

许贺志翔, 杨晓君, 沙迪昕, 等. 胃肠道调理专用奶粉对便秘小鼠肠道动力和菌群组成的影响 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(22): 144–154. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022010005

XU Hezhixiang, YANG Xiaojun, SHA Dixin, et al. Effects of Special Milk Powder for Gastrointestinal Tract Conditioning on Intestinal Motility and Microflora Composition in Constipation Mice[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(22): 144–154. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022010005

· 生物工程 ·

胃肠道调理专用奶粉对便秘小鼠肠道动力和菌群组成的影响

许贺志翔, 杨晓君*, 沙迪昕, 麦迪乃·吾秀尔

(新疆农业大学食品科学与药学院, 新疆乌鲁木齐 830052)

摘要:目的: 研究胃肠道调理专用奶粉润肠通便作用及对肠道菌群的影响。方法: 自制胃肠道调理专用奶粉后, 以 KM 小鼠为实验对象, 采用盐酸洛哌丁胺建立小鼠便秘模型, 以小鼠一般状态、小肠推进率、排便情况、小肠组织观察为考察指标结合 16S rRNA 基因测序分析小鼠粪便, 考察其对小鼠的润肠通便作用及肠道菌群的影响。结果: 胃肠道调理专用奶粉各剂量能够显著 ($P<0.05$) 缩短小鼠首粒排便时间、显著 ($P<0.05$) 提高小鼠小肠推进率, 但未对小鼠小肠杯状细胞结构造成破坏, 且随着剂量的提升, 奶粉的胃肠调理效果越好。胃肠道调理专用奶粉虽然没有明显改变肠道微生物的丰富度和均匀度, 但是能够明显改变小鼠的肠道微生态结构组成, 显著 ($P<0.05$) 增加某些益生菌 *Lactobacillus*、*Bifidobacterium* 的相对丰度。结论: 胃肠道调理专用奶粉能够影响肠道运动, 调节肠道菌群结构从而改善洛哌丁胺引起的便秘。

关键词: 胃肠道调理专用奶粉, 低聚糖, 洛哌丁胺, 肠道菌群, 肠道功能, 便秘小鼠

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)22-0144-11

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022010005

本文网刊:



Effects of Special Milk Powder for Gastrointestinal Tract Conditioning on Intestinal Motility and Microflora Composition in Constipation Mice

XU Hezhixiang, YANG Xiaojun*, SHA Dixin, MEDINA Wuxiuer

(College of Food Science and Pharmacy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China)

Abstract: Objective: To study the effect of special milk powder for gastrointestinal tract conditioning on intestinal bowel and intestinal microflora. Methods: After the preparation of special milk powder for gastrointestinal tract conditioning, KM mice were used as the experimental object to establish constipation models with loperamide hydrochloride. The general state, intestinal propulsion rate, defecation situation, and observation of intestinal tissue were used as the investigation indicators, and 16S rRNA gene sequencing was used to analyze the feces of mice to investigate its effects on the bowel movement and intestinal flora of mice. Results: Each dose of special milk powder for gastrointestinal tract conditioning could shorten the time of first defecation in mice ($P<0.05$) and improve the small intestine thrust rate ($P<0.05$), but did not damage the goblet cell structure of small intestine in mice. With the increasing of dose, the gastrointestinal conditioning effect of milk powder was better. Although the gastrointestinal tract conditioning special milk powder did not significantly change the richness and evenness of intestinal microbes, it could significantly change the composition of intestinal microecological structure of mice, and significantly increase the relative abundance of some probiotics, *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*. Conclusion: Special milk powder for gastrointestinal tract conditioning could affect intestinal movement and regulate intestinal flora structure to improve constipation induce by loperamide.

收稿日期: 2022-01-04

基金项目: 新疆维吾尔自治区重大专项项目 (2020A01001-3-2)。

作者简介: 许贺志翔 (1998-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品加工, E-mail: 2184758271@qq.com。

* 通信作者: 杨晓君 (1971-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 新疆特色天然产物研究开发, E-mail: 1049520138@qq.com。

Key words: special milk powder for gastrointestinal tract conditioning; oligosaccharides; loperamide; intestinal flora; bowel function; constipation mice

目前功能性奶粉中添加的功能因子较多,常见的包括糖类、膳食纤维素、多肽、植物蛋白、益生元类、益生菌^[1-3]。奶粉具有各营养要素均衡全面的特点,通过在奶粉中额外增添益生元或益生元联合不饱和脂肪酸,是协助改善胃及肠道功能和稳定肠道菌群的功能性乳制品开发的新方向,同时是国内乳品生产企业的新的热点。

低聚糖和不饱和脂肪酸已广泛运用于调制乳粉、奶粉、乳饮料等产品中^[4-7]。一般认为功能性低聚糖能特异性诱导肠道内益生菌的生长,同时具有促进肠道蠕动和润肠功效^[8-10]。低聚果糖具有能够调节肠道内菌群的作用^[11]。目前其当做食品配料或辅料,通常在乳品及特定营养保健功能食品有较多应用^[12-14]。低聚木糖是良好的益生菌增殖的功能因子之一^[15]。不饱和脂肪酸也是常添加的功能因子,其中亚油酸具有调节肠道菌群的作用,被广泛用作食品营养补充剂^[16]。

关于添加复配低聚果糖和低聚木糖这种益生元的奶粉达到胃肠道调理功效的研究目前已有报导,但将功能性低聚糖和不饱和脂肪酸组合研究较少,国内外研究人员对单一和复合益生元的胃肠道调理润肠通便功能进行了大量研究报道,但由于目前低聚糖种类繁多,研究结果也不尽相同。且大都集中在婴幼儿配方奶粉,针对成人设计的胃肠道调理专用奶粉研究较少。侯艳梅等^[17]发明了一款促进肠道健康的配方奶粉,在其中添加了酪蛋白巨肽和益生元,对肠道健康的促进具有显著效果。刘绍君等^[18]发明了一款益于中老年人肠道健康的奶粉,在其中添加了菊粉和寡糖等功能因子,具有调节消化道微生物群的作用。黄新红等^[19]发明了一款中老年配方奶粉,在其中添加了可溶性膳食纤维,改善中老年人肠道健康。Maganha 等^[20]对奶粉中添加益生菌后,益生菌的生存力和奶粉功效进行了探讨。Angeles-Agdeppa^[21]选定患有功能性便秘的菲律宾母亲为实验对象,规定实验对象定期饮用含有益生菌和纤维素添加因子的奶粉,发现含有益生菌和纤维素添加因子的奶粉对实验对象的功能性便秘症状具有一定的改善作用。

本试验主要通过小鼠肠道菌群变化情况和胃肠道调节功能的测定,来探究胃肠道调理专用奶粉对肠道益生作用的影响,以期充分利用功能性低聚糖和不饱和脂肪酸,开发功能性乳粉和新产品的开发提供一定的参考价值。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

KM 小鼠 72 只,均为雌性,新疆医科大学实验室动物中心,许可证号: SCXK(新)2018-0002,该动

物实验经过新疆农业大学伦理委员会批准(伦理号: 2021003),适应 3 d,自由饮食;自制胃肠道调理专用奶粉 原料来自新疆西域春乳业有限公司;奶粉市售,蒙牛公司的一款中老年奶粉(含有一定量的低聚糖和膳食纤维),生产批号: 10707CA1;伊文思蓝上海源叶生物有限公司;盐酸洛哌丁胺 西安杨森有限公司。

多功能涡旋混匀仪(VM505) 宁波市鄞州区实验仪器有限公司;粪便 DNA 提取试剂盒 赛默飞公司;MiSeq 测序仪 Illumina 公司;Agilent Bioanalyzer 2100 美国安捷伦公司。

1.2 实验方法

1.2.1 胃肠道调理专用奶粉的配制 将新鲜原料奶进行喷雾干燥,得到喷雾干燥后的全脂奶粉,以 30 g 计各组分添加量分别为,乳固体添加量 81.3%(由全脂奶粉和乳清蛋白粉组成)、低聚糖添加量 6%(低聚果糖与低聚木糖)、共轭亚油酸甘油酯微囊粉添加量 10%、麦芽糊精添加量 2.7%。利用实验室混匀仪采用干混工艺将不同原料进行混匀。

