

本文引用:刘余,肖新云,唐标,巩一丁,尹抗抗.长期食用黄豆对小鼠肠道微生物的影响研究[J].湖南中医药大学学报,2017,37(1):26-28.

长期食用黄豆对小鼠肠道微生物的影响研究

刘余,肖新云,唐标,巩一丁,尹抗抗*
(湖南中医药大学,湖南长沙410208)

〔摘要〕目的 探究长期食用黄豆对小鼠肠道微生物的影响,为日常膳食营养提供依据。方法 先将小鼠按照年龄分为1月龄(幼年)、6月龄(中年)、9月龄(老年)组,每组再按照随机数字表分为对照组、1:1组、1:2组和1:4组,对照组给予标准饲料喂养,1:1组、1:2组和1:4组分别将基础饲料与黄豆按1:1、1:2和1:4关系配比进行饲养。喂养4个月后,采集小鼠盲肠段内容物进行微生物分析。结果 1月龄小鼠食用不同比例的黄豆后,与对照组比较,肠道细菌总数、乳酸菌数、双歧杆菌数和大肠杆菌数均下降明显($P<0.01$);6月龄小鼠1:2组的肠道细菌总数、乳酸菌数、双歧杆菌数和大肠杆菌数远远高于其余各组($P<0.01$);9月龄小鼠食用不同比例的黄豆后,肠道细菌总数下降,且食用较高比例的黄豆,肠道乳酸菌数、双歧杆菌数和大肠杆菌数与对照组比较,下降明显($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。结论 不同年龄段食用不同比例黄豆对肠道微生物的影响不同,6月龄食用1:2黄豆最佳。

〔关键词〕 黄豆;肠道微生物;乳酸菌;双歧杆菌;大肠杆菌;细菌总数

〔中图分类号〕R285.5;R153 **〔文献标识码〕**A **〔文章编号〕**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2017.01.006

Effect of Long-Term Consumption of Soybean on the Intestinal Microbiota of Mice

LIU Yu, XIAO Xinyun, TANG Biao, GONG Yiding, YIN Kangkang*
(Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

〔Abstract〕 Objective To explore the impact of long-term consumption of soybean on the intestinal microbial, and to provide a basis for the daily diet. **Methods** The mice were divided into three groups of 1 month old (infancy), 6 months old (middle aged) and 9 months old (old age) according to the age, and each group was randomly divided into control group, 1:1 group, 1:2 group and 1:4 group. The control group was fed a standard diet, 1:1, 1:2 and 1:4 group were fed by 1:1, 1:2 and 1:4 ratio of basic feed and soybean, respectively. After feeding for 4 months, the content of the microorganism in cecum was collected and analyzed. **Results** After feeding different proportion of soybean in 1 month old mice, the total number of bacteria, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* and *E.coli* decreased significantly ($P<0.01$); In 6 months old mice, the number of intestinal bacteria, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* and *E.coli* of 1:2 group was far higher than that of the other groups; After eating different proportions of soybeans of 9 months old mice, the total number of intestinal bacteria decreased, and with the higher proportion of soybean, the number of *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* and *E.coli* decreased significantly ($P<0.01$, $P<0.05$). **Conclusion** The effects of different proportions of soybean on the intestinal microflora was different in different age groups, the proportion of 1:2 soybean is the best in 6 months old mice.

〔Keywords〕 soybean; intestinal microflora; *Lactobacillus*; *Bifidobacterium*; *Escherichia coli*; total number of bacteria

近年来,随着肠道微生物研究的深入,越来越多的学者认为肠道微生物是人体的“第二大脑”,其作为“重要的微生物器官”与人体生理功能、健康和疾病密切相关^[1]。有研究报道,诸如肠易激综合征(IBS)、肥胖、糖尿病等危害较大的常见疾病都与肠道菌群失调有关^[2-4]。肠道微生物是膳食与人体健康的桥梁,与营养物质的吸收和代谢息息相关。饮食是影响肠道菌群组成和代谢的重要因素之一,更是

最容易控制或改变的因素。饮食中大量营养成分的类型、数量及平衡状态会影响肠道微生物的组成和数量,同样,微生物会影响食物消化效率,并根据膳食底物产生特定的代谢产物,从而影响其他微生物及宿主健康^[5]。

