

中国特色蜂蜜调节肠道菌群的研究

赵圆¹, 陈思淮¹, 孙玉敬^{1*}, 曹联飞^{2*}

¹浙江工业大学食品科学与工程学院 杭州 310014

²浙江省农业科学院 畜牧兽医研究所 杭州 310021

摘要 以中国常见的意蜂蜜(洋槐蜜、枣花蜜、荆条蜜、荔枝蜜)以及特色中蜂蜜(枇杷蜜、桉木蜜、苦丁茶蜜)为原料,探讨其模拟胃肠道消化与结肠发酵对肠道微生物的影响。结果表明,7种蜂蜜经体外模拟消化发酵后对肠道菌群有调节作用,均增加了放线菌门丰度,降低了厚壁菌门丰度,荔枝蜜、洋槐蜜、荆条蜜、苦丁茶蜜、枇杷蜜、桉木蜜和枣花蜜分别降低了30.08%,21.2%,34.83%,35.5%,32.73%,35.7%和30.41%。且不同蜂蜜对肠道菌群作用有显著差异,荔枝蜜、洋槐蜜、荆条蜜、苦丁茶蜜、枇杷蜜和桉木蜜增加了拟杆菌门丰度,荔枝蜜和洋槐蜜降低了变形菌门丰度。除枣花蜜外,其它6种蜂蜜均可降低厚壁菌门/拟杆菌门(Firmicutes/Bacteroidetes, F/B)值,荔枝蜜、洋槐蜜、荆条蜜、苦丁茶蜜、枇杷蜜和桉木蜜分别降低了341.99%,337.37%,106.36%,128.14%,141.59%和93.52%,其中荔枝蜜降低效果最好。蜂蜜对肠道菌群的作用效果与蜂蜜的植物源有直接的相关性,与蜜蜂的种类没有直接的相关性,厚壁菌门丰度与多酚总量呈负相关。

关键词 蜂蜜; 多酚; 消化; 发酵; 肠道菌群

文章编号 1009-7848(2024)12-0078-16 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.12.008

蜂蜜是蜜蜂采集植物的花蜜、分泌物或蜜露,与自身分泌物混合后,经充分酿造而成的天然甜物质,主要由果糖和葡萄糖以及至少22种其它复合糖组成,占其成分的80%左右^[1-2],其中果糖含有28%~40%,其次是葡萄糖,为20%~35%,而二糖和三糖含量分别约为5%和1%^[3]。最常发现的二糖是麦芽糖、麦芽酮糖、牛甲糖、蔗糖、黑蔗糖^[4]。蜂蜜不仅是一种天然的甜味剂,而且含有酚类化合物,包括类黄酮、酚酸及其酯,以及有机酸、游离氨基酸、维生素、类胡萝卜素衍生物、酶和生物元素(锌、铜、硒、锰和钴)等多种生物活性^[5-6]。我国是世界第一养蜂大国,蜂蜜产量位居世界前列,蜜源植物种类丰富,蜂蜜品种繁多。

最近研究发现蜂蜜对肠道菌群有调节作用,对人体肠道细菌菌株的代谢有积极影响^[7],还可以降低病原菌数量,增强非特异性免疫系统^[8]。Wu等^[9]通过使用老年人粪便微生物群建立的离体肠道模型,发现撒丁岛蜂蜜(SH)和3种澳大利亚桉树蜂蜜(混合桉树蜂蜜(BH)、红桉树蜂蜜(RH)和

白桉树蜂蜜(WH))的添加增加了有益乳酸菌的丰度,降低了潜在有害的革兰氏阴性肠道细菌的丰度,并促进短链脂肪酸的产生。Jiang等^[10]和朱静宇等^[11]发现荞麦蜜使拟杆菌门相对丰度升高,厚壁菌门相对丰度降低,明显改善酒精引起的16种菌属变化,缓解酒精导致的肠道菌群失衡,能促进肠道中双歧杆菌生长并抑制肠道中致病菌繁殖,对人体肠道健康有益。Yi等^[12]发现柑橘蜂蜜可以促进小鼠肠道中拟杆菌的增殖,同时减少厚壁菌的丰度,且对弯曲杆菌和土酸杆菌的生长显示一定的抑制作用。胭脂红蜂蜜(TCH)多酚能显著恢复ALT和AST水平,TCH干预能显著改善酒精暴露小鼠肝组织的病理改变,降低厚壁菌门/拟杆菌门(Firmicutes/Bacteroidetes, F/B)值^[13]。

蜂蜜的功能受蜜源影响较大。目前尚未见中国特色蜂蜜对肠道菌群影响的研究报道。上述研究多采用动物模型研究单种或多种蜂蜜对肠道菌群的影响,未考虑消化吸收过程。

本研究以中国常见意蜂蜜(洋槐蜜、枣花蜜、荆条蜜、荔枝蜜)以及特色中蜂蜜(枇杷蜜、桉木蜜、苦丁茶蜜)为原料,分析其经体外模拟消化与发酵过程对肠道微生物的影响,为蜂蜜对人体肠道微生物的影响研究提供基础数据。

收稿日期: 2024-02-28

基金项目: 浙江省重点研发计划项目(2022C02072)

第一作者: 赵圆,女,硕士生

通信作者: 孙玉敬 E-mail: yjsun01@zjut.edu.cn

曹联飞 E-mail: beekkeepingcao@163.com

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

洋槐蜜、枣花蜜、荆条蜜、荔枝蜜来自浙江的养蜂合作社,产地来自全国的代表性产区。枇杷蜜、桉木蜜、苦丁茶蜜由浙江的养蜂户本地生产。本研究中蜂蜜的糖度为 76.50%~80.75%,含水量为 17.25%~21.95%,几种蜂蜜含水量较高,可能是因为试验用蜂蜜未经加工,由蜂农采摘后直接装罐。

试剂:磷酸二氢钾、碳酸氢钠、氯化钠、六水合氯化镁、碳酸铵、盐酸、氢氧化钠、二水氯化钙、二甲基亚砜、正己烷、福林酚试剂、碳酸钠、没食子酸、亚硝酸钠、硝酸铝、芦丁,均为分析纯,购自国药集团化学试剂有限公司。 α -淀粉酶、胃蛋白酶、胰酶、牛胆盐,购自上海源叶生物科技有限公司。

1.2 仪器与设备

多功能酶标仪,安捷伦公司;超纯水仪,默克公司;pH 计,赛多利斯科学仪器公司;蜂蜜波美度计,杭州凯通仪表科技有限公司;分光光度计,安捷伦公司;水浴恒温振荡器,上海助蓝仪器科技有限公司;超声波机,昆山市超声仪器有限公司;落地式高速冷冻离心机,日本国茨城县常陆那珂市;厌氧培养箱,上海跃进医疗器械有限公司。

1.3 方法

1.3.1 蜂蜜体外模拟胃肠道消化与结肠发酵

1) 体外模拟胃肠道消化 参照 Liu 等^[14]、Minekus 等^[15]和 Mosele 等^[16]的标准化静态消化模型进行体外模拟胃肠道消化,并根据实际情况做少量修改,设置对照组。

2) 结肠发酵培养液的配制 结肠发酵培养液按文献^[17-18]所述方法进行配制并做适当修改,各物质及其含量见表 1。

3) 粪便收集及菌液配制 于试验当天收集志愿者(4 名女生,3 名男生)的新鲜粪便各 20 g 左右,所有提供粪便的志愿者均居住在浙江,年龄在 20~25 岁之间,正常饮食,没有胃肠道疾病病史,且 3 个月内没有服用过抗生素等药物,BMI 指数在 19~23 之间,所有志愿者均对粪便用途知情且同意。将粪便混合并在厌氧工作站中用无菌发酵培养液按 1:5 的比例稀释混匀,制成 5%粪便悬液。稀释混匀后的粪便菌液用 4 层无菌纱布进行

表 1 发酵培养液所需组分及用量

Table 1 Components and dosage of fermentation medium

主要成分/(g/L)		微量成分/(mg/L)	
NaHCO ₃	9.250	FeSO ₄ ·7H ₂ O	36.80
Na ₂ HPO ₄	7.200	MnSO ₄ ·H ₂ O	19.00
NaCl	0.450	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	4.50
KCl	0.450	CoCl ₂ ·6H ₂ O	1.50
CaCl ₂	0.100	CuSO ₄ ·5H ₂ O	1.00
MgCl ₂	0.100	Mo ₇ (NH ₄) ₆ O ₂₄ ·4H ₂ O	0.20
尿素	0.400		
Na ₂ SO ₄	0.100		

过滤,滤去菌液中的未能完全溶解的大颗粒食物残渣,得到均匀的粪便菌液。

4) 模拟结肠发酵 在发酵瓶中加入 18 mL 菌液,2 mL 消化后的样品。在 37 °C 厌氧条件下发酵混合物 24 h。同时,在相同条件下进行不含样品的空白对照。所有培养进行 3 次重复,样品和对照品均在 0,3,6,12,24 h 取样。10 000 r/min 离心 10 min,收集上清液,冻存用于 SCFAs 和活性成分检测,离心沉淀物冻存,用于微生物多样性检。

由于试验设备容量有限,发酵分两批进行,第一批结肠发酵样品为消化后的洋槐蜜(YS₂₄)、荔枝蜜(LS₂₄);第二批结肠发酵样品为消化后的枣花蜜(ZS₂₄)、荆条蜜(JS₂₄)、苦丁茶蜜(KS₂₄)、枇杷蜜(PS₂₄)和桉木蜜(YS₂₄)。

1.3.2 蜂蜜总酚含量及黄酮总量的测定 总酚含量的测定参照饶雪甜^[19]、Cai 等^[20]进行,使用福林酚比色法测定并作一定修改。黄酮总量测定采用硝酸铝显色法^[21]测定。

