

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2024.60077

不同成熟度桑椹多糖在体外粪菌 发酵中的代谢特性

过尘杰¹ 陈健乐^{2,3,4} 吴家雄² 程 煊^{2,3,4} 陈士国^{2,3,4} 叶兴乾^{2,3,4}

(1. 浙江农业商贸职业学院, 浙江 绍兴 312000; 2. 浙江大学生物系统工程与食品科学学院, 浙江 杭州 310058;
3. 浙江大学宁波科创中心, 浙江 宁波 315100; 4. 浙江大学中原研究院, 河南 郑州 450000)

摘要: [目的] 研究不同成熟度桑椹多糖的体外酵解特性和肠道菌群调节作用。[方法] 对桑椹青果、红果和紫果中的多糖进行体外粪菌发酵, 测定体系的 pH、短链脂肪酸和底物的变化情况, 利用 16S rDNA 测序分析菌群结果。[结果] 3 种桑椹多糖均能被降解利用, 并产生高含量的乙酸、丙酸和丁酸等代谢产物。而紫果和红果桑椹多糖的促短链脂肪酸生成能力强于青果。此外, 它们还能选择性地调节肠道菌群, 促进拟杆菌属 (*Bacteroides*)、副拟杆菌属 (*Parabacteroides*)、考拉杆菌属 (*Phascolarctobacterium*) 等的增殖, 抑制梭杆菌属 (*Fusobacterium*) 等有害菌的生长。[结论] 不同成熟度桑椹中的多糖均具有益生活性, 可有效调节肠道菌群和产生有益代谢产物。其中, 成熟度最高的紫果桑椹中的多糖效果最佳。

关键词: 桑椹; 成熟度; 多糖; 体外发酵

Metabolic characteristics of polysaccharides from mulberries at different maturity stages during in vitro fecal fermentation

GUO Chenjie¹ CHEN Jianle^{2,3,4} WU Jiexiong² CHENG Huan^{2,3,4} CHEN Shiguo^{2,3,4} YE Xingqian^{2,3,4}

(1. Zhejiang Agricultural Business College, Shaoxing, Zhejiang 312000, China; 2. College of Biosystems Engineering and Food Science, Hangzhou, Zhejiang 310058, China; 3. Ningbo Innovation Center, Zhejiang University, Ningbo, Zhejiang 315100, China; 4. Zhejiang University Zhongyuan Institute, Zhengzhou, Henan 450000, China)

Abstract: [Objective] This study investigated the *in vitro* fermentation characteristics and gut microbiota modulation effects of polysaccharides extracted from mulberries at different maturity stages. [Methods] Polysaccharides from green, red and purple mulberries were subjected to *in vitro* fermentation using human fecal microbiota. Changes in pH values, short-chain fatty acids (SCFA) levels and substrate composition were monitored. Gut microbiota composition was analyzed through 16S rDNA sequencing. [Results] Polysaccharides from all three mulberry types were effectively degraded and utilized during fermentation, generating significant levels of SCFAs, including acetic acid, propionic acid, and butyric acid. Purple and red mulberry polysaccharides demonstrated a superior capacity for SCFA production compared to those from green mulberries. Additionally, they selectively modulated gut microbiota, promoting the growth of beneficial bacteria such as *Bacteroides*, *Parabacteroides*, and *Phascolarctobacterium*, while suppressing harmful bacteria like *Fusobacterium*. [Conclusion] Polysaccharides derived from mulberries at three different maturity stages exhibit notable prebiotic activity by enhancing beneficial metabolic products and positively influencing gut microbiota composition. Fully ripe purple mulberries exhibited the most pronounced effects, suggesting their potential as a superior source of functional ingredients.

