

# 多酚通过肠道菌群调节能量代谢研究进展

肖俊松, 单静敏, 曹雁平\*, 王成涛, 许楠

(北京工商大学 食品添加剂与配料北京高校工程研究中心, 食品风味化学北京重点实验室, 北京 100048)

**摘要:** 多酚是一类植物次生代谢产物, 广泛存在于人类膳食中, 一般可分为3大类: 酚酸类、聚合单宁类和黄酮类。多酚及其被肠道菌群代谢的产物, 能选择性调节肠道中易感微生物的生长, 选择性的促进有益菌群(如乳酸菌)生长, 抑制有害菌的增殖, 也即引发肠道微生态的改变。这种改变对宿主产生重要影响, 对宿主能量代谢的影响可能通过如下实现: 1)肠道内微生物数量和种类的变化, 改变微生物代谢及产酶的种类和数量; 2)多酚代谢产物还可与细菌细胞表面作用, 抑制酶的活性, 从而影响能量代谢, 减少脂肪沉积; 3)多酚通过干预人体肠道菌群调整能量代谢, 为预防和治疗肥胖及相关性疾病提供了新的研究思路。本文对多酚调整肠道菌群从而影响肥胖发生的作用机制进行了综述。

**关键词:** 多酚; 肠道菌群; 能量代谢

## Research Progress in Regulation of Energy Metabolism by Polyphenols via Intestinal Flora

XIAO Jun-song, SHAN Jing-min, CAO Yan-ping\*, WANG Cheng-tao, XU Nan

(Beijing Key Laboratory of Flavor Chemistry, Beijing Higher Institution Engineering Research Center of Food Additives and Ingredients, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China)

**Abstract:** Polyphenols, a class of plant secondary metabolites, are widely present in the human diet and can be divided into three categories: phenolic acids, polymer tannin and flavonoids. Polyphenols and their gut flora metabolites can selectively adjust the growth of susceptible microorganisms in the gut, promote the growth of beneficial bacteria (such as lactic acid bacteria), and inhibit the proliferation of harmful bacteria, thus causing intestinal micro-ecological changes. Such changes have an important impact on host energy metabolism, which may be achieved through the following aspects: 1) changes in intestinal microbial number and species alter microbial metabolism and the types and quantities of produced enzymes; 2) polyphenol metabolites can also act on bacterial cell surface to inhibit enzyme activities, thereby influencing energy metabolism and reducing fat deposition; 3) polyphenols regulate energy metabolism by interfering with the human intestinal flora, which can provide new ideas to prevent and treat obesity and related diseases. In this paper, we review the mechanism by which polyphenols can reduce the incidence of obesity by modulating the intestinal flora.

**Key words:** polyphenols; intestinal flora; energy metabolism

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)03-0300-04

多酚是一类广泛存在于植物中次生代谢产物, 因而也广泛分布于人类膳食如葡萄酒、茶叶、咖啡、可可, 以及各种蔬菜和水果中。多酚具有多种生理活性, 但是多酚绝大部分难以直接进入体内, 而是在人体肠道中被肠道菌群降解。这提示多酚发挥生理活性作用, 部分可能是通过调节肠道菌群来实现的。目前关于多酚对肠道菌群微生态的影响已经有部分综述, 多酚如何通过

肠道菌群这个媒介, 发挥其生理功能亦有部分研究, 但目前尚缺乏这方面的综述。因此, 本文拟对目前关于这个方面的研究, 进行初步的归纳和整理。

### 1 多酚及其多种生理功能

多酚目前一般被分为3大类<sup>[1]</sup>: 1)小分子的酚酸类物质(phenolic acid), 如水杨酸、桂皮酸、对羟基桂皮酸、

收稿日期: 2011-11-02

基金项目: 北京市委组织部优秀人才项目(19000530855); 北京工商大学青年基金项目(10900101007)