1.2.2 动物分组及造模 将 72 只小鼠随机分为 6 组:空白组、模型组、阳性对照组、低剂量组、中剂量组、高剂量组,每组 12 只。

实验动物造模方法参考方圆之等^[22]的方法,略做改动。空白组(0.9% 生理盐水)、模型组(0.9% 生理盐水+9.38 mg/kg BW 盐酸洛哌丁胺)、阳性对照组(1.25 g/kg BW 市售奶粉+9.38 mg/kg BW 盐酸洛哌丁胺)、低剂量组(0.625 g/kg BW 自制专用奶粉+9.38 mg/kg BW 盐酸洛哌丁胺)、中剂量组(1.25 g/kg BW 自制专用奶粉+9.38 mg/kg BW 盐酸洛哌丁胺)、高剂量组(2.5 g/kg BW 自制专用奶粉+9.38 mg/kg BW 盐酸洛哌丁胺)。

第 1 d 开始除空白组其他各组灌服盐酸洛哌丁胺 9.38 mg/kg BW,每日两次连续 7 d。第 8 d 开始造模边给药,在每日灌服造模药物的同时,空白组和模型组给予 0.9% 生理盐水,奶粉每日摄入 30 g/60 kg/d,相当于 0.5 g/kg BW,分别按推荐量的 1.25、2.5、5 倍设置 3 个剂量,低剂量组为 1.25 倍人体推荐摄入量摄入专用奶粉 0.625 g/kg,小鼠给药浓度 0.28 g/mL;阳性对照组和中剂量组为 2.5 倍人体推荐摄入量摄入专用奶粉 1.25 g/kg,小鼠给药浓度 0.56 g/mL;高剂量为 5 倍人体推荐摄入量摄入专用奶粉 2.5 g/kg,小鼠给药浓度 1.13 g/mL;连续灌服至第 14 d。

1.2.3 一般状态 每日观察实验组及空白组小鼠活动状态情况、毛发颜色变化、体重变化。实验过程中称量每只动物的体重并记录,分别计算比较空

白、其他各组之间体重变化。

1.2.4 专用奶粉对小鼠组织器官的安全性评价 连续灌胃第 14 d 后,随机取造模小鼠、空白组、低剂量组、中剂量组和高剂量组的小鼠各两只,通过脊柱脱位处死动物并打开腹腔以取出各小鼠的小肠,之后进行组织切片观察。

1.2.5 胃肠道调理专用奶粉对洛哌丁胺诱导便秘小鼠的肠道菌群影响 第 14 d 后,新鲜小鼠粪便通过按压和腹部按摩收集至无菌 EP 管,液氮速冻粪便,与-80 °C 冰箱保存。每组随机抽三个样本通过干冰寄送方式,送至上海生工有限公司。进行 16S 微生物分类和测序。提供样本 DNA 并对 V3~V4 区域进行 16S rRNA 基因测序,引物序列为: 341F: CCTA CGGGNGGCWGCAG; 805R: GACTACHVGGGTATCTAATCC。将纯化的扩增产物连接到测序器以建立测序数据库并在 Illumina 平台上对其进行测序。

1.2.6 小鼠排便实验 在 1.2.5 实验后,各小组小鼠禁食但正常饮水 12 h,除空白组,其他各组小鼠灌服盐酸洛哌丁胺(9.38 mg/kg BW) 30 min 后灌服 0.4% 的伊文思蓝(10 mL/kg BW)并开始计时,单个饲养每只实验老鼠,自由进食和饮水,观察并记录第一次排便时间、第一次排便时间及 6 h 排便总粒数。

1.2.7 小鼠小肠推进实验 该实验参考彭祺菲等^[23]的肠推进方法。在 1.2.6 实验后,各小组小鼠禁食但正常饮水 12 h,除空白组,其他各组小鼠灌服盐酸洛哌丁胺(9.38 mg/kg BW) 30 min 后灌服 0.4% 的伊文思蓝(10 mL/kg BW), 20 min 后,处死实验各组小鼠。打开其腹腔,收集从幽门到回盲部的肠道。轻轻拉直肠道,测量小肠的总长度,计算伊文思蓝在小肠小肠内的推进率。

伊文思蓝推进概率(%)=伊文思蓝推进长度(cm)/小肠总长度(cm)×100

1.3 数据处理

实验数据分析应用 SPSS 26 和 R 4.1.2 软件进行数据处理。计量资料以均数±标准差(mean±SD)进行统计描述,组间差异分析采用 *t* 检验方法。 $P<0.05$ 被认为有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 一般状态

整个实验中,小鼠基本状态正常,活动量、毛色均无异常。由表 1 显示,在实验前各组小鼠之间无显著性差异($P>0.05$),实验 14 d 后空白组与模型组、阳性对照组、低剂量组差异显著($P<0.05$),表明盐酸洛哌丁胺对小鼠体重有一定影响,从体重增长数值看,盐酸洛哌丁胺会减缓小鼠体重增长速度。这一结论与黄小丽等^[24]在研究造模组与空白组在体重、粪便含水量及口腔传输时间上有统计学差异结论相一致。此外,实验过程中,小鼠的粪便形状正常,未出现便秘、腹泻以及未出现其他不良症状,表明复配功能性低聚糖和共轭亚油酸的胃肠道调理专用奶粉对小鼠生长状况无不良影响。

表 1 各组小鼠体重变化(1~14 d, n=10)
Table 1 Weight changes of mice in each group (1~14 d, n=10)

组别	实验前体重(g)		14 d后的体重(g)	
	体重	<i>P</i> 值	体重	<i>P</i> 值
空白组	19.8±0.7		24.8±1.6	
模型组	19.7±0.9	0.819	23.3±1.5	0.035
阳性对照组	19.3±1.6	0.387	22.9±1.7	0.009
低剂量组	18.8±1.2	0.071	23.0±1.8	0.014
中剂量组	20.2±1.4	0.429	23.8±1.2	0.137
高剂量组	20.3±1.6	0.403	23.9±1.3	0.176

2.2 胃肠道调理专用奶粉对小鼠的安全性评价

从图 1 中可以看出,各剂量组小鼠小肠壁杯状细胞完整,空白组、阳性对照组和各剂量组没有明显

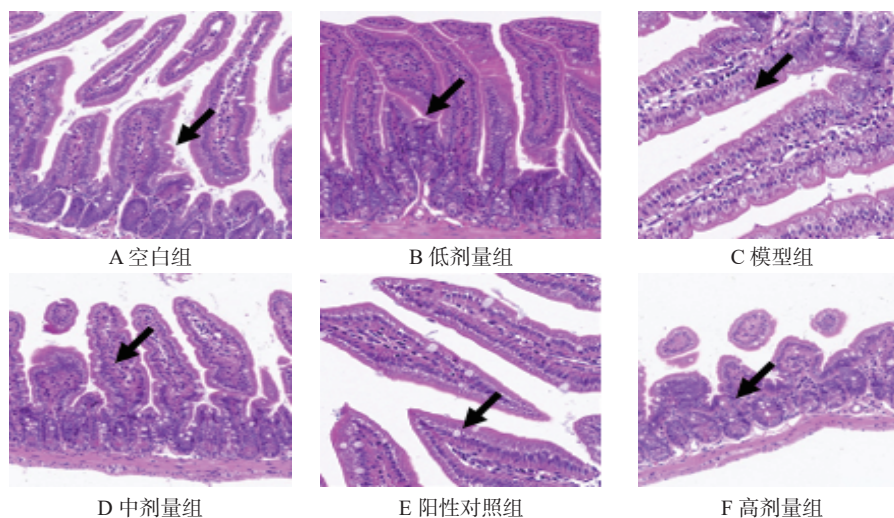


图 1 实验各组小鼠小肠组织切片图

Fig.1 Small intestinal tissue section of experimental groups

注: 图中黑色箭头所指为小肠壁杯状细胞。

差异,说明添加两种低聚糖和共轭亚油酸的专用奶粉对小鼠的小肠没有损坏。此结论与李艳丽^[25]在探究不同剂量功能性低聚糖对小鼠肠道影响的结果相类似。

2.3 胃肠道调理专用奶粉对洛哌丁胺诱导便秘小鼠的肠道菌群 16S rDNA 测序结果分析

2.3.1 粪便样本 α 多样性分析 本研究使用 Shannon 多样性指数(Shannon diversity index)、Faith 的系统发育距离指数(Faith's phylogenetic distance index)和 Pielou 的均匀度指数(Pielou's evenness index)来评估 Alpha 多样性,以评估肠道菌群丰富度和均匀度变化。结果发现:通过盐酸哌罗丁胺药物灌胃构建小鼠便秘模型并不能改变小鼠的肠道菌群丰富度和均匀度。与便秘小鼠相比,给予市售奶粉、低中高剂量的自制奶粉对便秘小鼠肠道菌群丰富度和均匀度也无显著影响。Alpha 多样性分析结果见表 2。

