DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20250907001
引用格式: 李静, 张敏爱, 王海丽, 等. 淡豆豉体外胃肠模拟体系中围绝经期综合征患者肠道菌群与类黄酮的互作特征[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(3): 229–238.
LI J, ZHANG MAI, WANG HL, *et al*. Interaction characteristics between gut microbiota from patients with perimenopausal syndrome and flavonoids in the *in vitro* gastrointestinal simulation system of Dandouchi [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(3): 229–238. (in Chinese with English abstract).

淡豆豉体外胃肠模拟体系中围绝经期综合征患者肠道菌群与类黄酮的互作特征

李 静[1], 张敏爱[2], 王海丽[3], 胡会玲[4], 张希春[1*], 刘计权[1*]

(1. 山西中医药大学中药与食品工程学院, 晋中 030619; 2. 太原海关技术中心, 太原 030021; 3. 文水县中医院, 吕梁 032199; 4. 山西省长治市中医医院, 长治 046013)

摘 要: 目的 探究淡豆豉类黄酮成分与肠道微生物的交互机制。**方法** 本研究采用体外胃肠模拟试验, 结合 16S rDNA 测序技术分析菌群结构变化, 并利用高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法检测类黄酮代谢转化情况, 最后采用 Spearman 相关性分析二者间的关联性。**结果** 淡豆豉显著改善了肠道菌群结构, 使一些潜在的益生菌如拟杆菌属的相对丰度从 0.73%上升至 3.61%, 瘤胃梭菌属 9 从 0.20%增加至 0.94%; 同时, 致病菌埃希氏-志贺氏菌属的相对丰度从 17.59%降至 11.39%。在类黄酮代谢方面, 肠道微生物使糖苷型类黄酮(大豆苷、黄豆黄苷等)含量降低, 苷元型类黄酮(紫铆素、大豆苷元等)含量下降程度更为明显(P<0.05)。相关性分析发现, 拟杆菌属与大豆苷呈显著负相关, 副萨特菌属与柚皮素呈正相关(P<0.05)。**结论** 淡豆豉通过调节特定菌群(如拟杆菌属、副萨特菌属), 促进类黄酮的代谢转化, 从而增强其生物活性, 为开发基于淡豆豉的微生态调节剂提供理论依据。

关键词: 淡豆豉; 类黄酮; 肠道微生物; 16S rDNA 测序; 高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法

Interaction characteristics between gut microbiota from patients with perimenopausal syndrome and flavonoids in the *in vitro* gastrointestinal simulation system of Dandouchi

LI Jing[1], ZHANG Min-Ai[2], WANG Hai-Li[3], HU Hui-Ling[4], ZHANG Xi-Chun[1*], LIU Ji-Quan[1*]

(1. *School of Chinese Medicine and Food Engineering*, *Shanxi University of Chinese Medicine*, *Jinzhong* 030619, *China*; 2. *Taiyuan Customs Technology Center*, *Taiyuan* 030021, *China*; 3. *Wenshui County Hospital of Traditional Chinese Medicine*, *Lvliang* 032199, *China*; 4. *Changzhi Hospital of Traditional Chinese Medicine*, *Shanxi Province*, *Changzhi* 046013, *China*)

收稿日期: 2024-09-07
基金项目: 山西省基础研究计划项目(20210302123233); 校级博士科研启动基金项目(2022BK23); 山西中医药大学优秀博士毕业生来晋工作奖励经费科研启动基金项目(2020BKS01)
第一作者: 李静(1998—), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为中药资源开发与品质评价。E-mail: shanxipingyao147@163.com
***通信作者:** 张希春(1971—), 男, 博士, 教授, 主要研究方向为药食同源中药功能产品的研究。E-mail: zxcxpy@126.com
刘计权(1972—), 男, 博士, 教授, 主要研究方向为中药资源开发与利用的研究。E-mail: liujiquan2008@163.com

ABSTRACT: Objective To investigate the interaction mechanism between flavonoids in dietary Dandouchi and intestinal microbiota. **Methods** This study employed an *in vitro* whole-biome gastrointestinal simulation system, with 16S rDNA sequencing for microbiota profiling, and high performance liquid chromatography-tandem triple quadrupole mass spectrometry for flavonoid metabolic transformation analysis. Finally, Spearman correlation analysis was used to analyze the correlation between the two. **Results** Demonstrated that dietary Dandouchi significantly improved intestinal microbiota composition, increasing probiotic *Bacteroides* from 0.73% to 3.61% and *Ruminiclostridium*_9 from 0.20% to 0.94%, while reducing pathogenic *Escherichia-Shigella* from 17.59% to 11.39%. Regarding flavonoid metabolism, intestinal microbiota mediated an reduction in glycoside-type flavonoids (*e.g.*, daidzin, glycitin) and a more pronounced decrease in aglycone-type flavonoids (*e.g.*, butein, daidzein) (P<0.05). Correlation analysis revealed significant negative associations between *Bacteroides* and daidzin, and positive correlations between *Parasutterella* and naringenin (P<0.05). **Conclusion** Dietary Dandouchi modulates specific microbiota (*e.g.*, *Bacteroides*, *Parasutterella*) to enhance flavonoid biotransformation, thereby improving bioactivity, providing a theoretical foundation for developing dietary Dandouchi-based microecological regulators.

KEY WORDS: dietary Dandouchi; flavonoids; intestinal microbiota; 16S rDNA sequencing; high performance liquid chromatography-tandem triple quadrupole mass spectrometry

0 引 言

围绝经期综合征(perimenopausal syndrome, PMS)是女性常见病和多发病, 临床表现常见潮热盗汗、耳鸣失眠、情绪不稳定和眩晕等, 严重影响患者生活质量[1]。随着“药食同源”理念的普及, 药食两用资源的开发成为缓解 PMS 的重要研究方向。淡豆豉作为典型代表, 是大豆经青蒿、桑叶发酵炮制而成的传统中药, 食药兼具, 有解表散热、除烦安神之效, 可以用于轻度感冒、胸闷、失眠及抗骨质疏松、减缓妇女更年期综合征等作用[2−4]。2002 年, 淡豆豉被中华人民共和国国家卫生健康委员会列入《按照传统即是食品又是中药材的物质目录》后, 使其在日常饮食中的应用更加广泛, 为通过药膳食疗干预 PMS 提供了可行路径。淡豆豉缓解围绝经期症状的作用机制, 可能基于淡豆豉与肠道菌群的相互调节作用。

首先, 淡豆豉的健康效应发挥, 其核心机制在于对肠道微生态的显著调控作用[5]。具体而言, 这种传统发酵制品可通过调节肠道微生物群中与神经递质代谢相关的菌群组成, 进而改善抑郁症状[6]。值得关注的是, 以黑豆为原料经发酵工艺制备的淡豆豉, 其在慢性不可预知性温和应激大鼠模型的实验中得到验证, 通过靶向调节肠道菌群平衡, 有效缓解了大鼠的抑郁样行为表现[7]。

