

不同多糖体外靶向富集肠道 *Prevotella copri* 作用的比较

吕宜臻, 钟亚东, 胡婕伦*

(南昌大学食品科学与资源挖掘全国重点实验室, 中国-加拿大食品科学与技术联合实验室, 江西省生物活性多糖重点实验室, 江西南昌 330047)

摘要: 天然多糖可通过靶向肠道菌群改善机体健康, 近年来备受关注。*Prevotella copri* 作为人体肠道菌群中常见的一种普雷沃氏菌, 与人体健康密切相关。为了探究木聚糖、木葡聚糖、阿拉伯聚糖、阿拉伯木聚糖和阿拉伯半乳糖作为单一碳源对 *P. copri* 的富集作用差异, 该研究基于单菌发酵和体外模拟大肠酵解实验, 测定了 OD₆₀₀、短链脂肪酸含量和 *P. copri* 丰度等指标。结果表明, 在单菌发酵中, 木聚糖和阿拉伯聚糖促进 *P. copri* 2-27 生长 (OD₆₀₀ 增量 0.64 和 0.61) 以及产乙酸能力 (10.66 mg/mL 和 9.87 mg/mL) 最优; 在体外酵解中, 阿拉伯聚糖、木聚糖、阿拉伯半乳糖和阿拉伯木聚糖对 *P. copri* 富集作用依次递减, 阿拉伯聚糖富集 *P. copri* 的能力最强, 绝对丰度达到 60.63 ng/mL, 且产乙酸、丁酸能力较好 (4.60 mg/mL 和 2.78 mg/mL), 木聚糖虽易被利用但对其富集效果不佳, 丰度仅有 6.98 ng/mL。因此, 阿拉伯聚糖对 *P. copri* 表现出最佳的促生长和富集作用。该研究为探究多糖与 *P. copri* 互作对机体健康的影响提供了理论参考。

关键词: 普雷沃氏菌 *Prevotella copri*; 多糖; 体外酵解; 肠道菌群

文章编号: 1673-9078(2025)10-24-31

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.10.0326

In Vitro Comparison of Polysaccharide-induced Enrichment of Gut *Prevotella copri*

LYU Yizhen, ZHONG Yadong, HU Jielun*

(National Key Laboratory of Food Science and Resource Mining at Nanchang University, China-Canada Joint Laboratory of Food Science and Technology, Key Laboratory of Bioactive Polysaccharides of Jiangxi Province, Nanchang 330047, China)

Abstract: Natural polysaccharides regulate gut microbiota to promote host health and have garnered considerable attention in recent years. *Prevotella copri*, a common species within the genus *Prevotella* of the gut microbiota, is closely associated with human health. To investigate the differential enrichment effects of xylan, xyloglucan, arabinan, arabinoxylan, and arabinogalactan (used as sole carbon sources) on *P. copri*, single-strain and *in vitro* fermentation experiments were conducted. Parameters, including OD₆₀₀, short-chain fatty acid content, and *P. copri* abundance were systematically evaluated. In single-strain fermentation, the growth of *P. copri* 2-27 and its acetic acid production were markedly enhanced by xylan and arabinan, with OD₆₀₀ increases of 0.64 and 0.61, and acetic acid concentrations of 10.66 mg/mL and 9.87 mg/mL, respectively. During *in vitro* fermentation, arabinan exhibited the strongest enrichment capacity for *P. copri* (absolute abundance: 60.63 ng/mL), followed by xylan, arabinogalactan, and arabinoxylan. Notably, the arabinan group exhibited the highest production levels of acetic acid and butyric acid (4.60 mg/mL and 2.78 mg/mL, respectively). Although xylan was efficiently utilized, its enrichment effect on *P. copri* remained limited (6.98 ng/mL). Consequently, arabinan was identified as the most effective polysaccharide for promoting *P. copri* growth and enrichment. These findings provide a theoretical foundation for further exploration of polysaccharide-*P. copri* interaction and their implications for host health.

引文格式:

吕宜臻, 钟亚东, 胡婕伦. 不同多糖体外靶向富集肠道 *Prevotella copri* 作用的比较[J]. 现代食品科技, 2025, 41(10): 24-31.

LYU Yizhen, ZHONG Yadong, HU Jielun. *In vitro* comparison of polysaccharide-induced enrichment of gut *Prevotella copri* [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(10): 24-31.

收稿日期: 2025-01-11; 修回日期: 2025-03-29; 接受日期: 2025-03-30

基金项目: 国家自然科学基金优秀青年科学基金项目 (32222065); 江西省重点研发计划项目 (20223BBF61023)

作者简介: 吕宜臻 (1999-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 营养保健与功能食品, E-mail: 1413872937@qq.com

通讯作者: 胡婕伦 (1988-), 女, 博士, 研究员, 研究方向: 食品营养、肠道微生态, E-mail: hujielun@ncu.edu.cn

Key words: *Prevotella copri*; polysaccharides; *in vitro* fermentation; gut microbiota

肠道菌群是肠道生态系统的重要组成部分之一，与人体的健康息息相关，易受饮食、药物、宿主生活方式等因素影响^[1]。广泛存在于植物、微生物、藻类和动物中的多糖是一类调节肠道菌群的重要膳食因子^[2]。多糖的多种生物活性，如抗肿瘤、免疫调节、抗氧化、抗炎和降低血糖等^[3]，与其靶向肠道菌群、调节肠道微生物组成和促进短链脂肪酸的产生密切相关^[4]。然而多糖种类繁多，结构与理化性质多样，不同多糖调节肠道菌群的能力差异显著^[5]。