表 2 Alpha 多样性分析
Table 2 Alpha diversity analysis

组别	Shannon多样性指数	Faith's发育距离指数	Pielou's均匀度指数
BC vs CM	0.827	0.827	0.275
CM vs CM+MS	0.275	0.275	0.275
CM vs CM+LP	0.827	0.275	0.513
CM vs CM+MP	0.275	0.827	0.275
CM vs CM+HP	0.050	0.127	0.127
CM+MS vs CM+LP	0.275	0.050	0.275
CM vs CM+MP	0.513	0.127	0.513
CM vs CM+HP	0.275	0.513	0.275

注: BC组为空白对照组; CM组为便秘模型组; CM+MS组为便秘模型+市售奶粉组; CM+LP组为便秘模型+低剂量自制奶粉组; CM+HP组为便秘模型+中剂量自制奶粉组; CM+HP组为便秘模型+高剂量自制奶粉组。

2.3.2 粪便样本 Beta 多样性分析 基于 Weighted UniFrac 和 Bray-Curtis 距离的 Beta 多样性分析用于评估肠道菌群的组间差异,并通过主坐标分析法(principal co-ordinates analysis, PCoA)进行降维可视化。PCoA 分析中发现:样本在空白组、便秘模型组、便秘模型+市售奶粉组、便秘模型+低剂量自制奶粉组、便秘模型+中剂量自制奶粉组、便秘模型+高剂量自制奶粉组均表现出明显的聚类(图 2)。PERMANOVA 方法进行组间的差异比较发现各组间肠道菌群组成结构存在显著差异(PERMANOVA, P -value=0.001)。基于 Bray-Curtis 距离的相似性分析(Analysis of Similarities, ANOSIM)发现组间差异大于组内差异(Bray-Curtis: $R=0.65$, $P<0.001$)。该结果提示:通过盐酸哌罗丁胺药物灌胃构建小鼠便秘模型能够显著改变小鼠的肠道菌群组成结构。同时,与便秘小鼠相比,给予市售奶粉、低中高剂量的自制奶粉对便秘小鼠肠道菌群组成结构也有显著影响。

2.3.3 粪便微生物组成分析 进一步对肠道微生物的物种组成结构进行了分析。本研究发现:在门水平,相对丰度 Top8 的优势菌门包括 Bacteroidetes、Firmicutes、Proteobacteria、Candidatus_Saccharibac-

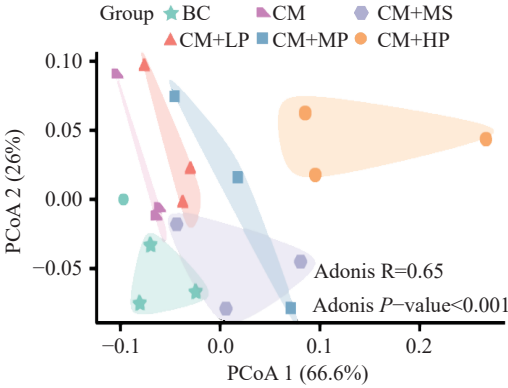


图 2 基于 Bray-Curtis 距离的 PCoA 分析
Fig.2 PCoA analysis based on Bray-Curtis distance

teria、Actinobacteria、Tenericutes、Verrucomicrobia 和 Armatimonadetes(图 3a)。其中 Bacteroidete 和 Firmicutes 的相对丰度最高,可占到 80% 以上,其次是 Proteobacteria,约占 5%~10%。ANOVA 分析发现:与对照组相比,便秘模型小鼠的 Proteobacteria 的相对丰度显著降低。高剂量的自制奶粉可以显著增加便秘小鼠 Firmicutes,降低 Bacteroidetes 的相对丰度。在属水平上,相对丰度 Top20 的优势菌属包括 *Lactobacillus*、*Alistipes*、*Barnesiella*、*Alloprevotella*、*Prevotella*、*Bacteroides*、*Helicobacter*、*Clostridium_XIVa*、*Escherichia_Shigella*、*Ruminococcus*、*Parabacteroides*、*Odoribacter*、*Incertae_sedis*、*Oscillibacter*、*Bifidobacterium*、*Clostridium_IV*、*Flavonifractor*、*Acetatifactor*、*Turicibacter* 和 *Lachnospiracea_incertae_sedis*(图 3b)。ANOVA 分析发现:与空白对照组相比,小鼠便秘模型的 *Allobaculum*、*Escherichia_Shigella* 的相对丰度降低, *Clostridium_IV*、*Erysipelotrichaceae_incertae_sedis* 的相对丰度显著($P<0.05$) 升高。而市售奶粉与低中高剂量的自制奶粉均可降低 *Erysipelotrichaceae_incertae_sedis* 的相对丰度。高剂量自制奶粉可以显著($P<0.05$) 升高 *Lactobacillus* 的相对丰度。

2.3.4 粪便微生物 LEfSe(Linear discriminant analysis Effect Size)分析 通过 LEfSe 分析进行组间差异物种分析,以期找到各组间在相对丰度上有显著差异的物种^[26-27]。图 4a 展示了属水平上 LDA score 大于 2.0 的差异物种,即具有统计学差异的物种标志物,柱状图的长度代表显著差异物种的影响大小。本研究发现:空白对照组的优势菌属包括 *Barnesiella* 和 *Escherichia_Shigella*。便秘模型组的优势菌属包括 *Odoribacter* 和 *Clostridium_IV*。便秘模型+市售产品组的优势菌属包括 *Ruminococcus*。便秘模型+低剂量组的优势菌属包括 *Turicibacter*、*Bifidobacterium*、*Flavonifractor*。便秘模型+高等剂量组的优势菌属包括乳酸菌属(*Lactobacillus*)。图 4b 展示了差异物种的进化分支图。由内至外辐射的圆圈代表了由门至属的分类级别。在不同分类级别上的每一个小圆圈代表该水平下的一个分类,小圆圈直