Keywords: mulberry; maturity; polysaccharides; in vitro fermentation

天然多糖作为膳食纤维的重要组成部分, 参与了生物体内各项生理活动, 对维持生命活动起着重要作用^[1]。近年来, 多糖作为一种新型益生元受到广泛关注, 其能够显著调节肠道菌群, 并在增强免疫力、抗病毒、抗氧化、抗

基金项目: 浙江省重点研发计划项目 (编号: 2021C02001); 浙江省教育厅一般科研项目 (编号: Y202248926)

通信作者: 叶兴乾 (1962—), 男, 浙江大学教授, 博士生导师, 博士。E-mail: psu@zju.edu.cn

收稿日期: 2024-05-23 改回日期: 2024-10-02

肥胖、抗糖尿病、抗炎、抗肿瘤等方面发挥重要作用^[2-3]。由于多糖具有结构复杂、相对分子质量大等特点,且人体内除大肠外缺乏参与降解的碳水化合物活性酶(CAZymes),大多数多糖进入机体后在上消化道无法直接被消化吸收^[4],而是进入大肠被肠道菌群所降解利用^[5]。在肠道菌群分泌的多种碳水化合物活性酶的作用下,多糖会被降解并转化为乳酸、琥珀酸、短链脂肪酸等有益代谢产物,从而改善宿主健康^[6]。

桑椹是中国传统的药食两用资源,富含多种人体必需的活性成分,如多酚、多糖、氨基酸、维生素等,具有很高的营养价值和药用价值^[7]。桑椹作为草药和功能性食品,已被证实具有免疫调节、抗氧化、降血糖、降血脂、抗肿瘤等多种生物活性^[8]。桑椹从花期到果实成熟时间很短,色泽从未成熟果实的青色转变为半成熟的红色和最后成熟的紫色^[7]。

多糖是桑椹中最重要的生物活性物质之一,关于成熟度对其结构与功能特性影响的相关研究却不足。课题组^[9]前期对不同成熟度的桑椹中提取到的多糖进行了研究,发现它们虽都是非均一性酸性果胶多糖,但化学组成和相对分子质量存在明显差异;随着桑椹果实的成熟,其多糖得率下降,相对分子质量降低,多聚半乳糖醛酸(HG)结构域占比升高。多糖的结构会影响其生物活性,不同成熟度桑椹多糖在组成和结构上的差异也意味着它们在生物活性上可能有不同的效果^[10]。研究拟通过体外发酵试验探究3种不同成熟度的桑椹多糖对肠道菌群的影响,并评估它们的益生特性,以期桑椹成熟过程中产生的青红落果进一步加工利用提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

1.1.1 试验材料

不同成熟度(青果、红果、紫果)桑椹多糖:相对分子质量分别为 1.920×10^6 、 1.015×10^6 和 3.806×10^5 ,实验室自制;

甲醇、乙腈:色谱级,美国TEDIA公司;

乙酸、丙酸、正丁酸、异丁酸、戊酸、异戊酸标品:国药集团化学试剂有限公司;

氯化钠、磷酸二氢钾、磷酸氢钾、二水氯化钙、六水氯化镁、四水氯化锰、六水氯化钴、硫酸铵、七水硫酸亚铁、七水硫酸锌、磷酸、六水氯化铬、二水氯化铜、流水氯化镍、二水钼酸钠、碳酸钠等:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

氯高铁血红素、半胱氨酸盐酸盐、维生素K、刃天青:阿拉丁试剂有限公司;

蛋白胨、酵母浸膏:广东环凯微生物科技有限公司;

纯净水:杭州娃哈哈集团有限公司。

1.1.2 试验仪器

厌氧培养箱:COY type A型,美国COY公司;

高速冷冻离心机:HC-3018R型,安徽中科中佳科学仪器有限公司;

pH计:S210型,瑞士Mettler Toledo公司;

酶标仪:Multiskan GO-1510型,美国Thermo Fisher Scientific公司;

高效液相色谱仪:LC-20型,日本岛津公司;

多角度光散射仪:DAWN HELEOS-II型,美国怀亚特技术公司;

示差检测器:RID-20A型,日本岛津公司;

电子天平:UTP-313型,上海花潮电器有限公司;

涡旋振荡器:MIX-25型,杭州米欧仪器有限公司;

