



2006年第27卷第1期
(总第262期)
(1980年创刊)

主办单位: 辽宁省农牧业机械研究所
编辑出版: 饲料工业杂志社
地址: 沈阳市金沙街16号6门
邮编: 110036
电话: 总编室(024)86391923
编辑一室(024)86391926(传真)
编辑二室(024)86391925(传真)
网络发行部(024)86391237
投稿邮箱: lg@feedindustry.com.cn
网站: www.feedindustry.com.cn
责任编辑: 陈广鹏
副总编辑: 沈桂芳
责任编辑: 王芳
广告全权代理: 沈阳阳光广告有限公司
常务副总经理: 宋立南 林勇
业务内勤: 刘占
地址: (110056) 沈阳市长江街126号甲
B座4单元16楼
电话: (024)86276137 86276627
传真: (024)86276127
邮箱: ggh@feedindustry.com.cn
印刷: 辽宁省印刷技术研究所
国内发行: 辽宁省报刊发行局
国外发行: 中国国际图书贸易总公司(北京399信箱)
出版日期: 每月5日、20日出版
国外代号: M4290
刊号: ISSN 1001-591X
号: CN21-1169/S
邮发代号: 8—163
发行范围: 国内外发行
广告许可证: 辽广(工商)字01-82号
开户行: 中信实业银行沈阳分行盛京支行
帐号: 72214101826000139-27
每册定价: 6.00元

如蒙赐教本刊文章及图片, 请注明
摘自《饲料工业》杂志, 并寄样刊。

饲料

SILIAO GONGYE

(半月刊)

目次

- 刊首篇** 本刊编辑部
■1 新年寄语
专家论坛
■2 痼牛病的研究动态和我国防控体系建设
工艺设备
■7 提高饲料产量的有效途径——配料混合系统的改造研究
■10 一种自动配料控制软件的设计 芮国新
肽营养
■13 小肠的吸收机制与营养研究进展
■16 蛋白质营养中小肽的研究新进展
营养研究
■19 大豆凝集素(SBA)对动物的抗营养作用
■25 支链氨基酸及其在泌乳母猪营养中的研究现状
试验研究
■27 膨化大豆在仔猪日粮中适宜配合比例的研究
■30 水飞蝇复合饲料对猪生长性能及日粮养分消化率的影响
■33 不同系酸力饲料对断奶仔猪生产性能和腹泻的影响
饲养试验
■35 复合蛋白饲料替代豆粕饲喂蛋鸡作用效果

- 37 酶解蛋白对肉仔鸡生长性能及血清生理生化指标的影响
■40 多抗甲素复合预混料饲喂肉用仔鸡的效果研究
饲料生产
■42 超早期断奶仔猪液态饲料的加工技术研究初报
■47 浅谈饲料生产质量管理
检测技术
■49 硫酸锰中钙镁的测定
■50 草鱼对血球蛋白粉离体消化的研究
反刍动物营养
■52 过瘤胃脂肪的研究进展
■55 奶牛的粗纤维营养 包海生 左福元
工作研究
■58 总结经验加大力度更好地推进饲料与食品安全工作
企业纵横
■62 饲料企业人才流失原因及对策 韩鹏飞
编读互动 (美国大豆协会协办)
■64 来自饲料厂和养殖场生产第一线的若干问答(二十三)
信息采撷
■32 六项税收优惠政策扶持家禽养殖业
■41 饲料产品首次进入国家免检行列
■54 热烈祝贺“感恩励志”助学工程启动仪式圆满成功