1.3.3 蜂蜜体外结肠发酵液 pH 测定 取各个样品结肠发酵上清液适量,用 pH 计测 pH 值。

1.3.4 蜂蜜体外结肠发酵液短链脂肪酸测定 粪便悬液及结肠发酵液 SCFAs 的提取参考 Scorticini 等^[22]、Zhang 等^[23]进行,并做少量修改。具体如下:

在 10 mL 具塞试管中加入发酵上清液 1 mL,用 1 mL 50% 硫酸酸化,涡旋混匀 1 min,冰水浴超声 10 min。之后加入 2 mL 乙酸乙酯,混匀提取 10 min。收集有机相,重复提取 3 次,混合所有有机相,定容至 10 mL,提取液过 0.22 μ m 有机滤膜注入气相色谱瓶中上机分析。

短链脂肪酸含量测定参考 Zhang 等^[23]的方法进行,采用配备有氢火焰离子化检测器(FID)、自动进样器的气相色谱,色谱柱为以对苯二甲酸改性聚乙二醇(PEG)为固定相的 HP-FFAP 石英毛细管柱(30 m×0.32 mm×0.25 μm)。载气为氮气,流速为 2 mL/min,不分流进样,进样量为 1 μL。升温程序如下:初温 100 °C,保持 0.5 min,以 8 °C/min 速度由 100 °C 升至 180 °C,保持 0 min,然后 20 °C/min 的速度升至 200 °C,保持 5 min。进样口和检测器的温度分别为 200,240 °C。尾吹流量 25 mL/min,氢气流量 30 mL/min,空气流量 400 mL/min。

1.3.5 蜂蜜体外结肠发酵液氨态氮测定 氨氮(NH₃-N)含量测定参考 Chaney 等^[24]及唐诗^[25]的方法,并进行适当修改。

10 mL 试管中加入 10 μL 结肠发酵后的上清液,加入 2.5 mL 苯酚显色剂,再加入 2.0 mL 碱性次氯酸盐溶液,充分振荡均匀后,放入 40 °C 水中 15 min,冷却至常温于 650 nm 测定吸光度。

1.3.6 16S rRNA 测序分析 粪便菌群 DNA 提取、菌群 16S rDNA 高通量测序分析委托明科生物技术(杭州)有限公司进行。

1.3.7 数据处理 所有样品均测定 3 次,数据均通过 SPSS 26.0 统计软件进行统计学分析,统计结果以平均数±标准差表示, $P<0.05$ 定义为差异有统计学意义。图像采用 Origin 2018 软件进行作图。

2 结果与分析

2.1 模拟结肠发酵液 pH 值

7 种蜂蜜结肠发酵液 pH 值随发酵时间的变化如图 1 所示,菌样发酵液 pH 值一直维持在中性偏碱性环境,7 种蜂蜜结肠发酵液 pH 值随发酵时间的延长降低至酸性范围。有研究表明,有益微生物可以在弱酸性环境中快速增殖,而有害微生物的生长会被抑制^[26]。因此,蜂蜜可能具有促进肠道健康的生理作用。

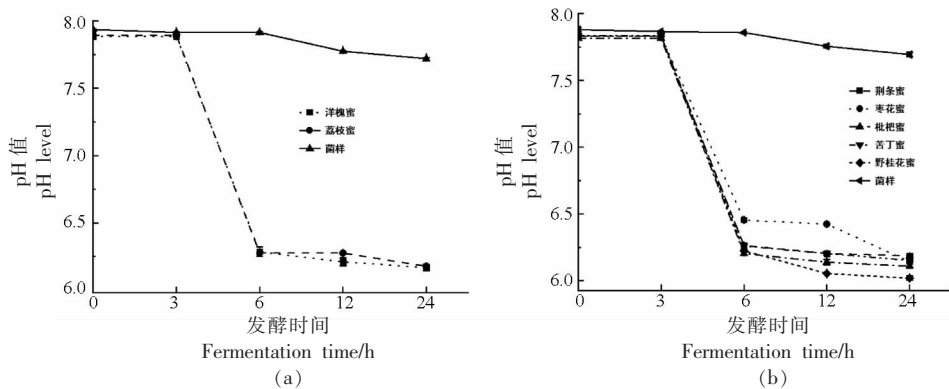


图 1 结肠发酵液 pH 值随发酵时间变化趋势

Fig.1 The pH value of colon fermentation liquid changed with the fermentation time

2.2 模拟结肠发酵液短链脂肪酸含量

7 种蜜结肠发酵液不同发酵时间短链脂肪酸含量如表 2 所示,测定了乙酸、丙酸、异丁酸、正丁酸、异戊酸、正戊酸和己酸。苦丁茶蜜和柃木蜜结肠发酵液短链脂肪酸含量随发酵时间的延长呈上升趋势,洋槐蜜、荔枝蜜、荆条蜜、枣花蜜以及枇杷蜜苦丁茶蜜结肠发酵液短链脂肪酸含量随着发酵时间的延长先上升后下降,可能是因为发酵后期乙酸转化为其它物质或为细胞供能。7 种蜂蜜体外模拟结肠发酵后的主要代谢产物为乙酸、丙酸、

正丁酸和正戊酸。Garzarella 等^[27]在消化发酵后的杨树型蜂胶上清液中检测到了乙酸、丙酸和丁酸,与空白样品相比,蜂胶显著提高了 SCFA 的产量,对产生 SFCA 的细菌有促进作用。综上所述,蜂蜜经过体外结肠发酵后,可产生大量 SCFAs,调节肠道菌群结构,促进人体健康。

2.3 模拟结肠发酵液氨态氮

表 3 是不同蜂蜜结肠发酵液氨态氮含量,与对照相比蜂蜜能够降低氨态氮含量,其作用效果由大到小依次为:柃木蜜>枣花蜜>苦丁茶蜜>枇杷

表 2 结肠发酵液短链脂肪酸产量 (mg/L)
Table 2 Short chain fatty acid production in colon fermentation broth (mg/L)

样品	发酵 时间/ h	乙酸	丙酸	异丁酸	正丁酸	异戊酸	正戊酸	己酸	总量
菌样	0	14 035.47 ± 40.01 ^d	31.44 ± 0.31 ^c	ND	21.20 ± 0.07 ^d	16.07 ± 0.06 ^d	22.39 ± 0.17 ^d	ND	14 126.55 ± 40.01 ^d
	3	14 355.71 ± 212.91 ^d	33.43 ± 0.09 ^c	ND	21.91 ± 0.10 ^d	16.29 ± 0.12 ^d	22.43 ± 0.15 ^d	ND	14 449.77 ± 212.63 ^d
	6	15 489.55 ± 82.81 ^e	36.89 ± 0.24 ^b	ND	22.85 ± 0.08 ^e	19.61 ± 0.03 ^a	27.48 ± 0.33 ^b	27.48 ± 0.33 ^b	15 619.19 ± 82.22 ^e
	12	32 440.68 ± 367.60 ^b	46.64 ± 1.49 ^a	ND	28.43 ± 0.06 ^b	17.39 ± 0.05 ^c	23.45 ± 0.09 ^a	ND	32 556.58 ± 366.03 ^a
	24	20 919.54 ± 347.68 ^b	39.24 ± 0.44 ^b	14.93 ± 0.01 ^a	29.35 ± 0.43 ^a	17.81 ± 0.07 ^b	22.90 ± 0.06 ^b	30.59 ± 0.06 ^a	21 074.35 ± 346.85 ^b
	洋槐蜜	0	10 882.22 ± 363.83 ^c	33.42 ± 0.33 ^d	ND	21.24 ± 0.11 ^e	16.10 ± 0.03 ^a	22.55 ± 0.01 ^e	ND
	3	12 901.23 ± 86.25 ^d	37.82 ± 0.26 ^c	ND	23.16 ± 0.11 ^d	ND	22.61 ± 0.01 ^e	ND	12 984.82 ± 86.11 ^d
	6	16 705.01 ± 108.90 ^b	39.24 ± 0.18 ^c	ND	28.19 ± 0.08 ^e	ND	23.80 ± 0.15 ^b	ND	16 796.24 ± 109.15 ^b
	12	21 853.51 ± 391.63 ^a	47.89 ± 0.41 ^b	ND	41.64 ± 0.99 ^b	16.07 ± 0.19 ^a	23.38 ± 0.12 ^b	ND	21 982.49 ± 392.96 ^a
	24	15 085.19 ± 150.38 ^c	54.01 ± 0.68 ^a	14.64 ± 0.02 ^a	49.64 ± 0.30 ^a	16.44 ± 0.03 ^a	25.31 ± 0.19 ^a	27.81 ± 0.14 ^a	15 273.04 ± 151.32 ^c
荔枝蜜	0	11 518.84 ± 109.37 ^c	31.70 ± 1.12 ^c	ND	21.11 ± 0.33 ^d	16.11 ± 0.03 ^c	22.19 ± 0.11 ^e	ND	11 609.95 ± 110.90 ^c
	3	17 453.94 ± 42.90 ^b	37.73 ± 0.43 ^b	ND	27.48 ± 0.41 ^e	ND	22.53 ± 0.13 ^c	ND	17541.67 ± 42.19 ^b
	6	19 666.65 ± 106.06 ^c	55.90 ± 2.55 ^a	ND	40.22 ± 1.75 ^b	21.18 ± 0.19 ^a	23.60 ± 0.19 ^b	ND	19 807.54 ± 107.25 ^a
	12	15 064.49 ± 117.44 ^c	28.43 ± 0.13 ^c	ND	27.80 ± 1.49 ^e	ND	22.06 ± 0.01 ^e	ND	15 142.78 ± 115.84 ^c
	24	12 264.21 ± 43.88 ^d	59.05 ± 0.41 ^a	14.90 ± 0.04 ^a	58.54 ± 0.30 ^a	16.70 ± 0.02 ^b	25.81 ± 0.15 ^a	26.43 ± 0.02 ^a	12 465.65 ± 43.93 ^d
	菌样	0	15 408.52 ± 124.32 ^c	36.94 ± 0.53 ^d	17.07 ± 0.68 ^a	25.71 ± 1.73 ^a	18.11 ± 0.27 ^a	19.20 ± 0.19 ^a	19.93 ± 0.21 ^a
	3	17 664.76 ± 527.42 ^b	44.15 ± 1.66 ^c	17.44 ± 0.19 ^a	23.32 ± 2.66 ^a	19.80 ± 1.03 ^a	19.19 ± 0.02 ^a	20.15 ± 0.29 ^a	17 808.80 ± 533.27 ^b
	6	17 915.60 ± 296.52 ^b	47.56 ± 1.01 ^c	14.53 ± 0.33 ^b	23.32 ± 1.23 ^a	18.23 ± 0.64 ^a	19.09 ± 0.01 ^c	19.78 ± 0.16 ^a	18 058.11 ± 295.17 ^b
	12	18 738.05 ± 152.50 ^b	55.69 ± 1.24 ^b	14.66 ± 0.28 ^b	22.92 ± 0.24 ^a	18.66 ± 0.52 ^a	19.48 ± 0.04 ^{ab}	19.70 ± 0.09 ^a	18 889.16 ± 154.91 ^b
	24	21 577.45 ± 373.17 ^a	64.65 ± 2.32 ^a	14.64 ± 0.20 ^b	23.45 ± 0.09 ^a	18.98 ± 0.21 ^a	19.66 ± 0.01 ^a	19.78 ± 0.05 ^a	21 738.61 ± 376.05 ^a
荆条蜜	0	10 229.72 ± 129.33 ^b	24.41 ± 0.68 ^c	13.63 ± 0.02 ^a	21.33 ± 0.49 ^b	16.65 ± 0.02 ^a	19.05 ± 0.07 ^a	19.52 ± 0.01 ^a	10 344.30 ± 130.62 ^b
	3	10 222.08 ± 138.08 ^b	24.32 ± 0.29 ^c	13.65 ± 0.05 ^a	25.80 ± 3.73 ^b	16.74 ± 0.26 ^a	19.40 ± 0.29 ^a	19.57 ± 0.05 ^a	10 341.56 ± 142.74 ^b