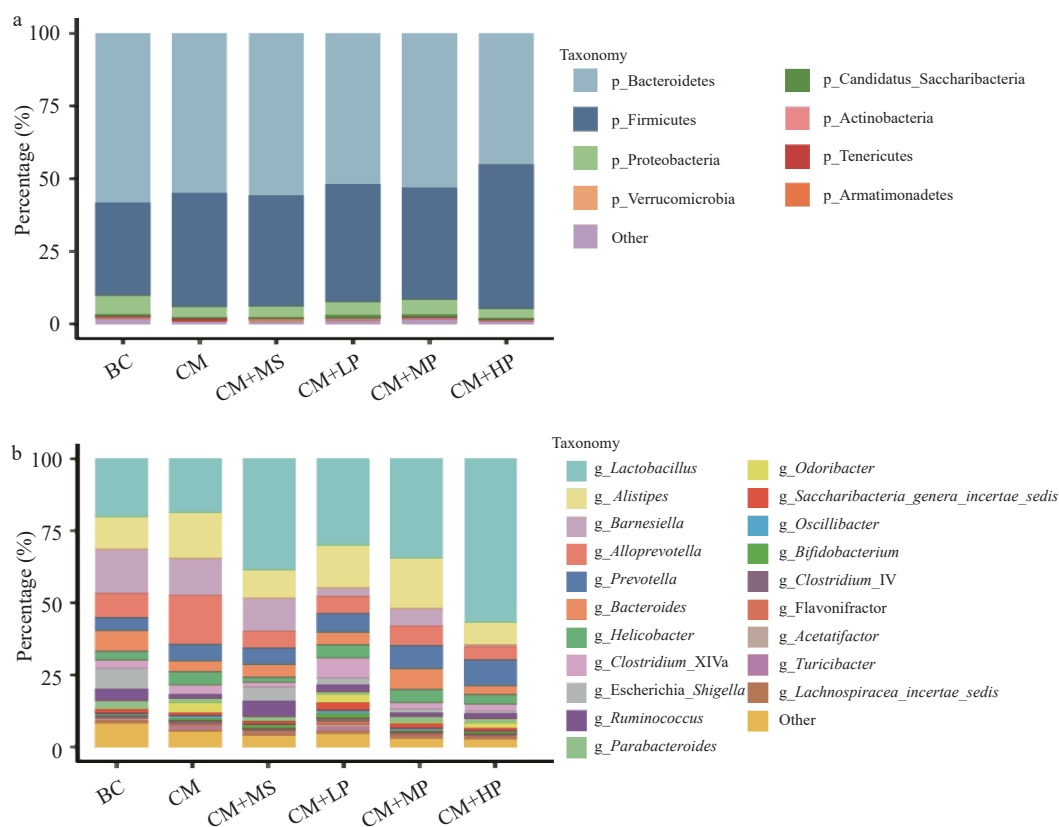
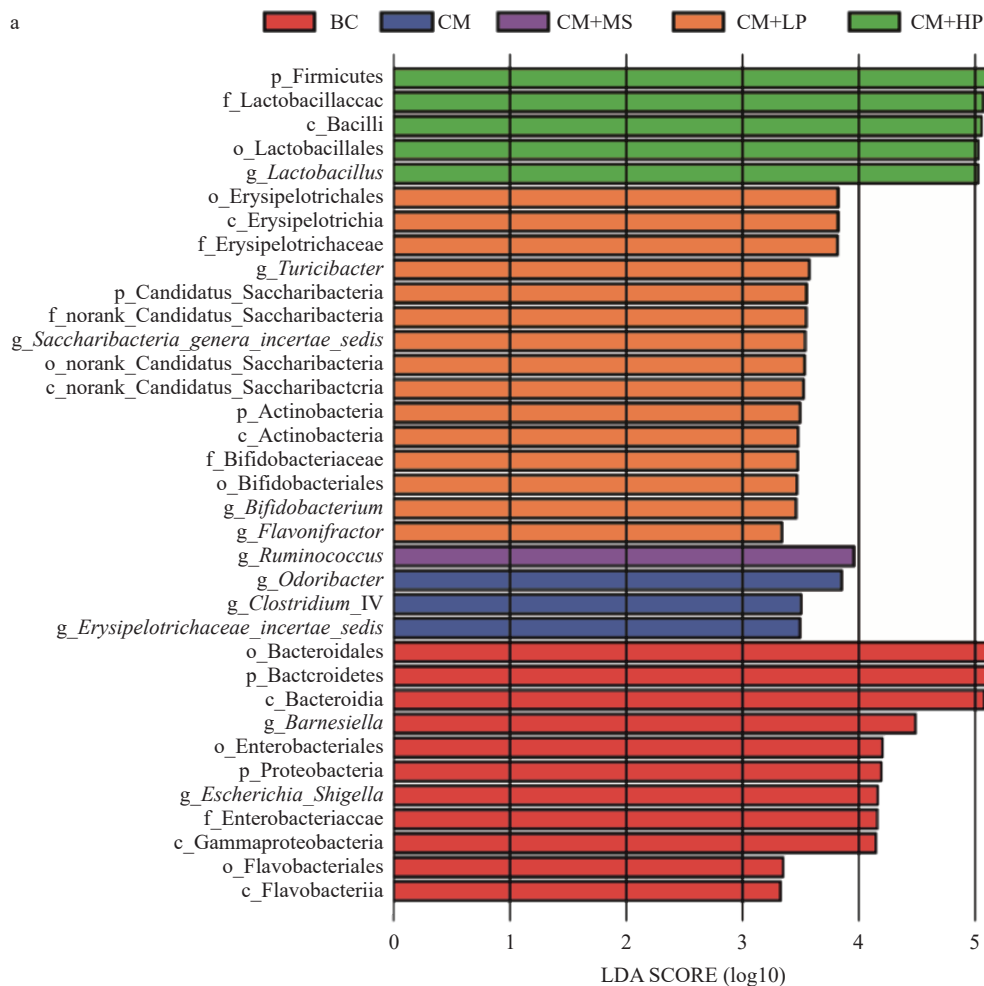


图3 物种组成堆叠柱状图

Fig.3 Stacked bar diagram of species composition

注: a: 门水平 Top8 菌门; b: 属水平 Top20 菌属。



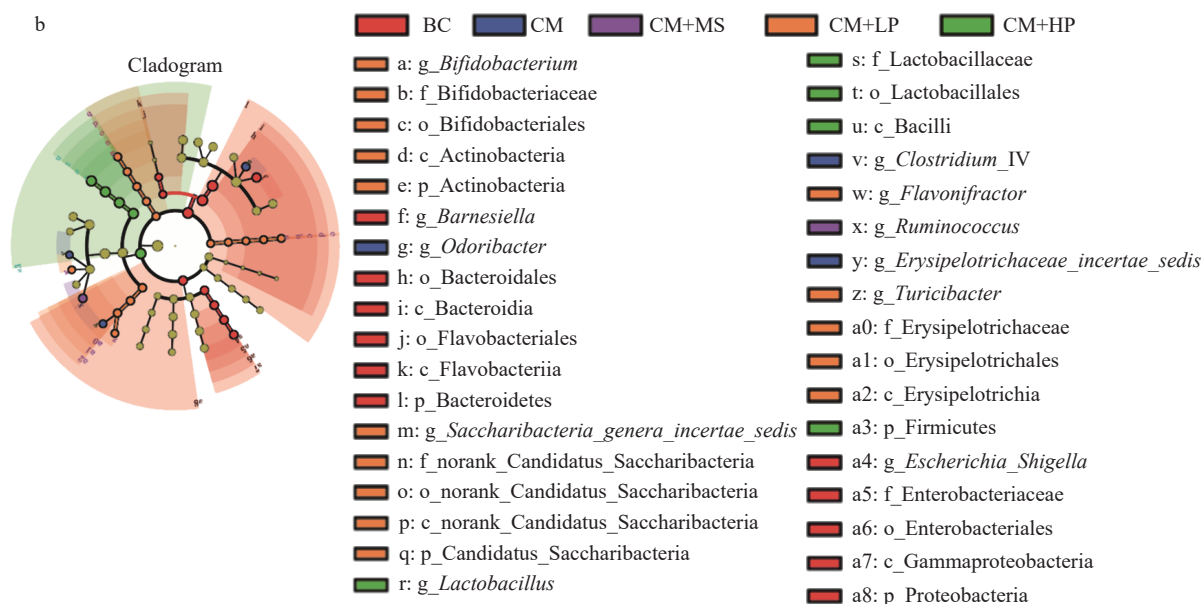


图 4 LEfSe 分析

Fig.4 LEfSe analysis

注: a 为各组差异物种 LDA 值分布柱状图, LDA score 值设置为 2.0; b 为各组差异物种进化分布支图。

径大小与相对丰度大小呈正比。无显著差异的物种统一着色为黄色, 差异物种颜色与分组颜色一致。图中英文字母表示的物种名称在右侧图例中进行展示。

进一步通过 LEfSe 方法比较发现: 与空白对照组相比, 便秘模型组有显著富集的 *Odoribacter* 和 *Clostridium_IV* (见图 5)。先前的研究表明, 致病菌 *Odoribacter*、*Clostridium* 与肠道并发症如结肠炎的

发生有关, 添加双歧杆菌(*Bifidobacterium*)能够缓解便秘模型小鼠的症状, 在属水平上增加乳酸菌(*Lactobacillus*)的丰度, 降低 *Alistipes*、*Odoribacter* 和 *Clostridium* 的水平^[28]。这与本文的结果存在一致性。市售产品是能够显著改善便秘症状的润肠通便的奶粉, 本文的研究发现添加市售产品能够提高便秘小鼠 *Lactobacillus* 和瘤胃球菌(*Ruminococcus*)的相对丰度, 降低 *Odoribacter* 和 *Clostridium_IV* 的相对丰度。低剂量的自制产品能够显著增加 *Ruminococcus* 和 *Bifidobacterium* 的相对丰度, 中高剂量的自制产品可能显著增高 *Lactobacillus* 的相对丰度(图 6)。

综上所述, 通过盐酸哌罗丁胺药物灌胃构建小鼠便秘模型, 虽然没有明显改变肠道微生物的丰富度和均匀度, 但是能够显著改变小鼠的肠道微生态结构组成, 主要表现为 *Odoribacter* 和 *Clostridium_IV* 的显著富集。添加市场产品和自制产品均能改善便秘小鼠的症状, 并能显著增加某些益生菌 *Lactobacillus*、*Bifidobacterium* 和 *Ruminococcus* 的相对丰度。因此, 胃肠道调理专用奶粉可能是通过调节益生菌种类改变肠腔内环境, 影响肠道的运动和分泌, 从而缓解便秘。

2.4 粪便质量的测定

由表 3 可知, 与空白组比较, 模型组小鼠首粒排便时间、首粒排蓝便时间显著增加 ($P < 0.05$)、6 h 排便总粒数显著减少 ($P < 0.05$), 说明便秘模型造模成功。与模型组比较, 阳性对照组首次排便时间和 6 h 排便粒数没有显著差异 ($P > 0.05$), 表明市售奶粉虽然有一定胃肠道调理作用但不明显, 阳性对照组与低剂量组在首次排便时间、排蓝便时间、6 h 排便总粒数均出现显著差异, 表明低剂量专用奶粉作用效果与阳性对照组作用相似。自制胃肠道调理专用奶粉具有