气相色谱质谱联用仪:Agilent 7890A/5975C型,美国安捷伦科技有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 粪菌悬浊液制备 将磷酸盐充分溶解在蒸馏水中,然后定容于1.0 L容量瓶中,得到10 g/100 mL的PBS溶液,在121 °C条件下灭菌30 min,备用。粪菌悬浊液制备参考文献[11]的方法并进行适当修改:在同一时间点,分别向6位健康志愿者(志愿者无胃肠道消化疾病且至少3个月内未曾服用抗生素类药物)收集一定量的新鲜粪便,称取每人等量粪便混合后加入到配制好的PBS溶液中,制成质量分数10%的粪菌悬浊液,用均质机均质1 min,随后立即转移至厌氧操作台中,用两层无菌纱布过滤,收集滤液,备用。

1.2.2 发酵培养基制备 参考文献[12]的方法配制发酵培养基,分别将菊粉(对照组)、青果、红果、紫果组的多糖溶于培养基中,配制为5 mg/mL的培养基溶液,并设置不加糖的空白组,在121 °C条件下灭菌30 min,备用。

1.2.3 体外发酵 在厌氧操作台中,将30 mL含有多糖的培养基与3 mL粪菌悬浊液混合,并在涡旋仪上涡旋均匀,作为多糖组;另外,30 mL不含多糖的空白培养基与3 mL粪菌悬浊液混合作为空白组,每组设置3个平行。整个操作过程在厌氧操作台中进行,于37 °C的厌氧环境中进行发酵,并分别于0, 3, 6, 12, 24, 48 h 6个时间节点取样,立即离心(8 000 r/min, 5 min),分离上清液和沉淀,分别保存于一80 °C冰箱中,用于各指标检测。

1.2.4 pH测定 取0, 3, 6, 12, 24, 48 h发酵样品上清液于试管中,采用pH计对样品进行测定。

1.2.5 短链脂肪酸含量测定 取0, 3, 6, 12, 24, 48 h发酵样品上清液,通过0.22 μm的水系滤膜,然后利用气相色

谱(GC)测定其中短链脂肪的组成及含量^[13];色谱条件:色谱柱,HP-INNOWAX(30 m×0.25 mm ID),火焰离子(FID)检测器,检测器温度 250 ℃;载气氮气,流量 19.0 mL/min,分流比 1:10;柱温 100 ℃,保留时间 1 min,以 4 ℃/min 的速度升温至 180 ℃;进样口温度 250 ℃;氢气流量 30 mL/min,空气流量 300 mL/min。以乙酸、丙酸、正丁酸、异丁酸、正戊酸、异戊酸为标准品,每个标准品根据不同的浓度制作标准曲线。根据标准曲线计算出样品发酵液中短链脂肪酸的种类与含量。

1.2.6 总碳水化合物含量测定 样品发酵液中总碳水化合物的量采用苯酚—硫酸法进行测定,并计算总碳水化合物的减少量。取 0.5 mL 发酵上清液,在其中分别加入 0.5 mL 5% 苯酚溶液和 2.5 mL 浓硫酸并持续振荡至混合均匀,于沸水中水浴加热 10 min,取出后用冰水冷却,并于 490 nm 下检测吸光度。以葡萄糖溶液为标准品,并根据不同难度制作标准曲线。

1.2.7 基于 16S rDNA 测序分析肠道菌群 收集空白、对照、青果多糖、红果多糖、紫果多糖 5 组 48 h 发酵液的离心沉淀进行菌群结构测定。将所有菌群样品送至检测公司进行质量鉴定和肠道菌群组分分析。选择 16S rDNA 的 V4 区进行扩增,利用 Illumina Miseq 平台进行高通量测序和生物信息学分析。所有的分析结果都是基于测序 Reads 和操作分类单元(OTUs)。

1.3 数据处理

试验重复 3 次,结果表示为平均值±标准差,用 GraphPad Prism8(GraphPad Software Inc. USA)进行数据统计分析。采用 Origin 2018 软件(OriginLab, CA, USA)及 GraphPad Prism8(GraphPad Software Inc. USA)软件作图。

