)标准溶液后,用带有火焰离子化检测器和自动进样器的岛津GC2010仪器进行气相色谱分析。最后以面积为纵坐标,以浓度为横坐标,得标准曲线。

色谱条件:柱规格为30m×0.53mm×0.5μm的石英毛细管柱。测定采用程序升温,初温100℃,保持0.5min,然后以8℃/min速度升至180℃,保持1min,采用不分流测定方式,然后以20℃/min的速度升至200℃,保持5min。FID温度为240℃,进样口温度为200℃;进样量为1μL;载气:氮气,流速为3mL/min。数据处理在HP ChemStation气相色谱工作站中进行。

样品的分析测定:准确称取粪便样品0.5g于10mL离心管中,加入4mL稀释液(15mL 100mmol/L的2-乙基丁酸和50mL 5mmol/L的HCl混合而成),均质1min;5000r/min离心20min,取1mL上清液于安培瓶中,进行GC分析。根据标准曲线计算得出短链脂肪酸含量。

1.4.3 数据处理

数据采用Excel 2000统计分析,重复3次,结果用平均值±标准差表示。

2 结果与分析

2.1 天麻多糖PGEB-3-H对大鼠肠道内乙酸浓度的影响

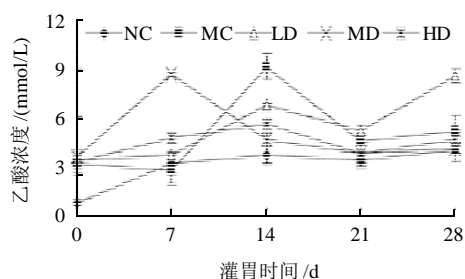


图1 不同剂量天麻多糖PGEB-3-H对大鼠肠道内乙酸浓度的影响
Fig.1 Effect of the dose of PGEB-3-H on ethanoic acid content in the intestinal tract of rats

乙酸是膳食纤维发酵的主要代谢产物,是机体从膳食中不消化性碳水化合物获得能量的主要途径。由图1可知,高脂对照组乙酸浓度最大,并随饲喂时间延长先增加后减小,在14d时出现峰值,原因可能是高脂饲料在大鼠体内可分解产生较多乙酸;正常对照组乙酸浓度最低,在饲喂后有少量增加,7d后变化趋于稳定;3种剂量的多糖添加组以低剂量组和中剂量组乙酸浓度较高,低剂量组乙酸浓度不断增大,在28d时出现峰值。中等剂量组乙酸浓度先增大后减小,在7d时出现峰值。高剂量组乙酸浓度较低,在14d时出现峰值。

2.2 天麻多糖 PGEB-3-H 对大鼠肠道内丙酸浓度的影响

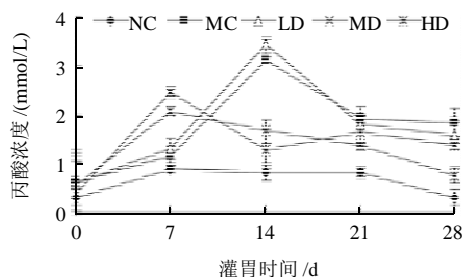


图2 不同剂量天麻多糖 PGEB-3-H 对大鼠肠道内丙酸浓度的影响
Fig.2 Effect of the dose of PGEB-3-H on propionic acid content in the intestinal tract of rats

丙酸对血液中胆固醇水平具有很大影响,可直接抑制肝脏合成胆固醇。由图2可知,正常对照组丙酸浓度最低,整个饲喂过程中变化不明显;高脂对照组丙酸浓度依旧呈现较高水平,在14d时达峰值。3种剂量的多糖添加组丙酸浓度均随饲喂时间延长先增加后减小,7~14d内数值偏高,其中低剂量组丙酸浓度最大,在14d时达峰值。中等剂量组浓度稍高于高剂量组,并均在7d时出现峰值。

