

## 复合蔬菜酵素对健康青年肠道菌群的影响

李敏涵<sup>1</sup>, 李洪军<sup>1,2</sup>, 程成鹏<sup>1</sup>, 余思洁<sup>1</sup>, 贺稚非<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>西南大学食品科学学院 重庆 400715

<sup>2</sup>川渝共建特色食品重庆市重点实验室 重庆 400715)

**摘要** 探究复合蔬菜酵素对健康青年肠道菌群的影响规律,为酵素产品的饮用作指导。26 例无外源性抗生素和粪便微生物群移植的健康青年持续 14 d 饮用复合蔬菜酵素,在第 0,7 d 和 14 d 分别采取粪便样品,采用高通量测序检测各组粪便样品中的菌群。结果表明,健康青年持续摄入复合蔬菜酵素时,肠道菌群的结构和丰度发生变化。在门和属分类学水平上,健康青年肠道菌群的结构和丰度在 0,7 d 和 14 d 相比,均具有较大的差异;第 14 d 时逐渐恢复到第 0 d 的菌群丰度和结构。通过分析 PICRUST2 和 KEGG 数据库,发现与菌群丰度和结构对应的功能结构有类似的变化规律。本研究结果对明确酵素对人体肠道菌群的影响提供了理论参考。

**关键词** 酵素;健康青年;肠道菌群

文章编号 1009-7848(2023)05-0113-12 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2023.05.013

酵素(Jiaosu)是当前世界发酵植物领域内的一款流行的食品<sup>[1]</sup>。它是动物、植物、菌类等为原料,添加或不添加辅料,经微生物发酵制得的含有特定生物活性成分的产品,包括酶类、酚类、有机酸等多种活性成分的混合物<sup>[2]</sup>。酵素不仅保留了果蔬富含的碳水化合物、多酚、维生素、矿物质和膳食纤维,还通过发酵改变了感官特性、营养品质、保质期、最终产品的经济价值等<sup>[3]</sup>。如今市售的食用酵素是指广义的酵素,强调微生态整体,不仅包含酶和活性成分,也包含产酶微生物和相关调节因子及相互作用,例如激活剂及抑制剂、协同调控因子及反馈调控因子等<sup>[4]</sup>。这些物质通过影响机体机能来调节细胞层面的生命活动,将大分子物质加速分解成小分子物质,例如将大分子的多糖转化为葡萄糖,蛋白质分解成氨基酸等活动,从而被机体细胞充分吸收利用来维持机体功能、组织修复、食物消化等生命活动<sup>[5]</sup>。

此外,近年来因乳糖不耐受、牛奶蛋白过敏、素食主义等人群越来越多,故酵素产品受到越来越多消费者的关注,生产酵素产品的企业也越来

越多<sup>[6]</sup>。由此科学界对酵素的设计和特性研究日益增多。酵素中大量含有的酚类、有机酸等物质,能够调节肠道 pH 值,改变菌群之间的丰度,从而改善肠道微环境,促进肠道蠕动,增强肠道代谢功能<sup>[7]</sup>。菌群丰度的改变不仅影响肠道微生物的初生代谢产物,也影响其次级代谢产物,例如短链脂肪酸(SCFAs)的改变影响肠道屏障功能和免疫应答,进而抑制病原菌侵袭和定植<sup>[8]</sup>。与此同时,微环境的改变会调节肠道微生物的稳定性和恢复力,促进机体健康,并且有效抑制病原微生物定植<sup>[9]</sup>。目前已有诸多研究发现酵素可以影响小鼠肠道菌群的多样性<sup>[10]</sup>,具有减肥<sup>[11]</sup>,提高免疫功能<sup>[12]</sup>,减缓 I 型糖尿病<sup>[13]</sup>等诸多功效,然而,目前还未有关于酵素对人体肠道影响的报道。基于此,本试验以健康人群为研究对象,采集 26 名健康青年持续摄入复合蔬菜酵素前、后的粪便样本,利用高通量测序技术检测粪便样品内的微生物菌群多样性,探究摄入酵素是否引起肠道菌群的变化,并预测其产生的功能。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料、试剂与仪器

1.1.1 材料 由韩国圃美多公司提供的复合蔬菜液体酵素,成分为茄子 33.50%、奶白菜 10.00%、韭菜 0.50%、奶黄瓜 1.00%、黄瓜 1.00%、二荆条 1.00%、水白菜 10.00%、苋菜 10.00%、冬瓜 10.00%、

收稿日期:2022-05-08

基金项目:重庆市技术创新与应用发展专项重点项目(2022TIAD-KPX0380);川渝地区家兔产业协同创新与关键技术集成示范项目(2022YFQ0033)

第一作者:李敏涵,女,硕士生

通信作者:贺稚非 E-mail:2628576386@qq.com

秋葵 3.00%、低聚果糖 19.99%。制作过程如下:按 0.01%接种量向复合蔬菜汁接种活化后的乳杆菌 PMO08,发酵 72 h 后与质量分数 55%低聚果糖溶液等体积混合,在 25 °C 后熟 3 个月,后熟期间每周进行充分搅拌。经检测,此复合蔬菜液体酵素富含维生素、矿物质、有机酸、酶类、低聚果糖等,且具有一定的抗氧化性,是一种营养丰富、营养均衡、口感良好的健康饮品。

1.1.2 试剂 基因组 DNA 提取试剂盒,上海索宝生物科技有限公司。

1.1.3 仪器 DYCZ-TRANS2 电泳仪,北京六一生物科技有限公司;ABI GeneAmp® 9700PCR 仪,美国应用生物系统公司;无菌便样采管(30 mL),上海朗赋实业有限公司;DW-86W102 超低温冰柜,澳柯玛股份有限公司;NanoDrop2000 超微量分光光度计,上海土森视觉科技有限公司。

## 1.2 试验对象

26 名年龄在 21~27 岁之间健康的中国青年(男 13 名,女 13 名),平均年龄为(23.54 ± 1.48)岁,身体质量指数(BMI 值)均在 18.0~23.9 kg/m<sup>2</sup> 之间。所有青年均在中国重庆生活了 3 个月以上,且近 1 个月内未服用过激素类、抗生素和益生菌类产品,且无宗教信仰<sup>[4]</sup>。研究对象保持日常饮食的情况下,连续 14 d 在每日晚上 8 点服用 3 倍稀释后的酵素 30 mL。分别于服用后的第 0,7 天和 14 天采集研究对象的粪便样本。采用已经做好标记的一次性无菌便样采管进行粪便样本采集,每次 2 份。采样后用封口膜将采样管管口封好后迅速置于液氮中,后将样品转移入-80 °C 超低温冰柜保存备用。

## 1.3 试验方法与设计

采用基因组 DNA 提取试剂盒提取粪便样品的 DNA。采用超微量分光光度计对 DNA 的浓度和纯度进行检测,后用琼脂糖凝胶电泳进行 DNA 完整性的检测。采用 PCR 仪进行 PCR 扩增。PCR 扩增引物:细菌 16S rRNA V3~V4 可变区域引物 338F (ACTCCTACGGGAGGCAGCAG) 和 806R (GGACTACHVGGGTWTCTAAT)。以上操作由上海美吉生物有限公司协助完成。

