

# 单宁与动物胃肠道微生物的作用及其机制

江霞, 徐铭

(山东省烟台市滨州医学院, 山东 烟台 264003)

中国图书分类号: S 852.6 文献标识码: A 文章编号: 1006—799X(2011)01—0031—03

单宁是植物体内的次生代谢产物, 是一类相对分子质量为 500 ~ 3000 的多酚类化合物(何兰和姜志宏, 2008)。单宁的化学性质活泼, 饲料中的单宁通过与蛋白质、糖类、酶类、金属离子结合生成沉淀物质, 严重影响畜禽对营养物质的消化和吸收利用, 降低饲料的营养价值(朱南山等, 2006)。单宁的抗营养性主要表现在单宁与蛋白质结合形成不能被消化的单宁—蛋白质复合物, 降低动物对营养物的利用。近年来, 众多研究表明, 动物胃肠道的某些微生物具有忍耐单宁或降解单宁特别是水解单宁的特性。本文对单宁与动物胃肠道微生物的作用及其机制作一综述, 以期分离选育单宁抗性菌或单宁降解菌, 降低或消除单宁的抗营养作用提供借鉴。

## 1 单宁的分布与理化性质

单宁普遍存在于植物体中, 是植物进化过程中由碳水化合物代谢衍生出来的一种自身保护性物质, 是植物与环境相互作用的产物(Birbal 等, 2003)。单宁主要分布在双子叶植物的细胞壁或茎杆、树皮、花和种子的胞液内。大多牧草和灌木也都含有数量不等的单宁, 尤其在热带、亚热带的乔木及灌木中含量非常高(张晓庆等, 2006)。

单宁溶于水、甲醇、丙酮、醚、酒精以及酒精与醚的混合物中, 但不溶于氯仿、苯和二硫

化碳等有机溶剂中。单宁是多羟基酚物质, 它含有 4 种化学键, 即氢键、共价键、离子键和疏水互作。K. Frendenberg 于 1920 年根据单宁的化学结构不同将其分为水解单宁(Hydrolyzable tannin)和缩合单宁(Condensed tannin)两大类, 其中缩合单宁是单宁主要的存在类型。水解单宁又称鞣酸酯类单宁, 分子量相对较小, 由酚酸与单糖通过酯键结合而成, 易被酸、碱和酶水解而失去单宁的特性, 根据水解后产生的多元酚羧酸的不同, 水解单宁又分为鞣单宁和鞣花单宁, 鞣单宁主要是由  $\beta$ -D-葡萄糖与鞣酰基或缩鞣酰基形成的酯, 水解后有鞣酸生成; 鞣花单宁水解后产生鞣花酸(单宁酸)或其它与六羟基联苯有生源关系的物质。缩合单宁相对分子量较大, 一般不易被酸、碱水解。

## 2 单宁的微生物降解

单宁的微生物降解, 实质上是微生物分泌的单宁酶作用于单宁分子中的酯键, 使之降解成鞣酸(或鞣花酸)和葡萄糖, 而且微生物还可继续分泌其他酶(如多酚氧化酶等), 进一步将其降解为芳香族脂肪酸等小分子物质。一般认为, 单宁的生物降解可分为两个阶段。首先是单宁—蛋白质复合物中的分子间键受酶的作用而断裂; 然后是游离状态的单宁被单宁酶作用而进一步降解(吕远平

等,2003)<sup>[1]</sup>。自然界中的单宁主要以缩合单宁的形式存在,而缩合单宁较难水解,水解单宁则较易被微生物分泌的单宁酶降解。据文献报道,很多微生物具有降解水解单宁的功能,而不能降解缩合单宁(Gunjan等,2005)<sup>[2]</sup>。