其次, 类黄酮作为淡豆豉的重要活性成分, 广泛存在于大豆、绿茶、葡萄籽等植物中[8], 对肠道微生物群落结构具有调节作用。研究表明, 富含类黄酮的物质可改变肠道微生物的多样性及组成[9]; 类黄酮中的异黄酮能够调节特定菌群, 如双歧杆菌、瘤胃球菌的相对丰度[10]。由此推测, 淡豆豉中的类黄酮成分很可能是其调控肠道菌群结构的关键因素之一。

淡豆豉健康效应的发挥不仅依赖于其多种活性成分对肠道菌群的显著调控, 同时也离不开肠道菌群对其活性成分的代谢转化。体外胃肠实验表明, 肠道微生物将低活性糖苷型类黄酮转化成高活性苷元型类黄酮, 从而提高其生物利用度[11−12]。另外, 淡豆豉中的黄酮类成分还可经人体代谢转化为具有类雌激素活性的物质, 通过与体内雌激素受体结合, 调节激素代谢平衡, 从而缓解 PMS 症状[13−14]。由此可见, 肠道微生物对类黄酮的代谢转化是其生物活性增强的关键环节。

肠道微生物与淡豆豉类黄酮成分之间显著的相互作用对淡豆豉生物活性的发挥至关重要, 然而, 对在这种双向交互作用中发挥具体作用的肠道微生物菌属和特定的类黄酮成分还了解甚少。本研究利用包含肠道菌群生物过程的体外胃肠模拟系统, 利用 16S rDNA 测序技术分析投入淡豆豉食物对肠道微生物的结构影响, 利用高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法(high performance liquid chromatography-tandem triple quadrupole mass spectrometry, HPLC-QQQ-MS)分析类黄酮化合物在肠道微生物中的代谢转化情况, 并分析二者的关联性, 有望从肠道微生物菌群结构和黄酮类物质的胃肠道代谢两个方面, 探究淡豆豉食物与肠道微生物之间交互作用的机制, 为进一步探究淡豆豉通过肠道菌群结构与自身活性成分的双向交互作用缓解 PMS 的分子机制提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

淡豆豉(北京同仁堂, 批号 20200630)。

甲酸(色谱纯, 美国 Honeywell 公司); 甲醇、乙腈、异丙醇(色谱纯, 美国 Fisher 公司); DNA 提取试剂盒、QIAamp 96 PowerFecal QIAcube HT kit(德国 QIAGEN 公司); Ex Taq

高保真酶(5 U/μL, 日本 Takara 公司); Qubit DNA 检测试剂盒(美国 Life Technologies 公司); 盐酸(分析纯, 天津市津南区盐水沽工业园区); 磷酸二氢钾(分析纯, 天津科密欧化学试剂有限公司); 氢氧化钠(分析纯, 天津光复科技发展有限公司); 正丁醇(分析纯, 天津市致远化学试剂有限公司); 胰酶(美国 Hyclone 公司)。

1.2 仪　器

GWS-2 型厌氧培养箱(上海容威仪器设备有限公司); SHA-AB 双功能水浴恒温摇床(常州市金坛区指前镇旭日实验仪器厂); 5430R 低温高速离心机(德国 Eppendorf 公司); BEH C_{18} 色谱柱(2.1 mm×150 mm, 1.7 μm)、ACQUITYUPLCI-Class 型超高效液相色谱仪(美国 Waters 公司); SCIEX 5500Q TRAP 质谱仪(美国 AB 公司); Illumina Miseq 高通量测序仪(美国 Illumina 公司); CNWBOND Florisil 固相萃取柱(500 mg/6 mL, 上海安谱科学仪器有限公司); LQ-C21001 型电子天平(精度 0.1 g, 上海瑶新电子科技有限公司)。

1.3 方　法

1.3.1　体外胃肠模拟体系添加物的制备

将 50 g 淡豆豉在 500 mL 纯化水中浸泡 30 min, 煮沸 2 h, 过滤, 药渣粉碎成粗粉, 汤液浓缩至 50 mL 与粗粉药渣均匀混合, 干燥即成。

1.3.2　微生物菌悬液的制备

本研究采用以下纳入标准筛选采样对象: (1)年龄 45~50 岁、饮食生活习惯符合东方人膳食结构特点(以山西地区典型膳食模式为参照)的女性; (2)无明确围绝经期综合征临床表现(如潮热、失眠、情绪波动等症状未达到临床诊断标准); (3)家族史中母亲围绝经期综合征反应平和(无严重潮热、骨质疏松等典型症状); (4)近半年内无特殊饮食嗜好(如长期素食、生酮饮食等), 且未使用抗生素、抗病毒及抗真菌药物; (5)自愿参与研究并提供粪便样本, 签署书面知情同意书。经上述标准严格筛选后, 最终纳入 5 例符合条件的受试者。参照 GB/T 41908—2022《人类粪便样本采集与处理》, 采用无菌采样管收集每位受试者的新鲜粪便样本(采集时间控制在排便后 2 h 内), 每份样本量约 5 g。所有样本于 4 ℃条件下密封保存并立即运送至实验室, 将 5 份粪样分别与 10 mL 消毒的生理盐水混合生成粪浆, 3500 r/min 离心 10 min。然后将上清液转移到试管中, 将 5 份样本等比例混合, 在–80 ℃下保存。

1.3.3　淡豆豉食物的体外胃肠模拟体系构建

体外胃肠模拟体系是课题组前期建立的一种人体胃肠道仿生系统, 现用于淡豆豉体外胃肠模拟研究[15]。在厌氧培养箱中, 向 50 mL 离心管中加入 20 mL 人工胃液、1.8 g 方法 1.3.1 项下得到的淡豆豉食物样品混匀, 盐酸(0.1 mol/L)溶液调 pH 至 1.5, 立即封口转移至恒温摇床, 于 37 ℃, 60 r/min 孵育 4 h。胃消化完成后, 将离心管转移至厌氧培养箱中, 加入 7 mL 人工肠液(人工肠液制备方法: 取磷酸二氢钾 6.8 g, 加水 500 mL 使溶解, 用 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 至 6.8; 另取胰酶 10 g, 加水适量使溶解, 将两液混合后, 加水稀释至 1000 mL, 即得)和 10 mL 吉阜厌氧培养基(Gifu anaerobic medium, GAM), 氢氧化钠(0.1 mol/L)调 pH 至 7.5, 立即封口转移至恒温摇床于 37 ℃, 60 r/min 孵育 12 h, 完成肠消化。