2.3 天麻多糖 PGEB-3-H 对大鼠肠道内丁酸浓度的影响

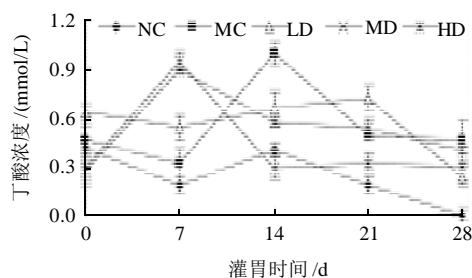


图3 不同剂量天麻多糖 PGEB-3-H 对大鼠肠道内丁酸浓度的影响
Fig.3 Effect of the dose of PGEB-3-H on butyric acid content in the intestinal tract of rats

丁酸是肠道所有发酵产物中最重要的一种,它是人类结肠、盲肠上皮细胞最重要的能量来源,在维持肠道内环境稳定和预防结肠癌发生等方面可发挥良好作用。由图3可知,高脂对照组丁酸浓度仍为各组中最高,正常对照组浓度偏低;3种剂量的多糖添加组以中剂量组和高剂量组丁酸浓度较高,且表现为先增加后减小,在7d时达峰值。而低剂量组丁酸浓度较低,在21d前变化不明显,在21d时达峰值,然后又开始减小。

2.4 天麻多糖 PGEB-3-H 对大鼠肠道内异丁酸浓度的影响

由图4可知,随饲喂时间延长,高脂对照组浓度不断减小至很低;正常对照组表现为先增加后降低,在14d时出现峰值;3种剂量的多糖添加组以高剂量组异丁酸浓度最高且表现为先增加后减小,在7d时出现峰值。低剂量和中剂量组变化较小,中剂量组浓度稍高,均在14d时出现峰值。

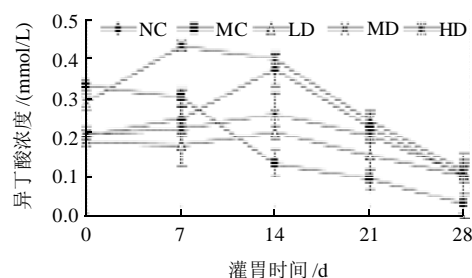


图4 不同剂量天麻多糖 PGEB-3-H 对大鼠肠道内异丁酸浓度的影响
Fig.4 Effect of the dose of PGEB-3-H on isobutyric acid content in the intestinal tract of rats

2.5 天麻多糖 PGEB-3-H 对大鼠肠道内戊酸浓度的影响

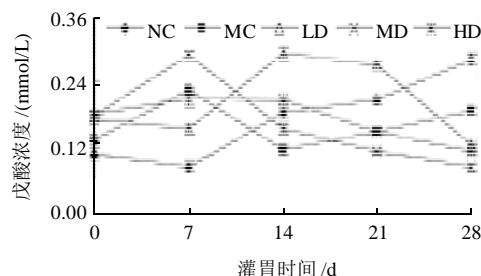


图5 不同剂量天麻多糖 PGEB-3-H 对大鼠肠道内戊酸浓度的影响
Fig.5 Effect of the dose of PGEB-3-H on valeric acid content in the intestinal tract of rats

由图5可知,随饲喂时间延长,正常对照组戊酸浓度不断增大;而高脂对照组戊酸浓度表现为先增大后减小再增大,在7d和28d出现两次峰值;在3种剂量的多糖添加组中,低剂量组和中剂量组戊酸浓度较高且变化明显,均为先增加后减小,其中低剂量组在14d时出现峰值,中剂量组在7d时出现峰值。高剂量组戊酸浓度偏低且基本稳定,仅在14d后略有降低。

2.6 天麻多糖 PGEB-3-H 对大鼠肠道内异戊酸浓度的影响

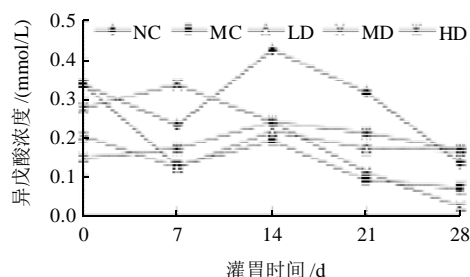


图6 不同剂量天麻多糖 PGEB-3-H 对大鼠肠道内异戊酸浓度的影响
Fig.6 Effect of the dose of PGEB-3-H on isovaleric acid content in the intestinal tract of rats