## 1.4 统计分析方法

通过高通量测序得到的原始数据,经指控拼

接后,再以 QIIME2 (v2020.2) 进行降噪(DADA2Deblur),得到扩增序列变体(Amplified sequence variants, ASV)代表序列和 ASV 峰度表。采用 classify-sklearn(Naive Bayes)对 ASV 代表序列进行分类学分析,获得获得了菌群的基本分类:域(Domain)、界(Kingdom)、门(Phylum)、纲(Class)、目(Order)、科(Family)、属(Genus)、种(Species),与数据库 silva138 进行对比,并在交互平台按着最小样本序列数进行抽平后进行分析。将数据以第 0,7,14 天(即 d-0 组、d-7 组、d-14 组)进行分类。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 肠道菌群丰度分析

78 份粪便测序样本共获得 9 412 887 优化序列,3 879 334 703 碱基,得到微生物种类如下:1 域、1 界、15 门、22 纲、57 目、104 科、286 属、544 种、3 647 ASV。稀释曲线在小于 500 条测序序列时,Shannon 指数随着序列增加而迅速增加,大于 500 后 Shannon 指数随着序列增加趋于平缓进入平台期,本次研究的序列样本数量均在 5 000 以上,说明本次测序数据量足够大,足以反映样本中绝大多数的微生物多样性信息,适合进行下一步分析(图 1a)。

通过分析粪便样本中菌群的  $\alpha$  多样性,发现 3 组共有 776 ASV,每个组内各有不同 ASV 的菌群,且随着时间的增加 ASV 的数目也在增加(图 1b)。然而,3 组实际观测到的物种数目(Sobs 值)、群落丰富度(Chao1 值)、群落多样性(Shannon 值)、群落均匀度(Shannoneven 值)、群落谱系多样性(PD 值)对比均无统计学意义(表 1,  $P > 0.05$ ),表明在试验期间复合蔬菜酵素对健康青年的肠道菌群的  $\alpha$  多样性无显著影响。进一步评估  $\beta$  多样性的差异,采用非度量多维尺度(Non-metric multidimensional scaling, NMDS)来显示组间的差异(Analysis of similarities, ANOSIM, 距离算法:Weighted-unifrac)。结果显示,3 组之间的物种丰度分布仍具有一定的差异,其中 d-7 组和 d-14 组( $r=0.0404, P=0.0295$ )之间呈显著差异,而 d-0 组和 d-7 组之间( $r=0.0127, P=0.2215$ )、d-0 组和 d-14 组之间( $r=0.0052, P=0.5452$ )均无显著性差异。

这表明在试验期间，酵素对健康青年的肠道菌群在 ASV 水平上虽具有一定的影响，但影响相对较小。

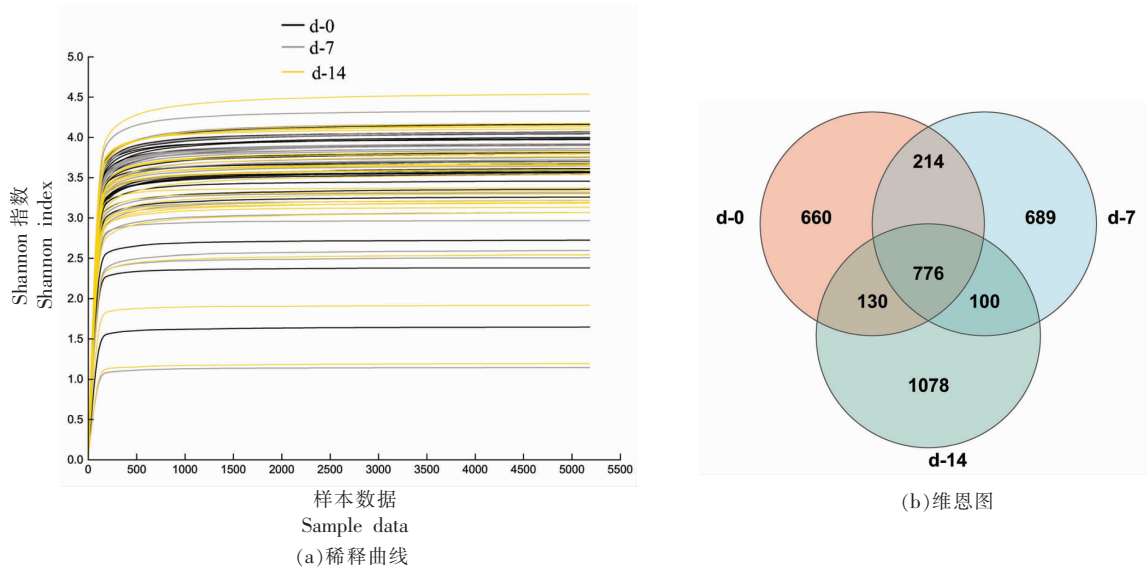


图 1 ASV 分类学水平上的稀释曲线 (a)和维恩图 (b)

Fig.1 Rarefaction curve (a) and venn diagram (b) on ASV taxonomic level

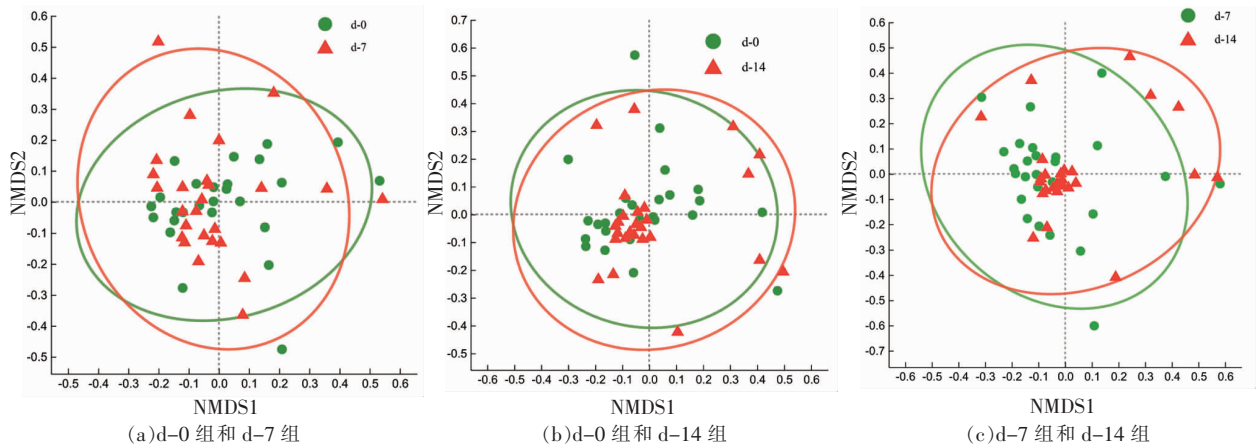


图 2 ASV 分类学水平上的 β 多样性分析 (NMDS)

Fig.2 Beta diversity analysis on ASV taxonomic level (NMDS)

表 1 α 多样性指数组间差异

Table 1 Differences in alpha diversity index between groups

分组	Sobs 值	Chao1 值	Shannon 值	Shannoneven 值	PD 值
d-0	168.80 ± 54.51	204.00 ± 69.82	3.57 ± 0.56	0.70 ± 0.08	19.60 ± 5.22
d-7	163.20 ± 49.70	191.20 ± 62.26	3.52 ± 0.67	0.69 ± 0.10	19.35 ± 5.52
d-14	168.30 ± 66.45	206.60 ± 91.52	3.44 ± 0.71	0.68 ± 0.11	21.17 ± 7.58