作者简介: 肖俊松(1980—), 男, 讲师, 博士, 研究方向为植物多酚化学与生理活性。E-mail: xiaojs@th.btbu.edu.cn

\* 通信作者: 曹雁平(1961—), 男, 教授, 硕士, 研究方向为天然产物化学与物理场强化技术。

E-mail: caoy@th.btbu.edu.cn

咖啡酸、阿魏酸、绿原酸等；2)单宁(tannin)，为多酚的聚合物，分为缩合单宁和水解单宁，前者是由黄烷醇类物质通过C4—C6或C4—C8键连接而成的不同聚合度的多酚，也称为原花色素，后者由没食子酸或鞣花酸与葡萄糖等糖类上的羟基成酯而形成；3)黄酮类(flavonoid)，一类为植物色素之一的花色苷(anthocyanin，为花色素anthocyanidin的糖苷)，另一类则为狭义的黄酮及其糖苷，苷元有黄酮(flavone)、黄酮醇(flavonol)、二氢黄酮(flavanone)、二氢黄酮醇(flavanonol)、黄烷-3-醇(flavan-3-ol)、黄烷-3,4-二醇(flavan-3,4-diol)、异黄酮(isoflavone)、二氢异黄酮(isoflavanone)、查儿酮类(chalcone)、橙酮类(aurone)等。

多酚可以保护心脑血管、神经、抑制癌细胞增殖、降低炎症反应，这些方面已经积累了大量研究<sup>[2]</sup>。然而，多酚这些功能的作用机制仍有待于进一步的阐述。目前的机理研究着眼于如下几个方面<sup>[3-6]</sup>：1)清除自由基和抗氧化功能，如保护和促进人体自身抗氧化物质如超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽(GSH)的再生，抑制低密度脂蛋白氧化从而降低动脉粥样硬化的风险，抑制细胞膜氧化从而保持细胞膜完整性，猝灭呼吸过程中电子传递链产生的活性氧类(reactive oxygen species, ROS)，抑制DNA的氧化，调节体内氧化还原平衡，减少有害的氧化终端产物积累而预防多种可能因体内氧化应激(oxidative stress)导致的急性和慢性疾病，如急性胃溃疡、心肌缺血再灌注损伤、II型糖尿病、慢性炎症、老年痴呆和某些癌症等；2)对细胞的保护作用 and 细胞毒作用，前者是因为多酚保护细胞免受氧化应激导致的损伤，后者则存在较多不同甚至互相冲突的实验结论，这与多酚浓度、结构、体外培养的细胞培养基有关；3)影响细胞信号转导；4)影响基因表达；5)抑制关键酶的活性。

## 2 多酚的吸收、代谢部位决定其可能通过肠道菌群发挥其生理功能

多酚上述功能在体内能否实现，需要研究其在体内的吸收、代谢和生物利用度，这方面已经有比较多的研究和相关的综述。除了非糖基化酚醛化合物如单体黄烷-3-醇、原花青素二聚体等可直接在小肠被吸收<sup>[7]</sup>，大约有90%~95%的多酚未被小肠吸收，而是进入结肠<sup>[8]</sup>，经过肠道微生物代谢。如水解单宁就是微生物分泌的单宁酶作用于单宁分子中的酯键，使之降解成鞣花酸和葡萄糖，且微生物还可继续分泌其他酶，将其进一步降解为芳香族脂肪酸等小分子物质<sup>[9]</sup>。多酚类物质化学结构不同，代谢产物也不同。如黄酮类化合物经肠道微生物代谢C环断开，生成A环为主体的羟基芳香化合物及B环酚酸类物质；黄酮醇经代谢C环开裂，生成3,4或3,5-二羟基苯乙酸<sup>[7]</sup>。

## 3 肠道菌群异常是肥胖的原因而不是结果

人体肠道是机体最大的菌库，生存着约400余种细菌，共约 $10^{13} \sim 10^{14}$ 个，大约是体细胞的10倍，而它所包含的基因总量至少是人体自身基因的100倍。肠道菌群基因构成人体“肠道元基因组”(gut metagenome)，而寄居于人体内数万亿的微生物基因组基因与人体自身基因组基因共同构成了人体“宏基因组”(metagenomic)。如此数量庞大的微生物群体，通过长期与宿主的共同进化，为宿主提供了本身不具备的酶系和生化代谢通路。Eckburg等<sup>[10]</sup>通过比对分析16S rDNA序列发现，成人肠道菌群中细菌有9个门。Ley等<sup>[11]</sup>通过对小鼠远端肠道菌群的5088个细菌进行16S rRNA序列分析得知，人体肠道菌群中的优势菌群细菌门类为拟杆菌门(Bacteroidetes)和厚壁菌门(Firmicutes)，约占90%以上<sup>[12]</sup>。实验还发现肠道菌群组成结构一般继承于母亲，无论是否存在亲缘关系的肥胖小鼠与瘦小鼠相比肠道菌群中拟杆菌门数量下降50%，而厚壁菌门比例相应上升。这说明肠道菌群结构异常与肥胖的发生存在一定的相关性。