作为重要的人体共生菌，普雷沃氏菌（*Prevotella*）在包括皮肤、口腔、阴道和胃肠道等多个身体部位均有发现，也是人体肠道中最普遍的菌属之一，参与了肠道中多种生理活动^[6]。在人体肠道中，目前已发现了数种普雷沃氏菌，包括 *P. copri*、*P. stercora*、*P. rectalis*、*P. histicola* 和 *P. ihumii* 等，其中 *P. copri* 是多数健康人体肠道中含量相对丰富、研究最多的一种普雷沃氏菌，占比可达 30%^[7]。普雷沃氏菌在人体肠道中的丰度与饮食之间密切相关，研究表明，以植物纤维和碳水化合物为主的非西方饮食能够提高肠道中普雷沃氏菌的丰度，而富含脂肪和蛋白质的西方饮食会降低肠道中普雷沃氏菌的丰度^[8]。这种联系可能与普雷沃氏菌具有丰富的多糖利用位点（Polysaccharide Utilization Loci, PUL）有关，并且普雷沃氏菌只能利用植物来源的多糖，而不能利用动物来源的多糖^[9]。因此，摄入植物多糖是提高肠道内普雷沃氏菌丰度的方法之一。

作为普雷沃氏菌的代表，*P. copri* 对人体健康的影响存在积极和消极两个方面。有研究认为，*P. copri* 具有抗炎、调节血糖稳定、降低宿主过敏风险等作用；然而，也有部分研究认为 *P. copri* 会诱导胰岛素抵抗、加重葡萄糖不耐受和激活慢性炎症反应等^[10]。这种矛盾的情况存在可能是由于普雷沃氏菌是一个在物种内和物种间具有高度遗传多样性的菌属，因此其对人体健康的影响也呈现出多样性。同时，*P. copri* 影响人体健康的具体机制尚不明确，是否是由其直接发挥作用，还是通过影响肠道菌群而间接发挥作用，还需要进行更多的研究，来揭示其对健康或疾病的调节特性^[11]。

目前 *P. copri* 对于人体健康的影响表现出矛盾的状态，表明对 *P. copri* 的认识还存在着较大空白，且多数研究都聚焦于 *P. copri* DSM18205 这一模式菌株上，

缺乏对其他菌株的探索。已知不同多糖调节肠道菌群、富集特定菌株的能力不同，但对于 *P. copri* 的富集作用未知。本研究通过体外单菌发酵和体外酵解的方法，探究木聚糖、木葡聚糖、阿拉伯聚糖、阿拉伯木聚糖和阿拉伯半乳聚糖对人体肠道来源的普雷沃氏菌 *P. copri* 的富集能力差异，为未来探究多糖与 *P. copri* 互作对人体肠道健康的影响提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料与仪器

1.1.1 主要材料

木聚糖（Xylan），北京索莱宝科技有限公司；木葡聚糖（Xyloglucan），上海源叶生物科技有限公司；阿拉伯聚糖（Arabinan），爱尔兰 Megazyme 公司；阿拉伯木聚糖（Arabinoxylan），上海博飞美科化学科技有限公司；阿拉伯半乳聚糖（Arabinogalactan），上海阿拉丁生化科技股份有限公司；普雷沃氏菌 *P. copri* 2-27 菌株由实验室前期从人体肠道中分离并保藏；粪便样本由四位志愿者（22~25 岁）提供，所选志愿者身体状况健康，饮食正常，6 个月内无肠道疾病，3 个月内未服用过益生菌或抗生素。

1.1.2 主要仪器

COY-02 厌氧培养手套箱，美国 COY 公司；DLQ120-B 智能厌氧制备仪，北京艾思普公司；7890 B 气相色谱仪，美国 Agilent 公司；T9 紫外可见分光光度计，北京普析通用仪器有限责任公司；Varioskan Flash 全波长多功能酶标仪，美国 Thermo Scientific 公司；T100 PCR 仪，美国 Bio-Rad 公司；QuantStudio7 实时荧光定量 PCR 系统，美国 Applied Biosystems 公司；XS205DU 分析天平，美国 Mettler toledo 公司；FE-28 酸碱度测试仪，美国 Mettler toledo 公司；Milli-Q 超纯水仪，美国 Millipore 公司；ZHJH-C2109B 超净工作台，上海智城分析仪器制造有限公司；YXQ-LS 高压蒸汽灭菌锅，上海博迅实业有限公司；ST16R 高速冷冻离心机，美国 Thermo Scientific 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 培养基的配置

单菌发酵培养基：酵母提取物 2.5 g/L、蛋白胨

10 g/L、磷酸二氢钾 0.45 g/L、磷酸氢二钾 0.45 g/L、氯化钠 0.9 g/L、硫酸镁 0.044 g/L、氯化钙 0.09 g/L、乙酸钠 4 g/L、碳酸氢钠 4 g/L、L-半胱氨酸盐酸盐 1 g/L、刃天青 0.001 g/L。在培养基中按 2 g/L 添加单一碳源，以不添加碳源的培养基作为空白对照，以葡萄糖作为对照碳源。磁力搅拌使其充分溶解，调节 pH 值至 6.8。使用厌氧制备仪除氧后 121 ℃ 15 min 高压灭菌，待培养基冷却至室温后，每 9 mL 添加氯化血红素和维生素 K1 混合液 0.1 mL。

体外酵解培养基：蛋白胨 2 g/L、酵母浸膏 2 g/L、氯化钠 0.1 g/L、磷酸二氢钾 0.04 g/L、磷酸氢二钾 0.04 g/L、硫酸镁 0.01 g/L、氯化钙 0.01 g/L、碳酸氢钠 2 g/L、L-半胱氨酸盐酸盐 0.5 g/L、胆盐 0.5 g/L、吐温 80 2 mL/L、0.2% 刃天青溶液 (*m/V*) 0.5 mL/L，在培养基中添加质量分数为 0.5% 的酵解试样，磁力搅拌溶解后操作与上述相同。

氯化血红素和维生素 K1 混合液：10 mg 氯化血红素溶解于 20 mL NaOH (0.1 mol/L) 溶液中，20 μL 维生素 K1 溶解于 20 mL 无水乙醇中，将两者等量混合均匀，经 0.22 μm 无菌滤膜过滤得到混合液。