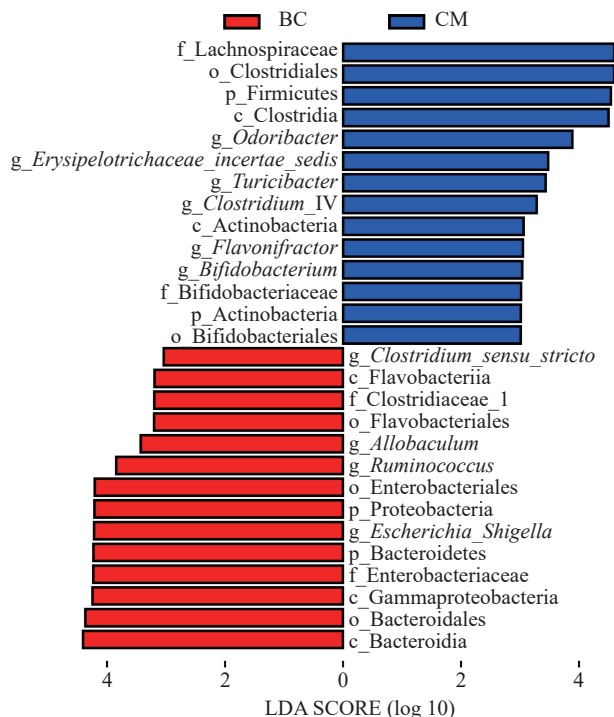


图 5 LEfSe 分析

Fig.5 LEfSe analysis

注: 便秘模型组和空白对照组的差异物种 LDA 值分布柱状图, LDA score 值设置为 2.0; 图中 BC 组为空白对照组, CM 组为便秘模型组。

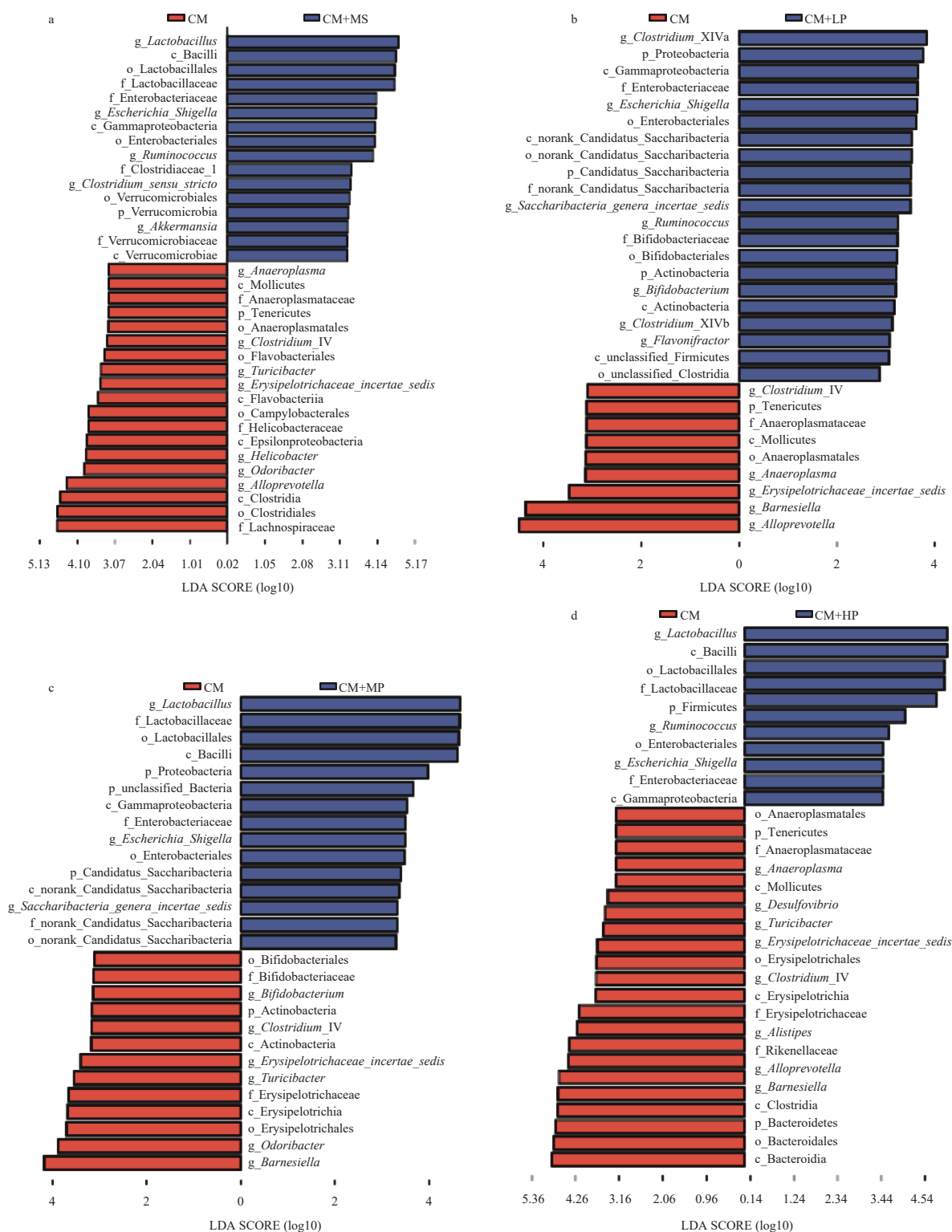


图6 LefSe分析

Fig.6 LefSe analysis

注: 差异物种 LDA 值分布柱状图, LDA score 值设置为 2.0。

显著促进便秘小鼠首次排便时间和首次蓝便时间的作用,且呈剂量相关性。增加胃肠道调理专用奶粉的剂量,则增加了促进小鼠排便的效果。实验结果与翟红梅等^[29]在探究益生元奶粉对大鼠排便的影响实验结果相类似。而不同剂量组之间的6h排便粒数没有显著差异($P>0.05$),分析原因可能与粪便大小不同、以及粪便软硬程度和含水量不同。

2.5 小肠推进作用变化

表4显示,模型组伊文思蓝的推进率与空白组伊文思蓝的推进率相比有显著差异($P<0.05$),这说明在盐酸洛哌丁胺作用下成功建立了小鼠的便秘模型。小鼠灌胃不同剂量胃肠道调理专用奶粉14d后,墨汁推进率在阳性对照组与模型组间无显著差异($P>0.05$),而低、中、高剂量组小鼠的伊文思蓝推进

表 3 胃肠道调理专用奶粉对小鼠首粒排便时间、首粒排便时间和 6 h 排便粒数和粪便性状的影响

Table 3 Effects of special milk powder for gastrointestinal tract conditioning on the time of first defecation, the time of first blue defecation, the number of defecation grains and fecal traits at 6 h in mice

组别	动物数量 (只)	首次排便时 间(min)	首次排蓝便时 间(min)	6 h排便粒数 (粒)	粪便性 状
空白组	7	127.6±13.7 ^a	185.6±13.4 ^c	27.7±5.3 ^a	正常大便
模型组	7	232.6±19.7 ^a	305.6±7.3 ^a	13.3±3.8 ^c	较硬
阳性对照组	7	216.4±13.9 ^{ab}	281.9±16.1 ^b	16.3±4.2 ^{bc}	软便
低剂量组	7	204.4±16 ^b	267.1±7.4 ^b	17.4±2.9 ^{bc}	软便
中剂量组	7	195.1±12.4 ^c	251.3±14.2 ^c	19.6±3.8 ^b	软便
高剂量组	7	171.4±8.4 ^d	231.7±11.8 ^d	21.9±3.9 ^b	软便

注: 同列不同小写字母表示差异显著, $P<0.01$; 表4同。

表 4 胃肠道调理专用奶粉对小鼠小肠推进作用的影响

Table 4 Effect of special milk powder for gastrointestinal tract conditioning on small intestine propulsion in mice

组别	动物数量(只)	小肠总长(cm)	推进距离(cm)	推进率(%)
空白组	10	37.1±2.9	26.0±4.1	69.8±6.7 ^a
模型组	10	34.8±4.2	13.9±2.2	39.7±2.3 ^d
阳性对照组	10	36.2±2.1	16.2±2.8	44.5±5.7 ^{cd}
低剂量组	10	35.8±2.3	17.3±1.9	48.1±3.4 ^c
中剂量组	10	36.6±3.3	18.2±1.9	49.8±2.5 ^{bc}
高剂量组	10	36.8±4.8	20.2±3.4	54.8±3.8 ^b