### 2.2 肠道菌群在门分类学水平上的组成和差异分析

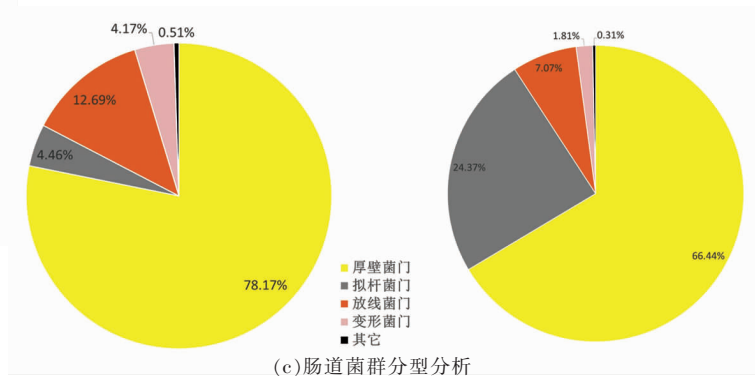
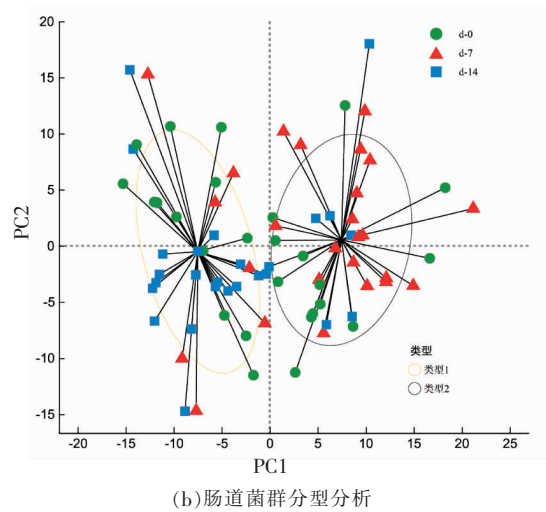
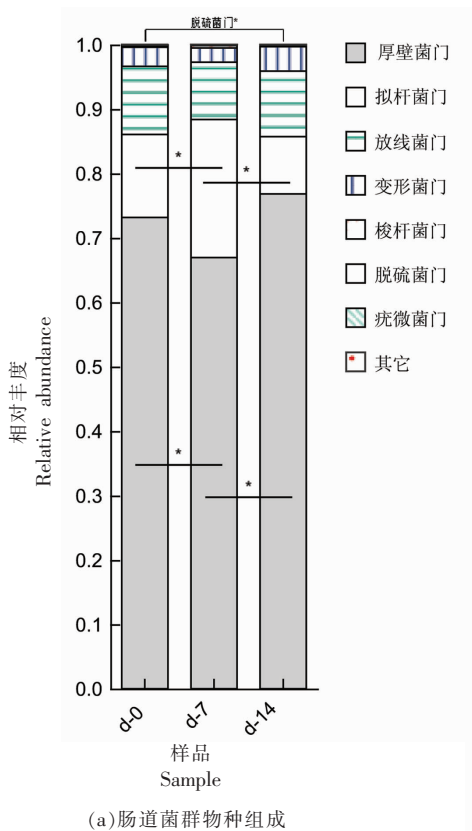
组内求均值,并将丰度占比<0.1%的物种归为

其它,分析试验对象不同时间的肠道菌群在门分类学水平下的组成差异。发现构成人体肠道微生物菌群主要有厚壁菌门 (Firmicutes)、拟杆菌门

(Bacteroidota)、放线菌门(Actinobacteriota)、变形菌门(Proteobacteria)、梭杆菌门(Fusobacteriota)、脱硫菌门(Desulfobacterota)、疣微菌门(Verrucomicrobiota)等。由图3a可知厚壁菌门和拟杆菌门为主要的优势菌门,约占85%以上。运用wilcoxon符号秩检验的方法,根据得到的群落丰度数据,采用将样本一一对应配对的方案,对不同组样本微生物群落之间的物种进行假设检验,评估物种丰度差异的显著性水平,获得随时间推移的物种信息差异。在试验过程中试验样本的菌群构成均发生了一定的变化。其中d-0组和d-7组相比,厚壁菌门和拟杆菌门的丰度均具有显著性差异( $P<0.05$ )。相比其它2组,d-7组中的厚壁菌门的丰度较低,而拟杆菌门丰度较高,而d-0组和d-14组相比,仅有含量较低的脱硫菌门具有丰度上的显著性差异。即在试验过程中,厚壁菌门的丰

度先显著减少,后到第14天时增加到和试验开始丰度相似;拟杆菌门的变化则刚好与厚壁菌门相反。

依据不同样本的丰度优势菌群结构,在组内采用JSD距离算法进行样本菌群分型分析,可分为2个菌群型(图3b)。2个菌群类型的第一优势菌群均为厚壁菌门,然而该优势菌群在两个不同类型菌群中含量有不同(图3c)。类型1相比类型2中的厚壁菌门丰度较高,而拟杆菌门丰度相比较低。这与众多研究发现的拟杆菌门的减少将会伴随着厚壁菌门增加相符<sup>[15]</sup>。统计每个时间段的人数发现,随着时间的变化,类型1菌群结构的人数先减少后增加;类型2菌群结构的人数则先增加后减少(表2),表明在试验过程中,大多数人的肠道菌群菌型均发生了变化。



注:\*表示差异显著( $P<0.05$ )。

图3 在门分类学水平上的肠道菌群物种组成(a)和肠道菌群分型分析(b和c)

Fig.3 Species composition of intestinal flora (a) and typing analysis of intestinal flora (b and c) on phylum taxonomic level



表 2 肠道菌群分组类型组成

Table 2 The composition of intestinal flora grouping type

类型	d-0 组人数	d-7 组人数	d-14 组人数
类型 1	13	7	19
类型 2	13	19	7

### 2.3 肠道菌群在属分类学水平上的组成和差异分析

在属分类学水平上, 试验对象的肠道菌群主要由粪杆菌属(17.91%)、拟杆菌属(8.53%)、双歧杆菌属(6.86%)、巨单胞菌属(6.64%)、布劳特氏菌属(6.32%)、罗斯氏菌属(3.71%)、普氏菌属(3.60%)、不动杆菌属(3.49%)、罕见小球菌属(3.00%)、柯林斯菌属(2.38%)等组成。运用上述门分类学水平相同的方法(wilcoxon 符号秩检验法), 分析不同时间菌群在属分类学水平上的差异

性。d-0 组与 d-7 组具有显著差异的菌群共有 26 属(图 4a); d-0 组与 d-14 组具有显著差异的菌群共有 19 属(图 4b); d-7 组与 d-14 组具有显著差异的菌群共有 33 属(图 4c)。

采用线性判别分析及影响因子(Linear discriminant analysis Effect Size, LEfSe), 进一步确认具有显著性差异且影响较大的分类群。LEfSe 鉴定出 39 个区别特征(图 5a), 它们的相对丰度的差异对效果影响较大, 在属分类学水平上, d-0 组的微生物菌群富集了 6 个属, d-7 组的微生物菌群富集了 7 个属, d-14 组的微生物菌群富集了 2 个属。进一步确认具有显著性差异且影响更大的分类群(图 5b), 其中 d-0 组仅有梭菌纲显著富集, 无显著富集的菌属; d-7 组的拟杆菌属显著富集, 且影响整个拟杆菌门对差异的效果; d-14 组厚壁菌门的布劳特氏菌属显著富集。

