

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2022.60056

益生菌复合配方对小鼠肠道功能的影响

Effects of composite probiotics on the intestinal function in mice

汪家琦^{1,2,3}康文丽^{1,2,3}吴忠坤^{1,2}唐溶雪^{1,2}彭 灿⁴WANG Jia-qi^{1,2,3}KANG Wen-li^{1,2,3}WU Zhong-kun^{1,2}TANG Rong-xue^{1,2}PENG Can⁴戴智勇^{1,2,3}董 玲^{1,2,3}潘丽娜^{1,2,3}DAI Zhi-yong^{1,2,3}DONG Ling^{1,2,3}PAN Li-na^{1,2,3}

(1. 澳优乳业〔中国〕有限公司, 湖南 长沙 410127; 2. 湖南澳优食品与营养研究院, 湖南 长沙 410299; 3. 人体微生态制品湖南省工程研究中心, 湖南 长沙 410017; 4. 锦乔生物科技有限公司, 江苏 淮安 223005)

(1. Ausnutria Dairy [China] Co., Ltd., Changsha, Hunan 410127, China; 2. Ausnutria Food and Nutrition Research Institute, Changsha, Hunan 410299, China; 3. Hunan Engineering Research Center of Human Microecological Products, Changsha, Hunan 410017, China; 4. Jin Qiao Biotech Co., Ltd., Huaian, Jiangsu 223005, China)

摘要:目的:推动益生菌复合配方工业化生产。方法:建立小鼠便秘、肠黏膜损伤、腹泻模型,考察对照组、模型组和干预组小鼠的小肠墨汁推进率、排便情况、肠黏膜组织切片,并结合肠黏膜损伤评分和腹泻评分进行综合评价。结果:与模型组相比,中、高浓度益生菌复合配方能显著提高便秘模型小鼠的黑便粒数、重量和小肠墨汁推进率,同时显著降低肠黏膜损伤模型小鼠的肠黏膜损伤评分,减轻组织病理损伤。对于腹泻模型小鼠而言,低、中、高浓度益生菌复合配方干预均可显著降低小鼠肠黏膜损伤等级。结论:中、高浓度的益生菌复合配方均具有改善小鼠便秘,减轻肠黏膜损伤,缓解腹泻症状的作用,其中高浓度效果更佳。

关键词:益生菌;便秘;腹泻;肠黏膜损伤;肠道功能

Abstract: Objective: The study aimed to explore the effects of composite probiotics on the intestinal regulation. **Methods:** By constructing mouse model of constipation, intestinal damage and diarrhea, the intestinal ink propulsion, defecation and intestinal mucosal tissue sections in the control group, model group and probiotics-intervention group were evaluated. The diarrhea index and intestinal mucosal damage index were also considered for

基金项目:湖南省创新平台与人才计划“湖南省营养健康品工程技术研究中心”项目(编号:2019TP2066)

作者简介:汪家琦,男,澳优乳业(中国)有限公司高级工程师,博士。

通信作者:潘丽娜(1982—),女,澳优乳业(中国)有限公司高级工程师,在读博士。E-mail:lina.pan@ausnutria.com

收稿日期:2022-04-09 **改回日期:**2022-07-13

comprehensively assessment. **Results:** Compared with the model group, the mid- and high-concentration of composite probiotics could significantly improve the defecation amount and weight, and the small intestinal ink propulsion rate. Moreover, the intestinal mucosal damage score and histopathological damage were apparently reduced in the probiotics-intervention group at mid- and high-concentrations. The intestinal mucosal damage of diarrhea model mice was relieved by the composite probiotics at all tested concentrations. The mid- and high-concentration of the composite probiotics helped reduce constipation, diarrhea, and intestinal mucosal damage, and the higher concentration worked more effectively. **Conclusion:** The composite probiotics can be used as an alternative for the probiotics market and provide references for the development of probiotics product.

Keywords: probiotics; constipation; diarrhea; intestinal mucosal damage; intestinal function

常见胃肠道疾病如便秘、腹泻和炎症性肠病等胃肠道疾病严重影响人们的生活质量。益生菌是一类对宿主有益的活的微生物,具有维持肠道内环境稳态,抑制有害菌的生长,调节肠道微生物组成,增强机体免疫力等作用^[1-2]。有研究^[3]发现,益生菌的摄入能有效调节肠道菌群,降低 pH,增强小肠蠕动,改善便秘。益生菌制剂对维持肠道菌群紊乱,提高肠道菌群的定殖能力具有显著效果^[4-5]。

研究拟通过构建盐酸洛哌丁胺诱导的功能性便秘、DSS 诱导的肠黏膜损伤、抗生素诱导的腹泻 3 种模型,探

究益生菌复合配方对小鼠小肠墨汁推进率、排便情况、肠黏膜组织切片、肠黏膜损伤评分、腹泻评分等指标的影响,为推动益生菌复合配方工业化生产,应用于肠道疾病的合理有效性提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