1.3.4　实验设计分组与样品处理

为了考察淡豆豉食物对肠道微生物的影响, 设含淡豆豉(SMS)和不含淡豆豉的体外胃肠模拟(SM)两组实验, 每组 3 个重复。体外胃肠模拟完成后, 分别取样品 2 mL, 置于–80 ℃冰箱中保存, 待微生物组学分析。

为了考察投入淡豆豉食物后肠道微生物对类黄酮含量变化的影响, 在淡豆豉进入肠模拟环境时分别添加 10 %微生物菌悬液 1 mL 和生理盐水 1 mL, 即设立含微生物和不含微生物的淡豆豉体外胃肠模拟两组实验, 每组 3 个重复。体外胃肠模拟完成后, 分别取样品 2 mL, 立即用饱和正丁醇停止反应[16], 置于–80 ℃冰箱保存, 待 HPLC-QQQ-MS 分析。

1.3.5　微生物组学分析

取保存的微生物组样品, 8000 r/min 离心 5 min, 将上清液进一步 12000 r/min 离心 10 min, 沉淀用于微生物 DNA 提取。16S rDNA 测序程序由上海欧易生物技术仪器有限公司进行。经过数据预处理后, 使用 RDP classifier、PyNAST 和 FastTree 这 3 个核糖体数据库工具, 对操作分类单元(operational taxonomic units, OTUs)的代表序列进行了分类和等级划分。针对每个样本的 OTU, 进行了多样性和物种组成差异的分析, 多样性进行 Kruskal-Wallis 秩和检验比较。

1.3.6　HPLC-QQQ-MS 分析

取饱和正丁醇停止反应的体外胃肠模拟产物 100 μL, 取提取液 0.9 mL(甲醇:水=7:3, *V*:*V*), 涡旋混匀后, 8000 r/min 离心 10 min, 收集上清液并将其通过预活化的 CNWBOND Florisil 固相萃取柱(5 mL 甲醇、5 mL 水进行预活化)。取 5 mL 水淋洗柱体, 并以 25 MPa 压力抽干 5 min。用 6 mL 甲醇洗脱柱体, 再以 40 ℃氮气吹干残留物, 溶解于 1 mL 70%甲醇溶液中, 经过 0.22 μm 滤膜过滤, 取样 2 μL 进样, 使用 HPLC-QQQ-MS 进行分析。

高效液相色谱的条件为: BEH C_{18} 色谱柱(2.1 mm×150 mm, 1.7 μm), 流动相 A 为 0.1%甲酸水溶液, B 为乙腈; 梯度洗脱条件如下: 0~3.0 min (5%~20% B); 3.0~4.3 min (20% B); 4.3~9.0 min (20%~45% B); 9.0~11.0 min (45%~98% B); 11.0~13.0 min (98% B); 13.0~13.1 min (98%~5% B); 13.1~15.0 min (5% B)。流速设为 400 μL/min, 柱温设为 30 ℃, 进样量为 2 μL。

质谱条件为: 电喷雾(electrospray ionization, ESI)离子源, 采用正负离子分别扫描, 离子源温度为 550 ℃, 雾化气体流量为 55 L/min, 辅助气体流量为 50 L/min, 喷雾电压设置为±5500 V(正负模式)。

通过质谱的一级和二级谱, 结合代谢物数据库做定

性分析。使用三重四级杆的质谱多反应监测(multi-reaction monitoring, MRM)模式对质谱分析数据做相对定量分析，筛选目标物质母离子，将形成的碎片离子用三重四级杆过滤出特征碎片离子，获得不同样本的代谢物质谱峰，将同一代谢物存在于不同样本中的质谱峰做峰面积积分校正[17]。

1.3.7 Spearman 相关性分析

将肠道微生物菌属的相对丰度与类黄酮含量导入 Origin 2021 软件中进行 Spearman 相关性分析，并将分析结果绘制成热图。根据相关系数|*r*|的大小将相关对划分无相关、弱相关和显著相关，*P*<0.05 为显著相关，用*表示。

1.4 数据处理

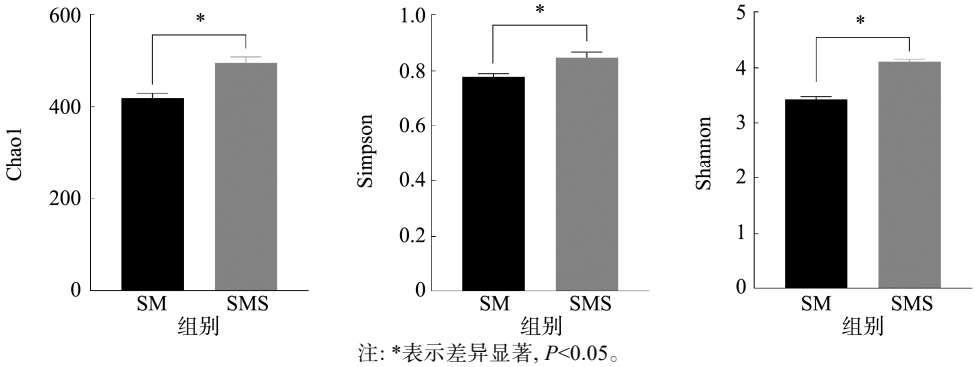
运用 SPSS 23.0 进行数据统计分析。符合正态性和方差齐者采用独立样本 *T* 检验分析数据显著性，*P*<0.05 为差异显著，用*表示。采用 GraphPad Prism 10.4.1 和 Origin 2021 软件对实验数据进行绘图。

2 结果与分析

2.1 淡豆豉食物对肠道微生物的影响

Chao1 是计算微生物群落丰度的指数，指数越大，OTU 数目越多; Simpson、Shannon 则用于评价物种多样性，3 种方法共同表征肠道微生物的 α 多样性。结果表明，在投入淡豆豉食物后，肠道微生物群落的丰富度、多样性均显著提高(*P*<0.05)，见图 1。提示淡豆豉中的某些成分可作为“益生元”，通过提供营养底物或改善微环境促进微生物群落的丰富度与多样性，有研究发现大豆发酵制品如纳豆、味噌等通过生成多糖、寡糖等成分促进肠道菌群增殖[18–19]。