表 3 核心肠道菌群及其相对丰度(丰度前 1%, 分组下括号内数字表示丰度前 1% 的菌属相对丰度的总和; 单位: %)

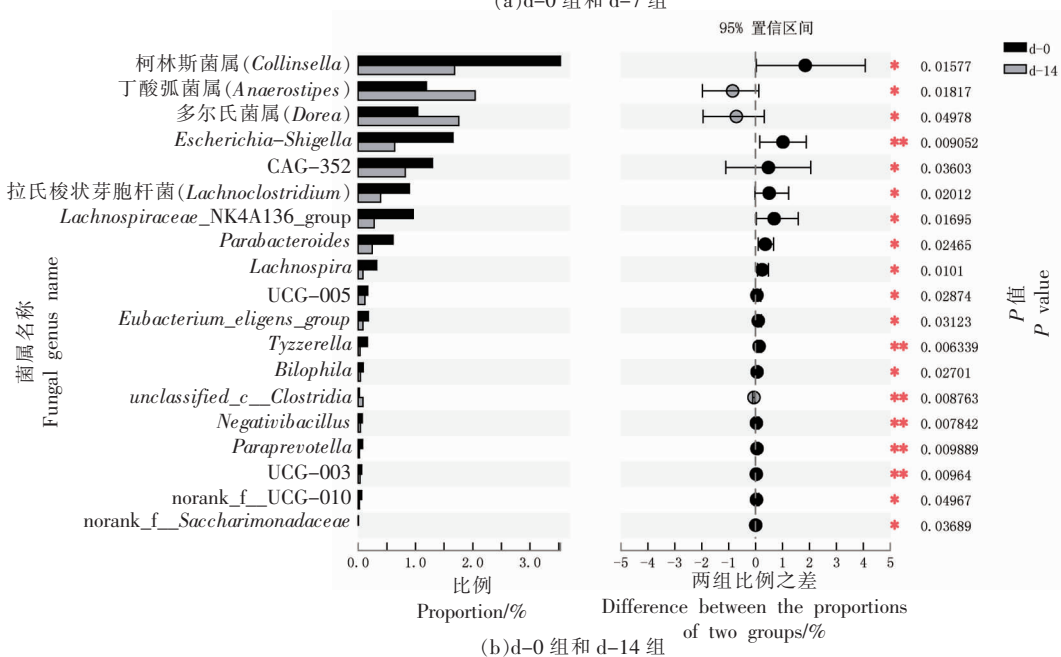
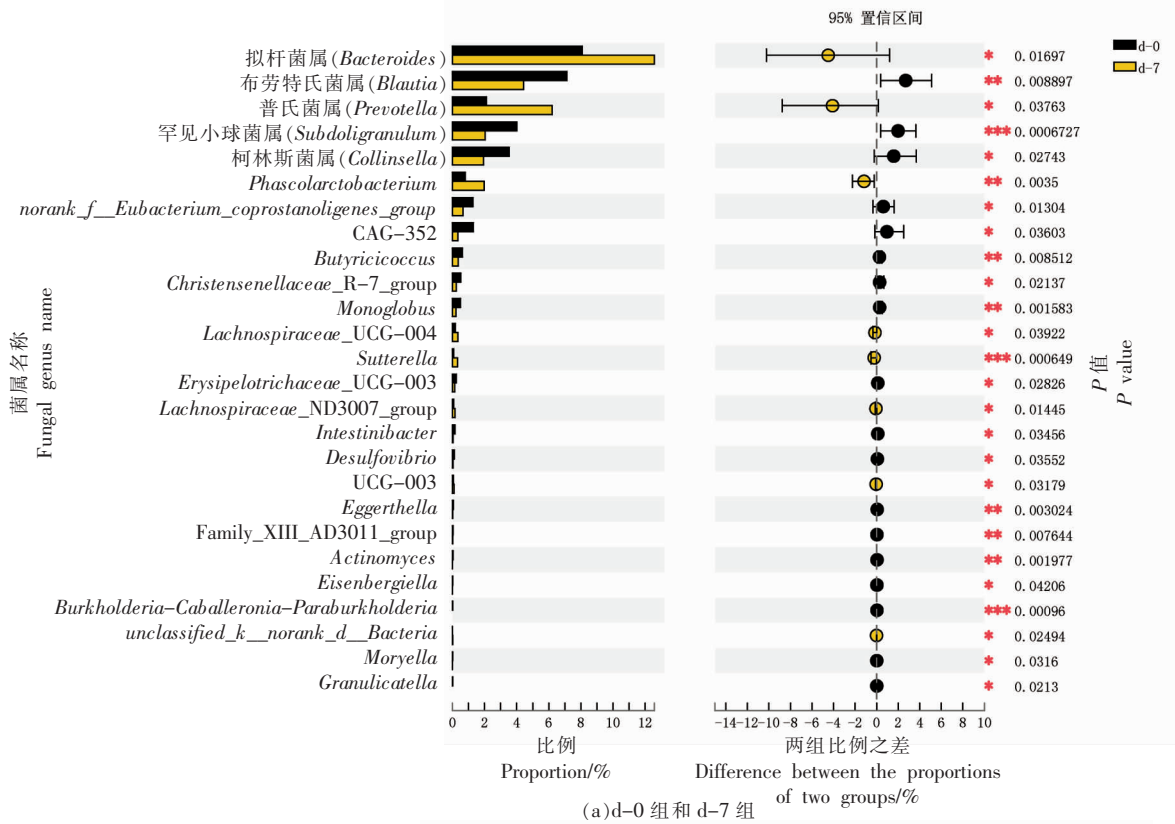
Table 3 Core intestinal flora and their relative abundance (top 1% abundance, and the numbers in parentheses below the grouping represent the sum of the relative abundance of the genera in the top 1% of abundance; Unit: %)