(续表 2)

样品	发酵 时间/ h	乙酸	丙酸	异丁酸	正丁酸	异戊酸	正戊酸	己酸	总量
枣花蜜	6	13 156.85 ± 692.30 ^a	35.08 ± 3.27 ^b	13.52 ± 0.06 ^a	31.78 ± 3.75 ^b	16.98 ± 0.04 ^a	19.33 ± 0.13 ^a	19.66 ± 0.08 ^a	13 293.21 ± 699.64 ^a
	12	13 296.87 ± 623.70 ^a	88.97 ± 3.61 ^a	14.28 ± 0.36 ^a	88.62 ± 4.15 ^a	17.25 ± 0.31 ^a	23.97 ± 2.01 ^a	19.67 ± 0.12 ^a	13 549.64 ± 634.27 ^a
	24	11 936.42 ± 683.19 ^{ab}	86.83 ± 1.01 ^a	15.01 ± 0.84 ^a	93.04 ± 2.57 ^a	17.65 ± 0.63 ^a	24.32 ± 2.87 ^a	19.83 ± 0.10 ^a	12 193.09 ± 691.21 ^{ab}
	0	12 693.22 ± 100.22 ^d	33.00 ± 0.10 ^d	14.15 ± 0.52 ^a	23.13 ± 0.46 ^d	17.88 ± 0.47 ^b	19.77 ± 0.48 ^b	20.61 ± 0.05 ^a	12 821.76 ± 102.30 ^d
	3	13 855.72 ± 21.81 ^e	33.59 ± 0.12 ^d	13.54 ± 0.08 ^a	24.43 ± 0.59 ^d	16.69 ± 0.14 ^b	19.35 ± 0.27 ^b	19.73 ± 0.03 ^a	13 983.07 ± 23.04 ^e
	6	15 057.13 ± 43.07 ^b	38.51 ± 0.99 ^c	13.71 ± 0.02 ^a	26.35 ± 0.89 ^e	17.06 ± 0.39 ^b	19.59 ± 0.15 ^b	20.80 ± 0.03 ^a	15 193.14 ± 45.54 ^b
枇杷蜜	12	17 521.50 ± 429.96 ^c	67.72 ± 1.31 ^b	14.22 ± 0.05 ^a	73.14 ± 0.71 ^b	20.08 ± 0.85 ^c	24.14 ± 0.05 ^a	20.60 ± 0.77 ^a	17 741.41 ± 433.70 ^b
	24	13 450.87 ± 343.25 ^{cd}	83.59 ± 0.48 ^a	15.00 ± 0.90 ^a	85.22 ± 2.55 ^a	17.80 ± 0.54 ^b	25.48 ± 0.97 ^a	19.81 ± 0.12 ^a	13 697.76 ± 348.81 ^{cd}
	0	10 415.76 ± 353.27 ^e	22.45 ± 1.56 ^d	13.56 ± 0.10 ^b	20.40 ± 0.52 ^d	16.57 ± 0.04 ^{bc}	18.96 ± 0.03 ^b	19.55 ± 0.03 ^a	10 527.24 ± 355.55 ^e
	3	12 480.34 ± 348.92 ^b	31.74 ± 0.38 ^c	13.60 ± 0.01 ^b	24.16 ± 1.10 ^{cd}	16.45 ± 0.03 ^c	19.24 ± 0.13 ^b	19.56 ± 0.04 ^a	12 605.09 ± 350.60 ^b
	6	13 329.82 ± 134.31 ^b	33.61 ± 0.17 ^c	ND	27.27 ± 1.15 ^c	16.40 ± 0.10 ^c	19.21 ± 0.05 ^b	19.61 ± 0.05 ^c	13 445.92 ± 135.83 ^b
	12	16 539.42 ± 218.47 ^a	82.40 ± 1.78 ^b	14.32 ± 0.0 ^{ab}	75.12 ± 1.84 ^b	17.40 ± 0.07 ^b	24.37 ± 0.36 ^a	ND	16 753.02 ± 222.54 ^a
苦丁茶蜜	24	10 596.48 ± 287.39 ^c	91.51 ± 0.51 ^a	15.23 ± 0.71 ^a	83.68 ± 2.13 ^a	18.90 ± 0.52 ^a	26.00 ± 0.97 ^a	20.01 ± 0.66 ^a	10 851.80 ± 292.89 ^c
	0	4 574.19 ± 43.68 ^e	23.59 ± 1.10 ^d	13.62 ± 0.01 ^c	20.52 ± 0.81 ^d	16.90 ± 0.28 ^{ab}	19.00 ± 0.09 ^b	19.73 ± 0.23 ^a	4 687.55 ± 46.19 ^e
	3	3 810.68 ± 45.01 ^d	24.18 ± 0.04 ^d	13.62 ± 0.01 ^c	22.15 ± 0.08 ^d	16.44 ± 0.01 ^b	19.08 ± 0.02 ^b	19.51 ± 0.00 ^c	3 925.66 ± 45.16 ^d
	6	13 423.22 ± 325.09 ^b	33.53 ± 2.13 ^c	13.53 ± 0.07 ^c	30.95 ± 0.44 ^c	17.36 ± 0.34 ^{ab}	19.21 ± 0.14 ^b	19.90 ± 0.25 ^a	13 557.70 ± 328.45 ^b
	12	15 436.99 ± 128.34 ^a	56.26 ± 1.47 ^b	14.29 ± 0.06 ^b	56.79 ± 0.95 ^b	17.24 ± 0.42 ^{ab}	22.59 ± 1.13 ^a	19.68 ± 0.16 ^a	15 623.84 ± 132.53 ^a
	24	15 499.76 ± 198.25 ^c	63.34 ± 0.16 ^a	14.84 ± 0.19 ^a	65.57 ± 0.35 ^a	17.72 ± 0.09 ^a	24.16 ± 0.09 ^a	19.61 ± 0.06 ^c	15 705.00 ± 199.18 ^a
桉木蜜	0	3 675.22 ± 259.26 ^e	22.09 ± 2.89 ^d	13.66 ± 0.03 ^b	20.06 ± 0.61 ^d	16.62 ± 0.13 ^b	19.06 ± 0.23 ^c	19.55 ± 0.02 ^b	3 786.27 ± 263.16 ^e
	3	5 197.39 ± 82.47 ^b	22.74 ± 0.36 ^d	13.63 ± 0.04 ^b	21.33 ± 0.52 ^d	16.52 ± 0.03 ^b	19.07 ± 0.04 ^c	19.59 ± 0.01 ^b	5 310.27 ± 83.47 ^d
	6	10 434.37 ± 285.55 ^c	41.65 ± 0.07 ^c	13.59 ± 0.00 ^b	32.77 ± 2.67 ^c	16.32 ± 0.14 ^b	19.44 ± 0.17 ^c	19.63 ± 0.00 ^b	10 577.77 ± 282.78 ^c
	12	16 223.38 ± 75.11 ^b	66.48 ± 1.73 ^b	13.97 ± 0.11 ^b	74.40 ± 2.28 ^b	16.99 ± 0.03 ^{ab}	23.60 ± 0.31 ^b	ND	16 418.81 ± 79.57 ^b
	24	19 878.97 ± 76.88 ^a	82.57 ± 2.09 ^a	14.49 ± 0.23 ^a	90.37 ± 0.43 ^a	17.93 ± 0.75 ^a	27.16 ± 0.35 ^a	19.99 ± 0.11 ^a	20 131.47 ± 80.84 ^a