肥胖发生的原因较复杂，其发生与肠道菌群结构有一定的相关性。肠道菌群与人体共生，是机体能量摄入的主要场所，与机体的能量代谢、储存密切相关，而肥胖作为一种长期能量失衡的结果，其产生与肠道菌群有关。Turnbaugh等<sup>[13]</sup>将人粪便中的微生物移植至无菌小鼠体内，研究饮食、环境等因素对移植后的小鼠(Humanized mice)肠道菌群的影响。实验发现，饮食变化会改变肠道菌群的代谢途径和微生物基因的表达，如高脂膳食导致肠道厌氧菌因营养缺乏、生存环境恶化而数目下降，短链脂肪酸生成减少，从而对血脂的调节功能受抑<sup>[14]</sup>。所以通过调整饮食结构可干预肠道的微生态环境，调节肠道菌群的代谢途径和微生物基因表达。

近些年研究表明，肠道菌群异常可能是肥胖的发生的原因。Martin等<sup>[15]</sup>以小鼠为模型，采用自上而下的系统生物学的方法揭示了哺乳动物宿主代谢谱与其肠道菌群结构有着显著的相关性，并推导出一个跨基因图模型显示了人类婴儿菌群有一个非常简单的微生物组/代谢组关联网络，直接影响宿主的脂类代谢能力。2006年，Turnbaugh<sup>[16]</sup>、Ley<sup>[17]</sup>等通过小鼠及人类志愿者实验均发现肥胖与肠道菌群中的厚壁菌门和拟杆菌门菌类有关，它们影响着肠道菌群代谢潜力，比起瘦型小鼠(ob/+, +/+), 遗传性肥胖小鼠(ob/ob)肠道菌群具有增加从食物中获取能量的能力。对人体的研究也获得了与动物实验一致的结果。将12名患者随机分配，分别采用低脂肪含量和低碳水化合物含量饮食，1年中通过16S rRNA对其粪便中微生物进行监测，随着体质量的下降，他们肠道中拟杆菌门细菌的丰度逐渐升高。

## 4 多酚调节肠道菌群抑制肥胖及其机制

### 4.1 多酚调整因高脂膳食诱导的肠道菌群失衡

高脂膳食会影响肠道菌群的生态平衡,导致正常的肠道菌群紊乱。高脂膳食中脂类成分较多,是肠道菌群养料来源(主要是未被小肠消化吸收的碳水化合物)减少,肠道菌群失调,并且脂类代谢的副产物如次级胆酸、硫化氢等会破坏菌群赖以生存的微环境<sup>[18]</sup>。通过分子生物学手段可明显看出正常饮食大鼠与高脂饮食大鼠肠道菌群存在显著性差异<sup>[19]</sup>。高脂膳食有助于增加大小鼠肠道内  $G^-/G^+$  细菌比率,增加球状索菌(*Clostridium coccoides*)、大肠杆菌(*E.coli*)的数量,减少双歧杆菌(*Bifidobacterium spp.*)和乳杆菌(*Lactobacillaceae*)的数量<sup>[20-21]</sup>。不同的多酚及其代谢产物对肠道菌群的作用不同,如茶多酚对产气荚膜梭菌(*C.perfringens*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* Rosenbach)及副溶血弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)都有抑制作用,绿茶的甲醇提取物可选择性增强双歧杆菌(*Bifidobacterium spp.*)的生长<sup>[22-23]</sup>,多酚代谢产物 3-苯基丙酸、4-羟基苯乙酸等能够抑制肠道中葡萄球菌(*Staphylococcus spp.*)和沙门氏菌(*Salmonella spp.*),单体黄烷-3-醇能够促进乳酸菌(*Lactobacillus spp.*)的增殖,抑制肠杆菌和梭状芽孢杆菌(*Clostridium spp.*),白藜芦醇可促进乳酸菌(*Lactobacillus spp.*)和双歧杆菌(*Bifidobacterium spp.*)的生长,抑制大肠杆菌(*E.coli*)<sup>[24-25]</sup>。多酚对肠道微生物的作用还可以通过阻断细胞膜电子链的传送和氧化磷酸化作用来完成。Jones 等<sup>[26]</sup>研究发现,单宁能导致多种细菌表面形态变化,从而影响细菌正常的生长和分化。多酚对肠道菌群的影响机制较为复杂,采用分子生物学手段进行分析<sup>[27-28]</sup>,其最直观也是主要的表现在于菌群种类和数量的改变。伴随肠道微生物种类和数量的变化,菌群的多样性和功能性随之发生变化。