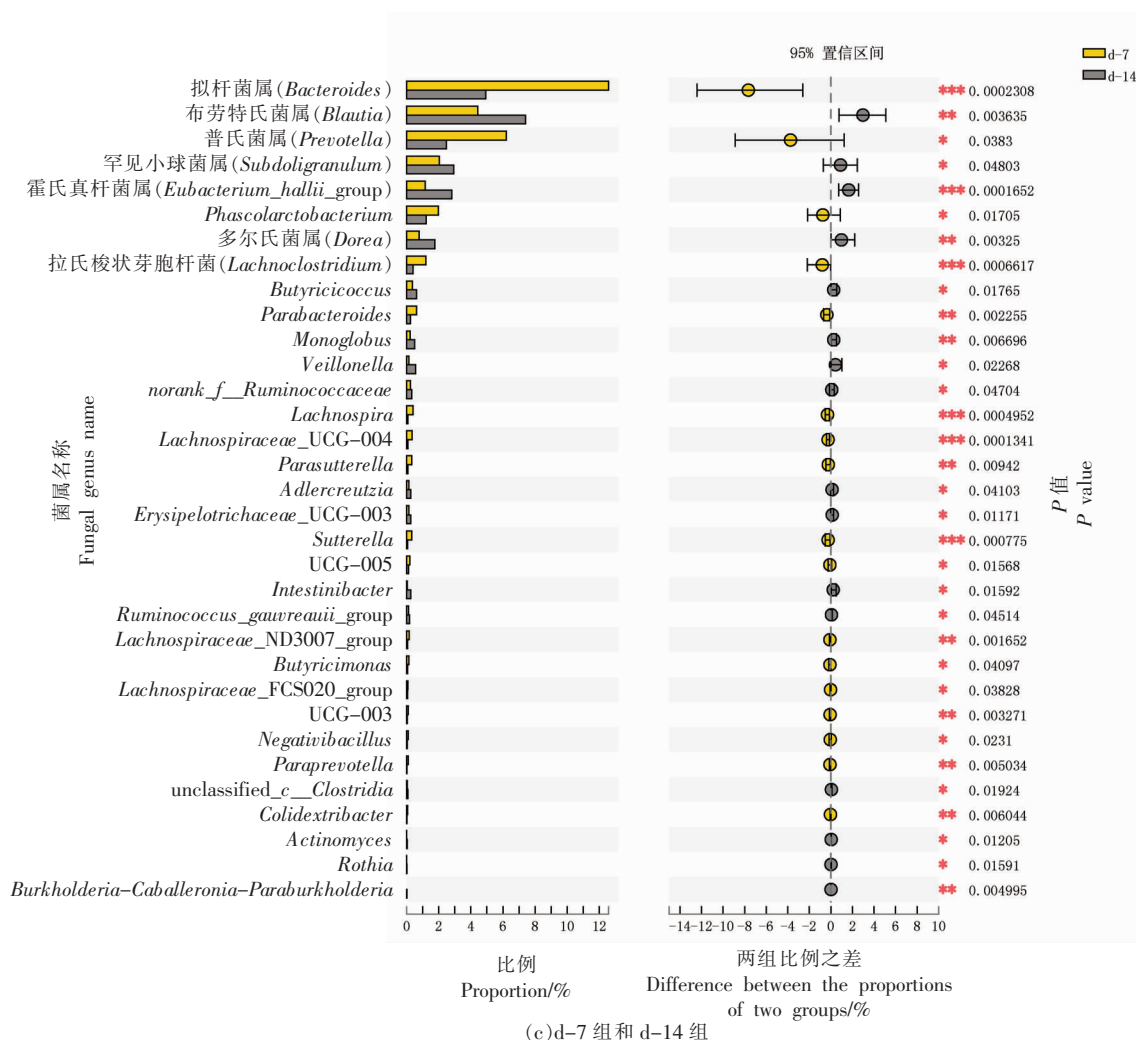
门	属	d-0(85.89%)	d-7(88.41%)	d-14(88.06%)
放线菌门	双歧杆菌属( <i>Bifidobacterium</i> )	6.0983	6.6022	7.8665
	柯林斯菌属( <i>Collinsella</i> )	3.5282 <sup>a</sup>	1.9401 <sup>b</sup>	1.6852 <sup>b</sup>
拟杆菌门	拟杆菌属( <i>Bacteroides</i> )	8.0888 <sup>a</sup>	12.5841 <sup>b</sup>	4.9237 <sup>a</sup>
	普氏菌属( <i>Prevotella</i> )	2.1158 <sup>a</sup>	6.2154 <sup>b</sup>	2.4715 <sup>a</sup>
厚壁菌门	粪杆菌属( <i>Faecalibacterium</i> )	16.6148	17.8724	19.2337
	巨单胞菌属( <i>Megamonas</i> )	5.7166	6.8482	7.3440
	布劳特氏菌属( <i>Blautia</i> )	7.1224 <sup>a</sup>	4.4264 <sup>b</sup>	7.4018 <sup>a</sup>
	罗斯氏菌属( <i>Roseburia</i> )	3.4971	3.9506	3.6898
	不动杆菌属( <i>Agathobacter</i> )	3.5660	3.8654	3.0376
	罕见小球菌属( <i>Subdoligranulum</i> )	4.0210 <sup>a</sup>	2.0313 <sup>b</sup>	2.9257 <sup>a</sup>
	小杆菌属( <i>Dialister</i> )	1.6696	2.4863	2.4863
	霍氏真杆菌属( <i>Eubacterium_hallii_group</i> )	2.1676 <sup>ab</sup>	1.1635 <sup>a</sup>	2.8153 <sup>b</sup>
	<i>Romboutsia</i>	1.7408	1.5970	1.8408
	瘤胃球菌属( <i>Ruminococcus</i> )	2.3188	1.2872	1.1642
	<i>unclassified_f__Lachnospiraceae</i>	1.6667	1.5273	1.4288
	丁酸弧菌属( <i>Anaerostipes</i> )	1.1894 <sup>a</sup>	1.3161 <sup>ab</sup>	2.0424 <sup>b</sup>
	<i>Fusicatenibacter</i>	1.2643	1.3680	1.7015
	<i>Streptococcus</i>	1.3376	1.2354	1.6630
	<i>Phascolarctobacterium</i>	0.7989 <sup>a</sup>	1.9712 <sup>b</sup>	1.2161 <sup>a</sup>
	<i>Ruminococcus_torques_group</i>	1.5311	1.3072	0.9678
	多尔氏菌属( <i>Dorea</i> )	1.0405 <sup>a</sup>	0.7759 <sup>a</sup>	1.7541 <sup>b</sup>
UCG-002	1.0909	0.9538	0.6684	
<i>norank_f__Eubacterium_coprostanoligenes_group</i>	1.2761 <sup>a</sup>	0.6596 <sup>b</sup>	0.7426 <sup>ab</sup>	
拉氏梭状芽胞杆菌( <i>Lachnoclostridium</i> ) <i>Lachnoclostridium</i>	0.8960 <sup>a</sup>	1.1953 <sup>a</sup>	0.3913 <sup>b</sup>	
CAG-352	1.2976 <sup>a</sup>	0.3490 <sup>b</sup>	0.8211 <sup>b</sup>	
<i>Veillonella</i>	1.5140	0.1393	0.5595	

(续表 3)

门	属	d-0(85.89%)	d-7(88.41%)	d-14(88.06%)
	<i>Megasphaera</i>	0.1564	0.7011	1.3369
	<i>Clostridium_sensu_stricto_1</i>	0.1919	0.2527	1.0953
变形菌门	<i>Escherichia-Shigella</i>	1.6541 <sup>a</sup>	1.2368 <sup>ab</sup>	0.6381 <sup>b</sup>
	<i>Klebsiella</i>	0.6581	0.1304	1.3554
	<i>Haemophilus</i>	0.0622	0.0748	1.1420

注:无标注为均无显著性差异( $P>0.05$ );a、b 分别表示与无标注相比差异显著( $P<0.05$ );ab 表示与剩余两组均无显著性差异( $P>0.05$ )。





注:各图右侧数据表示差异性水平( $P < 0.05$ )。

图 4 属分类学水平上差异显著的菌群

Fig.4 Significantly different flora on genus level

## 2.4 肠道菌群功能预测

为了进一步探索酵素对肠道菌群的影响,采用基于 16s rRNA 基因丰度统计分析的 PICRUSt2 和 KEGG 数据库进行分析。肠道菌群大多数具有新陈代谢、环境信息处理、遗传信息处理等功能(表 5)。如图 6 所示,基于秩和检验结果表明:d-0 组和 d-7 组、d-7 组和 d-14 组具有不同功能且具有显著差异的菌群较多;而 d-0 组和 d-14 组具有不同功能且具有显著差异的菌群相对较少。

d-0 组和 d-14 组仅有与有机系统相关的功能中的循环系统具有显著差异(图 6b)。通过对比图 6a 和图 6c 可知,健康青年的肠道菌群有 5 种

具体功能在试验过程中一直发生着变化:在与新陈代谢相关的功能中糖的生物合成和代谢的具体功能在试验第 7 天达到高峰,而在试验第 14 天时降低到试验开始时的丰度;在与人类疾病相关的功能中寄生传染病的具体功能在试验第 7 天相对较低,而在试验第 14 天时回升到试验开始时的丰度;在与细胞代谢过程相关的功能中细胞生长和死亡、运输和分解代谢的两种具体功能在试验第 7 天达到高峰,而在试验第 14 天时降低到试验开始时的丰度;在与有机系统相关的功能中环境适应的具体功能同样在试验第 7 天达到高峰,而在试验第 14 天时降低到试验开始时的丰度。