注:同一列数值后不同的小写英文表示数据具有显著性差异($P < 0.05$);ND表示未检出或低于检出限。

蜜>荆条蜜>洋槐蜜>荔枝蜜。荞麦蜂花粉多糖(WFPP)模拟体外消化发酵时有同样下降的情况^[28],这种减少是对人体有益的,因为氨态氮是对肠道健康产生负面影响的代谢产物^[29-30],当浓度过高

时,会改变肠道上皮细胞的形态,并在结肠中充当肿瘤促进剂^[31-32]。综上所述,蜂蜜可以保持肠道酸性至中性环境,有利于改善肠道内环境,保持肠道健康。

表 3 结肠发酵液氨态氮含量(mg/L)

Table 3 The contents of ammonia nitrogen in colon fermentation broth (mg/L)

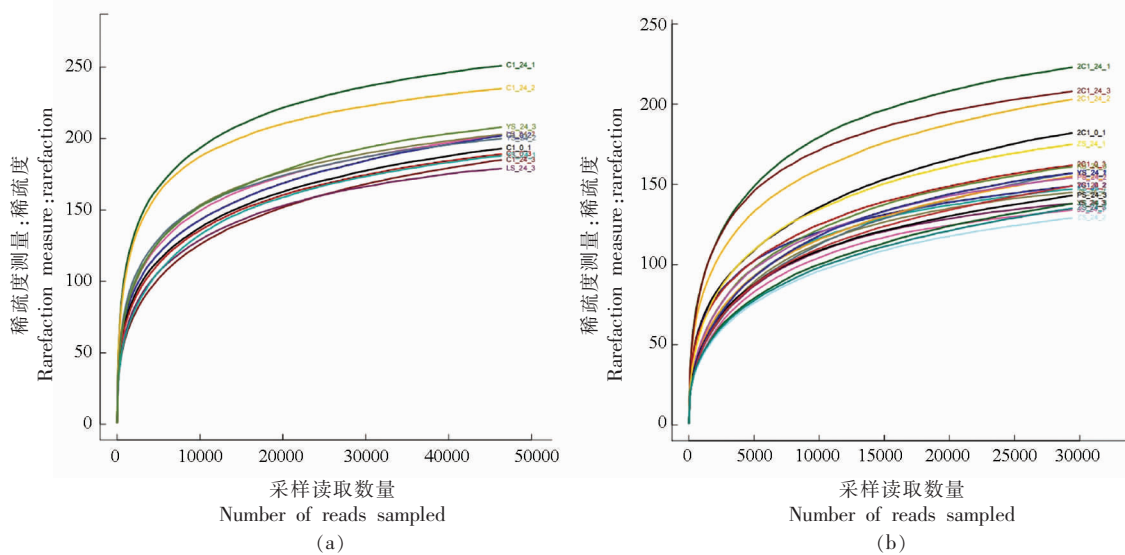
发酵时间/h	0	3	6	12	24
洋槐蜜	254.33 ± 20.00 ^b	341.00 ± 26.67 ^a	104.33 ± 6.67 ^c	29.33 ± 1.67 ^d	242.11 ± 20.79 ^b
荔枝蜜	441.00 ± 10.00 ^a	337.67 ± 16.67 ^b	77.67 ± 6.67 ^e	71.00 ± 26.67 ^e	303.22 ± 4.16 ^b
菌样	202.11 ± 47.95 ^d	567.67 ± 30.00 ^c	769.33 ± 8.33 ^b	866.00 ± 15.00 ^a	779.89 ± 22.83 ^{ab}
荆条蜜	1 369.33 ± 11.67 ^b	1 542.67 ± 25.00 ^a	242.67 ± 18.33 ^d	134.33 ± 10.00 ^e	475.44 ± 9.56 ^c
枣花蜜	1 261.00 ± 33.33 ^a	1 354.33 ± 23.33 ^a	441.00 ± 86.67 ^c	102.67 ± 5.00 ^d	786.56 ± 18.12 ^b
枇杷蜜	1 132.67 ± 21.67 ^b	1 269.33 ± 11.67 ^a	209.33 ± 11.67 ^d	106.00 ± 8.33 ^e	636.56 ± 32.47 ^c
苦丁茶蜜	1 206.00 ± 28.33 ^a	1 354.33 ± 23.33 ^a	357.67 ± 46.67 ^c	106.00 ± 18.33 ^d	671.00 ± 88.32 ^b
柃木蜜	1 479.33 ± 15.00 ^b	1 587.67 ± 6.67 ^a	402.67 ± 48.33 ^d	109.33 ± 15.00 ^e	539.89 ± 41.84 ^c
菌样	202.67 ± 27.18 ^d	489.33 ± 26.67 ^c	571.00 ± 46.67 ^c	1 567.67 ± 61.67 ^a	1 362.11 ± 56.54 ^b

注:数值后不同的小写英文表示数据具有显著性差异($P<0.05$)。

2.4 蜂蜜模拟胃肠道消化及结肠发酵后对肠道菌群的影响

图 2 和图 3 是肠道菌群稀释曲线和 Shannon-Wiener 曲线。从本次试验的稀释曲线可知,本次测

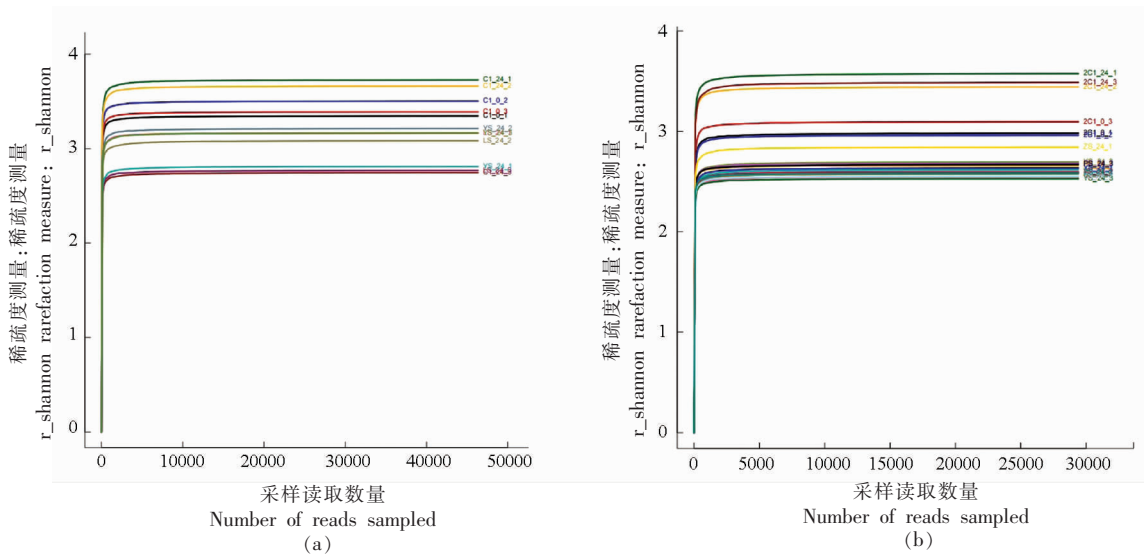
序的深度已经基本覆盖了样品中的所有物种。并且两批发酵肠道 Shannon 指数曲线都已经达到了平台期,说明本次试验在现有测序深度下,样品物种丰富度程度较好,可以满足进一步分析的要求。



注:(a): C1:对照组;LS:荔枝蜜;YS:洋槐蜜;(b):JS:荆条蜜;KS:苦丁茶蜜;PS:枇杷蜜;YS:柃木蜜;ZS:枣花蜜。

图 2 肠道菌群的稀释性曲线

Fig.2 Rarefaction curve of the gut microbiota



注:(a): C1:对照组;LS:荔枝蜜;YS:洋槐蜜;(b):JS:荆条蜜;KS:苦丁茶蜜;PS:枇杷蜜;YS:铃木蜜;ZS:枣花蜜。

图3 肠道菌群的 Shannon-Wiener 曲线
Fig.3 Shannon index of the gut microbiota

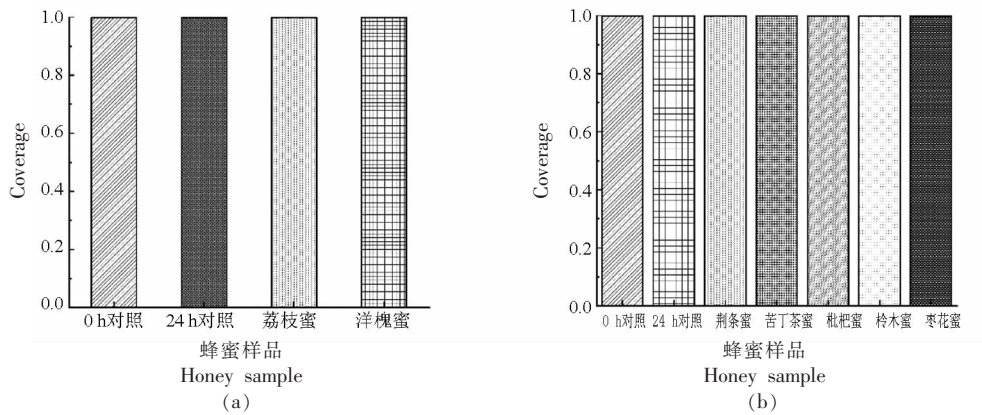
2.4.1 肠道菌群 α 多样性分析 图 4~图 7 是各组肠道菌群 Coverage、Chao 指数、Shannon 指数和 Simpson 指数。

