DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2020.04.027

体外发酵荔枝皮多酚对多酚抗氧化能力和肠道菌群的影响

Changes in microbiota community structure and antioxidant activity of polyphenols from litchi pericarp during degradation with human fecal microbiota *in vitro*

黄小霞^{1,2} 李晓乐¹ 李武¹ 杨瑞丽²

HUANG Xiao-xia^{1,2} LI Xiao-le¹ LI Wu¹ YANG Rui-li²

(1. 海南大学食品科学与工程学院, 海南 海口 570228; 2. 广东省食品质量安全重点实验室, 广东 广州 510462; 3. 华南农业大学食品学院, 广东 广州 510642)

(1. College of Food Science and Engineering, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China;

2. Key Laboratory of Food Quality and Safety of Guangdong Province, Guangzhou, Guangdong 510642, China;

3. College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China)

摘要:荔枝皮多酚经人肠道菌群体外发酵,分别在发酵0, 4, 8, 12, 24, 48 h测定总酚含量、抗氧化活性,并采用高通量测序分析该过程中肠道菌群结构的变化。结果表明:在0~48 h发酵过程中,荔枝皮多酚含量显著降低,抗氧化活性呈下降趋势。48 h时,其总酚含量、FRAP和ABTS抗氧化性分别降低为0 h的79.06% ($P < 0.05$), 92.19%, 93.58%。随着发酵时间的延长,肠道菌群在科、属、种水平丰度呈增加趋势。48 h时,梭杆菌属和脱硫弧菌属分别增加至0 h的13.58, 10.95倍,拟杆菌属和梭菌属分别降低至发酵前的57.16%, 20.87%。肠球菌属与考拉杆菌属呈协同关系,脱硫弧菌属与双歧杆菌属呈竞争关系。研究结果表明,荔枝皮多酚可以改变肠道菌群结构,肠道菌群可能在荔枝皮多酚生物活性作用过程中发挥着重要的作用。

关键词:荔枝皮;多酚;体外厌氧发酵;肠道菌群;高通量测序

Abstract: To reveal the changes in microbiota community structure and antioxidant activity of polyphenols from litchi pericarp during culture with human fecal microbiota, litchi pericarp polyphenols were added into the mixed medium of intestinal

microbiota solution prepared from fresh feces of healthy volunteers for the anaerobic culture *in vitro*. The total phenol content and antioxidant activities were measured at 0, 4, 8, 12, 24 and 48 h. The change of intestinal microbiota was analyzed by high-throughput sequencing. The results showed that the total phenol content significantly decreased within 0~48 h and the antioxidant activity was also reduced but did not attain significant level. The value of total phenol content, FRAP and ABTS of 48 h was decreased to 79.06% ($P < 0.05$), 92.19% and 93.58%, respectively to that of 0 h. The abundance of families, genera and species presented an increasing trend from 0 to 48 h. Among them, the relative abundance of *Fusobacterium* and *Desulfovibrio*, as dominant bacteria increased to 13.58 and 10.95 times of that of 0 h, respectively. The relative abundance of *Bacteroides* and *Peptostreptococcus* decreased to 57.16% and 20.87%, respectively to that of 0 h. *Enterococcus* and *Phascolarctobacterium* showed a synergistic relationship, while *Desulfovibrio* and *Bifidobacterium* competed with each other. Our results showed that litchi pericarp polyphenols could change the structure of intestinal microbiota, which might play an important role in the biological activity of litchi pericarp polyphenols.