由图6可知,随饲喂时间延长,正常对照组异戊酸浓度为各组中最大且变化明显,在14d时出现峰值;

高脂对照组异戊酸浓度最低, 并随饲喂时间推移不断降低至最小; 3种剂量的多糖添加组中, 以中剂量组异戊酸浓度较大, 在7d时出现峰值后又逐渐降至最小。低剂量组与高剂量组浓度比较稳定。

2.7 天麻多糖 PGEB-3-H 对大鼠肠道内己酸浓度的影响

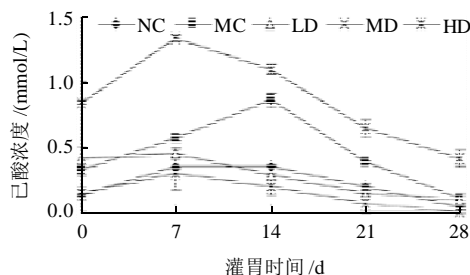


图7 不同剂量天麻多糖 PGEB-3-H 对大鼠肠道内己酸浓度的影响
Fig.7 Effect of the dose of PGEB-3-H on caproic acid content in the intestinal tract of rats

由图7可知, 随饲喂时间延长, 高脂对照组的己酸浓度先增加后降低, 在14d时出现峰值; 正常对照组的己酸浓度变化不明显, 仅在7~14d内偏高; 3种剂量的多糖添加组以中剂量组的己酸浓度最大并表现为先增加后减小, 在7d时出现峰值, 低剂量组和高剂量组己酸浓度偏低且变化不明显。

2.8 天麻多糖 PGEB-3-H 对大鼠肠道内庚酸浓度的影响

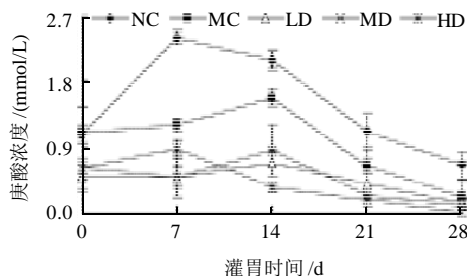


图8 不同剂量天麻多糖 PGEB-3-H 对大鼠肠道内庚酸浓度的影响
Fig.8 Effect of the dose of PGEB-3-H on heptanoic acid content in the intestinal tract of rats

由图8可知, 随饲喂时间延长, 正常对照组和高脂对照组庚酸浓度较大且表现为先增加后减小, 分别在7d和14d时出现峰值; 3种剂量的多糖添加组庚酸浓度均较低且无明显变化规律, 可以推测天麻多糖对大鼠肠道内庚酸的浓度影响不大。

3 结论与讨论

天麻多糖 PGEB-3-H 对于大鼠肠道内乙酸、丙酸、丁酸、异丁酸、戊酸和己酸的产生有较大影响, 且灌胃剂量不同大鼠肠道内 SCFA 浓度也有较大差异。就不同剂量而言, 本研究发现, 以中剂量和低剂量添加天

麻多糖对 SCFA 浓度影响较为明显, 而高剂量添加对 SCFA 浓度影响较小, 其主要原因可能是高剂量组大鼠在喂养过程中食欲逐渐降低所致; 就灌胃时间而言, 在7~14d时各剂量组对大鼠肠道内 SCFA 影响最大, 且几乎均在该时间段内达到峰值。天麻多糖对大鼠肠道内异戊酸和庚酸的产生没有明显作用, 而且不同剂量组之间对其浓度的影响规律也不明显。

