

六堡茶水提物对小鼠腹泻及肠道菌群的影响

刘芬^{1,2}, 谢思玲^{1,2}, 刘振云², 吴文亮^{1,2}, 林勇^{1,2*}

(1. 国家植物功能成分利用工程技术研究中心, 长沙 410128; 2. 湖南农业大学茶学教育部重点实验室, 长沙 410128)

摘要: **目的** 研究六堡茶水提物对番泻叶诱导的小鼠腹泻及肠道菌群的影响。**方法** 采用六堡茶水提物对小鼠进行20 d的腹泻预防灌胃, 从第16 d开始同时给予小鼠番泻叶煎剂诱导小鼠腹泻模型; 实验结束时观察各组小鼠行为状态、体重、腹泻率及腹泻指数, 检测盲肠内容物pH及氨态氮含量、粪便肠道菌群数量, 分析空肠绒毛形态结构。**结果** 与正常组相比, 模型组小鼠体重显著下降($P<0.05$)、稀便率和腹泻指数均极显著上升($P<0.01$), 说明番泻叶诱导小鼠腹泻模型构建成功。与模型组相比, 六堡茶防治组特别是高剂量组显著降低了小鼠稀便率和腹泻指数($P<0.05$), 显著降低了小鼠盲肠内容物pH及氨态氮含量($P<0.05$), 显著增加了小鼠肠道双歧杆菌数量以及减少了肠球菌数量($P<0.05$), 显著提升了小鼠空肠绒毛长度与隐窝深度的比值($P<0.05$)。**结论** 六堡茶水提物对小鼠腹泻具有一定防治作用, 其止泻作用可能与改善肠道内环境及修复双歧杆菌和肠球菌数量有关。

关键词: 六堡茶水提物; 番泻叶; 腹泻; 肠道菌群

Effects of Liupao tea water extract on diarrhea and intestinal flora of mice

LIU Fen^{1,2}, XIE Si-Ling^{1,2}, LIU Zhen-Yun², WU Wen-Liang^{1,2}, LIN Yong^{1,2*}

(1. National Research Center of Engineering Technology for Utilization of Botanical Functional Ingredients, Changsha 410128, China; 2. Key Lab of Tea Science of Education Ministry, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

ABSTRACT: Objective To study the influence of Liupao tea water extract on diarrhea and intestinal flora of mice induced by senna leaves. **Methods** Mice were administrated with Liupao tea water extract to prevent diarrhea in mice for 20 d, and were simultaneously given senna leaves decoction to induce diarrhea from the 16th day. At the end of the experiment, the behavioral status, body weight, loose stools rate and diarrhea index of mice in each group were observed; the pH and ammonia nitrogen level of cecum contents, and the number of fecal intestinal flora were detected, and the morphological structure of jejunum villi was analyzed. **Results** Compared with the normal group, the weight loss significantly ($P<0.05$), the loose stools rate and diarrhea index of mice in the model group were extremely significantly increased simultaneously ($P<0.01$), indicating that the diarrhea model induced by senna leaf was successfully constructed. Compared with the model group, Liupao tea control group, especially the high-dose

基金项目: 湖南省自然科学基金项目(2020JJ4351)、湖南省教育厅科学研究重点项目(19A223)、广西创新驱动发展专项基金项目(AA20302018)、国家重点研发计划项目(2018YFC1604405)

Fund: Supported by the Hunan Provincial Natural Science Foundation of China (2020JJ4351), the Science Research Foundation of Department of Education of Hunan Province(19A223), the Guangxi Innovation Driven Development Special Fund Project of China (AA20302018), and the National Key Research & Development Program of China (2018YFC1604405)

*通信作者: 林勇, 博士, 副教授, 主要研究方向为茶叶功能成分化学及生物活性研究。E-mail: Yong-lin@hunau.edu.cn

*Corresponding author: LIN Yong, Ph.D, Associate Professor, National Research Center of Engineering Technology for Utilization of Botanical Functional Ingredients, Changsha 410128, China. E-mail: Yong-lin@hunau.edu.cn

group, could significantly improve the loose stools rate and diarrhea index of mice ($P<0.05$), reduce the pH value and ammonia nitrogen content of cecum contents ($P<0.05$), increase the number of intestinal *Bifidobacterium*, reduce the number of *Enterococcus* ($P<0.05$), and repair the villus height to crypt depth in jejunum of mice ($P<0.05$).

Conclusion Liupao tea water extract has a certain prevention effect on diarrhea of mice, and its anti-diarrhoea effect may be related to the improvement of intestinal environment and the reversal of content of the *Bifidobacterium* and *Enterococcus*.