1.2.2 菌株与粪便样品接种

将保藏的普雷沃氏菌 *P. copri* 2-27 从 -80 ℃ 冰箱取出活化，按 2% 的接种量分别接种于培养基中，每组设三个平行，于 37 ℃ 厌氧培养。根据所用碳源将组别分为对照组 (NC)、木聚糖组 (X)、木葡聚糖组 (XG)、阿拉伯聚糖组 (A)、阿拉伯木聚糖组 (AX)、阿拉伯半乳聚糖组 (AG) 和葡萄糖组 (G)，下同。

新鲜粪便样品取自四位健康志愿者 (2 男 2 女，未患胃肠疾病，至少三个月内没有服用抗生素)，将收集到的粪便样品迅速转移至含 90% N₂、5% CO₂ 和 5% H₂ 混合气体的厌氧手套箱内。样品处理、细菌培养均在厌氧手套箱中进行。经含有 0.1% L-半胱氨酸盐酸盐的 PBS 缓冲液 (pH 值 7.2) 稀释 (1:10, *m/V*) 匀浆、100 μm 细胞过滤器过滤后，等体积混合粪便滤液，按 2% 的接种量接种至体外酵解培养基中，于 37 ℃ 厌氧培养。

1.2.3 生长曲线测定

分别于 0、6、12、24、36、48 h 时取发酵液测定 OD₆₀₀ 值，绘图制作生长曲线。

1.2.4 pH值测定

取各发酵时间点的发酵液，用 pH 计测定发酵液的 pH 值。

1.2.5 短链脂肪酸测定

发酵液样品于 4 ℃、13 000 r/min 离心 5 min，上

清过 0.22 μm 水系滤头，取 0.7 mL 滤液，加入 0.2 mL 10% (*V/V*) 硫酸，涡旋 1 min 混匀，再加入 10 μL 2-乙基丁酸 (10 mmol/L) 和 0.4 mL 无水乙醚，涡旋混匀，静置 2 min 后 4 ℃、13 000 r/min 离心 2 min，吸取上清液过 0.22 μm 有机滤头，采用 Agilent 7890 B 气相色谱仪配备 HP-FFAP (30 m×0.32 mm×0.25 μm) 色谱柱进行检测分析^[12]。色谱条件参照实验室之前的文章^[13]。

1.2.6 总糖含量测定

采用苯酚-硫酸法检测总糖含量^[14]。分别以无水葡萄糖、木糖、阿拉伯糖标准品制作标准曲线，测量不同碳源发酵后的总糖含量。

1.2.7 qPCR定量*P. copri*丰度

参考 Balakrishnan 等^[15]、Verbrugghe 等^[16]的方法并适当修改以检测 *P. copri* 丰度。*P. copri* 特异性引物^[17] *P. copri*_F、*P. copri*_R 由上海生工公司合成，引物序列信息如表 1 所示。

表 1 普雷沃氏菌特异性引物信息	
Table 1 Specific primers targeting <i>Prevotella</i>	
引物名称	引物序列 (5'-3')
<i>P. copri</i> _F	GGTTCTGAGAGGAAGGTCCCC
<i>P. copri</i> _R	TCCTGCACGCTACTTGGCTG

根据天根细菌基因组 DNA 提取试剂盒 (货号：DP302) 说明书的要求，提取酵解后的样品 DNA。根据 qPCR 试剂盒 (TAKARA) 的说明配置 PCR 体系。根据表 2 所示条件进行 PCR 反应，通过标准曲线进行定量分析。

表 2 实时荧光定量PCR反应条件			
Table 2 Reaction conditions of Real-time qPCR			
步骤	温度/℃	时间	循环数
预变性	50	2 min	1
	95	30 s	
	95	20 s	
PCR 反应	60	30 s	40
	72	30 s	
	95	15 s	
熔解曲线阶段	58	1 min	1
	95	15 s	

1.2.8 数据处理与分析

使用 SPSS Statistics 26.0 进行数据统计分析。多重比较的单因素方差分析 (ANOVA) 和 Tukey 检验用于确定组间差异的显著性。

2 结果与讨论

2.1 多糖体外单菌发酵

2.1.1 生长曲线与OD₆₀₀增量

普雷沃氏菌具有丰富的多糖利用位点,能分解利用多种植物多糖。普雷沃氏菌 *P. copri* 2-27 在含不同单一碳源的培养基中生长时,其生长曲线如图 1 所示。0~12 h 为各组快速生长阶段,接种 12 h 后各组进入稳定期。其中木聚糖和阿拉伯聚糖组的 OD₆₀₀ 增长量显著最高(0.64 与 0.61),与葡萄糖组相似,阿拉伯木聚糖和阿拉伯半乳聚糖组增长量显著次之(0.27 和 0.28) ($P<0.05$)。

与该结果相似, Fehner-Peach 等^[9]通过对分离得到的 83 株 *P. copri* 的多糖利用位点进行检测,发现所有菌株都具有与木聚糖相关的多糖利用位点,大部分菌株检出阿拉伯聚糖相关的多糖利用位点,而阿拉伯半乳聚糖利用位点虽然也检出,但大多数菌株在该底物上生长不良。

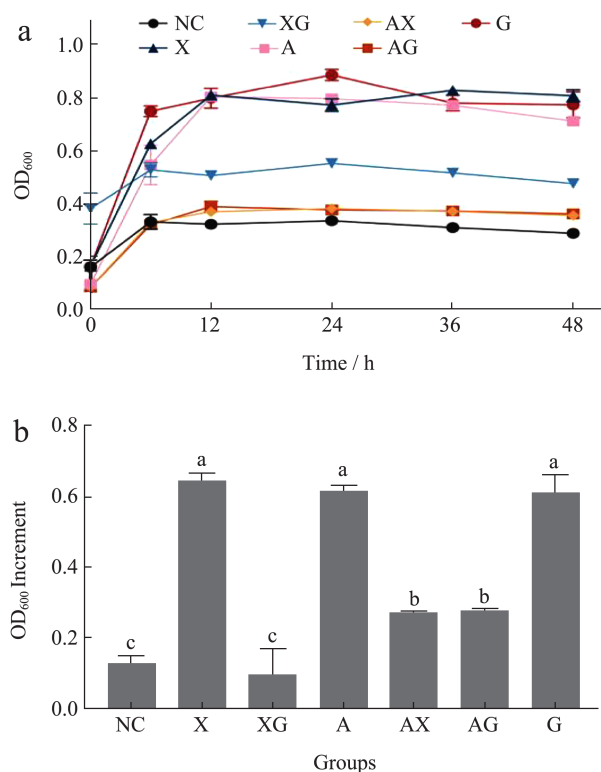


图 1 *P. copri* 2-27 利用不同碳源发酵时的生长曲线 (a) 与 OD₆₀₀ 增量 (b)

