

猪肠道食糜和血清中短链脂肪酸浓度的测定

The Determination of the Concentration of Short Chain Fatty Acids in the Intestinal Digesta and Serum of Pigs

张睿楠^{1, 2, 3, 4, 5, #}, 李华^{1, 2, 3, 4, 5, #}, 汤加勇^{1, 2, 3, 4, 5}, 吴彩梅^{1, 2, 3, 4, 5}, 罗玉衡^{1, 2, 3, 4, 5, *}

¹ 农业部动物抗病营养与饲料重点实验室, 成都, 四川省; ² 动物抗病营养教育部重点实验室, 成都, 四川省; ³ 动物抗病营养四川省重点实验室, 成都, 四川省; ⁴ 动物营养与饲料工程四川省高校重点实验室, 成都, 四川省; ⁵ 动物营养研究所, 四川农业大学, 成都, 四川省

*通讯作者邮箱: luoluo212@126.com

#共同第一作者/同等贡献

摘要: 短链脂肪酸 (SCFA) 是指 6 个碳以下的有机脂肪酸, 猪等单胃动物肠道中的 SCFA 主要由微生物发酵碳水化合物产生, 包括乙酸、丙酸、丁酸、异戊酸、异丁酸等及其盐类。其中, 乙酸、丙酸、丁酸约占 SCFA 总量的 85%。不同种类 SCFA 具有不同的代谢特征, 其含量及组成变化与宿主肠道微生物群落结构的变化直接相关。肠道细菌产生的 SCFA 不仅是宿主肠上皮细胞的主要能源, 也通过血液循环参与宿主的各项生理代谢过程。因此, 测定食糜和血清中的 SCFA 含量, 对以猪为代表的单胃动物肠道健康相关的研究有重要意义。本实验将食糜和血清样品经过偏磷酸预处理及色谱甲醇稀释后, 用毛细管气相色谱法测定, 并用内标法计算各 SCFA 的组成及含量。在实验色谱条件下, 各组分有效分离, 单个食糜和血清样品检测用时分别为 5 min 和 7.5 min, 结果稳定, 线性良好, 且样品重现性和加标回收率满足要求。该实验所需仪器条件容易实现, 操作简便、易学易会、快速准确, 推荐在猪等单胃动物食糜和血清的 SCFA 浓度测定中广泛使用。

关键词: SCFA, 食糜, 血清, 气相色谱法

材料与试剂

1. 2 mL 一次性无菌注射器 (洪湖泰宁医疗器械有限公司)
2. 0.22 μ m 有机尼龙针式过滤器 (成都思为科学仪器有限公司)
3. 毛细管柱 (HP-FFAP, 柱长 30 m, 柱内径 0.53 mm, 膜厚 1 μ m) (Agilent)

- 31 4. 乙酸 (分析标准品) , (Supelco, Sigma-aldrich, catalog number: 71251)
- 32 5. 丙酸 (分析标准品) , (Supelco, Sigma-aldrich, catalog number: 94425)
- 33 6. 丁酸 (分析标准品) , (Supelco, Sigma-aldrich, catalog number: 19215)
- 34 7. 异丁酸 (分析标准品) , (Supelco, Sigma-aldrich, catalog number: 46935-U)
- 35 8. 戊酸 (分析标准品) , (Supelco, Sigma-aldrich, catalog number: 75054)
- 36 9. 异戊酸 (分析标准品) , (Supelco, Sigma-aldrich, catalog number: 78651)
- 37 10. 巴豆酸 (纯度 98%) , (Sigma-aldrich, catalog number: 113018)
- 38 11. 甲醇 (色谱纯) , (Fisher, catalog number: A452-4)
- 39 12. 偏磷酸 (分析纯) (天津科密欧化学试剂有限公司, catalog number: 00500)
- 40 13. 210 mmol/L 巴豆酸 (见溶液配方)
- 41 14. 25% (w/v) 偏磷酸 (见溶液配方)
- 42 15. 标准储备液 (见溶液配方)
- 43 16. 实验 1 标准工作液 (见溶液配方)
- 44 17. 实验 2 标准工作液 (见溶液配方)