KEY WORDS: Liupao tea water extract; senna leaves; diarrhea; intestinal flora

0 引言

腹泻是一组发病率高、多因素多病原引起的肠道疾病,是世界性公共卫生问题,也被我国卫生部列为重点防治的疾病之一^[1]。腹泻病理学基础为肠道在感染或非感染因素刺激下,水肿、黏膜发炎、肠分泌及运动功能亢进,出现稀便和便秘等症状^[2]。当前越来越多的研究指出,肠道微生态环境直接影响着人类健康,肠道微生态失调与肠道疾病问题密切相关^[3]。

近年来,我国针对抗腹泻的研究不断更新,研究人员致力于寻找出一些高效且副作用小的药物。其中天然产物因其制药成本低、服用温和方便、副作用小等优点受到了研究人员的高度关注。茶在我国已有数千年的历史,中医认为:茶味苦甘凉,具有生津止渴、清热解毒、消食止泻等功效^[4]。黑茶因其独特的风味和广泛的保健类功效而广受研究者的关注。有研究通过多项实验从分子、组织、个体等水平揭示了黑茶具有调理肠胃、调节代谢综合征的功效^[5]。

六堡茶是广西特有的名茶,是一种后发酵茶,属于黑茶类。与普洱茶和茯砖茶相比,关于六堡茶的研究甚少,系统性研究的相对滞后很大程度上制约了六堡茶的发展。六堡茶的药理保健功效目前主要集中在抗氧化、调节糖脂代谢、保护肝脏等方面^[6-8]。吴文亮等^[9-10]研究指出六堡茶饮用符合食品安全性要求,并能有效改善因高脂高糖饮食所致的小鼠脂质代谢紊乱和肝脏损伤。此外,现有研究也指出六堡茶能够改善高脂饮食小鼠的肠道菌群结构以及链脲佐菌素和高脂高糖饮食诱导的大鼠糖尿病和肠道微生物群,并能通过调节高脂大鼠肠道短链脂肪酸含量来修复肠道功能^[11-13]。也有研究表明茶叶确有抗腹泻作用^[14-17],但关于六堡茶抗腹泻及调节相关肠道功能紊乱作用的现代药理研究鲜见报道。本研究采用番泻叶诱导小鼠急性腹泻,研究六堡茶水提物对腹泻的防治作用和小鼠肠道微环境的影响,初步探讨其可能止泻机制,以期为促进六堡茶消费热的兴起和高值化利用以及高效安全的腹泻防治型产品的开发提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

昆明种(KM)雄性小鼠,无特定病原体(specific

pathogen free, SPF)级,体重(20±2) g,由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供,生产许可证号:SCXK(湘)2016-0002。动物饲养于湖南农业大学茶叶研究所动物实验室,饲养环境条件为洁净环境,温度为(22±3) °C,相对湿度(50±10)%,光照:12 h/12 h 明暗交替;不限制饲料和水,每日换笼1次。小鼠饲料主要营养成分:粗蛋白 24.3% (质量分数,以下同)、粗灰粉 8.6%、粗脂肪 7.5%、粗纤维 3.5%、钙 1.16%、磷 0.7% (湖南斯莱克景达实验动物有限公司)。

1.2 试剂与仪器

六堡茶(批号:0128,广西壮族自治区梧州茶厂);番泻叶药材(长沙滨湖楚仁堂大药房);盐酸小檗碱片(批号:080705,山西太原药业有限公司);MRS培养基(乳杆菌)、BSM培养基(双歧杆菌)、EMB培养基(肠杆菌)、EC培养基(肠球菌)(广东环凯微生物科技有限公司)。

Modulyod-230 冷冻干燥机、EASypureII纯水仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);MIKRO 22R 冷冻离心机(德国 Hettich 公司);Lab Tech 紫外-可见分光光度计(北京莱伯泰科仪器有限公司);RE-52AA 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);FZ-102 微型植物粉碎机(天津泰斯特仪器有限公司);GR85DA 压力蒸汽灭菌锅(上海中安医疗器械厂);SK3300LH 超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司);BS-110S 电子天平(德国 Sartorius 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 样品制备和给药剂量

(1)六堡茶水提物的制备

取六堡茶样品 100 g,粉碎,按 1:15 (g/mL)的茶水比用沸水浸提 2 次,每次 30 min,2 层纱布过滤,合并 2 次浸提液,旋转蒸发器减压浓缩,将浓缩浸提液于-20 °C 预冻 8 h 和冷冻干燥 24 h 后,收集六堡茶水提物冻干粉并密封包装,-20 °C 保存备用。

(2)番泻叶煎剂的制备

取番泻叶粉碎,按 1:15 (g/mL)加水煮沸 15 min,2 层纱布过滤,滤液减压浓缩制成生药含量为 0.5 g/mL 的药液,转移至干净灭菌的玻璃瓶中,置于 4 °C 冰箱保存备用。