2 结果与分析

2.1 不同成熟度桑椹多糖对发酵过程中 pH 值的影响

如图 1 所示,多糖组和对照组在酵解过程中 pH 值迅速下降,且明显低于空白组。这是因为发酵过程中多糖和菊粉等碳源会被肠道菌群代谢利用,生成了乳酸、短链脂肪酸等酸性物质。由于碳源不足,空白组的 pH 在酵解过程中仅略微降低,最终维持在 6.4 左右。而对照组(菊粉),在前 24 h 体系的 pH 由 7.1 迅速下降至 4.5,之后下降趋势显著放缓。相比之下,3 种桑椹多糖组的 pH 随酵解时间逐渐下降,最终维持在 5.3 左右。虽然 3 种桑椹多糖组在 pH 变化上无明显差异,但青果多糖组在发酵前 24 h 表现出了更快的 pH 降低速率,这可能与其结构有关。

2.2 不同成熟度桑椹多糖对发酵过程中短链脂肪酸的影响

短链脂肪酸作为最重要的菌群代谢产物之一,在改

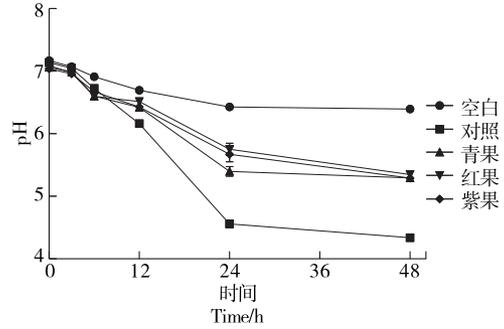


图 1 桑椹多糖在体外发酵过程中 pH 值的变化
Figure 1 Changes in pH values of mulberry polysaccharides during in vitro fermentation

善能量代谢、抗炎、抗肿瘤等方面发挥重要作用,对宿主的健康至关重要^[13]。由图 2 可知,各组在酵解过程中短链脂肪酸主要由乙酸、丙酸和丁酸组成,且乙酸等物质在发酵液中的浓度均随酵解过程而逐渐增加。对照组和 3 种桑椹多糖干预组均能提高体系中的总短链脂肪酸水平,其中,紫果多糖和红果多糖短链脂肪酸产量高于菊粉组,而青果多糖与对照组相当。对照组主要产生乙酸,而丙酸和丁酸含量低于桑椹多糖干预组。红果多糖和紫果多糖的产丙酸能力优于青果多糖,紫果多糖组表现出了优于其他组的促丁酸生成能力。这 3 种短链脂肪酸均被报道对人体有健康益处,其中乙酸可以经血液运输到器官组织中作为能源利用,丙酸能参与胆固醇代谢,正丁酸具有免疫、抗炎和抗癌等功效,同时也是肠上皮细胞的能源^[14]。综上,从短链脂肪酸生成的角度看,3 种桑椹多糖均具有益生活性,它们均能够促进机体生成短链脂肪酸进而改善宿主健康。其中,成熟度最高的紫果桑椹多糖可能具有最佳效果。

2.3 不同成熟度桑椹多糖对发酵过程中总糖的影响

由图 3 可知,总糖的消耗趋势总体与 pH 变化趋势保持一致,各组的总糖含量随着酵解过程不断降低,并且前 24 h 的消耗速率要快于 24~48 h 的。与 pH 变化情况一致,3 种桑椹多糖在总糖的最终消耗率上是相近的,无较大差异。

如表 1 所示,青果桑椹多糖的初始相对分子质量比红果和紫果的大,且在酵解结束时,其相对分子质量仍为最大。3 种桑椹多糖的相对分子质量均随着酵解过程逐步减小,与总糖变化趋势一致,其中红果多糖和紫果多糖最终降解得更为彻底,这可能是红果多糖和紫果多糖在促短链脂肪酸生成上优于青果多糖的原因。