45

46 仪器设备

- 47 1. 气相色谱仪 (Varian, GC CP3800)
- 48 2. 高速冷冻离心机 (Thermo, Heraeus, Biofuge Primo R)
- 49 3. 手动进样针 (Agilent, 10 μ L)
- 50 4. 旋涡混合器 (上海青浦沪西仪器厂, XW-80A)
- 51 5. 移液器 (Eppendorf, 10 μ L, 20 μ L, 100 μ L, 200 μ L, 1,000 μ L)
- 52 6. 纯水仪 (Millipore, Milli-Q Integral 3)
- 53 7. 电子天平 (Mettler Toledo, ME204E)

54

55 实验步骤

56 一、食糜及粪便中挥发性脂肪酸的测定

57 1. 食糜或粪便样品前处理

58 将事先采好的结肠、盲肠食糜或粪便样品解冻, 搅拌混匀, 均匀称取约 0.7 g 样品 (准
59 确记录质量 m_0) 于 2 mL 离心管, 加入 1.5 mL (V_0) 超纯水, 涡旋混匀, 静置 30 min,

该浸提过程在冰上完成。10,000 x g 离心 15 min, 取 1 mL (V₁) 上清加入 0.2 mL (V₂) 25% (w/v) 偏磷酸溶液、23.3 μL (V₃) 210 mmol/L 巴豆酸溶液, 混匀后 4 °C 放置 30 min, 之后 8,000 x g 离心 10 min。离心后取 0.3 mL (V₄) 上清加入 0.9 mL (V₅) 色谱甲醇, 涡旋混匀, 8,000 x g 离心 5 min, 取上清用 0.22 μm 针式过滤器过滤至 1.5 mL EP 管中, 上机检测。

检测小肠食糜时, 由于 SCFA 含量较低, 前处理需做适当浓缩处理: 巴豆酸加入量 (V₃) 为 15.2 μL, V₄ 和 V₅ 的比值为 1: 1, 对应标准工作液中加入巴豆酸的体积为 80 μL, 其他不变。

样品中乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸、戊酸的含量 w 分别为

$$\omega = X \times \frac{v_1 + v_2 + v_3}{v_1} \times \frac{v_4 + v_5}{v_4} \times \frac{v_0 \times M}{m_0} \times 100\%$$

(X 为上机测定值, 单位 mmol/L; M 分别为乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸、戊酸的摩尔质量 60.05 g/mol、74 g/mol、88.11 g/mol、88.11 g/mol、102.13 g/mol、102.13 g/mol)

2. 气相色谱测定

色谱条件: 进样口温度 220 °C, 进样量 1 μL, 分流比 50:1; 载气为高纯 N₂, 柱流量 1 mL/min; FID 检测器温度 250 °C, 燃气高纯 H₂ 流量 40 mL/min, 助燃气零级空气流量 400 mL/min, 尾吹气高纯 N₂ 流量 35 mL/min; 色谱柱 HP-FFAP, 柱温箱程序升温: 起始温度 100 °C, 以 20 °C/min 的速度升温至 190 °C, 保持 0.5 min, 运行时间 5 min。

该条件下进行方法学验证, 进行线性、检测限、重现性和加标回收率测定。

二、血清中挥发性脂肪酸的测定

1. 血清样品前处理

取 400 μL (V₁) 血清加入 50 μL (V₂) 25% (w/v) 偏磷酸溶液和 4 μL (V₃) 21 mmol/L 巴豆酸溶液, 混匀后 4 °C 放置 30 min, 10,000 x g 离心 10 min, 取上述溶液 200 μL (V₄) 与 200 μL (V₅) 甲醇混匀, 8,000 x g 离心 15 min, 用 0.22 μm 微孔滤膜过滤至 EP 管中, 上机测定。则血清中乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸、戊酸的含量 w 分别为

$$w = X \times \frac{v_4 + v_5}{v_4} \times \frac{v_1 + v_2 + v_3}{v_1},$$

(X 为上机测定值, 单位 $\mu\text{mol/L}$)