萃可舒益生菌复合配方:具体成分为乳双歧杆菌 CP-9 (*Bifidobacterium lactis* CP-9)、婴儿双歧杆菌 BLI-02 (*Bifidobacterium infantis* BLI-02)、短双歧杆菌 BV-889 (*Bifidobacterium breve* BV-889)、鼠李糖乳杆菌 MP-108 (*Lactobacillus rhamnosus* MP-108)、嗜热链球菌 SY-66 (*Streptococcus thermophilus* SY-66),辅料为低聚半乳糖、低聚乳糖、麦芽糊精、乳糖醇,澳优乳业(中国)有限公司;

盐酸洛哌丁胺:美国 Selleck 公司;

阿拉伯树胶:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

活性炭粉:型号为 10006619,国药集团化学试剂有限公司;

硫酸葡聚糖钠(DSS):北京酷来搏科技有限公司;

硫酸庆大霉素注射液:2 mL,8 万单位/支,批号 5120106,上海现代哈森(商丘)药业有限公司;

头孢拉定胶囊:0.25 g/粒,批号 110804,广州白云山医药集团股份有限公司;

其他试剂均为分析纯。

1.1.2 仪器与设备

显微镜:SG50-2A43L-A 型,苏州神鹰光学有限公司;

组织切片机:McIlwain 型,上海玉研科学仪器有限公司;

超净工作台:BBS-SDC 型,济南鑫贝西生物技术有限公司;

灭菌锅:LMQ.C 型,山东新华医疗器械股份有限公司;

高速冷冻离心机:5810R 型,德国艾本德股份公司。

1.2 试验动物

健康雄性 BALB/c 小鼠 300 只,体重 18~22 g,伦理审核编号为 JN.No20190530b3000730,饲养于江南大学动物中心,SPF 级屏障环境,来源于北京维通利华实验动物技术有限公司。

1.3 便秘模型

益生菌复合配方人体推荐用量为 6 g/d,以人体摄入量的 1,10,30 倍,设低、中、高 3 个剂量组(活菌数分别为 1.5×10^8 , 1.5×10^9 , 4.5×10^9 CFU),1 个空白对照组和 1 个模型对照组,每组 15 只动物,灌胃量为 0.2 mL/只,且每 2 d 调整灌胃量,具体试验安排及分组见表 1。

表 1 便秘模型小鼠试验安排及分组情况

Table 1 Trial arrangement of mouse constipation model

分组名称	分组描述	小鼠数量/只
空白组	生理盐水灌胃共 15 d	15
模型组	盐酸洛哌丁胺 (10 mg/kg BW) 灌胃前 7 d	15
	生理盐水灌胃共 15 d	
低浓度组	盐酸洛哌丁胺 (10 mg/kg BW) 灌胃前 7 d	15
	活菌数 1.5×10^8 CFU 益生菌菌液灌胃共 15 d	
中浓度组	盐酸洛哌丁胺 (10 mg/kg BW) 灌胃前 7 d	15
	活菌数 1.5×10^9 CFU 益生菌菌液灌胃共 15 d	
高浓度组	盐酸洛哌丁胺 (10 mg/kg BW) 灌胃前 7 d	15
	活菌数 4.5×10^9 CFU 益生菌菌液灌胃共 15 d	

1.3.1 墨汁推进率测定 通过灌胃药物洛哌丁胺,建立小鼠便秘模型,计算一定时间内小肠的墨汁推进率,来判断模型小鼠胃肠蠕动功能^[6]。给药洛哌丁胺 0.5 h 后,低、中、高剂量组分别给予含受试样品的墨汁(含 5%活性炭粉、10%阿拉伯树胶),空白对照组和模型对照组小鼠给予墨汁灌胃。25 min 后立即脱颈椎处死动物,打开腹腔分离肠系膜,剪取上端自幽门、下端至回盲部的肠管,置于托盘上,轻拉成直线,测量肠管长度为小肠总长度,从幽门至墨汁前沿为墨汁推进长度^[7]。并按式(1)计算墨汁推进率。

$$M = \frac{L_1}{L} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

M ——墨汁推进率, %;

L_1 ——墨汁推进长度, cm;

L ——小肠总长度, cm。

1.3.2 排便时间、粪便粒数和粪便重量测定 通过测定小鼠首次排黑便时间和 6 h 内排便粒数和排便重量,分析模型小鼠的排便情况^[8]。通过灌胃不同浓度的益生菌复合配方,测定益生菌复合配方的肠道调节作用及对便秘的缓解作用^[9-10]。

1.4 肠黏膜损伤模型

通过饮水给予 3%硫酸葡聚糖,建立小鼠肠黏膜损伤模型,观察肠黏膜病理组织学改变,以此判断模型小鼠肠黏膜损伤情况^[11]。通过灌胃不同浓度的益生菌复合配方,观察其对肠黏膜的保护作用。具体试验分组情况见表 2。