2.4 不同成熟度桑椹多糖对发酵过程中菌群结构的影响

为了比较不同组之间肠道菌群结构的 β 多样性,将 16S rDNA 测序结果进行 PCoA 分析。样本在坐标间的聚

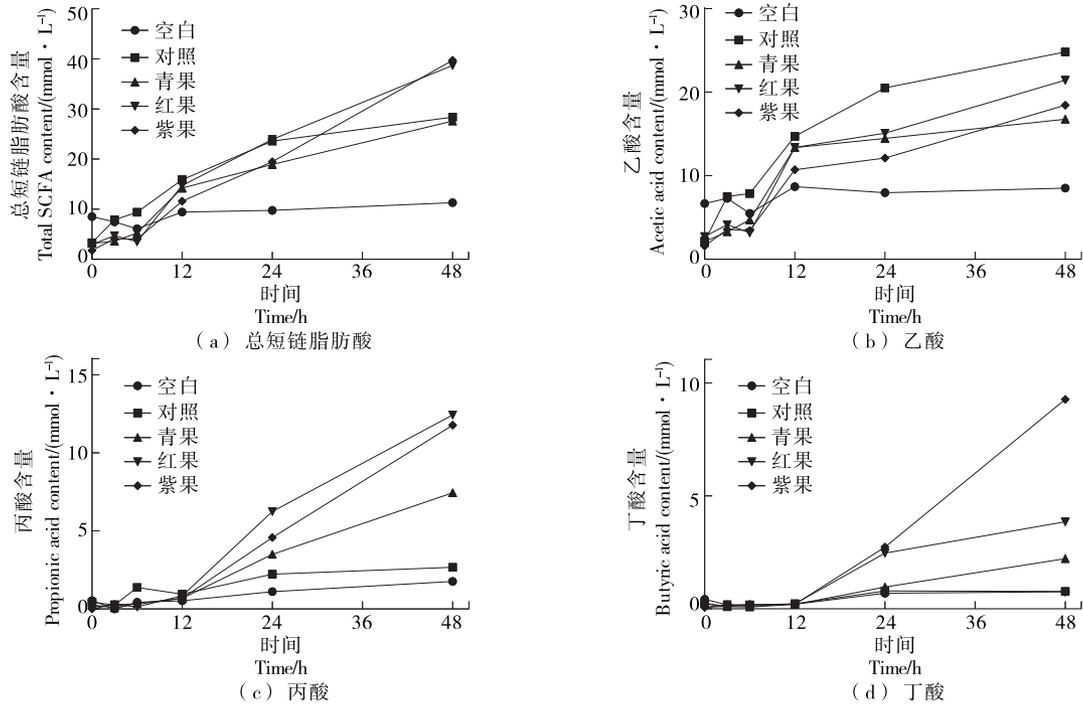


图2 桑椹多糖在体外发酵过程中短链脂肪酸的变化

Figure 2 Changes in short-chain fatty acids of mulberry polysaccharides during in vitro fermentation

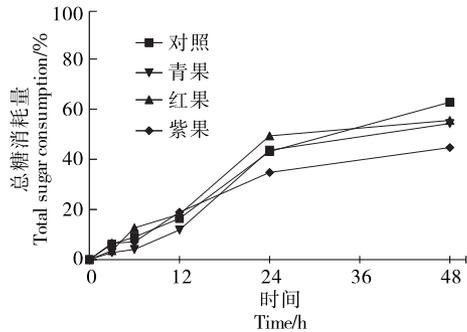


图3 桑椹多糖在体外发酵过程中碳水化合物的消耗

Figure 3 Carbohydrate consumption of mulberry polysaccharides during in vitro fermentation

类和分散情况表现出了菌群结构的相似和差异程度。图4结果表明,对照组和3种多糖干预组均表现出了与空白组不同的菌群结构。其中,红果多糖组和紫果多糖组的菌群结构比较接近,而青果多糖组的菌群结构则与对照组的较为接近。