蜂蜜组与对照组 Coverage 均接近 1, 且各組间无显著性差异, 表明菌群测定深度足够说明微生物的实际变化情况。除荆条蜜外其它蜜的 Chao 指数均高于 24 h 对照, 说明洋槐蜜、荔枝蜜、苦丁茶蜜、枇杷蜜、铃木蜜和枣花蜜可以提高肠道菌群的丰富度。7 种蜜 Shannon 指数均显著降低 ($P < 0.05$), Simpson 指数均显著升高 ($P < 0.05$), 说明蜂

蜜可以降低肠道菌群中有害菌的物种多样性, 使菌落种类较均一。

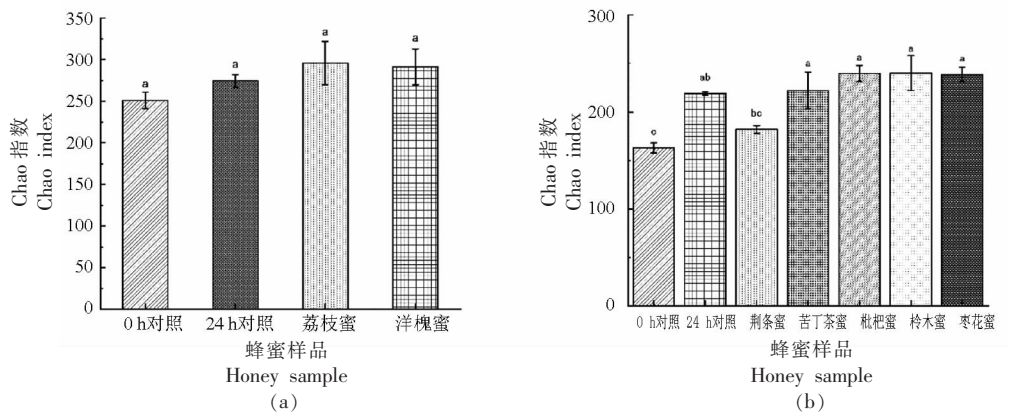
2.4.2 肠道菌群物种组成分析

2.4.2.1 门水平 表 4 和图 8 显示了 7 种蜂蜜发酵样各组肠道菌群中门水平上的优势种。各类群中丰度较高的物种主要有放线菌门、拟杆菌门、厚壁菌门和变形菌门。7 种蜜均显著增加了放线菌门丰度 ($P < 0.05$), 显著降低了厚壁菌门的丰度 ($P < 0.05$)。荔枝蜜、洋槐蜜、苦丁茶蜜和枇杷蜜都显著增加了拟杆菌门的丰度 ($P < 0.05$)。荔枝蜜和洋槐



注:图中不同的小写英文表示数据具有显著性差异 ($P < 0.05$)。

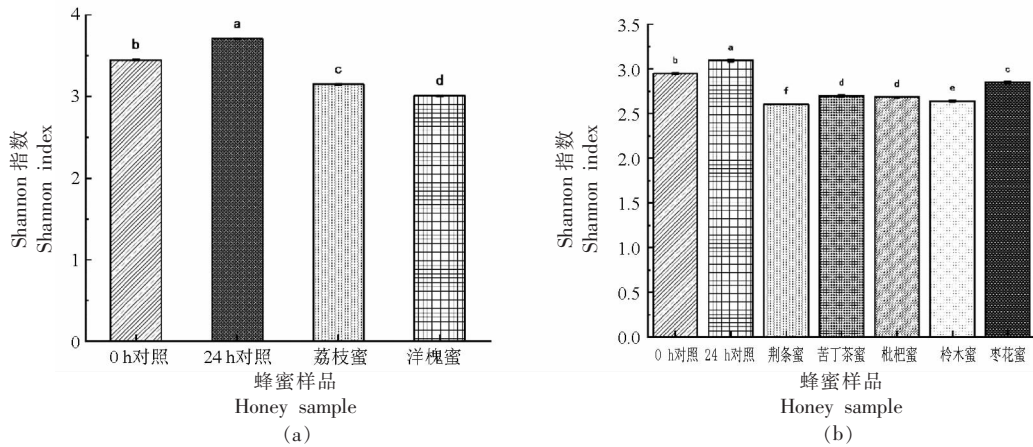
图4 肠道菌群 Coverage
Fig.4 Intestinal flora Coverage



注:图中不同的小写英文表示数据具有显著性差异(P<0.05)。

图 5 肠道菌群 Chao 指数

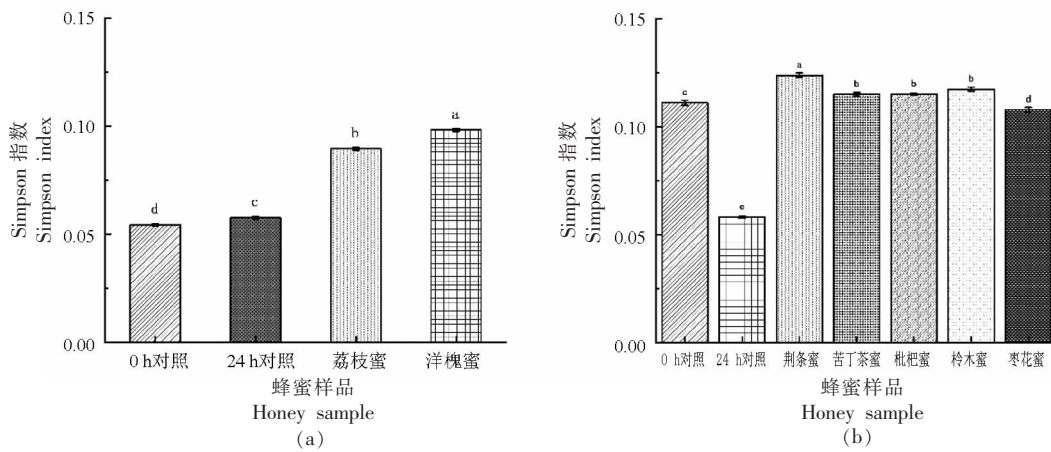
Fig.5 Intestinal flora Chao index



注:图中不同的小写英文表示数据具有显著性差异(P<0.05)。

图 6 肠道菌群 Shannon 指数

Fig.6 Intestinal flora Shannon index



注:图中不同的小写英文表示数据具有显著性差异(P<0.05)。

图 7 肠道菌群 Simpson 指数

Fig.7 Intestinal flora Simpson index

蜜显著降低了变形菌门的丰度(P<0.05), 荆条蜜、 变形菌门的丰度(P<0.05)。苦丁茶蜜、枇杷蜜、铃木蜜和枣花蜜则显著增加了

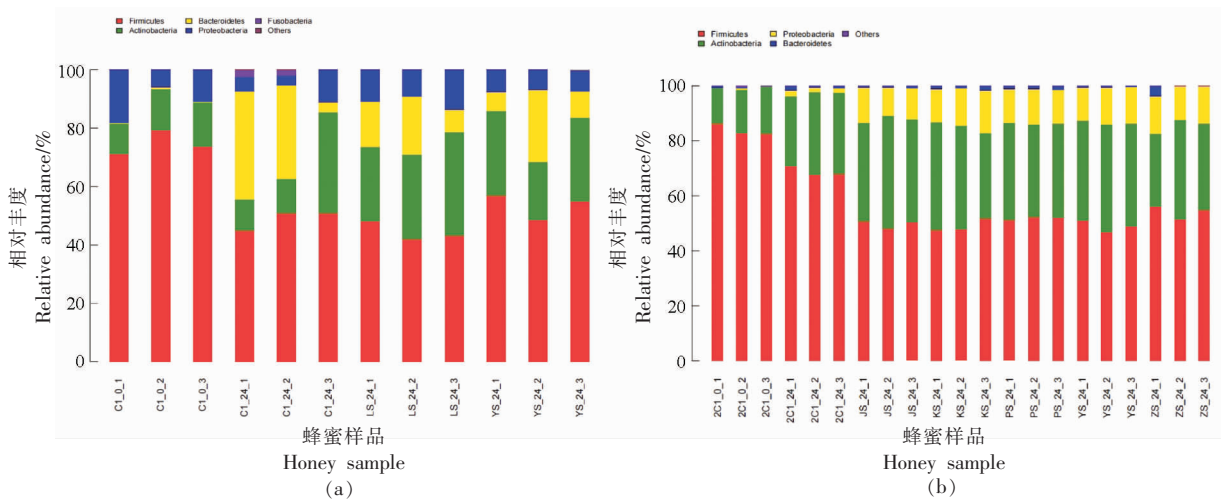


图 8 肠道菌群门水平物种组成柱状图

Fig.8 Histogram of species composition of gut microbiota at phylum level

表 4 肠道菌群门水平优势种组成表 (%)

Table 4 The composition table of dominant species in intestinal flora phylum level (%)