1.4.1 大便情况疾病活动度(DAI)评分 检测各组小鼠大便情况疾病活动度,分析各组的病症情况,具体评分细则见表 3。

表 2 肠黏膜损伤小鼠试验安排及分组情况

Table 2 Trial arrangement of mouse intestinal mucosal damage model

分组名称	分组描述	老鼠数量/只
空白组	生理盐水灌胃 13 d	15
模型组	前 7 d 3% DSS 灌胃, 后 6 d 生理盐水灌胃	15
低浓度组	前 7 d 3% DSS 灌胃, 后 6 d 活菌数 1.5×10^8 CFU 益生菌菌液灌胃	15
中浓度组	前 7 d 3% DSS 灌胃, 后 6 d 活菌数 1.5×10^9 CFU 益生菌菌液灌胃	15
高浓度组	前 7 d 3% DSS 灌胃, 后 6 d 活菌数 4.5×10^9 CFU 益生菌菌液灌胃	15

表 3 大便情况疾病活动度 (DAI) 评分细则

Table 3 Disease activity index (DAI) of mice stool

评分	大便性状	隐血或血便
0	正常	阴性
1	软便	阴性
2	软便	隐血阳性
3	腹泻	隐血阳性

1.4.2 苏木精—伊红 (HE) 染色及肠黏膜损伤评价 给予受试样品 13 d 后, 剪取盲肠末端至肛门的完整结肠、直肠肠管, 观察各组小鼠结肠变化, 测量结肠长度和重量并制作石蜡切片, 进行 HE 染色后观察病理组织学变化, 并按 Chiu 肠黏膜损伤评分表 (表 4) 进行评分^[12-13]。

1.5 腹泻模型

采用混合抗生素造成菌群紊乱引起的腹泻模型, 给予受试样品并观察小鼠腹泻症状及肠黏膜的改变, 由此判断受试样品对小鼠腹泻的影响作用^[14]。小鼠灌胃混合抗生素主要是由硫酸庆大霉素注射液和头孢拉定胶囊组

表 4 Chiu 肠黏膜损伤评分表

Table 4 Chiu intestinal mucosal damage score

肠黏膜损伤程度	肠黏膜组织结构变化
1 级	正常肠黏膜绒毛
2 级	上皮下间隙扩大, 通常在长绒毛顶端, 常有上皮充血
3 级	上皮下间隙扩张, 伴有中等程度的上皮层从肠黏膜固有层脱落
4 级	肠黏膜侧面大块上皮脱落, 大顶端部分长绒毛变光滑
5 级	肠绒毛变光滑, 毛细血管扩张, 肠黏膜固有层细胞构成增加
6 级	肠黏膜固有层消化和分界, 出血和出现溃疡

成, 将硫酸庆大霉素注射液和头孢拉定胶囊用无菌生理盐水配成质量浓度为 62.5 g/L 的抗生素混合液^[15], 造成小鼠体内菌群紊乱而引起腹泻。通过灌胃不同浓度的益生菌复合配方, 研究益生菌复合配方对肠黏膜损伤和腹泻症状的改善作用, 具体的小鼠试验方案见表 5, 观察每组病理组织学、肠黏膜损伤评分及腹泻情况。

表 5 腹泻小鼠试验安排及分组情况

Table 5 Trial arrangement of mouse diarrhea model

分组名称	组别	老鼠数量/只
空白组	生理盐水灌胃 14 d	15
模型组	前 7 d 混合抗生素灌胃, 后 7 d 生理盐水灌胃	15
低浓度组	前 7 d 混合抗生素灌胃, 后 7 d 活菌数 1.5×10^8 CFU 益生菌菌液灌胃	15
中浓度组	前 7 d 混合抗生素灌胃, 后 7 d 活菌数 1.5×10^9 CFU 益生菌菌液灌胃	15
高浓度组	前 7 d 混合抗生素灌胃, 后 7 d 活菌数 4.5×10^9 CFU 益生菌菌液灌胃	15

每天观察并记录小鼠形态行为、活动及排便情况, 并按照 Akinobu Kurita 腹泻评分表进行评分^[16]。0 分: 大便正常或没有; 1 分: 轻度腹泻, 大便可见轻微湿软; 2 分: 中度腹泻, 大便较湿且不成型, 并有轻度肛周着色; 3 分: 重度腹泻, 水样便并伴有重度肛周着色。停药 24 h 后出现的腹泻为迟发性腹泻。

1.6 数据处理

采用 SPSS 22.0 统计软件进行分析^[17]。对非正态或方差不齐的数据进行适当的变量转换再进行统计; 若变量转换后仍未达到正态或方差齐的目的, 改用秩和检验进行统计。字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 益生菌复合配方对小鼠便秘的影响

2.1.1 对小肠墨汁推进率的影响 由表 6 可知, 与空白组相比, 模型组墨汁推进率显著降低 ($P < 0.05$), 说明便秘模型成立。而与模型组相比, 低浓度组无显著差异, 益生菌复合配方 (中、高浓度组) 能显著提高墨汁推进率 ($P < 0.05$), 但高浓度组与空白组的墨汁推进率无显著差异, 说明低浓度益生菌作用较弱, 且复合菌液浓度越高, 推进率越高。在高浓度益生菌的干预下, 小肠墨汁推进率能接近正常水平, 说明益生菌在便秘条件下能显著提高小鼠肠道推进率, 并呈浓度依赖性。