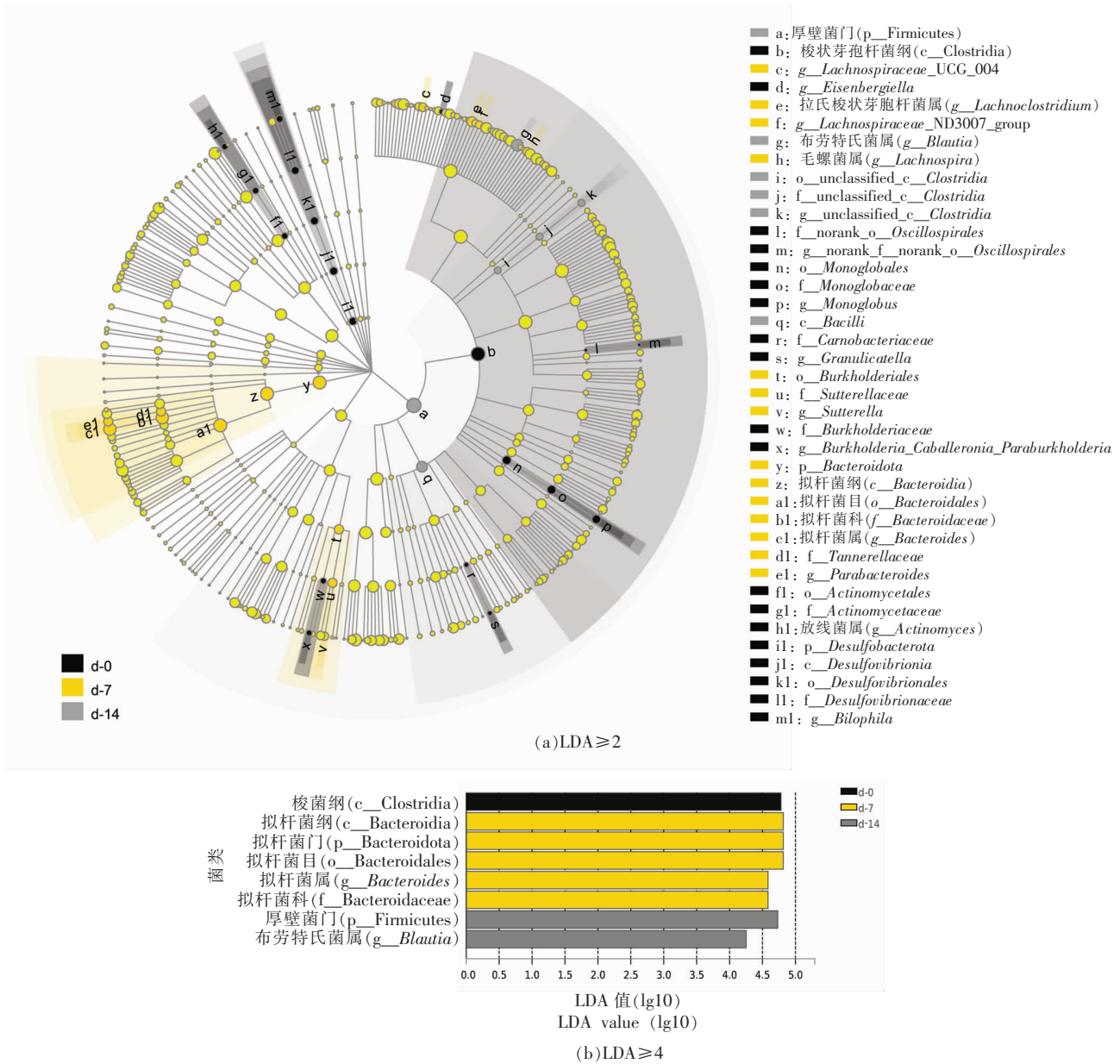


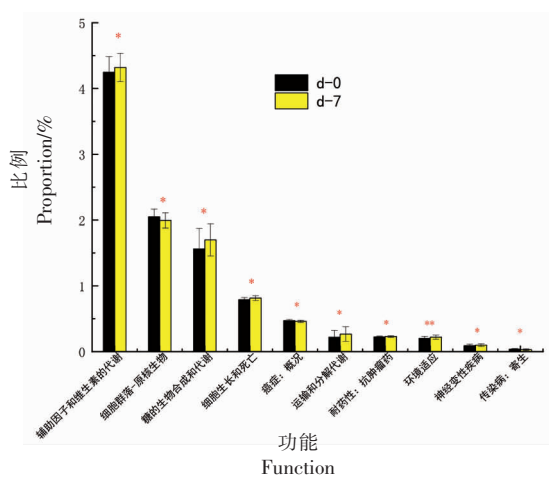
图5 线性判别分析及影响因子  
Fig.5 Linear discriminant analysis effect size

表4 肠道菌群功能统计(%)

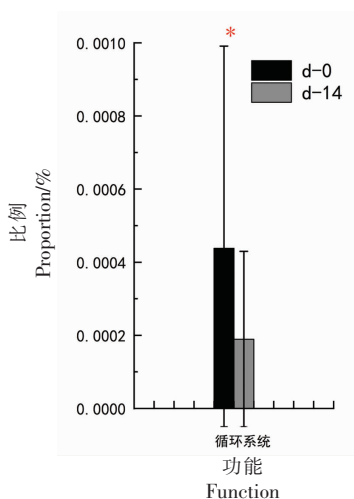
Table 4 Intestinal flora function statistics (%)

功能名称	详细功能名称	d-0	d-7	d-14
新陈代谢	糖的生物合成和代谢、辅助因子和维生素的代谢、氨基酸代谢、能量代谢等	57.80	57.77	57.81
环境信息处理	膜运输、信号传导、信号分子和相互作用等	19.00	19.44	19.42
遗传信息处理	折叠、分类和降解、复制和修复、转录等	17.59	17.42	17.41
人类疾病	癌症;概况、耐药性;抗肿瘤药、传染病;寄生、神经变性疾病等	2.44	2.37	2.36
细胞代谢过程	细胞生长和死亡、细胞群落-原核生物、运输和分解代谢等	2.00	1.76	1.78
有机系统	老化、循环系统、环境适应、消化系统等	1.11	1.15	1.13
合计		99.93	99.90	99.90