众多学者已从不同动物体内分离并选育出多种单宁抗性菌或单宁降解菌。Osawa(1990)第一次利用在覆有单宁或单宁酸的琼脂蛋白培养基上产生透明圈的方法从树袋熊盲肠内分离得到一种降解单宁酸—蛋白质复合物的链球菌,透明圈的产生表明微生物能有效利用蛋白质,其正常的代谢活动不受单宁或单宁酸的影响,目前这种分离技术已被广泛用于单宁降解菌的分离。Osawa(2000)<sup>[3]</sup>从人的粪便及发酵食品中分离到单宁降解菌(*Lactobacillus plantarum*),它们能产生单宁酶和脲酸脱羧酶,从而将单宁酸降解,这是首次从人体肠道中分离出单宁降解菌。Nelson等<sup>[4]</sup>(1995)从喂食含缩合单宁17%金钱草的山羊瘤胃液中分离出了能降解水解单宁的厌氧双球菌,该菌在厌氧条件下,能耐受3%的水解单宁和0.4%的缩合单宁,3~4h即可将浓度为30g/L的单宁酸降解为焦枞酸,对单宁酸的耐受浓度可达70g/L,这是能快速降解单宁酸厌氧微生物的首次报道。Odenyo等<sup>[5]</sup>(1999)报道,在多种非洲反刍动物体内存在单宁抗性菌或降解菌,并从东非羚羊、山羊及绵羊体内分离到3种月形单孢菌属(*Selenomonas*)的单宁抗性菌株,它们均能在缩合单宁浓度为8g/L的培养基中生长,对单宁酸的耐受浓度可达50~70g/L,在pH5.6~6.7时能使单宁酸降解成枞酸,而且枞酸还可进一步被降解。Wiryawan等<sup>[6]</sup>(2000)从自然喂食干物质含量达10%单宁日粮的印度尼西亚山羊体内分离得到5种不同类型的单宁降解菌,在一定浓度下,这些菌能在12h内使单宁酸的含量降低52%,

在72h内使缩合单宁的含量降低48%。

### 3 单宁对动物胃肠道微生物的作用及其机制

大量研究表明,单宁对动物胃肠道微生物具有广谱的抑制性,这给单宁的生物降解带来了一定的困难。单宁的抑菌能力与其分子量大小相关,并且对不同类型的细菌表现出不同的作用趋势,革兰氏阳性菌比革兰氏阴性菌对单宁更敏感(杨镒峰和魏海军,2010)<sup>[7]</sup>。当草食动物采食高含量单宁的牧草时,单宁会破坏瘤胃细菌的菌膜组织,络合金属离子,从而减少瘤胃微生物数量,降低微生物利用硫的效率,使微生物不能正常繁殖,影响瘤胃正常的发酵功能,导致饲料中营养成分的消化率下降。这种影响与反刍动物种类、饲料中单宁的含量和胃肠道微生物的种类密切相关。

Getachew等<sup>[8]</sup>(2008)报道,绵羊在采食喷洒了单宁的苜蓿后,降低了对氮的消化率。而采食混合型植物的欧洲马鹿采食较高含量单宁的牧草后,对营养的利用效率不降反升。Min等<sup>[9]</sup>(2005)研究了百脉根中的缩合单宁对11种瘤胃微生物活性的影响,结果表明,其中两种微生物*C. proteoclasticum*和*Ruminococcus albus*对单宁具有较高的耐受浓度,可达200μg/mL,另外9种微生物在较低浓度即对单宁具有较强的敏感性。

单宁对动物胃肠道微生物作用的机制通常认为与单宁能抑制多种酶的活性有关。Makkar等<sup>[10]</sup>(1988)研究发现,单宁可使反刍动物瘤胃中多种酶的结构发生改变,进而降低酶的活性,如尿素酶、蛋白酶、谷氨酰脱氢酶、丙氨酸转氨酶等。Molan等<sup>[11]</sup>(2001)发现,缩合单宁—细菌相互作用比缩合单宁—蛋白质相互作用要强得多,或者说这两种相互作用是完全不同的类型。缩合单宁可以与细菌细胞表面(如细胞结合性胞外酶)作用,抑制酶的活性,抑制的程度随缩合单宁

类型的不同而不同。Paul 等<sup>[12]</sup> (2003) 研究发现多种酚单体, 比如儿茶酚等, 均能降低厌氧真菌 *Piromyces sp.* 的菌群数量和水解酶活性, 进而对瘤胃纤维素的降解产生影响, 这些酚单体还可抑制羧甲基纤维素酶、木聚糖酶、乙酰酯酶、 $\beta$ -葡萄糖苷酶等酶的活性。