2.1.2 对小鼠首粒黑便时间、粒数及重量的影响 由图 1 可知, 与空白组相比, 模型组首粒黑便时间、黑便粒数、黑便重量均有显著差异 ($P < 0.05$), 说明便秘模型建立成功。与模型组相比, 干预组 (中、高浓度的益生菌复合配方) 能

显著缩短首粒黑便形成时间,并显著增加 6 h 内黑便粒数及重量($P < 0.05$);但低浓度益生菌组无明显作用效果;高浓度益生菌组可恢复至接近空白组水平,说明低浓度益生菌改善便秘的效果不显著,中、高浓度益生菌复合配方的摄入可显著促进小鼠肠道蠕动,进而促进小鼠排便效果,特别是在高浓度的益生菌干预下小鼠能恢复到正常水平。

有研究^[18-19]表明,微生态失衡也是便秘发生的关键因素之一。其中成人便秘患者双歧杆菌属、乳酸杆菌属、拟杆菌属、链球菌属均显著降低^[20]。微生物提高肠道动力的原因有:①微生物主要通过发酵产生短链脂肪酸、甲烷等刺激肠道神经系统,加快肠道转运^[21];②肠道菌群可影响 5-羟色胺(神经内分泌因子和胃肠激素)的产生,促进肠动力^[22]。陈家伦等^[23]研究表明,益生菌组合物

表 6 益生菌复合配方对小鼠小肠墨汁推进率的影响

Table 6 Effects of the composite probiotics on intestinal ink propulsion rate in mice

分组名称	墨汁推进率/%
空白组	87.14 ± 14.25 ^a
模型组	32.42 ± 10.19 ^c
低浓度组	40.11 ± 11.03 ^c
中浓度组	55.58 ± 11.75 ^b
高浓度组	68.99 ± 11.57 ^a

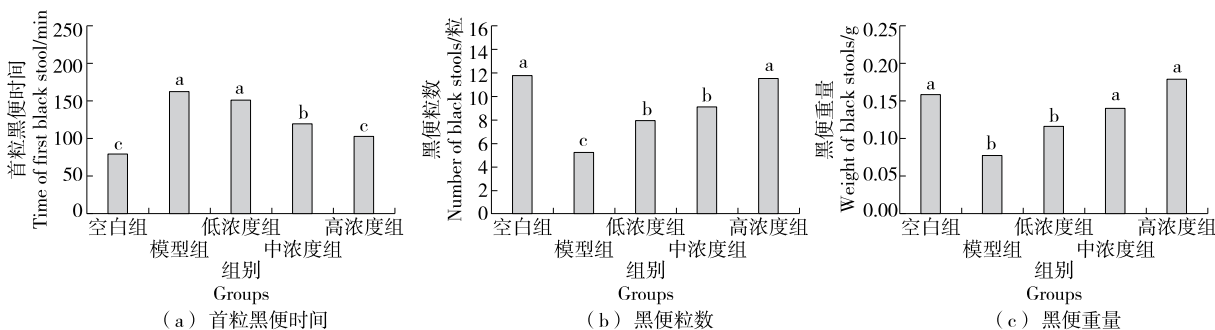


图 1 益生菌复合配方对小鼠 6 h 内首粒黑便时间、粒数及重量的影响

Figure 1 Effects of composite probiotics on the first defecation time, grain number and weight of 6 h black stools in mice

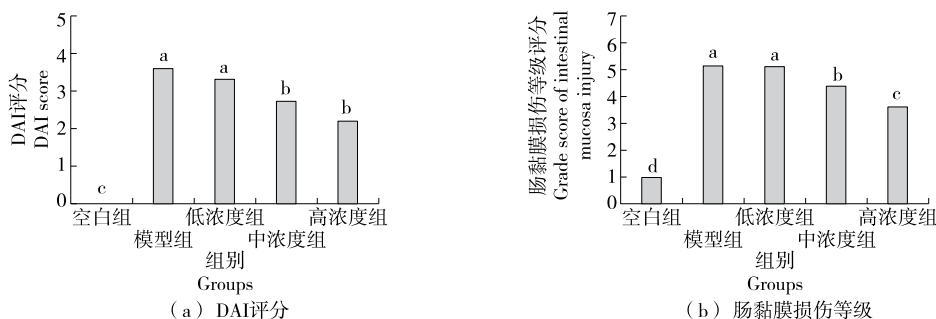


图 2 益生菌复合配方对小鼠大便情况疾病活动度(DAI)及结肠黏膜评分的影响

Figure 2 Effects of composite probiotics on the disease activity index (DAI) and colonic mucosa grading in mice