(3)六堡茶给药剂量

选择茶叶人体推荐量(60 kg 成人,每日饮用 10 g 干茶,

即 166.7 mg/kg, 小鼠等效剂量相当于人的 10 倍)的 10、20 倍设为六堡茶的低、高剂量浓度, 即小鼠每日给予茶叶提取物剂量(mg/kg)=166.7 mg/kg×倍数×浸提率。

1.3.2 实验动物喂养及给药

实验小鼠适应性喂养 5 d 后, 按照体重将小鼠随机分为 5 组, 即正常组、模型组、盐酸小檗碱阳性对照组、六堡茶低剂量组、六堡茶高剂量组, 每组 8 只。然后各给药组进行 20 d 的腹泻预防给药, 即在自由采食和饮水的基础上, 六堡茶防治组每天 1 次性灌胃低、高剂量的茶叶水提物[500 和 1000 mg/(kg·bw)], 阳性对照组按照 0.1 g/(kg·bw) 的剂量每天 1 次性灌胃盐酸小檗碱悬液, 正常组和模型组同步等剂量灌胃生理盐水, 灌胃体积为 20 mL/kg。从第 16 d 开始, 除正常组外, 其余各组小鼠连续 5 d 同时灌胃 0.5 g/mL 的番泻叶煎剂 0.5 mL, 正常组同步等体积灌胃生理盐水。末次灌胃后小鼠单只置于观察笼内, 每隔 1 h 换 1 次清洁滤纸, 观察 8 h 内小鼠腹泻情况。

1.3.3 实验动物观察

观察小鼠的饮食、精神、皮毛、眼睛、粪便等一般状态变化, 监测小鼠体质量。采用稀便率与腹泻指数对实验小鼠的腹泻情况进行评估。稀便率=每只小鼠的稀便次数/大便的总次数(滤纸上每粒或每堆粪便为排便 1 次, 稀便以滤纸上有无污迹为标准)。稀便级=每只小鼠的稀便级数总和(统计每一堆稀便的级数)/稀便次数; 根据滤纸上污迹范围的大小, 稀便级数分为 4 级: 1 级(污迹直径<1 cm)、2 级(1~1.9 cm)、3 级(2~3 cm)、4 级(>3 cm)。腹泻指数=稀便率×稀便级。

1.3.4 肠道菌群检测

实验最后 1 d 无菌采集小鼠新鲜粪便, 称取 0.1 g, 置于灭菌干燥后带玻璃珠的三角瓶中, 加灭菌水 10 mL, 振荡混匀得到粪便混悬液, 再依次逐级 10 倍稀释至 10^9 , 在 4 h 内完成样品稀释处理。根据预实验, 选择合适的稀释度, 分别取 1 mL 菌悬液接种到灭菌洁净平皿上的各类选择性培养基上, 并各做 3 个重复。乳杆菌、双歧杆菌、大肠杆菌和肠球菌分别用 MRS、BSM、EMB 和 EC 培养基; MRS 和 BSM 培养基平板置于 37 °C 厌氧下培养 24~48 h 后计数, EMB 和 EC 培养基平板置于 37 °C 有氧条件下培养 24~48 h 后计数; 根据菌落形态, 涂片分析计算各菌群每克粪便中菌落形成数, 结果以菌落对数值表示 lg(CFU/g)。

1.3.5 样品采集与处理

实验结束后将小鼠颈椎脱臼处死, 剖腹取盲肠及内容物。称取盲肠内容物 0.1 g 置于 10 mL 离心管中, 加入纯净水 2 mL, 振荡混匀, 1500 r/min 离心 5 min, 取上清液备用, 用 pH 计测定盲肠内容物上清液的 pH 值, 采用靛蓝酚蓝分光光度法测定盲肠内容物中氨态氮含量^[18]。同时, 迅速取出空肠, 冲洗干净后放入 10% 中性甲醛中固定, 石蜡包埋, 切片后常规苏木精-伊红染色法(hematoxylin-eosin

staining, HE)染色, 制成病理切片, 倒置显微镜下观察小肠黏膜形态和结构的变化。

1.4 实验数据

采用 SPSS 23.0 统计软件对数据进行分析, 各组间比较采用单因素方差分析(analysis of variance, ANOVA), 两两比较采用最小显著差数法, 统计结果以平均数±标准偏差($\bar{x} \pm s$)表示。 $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著。

2 结果与分析

2.1 六堡茶提取及其主要化学成分含量

按实验方法得到六堡茶水提物得率为 30.12%。六堡茶中主要化学成分含量则如图 1 所示。除水浸出物以外, 含量较高的 3 种物质分别是茶多酚、茶褐素以及可溶性糖, 其含量分别为 12.01%、10.12%和 4.29%。