企业标识展示



江苏万佳
1-冠美衣
(021)59446758



江苏万佳
通商集团
(028)85188888



江苏正昌
(0519)7309988



江苏正昌
(0514)7848811



江苏保来
(0519)7966666



江苏保来
(0519)8309988



江苏松山
(0455)7713833



江苏松山
(0571)86433111



江苏style
(010)68919590



江苏style
(010)62146105



江苏华兴
(0510)3797866



江苏华兴
(0510)3791888



江苏万成
(010)88597542



江苏万成
(020)6136868



海大
(020)84661599



海大
(027)83560722

饲用抗生素的促生长作用机制及其替代技术研究

佟建明

摘 要 饲用抗生素是一种畜禽促生长剂,在畜牧生产上的应用已有 50 多年的历史。改革开放以来,我国一直重视饲用抗生素的研究,特别是近十年来,在国家“八五”和“九五”科技攻关项目支持下,我国在对饲用抗生素基础研究和产品生产方面都取得了显著成绩。在产品上,从原来全部依赖进口转变为今天的 100% 自主研制和生产,并有批量出口。在促生长机制等基础研究方面,研究提出了饲用抗生素的免疫屏障促生长作用机制,建立了饲用抗生素、免疫系统和肠道微生物三元平衡关系;揭示了饲用抗生素与免疫增强剂在促生长效果上的辩证关系,初步建立了多靶点筛选研究模型,为今后研究新的畜禽促生长剂以及饲用抗生素替代技术奠定了基础。饲用抗生素是一种药,目前关于对其合理使用和替代技术研究已引起科学界的广泛关注。另外,由于其关系到食品安全和人体健康,因此,饲用抗生素问题也已成为社会广泛关注的热点。欧盟已首先公布了禁止饲用抗生素的法令,世界其它国家政府也在研究对策。植物提取物和有益微生物是研究替代饲用抗生素的重要途径,目前在实验室内已获得成功。今后应加强对饲用抗生素安全性方面的研究,从系统科学出发,以提高畜产品质量为目的,研究开发行之有效的饲用抗生素的安全技术和替代技术,兴利除弊,促进畜牧经济发展。

关键词 饲用抗生素;促生长机制;替代技术

中图分类号 S859.79⁺6

近年来由于饲料安全问题引发的食品安全问题屡屡发生,使众多消费者在购买畜产品时总是心有余悸。造成饲料不安全的因素很多,其中饲用抗生素是目前众所关注的重要因素之一。目前在饲料中广泛使用的抗生素产品主要来源于人医淘汰品种,或与人医抗生素具有交叉抗药性的产品。这些抗生素在饲料中的大量使用会造成药物残留和抗药性,进而对人类传染病的医治和微生态环境构成潜在威胁。近年来,世界各国纷纷采取多种形式解决饲用抗生素问题,然而,总体来讲收效不大。作者分析其主要原因在于两个方面:①缺乏对饲用抗生素促生长作用机制的科学解释;②没有成熟的替代技术。下面就国内外对饲用抗生素的促生长作用机制的研究结果进行综述,并简要介绍一下我们在替代技术方面所做的一些阶段性研究工作,供大家参考。

1 饲用抗生素促生长机制研究

1.1 饲用抗生素对肠道微生物的影响

长期以来,人们一直认为饲用抗生素的促生长作用是源于其对肠道微生物的抑制作用。然而,通过对大量的研究结果进行分析,结论并非如此。分析结果

表明,饲用抗生素使大肠杆菌上升 78%,下降和无效的分别为 17%和 5%;乳酸杆菌上升 29%,下降和无效的分别为 53%和 18%;需氧菌总数上升 45%,下降和无效分别为 45%和 10%;厌氧菌总数上升百分比为 18%,下降和无效分别为 73%和 9%(佟建明 1999)。Lev 等(1959)分别用产气荚膜杆菌、大肠杆菌、乳酸菌、葡萄球菌进行无菌鸡单独感染,发现只有产气荚膜杆菌具有降低鸡的生长速度的作用,而且通过在饲料中添加青霉素可以消除该菌对生长的抑制作用,建议以此菌作为检测饲用抗生素是否具有促生长作用的标准菌。Stutz(1983,1984)研究了产气荚膜杆菌对几种抗生素的敏感性和该菌与肉仔鸡生长之间的关系,发现该菌在肠道中的数量变化与肉仔鸡的生长存在负相关,具有促生长作用的抗生素对该菌都有抑制作用。Dafwang(1985)又对自然环境中和肠道内的产气荚膜杆菌数量、毒素的产生和与肉仔鸡生长之间的关系进行了系统研究,他发现肠道中的细菌和单纯培养出来的细菌,在形态学上存在相当大的差异,并认为仅以某一种菌为标准可能会得出错误的结论。由于饲用抗生素对肠道微生物影响的研究结果很不一致,至今尚不能从抗生素的抑菌作用方面明确解释其促生长机制。