2. 气相色谱测定

色谱条件: 进样口温度 $220\text{ }^{\circ}\text{C}$, 进样量 $1\text{ }\mu\text{L}$, 分流比 50:1; 载气为高纯 N_2 , 柱流量 1 mL/min ; 色谱柱 HP-FFAP, 柱温箱程序升温: 起始温度 $80\text{ }^{\circ}\text{C}$, 维持 1.5 min , 以 $45\text{ }^{\circ}\text{C/min}$ 的速率升温至 $125\text{ }^{\circ}\text{C}$, 维持 2.5 min , 再以 $40\text{ }^{\circ}\text{C/min}$ 的速率升温至 $170\text{ }^{\circ}\text{C}$, 再以 $80\text{ }^{\circ}\text{C/min}$ 的速率升温至 $225\text{ }^{\circ}\text{C}$, 维持 1 min , 运行时间 7.81 min 。FID 检测器温度 $250\text{ }^{\circ}\text{C}$, 燃气高纯 H_2 流量 40 mL/min , 助燃气零级空气流量 450 mL/min , 尾吹气高纯 N_2 流量 35 mL/min 。

该条件下进行方法学验证, 进行线性、检测限、重现性和加标回收率测定。

注意事项

1. 由于食糜样品冻存后分层, 处理样品前, 需在解冻后用小号药匙或牙签等充分搅拌均匀再取样, 若直接挖取冰冻固体样品, 所得结果不能反映真实值。
2. 为防止 SCFA 挥发, 样品解冻过程不能加热, 解冻时样品管应密封。
3. 测定食糜中的 SCFA, 当样品量较少时, 可适当缩减称样量和提取溶剂体积, 准确记录, 后续步骤中涉及的溶液体积须等比例变化。
4. 为保证测得的 SCFA 含量在气相色谱标准曲线线性范围内, 性质不同的样品称样量、加水量均需摸索。由于微生物主要在后肠进行发酵, 本实验涉及对象可为结肠、盲肠食糜和粪便样品。如所测样品中 SCFA 含量极低, 需调整标准曲线范围及内标浓度。
5. 由于血清样品成分复杂, 目标物含量相对较低, 色谱积分区间尽可能设小, 以防杂峰干扰或得到伪数据。
6. 建议检测血清 SCFA 时采用厚液膜 ($1\text{ -}1.5\text{ }\mu\text{m}$) 的极性毛细管柱, 因为厚液膜毛细管柱有更强的保留性能和柱容量, 液膜越厚, 保留性越强, 可在一定程度上提高柱效和色谱响应值。沸点低的化合物或物质 (如血清) 本身保留性能较弱, 采用膜厚 $1\text{ }\mu\text{m}$ 以上的毛细管柱对于 $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下的复杂样品有更好的分离度。

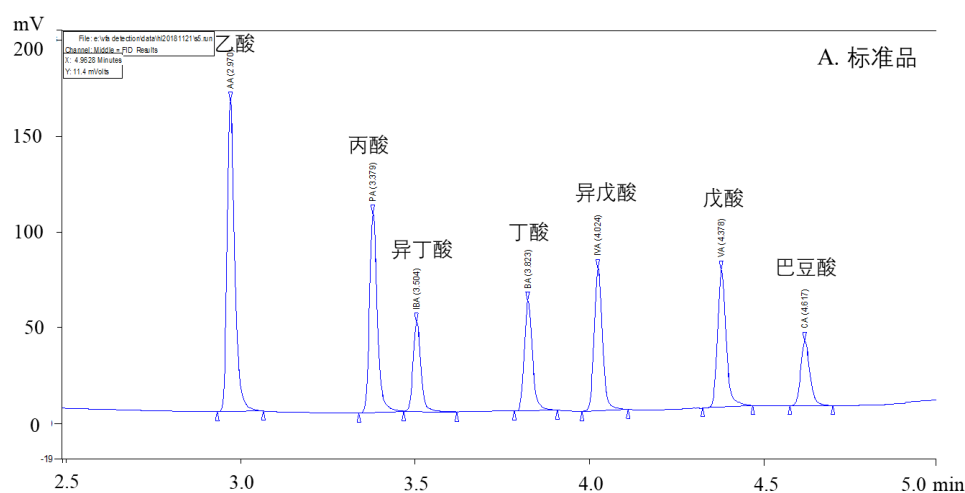
7. 血清 SCFA 检测对仪器状态要求高，进样口和毛细管柱均需维持在最佳状态。建议每测 20 个（针）样品后，回测一针中等浓度标准品，比对前后进样的色谱响应值，以保证样品的响应值无降低，确保数据的可靠性。