### 4.2 多酚影响肠道菌群 Fiaf 表达影响脂肪代谢

多酚改变肠道菌群的种类和数量,影响机体能量的存储。肠道微生物可促进亚油酸吸收、促进胆固醇向类固醇转变及胆汁酸脱饱和等作用,对肠道在脂类消化和吸收中具有重要的干预效应<sup>[29]</sup>。Backhed 等<sup>[30]</sup>研究发现肠道微生物通过调控甘油三酯在脂肪细胞存储的重要因子 -Fiaf(一个循环脂蛋白脂肪酶抑制剂)的表达而影响甘油三酯在脂肪细胞的存储。甘油三酯通过脂蛋白脂肪酶(LPL)的中介作用,从肝脏进入循环系统,进而被脂肪细胞吸收,肠上皮细胞能产生禁食诱导脂肪细胞因子 Fiaf,而肠道菌群能够调控 Fiaf 的表达。肠道微生物还能够促进肠道葡萄糖的吸收以及血清中葡萄糖和胰岛素的含量,影响两种基础转录因子 Ch-REBP(碳水化合物反应元件结合蛋白)和 SREBP-1(固醇反应元件结合蛋白),

从而影响肝脏脂肪从头合成的关键酶(乙酰辅酶 A 羧化酶(ACC)和脂肪酸合成酶(FAS)),进而影响了肝脏脂肪的从头合成。在肠道微生物的情况下,AMP 活化蛋白激酶(AMPK)在肌肉中的活性组成较高,导致其具体目标乙酰辅酶 A 羧化酶(ACC)的高磷酸化,从而降低丙二酰辅酶 A 的产生,丙二酰辅酶 A 的降低增加了肉毒碱棕榈酰转移酶-1(CPT-1),并因此促进线粒体脂肪酸氧化<sup>[31]</sup>。当肠道菌群的种类和数量发生变化时,肠道菌群所调控的这 3 条能量代谢途径会相应发生变化,甘油三酯在脂肪细胞的存储、肝脏脂肪的从头合成及线粒体脂肪酸氧化中发生变化,从而影响机体的能量存储。

当肠道微生态结构发生变化时,与人体健康息息相关的“肠道元基因组”会相应变化。“肠道元基因组”是调控人体生理代谢的重要因素<sup>[32]</sup>,其基因中富含参与机体碳水化合物、氨基酸、甲烷、维生素和类异戊二烯代谢的基因<sup>[33]</sup>,与人体的基因组一起,通过与环境条件的相互作用影响着人体的生理代谢<sup>[34]</sup>,如可显著增强人体对糖、氨基酸和外源性化学物质的代谢<sup>[32]</sup>，“肠道元基因组”的变化将直接影响宿主的机体代谢能力和能量存储。

### 4.3 多酚影响肠道微生物酶系统影响机体的能量代谢

肠道微生物包含可参与宿主能量、物质及遗传信息转运等系列生理过程的种类繁多的酶系统,主要有水解酶、氧化还原酶、裂解酶和转移酶<sup>[35]</sup>。由于微生物所具有的酶系统各不相同,对营养物质的分解能力亦不相同,因而其代谢产物也不同。当微生物的种类和数量发生变化时,由微生物代谢发酵产生的酶的种类和数量会相应发生变化,酶参与的代谢反应受到影响,进而影响机体的能量代谢。并且,多酚类物质还能与细菌细胞表面作用,抑制酶的活性,从而影响能量代谢。多酚类物质具有与金属离子螯合生成不溶性复合物的特性,多酚类物质通过夺取肠道微生物细胞金属酶的金属离子(如铁、钴等),影响微生物与其他物质的结合及微生物酶的分泌,从而抑制酶的活性<sup>[36]</sup>,影响肠道微生物的代谢水平,进而影响机体的能量代谢。