Fig.1 Growth curves (a) and OD₆₀₀ increment (b) of *P. copri* 2-27 with different carbon sources

注: 柱上不同小写字母表示组别之间具有统计学意义 ($P<0.05$)。下图同。

2.1.2 pH值变化

P. copri 2-27 发酵不同多糖的 pH 值变化曲线与变化量如图 2 所示。*P. copri* 2-27 发酵液的 pH 值在 0~12 h 快速下降, 于 12~24 h 时基本达到最低点, 随后 pH 值逐渐趋于稳定。发酵 48 h 后, 相比于空白组, 木聚糖组、葡萄糖组和阿拉伯聚糖组 pH 值显著下降, 前两组 pH 减少量显著高于后者, 分别为 1.42、1.48 以及 1.25 ($P<0.05$)。pH 减少量与 OD₆₀₀ 增量的结果相近, 表明 *P. copri* 2-27 对木聚糖和阿拉伯聚糖的利用率更高, 对木葡聚糖、阿拉伯木聚糖和阿拉伯半乳聚糖的利用率不佳。木聚糖和阿拉伯聚糖的单糖组成较另外三种多糖更加单一, 这可能是影响 *P. copri* 2-27 利用率的原因。

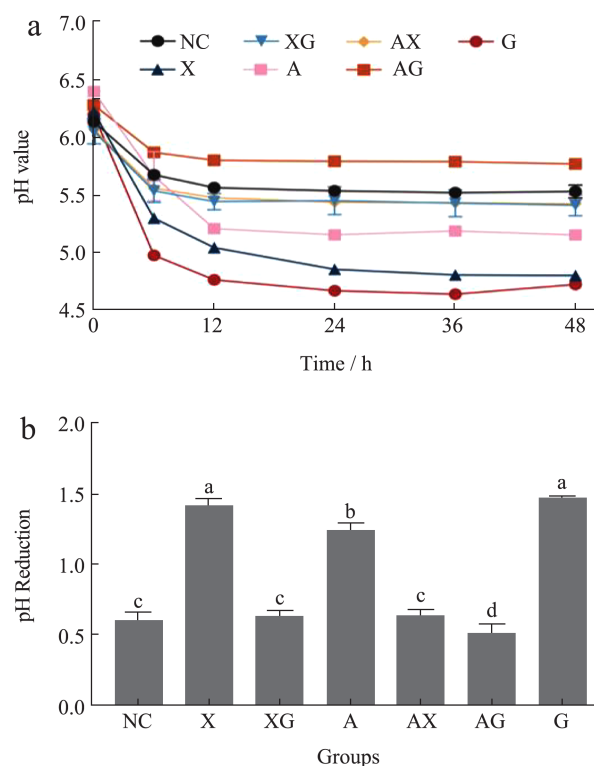


图 2 *P. copri* 2-27 利用不同碳源发酵时 pH 值变化曲线 (a) 与减少量 (b)

Fig.2 pH curve (a) and reduction (b) of *P. copri* 2-27 fermentation with different carbon sources

2.1.3 短链脂肪酸

短链脂肪酸通常由肠道微生物分解利用人体难以吸收的多糖产生, 主要包括乙酸、丙酸、丁酸等, 在维持肠道屏障完整、抑制炎症和调节代谢等方面发挥重要作用^[18-20]。而 *P. copri* 具备多糖利用位点和编码碳水化合物利用酶的基因, 使其能够将膳食纤维转化为短链脂肪酸、琥珀酸和其他代谢物^[10]。对 *P. copri*

2-27 发酵各多糖 48 h 后发酵液中短链脂肪酸的含量进行检测, 主要产物为乙酸、丙酸和异丁酸 (图 3)。木聚糖 (10.66 mg/mL)、阿拉伯聚糖 (9.87 mg/mL) 和葡萄糖 (9.96 mg/mL) 均显著促进了乙酸生成 ($P < 0.05$), 三者之间作用相似。五种多糖均能显著提高菌群的丙酸和异丁酸产量, 且木葡聚糖组丙酸产量显著最高 (0.09 mg/mL) ($P < 0.05$), 其余四组相似 (0.07~0.08 mg/mL)。五种多糖的异丁酸促进生成能力相似 (0.018~0.020 mg/mL)。

Zhang 等^[21]的研究发现, *Prevotella brevis* 和 *Prevotella ruminicola* 能够发酵葡萄糖, 生成乙酸、丙酸和琥珀酸。此处观察到 *P. copri* 2-27 发酵多糖和葡萄糖产生低水平丙酸的原因可能涉及到物种之间的差异, 不同普雷沃氏菌株的代谢模式可能存在不同, 也可能与维生素 B12 供应不足有关^[22]。