大量的有关饲用抗生素影响肠道微生物的研究报告中,在取样方法上一般只在实验期间取一次样,

佟建明,中国农业科学院畜牧研究所,研究员,博导,100094,北京市海淀区圆明园西路 2 号。

收稿日期:2005-12-28

而且大多数在实验的后期,普遍存在取样次数偏少的现象。作者认为这种现象的出现是由于人们缺乏对饲用抗生素与医用抗生素之间差别认识,从而在研究手段上缺乏针对性。可能正是这个原因,导致以前对饲用抗生素影响肠道微生物的研究结果的差异,以至于至今对此没有明确的结论。针对这个问题,佟建明等(1998)采用多次屠宰连续采样的方法,对金霉素影响肠道微生物的结果以及在动物不同生长阶段时的变化情况进行了研究。研究结果表明,金霉素对大肠杆菌、乳酸菌和双歧杆菌可以产生明显的抑制作用,但是,抑制作用并不是永久性的。另外,金霉素对不同细菌的抑制作用效果不同,对双歧杆菌和乳酸菌的抑制作用较弱,持续时间较短;对大肠杆菌的抑制作用较强,持续时间也较长。通过分析肠道中大肠杆菌的变化规律与肉仔鸡生长的关系,我们发现肠道中大肠杆菌数量的高低变化与金霉素促生长作用的变化呈高度负相关。当金霉素对肠道中的大肠杆菌产生明显抑制时,肉鸡的生长速度明显增加;当金霉素对大肠杆菌的抑制作用消失后,肉仔鸡的生长速度也恢复正常水平。由此说明,金霉素对肉仔鸡生长前期的促生长作用比后期明显的原因与其抑制肠道中大肠杆菌有关。但是金霉素只对肉仔鸡 0~4 周肠道中大肠杆菌产生明显抑制的原因还不清楚,有待进一步研究。姚浪群(2000)在研究安普霉素持续喂猪效果时,发现安普霉素对仔猪具有促生长作用,同时发现对肠道中大肠杆菌具有抑制作用,但对乳酸菌和双歧杆菌没有显著抑制作用。说明安普霉素的促生长作用与其抑制大肠杆菌有关。

1.2 饲用抗生素的免疫调节作用

20 世纪 90 年代以前,关于饲用抗生素对畜禽免疫机能的影响效果与其促生长作用的关系研究较少,结果也很不一致。Glick(1968)研究认为,抗生素可以降低切除法氏囊鸡的死亡率。Dafwang(1985)研究发现,抗生素可以促进法氏囊的发育。Naqi(1984)的研究认为,抗生素的促生长结果与免疫系统无关。Roura(1992)等在用青霉素、链霉素和土霉素研究抗生素对肉仔鸡的促生长机制的试验中发现,青霉素和链霉素可以明显降低血浆中白细胞介素-1 的水平,并同时观测到肉仔鸡的体增重和饲料转化率明显提高,结果表明抗生素对肉仔鸡的促生长效果与血浆中白细胞介素的水平呈负相关关系。另外,当给肉仔鸡注射沙门氏杆菌脂多糖后,肉仔鸡生长明显受到抑制;相应地,肝脏、脾脏和小肠指数(相对体重的重量)明显增

加。当饲料中含有 100mg/kg 土霉素时,上述症状得到明显改善。Roura 首次提出了抗生素的促生长作用可能与其抑制免疫反应有关。

Roura(1992)等的研究工作使抗生素影响免疫机能的研究取得了突破性进展。Abd 等(1996)用阿伏霉素和维吉尼亚霉素作为促生长剂,研究了抗生素的促生长作用与免疫系统的关系。结果发现两种抗生素可以明显提高肉仔鸡的生长速度,同时还观测到处理组鸡的法氏囊重量显著降低,另外,血清中羊红细胞(SRBC)特异性抗体、 γ -球蛋白浓度、皮试验反应、嗜异性和嗜伊红性粒细胞计数都显著降低,再次说明饲用抗生素的促生长作用与其抑制免疫反应有关。McCutcheon(1989)、Heugten(1996)等研究者认为,抗生素的促生长作用的机制可能是抗生素改善了饲料的适口性或对动物机体的免疫系统产生影响,从而对机体的整体代谢产生促进作用。佟建明(2001)研究发现,金霉素对肉仔鸡的体液免疫和细胞免疫都产生明显的抑制作用,同时还发现随肉仔鸡免疫水平的降低,其血氨浓度、血液尿酸浓度相应降低,日采食量和生长速度显著增加。因此,金霉素的促生长作用与其降低免疫反应水平有关。潘淑媛(1999)研究发现,安普霉素对肉仔鸡的免疫机能有一定抑制作用,同时具有促生长作用。张日俊等(2000)研究发现,卑霉素和那西肽等对肉仔鸡的免疫系统发育都有不同程度的抑制作用,但同时也发现它们的促生长作用。