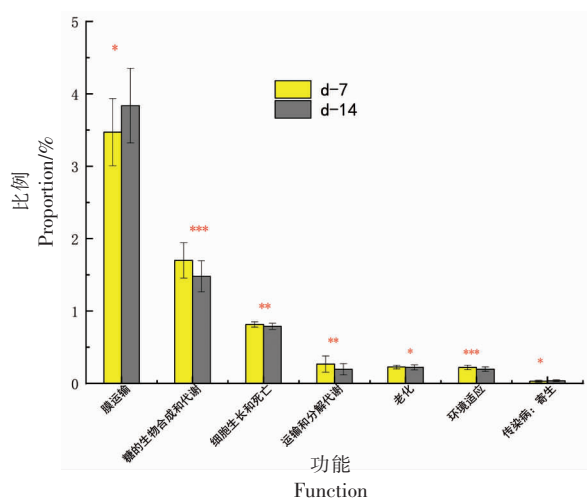




(a)d-0 组和 d-7 组



(b)d-0 组和 d-14 组



(c)d-7 组和 d-14 组

注: \* 表示差异显著 ( $P < 0.05$ ); \*\* 表示差异极显著 ( $P < 0.01$ )。

图 6 显著差异功能检验

Fig.6 Test of significant differences functional

### 3 讨论

肠道微生物群与人体相互作用, 与人的健康有着密切的关系, 近年来已成为科学研究的热点。许多亚健康状态, 如肥胖<sup>[16]</sup>、非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD)<sup>[17]</sup>、糖尿病<sup>[18]</sup>、精神症状<sup>[19]</sup>等都与肠道菌群相关。构成人体肠道菌群的主要菌群是厚壁菌门和拟杆菌门, 它们的丰度比例在人类肠道微生物组成中具有显著相关性<sup>[20]</sup>。在试验过程中发现厚壁菌门和拟杆菌门在试验过程中的变化均是显著的, 在第 7 天时厚壁菌门显著减少, 拟杆菌门显著增加。尽管存在一定的争议<sup>[21]</sup>, 但是厚壁菌门和拟杆菌门的丰度与人的肥胖具有一定的相关性; 厚壁菌门和拟杆菌门的比值越大, 人体相对越肥胖<sup>[22]</sup>。拟杆菌门在人体中发挥着降解碳水化合物的作用, 被认为是真核生物基因组的补充<sup>[23]</sup>。当减掉部分体重后, 拟杆菌门丰度的增加与体重损失率呈一定的相关性<sup>[24]</sup>。

此次试验对象入选标准较为严格, 个体之间的差异相对较小<sup>[25]</sup>, 同时试验对象所处同一地区且饮食习惯相似<sup>[26]</sup>, 且试验对象人群均为在校大学生, 大多在同一食堂就餐, 为共居群体, 而肠道菌群会在关系密切的人群之间转移, 这些共居个体的肠道菌群具有群落相似性<sup>[27]</sup>, 因此试验对象之间的差异性相对较小。然而, 研究结果显示类群之间的相似性对测试样本群之间的总体相似性影响并不十分显著, 这可能是由于来自同一个人的菌群通常比来自其它人的菌群更为相似, 另外可能由于参与试验的对象人数相对较少, 从而对数据的解释度相对较低<sup>[28]</sup>。

已有研究表明影响健康肠道菌群的因素有饮食、外源性益生菌与益生元的使用、抗生素的使用和进行粪菌移植<sup>[29]</sup>, 试验对象在试验期间均未使用抗生素和进行粪菌移植, 说明本试验肠道菌群的变化仅与饮食因素和饮用酵素产品相关。研究表明, 由于健康成年人长期的膳食习惯, 尽管每日饮食复杂多变但并不会引起肠道菌群的显著变化<sup>[30]</sup>, 因此本试验期间肠道菌群的变化可能由于复合蔬菜液体酵素的摄入引起。在无外源物质干扰的情况下, 拟杆菌属属内的菌种有着拮抗和互生的关系, 因此在人体肠道中相对稳定<sup>[31]</sup>。布劳特氏菌属是厚壁菌门梭状芽孢杆菌纲 (Clostridia) 毛螺菌目

(Lachnospirales)毛螺菌科(Lachnospiraceae)的菌属<sup>[32]</sup>,是肠道内外源物质干扰后较易于发生变化且产生短链脂肪酸的有益菌属<sup>[33-34]</sup>。当试验进行到第7天时试验对象的肠道菌群的丰度发生着变化,而当试验进行到第14天时,肠道菌群的丰度逐渐与试验开始时相类似。这可能是由于短期食用动物性或植物性饮食可重复改变人类群体中的微生物群落结构和基因表达<sup>[35]</sup>。已有研究表明每日的益生元摄入会在短时间内影响特定的结肠菌群,从而改善代谢调节<sup>[36]</sup>。然而,十几天的饮食干预不足以改变个体的肠道类型<sup>[37]</sup>,另外由于健康成年人的肠道菌群已经成型并且难以改变,如果通过饮食或生活方式从根本上改变则需要更长的时间<sup>[38]</sup>。

#### 4 结论

持续饮用酵素可以影响健康青年肠道菌群组成和丰度,通过分析PICRUSt2和KEGG数据库,发现与菌群丰度和结构对应的功能结构的影响也不同。本研究表明,持续饮用酵素至第7天时,健康青年的肠道菌群的组成和丰度在门和属分类学水平上均与试验开始前产生了显著的变化,持续饮用酵素至第14天时健康青年的肠道菌群组成和丰度与第7天相比变化显著,逐渐恢复到试验开始时的组成和丰度。通过分析PICRUSt2和KEGG数据库表明在此过程中同时也引起了肠道菌群的功能结构的变化,而在试验到第14天时恢复到试验开始时的功能结构。此研究对酵素行业的发展提供指导方向,并为酵素产品对人体肠道菌群影响方面提供理论基础。

#### 参 考 文 献

- [1] LAVEFVE L, MARASINI D, CARBONERO F. Microbial ecology of fermented vegetables and non-alcoholic drinks and current knowledge on their impact on human health[J]. *Advances in Food & Nutrition Research*, 2019, 9(4526): 1-37.
- [2] MUROOKA Y, YAMSHITA M. Traditional healthful fermented products of Japan[J]. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2008, 35(8): 791.
- [3] SEPTEMBRE -MALATERRE A, REMIZE F, POUCHERET P. Fruits and vegetables, as a source of nutritional compounds and phytochemicals: Changes in bioactive compounds during lactic fermentation [J]. *Food Research International*, 2018, 104: 86-99.
- [4] 李杰. 酵素饮品质量控制标准研究[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2016.
- LI J. Study on the quality control standards of ferment liquid [D]. Kunming: Kunming University of Science and Techenonlogy, 2016.
- [5] CAGNO R D, FILANNINO P, GOBBETTI M. Novel fermented fruit and vegetable-based products [J]. Springer International Publishing, 2016, 13(1): 279-291.
- [6] KUMAR B V, VIJAYENDRA S, REDDY O. Trends in dairy and non-dairy probiotic products - A review[J]. *Journal of Food Science & Technology*, 2015, 52(10): 6112-6124.
- [7] 孔青. 丁酸梭菌培养与发酵动力学以及调节腹泻小鼠肠道菌群平衡的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2006.
- KONG Q. Studies on the cultivation and kinetic models of fermentation by *Clostridium butyricum* and modulating effect on gastrointestinal microflora in antibiotic-associated diarrheic mice [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2006.
- [8] KAJI I, KARAKI S I, KUWAHARA A. Short-chain fatty acid receptor and its contribution to glucagon-like peptide-1 release[J]. *Digestion*, 2014, 89(1): 31-36.
- [9] AL-SHERAJI S H, ISMAIL A, MANAP M Y, et al. Prebiotics as functional foods: A review[J]. *Journal of Functional Foods*, 2013, 5(4): 1542-1553.
- [10] WANG Y, YU M, SHI Y, et al. Effects of a fermented beverage of changbai mountain fruit and vegetables on the composition of gut microbiota in mice[J]. *Plant Foods for Human Nutrition*, 2019, 74(4): 468-473.
- [11] 袁斌, 程筱栋, 王磊, 等. 果蔬酵素对营养肥胖小鼠减肥效果比较研究[J]. *现代食品*, 2020(12): 183-186.
- YUAN B, CHENG X D, WANG L, et al. Comparative study on the effect of fruit and vegetable enzymes on weight-loss of nutritional obesity mice[J]. *Modern Food*, 2020(12): 183-186.
- [12] 郭爽. 敖东酵素保健功能研究[D]. 长春: 吉林大学, 2015.