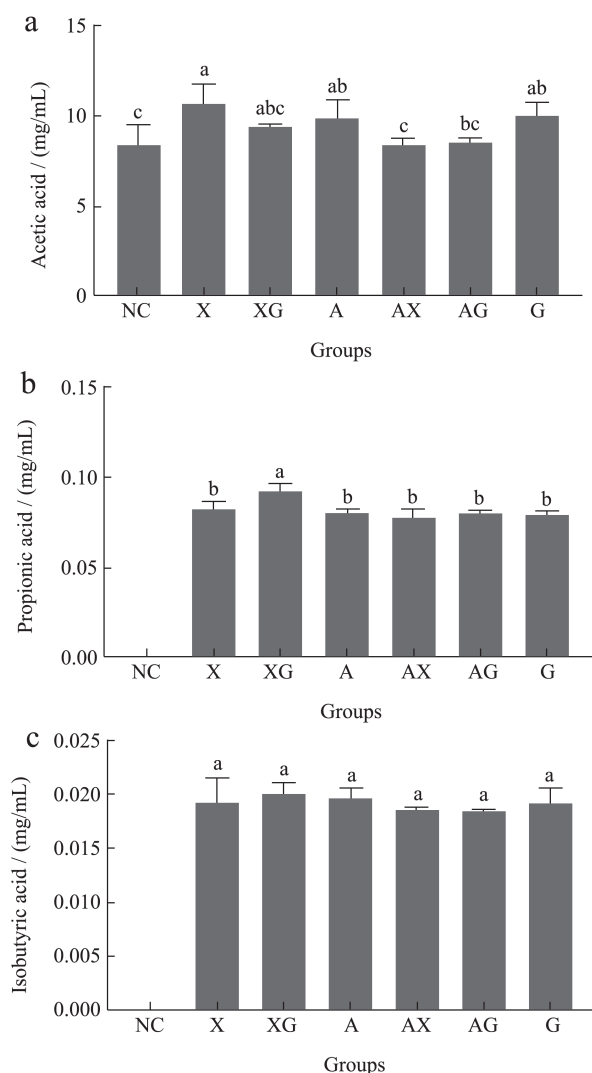


图 3 *P. copri* 2-27 利用不同碳源发酵后的短链脂肪酸变化量
Figure 3 Change in SCFAs of *P. copri* 2-27 after fermentation with different carbon sources

注: (a) 乙酸; (b) 丙酸; (c) 异丁酸。

2.2 多糖体外酵解时对 *P. copri* 的富集能力差异

2.2.1 生长曲线与 OD₆₀₀ 增量

由 2.1 的结果可以发现, 除木葡聚糖以外, 其余四种多糖均能促进 *P. copri* 的生长, 尤其是木聚糖和阿拉伯聚糖。因此, 在体外酵解实验中选择木聚糖、阿拉伯聚糖、阿拉伯木聚糖和阿拉伯半乳聚糖分别作为培养基的单一碳源, 探究其对粪便样本中 *P. copri* 的富集能力差异。体外酵解过程中 OD₆₀₀ 变化与增量如图 4 所示。在以木聚糖、阿拉伯聚糖和葡萄糖为单一碳源时, 0~6 h 时为对数生长期, 在 12 h 左右进入稳定期, 随后 OD₆₀₀ 变化趋于稳定或略有下降, 而以阿拉伯木聚糖和阿拉伯半乳聚糖为单一碳源时, 36 h 左右才进入稳定期。发酵 48 h 后, 葡萄糖 (0.93)、阿拉伯聚糖 (0.83)、木聚糖 (0.74)、阿拉伯半乳聚糖 (0.63) 和阿拉伯木聚糖组 (0.54) 的 OD₆₀₀ 增量均显著高于空白组, 且依次显著降低 ($P < 0.05$)。

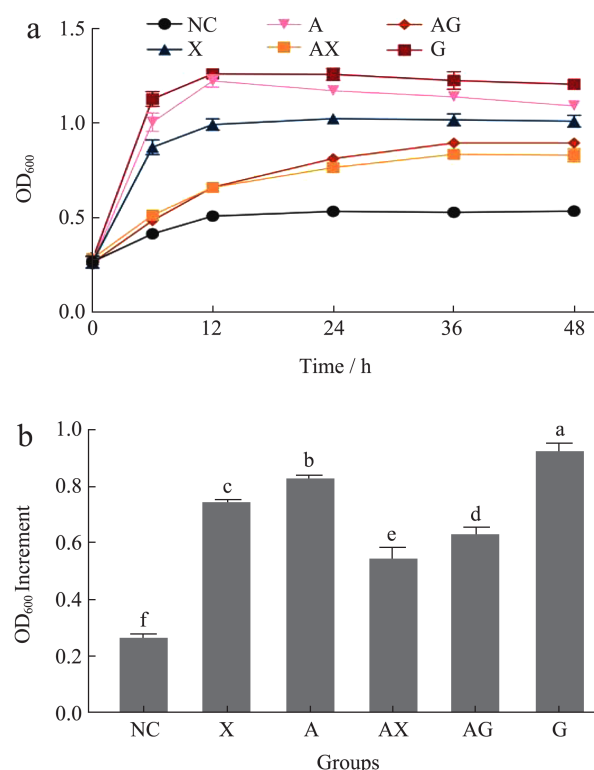


图 4 体外酵解过程中细菌密度变化 (a) 与增量 (b)

Fig.4 Change in bacteria density (a) and increment (b) during in vitro fermentation

有研究表明, 单糖组成以及多糖的分子量和糖苷键均会影响肠道菌群对多糖的利用效率。例如, 具有更多分支和复杂侧链的米糠阿拉伯木聚糖 (RAX) 和玉米麸皮阿拉伯木聚糖 (CAX) 发酵速率都要低于低聚果糖^[23]。更低聚合度的低聚果糖相比于菊粉更能促进小鼠肠道中乳酸菌科、双歧杆菌科和嗜黏蛋白阿克

曼菌的增殖^[24]。木聚糖和阿拉伯聚糖在体外酵解实验中延续了相对更好的促生长作用,而阿拉伯木聚糖和阿拉伯半乳聚糖对菌群生长的促进作用显著低于前两者,表明单糖组成单一的同型多糖更容易被菌群利用。

2.2.2 pH值变化

体外酵解过程中pH值变化曲线与减少量如图5所示。木聚糖、阿拉伯聚糖和葡萄糖组在接种后pH值迅速下降,于12 h左右达到最低点,而阿拉伯木聚糖和阿拉伯半乳聚糖组pH值下降速度明显更缓慢,于36 h左右到达最低点。48 h时,木聚糖、阿拉伯聚糖组的pH值分别减少2.32和2.26,显著高于阿拉伯木聚糖(1.17)和阿拉伯半乳聚糖组(1.17),但显著低于葡萄糖组(2.66) ($P<0.05$)。