1.3 饲用抗生素与动物免疫系统和肠道微生物的三元平衡关系及其作用

研究表明,饲用抗生素以小剂量、长时间添加于饲料中,与大剂量治疗用抗生素有很大差别,对微生物的数量可能只起调节作用。另外,Porter(1989)研究发现,无菌条件下,5 周龄的猪肠壁组织中几乎没有淋巴组织发现;当单独用大肠杆菌进行攻毒,10d 内肠壁组织结构就与常规猪的相同。由此说明,动物肠道中的微生物与宿主之间有相互适应的过程。自然条件下,动物可以依靠免疫系统的保护,使自身不受微生物的侵害。因此,微生物与宿主的适应过程实际上是与宿主免疫系统产生平衡的过程。佟建明等(1995)研究发现,相同剂量的抗生素在不同饲养环境中,促生长作用效果不同,这说明动物机体内部环境可能因外界条件的差异而发生变化,从而抗生素的促生长效果随之发生改变。

分析国内外过去及最新的研究结果,我们认为饲用抗生素、免疫系统和微生物(以及其它抗原物质)通

过一定时间的相互影响会逐渐建立一个三元平衡,而且这个三元平衡影响着抗生素是否具有促生长作用。三者之间建立平衡的过程可以分为两个时期:一是反应期。在这个时期,新生的畜禽受环境中微生物以及饲料中抗原物质的刺激,机体的免疫系统开始产生免疫反应,饲用抗生素对微生物产生一定的抑制作用,同时有的抗生素还可以对免疫系统起直接的抑制作用,两种作用之合形成免疫屏障作用,对动物机体的免疫反应产生减缓和降低的作用效果。饲用抗生素在此期间以此对动物产生相对明显的促生长作用。二是平衡期。这个时期,肠道微生物的数量增加到正常情况下的最高水平,抗生素与免疫系统联合作用使微生物的数量和免疫反应水平不再增加,三者的正反作用在此时形成相对平衡,饲用抗生素对动物不产生相对明显的促生长作用。三元平衡的存在和维持有利于畜禽保持最佳生长状态,而且对畜禽后期生长具有重要意义。饲用抗生素与医用抗生素的最大区别在于前者的低剂量和持续使用,在这种情况下,二者是否具有相同的作用特点,目前尚缺乏定论。

2 饲用抗生素替代技术研究

2.1 天然植物抗菌活性成分研究现状

天然药物添加剂是我国饲料添加剂研究中的一个薄弱环节,20世纪80年代以来虽然做了大量的工作,但多限于对以往中兽药单方及复方的临床总结验证,很少有突破。应用上多数是将药材直接粉碎后添加进饲料中,从原料药到制成产品均缺少严格的质量标准。1990年版兽药典收录的81种复方制剂中,97.5%为散剂,均无含量测定项。由于严重缺乏在植物化学、药理及药代动力学方面的研究,目前中药有效成分还很难确定,对其质量无法进行科学控制或精确控制,实际应用中,明显存在添加量大、吸收差、药效不稳定的问题,因此,目前中药容易被非专业人员误认为“玄医”和“江湖医术”。在社会上,更有一些不法分子利用中药的这一弱点,借机制造假冒伪劣产品,坑害用户,不仅给用户造成直接经济损失,而且严重损害了我国中药的形象。要改变中药现状,努力实现其标准化是关键技术之一。另外,中医“症”的概念与现代医学疾病的概念差异甚大,如果完全按照中医传统理论进行中药研究,必须首先建立符合有关“症”的动物模型,目前医药研究领域已建立许多疾病的动物模型,然而尚没有建立“症”的动物模型,中医研究任重道远。