结果与分析

一、食糜 SCFA 测定的色谱方法学验证

1. 色谱分离能力

当前色谱条件下，乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸、戊酸混合标准品在 5 min 内完成分离，如图 1. A 所示，保留时间分别为 2.970、3.379、3.504、3.823、4.024、4.378 min，内标物巴豆酸的保留时间为 4.617 min。各组分完全分离，色谱峰窄、无拖尾。该条件应用于结肠食糜样品，如图 1. B 所示，各组分同样得到有效分离，峰形良好。



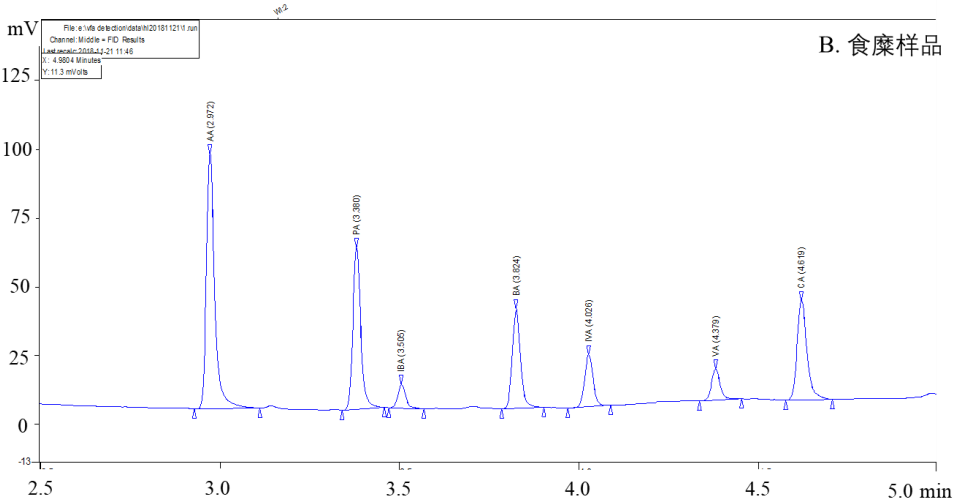


图 1. 猪结肠食糜和粪便样品中的 SCFA 分离色谱图

A. 混合标准品 B. 母猪的结肠食糜样品

2. 线性

如表 1 所示，线性范围满足肠道食糜 SCFA 的测定需求。线性范围内，6 种 SCFA 的线性良好。

表 1. 食糜中 SCFA 测定标准曲线及线性范围

组分	标准曲线	线性相关系数 r 值	线性范围
乙酸	$y = 3.27x + 1.25$	1	2.41-12.03 mmol/L
丙酸	$y = 6.42x - 2.20$	0.999	0.79-3.97 mmol/L
异丁酸	$y = 7.14x + 4.98$	0.999	0.32-1.59 mmol/L
丁酸	$y = 9.27x - 8.07$	0.999	0.32-1.59 mmol/L
异戊酸	$y = 1.26x + 2.25$	0.998	0.31-1.54 mmol/L
戊酸	$y = 1.29x - 5.04$	0.999	0.31-1.54 mmol/L

3. 检测限

该方法下乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸、戊酸的检测限分别为 0.05 $\mu\text{mol/L}$ 、0.08 $\mu\text{mol/L}$ 、0.06 $\mu\text{mol/L}$ 、0.32 $\mu\text{mol/L}$ 、0.01 $\mu\text{mol/L}$ 、0.03 $\mu\text{mol/L}$ 。

4. 重现性

该方法下乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸、戊酸的样品测定重现性良好，变异系数分别为 5.57%、4.61%、2.1%、4.58%、5.73%、4.24%。

5. 加标回收率

该方法下乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸、戊酸的样品加标回收率分别为 90.8%、94.0%、99.0%、95.8%、93.3%、89.6%。

二、血清 SCFA 测定方法学验证结果

1. 色谱分离能力

当前色谱条件下，乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸、戊酸混合标准品在 7.5 min 内完成分离，如图 2. A 所示，保留时间分别为 5.164、5.826、5.999、6.348、6.532、6.804 min，内标物巴豆酸的保留时间为 6.954 min。各组分完全分离，且峰形良好。该条件应用于仔猪血清样品，如图 2. B 所示，各组分同样得到有效分离，峰形良好。