率较模型组均有显著增加($P<0.05$), 说明胃肠道调理专用奶粉可以促进小鼠的肠道蠕动, 并且随着剂量的增加, 伊文思蓝推进率也随之提高。而阳性对照组市售奶粉虽有作用, 但表现不明显。此结论与刘萌颖^[30]在探究奶粉中不同低聚糖添加量对小鼠润肠通便肠推进的影响作用结果相一致。表明含有低聚糖和亚油酸的胃肠道调理专用奶粉可以促进和增强小鼠小肠的推进力。而低剂量组和中剂量组体现出相似的推进率。

3 讨论

大量研究表明, 亚油酸具有调节肠道菌群, 影响肠道微生态的潜在功能^[31-32]。通过给大鼠灌服功能性低聚糖可以调节其体内肠道菌群, 促进胃肠道蠕动^[33-34]。本试验通过对小鼠肠道菌群及胃肠道调理效果的测定, 探究胃肠道调理专用奶粉中复配低聚糖和共轭亚油酸对肠道益生功能的影响。实验结果表明胃肠道调理专用奶粉可缩短小鼠首粒排便时间、增加小肠推进率, 不影响小鼠小肠壁的杯状细胞。胃肠道调理专用奶粉也能够调节小鼠粪便菌群, 虽然没有明显改变肠道微生物的丰富度和均匀度, 但是能够显著改变小鼠的肠道微生态结构组成, 主要表现为 *Odoribacter* 和 *Clostridium_IV* 的显著富集。添加市场产品和自制产品均能改善便秘小鼠的症状, 并能显著增加某些益生菌 *Lactobacillus*、*Bifidobacterium* 和 *Ruminococcus* 的相对丰度。因此, 添加自制产品

可能是通过调节益生菌种类改变肠腔内环境, 影响肠道的运动和分泌, 从而缓解便秘。

钱成等^[35]在通过喂养小鼠含共轭亚油酸功能组分的配方食品后发现能调节肠道菌群丰富度, 抑制促炎症因子。赵铭琪等^[36]通过体内动物实验研究发现不同低聚糖剂量组的婴儿配方乳粉对小鼠肠道推进的影响作用不同, 喂养含 5.5 g/100 g 低聚糖的乳粉对小鼠通便效果较好。Angeliki 等^[37]连续给婴幼儿喂养含有低聚果糖的配方奶粉, 低聚糖喂养组相比安慰剂组排便频率显著增加, 并且粪便中双歧杆菌占比大幅增加。周水岳^[38]在观测配方奶粉中添加低聚糖对大鼠影响过程中发现, 添加低聚糖的配方奶粉显著提高了大鼠的养分表观消化率和小肠中某些酶活性。Finegold 等^[39]通过给予受试者低聚木糖收集粪便进行微生物分类测序, 结果发现给予功能性低聚木糖可显著增加肠道菌群中总厌氧菌和拟杆菌两种菌的丰度, 同时得出补充低聚木糖可能有利于胃肠道微生物群。Hartigh 等^[40]研究发现在给予共轭亚油酸的小鼠粪便中, 乙酸和丁酸的浓度显著升高, 同时, 通过每日给小鼠补充膳食共轭亚油酸后, 经过高通量 DNA 测序检测发现小鼠肠道菌群发生较大变化, 致病菌有显著降低的情况。

通常情况下, 肠道菌群物种组成多样性降低被认为是与疾病的发生有关。但是 Ma 等^[41]通过荟萃分析比较了先前发表的 27 项人类微生物群相关疾病(Microbiome-associated diseases, MAD)研究中健康个体和患病个体的微生物多样性和组成, 提出菌群多样性与菌群相关疾病没有统计上严格的相关关系, 微生物组的总体物种多样性并不是疾病的可靠指标。与非便秘自闭症儿童相比, 便秘自闭症儿童的肠道菌群 Alpha 多样性增加, 该结果提示便秘可能增加了自闭症患者体内肠道菌群的异质性特征^[42]。但是最近也有一项临床研究证明: 粪菌移植(Fecal microbiota transplantation, FMT)能够重塑便秘患者的肠道微生物群, 缓解临床症状, 增加菌群的 alpha 多样性, 提示更加丰富的肠道菌群多样性可能更有利于便秘的缓解^[43]。因此, 目前关于肠道菌群多样性在便秘发生中的作用, 以及改善菌群多样性是否能够有助于缓解便秘的问题没有得到一致的结论, 有待大样本、多个时间点取样的纵向研究^[44]。

肠道微生态失调是便秘的一个重要特征, 本文的研究也验证了这个结果。肠道菌群能通过初级胆汁酸(Bileacids, BAs)^[45]、短链脂肪酸(short-chain fatty acid, SCFAs)^[46]和 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)等多种代谢产物介导便秘的发生。先前的研究表明益生菌对便秘的治疗作用通过调节肠道微生物群的组成和功能变化, 涉及丁酸和神经递质的产生^[47]。自制奶粉的主要成分-低聚糖与肠道菌群的相互作用关系最近也引起了广泛关注。膳食结构中含有低聚糖能够影响肠易激综合征患者的肠道菌群组

成^[48]。SCFAs等肠道菌群代谢产物也可以作为肠道刺激素通过激活分布在肠道平滑肌细胞、肠神经元和肠上皮细胞上的特异性受体来影响肠道的感觉、分泌和运动,从而调节肠道功能,影响便秘^[49]。自制奶粉的另一种主要成分亚油酸,是一种多不饱和脂肪酸,可通过宿主受体信号通路调节免疫反应^[50]。魔芋葡甘聚糖是一种功能性低聚糖,对便秘小鼠有促排泄作用,其机制可能涉及调节某些氨基酸生物合成(即苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸)、亚油酸代谢、次级代谢物生物合成和花生四烯酸代谢信号通路^[51]。因此,自制奶粉可能通过调节肠道菌群组成和代谢产物的生成,对便秘产生影响。

Xie等^[52]发现FMT可缓解便秘症状,改变便秘患者的粪便微生物组Alpha和Beta多样性,FMT后小鼠粪便菌群的Actinobacteria(*Bifidobacterium*), Proteobacteria(*Escherichia*)和Firmicute(*Lactobacillus*)的相对丰度显著增加。生育期便秘妇女的肠道菌群也表现Proteobacteria水平的显著下降^[53]。这与本文的结果存在一致性,提示Proteobacteria水平的降低可能与便秘的发生有关。Firmicutes/Bacteroidetes(F/B)比率被认为对维持正常肠道内环境平衡具有重要作用。低聚糖可通过增加粪便含水量和小肠转运率来治疗便秘。添加低聚糖的便秘小鼠的肠道微生物群以Firmicutes、Bacteroidetes和Actinobacteria为主^[28]。另外,便秘型肠易激综合征患者也表现出Erysipelotrichaceae的显著升高,而添加益生菌能够改善功能性便秘患者的肠道功能,伴随着Ruminococcaceae水平的升高和Erysipelotrichaceae水平的显著降低。因此,肠道菌群组成结构的变化可能与便秘的发生和缓解有关。

研究表明,致病菌*Odoribacter*、*Clostridium*与肠道并发症如结肠炎的发生有关。添加双歧杆菌(*Bifidobacterium*)能够缓解便秘模型小鼠的症状,在属水平上增加乳酸菌(*Lactobacillus*)的丰度,降低Alistipes、*Odoribacter*和*Clostridium*的水平^[28]。这与本文的结果存在一致性。市售产品是现在公认的能够显著改善便秘症状的润肠通便的奶粉,本文研究发现添加市售产品能够提高便秘小鼠*Lactobacillus*和瘤胃球菌(*Ruminococcus*)的相对丰度,降低*Odoribacter*和*Clostridium*_IV的相对丰度。低剂量的自制产品能够显著增加*Ruminococcus*和*Bifidobacterium*的相对丰度,中高剂量的自制产品可能显著增高*Lactobacillus*的相对丰度(图6)。*Lactobacillus*是最常用的益生菌之一,先前的研究表明,*Lactobacillus*能够显著改善儿童功能性便秘。*Lactobacillus*可通过产生短链脂肪酸、降低肠道腔内pH和促进结肠蠕动,这与该菌影响结肠肌电细胞的频率和速度有关^[54]。*Lactobacillus acidophilus*和*Bifidobacterium bifidum*也可通过释放神经信号来加快肠道运动^[55]。用特定无病原体微生物群的定植能够