Keywords: litchi pericarp; polyphenols; anaerobic culture; intestinal microbiota; high-throughput sequencing

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:31471705);海南省自然科学基金项目(编号:317007);广东省自然科学基金项目(编号:2017A030313162)

作者简介:黄小霞,女,海南大学在读硕士研究生。

通信作者:李武(1976—),男,海南大学副教授,博士。

E-mail: leewuu@163.com

收稿日期:2020-03-21

荔枝(*Litchi chinensis* Sonn.)为亚热带无患子科荔枝属植物,主产于中国,以海南、广西、广东、福建和台湾等地栽培最多^[1]。荔枝的收获时间集中,除鲜食外,通常加工成荔枝干、果醋、罐头、果酒等。在加工过程中,荔枝果

皮一般被当作加工废物丢弃。有文献^[2]显示,荔枝果皮的重量大约是其鲜果重量的15%,含有丰富的多酚类物质,具有抗氧化、降血脂、改善心脑血管疾病等活性。但研究^[3]显示,多酚的生物利用率极低,超过95%的膳食多酚不能被小肠吸收,而通过结肠微生物代谢。

人体肠道内大约存在 10^{14} 个、1 000多种不同的细菌^[4],这些微生物在粪便中的数量高达 $10^{11} \sim 10^{12}$ CFU/g^[5]。肠道菌群被称作人体的“第二大脑”与宿主共同进化,其群落结构及多样性为宿主提供了多种功能,如消化复杂的膳食残渣、产生营养物质、抵御病原体和调节免疫功能^[6]。研究^[7]显示,肠道菌群在膳食功能因子的生物可及性和功效发挥过程中起着重要的作用。肠道菌群与膳食功效因子的互作关系受到越来越多研究者的关注^[8]。已有研究^[9]表明不同的多酚体外发酵对肠道菌群的影响不同,而关于荔枝皮多酚对肠道菌群的影响还未见报道。

试验拟通过离体人肠道菌群代谢荔枝皮多酚,采用高通量测序分析肠道菌群在代谢过程中菌群结构的变化,检测荔枝皮多酚在体外发酵过程多酚含量和抗氧化活性的变化,以期对荔枝果皮多酚的功效作用和开发利用提供科学依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与amp;仪器

1.1.1 材料与amp;试剂

荔枝:淮枝,广东广州某荔枝生产基地;

厌氧培养基:广州健阳生物技术有限公司;

乙醇:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

2,2'-联氮双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐(ABTS)、铁离子还原抗氧化剂(FRAP);美国Sigma-Aldrich公司。

1.1.2 主要仪器设备

厌氧培养箱:YQY-1型,上海跃进医疗器械有限公司;

多功能酶标仪:Multiskan Mk3型,美国Thermo Fisher公司;

PCR仪:GeneAmp PCR System 9700型,美国爱普拜斯公司。

1.2 方法

1.2.1 荔枝皮多酚粗提物的制备 新鲜荔枝皮粉碎,按料液比1:15(g/mL)与70%乙醇溶液混合,于40℃水浴恒温浸提3 h,200目尼龙布过滤,残渣复提1次,抽滤,50℃旋转蒸干后冷冻干燥(-80℃,0.34 Pa,48 h),得荔枝皮多酚粗提物,经测定其总酚含量为(17.85±1.84) mg GAE/g·FW。

1.2.2 人体粪便采集 选择30名21~25岁的健康成人

(男:女=1:1),无肠道病史,采样前两周内未使用过任何药物。采集志愿者新鲜粪便,采样瓶1 h内送到实验室,液氮冷冻后置于-80℃冰箱中保存。

1.2.3 肠道菌群制备 参照文献^[10]并作改进,将采集的粪便解冻,在无菌操作条件下,粪便与生理盐水按1:4(g/mL)比例混合均匀,涡旋2 min,用4层无菌纱布过滤,滤液即为肠道菌液。按1:9的比例将肠道菌液加入厌氧培养基中,混匀,液体石蜡液封后置于干燥器(含厌氧产气包)中37℃培养24 h,得培养液,以3%比例进行二次扩大培养。

1.2.4 荔枝皮多酚体外发酵 参照Rycroft等^[11]的体外发酵法并改进,5.4 mL肠道菌悬液加入0.6 mL 0.3 mg/mL荔枝皮多酚,混合均匀后,迅速吸取1.0 mL加入灭菌离心管,37℃厌氧培养。监测发酵不同时间点(0, 4, 8, 12, 24, 48 h)多酚含量、抗氧化值和肠道菌群的变化。