低、高剂量组可显著提高小肠推进率、黑便粒数和黑便重量,显著降低首粒黑便时间,具有改善慢传输型便秘的作用,与试验结果一致。

2.2 益生菌复合配方对小鼠肠炎的影响

2.2.1 大便情况疾病活动度(DAI)评价及肠黏膜损伤等级 由图 2 可知,模型组和干预组(低、中、高浓度组)DAI 得分均高于空白组,说明各组均有不同程度的疾病症状。与空白组相比,模型组小鼠 DAI 评分显著增加($P < 0.05$);与模型组相比,干预组(低、中、高浓度组)小鼠 DAI 评分随干预组中益生菌浓度的升高而降低。此外,经 DSS 干预的小鼠肠黏膜损伤评分等级均显著高于空白组小鼠($P < 0.05$),说明 DSS 干预的小鼠出现了急性肠炎的症状,造模成功。与模型组相比,低浓度组干预后的小鼠肠黏膜损伤评分等级无显著差异,而中、高浓度组干预后的小鼠肠黏膜损伤评分均显著降低。说明中、高浓度的益生菌复合配方在急性肠炎症状下对肠黏膜有保护作用,且高浓度组的效果更佳,但仍未恢复至空白组水平。

2.2.2 结肠组织切片 由图 3 可知,与正常组小鼠结肠组织相比,模型组小鼠结肠组织出现明显的炎症,隐窝结构组织被破坏;与模型组相比,益生菌复合配方组大部分隐窝损伤被修复,组织结构逐渐恢复正常。益生菌复合配方能显著降低 DAI 及结肠黏膜损伤评分,可能是益生菌中含有一些专性厌氧菌,可以长期在肠道中定殖,具有

维持小鼠肠道微生态平衡的功能^[24]。同时益生菌中具有可以调节肠道屏障功能因子,可以分泌抗病源活性物质以抑制病原微生物的生长并有效阻止致病菌对小肠上皮细胞的损伤^[25]。另外,益生菌中有一些可产丁酸的菌株,丁酸可有效地修复肠道黏膜上皮组织的再生,并具有一定的抗炎作用^[26]。

2.3 益生菌复合配方对小鼠腹泻的影响

2.3.1 对小鼠腹泻评分、结肠长度及重量的影响 由图 4

可知,根据腹泻评分,空白组无腹泻症状,其他各组均有不同程度的腹泻症状。与空白组相比,其他各组腹泻评分均有显著差异($P < 0.05$),说明使用混合抗生素构建小鼠腹泻模型成功。模型组与空白组结肠长度无显著差异,说明腹泻对结肠长度无明显影响。在益生菌干预下结肠重量比正常小鼠更加发达,高浓度组与模型组的结肠重量具有显著差异($P < 0.05$),说明高浓度益生菌对结肠重量有明显作用。

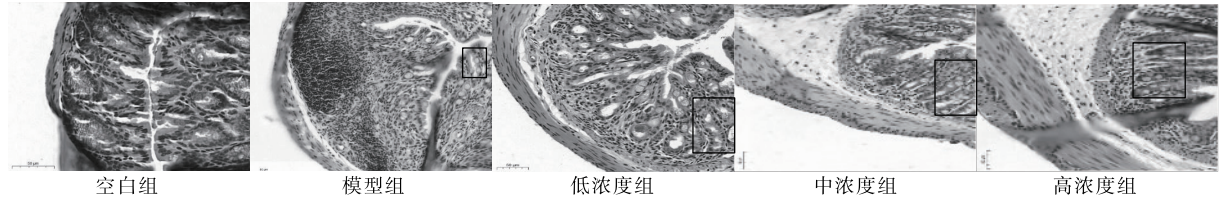


图 3 结肠组织切片

Figure 3 Slices of the colon tissues

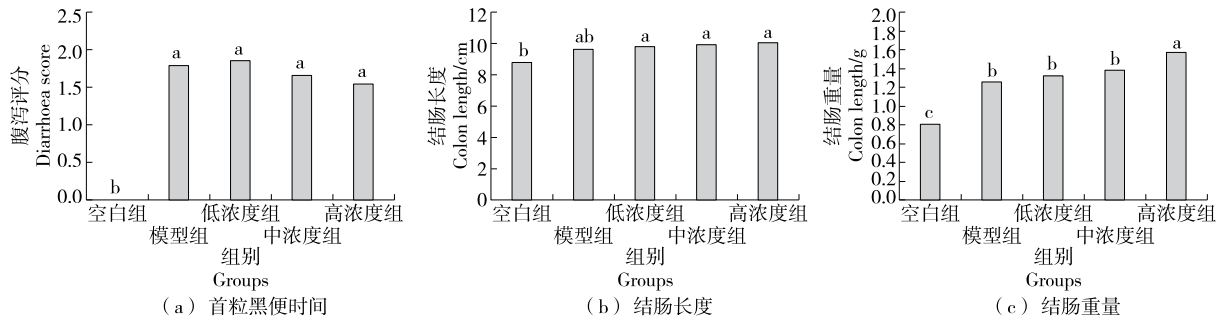


图 4 益生菌复合配方对小鼠腹泻评分、结肠长度及重量的影响

Figure 4 Effects of composite probiotics on the diarrhea score, colon length and colon weight

2.3.2 对结肠黏膜损伤的影响 由表 7 可知,与空白组相比,其他组肠黏膜损伤评分均具有显著差异($P < 0.05$),说明腹泻模型造模成功。与模型组相比,干预组的肠黏膜损伤等级均显著降低,具有保护肠黏膜的作用($P < 0.05$)。由图 5 可知,与正常组小鼠结肠组织相比,模型组小鼠结肠组织出现明显的炎症,隐窝结构组织被破坏;与模型组相比,益生菌复合配方组大部分隐窝损伤被修复,组织结构逐渐恢复正常。

