

3种不溶性复合膳食纤维对小鼠肠道内短链脂肪酸产生的影响

罗剑鸣, 饶洁, 冯嘉韵, 蔡芸, 邹亚, 彭喜春*

(暨南大学食品科学与工程系, 广东 广州 510632)

摘要: 不同膳食纤维均可被肠道微生物发酵利用产生短链脂肪酸(SCFA), SCFA 对人体的健康有重要作用。以果胶、抗性淀粉、低聚果糖以及纤维素4种不溶性膳食纤维中的任意3种, 按照一定比例复合并添加于小鼠饲料中。经6周喂养后解剖收集小鼠肠道内容物并用气相色谱测定 SCFA 的种类及含量, 以确定产生 SCFA 不同膳食纤维的最优组合。结果显示: 对于雌性小鼠, 果胶、抗性淀粉、纤维素3种膳食纤维各以2% 比例复合的饲料效果最好; 对于雄性小鼠, 效果最好的是果胶、低聚果糖、纤维素3种膳食纤维各以2% 比例复合的饲料。

关键词: 不溶性复合膳食纤维; 短链脂肪酸; 体内发酵; 肠道菌群

Effects of Insoluble Compound Dietary Fibers on Short-Chain Fatty Acid Production in the Intestinal Tract of Rats

LUO Jian-ming, RAO Jie, FENG Jia-yun, CAI Yun, ZOU Ya, PENG Xi-chun*

(Department of Food Science and Engineering, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Abstract: Short-chain fatty acids (SCFAs) can be generated from a variety of dietary fibers through *in vivo* fermentation by intestinal microflora and are beneficial to human health. Three types of insoluble dietary fibers were selected from pectin, resistant starch, fructo-oligosaccharide and cellulose, mixed in a certain proportion and added to the rat diet. After six weeks of feeding, the rats were anatomized to collect intestinal contents, and the types and amounts of SCFAs in the intestinal contents were measured by GC to determine the optimal combination of SCFA types. The optimal combination of insoluble dietary fibers in the diet of female rats was pectin, resistant starch and cellulose with an amount of 2% for each of them. For male rats, the optimal combination was pectin, fructo-oligosaccharide and cellulose, each of which was added at 2%.

Key words: insoluble compound dietary fiber; short-chain fatty acids; *in vivo* fermentation; intestinal microflora

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)03-0225-03

短链脂肪酸(short-chain fatty acids, SCFA)是膳食纤维, 如食用胶、抗性淀粉以及不可消化的碳水化合物的发酵产物, 主要包括乙酸、丙酸、丁酸、乳酸以及丁二酸^[1]。SCFA 是碳链为1~6的有机脂肪酸, 其对人体健康有重要作用, 主要表现在: 可影响结肠上皮细胞的转运, 促进结肠和小肠细胞的代谢、生长, 为黏膜上皮细胞及肌肉、肾、心、脑提供能量, 增加肠道血液供应, 影响肝脂质与碳水化合物的调控等^[2]。

SCFA 对机体健康的重要性已有很多报道^[3-4], 其中, 乙酸、丙酸以及丁酸, 作为 SCFA 最主要的3种成分, 也是对人体健康促进作用最大的3种成分。膳食纤维适量摄入能促进机体肠道微生物利用其发酵生成

SCFA, 供机体利用。不少学者都对膳食纤维对于 SCFA 的产生做出了研究, 然而这些研究大多针对单一膳食纤维或天然膳食纤维, 且多数为体外发酵产生 SCFA^[5-6], 而甚少涉及若干膳食纤维按照一定比例复合后, 对机体肠道内发酵产生的 SCFA 的影响。有学者研究了复合纤维对 SCFA 产生的影响, 然而复合的膳食纤维也仅是不同种类的低聚糖复合^[7]。

本研究采用4种代表性的膳食纤维: 果胶、抗性淀粉、低聚果糖以及纤维素, 并将任意3种按照一定比例复合添加到小鼠的饲料中, 分组饲养。经6周特制饲料喂养后, 收集小鼠肠道内容物, 提取其中的 SCFA 并通过气相色谱测定其含量, 从而确定产生 SCFA 的最优组合。