1.2.5 总酚含量的测定 采用Folin-Ciocalteu比色法^[12]。

1.2.6 抗氧化活性的测定

(1) FRAP抗氧化能力:参照文献^[13],修改如下:150 mL样品与2 850 mL FRAP工作液反应修改为2 800 μL FRAP工作液中加入200 μL稀释至一定浓度的样品。

(2) 清除ABTS⁺·能力:参照文献^[14]。

1.2.7 菌群构成分析 样品中肠道微生物总DNA提取以及高通量测序委托上海派森诺生物科技股份有限公司进行。

(1) 样本总DNA提取:采用肠道微生物DNA试剂盒提取DNA。

(2) 目标片段PCR扩增:对目标片段16S rDNA V4区域进行PCR扩增。以第一个引物中的barcode作为特异引物扩增得到目标产物。

(3) 扩增产物的纯化与定量:1.2.7(2)中PCR扩增的产物经电泳检测后,切胶回收目标片段,采用荧光定量PCR扩增产物。

(4) 文库构建与测序:使用美国Illumina公司的试剂盒制备测序文库。用MiSeq测序仪和使用MiSeq V3试剂盒对文库中的片段进行2×300 bp的双端测序。

1.3 数据分析

1.3.1 理化指标分析 结果以mean±SD表示(n=4)。采用SPSS 22.0软件,单因素分析方法(ANOVA)进行显著性分析,P<0.05有统计学意义。GraphPad Prism 8.3软件对数据进行图形化处理。

1.3.2 Illumina MiSeq平台测序数据分析 高通量测序的原始数据进行质控、过滤、去嵌合体,得到的有效数据,进行分类操作单元的划分以及系统发育学分析,菌群结构差异及差异微生物种类采用QIIME^[15]、Usearch^[16]分析。

2 结果与分析

2.1 总酚含量的变化

由图 1 可知,0 h 与 48 h 相比,对照组(灭活肠道菌群)总酚含量无显著性变化,表明在无肠道菌群作用下,荔枝皮多酚相对稳定。荔枝皮多酚在发酵过程中呈显著下降趋势,代谢 48 h 后其总酚含量和 0 h 相比降低了 20.94% ($P < 0.05$),说明荔枝皮多酚在肠道菌群作用下发生了生物转化。

小写字母不同表示组内显著性差异 ($P < 0.05$)

图 1 体外发酵过程中荔枝皮多酚含量的变化

Figure 1 Degradation curve of litchi pericarp polyphenols by intestinal microflora

2.2 抗氧化活性的变化

2.2.1 FRAP 抗氧化活性 荔枝皮多酚体外发酵 4 h 时,其 FRAP 抗氧化值为 0 h 的 111.59% ($P > 0.05$),之后随发酵时间延长,FRAP 抗氧化活性呈降低趋势,发酵 24 h 和 48 h 时,FRAP 抗氧化值分别为 0 h 的 92.97% 和 92.19% ($P > 0.05$)。FRAP 抗氧化值的变化,可能是由不同发酵时间点微生物转化生成的代谢产物种类和量不同引起的。

2.2.2 ABTS⁺ · 抗氧化活性 如图 3 所示,在 0~48 h 时 ABTS⁺ · 抗氧化活性无显著差异。发酵 4, 8, 12, 24, 48 h 时,ABTS⁺ · 抗氧化值分别为 0 h 的 102.58%, 105.64%, 103.96%, 98.60% 和 93.58% ($P > 0.05$)。表明多酚被肠道菌群生物转化成的产物仍然具有良好的抗氧化活性。

2.3 体外发酵荔枝皮多酚对肠道菌群的影响

2.3.1 肠道菌群基本分析 图 4 为各分类水平的主要类群,从内到外依次为门、纲、目、科。从门的水平上,体外培养肠道菌群样品中主要的类群依次为:厚壁菌门(*Firmicutes*)、变形菌门(*Proteobacteria*)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*),占其总含量的 97.47%;从纲的水平上,主要的类群依次为梭菌纲(*Clostridia*)、变形菌纲(*Gamma proteobacteria*)、拟杆菌纲(*Bacteroidia*)、芽孢杆菌纲(*Bacilli*)、 δ -变形菌纲(*Delta proteobacteria*),占其总含量的 95.65%;