黄豆(*Glycine max*),享有“豆中之王”的美称。黄豆富含多种营养素,具有提高免疫力、美白护肤、降低血脂、降低血压等多种保健功效,是日常膳食

〔收稿日期〕2016-06-02

〔基金项目〕湖南省教育厅项目基金(13C678),2013年湖南省大学生研究性学习和创新性实验计划项目基金。

〔作者简介〕刘余,女,助教,博士,研究方向:中医治则与治法研究。

〔通讯作者〕*尹抗抗,男,实验师,E-mail:yinkk_001@163.com。

中常见的食物^[6]。本研究长期食用黄豆对肠道微生物的影响,以SPF级KM小鼠为实验对象,通过设计不同年龄组的小鼠以及不同比例的黄豆,旨在为日常合理膳食提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 SPF级KM小鼠72只,雌雄各半,体质量(20±2)g,购于湖南斯莱克斯动物实验有限公司,实验动物许可证:SCXK(湘)2013-0004。

1.1.2 饲料及屏蔽环境实验设施 由湖南中医药大学动物实验中心提供,实验动物使用许可证:SYXK(湘)2013-0005。

1.1.3 培养基牛肉膏蛋白胨琼脂培养基、伊红美蓝琼脂培养基(EMB)、BBL琼脂培养基、MRS琼脂培养基均由长沙丽欣生物技术有限公司提供,培养基的配制参照文献[7]进行。

1.1.4 主要仪器设备 HH·BII·500-S电热恒温培养箱(购于上海博泰实验设备有限公司),SHZ-82气浴恒温振荡器(购于常州国华电器有限公司),手提式压力蒸气灭菌器XY-280(购于合肥华泰医疗设备有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组与干预方法 将小鼠年龄不同分为1月龄组(幼年组),6月龄组(中年组),9月龄组(老年组)三大组,每组24只。每组内再随机分为4个小组,分别是对照组;予以基础饲料喂养;1:1组:予以基础饲料与黄豆比例为1:1饲料喂养;1:2组:予以基础饲料与黄豆比例为1:2饲料喂养;1:4组:予以基础饲料与黄豆比例为1:4饲料喂养。每小组6只,雌雄各半。喂养4月,常规自由饮水饮食。

1.2.2 小鼠肠道内容物的提取 各组小鼠喂养4个月,颈椎脱臼处死后至于超净工作台,无菌采集各组小鼠盲肠段内容物,将同一组别小鼠内容物收集一起置于无菌离心管中。

1.2.3 肠道微生物数量的测定^[8] 无菌操作称取一定量的肠道内容物放入装有玻璃珠的无菌三角瓶中,摇床120 r/min振摇30 min使微生物充分分散,选择合适的稀释度,采用涂抹平板计数法,好氧细菌、大肠杆菌在37℃培养箱中培养24 h后进行菌落计数;乳酸菌、双歧杆菌在37℃厌氧培养箱中培养48 h后计数。每一个稀释度做3次重复,求出平均值并计算每克肠道内容物所含的菌数。

1.2.4 数据处理 所有计量资料整理后采用平均值“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,采用SPSS 17.0统计软件进行单因素方差分析, $P<0.05$ 具有统计学意义。

2 结果

2.1 大豆和基础饲料配比对1月龄小鼠肠道微生物的影响

1月龄小鼠通过喂食不同比例的黄豆后与对照组比较,肠道乳酸菌数、细菌总数、双歧杆菌数和大肠杆菌数均存在不同程度的降低($P<0.01$)。其中1:4组的乳酸菌数和双歧杆菌数含量最低,提示食用黄豆比例越高,反而不利于肠道益生菌的生长。见表1。

表1 1月龄小鼠肠道微生物测定 ($\bar{x}\pm s, n=6, \times 10^7$ CFU/g)

组别	乳酸菌	细菌总数	双歧杆菌	大肠杆菌
对照组	1.89±0.22	1.65±0.49	1.54±0.14	24.21±7.57
1:1组	0.39±0.05**	0.27±0.04**	0.27±0.04**	3.19±0.93**
1:2组	0.61±0.02**	0.10±0.03**#△	0.24±0.032**	5.42±0.48**
1:4组	0.13±0.02**	0.36±0.07**#△△	0.10±0.02**#△	3.94±0.20**
F值	71.341	14.947	23.968	6.422
P值	0.000	0.001	0.000	0.016