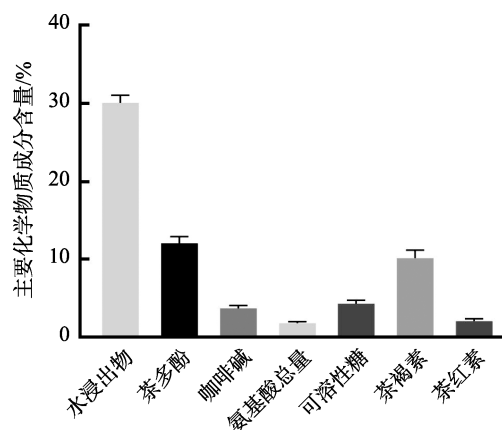


图 1 六堡茶主要化学成分含量(n=8)

Fig.1 Content of chemical substances of Liupao tea (n=8)

2.2 小鼠形态行为学及体重变化

正常组小鼠整个实验期间进食和饮水正常, 活泼好动, 毛色光亮、肛周毛发干净, 粪便正常, 未出现腹泻现象。模型组小鼠在灌服番泻叶之后, 进食量、饮水量均减少, 精神萎靡, 被毛散乱无光泽, 肛周毛发被稀便污染, 实验结束后小鼠体重较正常组显著降低($P < 0.05$)(图 2), 出现了明显的腹泻现象。相比模型组, 六堡茶防治组和阳性药物组小鼠饮食及活动明显增加, 精神状态好转, 肛周毛发较干净, 腹泻症状减轻; 六堡茶高剂量组和阳性药物组小鼠体重较模型组有所增加, 但没有达到显著水平。这些结果表明六堡茶灌胃对小鼠腹泻具有一定的防治作用。

2.3 六堡茶水提物对腹泻小鼠大便性状及腹泻指数的影响

从图 3 可知, 与正常组相比, 模型组小鼠稀便率和腹泻指数极显著增加($P < 0.01$), 说明番泻叶诱导小鼠腹泻模型构

建成功。相比腹泻模型组,灌胃阳性药物或六堡茶水提物小鼠腹泻情况都有不同程度减轻,特别是六堡茶高剂量组和阳性药物组的腹泻率和腹泻指数都显著减小($P<0.05$ 或 $P<0.01$),表明六堡茶摄入能一定程度上减少小鼠排稀便次数和粪便含水量,从而对小鼠腹泻有积极的控制作用。

2.4 六堡茶水提物对腹泻小鼠盲肠内容物 pH 及氨态氮含量的影响

如表 1 所示,与正常组相比,番泻叶致腹泻小鼠盲肠内容物 pH 和氨态氮($\text{NH}_3\text{-N}$)含量极显著增高($P<0.01$)。与模型组相比,阳性药物组和六堡茶防治组小鼠的盲肠内容物 pH 和 $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量都有所降低,其中六堡茶高剂量组的 pH 和各给药组的 $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量差异达到显著水平($P<0.05$)。这些结果表明,灌胃六堡茶水提物可降低肠道 pH,减少蛋白质腐败菌代谢物 $\text{NH}_3\text{-N}$ 的产生,有利于肠道上皮细胞的生长与健康,使肠道微生物代谢向有利方向发展。

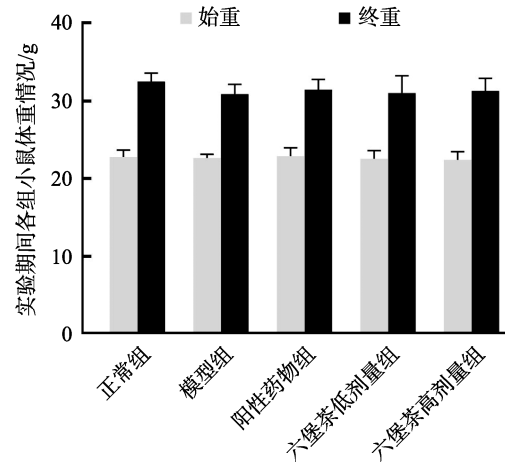
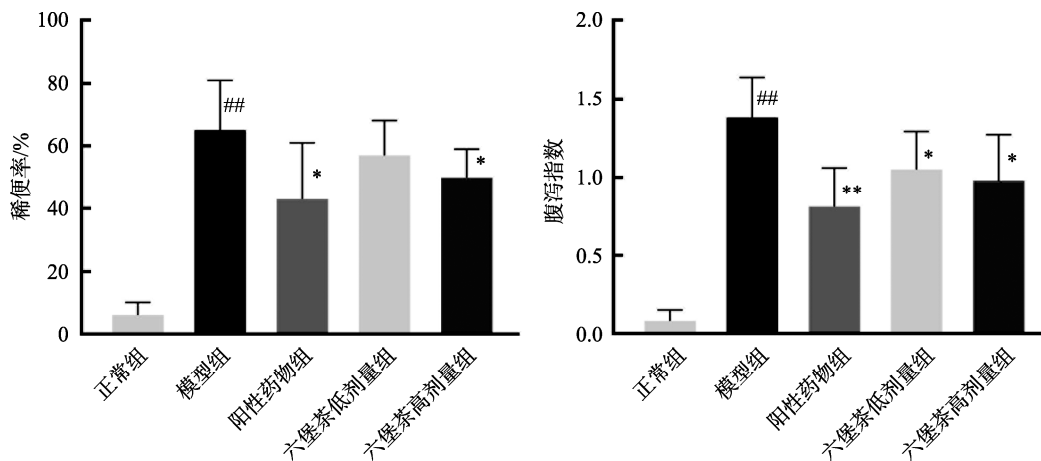