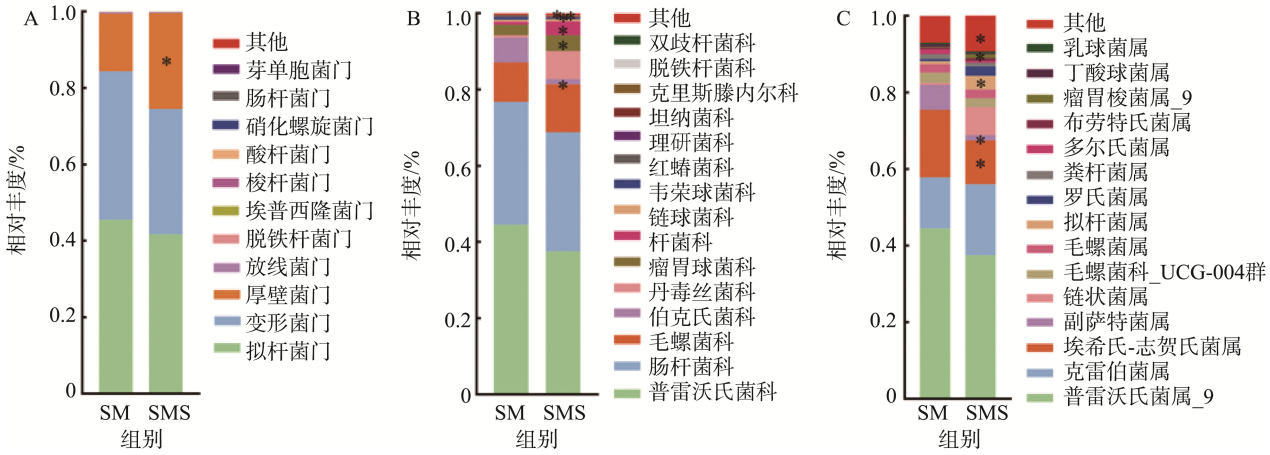
在门水平上，淡豆豉食物显著改变了肠道菌群结构，其中厚壁菌门(Firmicutes)的相对丰度显著增加(*P*<0.05)。在科水平上，淡豆豉食物使瘤胃球菌科(Ruminococcaceae)、拟杆菌科(Bacteroidaceae)、理研菌科(Rikenellaceae)和克里斯滕内尔科(Christensenellaceae)的相对丰度均显著增加，而使伯克氏菌科(Burkholderiaceae)的相对丰度均下降(*P*<0.05)。在属水平上，投入淡豆豉食物后拟杆菌属(*Bacteroides*)、瘤胃梭菌属 9 (*Ruminiclostridium*_9)的相对丰度显著升高，分别由 0.73%升高至 3.61%，0.20%升高至 0.94% (*P*<0.05)。而埃希氏-志贺氏菌属(*Escherichia-Shigella*)、副萨特菌属(*Parasutterella*)菌属的相对丰度均有下降，分别由 17.59%下降至 11.39%，0.65%显著下降至 0.14% (*P*<0.05)，见图 2。



注: *表示差异显著, *P*<0.05。

图 1 投入淡豆豉食物后胃肠模拟体系中肠道微生物 α 多样性(*n*=3)

Fig.1 α-diversity of gut microbiota in the gastrointestinal simulation system after supplementation with dietary Dandouchi (*n*=3)



注: *表示投入淡豆豉食物前后胃肠模拟体系中肠道微生物相对丰度的差异显著, *P*<0.05。

图 2 投入淡豆豉食物后胃肠模拟体系中肠道微生物在门(A)、科(B)、属(C)水平上的变化

Fig.2 Changes in gut microbiota composition at the phylum (A), family (B), and genus (C) in the gastrointestinal simulation system after supplementation with dietary Dandouchi

综上可见, 淡豆豉食物对肠道微生物菌群结构有显著改善作用, 拟杆菌属、瘤胃梭菌属 9 等菌属的相对丰度增加, 提示其潜在的益生作用。SUN 等[20]发现黑米与黑豆壳花青素提取物通过增加产短链脂肪酸(short chain fatty acid, SCFA)细菌如拟杆菌属的丰度, 进而改变肠道微生物群结构。XIAO 等[21]发现黄芩和黄连协同可以升高产 SCFAs 菌属如瘤胃梭菌属 9 的丰度, 进而通过改善肠道菌群结构发挥其治疗 2 型糖尿病的作用。本研究还发现埃希氏-志贺氏菌的相对丰度显著降低, 提示淡豆豉降低该有害菌的积极作用。埃希氏-志贺氏菌属与绝经后女性骨健康密切相关, LIANG 等[22]发现, 该致病菌在绝经后骨量减少或骨质疏松症患者肠道中显著富集, 而杨浩等[23]进一步证实, 降低该菌丰度可减轻肠道氧化应激和炎症反应, 增强黏膜免疫屏障功能, 从而改善肠道健康。

2.2　投入淡豆豉食物后肠道微生物对模拟体系中类黄酮含量的影响

大豆苷、黄豆黄苷、染料木苷等类黄酮是淡豆豉发挥生物学功效的主要物质基础, 也是其核心的质量标准标志成分[24]。在本研究中, 经 HPLC-QQQ-MS 法检测到 18 种类黄酮成分, 包括大豆苷、黄豆黄苷、染料木苷、大豆苷元、黄豆素、染料木素、芒柄花黄素、葛根素和鹰嘴豆芽素 A 等 6 种异黄酮, 紫铆素、甘草素、柚皮素、白杨素等 4 种二氢黄酮, 牡荆素和芹菜素 2 种黄酮, 槲皮素和山柰酚 2 种黄酮醇, 异甘草素为查尔酮, 见表 1。

表 1　投入淡豆豉食物后肠道微生物模拟体系中的类黄酮成分

Table 1　Flavonoid components in the gut microbiota simulation system after supplementation with dietary Dandouchi