抗生素造成腹泻的机制有:① 抗生素直接引起肠黏膜损害,造成肠上皮纤毛萎缩,降低胞内酶活性,导致胆汁合成障碍,减少脂肪吸收,最终造成腹泻;② 抗生素的

表 7 益生菌复合配方在小鼠腹泻时对其结肠黏膜损伤的影响

Table 7 Effects of composite probiotics on the colonic mucosal damage in the diarrhea model

组别	肠黏膜损伤等级
空白组	1.2 ± 0.45 ^c
模型组	5.6 ± 0.55 ^a
低浓度组	4.4 ± 0.55 ^b
中浓度组	3.8 ± 0.83 ^b
高浓度组	3.8 ± 0.48 ^b

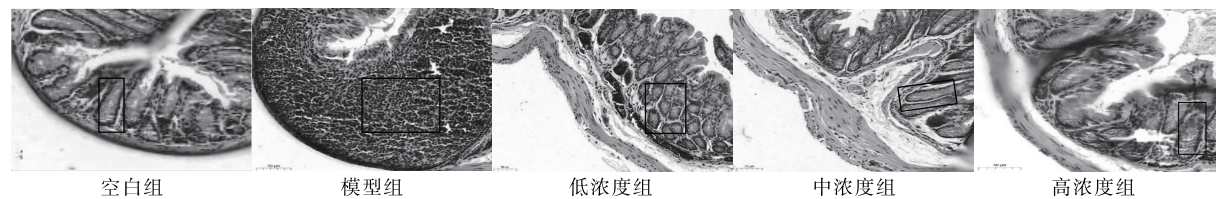


图 5 益生菌复合配方对结肠形态学影响

Figure 5 Effects of composite probiotics on the colon morphology

使用导致敏感菌群被杀灭,从而造成肠道微生态失衡,致病菌增加,肠屏障受损,进而导致腹泻^[27-28]。而益生菌复合配方具有抑制抗生素腹泻症状的功能,可能是在一定程度上抑制了病原微生物的生长,维护小肠肠道正常菌群的生长^[29]。同时,益生菌在一定情况下可定殖到小鼠肠道中,并产生一系列活性机制,达到维护肠道生态环境的作用^[30]。试验表明益生菌复合配方能显著降低结肠黏膜损伤评分,缓解抗生素所致腹泻。

3 结论

试验表明,在小鼠便秘症状下,益生菌可通过增加排便数量和重量、提高墨汁推进率等指标促进肠道蠕动,有效缓解便秘作用;在急性肠炎和腹泻症状下,益生菌能通过降低肠黏膜损伤评分,恢复隐窝结构组织,保护肠黏膜进而改善腹泻及炎症症状。但是益生菌复合配方改善肠道疾病的机制仍未明确,具体是单一菌改善还是复合菌协同作用仍未知,有待进一步研究。