收稿日期: 2011-03-14

基金资助: 中央高校基本科研业务费专项基金资助项目(21610705)

作者简介: 罗剑鸣(1986—), 男, 硕士研究生, 研究方向为食品营养学。E-mail: baiding86@126.com

* 通信作者: 彭喜春(1976—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为食品营养学。E-mail: hopingpeng@163.com

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

SPF级3周龄KM小鼠 南方医科大学动物实验中心。

果胶、纤维素、抗性淀粉、乙酸(色谱纯)、丙酸(色谱纯)、丁酸(色谱纯)、乳酸(色谱纯) 广州齐云生物公司; 低聚果糖 江门量子高科生物有限公司; 其他化学试剂(分析纯) 广州化学试剂厂。

1.2 仪器与设备

7890A型气相色谱仪 美国安捷伦公司。

1.3 方法

1.3.1 复合膳食纤维的配制

4种膳食纤维: 果胶、纤维素、抗性淀粉及低聚果糖, 按照表1任意3种复合, 使混合后的膳食纤维占总饲料质量的6%。总饲料中的其他组分则根据表2按比例配制, 混匀后压制成长条状即为特制饲料。正常饲料只含天然膳食纤维, 不添加以上4种膳食纤维, 如表2所示。

表1 3种膳食纤维在总饲料中的添加量

Table 1 Amounts of insoluble dietary fibers added to rat feed

组别	果胶	抗性淀粉	低聚果糖	纤维素
1	2	2	2	
2	2	2		2
3	2		2	2
4		2	2	2
5(对照组)	正常饲料			

表2 正常饲料的组分含量

Table 2 Ingredients of normal feed

组分	玉米粉	麦麸	酵母粉	淀粉	大豆粉	骨粉	油	鱼粉	盐	复合维生素与矿物质
含量/%	45	10	2	20	13	1	2.5	5	1	0.5

1.3.2 实验小鼠的饲养

实验采用的50只SPF级KM小鼠, 随机分为5组, 每组10只, 雌雄各半, 依次标为4个实验组和1个对照组, 分笼喂养。饲养所用饲料为与组别相对应的特殊饲料, 对照组采用正常饲料。铺垫木屑与小鼠饮用水1周内更换3次。小鼠用正常饲料预喂养1周后开始喂养特制饲料。饲喂时间6周。

1.3.3 小鼠肠道内容物的收集

在每笼的5只小鼠中随机抓取3只小鼠, 解剖并取出其肠道, 并马上收集肠道内容物。肠道内容物放置于预冷的10mL EP管中, -20°C 储存。

1.3.4 SCFA的提取

SCFA的提取方法如下^[8]: 每组称取200mg的肠道内容物, 悬浮在1.6mL的灭菌蒸馏水中, 加入0.2mL正己酸。混匀后再加入0.4mL的硫酸(质量分数约50%)和2mL的无水乙醚, 稍混匀后, 放置于定轨摇床上混匀45min。充分混匀后的样品在室温下3000r/min离心5min。加入无水氯化钙以除去残留水分。提取物转移到新的管中密封暂存于 -20°C 。

1.3.5 SCFA含量测定

SCFA测定采用外标法, 用乙酸、丙酸、正丁酸和乳酸作标准曲线。检测器为氢火焰检测器(FID); 气相色谱测定条件: 载气: N_2 ; 分流比: 10:1; 流速: 2.0mL/min; 用DB-FFAP色谱柱; 升温程序: 120°C 维持5min, 以 $15^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升到 250°C 保持1min; 燃烧炉温 280°C , 待测样品进样量为 $2\mu\text{L}$ 。

1.3.6 数据处理

结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示。数据均经过SPSS软件的处理分析, 主要分析组间差异显著性。