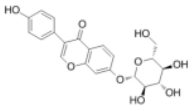
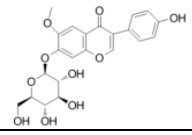
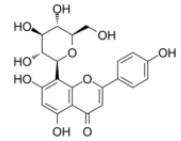
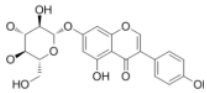
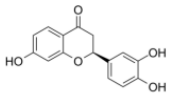
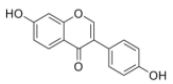
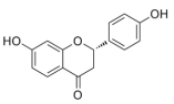
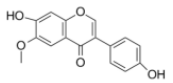
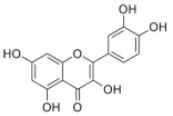
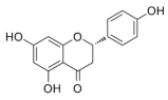
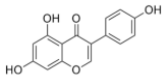
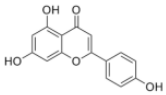
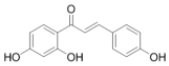
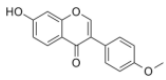
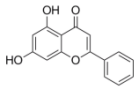
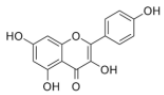
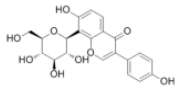
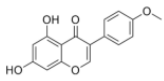
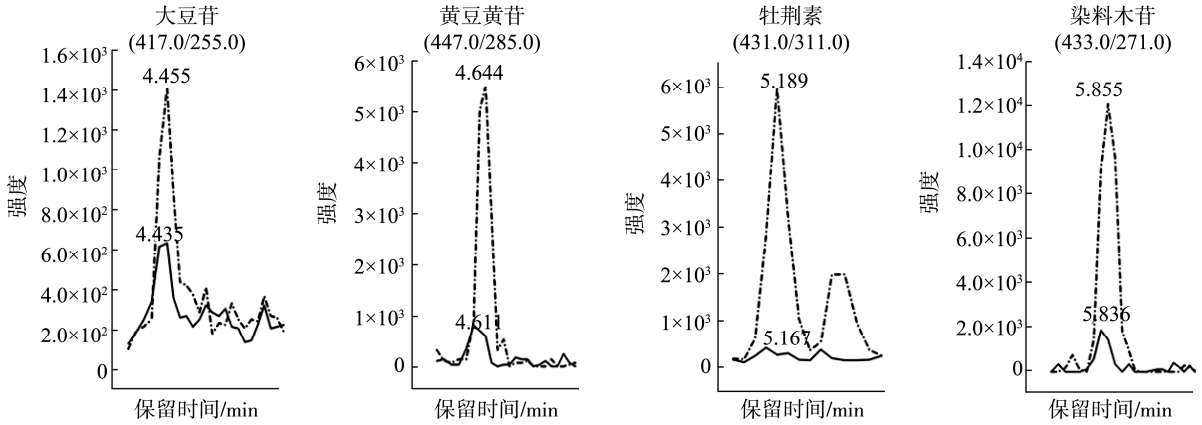
物质	质荷比(*m*/*z*)	保留时间/min	类别	结构式
大豆苷	417.0/255.0	4.45	异黄酮	
黄豆黄苷	447.0/285.0	4.63	异黄酮	
牡荆素	431.0/311.0	5.18	黄酮	
染料木苷	433.0/271.0	5.85	异黄酮	
紫铆素	271.0/135.0	6.75	二氢黄酮	
大豆苷元	255.0/199.0	7.68	异黄酮	
甘草素	255.0/135.0	7.80	二氢黄酮	
黄豆素	283.0/268.0	7.99	异黄酮	
槲皮素	303.0/153.0	8.10	黄酮醇	

表 1(续)

物质	质荷比(*m*/*z*)	保留时间/min	类别	结构式
柚皮素	271.0/151.0	8.86	二氢黄酮	
染料木素	271.0/153.0	8.96	异黄酮	
芹菜素	269.0/117.0	8.98	黄酮	
异甘草素	255.0/119.0	9.77	查尔酮	
芒柄花黄素	267.0/223.0	10.01	异黄酮	
白杨素	253.0/143.0	10.59	二氢黄酮	
山柰酚	299.0/284.0	10.70	黄酮醇	
葛根素	285.0/242.0	10.72	异黄酮	
鹰嘴豆芽素 A	283.0/268.0	10.73	异黄酮	

进一步对类黄酮成分的代谢转化研究表明，肠道微生物可促进淡豆豉中类黄酮糖苷的生物转化，摄入淡豆豉后，模拟体系中大豆苷、黄豆黄苷、牡荆素和染料木苷这 4 种类黄酮糖苷含量显著降低(P<0.05)，见图 3。异黄酮类成分生物体肠道中被肠道细菌 β-葡萄糖苷酶水解，生成有适当生物活性的苷元(如染料木素和大豆苷元)，进一步代谢为相对稳定的雌马酚并由胃肠黏膜吸收[25]。多项研究证实，特定微生物可通过水解、环裂变、去甲基化和去羟基化等反应，将低活性的糖苷型类黄酮转化为高活性的苷元形式，表明肠道菌群在类黄酮代谢中具有重要作用[26–27]。



注: ()中为该化合物所对应的质荷比，特征峰旁标注其保留时间。图 4 同。

图 3 胃肠模拟体系中糖苷型类黄酮的含量

Fig.3 Content of flavonoid glycosides in the gastrointestinal simulation system

肠道微生物不仅能将类黄酮糖苷转化为苷元, 还能进一步代谢苷元, 摄入淡豆豉后, 模拟体系中 12 种苷元型类黄酮紫铆素、大豆苷元、甘草素、黄豆素、槲皮素、柚皮素、染料木素、芹菜素、异甘草素、白杨素、山柰酚和葛根素的含量显著降低(P<0.05), 其降幅甚至超过糖苷型类黄酮, 见图 4。这表明微生物对苷元的代谢能力可能强于糖苷转化能力, 或与模拟体系中缺乏关键底物有关[28]。具体而言, KERANMU 等[29]发现, 甘草素可被肠道菌群进一步代谢为根皮酸、间苯二酚等小分子化合物。此外, 双歧杆菌可促进大豆苷元的释放和吸收, 而其他肠道微生物能将其转化为具有潜在健康调节作用的 S-雌马酚[30]。这些结果共同表明, 肠道微生物在类黄酮代谢中具有多层次的转化作用。