许多实验结果表明, 碳水化合物底物不同, 发酵产生的短链脂肪酸比例和生理作用也不同, 这主要是由于碳水化合物结构的不同而影响了肠道中不同菌群的发酵能力^[19-20]。天麻多糖 PGEB-3-H 是以 α -1,4-连接为主链, 有少量 α -1,6-连接为分支的吡喃葡聚糖^[21], 所以它可对肠道 SCFA 的生成量产生一定影响。实验通过观察肠道内 SCFA 的变化情况后, 初步了解了天麻多糖对肠道内 SCFA 的影响规律, 为深入研究天麻多糖在体内的代谢途径提供了参考。

参考文献:

- [1] 杨世林, 兰进, 徐锦堂. 天麻的研究进展[J]. 中草药, 2000, 31(1): 66-69.
- [2] 陈芳, 杜娟, 张秉华. 天麻多糖的理化性质和药理活性研究[J]. 现代中医学, 2009, 29(6): 71-73.
- [3] ZHAO Yunkun, CAO Qiue, XIANG Yanqiao, et al. Identification and determination of active components in *Gastrodia elata* Bl. by capillary electrophoresis[J]. Journal of Chromatography A, 1999, 8(4): 277-283.
- [4] 熊建明. 天麻药理学研究进展[J]. 中国药理学报, 1987, 8(1): 57.
- [5] HET T. Studies on the constituents of *Gastrodia elata* Blume[J]. Chem Pharm Bull, 1981, 29(1): 55-62.
- [6] 任守利, 刘塔斯, 刘宇婧, 等. 天麻多糖提取工艺的研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2010, 30(1): 37-40.
- [7] 缪化春, 沈业寿. 天麻多糖的降血压作用[J]. 高血压杂志, 2006, 14(7): 531-534.
- [8] 赵国华, 陈宗道, 李志孝, 等. 活性多糖的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2001, 27(7): 45-48.
- [9] 申瑞玲, 王章存, 姚惠源. 燕麦 β -葡聚糖对小鼠肠道菌群的影响[J]. 食品科学, 2005, 26(12): 208-212.
- [10] 王子花, 申瑞玲, 李文全. 短链脂肪酸的产生及作用[J]. 畜牧兽医学报, 2007(2): 12-13.
- [11] TATSUYA M, SEIICHI K, AKIRA O, et al. Resistant proteins alter cecal short-chain fatty acid files in rats fed high amylose cornstarch[J]. Journal of Nutrition, 1998, 128: 1156-1164.
- [12] 徐运杰, 方热军, 戴求仲. 短链脂肪酸的营养生理作用[J]. 饲养研究, 2007(8): 26-28.
- [13] GUARNER F, MALAGELADA J. Gut flora in health and disease[J]. Lancet, 2003, 361: 512-519.
- [14] MACFARLANE S, MACFARLANE G T. Regulation of short-chain fatty acid production[J]. Proceedings of the Nutrition Society, 2003, 62: 67-72.
- [15] HARA H, HAGA S, AOYAMA Y, et al. Short-chain fatty acids suppress cholesterol synthesis in rat liver and intestine[J]. Journal of Nutrition, 1999, 129: 942-948.
- [16] 明建, 桂明英, 孙亚男, 等. 天麻水溶性多糖分离纯化及理化性质研究[J]. 食品科学, 2008, 29(9): 344-347.
- [17] 徐叔云. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1982: 780-781.
- [18] LEBET V, ARRIGONI E, AMADO R. Measurement of fermentation products and substrate disappearance during incubation of dietary fiber sources with human faecal flora[J]. Lebensmittel Wissens Chaff and Technologies, 1998, 31: 473-479.
- [19] ZHAO Guohua, NYMAN M, JÖNSSON J Å. Rapid determination of short-chain fatty acids in colonic contents and faeces of humans and rats by acidified water-extraction and direct-injection gas chromatography[J]. Biomedical Chromatography, 2006, 20: 674-682.
- [20] ZHAO Guohua, LIU Jingfu, NYMAN M, et al. Determination of short-chain fatty acids in serum by hollow fiber supported liquid membrane extraction coupled with gas chromatography[J]. Journal of Chromatography B, 2007, 846(1/2): 202-208.
- [21] 明建. 云南特有食药两用活性多糖研究[D]. 重庆: 西南大学, 2008.