小肠移行运动复合体恢复正常^[56],*Lactobacillus acidophilus*、*Bifidobacterium bifidum*的定植能够使无菌大鼠的小肠移行运动复合体和肠道转运时间恢复正常^[57]。Strati等^[58]研究了自闭症患者便秘和非便秘患者肠道微生物群,发现肠道中的*Ruminococcus*与便秘症状负相关。

4 结论

不同剂量的胃肠道调节专用奶粉均能缩短小鼠的首次排便时间,提高肠道推进率,但不损害小鼠小肠杯状细胞结构。且随着剂量的提升,胃肠道调理专用奶粉的功能效果越好。阳性对照组的市售奶粉虽然具有一定功能,但效果不及胃肠道调理专用奶粉。肠胃调理用奶粉虽未明显改变肠道微生物的丰富度和均匀度,但可以明显改变小鼠肠道微生态结构的组成,明显增加一些益生菌乳酸杆菌和双歧杆菌的相对丰度。同时验证在奶粉中添加复配低聚糖和不饱和脂肪酸达到润肠通便的可行性,此项研究结果为低聚糖和不饱和脂肪酸在功能性奶粉的应用开发提供一定理论支持。

参考文献

- [1] 孙燕明. 乳企加码中老年奶粉功能化、配方化是大势所趋[J]. 中国食品, 2021(22): 82-83. [SUN Yanming. It is the general trend for dairy enterprises to add functional and formula milk powder for middle-aged and old people[J]. China Food, 2021(22): 82-83.]
- [2] 龙晓蕾, 刘美佟, 尹晓晨, 等. 含益生元配方奶粉对婴儿肠道微生态的影响[J]. 实用预防医学, 2020, 27(8): 954-956. [LONG Xiaolei, LIU Meitong, YIN Xiaochen, et al. Effect of prebiotic-containing milk powder on intestinal microecology of infants[J]. Practical Preventive Medicine, 2020, 27(8): 954-956.]
- [3] CAMARGO NOVAES S S, HELLMMEISTER DANTAS F B, ALVIM I D, et al. Experimental method to obtain a uniform food powder mixture of omega-3 microcapsules and whole milk powder[J]. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie/Food Science and Technology, 2018(12): 37.
- [4] 赵若春, 赵晓勤, 毛开云. 我国功能性低聚糖产业发展现状及发展趋势分析[J]. 生物产业技术, 2018(6): 5-8. [ZHAO Ruochun, ZHAO Xiaoqin, MAO Kaiyun. Development status and trend analysis of functional oligosaccharide industry in China[J]. Biotechnology, 2018(6): 5-8.]
- [5] BOUILLON G A, GÅSERØD O, RATTRAY F P. Evaluation of the inhibitory effect of alginate oligosaccharide on yeast and mould in yoghurt[J]. International Dairy Journal, 2019, 99: 104554.
- [6] ICHINOSE T, KATO M, MATSUZAKI K, et al. Beneficial effects of docosahexaenoic acid-enriched milk beverage intake on cognitive function in healthy elderly Japanese: A 12-month randomized, double-blind, placebo-controlled trial[J]. Journal of Functional Foods, 2020, 74: 104195.
- [7] 金磊. 富含共轭亚油酸酸奶的特性研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2015. [JIN Lei. Study on characteristics of yoghurt rich in conjugated linoleic acid[D]. Nanchang: Nanchang University, 2015.]
- [8] CATENZA K F, DONKOR K K. Recent approaches for the quantitative analysis of functional oligosaccharides used in the food

- industry: A review[J]. Food Chemistry, 2021, 355(2): 129416.
- [9] YANG H J. The function and application of xylo-oligosaccharides in large healthy foods[J]. Fine and Specialty Chemicals, 2017, 25(11): 14-16.
- [10] ZHANG P, ZHANG M, KAIXIANG M A, et al. The effects of commonly used prebiotics on the growth of three strains of probiotics *in vitro* [J]. Chinese Journal of Microecology, 2019, 31(1): 21-24.
- [11] 田洪民, 王淑屏. 低聚果糖联合锌制剂对小儿迁延性腹泻的治疗效果及对其肠道菌群结构的影响[J]. 中国微生态学杂志, 2020, 32(5): 575-579. [TIAN Hongmin, WANG Shuping. Effect of fructose-oligosaccharides combined with zinc preparation on intestinal microflora structure of children with persistent diarrhea[J]. Chinese Journal of Microecology, 2020, 32(5): 575-579.]
- [12] 李红. 低聚糖在功能性食品中的应用研究进展[J]. 现代食品, 2021(11): 55-57. [LI Hong. Research progress on the application of oligosaccharides in functional food[J]. Modern Food, 2021(11): 55-57.]
- [13] SINGLA V, CHAKKARAVARTHI S. Applications of prebiotics in food industry: A review[J]. Food Science and Technology International, 2017, 23(8): 15-17.
- [14] HANAU S, ALMUGADAM S H, SAPIENZA E, et al. Schematic overview of oligosaccharides, with survey on their major physiological effects and a focus on milk ones[J]. Carbohydrate Polymer Technologies and Applications, 2020(1): 100013.
- [15] MIAO C, SHUJUN L, UDDIN I K M S, et al. The effect of xylooligosaccharide, xylan, and whole wheat bran on the human gut bacteria[J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 568457.
- [16] 余梦为, 郇萍, 付碧石, 等. 共轭亚油酸生物合成及其对肠道菌群影响的研究进展[J]. 食品科技, 2020, 45(3): 28-35. [YU Mengwei, LI Ping, FU Bishi, et al. Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its effects on intestinal flora: A review[J]. Food Science and Technology, 2020, 45(3): 28-35.]
- [17] 侯艳梅, 刘柯驿, 周天啸. 一种促进肠道健康的配方奶粉: 中国, 107668208A[P]. 2018-02-09. [HOU Yanmei, LIU Keyi, ZHOU Tianxiao. A formula to promote intestinal health: China, 107668208A[P]. 2018-02-09.]
- [18] 刘绍君, 沈五雄. 一种有益于中老年人肠道健康的奶粉: 中国, 107212097A[P]. 2017-09-29. [LIU Shaojun, SHEN Wuxiong. A kind of milk powder beneficial to the intestinal health of middle-aged and old people: China, 107212097A[P]. 2017-09-29.]
- [19] 黄新红, 张丽茹, 张雪, 等. 一种中老年人配方奶粉: 中国, 111602720A[P]. 2020-09-01. [HUANG Xinhong, ZHANG Liru, ZHANG Xue, et al. A formula milk powder for middle-aged and old people: China, 111602720A[P]. 2020-09-01.]
- [20] MAGANHA L C, ROSIM R E, CORASSIN C H, et al. Viability of probiotic bacteria in fermented skim milk produced with different levels of milk powder and sugar[J]. International Journal of Dairy Technology, 2014, 67(1): 89-94.
- [21] ANGELES-AGDEPPA I. Do probiotics and fibre in milk powder have an effect on functional constipation and general wellbeing of Filipino mothers?[J]. Malaysian Journal of Nutrition, 2018, 24(1): 125-137.
- [22] 方圆之, 高杰. 白芍的通便作用及其对便秘小鼠结肠 AQP4、VIP 表达的影响[J]. 山东中医杂志, 2017, 36(1): 62-65. [FANG Yuanzhi, GAO Jie. Effect of *Paeonia lactiflora* on the expression of AQP4 and VIP in colon of constipation mice[J]. Shandong Journal of Traditional Chinese Medicine, 2017, 36(1): 62-65.]
- [23] 彭祺菲, 阿依姑丽·艾合麦提, 王妙颖, 等. 野山杏果肉不溶性膳食纤维对小鼠肠道功能及肠道菌群的影响[J]. 食品工业科技, 2020, 41(8): 307-310. [PENG Zhenfei, AYIGULI Aihemetti, WANG Miaoying, et al. Effects of insoluble dietary fiber of wild apricot pulp on intestinal function and intestinal microflora in mice[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(8): 307-310.]
- [24] 黄小丽, 陈琳, 陈晨, 等. 3 种便秘模型的比较研究[J]. 四川动物, 2015, 34(1): 111-116. [HUANG Xiaoli, CHEN Lin, CHEN Chen, et al. Comparative study of three constipation models[J]. Sichuan Zoology, 2015, 34(1): 111-116.]
- [25] 李艳莉. 低聚糖对婴儿肠道菌群的益生功能[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2012. [LI Yanli. Prebiotic function of oligosaccharides on intestinal flora of infants[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2012.]
- [26] ASTUDILLO-GARCIA C, HERMANS S M, STEVENSON B, et al. Microbial assemblages and bioindicators as proxies for ecosystem health status: Potential and limitations[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2019, 103(16): 6407-6410.
- [27] SEGATA N, IZARD J, WALDRON L, et al. Metagenomic biomarker discovery and explanation[J]. Genome Biology, 2011, 12(6): 1-18.
- [28] WANG L, HU L, YAN S, et al. Effects of different oligosaccharides at various dosages on the composition of gut microbiota and short-chain fatty acids in mice with constipation[J]. Food & Function, 2017, 8(5): 1966-1978.
- [29] 翟红梅, 房新平. 益生元奶粉对便秘大鼠润肠排毒功能的影响研究[J]. 产业与科技论坛, 2014, 13(6): 64-66. [ZHAI Hongmei, FANG Xinping. Effect of prebiotic milk powder on intestinal detoxification in constipation rats[J]. Industry & Science & Technology Forum, 2014, 13(6): 64-66.]
- [30] 刘萌颖. 婴儿配方奶粉中低聚糖对肠道益生功能的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2018. [LIU Mengying. Effects of oligosaccharides in infant formula on intestinal probiotics[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2018.]
- [31] 李彤, 黄芳, 陈杰东, 等. 共轭亚油酸对高脂饲料诱导肥胖大鼠脂质蓄积和肠道菌群的影响[J]. 食品工业科技, 2022, 43(2): 346-353. [LI Tong, HUANG Fang, CHEN Jiedong, et al. Effects of conjugated linoleic acid on lipid accumulation and intestinal microflora in obese rats induced by high fat diet[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(2): 346-353.]
- [32] 杨若言, 张帆, 靳稼熙, 等. 饮食与肠道菌群关系的研究进展[J]. 中国微生态学杂志, 2020, 32(9): 1113-1117. [YANG Ruoyan, ZHANG Fan, JIN Ganxi, et al. Research progress on the relationship between diet and intestinal flora[J]. Chinese Journal of Microecology, 2020, 32(9): 1113-1117.]
- [33] 陈远东, 卢红艳, 常明, 等. 低聚半乳糖对早产大鼠肠道菌群的调节作用[J]. 重庆医学, 2017, 46(8): 1015-1016. [CHEN Yuandong, LU Hongyan, CHANG Ming, et al. Effects of galactose oligosaccharide on intestinal microflora in preterm rats[J]. Chong-