图 2 实验期间各组小鼠体重情况($n=8$)
Fig.2 Body weight of mice in each group during the experiment ($n=8$)



注:模型组与正常组相比: $^{###}P<0.01$; 给药组与模型组相比: $^*P<0.05$, $^{**}P<0.01$ 。

图 3 六堡茶水提物对腹泻小鼠稀便率和腹泻指数的影响($n=8$)

Fig.3 Effects of Liupao tea water extract on loose stools rate and diarrhea index of mice ($n=8$)

表 1 六堡茶水提物对腹泻小鼠盲肠内容物 pH 和氨态氮的影响($n=8$)

Table 1 Effects of Liupao tea water extract on the pH and ammonia nitrogen levels of cecal content of mice with diarrhea ($n=8$)

组别	pH	氨态氮/(mg/g)
正常组	7.26±0.13	1.09±0.15
模型组	7.73±0.22 ^{###}	1.64±0.19 ^{###}
阳性对照组	7.51±0.25	1.38±0.23 [*]
六堡茶低剂量组	7.62±0.21	1.46±0.12 [*]
六堡茶高剂量组	7.46±0.19 [*]	1.42±0.20 [*]

注:模型组与正常组相比: $^{###}P<0.01$; 给药组与模型组相比: $^*P<0.05$, 下同。

2.5 六堡茶水提物对腹泻小鼠肠道菌落数量的影响

如表 2 所示,与正常组相比,腹泻模型组小鼠肠道乳杆菌和双歧杆菌数量极显著减少($P<0.01$),大肠杆菌和肠球菌数量显著增加($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与模型组相比,阳性对照组和六堡茶防治组小鼠的肠道菌落中乳杆菌和双歧杆菌数量均有所增加,肠球菌数量有所减少,特别是阳性药物组和六堡茶高剂量组达到显著水平($P<0.05$ 或 $P<0.01$),而大肠杆菌数量变化不明显。这些结果表明,六堡茶水提取物摄入能一定程度促进有益菌群生长和抑制有害细菌增值,从而改善番泻叶灌胃导致的小鼠肠道菌群的失调。

2.6 六堡茶对小鼠空肠绒毛形态结构的影响

小肠绒毛高度、隐窝深度以及二者比值是衡量肠道正

常生理功能的重要指标^[19]。比值下降, 表明肠道的消化吸收能力减弱, 将会影响小肠免疫功能的正常发挥。由表 3 可知, 与正常组相比, 腹泻模型组小鼠空肠的绒毛长度及其与隐窝深度的比值极显著降低($P<0.01$), 而隐窝深度显著增加($P<0.05$)。与模型组相比, 各防治组小鼠的绒毛长度、隐窝深度和二者比值均发生了不同程度的逆转, 特别是六堡茶高剂量组较模型组的绒毛高度/隐窝深度值增加达到显著水平($P<0.05$)。

表 2 六堡茶水提取物对腹泻小鼠肠道菌落数量的影响($n=8$)
[lg(CFU/g)]

Table 2 Effects of Liupao tea water extract on the number of intestinal flora in mice with diarrhea ($n=8$) [lg(CFU/g)]

组别	乳杆菌	双歧杆菌	大肠杆菌	肠球菌
正常组	8.23±0.18	6.12±0.09	8.01±0.13	8.95±0.15
模型组	7.24±0.15 ^{###}	5.33±0.17 ^{###}	8.39±0.21 [#]	9.86±0.26 ^{###}
阳性对照组	7.51±0.22 [*]	5.75±0.18 ^{**}	8.35±0.24	9.35±0.23 ^{**}
六堡茶低剂量组	7.43±0.26	5.49±0.14	8.52±0.16	9.71±0.18
六堡茶高剂量组	7.28±0.19	5.56±0.21 [*]	8.23±0.28	9.54±0.21 [*]

注: 模型组与正常组相比: [#] $P<0.05$; 给药组与模型组相比: ^{**} $P<0.01$, 下同。

表 3 六堡茶水提取物对腹泻小鼠空肠绒毛影响($n=8$)
Table 3 Effects of Liupao tea water extract on the jejunum villus in mice with diarrhea ($n=8$)