- GUO S. The studies on the health care functions of Aodong fermented beverage[D]. Changchun: Jilin University, 2015.
- [13] 赵冰婕. 红树莓酵素冻干粉对 I 型糖尿病小鼠肠道菌群及其代谢物影响的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古大学, 2020.
- ZHAO B J. Effects of red raspberry leavening on gut microbes and metabolites in type I diabetic mice[D]. Hohhot: Inner Mongolia University, 2020.
- [14] BENUS R, VAN D, WELLING G W, et al. Association between *Faecalibacterium prausnitzii* and dietary fibre in colonic fermentation in healthy human subjects[J]. Br J Nutr, 2010, 104(5): 693–700.
- [15] TURNBAUGH P J, HAMADY M, YATSUNENKO T, et al. A core gut microbiome in obese and lean twins[J]. Nature, 2009, 457(7228): 480.
- [16] TURNBAUGH P J, LEY R E, MAHOWALD M A, et al. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest[J]. Nature, 2006, 444(7122): 1027–1031.
- [17] ZENG H, LIU J, JACKSON M I, et al. Fatty liver accompanies an increase in *Lactobacillus* species in the hind gut of C57BL/6 mice fed a high-fat diet[J]. Journal of Nutrition, 2013, 143(5): 627–631.
- [18] ZIPRIS D. The interplay between the gut microbiota and the immune system in the mechanism of type 1 diabetes[J]. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes, 2013, 20(4): 265–270.
- [19] SCHACHTER J, MARTEL J, LIN C S, et al. Effects of obesity on depression: A role for inflammation and the gut microbiota[J]. Brain Behavior & Immunity, 2017, 69: 1–8.
- [20] MAGNE F, GOTTELAND M, GAUTHIER L, et al. The Firmicutes/Bacteroidetes ratio: A relevant marker of gut dysbiosis in obese patients?[J]. Nutrients, 2020, 12(5): 1474.
- [21] FINUCANE M M, SHARPTON T J, LAURENT T J, et al. A taxonomic signature of obesity in the microbiome? Getting to the guts of the matter[J]. PLoS One, 2014, 9(1): e84689.
- [22] KOLIADA A, SYZENKO G, MOSEIKO V, et al. Association between body mass index and Firmicutes/Bacteroidetes ratio in an adult Ukrainian population[J]. BMC Microbiology, 2017, 17(1): 1–6.
- [23] THOMAS F, HEHEMANN J H, REBUFFET E, et al. Environmental and gut bacteroidetes: The food connection[J]. Frontiers in Microbiology, 2011, 2(93): 93.
- [24] LEY R E, TURNBAUGH P J, KLEIN S, et al. Microbial ecology: Human gut microbes associated with obesity[J]. Nature, 2006, 444(7122): 1022–1023.
- [25] ZHU A, SUNAGAWA S, MENDE D R, et al. Inter-individual differences in the gene content of human gut bacterial species[J]. Genome Biology, 2015, 16(82): 1–13.
- [26] BIOL-AQUINO M A, PERDIZ C J, BORLAGDAN M, et al. Differences in the bacterial profiles of infant gut by birth process, milk diet and choice of 16S rRNA gene target region[J]. Human Microbiome Journal, 2019, 13: 100062.
- [27] SE J S, CHRISTIAN L, ELIZABETH K C, et al. Cohabiting family members share microbiota with one another and with their dogs[J]. eLife, 2013, 2: e00458.
- [28] LEY R E, TURNBAUGH P J, KLEIN S, et al. Human gut microbes associated with obesity[J]. Nature, 2006, 444(7122): 1022–1023.
- [29] CALUM J, WALSH, CAITRIONA M, et al. Beneficial modulation of the gut microbiota[J]. Febs Letters, 2016, 588(22): 4120–4130.
- [30] THOMAS G, HST M C, SEAN M G, et al. Predictability and persistence of prebiotic dietary supplementation in a healthy human cohort[J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 14691–14696.
- [31] GUPTA V K, SANDIP P, CHITRA D. Geography, ethnicity or subsistence-specific variations in human microbiome composition and diversity[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 1162.
- [32] YE G, ZHANG L, WANG M, et al. The gut microbiota in women suffering from gestational diabetes mellitus with the failure of glycemic control by lifestyle modification[J]. Journal of Diabetes Research, 2019, 2019: 1–12.
- [33] QI C J, ZHANG Q, YU M, et al. Imbalance of fecal microbiota at newly diagnosed type 1 diabetes in Chinese children[J]. Chinese Medical Journal, 2016, 129(11): 1298–1304.
- [34] BJURSELL M K, MARTENS E C, GORDON J I. Functional genomic and metabolic studies of the adaptations of a prominent adult human gut symbiont, *Bacteroides thetaiotaomicron*, to the suckling

- period [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2006, 281(47): 36269–36279.
- [35] DAVID L A, MAURICE C F, CARMODY R N, et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome [J]. *Nature: International Weekly Journal of Science*, 2014, 505(7484): 559–563.
- [36] TREMAROLI V, BÄCKHED F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism [J]. *Nature: International Weekly Journal of Science*, 2012, 489(7415): 242–249.
- [37] GARY D W, JUN C, CHRISTIAN H, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes [J]. *Science*, 2011, 334(6052): 105–108.
- [38] SPENCER M D, HAMP T J, REID R W, et al. Association between composition of the human gastrointestinal microbiome and development of fatty liver with choline deficiency [J]. *Gastroenterology*, 2011, 140(3): 976–986.

### Effect of Compound Vegetable Jiaosu on Intestinal Flora of Healthy Young Generation

Li Minhan<sup>1</sup>, Li Hongjun<sup>1,2</sup>, Cheng Chengpeng<sup>1</sup>, Yu Sijie<sup>1</sup>, He Zhifei<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715

<sup>2</sup>Chongqing Key Laboratory of Special Food Co-Built by Sichuan and Chongqing, Chongqing 400715)

**Abstract** This paper aimed to investigate the effects of the vegetable jiaosu complex on the intestinal flora of healthy youths and provide guidance for the consumption of jiaosu products. 26 healthy youths without exogenous antibiotics or fecal microbiota transplants consumed the vegetable Jiaosu complex for 14 days. Fecal samples were taken at days 0, 7, and 14, and the flora in each group was measured by high-throughput sequencing. The results showed that the structure and abundance of intestinal flora changed in healthy youths with continuous intake of the vegetable jiaosu complex. At the phylum and genus taxonomic levels, the structure and abundance of the intestinal flora of healthy youths were significantly different at days 0, 7, and 14 compared to each other; the abundance and structure of the flora gradually returned to that of day 0 at day 14. The PICRUSt2 and KEGG databases were analyzed, and similar patterns of change were found in the functional structures corresponding to the abundance and structure of the flora. The results of this study provide a theoretical reference to clarify the effect of enzymes on human intestinal flora.

**Keywords** jiaosu; healthy youth; intestinal flora