## 5 展望

肥胖的发生与肠道菌群有着密切的相关性,肥胖的个体差异也与肠道菌群结构差异相关。多酚类物质结构的多样性和代谢产物的多样性决定了其对肠道微生态环境影响的多样性和复杂性。虽然到目前为止多酚类物质对肠道菌群的作用机理还不十分清楚,但基于肠道菌群与肥胖发生的相关性及多酚对肠道菌群的影响,有理由相信多酚通过影响肠道菌群结构影响能量代谢进而达到减肥的目的。这为通过多酚干预肠道菌群而预防和治疗肥胖和代谢性疾病提供了新的医学目标。发明一些以肠

道菌群为靶点的多酚类药物和功能食品, 纠正紊乱的菌群结构从而达到治疗疾病的目的, 将对今后预防、治疗肥胖等相关性疾病做出重要贡献。

#### 参考文献:

- [1] 王俏, 邹阳, 钟耕, 等. 多酚类单体物质抗氧化活性的研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(1): 137-140.
- [2] 宋立江, 狄莹, 石碧. 植物多酚研究与利用的意义及发展趋势[J]. 化学进展, 2000, 12(2): 161-170.
- [3] 杨丽聪, 郑国栋, 蒋艳, 等. 咖啡碱与茶多酚组合对小鼠肝脏脂肪代谢酶活性的影响[J]. 中国食品学报, 2011, 11(3): 14-19.
- [4] 修鑫鑫, 刘丹. 茶多酚对紫外线诱导大鼠晶状体上皮细胞中 Caveolin-1 表达的影响[J]. 国际眼科杂志, 2011, 11(11): 1886-1889.
- [5] GUNDIMEDA U, MCNEILL T H, SCHIFFMAN J E, et al. Green tea polyphenols potentiate the action of nerve growth factor to induce neuritogenesis: possible role of reactive oxygen species[J]. J Neurosci Res, 2010, 88(16): 3644-3655.
- [6] KAVIARASAN S, SUNDARAPANDIYAN R, ANURADHA C V. Protective action of fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) seed polyphenols against alcohol-induced protein and lipid damage in rat liver[J]. Cell Boil Toxicol, 2008, 24(5): 391-400.
- [7] REQUENA T, MONAGAS M, POZO-BAYÓN M A, et al. Perspectives of the potential implications of wine polyphenols on human oral and gut microbiota[J]. Trends in Food Science & Technology, 2010, 10: 1-13.
- [8] CLIFFORD M N. Diet-derived phenols in plasma and tissues and their implication for health[J]. Planta Medica, 2004, 70:1103-1114.
- [9] 江霞, 徐铭. 单宁与动物胃肠道微生物的作用及其机制[J]. 甘肃畜牧兽医, 2011, 41(1): 31-33.
- [10] ECKBURG P B, BIK E M, BERNSTEIN C N, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora[J]. Science, 2005, 308: 1635-1638.
- [11] LEY R E, TURNBAUGH P, LOZUPONE C A, et al. Obesity alters gut microbial ecology[J]. PNAS, 2005, 102(31): 11070-11075.
- [12] 魏晓, 刘威, 袁静, 等. 人类肠道菌群与疾病关系的元基因组学研究进展[J]. 中国微生态学杂志, 2011, 23(1): 75-80.
- [13] TURNBAUGH P J, RIDAURA V K, FAITH J J, et al. The effect of diet on the human gut microbiome: a metagenomic analysis in humanized gnotobiotic mice[J]. Sci Transl Med, 2009, 1(6): 6-14.
- [14] 任婷婷, 卢放根, 张允历, 等. 高脂饮食对 SD 大鼠肠道菌群的影响[J]. 世界华人消化杂志, 2010, 8(25): 2694-2697.
- [15] MARTIN F J, DUMAS M, LINDON J C, et al. A top-down systems biology view of microbiome-mammalian metabolic interactions in a mouse model[J]. Molecular Systems Biology, 2007, 3: 2-16.
- [16] TURMBAUGH P J, LEY R E, MAHOWALD M A, et al. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest[J]. Nature, 2006, 444: 1027-1031.