参考文献

- [1] ISOLAURI E, ARVOLA T, SÜTAS Y, et al. Probiotics in the management of atopic eczema[J]. *Clinical & Experimental Allergy*, 2000, 30(11): 1 605-1 610.
- [2] 许爱清, 李宗军, 王远亮, 等. 肠道健康导向的功能食品研究进展[J]. *食品与机械*, 2010, 26(5): 158-163.
XU A Q, LI Z J, WANG Y L, et al. Progress in the researches on gut-health-oriented functional foods[J]. *Food & Machinery*, 2010, 26(5): 158-163.
- [3] 胡闭月, 王丽, 张庆. 益生菌对不同年龄人群功能性便秘治疗效果的研究进展[J]. *中国微生态学杂志*, 2020, 32(11): 1 341-1 345.
HU B Y, WANG L, ZHANG Q. Probiotics in the treatment of functional constipation in different age groups: reserch progress[J]. *Chinese Journal of Microecology*, 2020, 32(11): 1 341-1 345.
- [4] GAO X, JIA R, XIE L, et al. Comparing three preparation methods of standard substances for intestinal bifidobacteria of childhood obesity[J]. *Acta Paediatrica*, 2016, 105(10): e496-8.
- [5] PÂTRUICĂ S, MOT D. The effect of using prebiotic and probiotic products on intestinal micro-flora of the honeybee (*Apis mellifera carpatica*) [J]. *Bulletin of Entomological Research*, 2012, 102(6): 619-623.
- [6] 姜雪萍, 谷仿丽, 刘枫, 等. 水苏多糖对小鼠胃肠道调节作用研究[J]. *皖西学院学报*, 2016, 32(2): 16-18.
JIANG X P, GU F L, LIU F, et al. Study on impact Stachy japonica Miq. Polysaccharide on the regulation of gastrointestinal tract in mice[J]. *Journal of West Anhui University*, 2016, 32(2): 16-18.
- [7] 刘利兵, 曲萍, 黄景辉, 等. 黑米饲料法替代墨汁灌胃法测定排便时间动物模型的建立[J]. *临床消化病杂志*, 2008(3): 164-166.
LIU L B, QU P, HUANG J H, et al. Establishment of animal defecation time measurement by black rice feeding instead of ink gastric perfusion[J]. *Chinese Journal of Clinical Gastroenterology*, 2008(3): 164-166.
- [8] SHIMOTOYODOME A, MEGURO S, HASE T, et al. Sulfated polysaccharides, but not cellulose, increase colonic mucus in rats with loperamide-induced constipation [J]. *Digestive Diseases and Sciences*, 2001, 46(7): 1 482-1 489.
- [9] 梁宇轩, 欧阳冬梅, 王达, 等. 壳寡糖通便功能的研究[J]. *食品研究与开发*, 2018, 39(17): 173-178.
LIANG Y X, OUYANG D M, WANG D, et al. Study on the laxative effect of Chitooligosaccharide[J]. *Food Research and Development*, 2018, 39(17): 173-178.
- [10] 韩彦彬, 姚思宇, 李彬, 等. 低聚果糖促进肠道蠕动作用的实验研究[J]. *中国热带医学*, 2009, 9(4): 764-765.
HAN Y B, YAO S Y, LI B, et al. Experimental study on the efficacy of fructooligosaccharide in facilitating feces excretion in animals[J]. *China Tropical Medicine*, 2009, 9(4): 764-765.
- [11] SHU X, ZHANG J, WANG Q, et al. Glutamine decreases intestinal mucosal injury in a rat model of intestinal ischemia-reperfusion by downregulating HMGB1 and inflammatory cytokine expression[J]. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2016, 12(3): 1 367-1 372.
- [12] 常颖慧, 樊小农, 石学敏. HE 染色光镜观察法在脑组织形态学研究中的应用[J]. *辽宁中医杂志*, 2010, 37(5): 777-779.
CHANG Y H, FAN X N, SHI X M. HE Staining and light microscope observation method used in researches of brain tissue[J]. *Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2010, 37(5): 777-779.
- [13] GUNELI E, CAVDAR Z, ISLEKEL H, et al. Erythropoietin protects the intestine against ischemia/reperfusion injury in rats[J]. *Molecular Medicine*, 2007, 13(9): 509-517.
- [14] LONG C, LIU Y, HE L, et al. Bacterial lactase genes diversity in intestinal mucosa of mice with dysbacterial diarrhea induced by antibiotics[J]. *3 Biotech*, 2018, 8(3): 1-9.
- [15] 郭抗萧, 尹抗抗, 王欢, 等. 抗生素对小鼠菌群失调腹泻肠道菌群多样性的影响[J]. *中国微生态学杂志*, 2014, 26(3): 249-252, 257.
GUO K X, YIN K K, WANG H, et al. The effect of modeling dysbacterial diarrhea with antibiotics on molecular diversity of intestinal microbiota in mice[J]. *Chinese Journal of Microecology*, 2014, 26(3): 249-252, 257.
- [16] KURITA A, KADO S, KANEDA N, et al. Modified irinotecan hydrochloride (CPT-11) administration schedule improves induction of delayed-onset diarrhea in rats[J]. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 2000, 46(3): 211-220.
- [17] NIE N H. SPSS statistical package for the social sciences[J]. *Encyclopedia of Information Systems*, 2003, 13(1): 187-196.
- [18] 刘炼, 刘春强. 肠道菌群与功能性便秘的研究进展[J]. *辽宁中医杂志*, 2017, 44(3): 666-668.
LIU L, LIU C Q. Review on intestinal flora and functional constipation[J]. *Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2017, 44(3): 666-668.
- [19] FURNARI M, SAVARINO E, BRUZZONE L, et al. Reassessment