门水平	放线菌门 (Actinobacteria)	拟杆菌门 (Bacteroidetes)	厚壁菌门(Firmicutes)	变形菌门 (Proteobacteria)
0 h 对照	14.68 ± 0.42 ^b	0.22 ± 0.03 ^d	74.62 ± 3.40 ^a	16.33 ± 1.42 ^a
24 h 对照	11.17 ± 0.47 ^b	34.54 ± 2.00 ^a	48.96 ± 2.76 ^{bc}	4.19 ± 0.73 ^d
荔枝蜜	29.89 ± 4.14 ^a	17.62 ± 1.65 ^b	44.54 ± 2.72 ^d	11.15 ± 1.84 ^b
洋槐蜜	28.88 ± 0.18 ^a	7.60 ± 1.04 ^c	53.42 ± 3.64 ^b	7.17 ± 0.39 ^c
0 h 对照	14.38 ± 1.18 ^d	0.48 ± 0.07 ^{bc}	84.53 ± 1.40 ^a	0.37 ± 0.09 ^c
24 h 对照	28.24 ± 1.96 ^c	0.86 ± 0.33 ^{bc}	68.90 ± 1.31 ^b	1.84 ± 0.27 ^c
荆条蜜	38.16 ± 2.18 ^a	0.67 ± 0.09 ^{bcd}	49.70 ± 1.17 ^d	11.47 ± 1.04 ^b
苦丁茶蜜	38.39 ± 0.74 ^a	0.93 ± 0.11 ^b	49.03 ± 1.89 ^d	13.80 ± 1.35 ^a
枇杷蜜	34.42 ± 0.56 ^{ab}	1.31 ± 0.13 ^a	51.80 ± 0.39 ^{cd}	12.47 ± 0.18 ^{ab}
铃木蜜	37.63 ± 0.56 ^a	0.56 ± 0.13 ^{cd}	48.83 ± 0.39 ^d	13.05 ± 0.18 ^{ab}
枣花蜜	31.39 ± 4.02 ^{bc}	0.22 ± 0.00 ^e	54.12 ± 2.04 ^c	13.11 ± 0.66 ^{ab}

注:数据以均值±标准差表示,不同小写字母表示 $P<0.05$ 时有显著差异。

表 5 是蜂蜜组与对照组 F/B 值。除枣花蜜外其它 6 种蜂蜜均可显著降低 F/B 值($P<0.05$)。6 种蜂蜜对降低 F/B 值的作用效果由大到小为:荔枝蜜>洋槐蜜>枇杷蜜>苦丁茶蜜>荆条蜜>铃木蜜。

有研究显示,在肥胖者体内厚壁菌门与拟杆菌门比例更高,并且随着高脂饮食的摄入,该比值也会变得越来越大^[33]。

表 5 蜂蜜组与对照组 F/B 值 (%)

Table 5 F/B values of honey group and control group (%)

0 h 对照	24 h 对照	荆条蜜	苦丁茶蜜	枇杷蜜	铃木蜜	枣花蜜
181.64 ± 44.78 ^b	91.68 ± 34.79 ^c	75.28 ± 8.27 ^{abc}	53.50 ± 6.65 ^{bc}	40.05 ± 3.78 ^c	88.12 ± 6.91 ^{cd}	250.57 ± 6.98 ^a
0 h 对照	24 h 对照	荔枝蜜	洋槐蜜			
344.55 ± 62.94 ^a	1.43 ± 0.15 ^b	2.56 ± 0.40 ^b	7.18 ± 1.28 ^b			

注:数据以均值±标准差表示,不同小写字母表示 $P<0.05$ 时有显著差异。

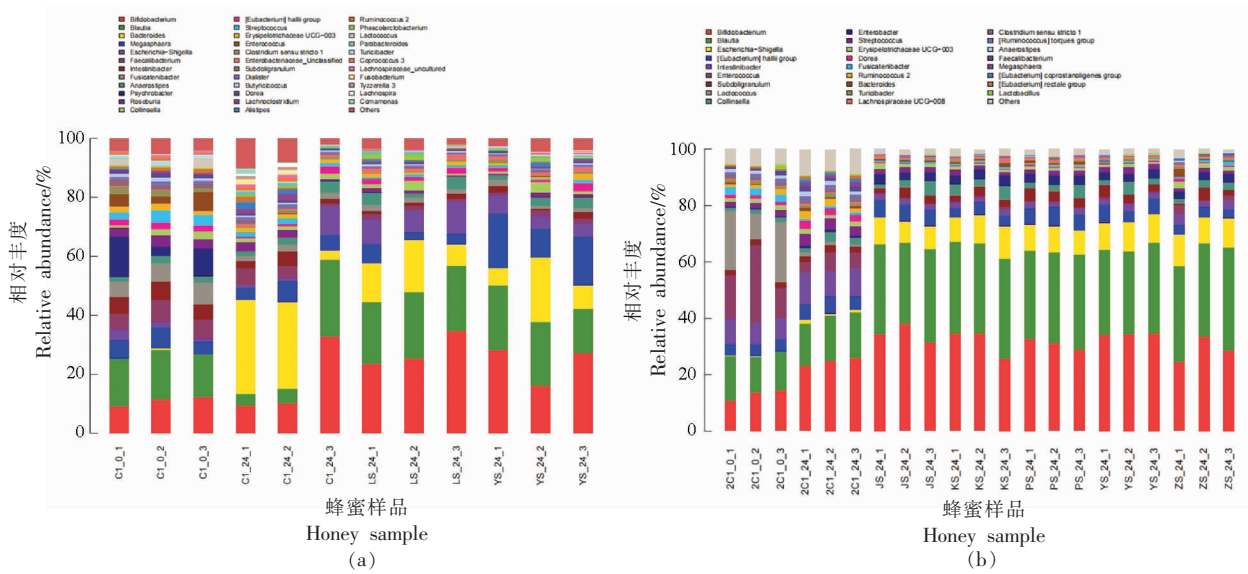


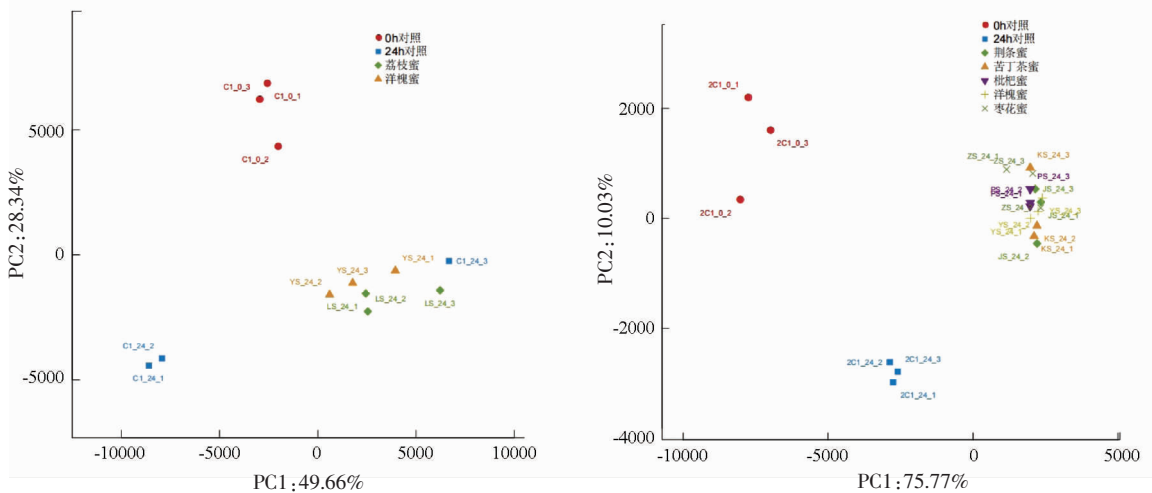
图 10 肠道菌属水平群物种组成柱状图

Fig.10 Histogram of species composition of gut microbiota at the genus level

2.4.3 肠道菌群β多样性分析 图 10、图 11 是样品肠道菌群β多样性分析，包括了层级聚类分析和 PCA 分析。各组在聚类树上分别分布在不同分支，而组内样本大多聚集分布。PCA 图中蜂蜜组的距离较近，且有部分重合，群落构成较为相似；对照组和蜂蜜组距离较远，并未重合，群落构成的差异较大，与样本层级聚类分析分析结果相互印证。

2.4.4 肠道菌群样本比较分析 图 12、图 13 是肠道菌群中优势类群进化分枝图和 LDA 判别柱

形图。荆条蜜、苦丁茶蜜、枇杷蜜、枣花蜜的特异性微生物类群分别有 6,9,1 和 3 种。荆条蜜为放线菌门、放线菌纲、双歧杆菌目、双歧杆菌科、双歧杆菌属、*g_Eubacterium_hallii_group* 属。苦丁茶蜜为变形菌门、γ-变形菌纲、肠杆菌目、肠杆菌科、紫单胞菌科、埃希氏-志贺氏菌属、丁酸梭菌属、肠杆菌属、*g_Lachnospiraceae_UCG_008* 属。枇杷蜜为巴氏杆菌。枣花蜜为毛螺菌科、布劳特氏菌属、*g_Erysipelotrichaceae_UCG_003* 属。