- [17] LEY R E, TURMBAUGH P J, KLEIN S, et al. Human gut microbes associated with obesity[J]. Nature, 2006, 444: 1022-1023.
- [18] RESTA S C. Effects of probiotics and commensals on intestinal epithelial physiology: implications for nutrient handling[J]. Physiol, 2009, 587: 4169-4174.
- [19] 张翼. 膳食诱导肥胖大鼠的肠道菌群结构研究[D]. 上海: 上海交通大学, 2009.
- [20] 赵琳, 苏本利. 肠道菌群与代谢综合征[J]. 医学与哲学, 2008, 29(12): 18-20.
- [21] 张蓉, 孙进, 李亚欣, 等. 硫辛酸对高脂日粮小鼠肠道氧化还原状态和微生物菌群的影响[J]. 食品工业科技, 2010, 31(9): 321-324.
- [22] 华德兴, 钱元恕, 彭青. 绿茶对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的抗菌作用及机制研究进展[J]. 中国新药与临床杂志, 2008, 27(9): 697-701.
- [23] HARA H, ORITA N, HATANOS S, et al. Effect of tea polyphenols on fecal flora and fecal metabolic products of pigs[J]. The Journal of Veterinary Medical Science, 1995, 57(1): 45-49.
- [24] LEE H C, JENNER A M, LOW C S, et al. Effect of tea phenolics and their aromatic fecal bacterial metabolites on intestinal microbiota[J]. Research in Microbiology, 2006, 157: 876-884.
- [25] TERADA A, HARA H, NAKAJYO S, et al. Effect of supplements of tea polyphenols on the cecal flora and cecal metabolites of chicks[J]. Microbial Ecology in Health and Disease, 1993, 6(1): 3-9.
- [26] JONES G A, MUIR A D, MCALLISTER T A, et al. Effects of sainfoin (*Onobrychis viciifolia scop.*) condensed tannins on growth and proteolysis by four strains of ruminal bacteria[J]. Appl Environ Microbiol, 1994, 60(4): 1374-1378.
- [27] 楼金珂. 分子生物学技术在肠道正常菌群研究中的应用[J]. 国外医学: 儿科学分册, 2004, 31(1): 1-3.
- [28] 刘霞. 应用 PCR-DGGE 和 rep-PCR 技术对大鼠及成人肝硬化肝移植后肠道菌群多样性的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2011.
- [29] 刘祥, 张朝武, 潘素华, 等. 不同体脂人群肠道主要菌群的定量分析[J]. 卫生研究, 2005, 34(6): 724-725.
- [30] BACKHED F, HOOPER L V, GORDON J I, et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101(44): 15718-15723.
- [31] CANI P D, DELZENNE N M. The role of the gut microbiota in energy metabolism and metabolic disease[J]. Current Pharmaceutical Design, 2009, 15(13): 1546-1558.
- [32] GILL S R, DEBOY R T, ECKBURG P B, et al. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome[J]. Science, 2006, 312: 1355-1359.
- [33] 刘开朗, 王加启, 卜登攀, 等. 人体肠道微生物多样性和功能研究进展[J]. 生态学报, 2009, 29(5): 2589-2594.
- [34] 张晨虹, 赵立平. 肠道菌群在肥胖及相关的代谢性疾病发生发展中的地位和作用[J]. 前沿科学, 2007, 3(3): 75-80.
- [35] 邓婧婷, 庄笑梅, 李桦. 小肠首过代谢的研究进展[J]. 国际药学研究杂志, 2010, 37(4): 269-272.
- [36] McDONALD M, MILA I, SCALBERT A. Precipitation of metal ions by plant polyphenols optimal conditions and origin of precipitation[J]. Agric Food Chem, 1996, 44(2): 599-606.