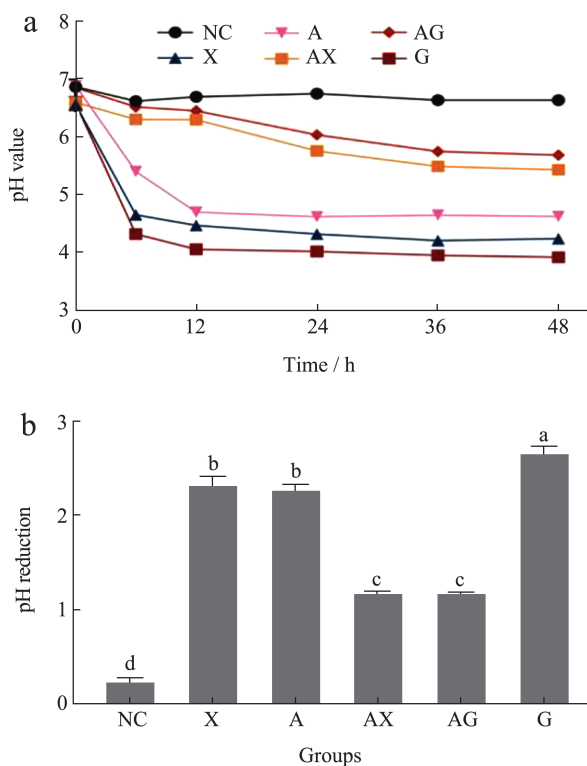


图5 体外酵解过程中pH值变化曲线(a)与减少量(b)

Fig.5 pH curve (a) and reduction (b) during *in vitro* fermentation

2.2.3 总糖含量变化

体外酵解时总糖含量的变化曲线和减少量如图6所示。葡萄糖最快被消耗完全,在12 h左右总糖含量下降至最低点;其次为木聚糖和阿拉伯聚糖,在24 h左右总糖含量下降至最低但并未消耗完全;阿拉伯木聚糖和阿拉伯半乳聚糖组的总糖含量呈持续下降趋势,至48 h时仍未消耗完全。酵解48 h后,木聚糖和阿拉伯聚糖组的利用率为86.10%和81.37%,显著低于葡萄糖组(98.18%),但显著高于阿拉伯木聚糖(56.59%)

和阿拉伯半乳聚糖组(58.25%) ($P<0.05$)。

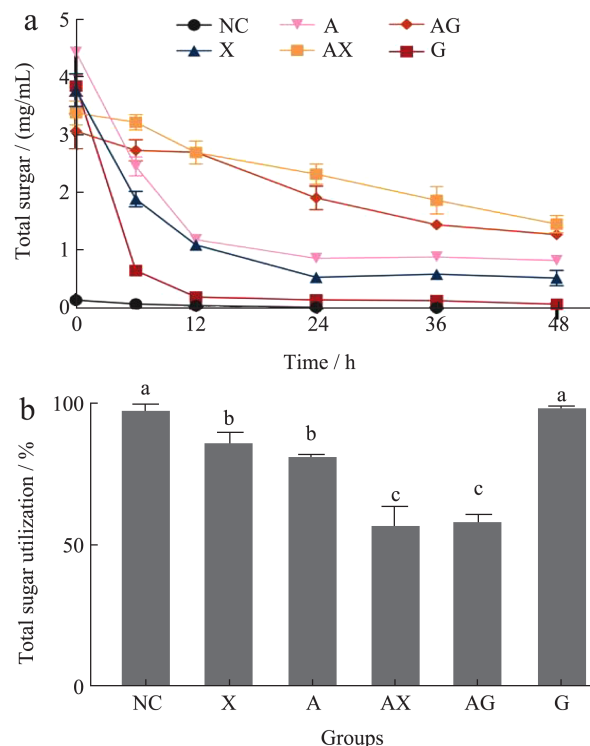


图6 体外酵解过程中总糖含量变化曲线与利用率

Fig.6 Content (a) and utilization (b) of total sugar during *in vitro* fermentation

2.2.4 短链脂肪酸

Chen等^[25]的研究表明,普雷沃氏菌为特征的肠道菌群能够发酵木聚糖和低聚果糖产生乙酸、丙酸和丁酸。此处对所选多糖进行体外酵解后检测发酵液中的短链脂肪酸含量,主要成分为乙酸、丙酸、丁酸和戊酸,其变化量如图7所示。与空白组相比,4种多糖均能显著提高乙酸、丙酸和丁酸水平 ($P<0.05$)。经四种多糖之间对比发现,四种多糖生成乙酸的作用相似,为3.82~4.86 mg/mL。阿拉伯半乳聚糖组的丙酸含量显著最高 ($P<0.05$),达到3.52 mg/mL,其次为阿拉伯木聚糖和阿拉伯聚糖组(2.66 mg/mL和2.44 mg/mL),最低为木聚糖组(1.40 mg/mL);阿拉伯聚糖组的丁酸产量(2.78 mg/mL)显著高于其他各组,其中木聚糖组丁酸产量显著最低(1.39 mg/mL) ($P<0.05$);此外,菌群能够利用阿拉伯聚糖、阿拉伯木聚糖和阿拉伯半乳聚糖生成戊酸,且前者作用显著弱于后两者(0.60 mg/mL vs 0.99 mg/mL和1.03 mg/mL) ($P<0.05$)。

木聚糖和阿拉伯聚糖在单菌发酵实验中具有较好的促短链脂肪酸产生能力,且阿拉伯聚糖在体外酵解中也延续了该能力,对乙酸和丁酸的促进效果较好。Zhao等^[26]在体外模拟肠道酵解5种多糖的研究中也发

现,阿拉伯聚糖能够促进短链脂肪酸的生成,尤其对乙酸和丁酸的促进作用最好。而木聚糖在体外酵解中虽然能被较好利用,但此处仅观察到对乙酸有较好促进作用,推测可能是菌群中能够利用木聚糖产生其他种类短链脂肪酸的细菌丰度较低。