小写字母不同表示组内显著性差异 ($P < 0.05$)

图 2 体外发酵荔枝皮多酚 FRAP 抗氧化活性的变化

Figure 2 Changes of FRAP antioxidant activity of LPP before and after incubation with intestinal microbiota

图 3 体外发酵荔枝皮多酚 ABTS⁺ · 抗氧化活性的变化
Figure 3 Changes of ABTS⁺ · antioxidant activity of LPP before and after incubation with intestinal microbiota

从目的水平上,主要的类群依次为梭菌目(*Clostridiales*)、肠杆菌目(*Enterobacteriales*)、拟杆菌目(*Bacteroidales*)、乳杆菌目(*Lactobacillales*)、假单胞菌目(*Pseudomonadales*)、脱硫弧菌目(*Desulfovibrionales*),占其总含量的 94.99%;从科的水平上,主要的类群依次

图 4 各分类水平的主要类群

Figure 4 The main groups at each classification level

为肠杆菌科 (*Enterobacteriaceae*)、拟杆菌科 (*Bacteroidaceae*)、梭菌科 (*Clostridiaceae*)、韦荣氏菌科 (*Veillonellaceae*)、肠球菌科 (*Enterococcaceae*)、消化链球菌科 (*Peptostreptococcaceae*)、链球菌科 (*Streptococcaceae*)、莫拉菌科 (*Moraxellaceae*)、瘤胃球菌科 (*Ruminococcaceae*)、脱硫弧菌科 (*Desulfovibrionaceae*)、假单胞菌科 (*Pseudomonadaceae*)、毛螺菌科 (*Lachnospiraceae*)，占其总含量的 90.87%。由鉴定结果可知，粪便样品分离制备肠道菌群及体外厌氧发酵方法具有可行性。

2.3.2 对肠道菌群 α 多样性的影响 如表 1 所示,24 个样品共获得 864 040 条 16S rDNA 有效序列量,采用 QIIM 对有效序列以 97% 的序列相似度进行归并和 OTU 的划分。结果显示,随着体外发酵时间的延长,香浓指数有所升高,表明菌群的多样性提高。

表 1 发酵荔枝皮多酚过程中肠道菌群信息及 α 多样性
Table 1 Sample information and α diversity of intestinal microbiota ($n=4$)

发酵时间/h	测序量	OTU 数	香浓指数
0	34 784±971	276±37	8.74±0.41
4	36 786±1 250	264±41	8.39±0.43
8	37 041±1 194	250±26	9.20±0.18
12	35 185±677	266±31	9.28±0.18
24	34 795±2 073	237±26	9.30±0.28
48	37 419±1 230	178±24	9.00±0.40

2.3.3 对肠道菌类群的影响 图 5 为荔枝皮多酚代谢的菌群 OUT 聚类分析。从图 5 中可以发现,门、纲、目水平上的微生物类群数目随发酵时间的延长无明显变化,但科、属、种水平上的微生物类群在 24~48 h 呈增加趋势。根据 Li 等^[17] 的报道,荔枝皮多酚及其发酵产生的代谢产物可能促进或抑制某些菌属的生长,从而引起肠道菌类群的变化。

图 5 不同发酵时间各分类水平的微生物类群的变化
Figure 5 The changes of microorganism group number in different incubation time