2 结果与分析

2.1 小鼠肠道内容物中各SCFA含量

表3分别反映了雌性小鼠与雄性小鼠肠道内容物中各种SCFA的含量。各SCFA在肠道内容物中的含量大致相同, 含量从多到少依次为: 乙酸、乳酸、丙酸、丁酸。其中, 最具有代表性的3种酸: 乙酸、丙酸和丁酸的含量关系与有关文献结果吻合^[9]。从统计学分析的结果可知, 对于同一种SCFA的产出, 除了雌性组中的组别2与对照组(组别5), 组别2与组别3; 雄性组中的组别1和组别4不具有显著性差异外($P > 0.05$), 其他不同组别所得出的结果不同, 即不同复合膳食纤维对SCFA产出的影响不同, 且差异显著($P < 0.05$)。而对于同种复合膳食纤维, 对照组、组别3和组别4中的丁酸含量, 组别1中的丙酸含量, 雌性与雄性小鼠不具有显著性差异($P > 0.05$), 此外, 其他雌雄小鼠肠道物中

表3 小鼠肠道内容物各种SCFA含量($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 3 SCFA contents in intestinal contents of rats($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	乙酸		丙酸		丁酸		乳酸		总酸	
	雌性	雄性	雌性	雄性	雌性	雄性	雌性	雄性	雌性	雄性
1	1.164 \pm 0.015	1.490 \pm 0.013	0.418 \pm 0.009*	0.414 \pm 0.012	0.188 \pm 0.008	0.263 \pm 0.014 ^b	0.955 \pm 0.012	1.127 \pm 0.007	2.725 \pm 0.044	3.294 \pm 0.046
2	1.928 \pm 0.020	1.261 \pm 0.010	0.543 \pm 0.016	0.370 \pm 0.015	0.315 \pm 0.002	0.167 \pm 0.011	1.349 \pm 0.006	1.182 \pm 0.011	4.135 \pm 0.043	2.935 \pm 0.047
3	1.026 \pm 0.017	1.541 \pm 0.017	0.381 \pm 0.008	0.479 \pm 0.011	0.328 \pm 0.014 ^{a*}	0.357 \pm 0.004	1.085 \pm 0.005	1.510 \pm 0.009	2.821 \pm 0.043	3.887 \pm 0.041
4	1.521 \pm 0.014	1.395 \pm 0.011	0.477 \pm 0.008	0.509 \pm 0.002	0.231 \pm 0.007 [*]	0.241 \pm 0.006	1.203 \pm 0.006	0.959 \pm 0.006	3.433 \pm 0.034	3.104 \pm 0.026
5(对照组)	1.378 \pm 0.013	1.943 \pm 0.009	0.535 \pm 0.006 [*]	0.603 \pm 0.007	0.286 \pm 0.011 [*]	0.313 \pm 0.009	1.141 \pm 0.007	0.149 \pm 0.012	3.340 \pm 0.037	3.008 \pm 0.038

注: *.与雄性相对应位置数据不具有显著性差异($P > 0.05$); a.同列数据中, 与雌性组别2相比, 不具有显著性差异($P > 0.05$); b.同列数据中, 与雄性组别4相比, 不具有显著性差异($P > 0.05$)。

的 SCFA 含量亦显示出显著性差异($P < 0.05$)。

2.2 小鼠肠道内容物中乙酸含量

由表 3 可知, 对于雌性小鼠, 组别 2 的乙酸含量最高为 $(1.928 \pm 0.020) \mu\text{mol/mL}$ 。而组别 1、3 的乙酸低于对照组, 显示出果胶、抗性淀粉、低聚果糖复合饲料(含量分别为 2%)和果胶、低聚果糖、纤维素复合饲料(含量分别为 2%), 在促进雌性小鼠肠道微生物发酵产生乙酸上, 低于正常饲料(含 10% 的天然膳食纤维)。复合饲料中单种膳食纤维对乙酸产生的贡献为: 抗性淀粉 > 纤维素 > 果胶 > 低聚果糖。然而, 对于雄性小鼠, 对照组的乙酸产量 $(1.943 \pm 0.009) \mu\text{mol/mL}$ 明显高于其他组别, 并且复合饲料中单种膳食纤维对乙酸产生的贡献值为: 低聚果糖 > 果胶 > 纤维素 > 抗性淀粉, 与雌性组相反。