- qing Medical Journal, 2017, 46(8): 1015–1016.]
- [34] SINGH D P, SINGH J, BOPARAI R K, et al. Isomaltoligosaccharides, a prebiotic, functionally augment green tea effects against high fat diet-induced metabolic alterations via preventing gut dysbacteriosis in mice[J]. Pharmacological Research, 2017, 9(123): 103–113.
- [35] 钱成, 王鸿超, 张秋香, 等. 含共轭亚油酸功能组分配方对慢性肠炎的改善作用[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(17): 87–93.
- [QIAN Cheng, WANG Hongchao, ZHANG Qiuxiang, et al. Effects of conjugated linoleic acid on chronic enteritis[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(17): 87–93.]
- [36] 赵铭琪, 张宏达, 王立娜, 等. 婴儿配方乳粉中低聚糖添加量对肠道益生功能的影响[J]. 食品科技, 2019, 44(1): 63–67.
- [ZHAO Mingqi, ZHANG Hongda, WANG Lina, et al. Effects of dietary oligosaccharides in infant formula milk powder on intestinal probiotics[J]. Food Science and Technology, 2019, 44(1): 63–67.]
- [37] ANGELIKI K, CHRISTOS C, CHRISTINA O, et al. The effect of a fructo-oligosaccharide supplemented formula on gut flora of preterm infants[J]. Early Human Development, 2007, 83(5): 335–339.
- [38] 周水岳. 低聚糖对幼龄动物生产性能、血液生化指标和养分利用的影响[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2018. [ZHOU Shuiyue. Effects of oligosaccharides on performance, blood biochemical indices and nutrient utilization of young animals[D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2018.]
- [39] FINEGOLD S M, LI Z, SUMMANEN P H, et al. Xylooligosaccharide increases *Bifidobacteria* but not *Lactobacilli* in human gut microbiota[J]. Food & Function, 2014, 5(3): 436.
- [40] HARTIGH D, LAURA. Obese mice losing weight due to trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid supplementation or food restriction harbor distinct gut microbiota[J]. The Journal of Nutrition: Official Organ of the American Institute of Nutrition, 2018, 148(4): 562–572.
- [41] MA Z, LI L, GOTELLI N J. Diversity-disease relationships and shared species analyses for human microbiome-associated diseases[J]. The ISME Journal, 2019, 8(8): 13.
- [42] DAN Z, MAO X, LIU Q, et al. Altered gut microbial profile is associated with abnormal metabolism activity of autism spectrum disorder[J]. Gut Microbes, 2020, 11(5): 1–22.
- [43] PINN D M, ARONIADIS O C, BRANDT L J. Is fecal microbiota transplantation (FMT) an effective treatment for patients with functional gastrointestinal disorders (FGID)?[J]. Neurogastroenterol Motil, 2015, 27(1): 19–29.
- [44] ZHANG S, WANG R, LI D, et al. Role of gut microbiota in functional constipation[J]. Gastroenterology Report, 2021, 9(5): 35–36.
- [45] WAHLSTRÖM A, SAYIN SAMA I, MARSCHALL H U, et al. Intestinal crosstalk between bile acids and microbiota and its impact on host metabolism[J]. Cell Metabolism, 2016, 24(1): 41–50.
- [46] JALANKA J, MAJOR G, MURRAY K, et al. The effect of psyllium husk on intestinal microbiota in constipated patients and healthy controls[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(2): 15–17.
- [47] MAKIZAKI Y, UEMOTO T, YOKOTA H, et al. Improvement of loperamide-induced slow transit constipation by *Bifidobacterium bifidum* G9-1 is mediated by the correction of butyrate production and neurotransmitter profile due to improvement in dysbiosis[J]. PloS One, 2021, 16(3): e0248584.
- [48] BENNET S, BOHN L, STRSRUD S, et al. Multivariate modelling of faecal bacterial profiles of patients with IBS predicts responsiveness to a diet low in FODMAPs[J]. Gut, 2018, 67(5): 872–881.
- [49] WANG J, YAO S. Roles of gut microbiota and metabolites in pathogenesis of functional constipation[J]. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine:eCAM, 2021, 2021: 5560310.
- [50] ALEXANDER M, TURNBAUGH P J. Deconstructing mechanisms of diet-microbiome-immune interactions[J]. Immunity, 2020, 53(2): 264–276.
- [51] ZHANG Q, ZHONG D, REN Y Y, et al. Effect of konjac glucomannan on metabolites in the stomach, small intestine and large intestine of constipated mice and prediction of the KEGG pathway[J]. Food & Function, 2021, 7(7): 12.
- [52] XIE L, XU C, FAN Y, et al. Effect of fecal microbiota transplantation in patients with slow transit constipation and the relative mechanisms based on the protein digestion and absorption pathway[J]. Journal of Translational Medicine, 2021, 19(1): 490.
- [53] LI H, CHEN J, REN X, et al. Gut microbiota composition changes in constipated women of reproductive age[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2021, 53(2): 264–276.
- [54] KUBOTA, ITO, TOMIMOTO, et al. *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 and magnesium oxide in children with functional chronic constipation: A double-blind and randomized clinical trial[J]. Nutrients, 2020, 12(1): 225.
- [55] GE X, ZHAO W, DING C, et al. Potential role of fecal microbiota from patients with slow transit constipation in the regulation of gastrointestinal motility[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 441.
- [56] HUSEBYE E, HELLSTRÖM P M, MIDTVEDT T. Intestinal microflora stimulates myoelectric activity of rat small intestine by promoting cyclic initiation and aboral propagation of migrating myoelectric complex[J]. Dig Dis, 1994, 39(5): 946–956.
- [57] EH E, HELLSTRM P M, SUNDLER F, et al. Influence of microbial species on small intestinal myoelectric activity and transit in germ-free rats[J]. American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology, 2001, 280(3): 368–380.
- [58] STRATI F, CAVALIERI D, ALBANESE D, et al. New evidences on the altered gut microbiota in autism spectrum disorders[J]. Microbiome, 2017, 5(24): 24.