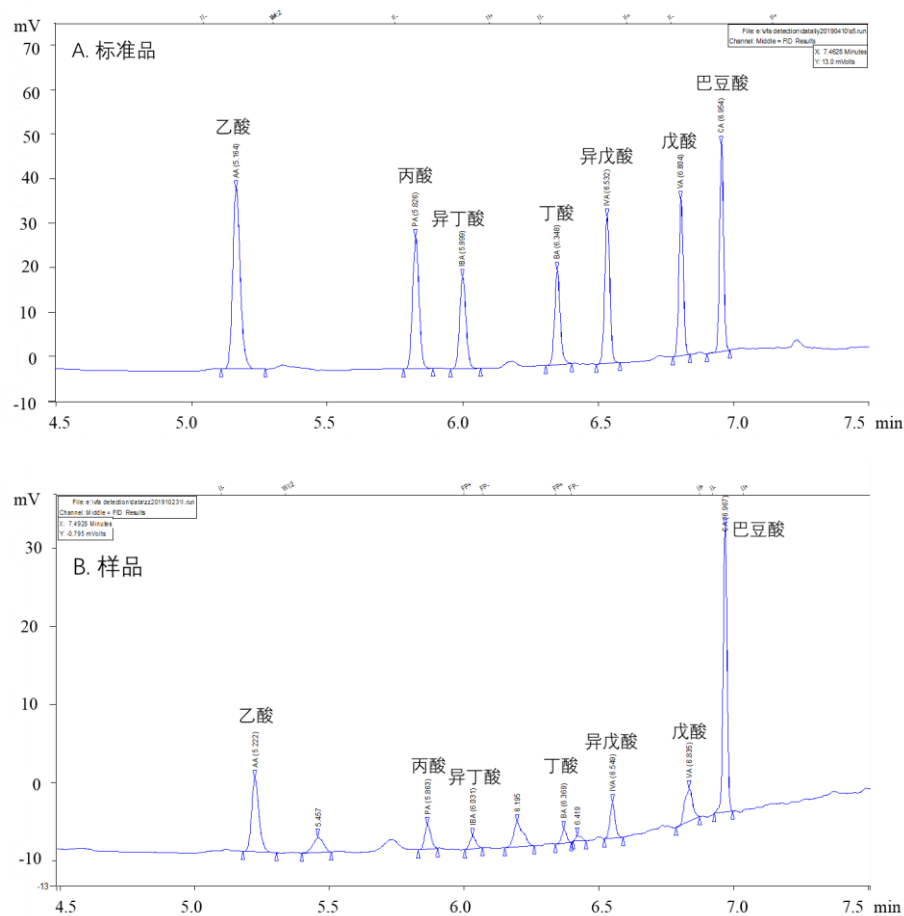


图 2. 血清中的 SCFA 测定色谱图

A. 标准品 B. 仔猪血清样品

2. 线性

如表 2 所示，由于猪血清样品中的 SCFA 含量极低，建议在绘制标准曲线时包括原点。

表 2. 血清中 SCFA 测定标准曲线及线性范围

组分	标准曲线	线性相关系数 r 值	线性范围
乙酸	$y = 3.08x + 1.78$	0.999	26.70-534.06 $\mu\text{mol/L}$
丙酸	$y = 4.82x + 9.44$	0.998	8.82-176.21 $\mu\text{mol/L}$
异丁酸	$y = 1.05x + 2.57$	0.997	3.53-70.59 $\mu\text{mol/L}$
丁酸	$y = 8.02x + 8.38$	0.996	3.53-70.59 $\mu\text{mol/L}$
异戊酸	$y = 1.23x + 1.76$	0.998	3.43-68.51 $\mu\text{mol/L}$
戊酸	$y = 1.10x + 1.93$	0.999	3.43-68.51 $\mu\text{mol/L}$

3. 检测限

该方法下乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸、戊酸的检测限分别为 0.03 $\mu\text{mol/L}$ 、0.18 $\mu\text{mol/L}$ 、0.04 $\mu\text{mol/L}$ 、0.18 $\mu\text{mol/L}$ 、0.01 $\mu\text{mol/L}$ 、0.03 $\mu\text{mol/L}$ 。