2.3.4 对优势菌属及其相对丰度的影响 荔枝皮代谢过程中优势菌属的热图(图 6)分析结果显示,肠道菌群前三优势菌属为肠球菌属 (*Enterococcus*)、拟杆菌属 (*Bacteroides*)和梭菌属 (*Clostridium*)。其中肠球菌属 (*Enterococcus*)的相对含量在整个代谢过程中呈增加趋势,48 h 时增加至 0 h 的 1.47 倍,而拟杆菌属 (*Bacteroides*)和梭菌属 (*Clostridium*)呈降低趋势。由图 7 的结果显示,其相对含量在 48 h 分别降低至 0 h 的 57.16% 和 20.87%。梭杆菌属 (*Fusobacterium*)和脱硫弧菌 (*Desulfovibrio*)的相对含量较低,但在整个发酵过程中呈增加趋势,在 48 h 时,其相对丰度分别是 0 h 的 13.58 倍和 10.35 倍(图 7)。

蓝色代表相对含量较低,颜色越深,相对丰度越低;红色代表相对含量较高,颜色越深,相对丰度越高。

图 6 优势属的相对丰度变化
Figure 6 Relative abundance changes of the main genus

图 7 主要差异属的相对丰度变化
Figure 7 Relative abundance changes of the major variant genus

与相关报道比, 试验肠道微生物的优势菌属与潘亚平等^[18]的研究结果相近。拟杆菌属是人和动物体内大量存在的正常菌群, 报道^[19]显示拟杆菌属在炎症性肠病中具有促炎作用, 其降低能减少肠道炎症的发生, 试验结果显示, 荔枝皮多酚能够降低拟杆菌属肠道中的相对丰度, 提示荔枝皮多酚的抗肠道炎症作用可能与其引起拟杆菌的变化有关。梭杆菌属是肠道内主要的产丁酸菌, 丁酸是短链脂肪酸的一种, 具有为肠上皮细胞提供能量、促进肠黏膜修复, 调节肠道免疫等作用^[20], 其在荔枝皮多酚发酵过程中逐渐富集, 表明荔枝皮多酚可能被梭杆菌属酵解生成短链脂肪酸丁酸, 进一步发挥维护肠道健康的作用。

2.3.5 优势菌属的相互关系 菌群关联分析结果(图 8)显示, 发酵荔枝皮的优势菌属存在相互协同或相互竞争的关系。其中, 肠球菌属 (*Enterococcus*)、萨特氏菌属 (*Sutterella*) 与考拉杆菌属 (*Phascolarctobacterium*) 呈显著的正相关, 表现为协同关系。脱硫弧菌属 (*Desulfovibrio*)、颤螺旋菌属 (*Oscillospira*) 与双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*) 呈现竞争关系。微生物对多酚结构的敏感性不同, 不同的多酚需要不同的菌属单独或协同进行生物转化, 从而表现出菌属间竞争或协同关系。这种结果提示, 微生物间的相互关系也可能是引起菌群结构变化的原因之一。

计算优势菌属之间的斯皮尔曼等级相关系数, 在其中 $\rho > 0.6$ 且 $P < 0.01$ 的优势菌属之间构建关联网。红色线为正相关, 黑色线为负相关

图 8 优势属的相互关系

Figure 8 The relationship between dominant genus

3 结论

荔枝皮多酚在肠道菌群发酵过程中总酚含量显著下降, 抗氧化活性在 0~48 h 呈现先增加后降低的趋势, 可能是因为不同发酵时间转化生成的代谢产物种类和量不同, 代谢产物具有一定的抗氧化活性。在 48 h 发酵过程中, 荔枝皮多酚能提高肠道菌群的 α 多样性。优势菌属的相对丰度随发酵时长变化, 其中, 梭杆菌属和梭菌属显著降低, 肠球菌属与考拉杆菌属表现为协同关系, 脱硫弧菌属与双歧杆菌属表现为竞争关系。荔枝皮多酚对肠道菌群的影响与其他报道的植物多酚相比存在差异, 可能与多酚单体的组成不同有密切关系, 后续试验将进一步考察多酚单体在发酵过程中的生物转化产物生成和变化。