2.3 小鼠肠道内容物中丙酸含量

由表 3 可知, 对于雌性小鼠, 组别 2 的丙酸含量最高 $(0.543 \pm 0.016) \mu\text{mol/mL}$, 其次是对照组, 即组别 5 为 $(0.535 \pm 0.006) \mu\text{mol/mL}$ 。但两数据的差异并没有达到显著, 因此只能得出组别 2 与对照组的膳食纤维成分, 在促使丙酸产生上优于其他组别的组合。对于雄性, 组别 2 的丙酸含量最低, 为 $(0.370 \pm 0.015) \mu\text{mol/mL}$ 。而对照组(组别 5)中丙酸的含量最高为 $(0.603 \pm 0.007) \mu\text{mol/mL}$ 。此结果表明, 对于雄性小鼠肠道内的微生物, 天然膳食纤维与复合的膳食纤维相比, 更可促使丙酸的生成。在复合饲料中单种膳食纤维对丙酸产生的贡献值, 对于雌鼠为: 抗性淀粉 > 纤维素 > 果胶 > 低聚果糖; 对于雄鼠为: 低聚果糖 > 纤维素 > 抗性淀粉 > 果胶。

2.4 小鼠肠道内容物中丁酸含量

由表 3 可知, 组别 3 的雌性小鼠利用复合膳食纤维在肠道内发酵产生丁酸的量最高, 为 $(0.328 \pm 0.014) \mu\text{mol/mL}$ 。然而, 此结果与组别 2 的 $(0.315 \pm 0.002) \mu\text{mol/mL}$ 没有显著性差异。对于雄性小鼠, 组别 3 的丁酸含量 $(0.357 \pm 0.004) \mu\text{mol/mL}$, 与其他组别的数据都有显著性差异, 可看出, 果胶、低聚果糖、纤维素复合的饲料(含量分别为 2%)相比其他组, 更容易让雄鼠肠道微生物利用发酵产生丁酸。在复合饲料中单种膳食纤维对丁酸产生的贡献值, 由于雌性组别 2 与组别 3 不存在显著差异, 因此对于雌性只可得出, 纤维素 > 果胶 > 低聚果糖 ≈ 抗性淀粉; 雄性组中, 组别 1 与组别 4 结果也不具有显著差异性, 故得出, 低聚果糖 > 果胶 ≈ 纤维素 > 抗性淀粉。

2.5 小鼠肠道内容物中乳酸含量

由表 3 可知, 对于雌性小鼠, 组别 2 的乳酸含量最高 $(1.349 \pm 0.006) \mu\text{mol/mL}$; 而对于雄鼠, 组别 3 的乳酸含量较其他组别均要高 $(1.510 \pm 0.009) \mu\text{mol/mL}$, 最低含量为组别 5, 即对照组 $(0.149 \pm 0.012) \mu\text{mol/mL}$ 。根据有关文献的描述^[3,10-13], 乳酸是作为肠道菌群发酵利用不溶性膳食纤维产生的中间代谢物, 即乳酸会继续发酵从而生成终产物如乙酸、丙酸以及丁酸。因此, 雄鼠对照组乳酸含量较低, 推测是已被肠道菌群所利用, 生

成了乙酸、丙酸以及丁酸, 这与上述的雄性小鼠对照组乙酸、丙酸和丁酸含量高的结果吻合。

2.6 小鼠肠道内容物中总 SCFA 的含量

由表 3 可知, 对雌性小鼠, 总 SCFA 的含量组别 2 的最高, 为 $(4.135 \pm 0.043) \mu\text{mol/mL}$; 然而对于雄性小鼠, 总 SCFA 含量组别 3 最高, 为 $(3.887 \pm 0.041) \mu\text{mol/mL}$ 。此结果与其他组别的结果比较后, 存在统计学上的显著差异, 因此, 雄雌小鼠对 3 种不溶性复合膳食纤维饲料的发酵利用率有明显差别。