组别	绒毛长度/ μm	隐窝深度/ μm	绒毛高度/隐窝深度
正常组	315.23±30.17	97.30±15.34	3.31±0.28
模型组	272.54±28.21 ^{###}	115.61±17.65 [#]	2.45±0.31 ^{###}
阳性对照组	291.93±32.26	109.76±16.93	2.67±0.26
六堡茶低剂量组	274.61±29.18	102.27±13.25	2.71±0.22
六堡茶高剂量组	296.56±34.04	105.32±18.73	2.82±0.34 [*]

3 结论与讨论

腹泻是一种可由多因素多病原引起的症状, 病情严重可引起脱水现象和体内电解质紊乱等^[20]。因此, 对腹泻的防治研究具有极其重要的现实意义。六堡茶是我国传统历史名茶之一, 独特的加工工艺和微生物菌群奠定了六堡茶重要的化学物质基础, 赋予六堡茶独特的风味品质和保健功效。有文献^[21]表明茶褐素可以促进大鼠肠道中乳酸杆菌、双歧杆菌的生长, 抑制大肠杆菌及肠球菌的繁殖。另有文献^[22-23]研究茶多酚对胃肠道消化功能作用, 发现茶多酚能促进胃肠道消化、抑制大肠杆菌的生长, 说明六堡茶调节肠道菌群结构可能与茶多酚相关。本研究采用番泻叶

构建小鼠腹泻模型, 考察六堡茶对腹泻的防治作用。研究结果表明六堡茶水提取物能有效改善番泻叶引起的腹泻症状。经六堡茶的干预后, 小鼠的小肠绒毛长度增加, 隐窝深度降低, 且二者比值有不同程度的提高。肠绒毛是由粘膜上皮和固有层突向肠腔而成。当肠道受到侵袭或应激反应时, 肠绒毛就会受损变短, 绒毛上皮细胞就会减少^[24]。同时小肠二者比值是反应小肠功能状态的综合指标^[25], 表明六堡茶对番泻叶诱导的腹泻具有的治疗作用可能与促进上皮细胞生成和增加肠绒毛高度有关。

近年来越来越多的研究发现, 肠道微生态环境与人类健康有着密切联系, 微生态的失调不仅会影响人体的消化, 还可能引起肠道疾病等^[26]。在本研究中, 腹泻引起了肠道菌群紊乱, 主要表现为大肠杆菌、肠球菌数量升高, 乳杆菌、双歧杆菌数量降低。大肠杆菌等细菌能利用肠道内的蛋白质和氨基酸产生胺, 由于胺能刺激黏膜, 使肠内渗透压升高, 导致炎症反应加剧^[27]。各组小鼠盲肠内容物的 pH 发生不同的变化可能与肠道内菌群与宿主的共代谢及其相互作用有关。真菌和双歧杆菌等能够利用碳水化合物生产短链脂肪酸, 降低肠道 pH, 从而抑制有害菌生长, 降低肠道中氨含量, 最终抑制肠道的炎症反应^[28]。双歧杆菌被证明能调节肠道免疫系统, 并能增加免疫球蛋白 A 的产生^[29]。此外, 也有研究表明, 改善肠道微生物群组成和结肠炎症能提高动物营养物质表观消化率和肠道健康, 有效降低腹泻率^[30]。六堡茶水提取物在一定程度上促进了乳杆菌、双歧杆菌的数量增加和抑制了肠球菌繁殖, 这些有益细菌种类数量的上升和有害细菌的抑制使肠道微生物代谢向有利方向发展, 从而有利于肠道上皮细胞的生长与健康, 减轻肠道炎症。这表明六堡茶对小鼠的抗腹泻作用可能是通过调节肠道菌群的结构、减轻肠道炎症和增强肠道的免疫功能来实现的。本研究结果可以为促进六堡茶消费热的兴起和高值化利用以及高效安全的腹泻防治型产品的开发提供科学依据。

参考文献

- [1] 余智勇, 黄建安, 杨明臻, 等. 茯砖茶抗腹泻效果研究[J]. 茶叶科学, 2009, 29(6): 465-469.
YU ZY, HUANG JAN, YANG MZ, *et al.* Research of the anti-diarrhea function of Fuzhuan tea [J]. J Tea Sci, 2009, 29(6): 465-469.
- [2] 李涛, 谢慧春, 于伟, 等. 羌活提取物的抗腹泻作用[J]. 陕西师范大学学报(自然科学版), 2014, (5): 60-64.
LI T, XIE HC, YU W, *et al.* Study on anti-diarrhoeal effect of *Notopterygium* extract [J]. J Shaanxi Norm Univ (Nat Sci Ed), 2014, (5): 60-64.
- [3] GEVER D, KUGATHASAN S, DENSON LA, *et al.* The treatment-naive microbiome in new-onset Crohn's disease [J]. Cell Host Microb, 2014, 15(3): 382-392.
- [4] 黎小萍, 陈华玲. 综述茶叶的医学作用及其应用研究[J]. 蚕桑茶叶通讯, 2006, (2): 29-30.
LI XP, CHEN HL. The medical function and application of tea were reviewed [J]. News Seric Tea, 2006, (2): 29-30.
- [5] 王茹茹, 肖孟超, 李大祥, 等. 黑茶品质特征及其健康功效研究进展