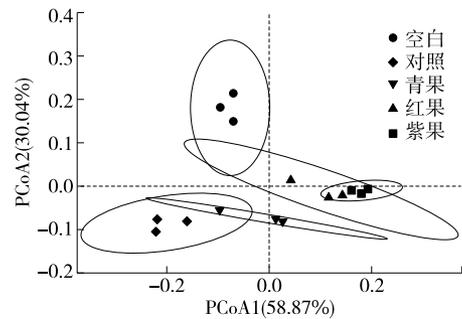


图4 PCoA分析

Figure 4 PCoA analysis

2.5 不同成熟度桑椹多糖对发酵过程中菌群组成的影响

肠道菌群在门水平上的分布情况如图5所示。结果表明,3种桑椹多糖均能够有效调节肠道菌群的组成。拟杆菌门(Bacteroidota)、厚壁菌门(Firmicutes)、梭杆菌门(Fusobacteriota)、变形菌门(Proteobacteria)和放线菌门(Actinobacterita)是丰度最高的几大细菌门,其中紫果多

表1 桑椹多糖发酵过程中多糖相对分子质量的变化

Table 1 Changes in the molecular weight of polysaccharides during the fermentation of mulberry polysaccharides

样品	0 h	3 h	6 h	12 h	24 h	48 h
青果	1.920×10^6	9.541×10^5	6.841×10^5	2.070×10^5	1.754×10^5	7.413×10^4
红果	1.015×10^6	4.823×10^5	6.060×10^5	1.527×10^5	6.576×10^4	2.201×10^4
紫果	3.806×10^5	2.583×10^5	1.872×10^5	8.507×10^4	5.353×10^4	9.157×10^3

糖对拟杆菌门的促进效果最好,而菊粉的最差。拟杆菌门以其降解多种复杂碳水化合物能力而闻名,其可通过分泌大量的 CAZymes 将多糖降解转化为小分子聚糖,并产生短链脂肪酸等代谢产物^[15]。厚壁菌门/拟杆菌门的比值从对照组的 0.84 降低至试验组的 0.31(青果多糖)、0.11(红果多糖)和 0.18(紫果多糖),并抑制了以病原菌为主的变形菌门的生长。厚壁菌门/拟杆菌门的比值与体内生态平衡有关,该比值越大通常与肥胖相关^[16],表明桑椹多糖可能在减肥降脂和抗菌方面具有一定的功能活性。