“九五”期间,我们参加了“植物提取添加剂研究

与开发”和“植物来源免疫增强剂研究与开发”国家科技攻关专题。我们根据前期研究结果和现代医学理论,首先通过研究明确某些细菌、病毒和免疫技能与动物生长之间的关系,确立作用靶位,并以此为基础建立筛选模型,对有效成分、提取工艺和实用产品进行了系统研究。筛选出具有抗菌、抗病毒活性成分11种,具有免疫活性成分4种,提取工艺2套。为今后植物药研究和产业化奠定了基础。

2.2 微生物饲料添加剂现状

饲用微生物添加剂的应用在我国具有悠久的历史,近年来又得到了多方面开发和广泛应用。我国最新公布允许在饲料中作为添加剂使用的微生物有15种,这标志着我国对微生物饲料添加剂产品开始了规范化管理。目前我国微生物饲料添加剂的主要产品形式包括活菌液和干活菌,所用微生物种类主要有乳酸杆菌、芽孢杆菌、复合菌等。据不完全统计,生产厂家已有100多个,产量逐年增加,生产规模已初步形成。然而,由于多方面的原因,在实际生产和应用中存在着许多突出问题,例如生产技术不规范、产品质量参差不齐、效果不确切等,这些问题严重制约着微生物饲料添加剂的发展。另外,由于没有明确的评定规程、产品标准和规范的检测技术,对微生物饲料添加剂产品缺乏必要的监督制约,致使一些质量低劣的产品流入市场,盲目滥用,甚至有害病原菌也掺杂其中。这不仅危害牲畜健康,而且造成环境污染,以至于威胁人类健康。

目前,我国的微生物饲料添加剂生产和应用在管理、质量监督、标准、检测技术等方面都还不完善,国外的一些微生物饲料添加剂产品有许多未经批准就在国内生产推广销售。有些产品自称包含几十种微生物,有的还宣传具有多种神奇功能,等等。由于目前国内相应的产品标准和检测手段尚不完善,因此,对进口产品的管理及监督都缺乏有效的科学手段,从而造成极大的安全隐患。

2.3 饲用抗生素及其替代技术的发展趋势

我国是一个畜牧生产大国,随着人民生活水平的不断提高,畜产品质量已成为消费者购买时的关键性指标。随着市场经济的发展,今后畜牧生产也将主要取决于消费者的消费需求。近几年来,抗药菌株的比率不断增加,人类医治细菌传染性疾病的难度越来越大,人们对饲用抗生素的反对意识日趋强烈,因此,饲用抗生素在我国的应用将受到限制。另外,改革开放以来,我国一直重视对饲用抗生素的研究,特别是通

过“八五”和“九五”国家科技攻关,使我国饲用抗生素的研究与生产发生了翻天覆地的变化,由原来百分之百依赖进口,发展成为完全自行研制生产,并有批量出口。今后,应加强对饲用抗生素安全方面的研究,特别是对那些对动物和人体毒副作用尚不明显的抗生素更应从环境生态毒性、分子生态毒性加强安全性研究,以兴利除弊。

目前,国内外正在研究开发饲用抗生素的替代技术。我们应充分认识到,饲用抗生素对动物、环境、食品等多方面的不良作用是客观存在的,我们除了尽快研究开发替代技术和产品的同时,应该树立健康养殖的概念,自觉克服对饲用抗生素的依赖性。