注：C1:对照组;LS:荔枝蜜;YS:洋槐蜜;JS:荆条蜜;KS:苦丁茶蜜;PS:枇杷蜜;YS:柃木蜜;ZS:枣花蜜。

图 11 肠道菌群 PCA 图

Fig.11 PCA map of the gut microbiota

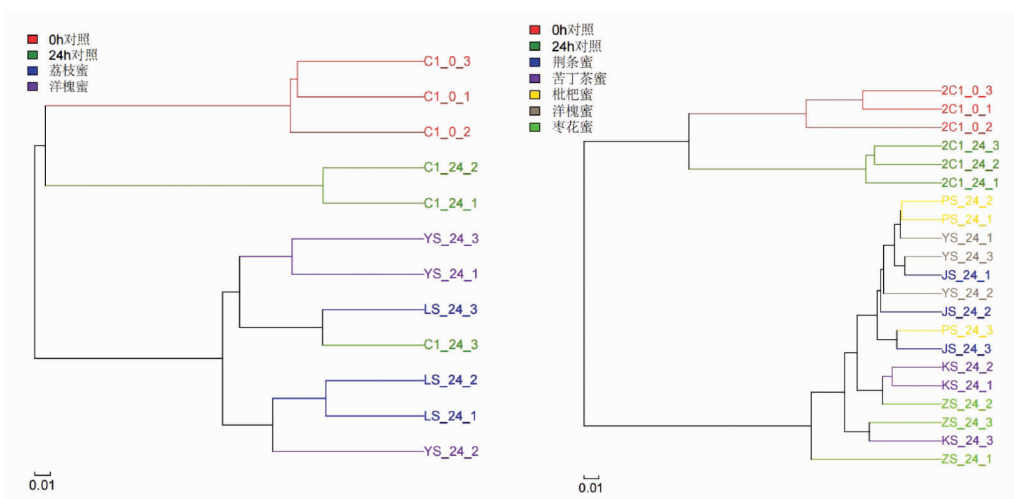
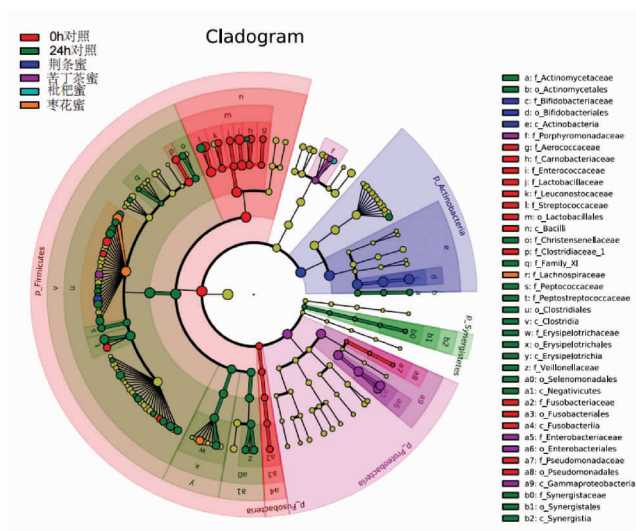


图 12 肠道菌群样本层级聚类分析

Fig.12 Hierarchical clustering analysis of samples of the gut microbiota



注：p: phylum, c: class, o: order, f: family, g: genus; 不同颜色表示不同分组。C1: 对照组; JS: 荆条蜜; KS: 苦丁茶蜜; PS: 枇杷蜜; ZS: 枣花蜜。

图 13 肠道菌群中优势类群进化分枝图

Fig.13 Evolutionary branching diagram of dominant groups in intestinal flora

2.5 蜂蜜主要活性物质与肠道菌群相关性分析

表 6 是蜂蜜活性物质与菌群的皮尔森相关性分析结果。研究表明总酚与厚壁菌门呈显著的负相关 ($P < 0.01$), 相关性达到了 0.684。但是总酚、总黄酮与其它肠道菌群的相关度较低, 由于本研究采用的是蜂蜜整体而非提取物, 蜂蜜各种成分之间存在不同程度的拮抗作用与协同作用, 使得活性物质与肠道菌群之间的相关性整体上较低。

3 结论

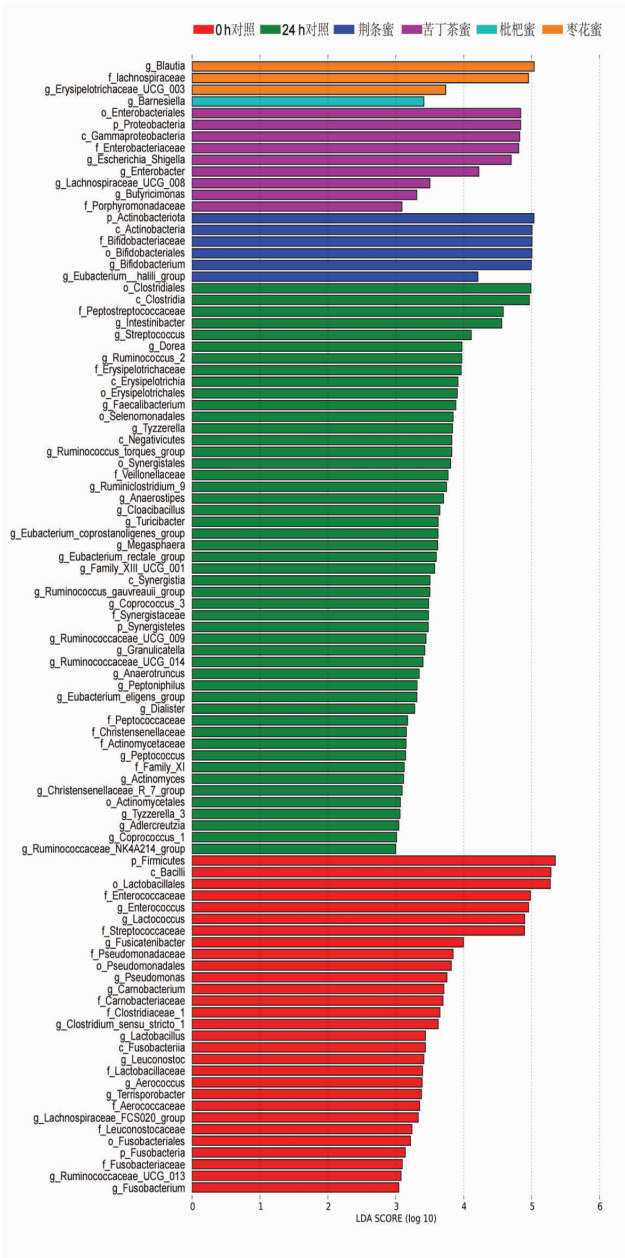
7 种蜂蜜经过体外模拟胃肠道消化与结肠发酵后, 可产生大量 SCFAs, 并降低氨态氮含量, 使肠道 pH 值保持在中性偏酸性环境, 有利于改善肠道内环境, 保持肠道健康。7 种蜂蜜结肠发酵后均增加了放线菌门丰度, 降低了厚壁菌门丰度, 荔枝蜜、洋槐蜜、荆条蜜、苦丁茶蜜、枇杷蜜和桉木蜜增加了拟杆菌门丰度, 荔枝蜜和洋槐蜜降低了变形菌门丰度。除枣花蜜外其它 6 种蜂蜜均可降低 F/B

表6 蜂蜜活性物质与肠道菌群的皮尔森相关性

Table 6 Pearson correlation between honey active substances and intestinal flora

	厚壁菌门	放线菌门	拟杆菌门	变形菌门	双歧杆菌科	布劳特氏菌属	F/B
总酚	-0.684**	-0.245	-0.365	-0.078	-0.065	-0.490*	0.369
黄酮	0.452*	-0.131	0.242	0.319	-0.025	0.529*	0.540*

注:**在0.01级别,相关性显著;*在0.05级别,相关性显著。



注:LDA评分>2.0, P<0.05。

图14 肠道菌群中优势类群LDA判别柱形

Fig.14 LDA discrimination column of dominant groups in intestinal flora

值,荔枝蜜降低效果最好。蜂蜜对肠道菌群的作用效果与蜂蜜的植物源有直接的相关性,但是与蜜蜂的种类没有直接的相关性。蜂蜜调节肠道菌群的作用与蜂蜜中的多酚有一定的相关性。

【致谢】

本文得到杭州淳安企业横向课题(SH1330240424)、温州文成企业横向课题(SH1330220958)、浙江省科技特派员项目“中蜂优质高效生产技术研究示范”的支持。

参考文献

- [1] ALQARNI A S, OWAYSS A A, MAHMOUD A A. Physicochemical characteristics, total phenols and pigments of national and international honeys in Saudi Arabia[J]. Arabian Journal of Chemistry, 2016, 9 (1): 114-120.
- [2] DA SILVA P M, GAUCHE C, GONZAGA L V, et al. Honey: Chemical composition, stability and authenticity[J]. Food Chemistry, 2016, 196: 309-323.
- [3] KUCUK M, KOLAYLI S, KARA OGLU S, et al. Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from anatolia[J]. Food Chemistry, 2007, 100(2): 526-534.
- [4] PERSANO ODDO L, PIRO R. Main european uni floral honeys: Descriptive sheets[J]. Apidologie, 2004, 35(1): 38-81.
- [5] CIANCIOSI D, FORBES -HERNANDEZ T Y, AFRIN S, et al. Phenolic compounds in honey and their associated health benefits: A review[J]. Molecules, 2018, 23(9): 2322.
- [6] RAO P V, KRISHNAN K T, SALLEH N, et al. Biological and therapeutic effects of honey produced by honey bees and stingless bees: A comparative review [J]. Revista Brasileira De Farmacognosia-Brazil