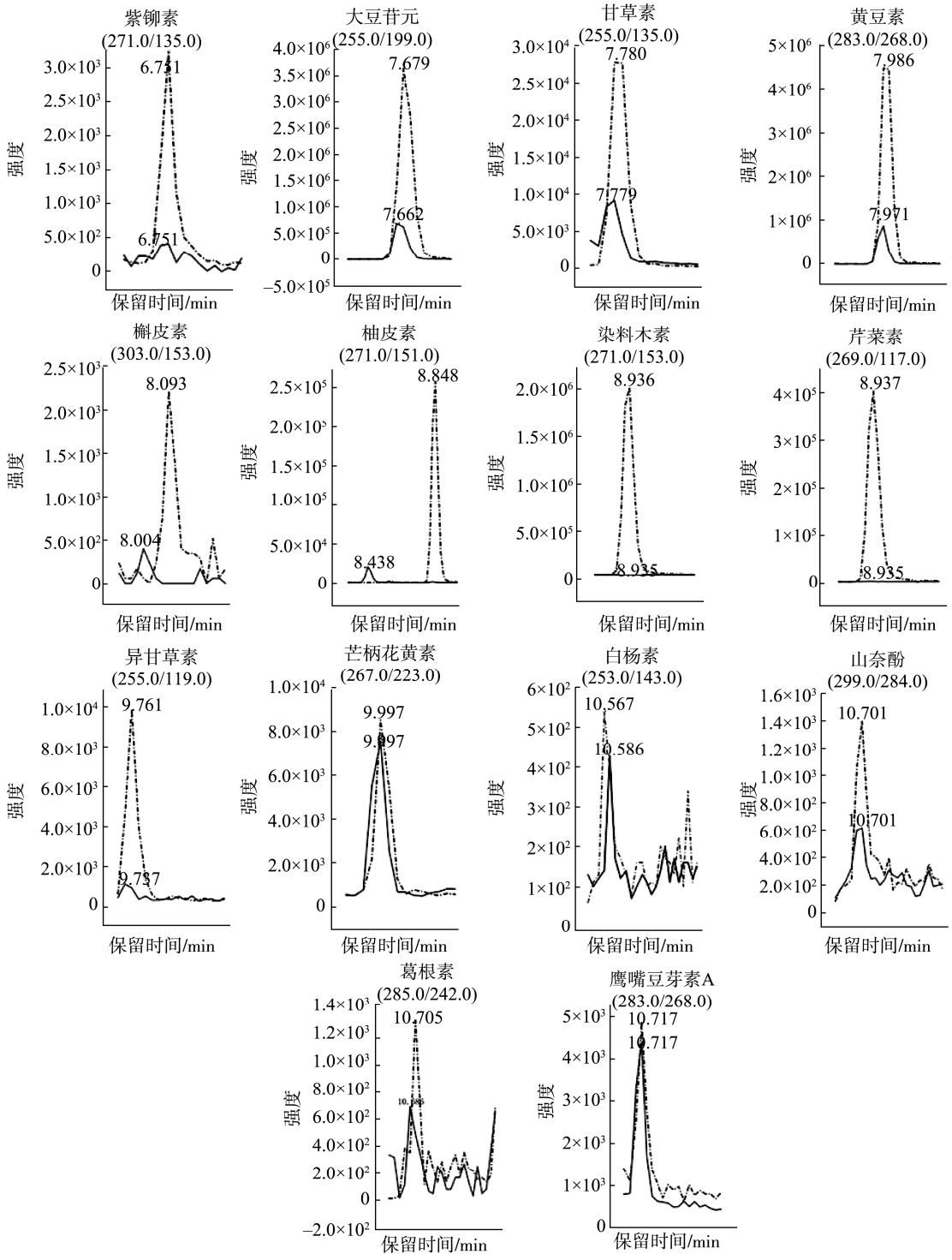


图 4　胃肠模拟体系中苷元型类黄酮的含量

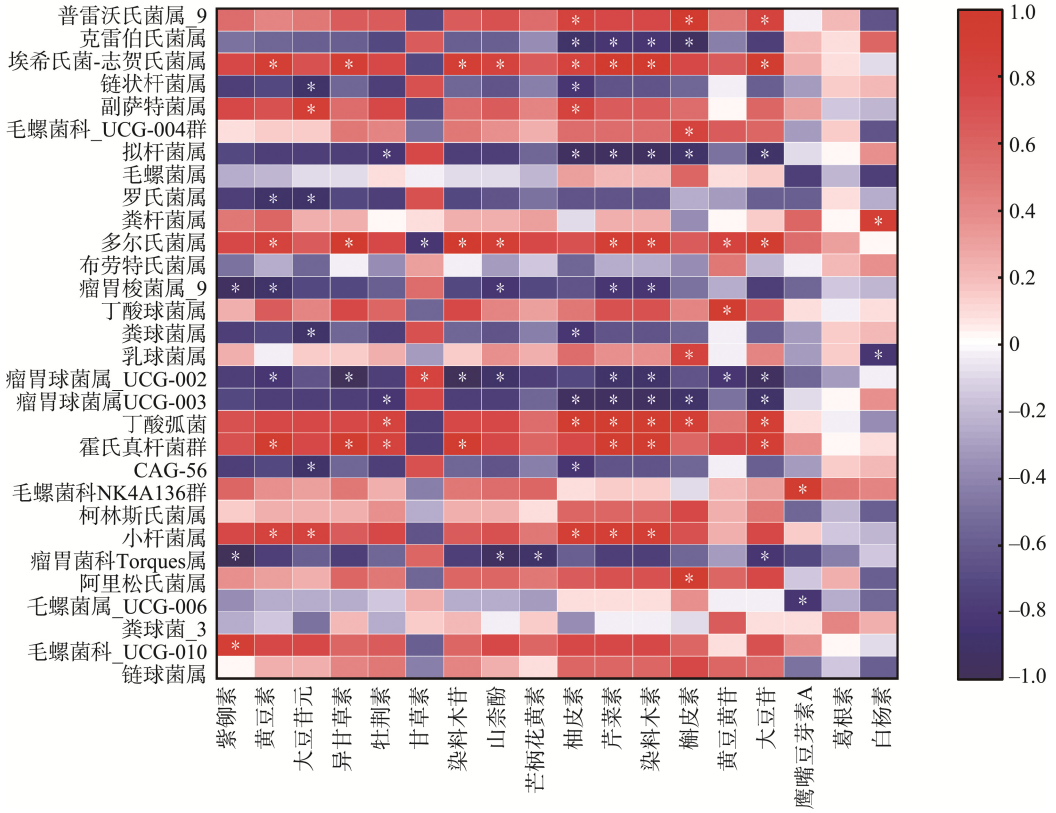
Fig.4　Content of flavonoid aglycones in the gastrointestinal simulation system

2.3 投入淡豆豉食物后肠道微生物丰度与类黄酮含量变化的相关性

采用 Spearman 法，从属水平分析肠道微生物与 18 个类黄酮含量变化的相关性。在糖苷型类黄酮中，牡荆素与拟杆菌属、瘤胃菌属均呈显著负相关，与丁酸弧菌(*Anaerostipes*)、霍氏真杆菌群([*Eubacterium*]_*hallii*_*group*)呈显著正相关；染料木苷、黄豆黄苷和大豆苷均与瘤胃球菌属_UCG-002 (*Ruminococcaceae*_UCG-002)呈显著负相关，黄豆黄苷与多尔氏菌属(*Dorea*)、丁酸球菌属(*Butyricicoccus*)呈显著正相关，染料木苷与埃希氏菌-志贺氏菌属(*Escherichia-Shigella*)、多尔氏菌属、霍氏真杆菌群呈显著正相关(P<0.05)。

在苷元型类黄酮中，芹菜素、染料木素、柚皮素和槲皮素均与克雷伯氏菌属(*Klebsiella*)呈显著负相关，同时这些活性成分及大豆苷、牡荆素也分别均与拟杆菌属、瘤胃球菌属UCG-003 (*Ruminococcaceae*_*UCG-003*)呈显著负相关；染料木素、芹菜素、柚皮素分别均与埃希氏菌-志贺氏菌属、多尔氏菌属、小杆菌属(*Dialister*)呈显著正相关；槲皮素与普雷沃氏菌属_9 (*Prevotella*_9)、丁酸弧菌、毛螺菌科_UCG-004 (*Lachnospiraceae*_*UCG*-004)、乳球菌属(*Lactococcus*)、阿里松氏菌属(*Allisonella*)均呈显著正相关；大豆苷元与链状杆菌属(*Catenibacterium*)、粪球菌属(*Coprococcus*_1)、罗氏菌属(*Roseburia*)、*CAG-56* 均呈显著负相关，大豆苷元与副萨特氏菌属、小杆菌属呈显著正相关；甘草素与多尔氏菌属呈显著负相关，与瘤胃球菌属呈显著正相关(P<0.05)，见图 5。