注:与对照组比较 ** $P<0.01$;与1:1组比较 # $P<0.05$;与1:2组比较 △ $P<0.01$, △ $P<0.05$ 。

2.2 大豆和基础饲料配比对6月龄小鼠肠道微生物的影响

与对照组比较,给予1:1和1:4比例的黄豆饲养后,肠道乳酸菌数、细菌总数、双歧杆菌数和大肠杆菌数均下降明显($P<0.01$)。1:2比例的黄豆饲养后,肠道乳酸菌数、细菌总数、双歧杆菌数和大肠杆菌数均远远高于其余各组,提示1:2比例的基础饲料与黄豆比例进行小鼠饲养,有利于提高小鼠肠道微生物的丰度。见表2。

表2 6月龄小鼠肠道微生物测定 ($\bar{x}\pm s, n=6, \times 10^6$ CFU/g)

组别	乳酸菌	细菌总数	双歧杆菌	大肠杆菌
对照组	1.82±0.32	7.48±0.24	2.31±0.63	8.46±0.32
1:1组	0.50±0.24**	1.72±0.14**	0.31±0.30**	1.47±0.14**
1:2组	53.12±0.67***#	8.92±0.67***#	10.86±0.67***#	39.94±1.78***#
1:4组	0.07±0.03**#△△	2.11±0.10**#△△	0.45±0.18**#△△	1.51±0.52**#△△
F值	540.266	372.153	4.095	11.413
P值	0.000	0.000	0.049	0.003

注:与对照组比较 ** $P<0.01$;与1:1组比较 ## $P<0.01$;与1:2组比较 △ $P<0.01$ 。

2.3 大豆和基础饲料配比对9月龄小鼠肠道微生物的影响

1:1组小鼠细菌总数和大肠杆菌数与对照组比较显著下降($P<0.01$ 或 $P<0.05$),而双歧杆菌数显著增加($P<0.01$),1:2组小鼠肠道乳酸菌数、细菌总数和大肠杆菌数与对照组比较均显著下降($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。食用1:4比例的黄豆后,小鼠肠道双歧杆

菌数和大肠杆菌数最低,提示肠道优势菌群数量显著减少。见表3。

表3 9月龄小鼠肠道微生物测定 ($\bar{x}\pm s, n=6, \times 10^6\text{CFU/g}$)

组别	乳酸菌	细菌总数	双歧杆菌	大肠杆菌
对照组	6.98±1.86	27.91±2.51	5.37±0.93	17.17±2.46
1:1组	9.62±1.52	8.62±1.52**	16.58±2.50**	11.61±3.04*
1:2组	3.32±1.52*##	4.31±2.07**	6.30±1.52##	6.63±1.52**#
1:4组	5.50±0.86##	5.73±1.13**##△△	1.37±0.24*##△△	1.79±0.24**##△
F值	25.548	91.538	51.464	9.860
P值	0.00	0.000	0.000	0.005

注:与对照组比较 * $P<0.05$, ** $P<0.01$;与1:1组比较 # $P<0.05$, ## $P<0.01$;与1:2组比较 △ $P<0.05$, △△ $P<0.01$ 。

3 讨论

肠道是人体重要的消化吸收场所,也是重要的免疫器官,同时其较为适宜的酸碱条件和营养底物为微生物的栖息提供了良好的环境。越来越多的研究表明,食物的营养价值受宿主肠道菌群结构的影响,但同时食物也会影响肠道微生物的种类、数量及其代谢活动的变化。目前,膳食糖类、膳食脂肪、膳食蛋白质这三大营养元素对于肠道菌群结构的影响研究较多。Zhang等^[9]对大鼠饲喂不同脂肪含量的饲料发现大鼠肠道微生物结构发生了显著性变化,相对于正常组饲养,高脂饮食降低了双歧杆菌和拟杆菌的数量,增加了厚壁菌门和变形菌门的数量。Lubbs等^[10]研究发现高蛋白饮食会增加肠道中大肠杆菌和梭菌的数量。无论是低糖还是高糖饮食,均会影响肠道微生物结构,高纤维饮食会增加肠道中的双歧杆菌的数量,而低纤维饮食会增加普氏菌属的数量^[11]。