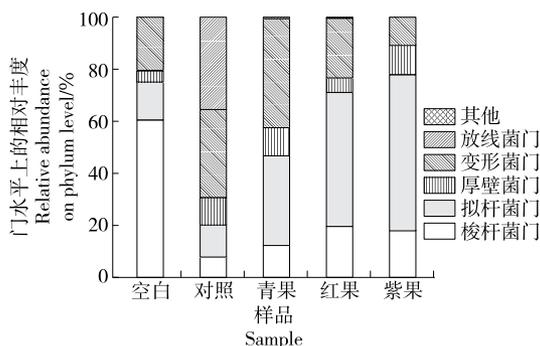


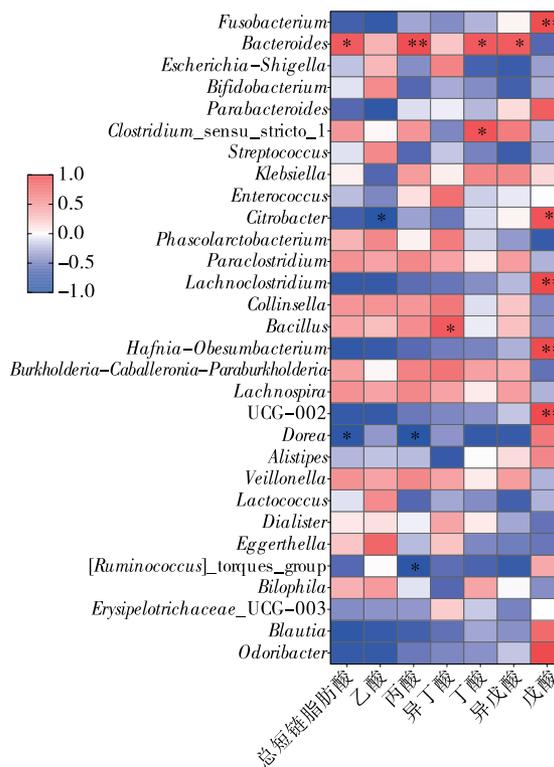
图 5 门水平上的肠道菌群组成差异

Figure 5 Differences in gut microbiota composition at the phylum level

2.6 肠道菌群与短链脂肪酸的相关性分析

经检测,肠道菌群中相对丰度最高的前 30 种菌属为:梭杆菌属 (*Fusobacterium*)、拟杆菌属 (*Bacteroides*)、埃希氏杆菌属 (*Escherichia-Shigella*)、双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*)、副拟杆菌属 (*Parabacteroides*)、狭窄梭菌属菌株 1 属 (*Clostridium_sensu_stricto_1*)、链球菌属 (*Streptococcus*)、克雷白氏杆菌属 (*Klebsiella*)、肠球菌属 (*Enterococcus*)、柠檬酸杆菌属 (*Citrobacter*)、考拉杆菌属 (*Phascolarctobacterium*)、副梭状芽孢杆菌属 (*Paraclostridium*)、*Lachnoclostridium*、柯林斯菌属 (*Collinsella*)、芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、哈夫尼菌属 (*Hafnia-Obesumbacterium*)、毛螺菌属 (*Lachnospira*)、UCG-002、多尔氏菌属 (*Dorea*)、另枝菌属 (*Alistipes*)、乳球菌属 (*Lactococcus*)、小类杆菌属 (*Dialister*)、爱格氏菌属 (*Eggerthella*)、瘤胃球菌属 (*[Ruminococcus]_torques_group*)、嗜胆菌属 (*Bilophila*)、*Erysipelotrichaceae_UCG-003*、布劳特氏菌属 (*Blautia*)、臭杆菌属 (*Odoribacter*) 以及其他菌属。对这 30 种菌属与短链脂肪酸含量进行了皮尔森 (Pearson) 相关性系数分析,结果如图 6 所示,在桑椹多糖干预下短链脂肪酸的主要生产者有拟杆菌属、双歧杆菌属、狭窄梭菌属菌株 1 属、考拉杆菌属、副梭状芽孢杆菌属 (*Paraclostridium*)、柯林斯菌属 (*Collinsella*) 等。拟杆

菌属丰度与总短链脂肪酸、丙酸、丁酸和异戊酸含量呈明显的正相关性^[17],而狭窄梭菌属菌株 1 属则表现出了与丁酸的明显正相关^[18]。相比于青果多糖组和红果多糖组,紫果多糖组的短链脂肪酸产量最高,这或许与紫果多糖中富集的拟杆菌属和狭窄梭菌属菌株 1 属有关。



*表示 $P < 0.05$; **表示 $P < 0.01$

图 6 肠道菌群与短链脂肪酸的相关性热图

Figure 6 Heat map of the correlation between gut microbiota and short chain fatty acids

3 结论

不同成熟度桑椹多糖选择性地促进拟杆菌属、副拟杆菌属和考拉杆菌属等有益菌的生长并抑制梭杆菌属等有害菌的生长,有较强益生特性。试验研究的 3 种多糖均能促进肠道短链脂肪酸的生成,其青果多糖以乙酸为主,紫果多糖则以丁酸等为多。总体上看完全成熟的紫果多糖体外益生活性效果较好。研究基于体外粪菌模型进行评价,其功能仍需进一步用动物或人体来进行验证与研究。桑椹中其他功能成分在其成熟过程中的改变导致的功能变化也值得进一步探索。

参考文献

[1] CUI J F, ZHAO C Y, FENG L P, et al. Pectins from fruits: relationships between extraction methods, structural