- ian Journal of Pharmacognosy, 2016, 26(5): 657–664.
- [7] MOHAN A, QUEK S Y, GUTIERREZ–MADDOX N, et al. Effect of honey in improving the gut microbial balance[J]. Food Quality and Safety, 2017, 1(2): 107–115.
- [8] ORSOLIC N, JAZVINSKAK JEMBREK M, TERZIC S. Honey and quercetin reduce ochratoxin a–induced DNA damage in the liver and the kidney through the modulation of intestinal microflora[J]. Food and Agricultural Immunology, 2017, 28(5): 812–833.
- [9] WU D Y, CHEN L W, TEH J, et al. Honeys with anti–inflammatory capacity can alter the elderly gut microbiota in an ex vivo gut model[J]. Food Chemistry, 2022, 392: 133229.
- [10] JIANG L, XIE M H, CHEN G J, et al. Phenolics and carbohydrates in buckwheat honey regulate the human intestinal microbiota[J]. Evidence–Based Complementary and Alternative Medicine, 2020, 2020(1): 11.
- [11] 朱静宇, 王峻, 金秀娥, 等. 荞麦蜜对酒精诱导的小鼠肝损伤和肠道菌群失调的改善效果[J]. 华中农业大学学报, 2021, 40(5): 169–178.
- ZHU J Y, WANG J, JIN X E, et al. Improvement effect of buckwheat honey on alcohol–induced liver injury and gut microbiota dysbiosis in mice[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2021, 40(5): 169–178.
- [12] YI S X, ZHANG G W, LIU M Y, et al. Citrus honey ameliorates liver disease and restores gut microbiota in alcohol–feeding mice[J]. Nutrients, 2023, 15(5): 1078.
- [13] LUO L P, ZHANG J P, LIU M Y, et al. Monofloral triadica cochinchinensis honey polyphenols improve alcohol–induced liver disease by regulating the gut microbiota of mice[J]. Frontiers in Immunology, 2021, 12: 673903.
- [14] LIU Y T, DUAN X Y, DUAN S Q, et al. Effects of *in vitro* digestion and fecal fermentation on the stability and metabolic behavior of polysaccharides from *craterellus cornucopioides*[J]. Food & Function, 2020, 11(8): 6899–6910.
- [15] MINEKUS M, ALMINGER M, ALVITO P, et al. A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food – an international consensus[J]. Food & Function, 2014, 5(6): 1113–1124.
- [16] MOSELE J I, MACIA A, ROMERO M P, et al. Stability and metabolism of arbutus unedo bioactive compounds (phenolics and antioxidants) under *in vitro* digestion and colonic fermentation[J]. Food Chemistry, 2016, 201: 120–130.
- [17] DURAND M, DUMAY C, BEAUMATIN P, et al. Use of the rumen simulation technique (RUSITEC) to compare microbial digestion of various by–products[J]. Animal Feed Science & Technology, 1988, 21(2/3/4): 197–204.
- [18] 令博, 蔡昱杰, 吴洪斌, 等. 改性葡萄皮渣膳食纤维体外发酵特性研究[J]. 食品科学, 2011, 32(19): 147–151.
- LING B, CAI Y J, WU H B, et al. *In vitro* fermentation characteristics of modified dietary fiber from grape pomace[J]. Food Science, 2011, 32(19): 147–151.
- [19] 饶雪甜. 黑果腺肋花楸体外消化模拟及其原花青素性质和应用研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2021.
- RAO X T. Study on *in vitro* digestion simulation of aronia melanocarpa and properties and application of its proanthocyanidins[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2021.
- [20] CAI Y Z, LUO Q, SUN M, et al. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional chinese medicinal plants associated with anticancer[J]. Life Sciences, 2004, 74(17): 2157–2184.
- [21] WU P, CHEN X D. On Designing biomimic *in vitro* human and animal digestion track models: Ideas, current and future devices[J]. Current Opinion in Food Science, 2020, 35: 10–19.
- [22] SCORTICINI S, BOARELLI M C, SILVI S, et al. Development and validation of A GC–FID method for the analysis of short chain fatty acids in rat and human faeces and in fermentation fluids[J]. Journal of Chromatography B–Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences, 2020, 1143: 121972.
- [23] ZHANG C Z, FAN L X, ZHAO H. Rapid detection of short–chain fatty acids in biological samples[J]. Chromatographia, 2020, 83(2): 305–310.
- [24] CHANEY A L, MARBACH E P. Modified reagents for determination of urea and ammonia[J]. Clinical Chemistry, 1962, 8(2): 130–132.
- [25] 唐诗. 猕猴桃皮渣多酚提取及其对肠道菌群的影响作用研究[D]. 贵阳: 贵州医科大学, 2019.

- TANG S. Polyphenolic compounds of kiwifruit pomace extracts and their effects on intestinal flora [D]. Guiyang: Guizhou Medical University, 2019.
- [26] SLAVIN J. Fiber and prebiotics: Mechanisms and health benefits[J]. *Nutrients*, 2013, 5(4): 1417–1435.
- [27] GARZARELLA E U, NAVAJAS –PORRAS B, PÉREZ–BURILLO S, et al. Evaluating the effects of a standardized polyphenol mixture extracted from poplar–type propolis on healthy and diseased human gut microbiota[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2022, 148: 112759.
- [28] 李娟, 邓泽元, 范亚苇. 荞麦蜂花粉多糖对人体粪便菌群代谢的影响[J]. *中国食品学报*, 2021, 21(5): 133–139.
- LI J, DENG Z Y, FAN Y W. Effects of polysaccharide from *Fagopyrum esculentum* moench bee pollen on metabolism of human fecal flora[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2021, 21(5): 133–139.
- [29] DAVILA A M, BLACHIER F, GOTTELAND M, et al. Intestinal luminal nitrogen metabolism: Role of the gut microbiota and consequences for the host[J]. *Pharmacological Research*, 2013, 69(1): 114–126.
- [30] MONTALTO M, D’ONOFRIO F, GALLO A, et al. Intestinal microbiota and its functions[J]. *Digestive and Liver Disease Supplements*, 2009, 3(2): 30–34.
- [31] HUGHES R, MAGEE E A, BINGHAM S. Protein degradation in the large intestine: Relevance to colorectal cancer[J]. *Current Issues in Intestinal Microbiology*, 2000, 1(2): 51–58.
- [32] SCOTT K P, GRATZ W S, SHERIDAN O P, et al. The influence of diet on the gut microbiota[J]. *Pharmacological Research: The official journal of The Italian Pharmacological Society*, 2013, 69(1): 52–60.
- [33] VAUGHN A C, COOPER E M, DILORENZO P M, et al. Energy–dense diet triggers changes in gut microbiota, reorganization of gut–brain vagal communication and increases body fat accumulation[J]. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, 2017, 77(1): 18–30.
- [34] GAO J, GUO X Y, WEI W, et al. The association of fried meat consumption with the gut microbiota and fecal metabolites and its impact on glucose homeostasis, intestinal endotoxin levels, and systemic inflammation: A randomized controlled–feeding trial[J]. *Diabetes Care*, 2021, 44(9): 1970–1979.
- [35] 吴金鹭. 宿主遗传对猪肠道微生物的时空影响研究及AO基因影响猪肠道丹毒丝菌的分子机制[D]. 南昌: 江西农业大学, 2022.
- WU J Y. Investigating the temporal and spatial effects of host genetics on the gut microbiota, and elucidating the mechanism of AO gene affecting porcine intestinal erysipelotrichaceae[D]. Nanchang: Jiangxi Agricultural University, 2022.
- [36] SUGAHARA H, OKAI S, ODAMAKI T, et al. Decreased taxon–specific iga response in relation to the changes of gut microbiota composition in the elderly[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 1757.
- [37] PEDROGO D A M, CHEN J, HILLMANN B, et al. An increased abundance of clostridiaceae characterizes arthritis in inflammatory bowel disease and rheumatoid arthritis: A cross–sectional study[J]. *Inflammatory Bowel Diseases*, 2019, 25(5): 902–913.
- [38] BAO J, LI L L, ZHANG Y H, et al. Periodontitis may induce gut microbiota dysbiosis via salivary microbiota[J]. *International Journal of Oral Science*, 2022, 14(1): 32.
- [39] YU Z T, LI D G, SUN H X. Herba origani alleviated dss–induced ulcerative colitis in mice through remodeling gut microbiota to regulate bile acid and short–chain fatty acid metabolisms[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2023, 161: 114409.
- [40] DAVID A, MICHAEL D, CAROL T, et al. Gut microbial carbohydrate metabolism Hinders weight loss in overweight adults undergoing lifestyle intervention with A volumetric diet[J]. *Mayo Clinic Proceedings*, 2018, 93(8): 1104–1110.
- [41] ALLIN K H, TREMAROLI V, CAESAR R, et al. Aberrant intestinal microbiota in individuals with prediabetes[J]. *Diabetologia*, 2018, 61(4): 810–820.
- [42] RODRIGUEZ J, NEYRINCK A M, ZHANG Z X, et al. Metabolite profiling reveals the interaction of chitin–glucan with the gut microbiota[J]. *Gut Microbes*, 2020, 12(1): 1810530.
- [43] GONG L X, WANG H N, WANG T X, et al. Feruloylated oligosaccharides modulate the gut microbiota *in vitro* via the combined actions of oligosaccharides and ferulic acid[J]. *Journal of Functional Foods*, 2019, 60: 103453.

Studies on China's Characteristic Honey Regulated Gut Microbiota

Zhao Yuan¹, Chen Sihuai¹, Sun Yujing^{1*}, Cao Lianfei^{2*}

¹College of Food Science and Technology, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014

²Institute of Animal Husbandry and Veterinary Science, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021)

Abstract The effects of commonly found Chinese honey (acacia honey, jujube honey, vitex honey, and lychee honey) and specialty honey (loquat honey, cinnacle honey, and kuding tea honey) on gut microbiota after *in vitro* simulated gastrointestinal digestion and colonic fermentation were investigated. The results showed that all seven types of honey had a regulatory effect on gut microbiota, increased the abundance of Actinobacteria and decreased the abundance of Firmicutes, lychee honey, acacia honey, vitex honey, kuding tea honey, loquat honey, cinnacle honey, and jujube honey reduced Firmicutes abundance by 30.08%, 21.2%, 34.83%, 35.5%, 32.73%, 35.7%, and 30.41%, respectively. Different types of honey had significantly different effects on gut microbiota. Lychee honey, locust honey, vitex honey, bitter tea honey, loquat honey, and Chinese sumac honey increased the abundance of Bacteroidetes, while lychee honey and locust honey decreased the abundance of Proteobacteria. Except for jujube flower honey, all other six types of honey reduced the Firmicutes/Bacteroidetes (*F/B*) ratio, with reductions of 341.99%, 337.37%, 106.36%, 128.14%, 141.59%, and 93.52% for lychee honey, acacia honey, vitex honey, kuding tea honey, loquat honey, and cinnacle honey, respectively, with lychee honey having the best effect. The effects of honey on gut microbiota were directly related to the plant source of honey, rather than the type of honeybee. The abundance of Firmicutes was negatively correlated with the total polyphenol content.

Keywords honey; polyphenols; digestion; fermentation; gut microbiota