4. 重现性

该方法下血清中乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸、戊酸测定的变异系数分别为 11.76%、10.48%、13.91%、10.23%、14.14%、8.45%，较食糜中变异大，但在可接受范围内，符合生物样本的分析要求。

5. 加标回收率

该方法下乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸、戊酸的血清样品加标回收率分别为 75.65%、129.56%、126.50%、92.52%、101.40%、83.01%。血清中 SCFA 回收率较食糜低，主要是血清中干扰物多、目标物含量低导致。

失败经验

由于本实验采用的是进样针直接进样，在检测血清等成分复杂的样品时容易导致进样口和毛细管柱前端污染，色谱响应值变低。因此，大约测定 50 个(取决于色谱柱和样品的

洁净度)样品后,需停止测样,检查进样口和毛细管柱前端,并及时更换衬管,切掉部分毛细管柱前端,老化后重新检测标准品,待响应值恢复即可重新开始检测血清等样品。

测定血清 SCFA 时用标准液膜毛细管柱得到的信号响应值低,分离不理想,误差较大,建议用固定相液膜厚度大于 0.5 μm 的 FFAP 柱。FFAP 毛细管柱固定相为硝基对苯二酸改性的聚乙二醇,具有强极性,适合做弱酸性的强极性化合物分离。厚液膜固定相有更大的柱容量和更强的保留能力,更适用于低沸点化合物的分离。

溶液配方

1. 210 mmol/L 巴豆酸

称取 1.808 g 巴豆酸用纯水溶解,并定容至 100 ml 容量瓶,4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。实验 2 中巴豆酸为 21 mmol/L,即将上述巴豆酸溶液稀释 10 倍

2. 25% (w/v) 偏磷酸

取 25 g 偏磷酸用纯水溶解,并定容至 100 mL 容量瓶,4 $^{\circ}\text{C}$ 保存

3. 标准储备液

用移液枪移取标准品,并用电子天平准确称取 0.91 g 乙酸、0.37 g 丙酸、0.177 g 丁酸和异丁酸、0.199 g 戊酸和异戊酸溶于纯水,混匀后转移并定容至 100 mL,得到浓度分别为 151.54、50.00、20.03、20.03、19.44、19.44 mmol/L 的混合标准品溶液,4 $^{\circ}\text{C}$ 保存

4. 实验 1 标准工作液

取 5 个 1.5 mL 的 EP 管,分别加入 1.0、0.8、0.6、0.4 mL 和 0.2 mL 混合标准储备液,以及 0、0.2、0.4、0.6 mL 和 0.8 mL 超纯水,得到 5 个梯度的中间液

向中间液中分别加入 0.2 mL 25%偏磷酸溶液、60 μL 210 mmol/L 巴豆酸溶液,混匀,4 $^{\circ}\text{C}$ 放置 30 min, 10,000 $\times g$ 离心 10 min,取上清液 0.1 mL 加入 0.9 mL 色谱甲醇,混匀后 8,000 $\times g$ 离心,取上清经 0.22 μm 有机滤膜过滤后备用。此时 5 个水平的标准工作液浓度见表 3。标准工作液现用现配。

表 3. 实验 1 标准工作液浓度 (mmol/L)

编号	乙酸	丙酸	异丁酸	丁酸	异戊酸	戊酸	巴豆酸
----	----	----	-----	----	-----	----	-----

1	2.41	0.79	0.32	0.32	0.31	0.31	1
2	4.81	1.59	0.64	0.64	0.62	0.62	1
3	7.22	2.38	0.95	0.95	0.93	0.93	1
4	9.62	3.18	1.27	1.27	1.23	1.23	1
5	12.03	3.97	1.59	1.59	1.54	1.54	1

5. 实验 2 标准工作液: 取 40 μL 混合标准储备液加入 960 μL 超纯水, 即稀释 25 倍。
取 5 个 1.5 mL 的 EP 管, 分别取 10、25、50、100、200 μL 上述溶液, 加超纯水稀释到 1,000 μL , 混匀得到标准中间液
取中间液 400 μL 分别加入 50 μL 25%偏磷酸溶液, 4 μL 21 mmol/L 巴豆酸溶液, 混匀, 4 $^{\circ}\text{C}$ 放置 30 min, 10,000 $\times g$ 离心 10 min, 取上清液 250 μL 与 250 μL 甲醇混匀, 10,000 $\times g$ 离心 15 min。上清经 0.22 μm 滤膜过滤后备用。此时 5 个水平的标准工作液的浓度见表 4。标准工作液现用现配。