本研究通过 Spearman 法揭示了肠道微生物与类黄酮含量的显著关联。结果发现，大豆苷和牡荆素多与拟杆菌呈负相关(P<0.05)。有研究发现，拟杆菌能够产生 *β*-葡萄糖苷酶，将大豆苷和牡荆素等糖苷类黄酮分解，其丰度升高可能直接促进了这类糖苷的降解，从而导致二者呈负相关[31]。而柚皮素和大豆苷元均与副萨特氏菌属呈正相关的结论也在武艳芳[32]的研究中得到证实，给予脂多糖(lipopolysaccharide，LPS)诱导的急性肺损伤大鼠(acute lung injury，ALI)大鼠金银花和山银花治疗后，大鼠肠道菌群结构和比例发生显著变化，副萨特氏菌属细菌丰度显著增加。陈添晔等[33]发现 2.5%发酵豆粕提高了盲肠食糜有益菌普雷沃氏菌属_9 的相对丰度。这些发现共同印证了特定类黄酮成分与副萨特氏菌属、普雷沃氏菌属_9 等菌群的正相关性，提示肠道菌群可能在类黄酮代谢中发挥关键调控作用。



注：红色代表正相关，蓝色代表负相关，红色或蓝色越深，相关性越显著，*表示 P<0.05。

图 5 投入淡豆豉食物后肠道微生物丰度与类黄酮含量变化的相关性

Fig.5 Correlation between gut microbial abundance and flavonoid content after dietary Dandouchi supplementation

3　讨论与结论

本研究采用体外胃肠模拟系统, 深入探讨了 PMS 肠道菌群与肠道中类黄酮物质的交互作用, 为揭示淡豆豉缓解 PMS 的机制提供了科学依据。研究结果表明, 淡豆豉能明显改善肠道微生态环境, 显著提高微生物群落的丰度和结构, 促进潜在益生菌如罗氏菌属和瘤胃球菌科的增殖, 同时抑制致病菌埃希氏-志贺氏菌属等的生长。淡豆豉类黄酮成分在肠道微生物的作用下发生显著代谢转化, 糖苷型类黄酮含量明显下降, 提示微生物可能通过 *β*-葡萄糖苷酶等将低活性糖苷转化为高活性苷元; 而苷元型类黄酮含量也显著降低, 表明微生物对苷元型类黄酮也有较强的代谢能力。Spearman 相关性分析进一步揭示了特定肠道微生物与类黄酮代谢的关联, 如牡荆素与拟杆菌属、瘤胃菌属均呈负相关, 与丁酸弧菌、霍氏真杆菌群呈正相关。这些发现表明, 淡豆豉可能通过调节肠道菌群结构, 促进类黄酮成分的代谢转化, 从而增强其生物活性。本研究不仅为阐明淡豆豉通过肠道菌群-类黄酮交互作用缓解 PMS 的分子机制提供了实验依据, 也为淡豆豉之后作为功能性食品在 PMS 防治中的应用奠定了科学基础。未来可进一步开展体内实验验证, 并探索特定菌株与类黄酮代谢的因果关系, 为淡豆豉产品的开发提供新思路。

参考文献

[1] 胡倩, 段培蓓, 龚秀琴, 等. 门诊围绝经期综合征患者健康状况调查[J]. 中国妇产科临床杂志, 2017, 18(1): 61–62.
HU Q, DUAN PB, GONG XQ, *et al*. Health status survey of perimenopausal syndrome patients in outpatient clinics [J]. Chinese Journal of Clinical Obstetrics and Gynecology, 2017, 18(1): 61–62.

[2] KISHIDA T, MIZUSHIGE T. Lowering effect of an isoflavone-rich fermented soybean extract on the serum cholesterol concentrations in female rats, with or without ovariectomy, but not in male rats [J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2006, 70(7): 1547–1556.

[3] 王伟明, 董坤, 霍金海, 等. 发酵中药淡豆豉概述及新型食用豆豉应用研究[J]. 中国现代中药, 2022, 24(11): 2073–2080.
WANG WM, DONG K, HUO JH, *et al*. *Sojae semen praeparatum* and new types of fermented soybean: A review [J]. Modern Chinese Medicine, 2022, 24(11): 2073–2080.

[4] LIU Y, ZHANG ZC, ZHAO YM, *et al*. Zhizichi decoction alleviates depressive-like behaviors through modulating mitochondria-associated membrane via the IP3R3-GRP75-VDAC1 complex [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2025, 346: 119628.

[5] 张琳, 付予劼, 白莹, 等. 基于正常大鼠肠道微生物差异探讨不同药性淡豆豉药食两用的生物效应[J]. 中国现代中药, 2024, 26(10): 1701–1709.
ZHANG L, FU YJ, BAI Y, *et al*. Biological effects of different medicinal properties of *sojae Semen praeparatum* with medicinal and food attributes based on the differences in gut microorganisms in mormal rats [J]. Modern Chinese Medicine, 2024, 26(10): 1701–1709.

[6] 刘爽, 齐英, 翁浪仁, 等. 淡豆豉化学成分及抗抑郁作用研究进展 [J]. 广东药科大学学报, 2023, 39(5): 120–125.
LIU S, QI Y, WENG LR, *et al*. Research progress on the chemical constituents and antidepressant effects of *Sojae Semen praeparatum* [J]. Journal of Guangdong Pharmaceutical University, 2023, 39(5): 120–125.

[7] CHEN YL, XIAO N, CHEN YX, *et al*. *Semen Sojae praeparatum* alters depression-like behaviors in chronic unpredictable mild stress rats via intestinal microbiota [J]. Food research international (Ottawa, Ont), 2021, 150(Pt B): 110808.

[8] SHEN N, WANG TF, GAN Q, *et al*. Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity [J]. Food chemistry, 2022, 383: 132531.

[9] CHAROENSIDD S, CHANPUT WP, SAE-TAN S. Gut microbiota modulation, anti-diabetic and anti-inflammatory properties of polyphenol extract from mung bean seed coat (*Vigna radiata* L.) [J]. Nutrients, 2022, 14(11): 2275.

[10] CHEN P, SUN JW, LIANG ZQ, *et al*. The bioavailability of soy isoflavones *in vitro* and their effects on gut microbiota in the simulator of the human intestinal microbial ecosystem [J]. Food Research International (Ottawa, Ont), 2022, 152: 110868.

[11] ULLUWISHEWA D, MONTOYA CA, MACE L, *et al*. Biotransformation of rutin in *in vitro* porcine ileal and colonic fermentation models [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023, 71(33): 12487–12496.