参考文献

- [1] LI Jiang-rong, JIANG Yue-ming. Litchi flavonoids: Isolation, identification and biological activity[J]. Molecules, 2007, 12(4): 745-758.
- [2] 关小丽, 黄永林, 王亚凤, 等. 荔枝皮化学成分的研究 I [J]. 广西植物, 2014, 34(2): 151-154.
- [3] OU Ke-qin, PERCIVAL S S, ZOU Tao, et al. Transport of cranberry A-type procyanidin dimers, trimers, and tetramers across monolayers of human intestinal epithelial caco-2 cells[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2012, 60(6): 1 390-1 400.
- [4] 颜晓庆, 陈宏运, 吴彬彬, 等. 肠道微生物与人体健康综述[J]. 集成技术, 2015, 4(4): 87-93.
- [5] 赵兰涛. 全谷物对肠道菌群益生作用的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2013: 2-3.
- [6] ZHANG Jia-chao, YANG Guang-mei, WEN Ya-zhou, et al. Intestinal microbiota are involved in the immunomodulatory activities of longan polysaccharide[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2017, 61(11): 1700466.
- [7] 杨本坤, 王素军, 莫李立, 等. 药物代谢体外模型的研究进展[J]. 广东药学院学报, 2011, 27(6): 649-652.
- [8] 成焕, 王远亮. 槟榔籽多酚对肠道微生物体外发酵的影响[J]. 食品与机械, 2019, 35(1): 47-52.
- [9] SUN Han-yang, CHEN Yu-hui, CHENG Mei, et al. The modulatory effect of polyphenols from green tea, oolong tea and black tea on human intestinal microbiota in vitro [J]. Journal of Food Science and Technology, 2017, 55(1): 399-407.
- [10] 张蔚. 二氢黄酮苷及异黄酮苷与人体肠道细菌的相互作用研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2014: 24-27.
- [11] RYCROFT C E, JONES M R, GIBSON G R, et al. A comparative in vitro evaluation of the ferment properties of prebiotic oligosaccharides[J]. Journal of Applied Microbiology, 2001, 91(5): 878-887.
- [12] DEWANTO V, WU X, ADOM K K, et al. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2002, 50: 3 010-3 014.
- [13] THAIPONG K, BOONPRAKOB U, CROSBY K, et al. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2006, 19(6/7): 669-675.
- [14] ZENG Di, SI Ming. Purification, characterization, antioxidant and anticancer activities of novel polysaccharides extracted from Bachu mushroom [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 107 (Pt A): 1 086-1 092.

(下转第 220 页)

- [2] 卢彦华, 张广喜, 孟杰, 等. 气流干燥工序山东烤烟的原料加工特性研究[J]. 安徽农学通报, 2016, 22(15): 124-128.
- [3] 崔升. HXD 工艺参数优化及其对烟丝质量的影响[J]. 贵州农业科学, 2017, 45(12): 128-132.
- [4] 刘继辉, 朱勇, 申晓峰, 等. 不同蒸汽注入位置对气流干燥烟丝品质的影响[J]. 烟草科技, 2014(11): 10-13, 21.
- [5] 乔学义, 姚光明, 王兵, 等. 气流干燥工序加工强度对烤烟烟叶感官质量的影响[J]. 河南农业科学, 2012, 41(7): 54-57, 83.
- [6] 王宗英, 彭军仓, 徐磊, 等. 两种干燥工艺下叶丝加工质量的对比分析[J]. 烟草科技, 2012(11): 5-9.
- [7] 魏硕, 李生栋, 徐宸, 等. 基于叶片保水力的烟叶烘烤水分干燥模型构建[J]. 南方农业学报, 2017, 48(8): 1 477-1 482.
- [8] 李生栋, 付宗仁, 胡蓉花, 等. 烟叶烘烤过程中水分变化及干燥数学模型构建[J]. 南方农业学报, 2018, 49(1): 121-129.
- [9] 金博闻, 戴亚. 烟草化学[M]. 北京: 清华大学出版社, 1994: 57-59.
- [10] 李峥, 邱坤, 杨鹏, 等. 烟叶烘烤过程中水分迁移干燥特性研究进展[J]. 昆明学院学报, 2017, 39(6): 37-41.
- [11] 刘新民, 杜咏梅, 程森, 等. 烤烟烟丝填充值与其理化指标和感官品质的关系[J]. 中国烟草科学, 2012(5): 74-78.
- [12] 邵惠芳. 基于化学成分的烤烟感官质量评价模型构建及工业应用[D]. 郑州: 河南农业大学, 2012: 34-36.
- [13] 吴惠玲, 王志强, 韩春, 等. 影响美拉德反应的几种因素研究[J]. 现代食品科技, 2010, 26(5): 440-444.
- [14] 段鹏, 赵永振, 芦昶彤, 等. 对流干燥对烟丝表面温度及理化特性的影响[J]. 食品与机械, 2017, 33(10): 184-189.
- [15] 秦艳青, 李爱军, 杨兴友, 等. β -胡萝卜素的降解方法及其降解物在卷烟加香中的应用[J]. 江苏农业科学, 2014(5): 220-222.
- [16] 谢卫. 烟草制丝过程中生物碱的变化研究[J]. 福建分析测试, 2005, 14(1): 2 120-2 122.
- [17] 杨斌, 白俊海. HXD 前后烟丝中烟碱及部分香味成分的变化[J]. 烟草科技, 2006(1): 18-21.
- [18] 张欢欢. 卷烟制丝过程中烟丝化学成分和感官质量的动态变化研究[D]. 郑州: 河南农业大学, 2014: 30-31.