- characteristics, and functional properties[J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 110: 39-54.
- [2] 叶兴乾, 任艳明, 陈健乐, 等. 果蔬营养新功能: 益生元[J]. 中国食品学报, 2021, 21(6): 1-10.
YE X Q, REN Y M, CHEN J L, et al. The new nutritional function of fruit and vegetable: prebiotic[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(6): 1-10.
- [3] ZHANG D 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.
- [4] SONG Q Q, WANG Y K, HUANG L X, et al. Review of the relationships among polysaccharides, gut microbiota, and human health[J]. Food Research International, 2021, 140: 109858.
- [5] LI J J, PANG B, YAN X M, et al. Prebiotic properties of different polysaccharide fractions from *Artemisia sphaerocephala* Krasch seeds evaluated by simulated digestion and *in vitro* fermentation by human fecal microbiota[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 162: 414-424.
- [6] FAN Q Y, HU J L, NIE Q X, et al. Effects of polysaccharides on glycometabolism based on gut microbiota alteration[J]. Trends in Food Science & Technology, 2019, 92: 65-70.
- [7] WEN P, HU T G, LINHARDT R J, et al. Mulberry: a review of bioactive compounds and advanced processing technology[J]. Trends in Food Science & Technology, 2019, 83: 138-158.
- [8] CHOI J W, SYNYTSYA A, CAPEK P, et al. Structural analysis and anti-obesity effect of a pectic polysaccharide isolated from Korean mulberry fruit Oddi (*Morus alba* L.) [J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 146: 187-196.
- [9] 胡安恺, 陈健乐, 吴家雄, 等. 成熟度对桑椹果实多糖与酚类的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(6): 144-151.
HU A K, CHEN J L, WU J X, et al. Effects of ripeness on polysaccharides and phenols in *Morus alba* fruit[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(6): 144-151.
- [10] CHEN C, MOKHTAR R A M, SANI M S A, et al. The effect of maturity and extraction solvents on bioactive compounds and antioxidant activity of mulberry (*Morus alba*) fruits and leaves[J]. Molecules, 2022, 27(8): 2406.
- [11] YE K, FU C J, MA S, et al. Comprehensive assessment of *Hypsizygus marmoreus* polysaccharides through simulated digestion and gut microbiota fermentation *in vitro*[J]. Food Hydrocolloids, 2023, 144: 108989.
- [12] AHMADI S, WANG S H, NAGPAL R, et al. An *in vitro* batch-culture model to estimate the effects of interventional regimens on human fecal microbiota[J]. JOVE-Journal of Visualized Experiments, 2019, 149: e59524.
- [13] YANG Q Y, OUYANG J, SUN F J, et al. Short-chain fatty acids: a soldier fighting against inflammation and protecting from tumorigenesis in people with diabetes[J]. Frontiers in Immunology, 2020, 11: 590685.
- [14] TAN J, MCKENZIE C, POTAMITIS M, et al. The role of short-chain fatty acids in health and disease[J]. Advances in Immunology, 2014, 121: 91-119.
- [15] MCKEE L S, LA R S L, WESTERENG B, et al. Polysaccharide degradation by the *Bacteroidetes*: mechanisms and nomenclature[J]. Environmental Microbiology Reports, 2021, 13(5): 559-581.
- [16] KUSNADI Y, SALEH M I, ALI Z, et al. *Firmicutes/Bacteroidetes* ratio of gut microbiota and its relationships with clinical parameters of type 2 diabetes mellitus: a systematic review[J]. Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences, 2023, 11: 67-72.
- [17] CHENG J B, HU J L, GENG F, et al. *Bacteroides* utilization for dietary polysaccharides and their beneficial effects on gut health[J]. Food Science and Human Wellness, 2022, 11(5): 1101-1110.
- [18] LU N, CAI G J, PAN X F, et al. pH and hydraulic retention time regulation for anaerobic fermentation: focus on volatile fatty acids production/distribution, microbial community succession and interactive correlation[J]. Bioresource Technology, 2022, 347: 126310.