[12] AMARETTI A, RAIMONDI S, LEONARDI A, *et al*. Hydrolysis of the rutinose-conjugates flavonoids rutin and hesperidin by the gut microbiota and *Bifidobacteria* [J]. Nutrients, 2015, 7(4): 2788–2800.

[13] ROMANI AMP. The controversy on the beneficial effect of phytoestrogens in diabetic treatment in postmenopausal women [J]. Biochemical Pharmacology, 2021, 190: 114619.

[14] PATRA S, GORAI S, PAL S, *et al*. A review on phytoestrogens: Current status and future direction [J]. Phytotherapy Research, 2023, 37(7): 3097–3120.

[15] GAYOSO L, CLAERBOUT AS, CALVO MI, *et al*. Bioaccessibility of rutin, caffeic acid and rosmarinic acid: Influence of the *in vitro* gastrointestinal digestion models [J]. Journal of Functional Foods, 2016, 26: 428–438.

[16] 张绍山, 杨云舒, 吕承承, 等. 同源建模和分子对接揭示甜菊糖苷糖基化关键酶 SrUGT76G1 的构效关系[J]. 中草药, 2021, 52(24): 7606–7615.
ZHANG SS, YANG YS, LV CC, *et al*. Characterizing structure-activity relationship of key glycosyltransferase SrUGT76G1 by homologous modeling and molecular docking [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2021, 52(24): 7606–7615.

[17] 沈植国, 程建明, 武方方, 等. 不同花色类型蜡梅花被片靶向类黄酮代谢组学分析[J]. 林业科学研究, 2023, 36(4): 82–89.
SHEN ZG, CHENG JM, WU FF, *et al*. Metabonomic analysis of targeted flavonoids for tepals of different flower color types of wintersweet [J]. Forest Research, 2023, 36(4): 82–89.

[18] ONISZCZUK A, ONISZCZUK T, GANCARZ M, *et al*. Role of gut microbiota, probiotics and prebiotics in the cardiovascular diseases [J]. Molecules (Basel, Switzerland), 2021, 26(4): 1172.

[19] 徐小妹, 林文津, 张亚敏, 等. 泽泻汤降脂作用与肠道微生态的相关性探讨[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(3): 116–121.

XU XM, LIN WJ, ZHANG YM, *et al*. Hypolipidemic effect of zexietang and correlation with intestinal microflora [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2017, 23(3): 116–121.

[20] SUN MB, LI D, HUA M, *et al*. Black bean husk and black rice anthocyanin extracts modulated gut microbiota and serum metabolites for improvement in type 2 diabetic rats [J]. Food & Function, 2022, 13(13): 7377–7391.

[21] XIAO SW, LIU C, CHEN MJ, *et al*. *Scutellariae radix* and *Coptidis rhizoma* ameliorate glycolipid metabolism of type 2 diabetic rats by modulating gut microbiota and its metabolites [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2020, 104(1): 303–317.

[22] LIANG Z, HAO YQ, YANG L, *et al*. The potential of *Klebsiella* and *Escherichia-Shigella* and amino acids metabolism to monitor patients with postmenopausal osteoporosis in northwest China [J]. BMC microbiology, 2023, 23(1): 199.

[23] 杨浩, 崔桂芳, 鲁嫚嫚, 等. 含硫氨基酸对代谢健康的影响及其检测方法研究进展[J]. 食品科学, 2025, 46(11): 364–374.
YANG H, CUI GF, LU MM, *et al*. Research progress in the effects of sulfur -containing amino acids on metabolic health and their detection methods [J]. Food Science, 2025, 46(11): 364–374.

[24] 曾茂贵, 郑文炜, 张宽, 等. 基于指纹图谱及多指标定量结合熵权-TOPSIS 模型的不同产地淡豆豉质量评价[J]. 中国现代应用药学, 2025, 42(9): 1452–1462.
ZENG MG, ZHENG WW, ZHANG K, *et al*. Quality evaluation of *sojae semen praeparatum* from different origins based on fingerprint and multicomponent quantification combined with entropy weight-TOPSIS model [J]. Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy, 2025, 42(9): 1452–1462.

[25] 熊加艳. 抗II型糖尿病大豆异黄酮的筛选及其抗性机理的研究[D]. 郑州: 河南大学, 2024.
XIONG JY. Screening of soybean isoflavones with anty- type II diabetes melitus and study on resistance mechanism [D]. Zhengzhou: Henan University, 2024.

[26] MAI ZM, WANG L, ZENG Q. Characterization of a novel isoflavone glycoside-hydrolyzing *β*-glucosidase from mangrove soil metagenomic library [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2021, 569: 61–65.

[27] 郑时奇. 水解黄酮碳苷类化合物的肠内菌及其酶系的筛选研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2018.
ZHENG SQ. Screening study on intestinal bacteria and their enzyme systems for hydrolyzing flavonoid carbon glycosides [D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2018.

[28] SHABBIR U, RUBAB M, DALIRI EBM, *et al*. Curcumin, quercetin, catechins and metabolic diseases: The role of gut microbiot [J]. Nutrients 2021, 13(1): 206.

[29] KERANMU A, PAN LB, FU J, *et al*. Biotransformation of liquiritigenin into characteristic metabolites by the gut microbiota [J]. Molecules (Basel, Switzerland), 2022, 27(10): 3057.

[30] BELOBRAJDIC D, TAMES-MARTIN G, JONES D, *et al*. Soy and gastrointestinal health: A review [J]. Nutrients, 2023, 15(8): 1959.

[31] 王志宇, 申浩然, 韩燕星, 等. 肠道菌产生酶与天然药物互作对疾病的影响[J]. 药学学报, 2024, 59(8): 2183–2191.
WANG ZY, SHEN HR, HAN YX, *et al*. Interactions between gut microbiota-producing enzymes and natural drugs affect disease progression [J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2024, 59(8): 2183–2191.

[32] 武艳芳. 益生菌在溃疡性结肠炎患者肠道微生态重建中的作用[D]. 呼和浩特：内蒙古医科大学,2018.
WU YF. The role of probiotics in intestinal micro-ecological reconstruction of patients with ulcerative colitis [D]. Inner Mongolia Medical University, 2018.

[33] 陈添晔, 许晨远, 敖蕊, 等. 发酵豆粕对蛋雏鸡生长性能、养分表观代谢率、血液指标和盲肠微生物的影响[J]. 南京农业大学学报, 2023, 46(2): 333–344.
CHEN TY, XU CY, AO R, *et al*. Effects of fermented soybean meal on the growth performance, nutrient apparent metabolic rate, blood indicators and cecum microbiota of pullets [J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2023, 46(2): 333–344.

(责任编辑: 韩晓红 安香玉)