- of the role of methane production between irritable bowel syndrome and functional constipation[J]. *J Gastrointest Liver Dis*, 2012, 21(2): 157-163.
- [20] KHALIF I L, QUIGLEY E M M, KONOVITCHE A, et al. Alterations in the colonic flora and intestinal permeability and evidence of immune activation in chronic constipation[J]. *Digestive and Liver Disease*, 2005, 37(11): 838-849.
- [21] PARTHASARATHY G, CHEN J, CHEN X, et al. Relationship between microbiota of the colonic mucosa vs feces and symptoms, colonic transit, and methane production in female patients with chronic constipation[J]. *Gastroenterology*, 2016, 150(2): 367-379.
- [22] FUKUMOTO S, TATEWAKI M, YAMADA T, et al. Short-chain fatty acids stimulate colonic transit via intraluminal 5-HT release in rats[J]. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 2003, 284(5): R1 269-R1 276.
- [23] 陈家伦, 张万祥, 甘聃. 益生菌组合物对慢传输型便秘的改善作用[J]. *食品与发酵工业*, 2022, 48(11): 95-100.
- CHEN J L, ZHANG W X, GAN D. Alleviation of slow transit constipation by probiotics complex[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2022, 48(11): 95-100.
- [24] 刘思思. 乳酸菌利用低聚糖的特性及在肠道中的作用[D]. 无锡: 江南大学, 2015: 39-40.
- LIU S S. The Oligosaccharides utilization properties of lactic acid bacteria and their effects in mice gut [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2015: 39-40.
- [25] 杨金霞, 杨金彩. 益生菌对肠道上皮细胞保护机制的研究进展[J]. *世界华人消化杂志*, 2015(4): 577-583.
- YANG J X, YANG J C. Mechanisms underlying protective effects of probiotics on intestinal epithelial[J]. *World Chinese Journal of Digestology*, 2015(4): 577-583.
- [26] 赖衍宗, 章颖, 杨宏升, 等. 丁酸钠对 TNBS 结肠炎模型大鼠肠黏膜修复的影响[J]. *胃肠病学*, 2011, 16(7): 395-399.
- LAI Y Z, ZHANG Y, YANG H S, et al. Effect of sodium butyrate on restoration of colonic mucosa in rats with TNBS-induced colitis[J]. *Chinese Journal of Gastroenterology*, 2011, 16(7): 395-399.
- [27] HERNÁNDEZ I G, DELGADILLO A T, VORACKOVA F V, et al. Intestinal flora, probiotics, and cirrhosis[J]. *Annals of Hepatology*, 2008, 7(2): 120-124.
- [28] 韩天雨, 杨栋, 周树青, 等. 抗生素所致肠道菌群失调与治疗研究进展[J]. *解放军预防医学杂志*, 2021, 39(1): 98-101.
- HAN T Y, YANG D, ZHOU S Q, et al. Advances in the treatment of intestinal microflora disorder caused by antibiotics[J]. *Journal of Preventive Medicine of Chinese People's Liberation Army*, 2021, 39(1): 98-101.
- [29] JOHNSTON B C, SUPINA A L, VOHRA S. Probiotics for pediatric antibiotic-associated diarrhea: A meta-analysis of randomized placebo-controlled trials [J]. *Canadian Medical Association Journal*, 2006, 175(4): 377-383.
- [30] 陆文伟, 杨震南, 丁历伟, 等. 益生菌 *Lactobacillus paracasei* LC01 对小鼠肠道菌群的调节作用[J]. *食品科学*, 2016, 37(23): 230-235.
- LU W W, YANG Z N, DING L W, et al. Evaluation of intestinal microbiota in mice after oral administration of *Lactobacillus paracasei* LC01[J]. *Food Science*, 2016, 37(23): 230-235.
- (上接第 6 页)
- [55] 俞建峰, 傅剑, 马潇, 等. 细胞破壁对螺旋藻藻蓝蛋白提取效果的影响[J]. *食品与机械*, 2017, 33(5): 173-177.
- YU J F, FU J, MA X, et al. Comparison of cell disruption methods for the extraction of Phycocyanin from *Spirulina Platensis*[J]. *Food & Machinery*, 2017, 33(5): 173-177.
- [56] KANNAUJIYA V K, SINHA R P. Thermokinetic stability of phycocyanin and phycoerythrin in food-grade preservatives[J]. *Journal of Applied Phycology*, 2016, 28(2): 1 063-1 070.
- [57] KISSOUDI M, SARAKATSIANOS I, SAMANIDOU V. Isolation and purification of food-grade C-phycoerythrin from *Arthrospira platensis* and its determination in confectionery by HPLC with diode array detection[J]. *J Sep Sci*, 2018, 41(4): 975-981.
- [58] 国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 保健食品: GB 16740—2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014: 1.
- State Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China. National food safety standards health food: GB 16740—2014[S]. Beijing: China Standards Press, 2014: 1.
- [59] 魏玉翠, 谢定, 刘永乐, 等. 螺旋藻脱腥工艺优化及其强化米粉的研制[J]. *食品与机械*, 2011, 27(1): 136-139.
- WEI Y C, XIE D, LIU Y L, et al. Study on removing off flavor of spirulina and manufacturing rice noodle with deodorized spirulina[J]. *Food & Machinery*, 2011, 27(1): 136-139.
- [60] 王惜纯. 螺旋藻产业发展迎来黄金期[N]. *中国质量报*, 2020-11-24(7).
- WANG X C. The development of *Spirulina* industry ushered in a golden period[N]. *China Quality News*, 2020-11-24(7).
- [61] 陆悦. 由单一原料向多元化应用转型—螺旋藻产业迎来“第四次浪潮”[N]. *中国医药报*, 2018-09-13(7).
- LU Y. The *Spirulina* industry ushered in the "fourth wave"[N]. *China Medical News*, 2018-09-13(7).
- [62] 国家市场监督管理总局. 关于公开征求《关于发布允许保健食品声称的保健功能目录非营养补充剂(2022年版)及配套文件的公告(征求意见稿)》意见的反馈[EB/OL]. (2022-04-07) [2022-06-08]. https://www.samr.gov.cn/hd/zjjg/202204/t20220407_341142.html.
- State Administration for Market Regulation. Feedback on public solicitation of《Health Care Function List of Health food Non-nutrient supplement(2022)》and supportive documents(Draft for comments)[EB/OL]. (2022-04-07) [2022-06-08]. https://www.samr.gov.cn/hd/zjjg/202204/t20220407_341142.html.