表 4. 实验 2 标准工作液浓度 ($\mu\text{mol/L}$)

编号	乙酸	丙酸	异丁酸	丁酸	异戊酸	戊酸	巴豆酸
1	26.70	8.82	3.53	3.53	3.43	3.43	92.51
2	66.76	22.03	8.82	8.82	8.56	8.56	92.51
3	133.52	44.05	17.65	17.65	17.13	17.13	92.51
4	267.03	88.11	35.30	35.30	34.26	34.26	92.51
5	534.06	176.21	70.59	70.59	68.51	68.51	92.51

致谢

本工作受国家自然科学基金 (31872369、32072743) 和四川农业大学双支计划项目资助, 特致感谢! 目前已应用本实验方案发表文章 20 余篇, 部分如下:

- Zhao, Y. M., Tian, G., Chen, D. W., Zheng, P., He, J., Mao, X. B., Huang, Z. Q., Luo, Y. H. and Yu, B. (2020). [Dietary protein levels and amino acid supplementation patterns alter the composition and functions of colonic microbiota in pigs](#). *Anim Nutr* 6: 143-151.
- Hu, Y. L., Yu, B., Yan, H., Zheng, P., Mao, X. B., Yu, J., He, J., Huang, Z. Q., Luo, Y. H., Luo, J. Q. and Chen, D. W. (2020). [Effects of dietary fibres on gut microbial metabolites and liver lipid metabolism in growing pigs](#). *J Anim Physiol Anim Nutr* 00:1-10.

3. Diao, H., Zheng, P., Yu, B., He, J., Mao, X. B., Yu, J. and Chen, D. W. (2014). [Effects of dietary supplementation with benzoic acid on intestinal morphological structure and microflora in weaned piglets.](#) *Livest Sci* 167:249-257.
4. Diao, H., Zheng, P., Yu, B., He, J. and Chen, D. W. (2015). [Effects of benzoic acid and thymol on growth performance and gut characteristics of weaned piglets.](#) *Asian Austral J Anim* 28(6):927-839.
5. Diao, H., Jiao, A.R., Yu, B., He, J., Zheng, P., Huang, Z. Q., Luo, Y. H., Luo, J. Q., Mao, X. B. and Chen, D. W. (2017). [Stimulation of intestinal growth with distal ileal infusion of short -chain fatty acid: a reevaluation in a pig model.](#) *RSC ADV* 7:30792-30806.
6. Diao, H., Yan, H. L., Xiao, Y., Yu, B., Zheng, P., He, J., Yu, J., Mao, X. B. and Chen, D. W. (2018). [Modulation of intestine development by fecal microbiota transplantation in suckling pigs.](#) *RSC advances* 8:8709-8720.
7. Diao, H., Jiao, A.R., Yu, B., Mao, X. B. and Chen, D. W. (2019). [Gastricin fusion of short chain fatty acids can improve intestinal barrier function in weaned piglets.](#) *Genes Nutr* 14:4.
8. Zhou, H., Chen, D. W., Mao, X. B., He, J., Yu, J., Zheng, P., Luo, J. Q., Gao, J., Htoo, J. and Yu, B. (2018). [Effects of dietary lysine levels on jejunal expression of amino acids transporters and hindgut microflora in weaned pigs.](#) *J Anim Feed Sci* 27(3):238–247.
9. Zhou, P., Zhao, Y., Zhang, P., Li, Y., Gui, T. T., Wang, J., Jin, C., Che, L. Q., Li, J., Lin, Y., Xu, S. Y., Feng, B., Fang, Z. F. and Wu, D. (2017). [Microbial Mechanistic Insight into the Role of Inulin in Improving Maternal Health in a Pregnant Sow Model.](#) *Front Microbiol* (8):2242.
10. Zhou, P., Wang, Y. S., Li, S., Zhao, Y., Deng, K., Chao, D. D., Jin, C., Zhuo, Y., Che, L. Q., Li, J., Xu, S. Y., Feng, B., Fang, Z. F. and Wu, D. (2018). [Effects of prebiotic inulin addition to low- or high- fat diet on maternal metabolic status and neonatal traits of offspring in a pregnant sow model.](#) *J Funct Foods* 48:125-133.
11. Wu, X. Y., Chen, D. W., Yu, B., Luo, Y. H., Zheng, P., Mao, X. B., Yu, J., and He, J. (2018). [Effect of different dietary non-starch fiber fractions on growth performance, nutrient digestibility, and intestinal development in weaned pigs.](#) *Nutrition* 51-52: 20-28.
12. Li, J. Y., Chen, D. W., Yu, B., He, J., Huang, Z. Q., Mao, X. B., Zheng, P., Yu, J.,