单宁对动物胃肠道微生物的作用还可通过阻断细胞膜电子链的传递和氧化磷酸化作用来完成。Nelson 等<sup>[13]</sup> (1995) 则发现, 单宁酸浓度为 4 g/L 时, 厌氧类双球菌的菌链增长, 而当单宁酸浓度增加为 8 g/L 时, 菌链缩短。除以上两种作用机制外, 单宁还具有与金属离子螯合生成不溶性复合物的特性, 单宁通过剥夺微生物细胞金属酶的金属离子 (比如铜、钴、铁等), 影响微生物与其它物质的结合和微生物酶的分泌, 从而抑制微生物的活性 (McDonald 等, 1996)<sup>[14]</sup>。

#### 4 研究展望

目前国内关于单宁与动物胃肠道微生物作用方面的研究相对较少, 近年来, 随着生物技术快速而广泛的发展及应用, 这方面的研究受到营养学家和其他研究工作者越来越多的关注。单宁的生物降解不仅对畜牧业的发展具有重要意义, 也已成为跨学科的研究课题, 林业、医药、食品、材料、化工等学科领域均有学者从不同角度开展单宁与动物胃肠道微生物作用的研究, 以便使单宁获得新的高附加值的利用途径。

#### 参考文献

- [1] 吕远平, 姚开, 贾冬英. 饲料中植物单宁的抗营养性及其生物降解[J]. 中国畜牧杂志, 2003, 39(2): 42-43.
- [2] Gunjan G, Puniya A K, Aguilar C N, et al. Interaction of gut microflora with tannins in feeds[J]. Naturwissenschaften, 2005, 92: 497-503.
- [3] Osawa R, Keiko K, Satoshi G, et al. Isolation of tannin degrading lactobacilli from humans and fermented foods[J]. Appl Environ Microbiol, 2000, 66: 3093-3097.
- [4] Nelson K E, Pell A N, Schofield P, et al. Isolation and characterization of anaerobic ruminal bacterium capable of degrading hydrolyzable tannins[J]. Appl Environ Microbiol, 1995, 61: 3293-3298.
- [5] Odenyo A A, McSweeney C A, Palmer B, et al. In vitro screening of rumen fluid samples from indigenous African ruminants provides evidence for rumen fluid superior capacities to digest tannin-rich fodders[J]. Aust J Agric Resour, 1999, 50: 1147-1157.
- [6] Wiryawan K G, Tangendjaja B, Suryahadi, et al. Tannin degrading bacteria from Indonesian ruminants. In: Brooker JD (ed) tannins in livestock and human nutrition, vol. 92. Proceedings of an international workshop, Adelaide, Australia, 31 May - 2 June 2000, pp 133-136.
- [7] 杨镕峰, 魏海军. 单宁对反刍动物影响的研究进展[J]. 特产研究, 2010(1): 60-64.
- [8] Cetaehew G, Pittroff W, DePeters E J, et al. Influence of tannic acid application on alfalfa hay: in vitro rumen fermentation, serum metabolites and nitrogen balance in sheep[J]. Animal, 2008, 2(3): 381-390.
- [9] Min B R, Attwood G T, McNabb W C, et al. The effect of condensed tannins from *Lotus corniculatus* on the proteolytic activities and growth of rumen bacteria[J]. Anim Feed Sci Technol, 2005, 121: 45-58.
- [10] Makkar H P, Singh B, Dawra R. Effect of tannin-rich leaves of Oak *Quercus incana* on various microbial enzyme activities of the bovine rumen[J]. Br J Nutr, 1988, 60: 287-296.
- [11] Molan A L, Waghorn G C, Min B R, et al. The effect of condensed tannins from seven herbage on *Trichostrongylus colubriformis* larval migration in-vitro[J]. Folia Parasitol, 2001, 47: 39-44.
- [12] Paul S S, Kamra D N, Sastry V R, et al. Effect of phenolic monomers on biomass and hydrolytic enzyme activities of an anaerobic fungus isolated from wild nilgai *Baselophus tragocamelus*[J]. Lett Appl Microbiol, 2003, 36: 377-381.
- [13] Nelson K E, Pell A N, Schofield P, et al. Isolation and characterization of anaerobic ruminal bacterium capable of degrading hydrolyzable tannins[J]. Appl Environ Microbiol, 1995, 61: 3293-3298.
- [14] McDonald M, Mila I, Scalbert A. Precipitation of metal ions by plant polyphenols: optimal conditions and origin of precipitation[J]. J Agric Food Chem, 1996, 44: 599-606.