- [J]. 茶叶科学, 2018, 38(2): 113–124.
WANG RR, XIAO MC, LI DX, *et al.* Recent advance on quality characteristic and health effects of dark tea [J]. *J Tea Sci*, 2018, 38(2): 113–124.
- [6] LV H, ZHANG Y, SHI J, *et al.* Phytochemical profiles and antioxidant activities of Chinese dark teas obtained by different processing technologies [J]. *Food Res Int*, 2017, (100): 486–493.
- [7] QIAN Y, ZHANG J, FU X, *et al.* Preventive effect of raw Liubao tea polyphenols on mouse gastric injuries induced by HCl/ethanol via anti-oxidative stress [J]. *Molecules*, 2018, 23(11): 23112848.
- [8] PAN Y, LONG X, YI R, *et al.* Polyphenols in Liubao tea can prevent CCl₄-induced hepatic damage in mice through its antioxidant capacities [J]. *Nutrients*, 2018, 10(9): 10091280.
- [9] 吴文亮, 林勇, 刘仲华, 等. 六堡茶急性和亚急性毒性安全性评价研究[J]. 茶叶科学, 2017, 37(2): 173–181.
WU WL, LIN Y, LIU ZH, *et al.* Research on acute and subacute toxicity evaluation of Liupao tea [J]. *J Tea Sci*, 2017, 37(2): 173–181.
- [10] 吴文亮, 刘仲华, 林勇, 等. 陈年六堡茶对高血脂血症小鼠的调脂护肝作用研究[J]. 茶叶科学, 2018, 38(4): 104–112.
WU WL, LIU ZH, LIN Y, *et al.* Alleviative effects of aged Liupao tea on lipid metabolism and liver injury in hyperlipidemic mice [J]. *J Tea Sci*, 2018, 38(4): 104–112.
- [11] 龚受基, 覃榆雯, 廖智红, 等. 六堡茶茶褐素对小鼠肠道菌群结构的影响[J]. 食品与营养科学, 2020, 9(1): 101–107.
GONG SJ, QIN YW, LIAO ZH, *et al.* The influence of Liupao tea theabrownins on the profile of gut microbiota in mice [J]. *Hans J Food Nutr Sci*, 2020, 9(1): 101–107.
- [12] DING Q, ZHANG B, ZHENG W, *et al.* Liupao tea extract alleviates diabetes mellitus and modulates gut microbiota in rats induced by streptozotocin and high-fat, high-sugar diet [J]. *Biomed Pharm*, 2019, (118): 109262.
- [13] 叶颖, 韦保耀, 滕建文, 等. 六堡茶对高脂饮食大鼠肠道短链脂肪酸含量的影响[J]. 茶叶科学, 2019, 39(2): 211–219.
YE Y, WEI BY, TENG JW, *et al.* Effect of Liupao tea on levels of short chain fatty acids in intestinal tract of rats with hyperlipidemia [J]. *J Tea Sci*, 2019, 39(2): 211–219.
- [14] DOUSTFATEMEH S, IMANIEH MH, MOHAGHEGHZADE A, *et al.* The effect of black tea (*Camellia sinensis* (L) Kuntze) on pediatrics with acute nonbacterial diarrhea: A randomized controlled trial [J]. *J Evid Based Complem Altern Med*, 2017, 22: 114–119.
- [15] BRUINS MJ, VENTE-SPREEUWENBERG MA, SMITS CH, *et al.* Black tea reduces diarrhoea prevalence but decreases growth performance in enterotoxigenic *Escherichia coli*-infected post-weaning piglets [J] *J Anim Physiol Anim Nutr*, 2011, 95: 388–398.
- [16] CHANDR KA, WANDA D, Traditional method of initial diarrhea treatment in children [J]. *Compr Child Adolesc Nurs*, 2017, 40: 128–136.
- [17] MO L, ZENG Z, LI Y, *et al.* Animal study of the anti-diarrhea effect and microbial diversity of dark tea produced by the Yao population of Guangxi [J]. *Food Funct*, 2019, 10: 1999–2009.
- [18] 蒲万霞, 魏云霞, 孟晓琴, 等. 靛酚蓝-分光光度法测定胃肠道内容物中氨态氮含量研究[J]. 甘肃农业大学学报, 2008, 43(5): 13–17.
PU WX, WEI YX, MENG XQ, *et al.* Determination of NH₄⁺-N content in gastrointestinal with indophenol blue spectrophotometric method [J]. *J Gansu Agric Univ*, 2008, 43(5): 13–17.