肠道微生物大体分为三类:有益菌、有害菌和兼性菌。乳酸菌和双歧杆菌是主体有益菌,其在人体免疫、营养、生长、发育、抗感染、防肿瘤及延缓衰老等过程中均发挥着重要作用。大肠杆菌属兼性菌,在健康人体内不产生副作用,但在疾病、营养不良或因服用抗生素破坏了肠道菌群平衡的机体内,将会对人体造成疾病^[12]。黄豆含丰富的蛋白质,具有抗病毒、免疫调节和调节糖代谢等功能。

小鼠的寿命约1.5~2年,一般来说,小鼠体成熟时间为2月龄,相当于人的18岁左右,小鼠寿命约2年相当于人70岁左右。本实验为探究长期食用黄豆对肠道微生物的影响,以SPF级KM小鼠为实验对象,选取了幼年(1月龄)、中年(6月龄)、老年(9月龄)3个年龄段和1:1、1:2、1:4黄豆比例两种处理因素,以倡导可培养微生物为实验指标,旨在探究不同年龄段、不同比例黄豆对小鼠的影响。研究结果发现1月龄小鼠食用不同比例的黄豆后,肠道乳酸

菌数、细菌总数、大肠杆菌数和双歧杆菌数均出现不同程度的下降($P<0.01$),其中1:4组的乳酸菌数和双歧杆菌数最低,提示食用高比例的黄豆后,幼龄小鼠肠道益生菌数目减少。6月龄小鼠正处于中年时期,食用不同比例的黄豆后发现1:2组小鼠的肠道细菌总数、乳酸菌数、大肠杆菌数和双歧杆菌数明显增加,说明食用1:2黄豆有助于提高小鼠肠道微生物的丰度,完善肠道微生态环境。9月龄小鼠食用较高比例黄豆后,肠道细菌总数、双歧杆菌数和大肠杆菌数下降明显,说明肠道优势菌在数量上降低。

中医认为,黄豆性甘、入脾、归大肠经,有助于营养物质的消化吸收^[13]。研究长期食用黄豆对肠道微生物的影响,有助于从微生态机理研究探究中医理论的疗效机制。由实验结果可知,黄豆的健脾功效可能与通过调整肠道微生态环境,影响食物的分解转化和吸收,补益脾之后天之本有关,但具体的机制还需进一步研究。

参考文献:

- [1] 翟齐啸,田丰伟,王刚,等.肠道微生物与人体健康的研究进展[J]. 食品科学, 2013,34(15): 337-341.
- [2] Kaakoush NO, Day AS, Huinao KD, et al. Microbial dysbiosis in pediatric patients with Crohn's disease[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2012, 50(10): 3258-3266.
- [3] Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunenko T, et al. A core gut microbiome in obese and lean twins [J]. Nature, 2008, 457: 480-484.
- [4] Larsen N, Vogensen F K, van den BERG F W J, et al. Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults[J]. PLOS One, 2010, 5(2): e9085.
- [5] 张晶,覃小丽,刘雄.膳食主成分对肠道微生物的影响研究进展[J].食品科学,2015,36(5):305-309.
- [6] 唐唐.“豆中之王”——黄豆的10种保健功效 [J]. 安全与健康, 2011(5): 51.
- [7] 谭周进,吴海,刘富林,等.超微七味白术散对肠道微生物及酶活性的影响[J].生态学报,2012,32(21):6856-6863.
- [8] 赵兴兵,吴维佳,李丹丹,等.小鼠脾虚便秘造模对肠道微生物及酶活性的影响[J].中国微生态学杂志, 2013, 25(9): 993-996.
- [9] Zhang CH, Li SF, Yang L, et al. Structural modulation of gut microbiota in life-long calorie-restricted mice [J]. Nature Communications, 2013, 4: 1-10. doi: 10.1038/ncomms3.163.
- [10] LUBBS D C, VESTER B M, FASTINGER N D, et al. Dietary protein concentration affects intestinal microbiota of adult cats: a study using DGGE and qPCR to evaluate differences in microbial populations in the feline gastrointestinal tract[J]. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 2009, 93(1): 113-121.
- [11] Connolly ML, Loregrove JA, Tuohy KM. in vitro evaluation of the microbiota modulation abilities of different sized whole oat grain flakes[J]. Anaerobe, 2010, 16(5):483-488.
- [12] 唐由凯,尹文仲.中医学的生态观与现代生态医学.时珍国医国药 [J].2008,19(7):1766-1768.
- [13] 闫晓海,丁松香.黄豆食治疑难病[J].食品与健康,2001(6):47.