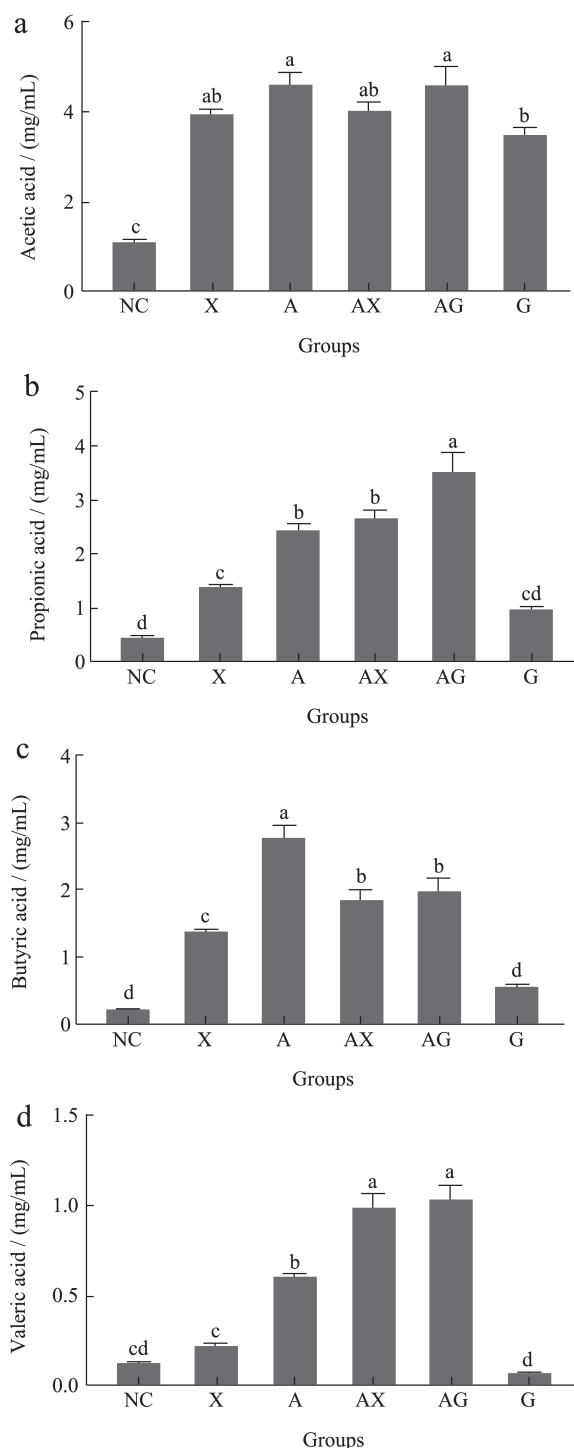


图 7 体外酵解不同碳源后短链脂肪酸变化量

Fig.7 Change in SCFAs after *in vitro* fermentation with different carbon sources

注: (a) 乙酸; (b) 丙酸; (c) 丁酸; (d) 戊酸。

2.2.5 不同多糖对 *P. copri* 富集能力的差异

RT-qPCR 结果 (图 8) 显示,在菌群酵解模式下,阿拉伯聚糖、阿拉伯木聚糖和阿拉伯半乳聚糖均显著促进了 *P. copri* 增殖 ($P < 0.05$),其中阿拉伯聚糖组 *P. copri* 质量浓度为 60.63 ng/mL,显著高于后两者 (20.41 ng/mL 和 29.97 ng/mL)。该结果与 2.1.1 中的单菌 OD₆₀₀ 增量具有相似性,可知阿拉伯聚糖对 *P. copri* 的富集能力最强;阿拉伯木聚糖和阿拉伯半乳聚糖较难被肠道细菌所利用,但也能在一定程度上富集 *P. copri*;木聚糖虽然能在体外酵解过程中很好地被菌群利用,但可能由于其他细菌与 *P. copri* 形成竞争关系,使得 *P. copri* 的丰度相比空白组并没有明显地提高。

Li 等^[27]的研究表明, *P. copri* 具有高度保守的阿拉伯聚糖多糖利用位点,并且已经进化出两种不同类型的阿拉伯聚糖 PUL,这可能是阿拉伯聚糖具有最好的 *P. copri* 富集能力的原因之一。总的来看,单糖组成单一的阿拉伯聚糖对 *P. copri* 表现出最佳的促生长和富集作用,未来可以进一步研究阿拉伯聚糖在体内与 *P. copri* 的相互作用机制。

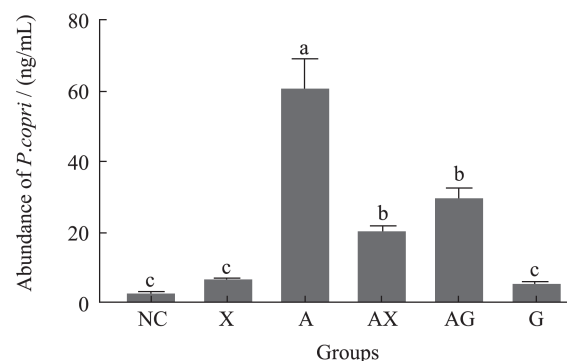


图 8 体外酵解后 *P. copri* 的丰度

Fig.8 Abundance of *P. copri* after *in vitro* fermentation

3 结论

本研究通过体外单菌发酵和体外酵解实验,探究了木聚糖、木葡聚糖、阿拉伯聚糖、阿拉伯木聚糖和阿拉伯半乳聚糖对普雷沃氏菌 *P. copri* 的富集效应及其代谢特征,发现单糖组成单一的阿拉伯聚糖在单菌和菌群模式下均能有效促进 *P. copri* 增殖,效果优于木聚糖以及其余复杂多糖,且其能够显著提高 *P. copri* 的乙酸产量和肠道菌群乙酸、丙酸和丁酸生成水平,具有良好的 *P. copri* 调控作用。本研究揭示了多糖结构复杂度与 *P. copri* 代谢活性的负相关关系,并为靶向调控该菌的益生元开发提供理论依据。