- [19] 吴正可. 嗜酸乳杆菌对肉鸡的益生作用及其机制研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2021.
WU ZK. Study on the Probiotic mechanism of *Lactobacillus acidophilus* on broilers [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2021.
- [20] 赵兴, 黄勤挽, 赵琼, 等. 腹泻病证候模型研究进展[J]. 山西中医, 2016, (1): 55–57.
ZHAO X, HUANG QW, ZHAO Q, *et al.* Research progress of syndrome model of diarrhea [J]. *Shanxi J Tradit Chin Med*, 2016, (1): 55–57.
- [21] 岳随娟, 刘建, 龚加顺. 普洱茶茶褐素对大鼠肠道菌群的影响[J]. 茶叶科学, 2016, 36(3): 261–267.
YUE SJ, LIU J, GONG JS. Effect of theabrownin extracted from Pu-erh tea on the intestinal flora [J]. *J Tea Sci*, 2016, 36(3): 261–267.
- [22] 张凯, 关家伟, 季煜, 等. 茶多酚的提取及其对抗生素所致肠道菌群失衡的调整和预防作用[J]. 天然产物研究与开发, 2014, 26(10): 1654–1658, 1704.
ZHANG K, GUAN JW, JI Y, *et al.* Extraction of tea polyphenols and its regulative and preventive effects on dysbiosis of intestinal flora of mice caused by antibiotics [J]. *Nat Prod Res Dev*, 2014, 26(10): 1654–1658, 1704.
- [23] 许奇, 王丽, 余碧丽, 等. 茶多酚影响肠道菌群活性的非可培养状态(VBNC)状态转变的研究[J]. 食品与发酵工业, 2014, 40(8): 12–17.
XU Q, WANG L, YU BL, *et al.* Research on influence of tea polyphenols on the VBNC state transitions of intestinal flora [J]. *Food Ferment Ind*, 2014, 40(8): 12–17.
- [24] 王春荣, 刘学飞, 程永刚. 肠功能恢复汤对感染性多器官功能障碍综合征大鼠肠黏膜损伤的保护作用[J]. 郑州大学学报(医学版), 2008, (6): 1107–1111.
WANG CR, LIU XF, CHENG YG. Protection of intestine function recovery decoction on intestinal mucosa injury for multiple organ dysfunction syndrom rats caused by infection [J]. *J Zhengzhou Univ (Med Sci Ed)*, 2008, (6): 1107–1111.
- [25] 沙洲, 李诗语, 卢晓冉, 等. ST融合蛋白的酵母表面展示及其对大鼠小肠黏膜结构的影响[J]. 中国兽医学报, 2018, 38(2): 316–325.
SHA Z, LI SY, LU XR, *et al.* Yeast surface display of ST fusion protein and its effect on intestinal mucosal structure in rats [J]. *Chin J Vet Sci*, 2018, 38(2): 316–325.
- [26] MAZMANIAN SK, ROUND JL, KASPER DL. A microbial symbiosis factor prevents intestinal inflammatory disease [J]. *Nature*, 2008, 453: 620–625.
- [27] 孟小琴, 蒲万霞, 王玲, 等. 活化卵白蛋白对断奶仔猪肠道内容物氨态氮含量的影响[J]. 动物医学进展, 2009, 30(2): 19–22.
MENG XQ, PU WX, WANG L, *et al.* Effect of AEWB on intestinal NH₄-N content in weanling piglets [J]. *Prog Vet Med*, 2009, 30(2): 19–22.
- [28] DOWNES J, OLSVIK B, HIOM S, *et al.* *Bulleidia extracta* gen. Nov., sp. Nov., isolated from the oral cavity [J]. *Int J System Evol Microbiol*, 2000, (50): 979–983.
- [29] BELZER C, CHIA L, AALVINK S, *et al.* Microbial metabolic networks at the mucus layer lead to diet-independent butyrate and vitamin B production by intestinal symbionts [J]. *mBio*, 2017, 8(5): e00770–17.
- [30] CHEN J, MAO Y, XING C, *et al.* Traditional Chinese medicine prescriptions decrease diarrhea rate by relieving colonic inflammation and ameliorating caecum microbiota in piglets [J]. *Evid-Based Complem Altern Med*, 2020, (3): 1–12.

(责任编辑: 李磅礴 于梦娇)

作者简介



刘芬, 硕士, 主要研究方向为茶叶功能成分利用与深加工。

E-mail: 1419075536@qq.com



林勇, 博士, 副教授, 主要研究方向为茶叶功能成分利用与深加工。

E-mail: Yong-lin@hunau.edu.cn