3 结 论

上述实验结果通过软件进行统计学显著性差异分析后, 可以看出, 雌性与雄性得到的最优复合膳食纤维组合并不相同; 通过比较得到, 在复合膳食纤维中, 单种膳食纤维对不同的 SCFA 的贡献值不同, 尤其是在低聚果糖的利用上, 雌性与雄性得到的结果差异较大。根据总酸的含量, 雌性小鼠在组别 2 的饲料(即果胶、抗性淀粉、纤维素 3 种膳食纤维各以 2% 比例复合)喂饲下益生效果最好, 且该组乙酸与丙酸含量最高, 丁酸含量也处在高含量水平; 雄性小鼠在组别 3 的饲料(即果胶、低聚果糖、纤维素 3 种膳食纤维各以 2% 比例复合)喂饲下益生效果最好。

研究中发现, 雌雄小鼠在利用不同种类复合膳食纤维发酵产生 SCFA 上存在差异。由于 SCFA 是由机体肠道微生物利用膳食纤维发酵而生成, 因此后续研究可通过对雌雄体内肠道菌群进行分析, 确定造成雌雄差异的原因。

参考文献:

- [1] MONTAGNE L, PLUSKE J R, HAMPSON D J. A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2003, 108(1/4): 95-117.
- [2] 王子花, 申瑞玲, 李文全. 短链脂肪酸的产生及应用[J]. *畜牧兽医学报*, 2007(2): 12-13.
- [3] 陈燕, 曹郁生, 刘晓华. 短链脂肪酸与肠道菌群[J]. *江西科学*, 2006, 24(1): 38-41.
- [4] 徐运杰, 方热军, 戴求仲. 短链脂肪酸的营养生理作用[J]. *饲料研究*, 2007(8): 26-28.
- [5] CARNEIRO M S C, LORDELO M M, CUNHA L F, et al. Effects of dietary fibre source and enzyme supplementation on faecal apparent digestibility, short chain fatty acid production and activity of bacterial enzymes in the gut of piglets[J]. *Anim Feed Sci Tech*, 2008, 146: 124-136.
- [6] ISKEN F, KLAUS S, OSTERHOFF M, et al. Effects of long-term soluble vs. insoluble dietary fiber intake on high-fat diet-induced obesity in C57BL/6J mice[J]. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2010, 21(4): 278-284.
- [7] VESTER BOLER B M, HERNOT D C, BOILEAU T W, et al. Carbohydrates blended with polydextrose lower gas production and short-chain fatty acid production in an *in vitro* system[J]. *Nutrition Research*, 2009, 29(9): 631-639.
- [8] SCHNEIDER S M, GIRARD-PIPAU F, ANTY R, et al. Effects of total enteral nutrition supplemented with a multi-fibre mix on faecal short-chain fatty acids and microbiota[J]. *Clinical Nutrition*, 2006, 25: 82-90.
- [9] MADELINE V, CATHERINE D, REBECCA M, et al. Effect of oligosaccharides and fibre substitutes on short-chain fatty acid production by human faecal microflora[J]. *Anaerobe*, 2000, 6: 87-92.
- [10] 于卓腾, 杭苏琴, 姚文, 等. 肠道产丁酸细菌及其丁酸产生机制的研究进展[J]. *世界华人消化杂志*, 2006, 14(25): 2532-2534.
- [11] VERNAZZA C L, GIBSON G R, RASTALL R A. *in vitro* fermentation of chitosan derivatives by mixed cultures of human faecal bacteria[J]. *Carbohydr Polym*, 2005, 60: 539-545.
- [12] BOURRIAUD C, ROBINS R J, MARTIN L, et al. Lactate is mainly fermented to butyrate by human intestinal microfloras but inter-individual variation is evident[J]. *J Appl Microbiol*, 2005, 99: 201-212.
- [13] MOLIST F, GÓMEZDE SEGURA A, GASA J, et al. Effects of the insoluble and soluble dietary fibre on the physicochemical properties of digesta and the microbial activity in early weaned piglets[J]. *Anim Feed Sci Tech*, 2008, 149(3): 4-7.