参考文献

- 佟建明,肖希龙,萨仁娜,等.不同饲养条件下金霉素对肉仔鸡的作用效果.中国饲料,1995(22):17~19
- 佟建明,张日俊,萨仁娜,等.持续、低剂量金霉素对肉仔鸡免疫机能的抑制作用研究.中国农业科学,2001,34(2):200~204
- 佟建明.饲用金霉素对肉仔鸡生产性能、肠道微生物和免疫功能影响研究.中国农业科学院研究生院博士论文.1999.9~11
- 佟建明,高星,萨仁娜.金霉素对肉仔鸡生长及肠道微生物繁殖的影响.中国饲料,1998(17):10~11
- 张日俊,黄成宇,萨仁娜,等.安普霉素对肉仔鸡生产性能、免疫系统发育及其免疫功能的影响.饲用抗生素研究与应用.中国农业大学出版社,2000.34~38
- 张日俊,萨仁娜,张丽,等.卑霉素对肉仔鸡生产性能、免疫系统发育及其免疫功能作用效应的研究.饲用抗生素研究与应用.中国农业大学出版社,2000.43~47
- 张日俊,潘淑瑗,萨仁娜,等.那西肽对家禽免疫系统发育及其免疫功能作用效应的研究.饲用抗生素研究与应用.中国农业大学出版社,2000.146~150
- 姚浪群.安普霉素对仔猪蛋白质营养、内分泌和低温应激影响的研究.中国农业科学院研究生院博士论文.2000.60~75
- Abd-ET-Aziz-MT, Agag-AE. Influence of some antibiotics used as growth promoters on immune response of chickens. Assiut veterinary medical Journal.1996(35):69, 64~75
- Dafwang I I. Studies on the subtherapeutic use of dietary antibiotics and the nutritional value of aerobically fermented poultry manure for broiler chicks. Ph. D. Thesis Departments of Poultry Science and Nutritional Science University of Wisconsin, Madison.1985
- Glick B. The immune response of bursaless birds as influenced by antibiotics and age. Proceedings of The Society for Experimental Biology and Medicine, 1968(127): 1 054~1 057
- Heugten, E. van, Coffey, M. T. and Spears, J. W. Effects of immune challenge, dietary energy density, and source of energy on performance and immunity in weanling pigs. J. Anim. Sci., 1996(74): 2 431~2 440
- Mc Cutcheon S N. The use of growth promoting agents. Occasional Publication, New Zealand Soc. Animal Prod. Nut., 1989(11):113~123
- Naqi S A, Shain N, Wagner G, et al. Adverse effects of antibiotics on the development of gut-associated lymphoid tissues and the serum globulins in chickens. American Journal of Veterinary Research, 1984(45): 1 425~1 429
- Porter, P. and W. D. Allen, The relationship between intestinal flora and the immunity of the intestinal tract. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz., 1989,8(2):465~489
- Roura E, Homedes J, Klasing KC. prevention of immunologic stress contributes to the growth permitting ability of dietary antibiotics in chicks. Journal Nutrition, J Nutr., 1992, 122 (12):2 383~2 390
- Stutz M W, and Lawton G C. Effects of diet and Antimicrobials on growth, feed efficiency, intestinal Clostridium perfringens, and ileal weight of broiler chicks. Poultry Sci. 1984(63):2 036~2 042
- Stutz M W, Lawton G S. Effect of diet and antimicrobial on growth, feed efficiency, intestinal C. Perfringens, and ileal weight of broiler chicks, Poultry Sci., 1984(63):2 036~2 042
- Stutz M W, Johnson S L, Judith F R. Effect of diet, bacitracin, and body weight restrictions on the intestine of broiler chicks. Poultry Sci., 1983(62):1 626~1 632
- Stutz M W, Johnson S L, Judith F. R., Muir L. A., Effect of the antibiotic thiopeptin on C. Perfringens and growth and feed efficiency of broiler chicks, Poultry Sci., 1983(62):1 633~1 638
- Stutz M W, Johnson S L. and Miller, B. M. In vitro and vivo evaluations of the antibiotic Erythromycin. Poultry Science 1983a(62): 1 612~1 618
- Stutz M W, Johnson S L, Judith F R. Effects of diet, and bacitracin on growth, feed efficiency and populations of clostridium perfringens on the intestine of broiler chicks. Poultry Science, 1983b(62): 1 619~1 625
- Stutz M W, Johnson S L, Judith F R, et al. Effect of the antibiotic thiopeptin on clostridium Perfringens and growth and feed efficiency of broiler chicks. Poultry Science, 1983d(63):2 036~2 042

(编辑:高 雁, snowyan78@tom.com)

· 作者简介 ·

佟建明,中国农业科学院畜牧研究所,研究员,博士生导师,动物营养与饲料研究室副主任,全国饲料评审委员会委员,全国饲料标准化委员会委员,中国畜牧兽医学会动物营养学分会副秘书长,中国动物营养科学发展基金会秘书长。曾荣获中央国家机关首届青年实用成果“十佳”成果奖1项,中国农科院科技进步一等奖成果1项,国家重点科技攻关计划优秀科技成果奖1项,国家“八五”科技攻关先进个人。