(上接第 150 页)

- [15] MAGOČ T, SALZBERG S L. FLASH: Fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies [J]. *Bioinformatics*, 2011, 27(21): 2 957-2 963.
- [16] SCHLOSS P D, WESTCOTT S L, RYABIN T, et al. Introducing mothur: Open-source, platform-independent, community supported software for describing and comparing microbial communities[J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2009, 75(23): 7 537-7 541.
- [17] LI Shu-yi, CHEN Lu, YANG Ting, et al. Increasing antioxidant activity of procyanidin extracts from the pericarp of *Litchi chinensis* processing waste by two probiotic bacteria bioconversions[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2013, 61(10): 2 506-2 517.
- [18] 潘亚平, 张振海, 丁冬梅, 等. 黄酮类化合物肠道细菌生物转化的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(19): 3 239-3 245.
- [19] 许真源, 李小雅, 许雅青, 等. 产丁酸菌调节肠道微生态及中药的干预作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(6): 226-233.
- [20] 沙素梅. IBD 患者粪便菌群生物多样性及其主要组成的研究[D]. 西安: 第四军医大学, 2011: 45-47.

(上接第 189 页)

- [8] YU Jun-he, CUI He-ping, TANG Wei, et al. Interaction of (-)-epigallocatechin gallate and deoxyosones blocking the subsequent Maillard reaction and improving the yield of N-(1-Deoxy-d-xylulos-1-yl)-alanine[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68: 1 714-1 724.
- [9] HUANG Mei-gui, ZHANG Xiao-ming, ERIC K, et al. Inhibiting the color formation by gradient temperature-elevating Maillard reaction of soybean peptide-xylose system based on interaction of l-cysteine and Amadori compounds[J]. *Journal of Peptide Science*, 2012, 18(5): 342-349.
- [10] 黄梅桂. 大豆肽美拉德反应体系中色泽抑制及其机理研究[D]. 无锡: 江南大学, 2012: 51-63.
- [11] 徐珊珊. 小麦面筋蛋白美拉德肽的制备及风味特性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2018: 10-11.
- [12] LAN Xiao-hong, LIU Ping, ZHANG Xiao-ming, et al. Temperature effect on the non-volatile compounds of Maillard reaction products derived from xylose-soybean peptide system: Further insights into thermal degradation and cross-linking[J]. *Food Chemistry*, 2010, 120(4): 967-972.
- [13] 吴惠玲, 王志强, 韩春, 等. 影响美拉德反应的几种因素研究[J]. 现代食品科技, 2010, 26(5): 441-444.