参考文献

- [1] VALDES A M, WALTER J, SEGAL E, et al. Role of the gut microbiota in nutrition and health [J]. The BMJ, 2018, 361: k2179.
- [2] XIE J H, JIN M L, MORRIS G A, et al. Advances on bioactive polysaccharides from medicinal plants [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2016, 56(sup1): S60-S84.
- [3] YU Y, SHEN M, SONG Q, et al. Biological activities and pharmaceutical applications of polysaccharide from natural resources: A review [J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 183: 91-101.
- [4] SHI H, CHANG Y, GAO Y, et al. Dietary fucoidan of acaudina molpadioides alters gut microbiota and mitigates intestinal mucosal injury induced by cyclophosphamide [J]. Food & Function, 2017, 8(9): 3383-3393.
- [5] ZHANG D, LIU J, CHENG H, et al. Interactions between polysaccharides and gut microbiota: a metabolomic and microbial review [J]. Food Research International, 2022, 160: 111653.
- [6] COSTEA P I, HILDEBRAND F, ARUMUGAM M, et al. Enterotypes in the landscape of gut microbial community composition [J]. Nature Microbiology, 2018, 3(1): 8-16.
- [7] YEOH Y K, SUN Y, IP L Y T, et al. Prevotella species in the human gut is primarily comprised of Prevotella copri, Prevotella stercorea and related lineages [J]. Scientific Reports, 2022, 12(1): 9055.
- [8] PRASOODANAN P K V, SHARMA A K, MAHAJAN S, et al. Western and non-western gut microbiomes reveal new roles of Prevotella in carbohydrate metabolism and mouth-gut axis [J]. npj Biofilms and Microbiomes, 2021, 7(1): 77.
- [9] FEHLNER-PEACH H, MAGNABOSCO C, RAGHAVAN V, et al. Distinct polysaccharide utilization profiles of human intestinal Prevotella copri isolates [J]. Cell Host & Microbe, 2019, 26(5): 680-690.e5.
- [10] ZANG X, XIAO M, YU L, et al. Prevotella copri-a potential next-generation probiotic [J]. Food Frontiers, 2024, 5(4): 1391-1409.
- [11] PRECUP G, VODNAR D C. Gut Prevotella as a possible biomarker of diet and its eubiotic versus dysbiotic roles: a comprehensive literature review [J]. British Journal of Nutrition, 2019, 122(2): 131-140.
- [12] SUN Y, LIU Y, AI C, et al. Caulerpa lentillifera polysaccharides enhance the immunostimulatory activity in immunosuppressed mice in correlation with modulating gut microbiota [J]. Food & Function, 2019, 10(7): 4315-4329.
- [13] HU J L, NIE S P, MIN F F, et al. Polysaccharide from seeds of Plantago asiatica L. increases short-chain fatty acid production and fecal moisture along with lowering pH in mouse colon [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(46): 11525-11532.
- [14] YUE F, ZHANG J, XU J, et al. Effects of monosaccharide composition on quantitative analysis of total sugar content by phenol-sulfuric acid method [J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 963318.
- [15] BALAKRISHNAN B, LUCKEY D, MARIETTA E, et al. Development of a real-time PCR method for quantification of Prevotella histicola from the gut [J]. Anaerobe, 2017, 48: 37-41.
- [16] VERBRUGGHE P, VAN AKEN O, HÄLLENIUS F, et al. Development of a real-time quantitative PCR method for detection and quantification of Prevotella copri [J]. BMC Microbiology, 2021, 21(1): 23.
- [17] HAO Q Y, YAN J, WEI J T, et al. Prevotella copri promotes vascular calcification via lipopolysaccharide through activation of NF- κ B signaling pathway [J]. Gut Microbes, 2024, 16(1): 2351532.
- [18] GUDI R, SUBER J, BROWN R, et al. Pretreatment with yeast-derived complex dietary polysaccharides suppresses gut inflammation, alters the microbiota composition, and increases immune regulatory short-chain fatty acid production in C57BL/6 mice [J]. The Journal of Nutrition, 2020, 150(5): 1291-1302.
- [19] MORRISON D J, PRESTON T. Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism [J]. Gut Microbes, 2016, 7(3): 189-200.
- [20] SCHWARZ A, BRUHS A, SCHWARZ T. The short-chain fatty acid sodium butyrate functions as a regulator of the skin immune system [J]. Journal of Investigative Dermatology, 2017, 137(4): 855-864.
- [21] ZHANG B, LINGGA C, DE GROOT H, et al. The oxidoreductase activity of rnf balances redox cofactors during fermentation of glucose to propionate in prevotella [J]. Scientific Reports, 2023, 13(1): 16429.
- [22] STROBEL H J. Vitamin B12-dependent propionate production by the ruminal bacterium Prevotella ruminicola 23 [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1992, 58(7): 2331-2333.
- [23] LI Z, ZHANG H, HE L, et al. Influence of structural features and feruloylation on fermentability and ability to modulate gut microbiota of arabinoxylan in *in vitro* fermentation [J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 1113601.
- [24] ZHU L, QIN S, ZHAI S, et al. Inulin with different degrees of polymerization modulates composition of intestinal microbiota in mice [J]. FEMS Microbiology Letters, 2017, 364(10): fnx075.
- [25] CHEN T, LONG W, ZHANG C, et al. Fiber-utilizing capacity varies in Prevotella-versus Bacteroides-dominated gut microbiota [J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 2594.
- [26] ZHAO Y, WANG Y, MA Q, et al. Different microbiota modulation and metabolites generation of five dietary glycans during *in vitro* gut fermentation are determined by their monosaccharide profiles [J]. Food Research International, 2024, 196: 115011.
- [27] LI J, GÁLVEZ E J C, AMEND L, et al. A versatile genetic toolbox for Prevotella copri enables studying polysaccharide utilization systems [J]. EMBO Journal, 2021, 40(23): e108287.