主要从事营养免疫学基础研究,针对饲料安全问题,研究开发了实用的饲料生物技术。曾主持完成国家“八五”和“九五”重点科技攻关专题3项;参加完成国家“九五”重点科技攻关专题3项;正在主持国家“十五”重大科技攻关课题1项,国家“863”子课题1项,国家基础性研究课题2项。累计发表论文30余篇。其中,在国内外核心期刊上发表论文19篇。主编著作有《饲用抗生素研究与应用》、《饲料检测手册》、《饲料配方手册》、《饲料添加剂手册》、《蛋鸡无公害综合饲养技术》等;副主编著作有《饲料安全工作手册》、《饲料添加剂使用规范》等。

A3 α 肽聚糖不同投喂方式下牙鲆血清及组织中相关酶的变化

周 进 宋晓玲 陈国福 王秀华 黄 捷

摘 要 实验研究了不同投喂方式下,牙鲆口服 A3 α -PG(A3 α 肽聚糖)对其血清及组织中超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)、酸性磷酸酶(Acid phosphatase, ACP)及碱性磷酸酶(Alkaline phosphatase, AKP)活力的影响。结果表明,不同投喂方式对各组织(肝脏、肾脏、肌肉、粘液)中的 SOD、ACP 和 AKP 的诱导能力各异。各实验组与对照组相比,不同投喂方式下对 SOD 的影响,在肝脏、肾脏、肌肉中未见显著差异($P>0.05$);而粘液中的 SOD 活力在“连续”组、“1+1”组和“4+3”组上升较快,其值约为对照组的两倍,差异显著($P<0.05$)。ACP 活性在肝脏中以“连续”组和“1+1”组诱导力最强,其与对照组、“4+3”及“7+7”组相比差异显著($P<0.05$);而肾脏和肌肉中 ACP 活力在实验中未表现出差异显著性($P>0.05$)。AKP 活力在肌肉与粘液中各饲喂频度下未见明显差异;而仅在肝脏与肾脏中表现出对 AKP 的增强作用,尤以“连续”组和“1+1”组最为明显($P<0.05$)。就不同口服方式下,A3 α -PG 对牙鲆血清中酶活的影响,其诱导能力是有限的,SOD 和 AKP 在血清中的水平均未见明显提高,各实验组与对照组相比基本持平。ACP 活性也只在“1+1”方式下有较大提高,并显现出与对照及其它各组之间的差异显著性($P<0.05$)。此次实验结果显示,A3 α -PG 作为一种天然的免疫多糖,能对牙鲆体内氧化酶与水解酶系统产生积极的调理作用,但其作用效果并非以不间断的连续刺激好,而是存在一个较为合适的刺激频度及投喂方式的选择。从实验的总体结果来看,对以上 3 种酶的调节力以“1+1”和“4+3”方式为好。

关键词 A3 α -PG;SOD;ACP;AKP;牙鲆;影响

中图分类号 S965.399

免疫增强剂作为一种有效的改善机体免疫能力、促进生长、提高抗病力的物质在水产养殖中有着广泛的应用。各种免疫增强剂在应用中有多多种使用方法,常见的有注射、浸泡、口服等。就口服而言,因其具有使用方便、操作简单等优点,被较广泛的采用(Sakai 1999)^[1]。在实际使用过程中,一方面我们看到了口服免疫调节剂确有提高免疫力的功效;但另一方面也有因剂量过大、服用期较长而引发一些负面影响(Sakai 1999)^[2]。在最佳剂量确定后,如何选择一个适当的投喂频度有利于免疫力的提高而不导致免疫疲惫是生产过程中值得探讨的话题。然而目前的口服法均以连续方式为主,对最佳饲喂方式的筛选较为鲜见。本实验以此为切入点,以血清与组织中的 SOD、ACP 及 AKP 为评价指标,用以甄选出的一套最佳的投喂方式,目的在获得免疫改善的同时节约生产成本,取得“双

赢”的效果。

1 材料和方法

1.1 A3 α -PG 胞壁肽聚糖

A3 α -PG 由黄海水产研究所病害研究室从细菌细胞壁中提取获得。用于本次实验的 PG 为粗制品。

1.2 实验动物

实验用牙鲆于 2004 年 8 月 1 日购自烟台市海阳养殖场。选择体态健康、大小基本一致的个体[(平均体重(121.4 $\pm$ 23.5)g)],暂养两个星期,稳定后用于实验。