- Luo, J. Q., Tian, G. and Luo, Y. H. (2020). [The fungal community and its interaction with the concentration of short chain fatty acids in the faeces of Chenghua, Yorkshire and Tibetan pigs.](#) *Microb Biotechnol* 13(2): 509-521.
 13. Li, J. Y., Chen, D. W., Yu, B., He, J., Huang, Z. Q., Mao, X. B., Zheng, P., Yu, J., Luo, J. Q., Tian, G., Yan, H., Wang, Q. Y., Wang, H. F. and Luo, Y. H. (2020). [The fungal community and its interaction with the concentration of short - chain fatty acids in the caecum and colon of weaned piglets.](#) *J Anim Physiol An N* 104(2): 616-628.
 14. Che, L. Q., Hu, L., Zhou, Q., Peng, X., Liu, Y., Luo, Y. H., Fang, Z. F., Lin, Y., Xu, S. Y., Feng, B., Tang, J. Y. and Wu, D. (2019). [Microbial insight into dietary protein source affects intestinal function of pigs with intrauterine growth retardation.](#) *Eur J Nutr* 59(9): 327-344.
- 参考文献**
1. 耿梅梅, 许丽卫, 袁红朝, 王久荣, 孔祥峰, 王敏. (2015) [气相色谱法测定猪结肠内容物中短链脂肪酸含量](#), *现代生物医学进展*, 15(6): 1010-1014.
 2. 梁丽, 毕倩, 魏佳迪, 杨兴鑫, 俞捷. (2017) [生物样品中短链脂肪酸的分析进展](#), *生命科学仪器*, 15: 9-14.
 3. 谭力, 鞠焜先, 黎介寿. (2006) [生物样品中短链脂肪酸的提取与测定](#), *色谱*, 24(1): 81-87.
 4. 徐运杰, 方热军, 戴求仲. (2007) [短链脂肪酸的营养生理作用](#), *饲料研究*, 8: 26-28.
 5. Al-Lahham, S. H., Peppelenbosch, M. P., Roelofsen, H., Vonk, R. J. and Venema, K. (2010). [Biological effects of propionic acid in humans: metabolism, potential applications and underlying mechanisms.](#) *Biochim Biophys Acta* 1801(11): 1175-1183.
 6. Den Besten, G., van Eunen, K., Groen, A. K., Venema, K., Reijngoud, D. J. and Bakker, B. M. (2013). [The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism.](#) *J Lipid Res* 54(9): 2325-2340.
 7. Koh, A. and Backhed, F. (2020). [From Association to Causality: the Role of the Gut Microbiota and Its Functional Products on Host Metabolism.](#) *Mol Cell* 78(4): 584-596.
 8. Lederberg, J. (2000). [Infectious history.](#) *Science* 288(5464): 287-293.

- 296 9. Louis, P. and Flint, H. J. (2009). [Diversity, metabolism and microbial ecology of](#)
297 [butyrate-producing bacteria from the human large intestine](#). *FEMS Microbiol Lett*
298 294(1): 1-8.
- 299 10. Luo, C., Cai, S. Y., Jia, L. Y., Tang, X., Zhang, R. N., Jia, G., Li, H., Tang, J. Y., Liu,
300 G. M. and Wu, C. M. (2015) [Study on Accurate Determination of Volatile Fatty](#)
301 [Acids in Rumen Fluid by Capillary Gas Chromatography](#). *Conference: 5th*
302 *International Conference on Information Engineering for Mechanics and Materials*
303 386-391.
- 304 11. Wilkinson, A. and McNaught, A. D. (1997) [Compendium of chemical terminology](#)
305 [M]. 2nd edition, IUPAC.