1.3 饵料制备

饲喂饵料选用黄海水产研究所生产商品鱼用饲料(粉状,其主要配方为鱼粉 50%、花生饼 24%、小麦粉 12%、麸皮 5%、鱼油 5%、维生素 1%、矿物质 3%),制粒前加入 40%的鲜鱼糜作为粘合剂。肽聚糖先与鱼糜充分混合,再一同与粉状商品料逐级均匀混合,以确保所加肽聚糖在饲料中的均一性。添加浓度为 3.84g/kg,对照组不添加 A3 α -PG。借用小型制粒机制成适口的湿颗粒饵料,于-18℃冻存,投喂前解冻。

1.4 实验设计与投喂

实验共分 4 个实验组与 1 个对照组,每组牙鲆 12 尾,分养于 5 个水族缸内(550L)。实验期间的投喂方式

周进,华东理工大学生物反应器国家重点实验室,博士,200237,上海梅陇路 130 号华东理工大学 936 信箱。

宋晓玲、陈国福、王秀华、黄捷(通讯作者),中国水产科学研究院黄海水产研究所。

收稿日期:2005-09-19

见表1。实验全过程采用微流水养殖(日换水量为300%),24h连续充气,日吸污两次。实验期间水温(21 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,pH值 7.2 ± 0.1 ,每日投饵两次(9:00;16:00),投喂量为鱼体重的4%。

表1 实验期间的投喂方式

对照组	实验组			
	投续投喂	“1+1”方式	“4+3”方式	“7+7”方式
全程投喂	全程投喂	1d 实验料+	4d 实验料+	7d 实验料+
对照料	实验料	1d 对照料	3d 对照料	7d 对照料

注:对照料为不添加肽聚糖的饲料;实验料为添加肽聚糖的饲料,添加量3.84g/kg。

1.5 样品的制备

实验至6星期后每组统一取样,其中肝脏、肾脏(头肾)、肌肉的获取采用常规法,体表粘液的收集参照陈昌福^[2]和Irie^[3]的方法进行。先用洁净海水冲洗鱼体表,去除部分污物,后用灭菌生理盐水洗涤1~2次,用吸水纸吸掉多余水分。用干净玻片从鱼体鳃盖后缘开始轻轻刮取体表粘液,将Eppendorf管置于鱼体尾部,借助重力收集粘液入管内。鱼血清的获得采用1ml注射器从尾静脉采血,低温静置1h后,于4 $^{\circ}\text{C}$ 离心(1 000r/min,10min),取上清液分装,于-70 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

1.6 样品的处理

1.6.1 组织匀浆

分别取肌肉、肝脏和肾脏,经灭菌生理盐水润洗、吸水纸吸去表面水分后称重,取各组织块0.2g,加入9倍重量的生理盐水(1.5%),冰浴匀浆后于4 $^{\circ}\text{C}$ 离心(10 000r/min,20min),取上清粗酶液待测。

1.6.2 粘液的处理

先将收集有粘液的Eppendorf管于4 $^{\circ}\text{C}$ 下低速离

心,用枪头吸掉管底部的重力水,称重记录数据。以空Eppendorf管(20个管的平均值)扣除管的重量,得到粘液净重,按所得的粘液净重加入9倍重量的生理盐水,匀浆离心,后续操作同上。

1.7 酶活力的检测方法

SOD、ACP和AKP的测定,均采用南京建成生物公司提供的检测试剂盒,相应操作遵照说明书进行。其中SOD按黄嘌呤氧化法,其活力单位定义为每毫克组织蛋白在1ml反应液中抑制SOD率达50%时,所对应的SOD量为一个亚硝酸盐单位,结果用NU/mg表示;ACP和AKP的测定采用磷酸苯二钠法,以每克组织蛋白在37 $^{\circ}\text{C}$ 与底物作用15min产生1mg酚者为1个金氏单位,以Units/g表示。

1.8 血清及组织中蛋白质含量

采用Bordorf^[4]提供的方法进行,以考马斯亮蓝为指示剂,测定在595nm处的吸光值(1cm光径下)。以牛血清白蛋白为标准绘制标准曲线,从曲线上求得相应蛋白值。

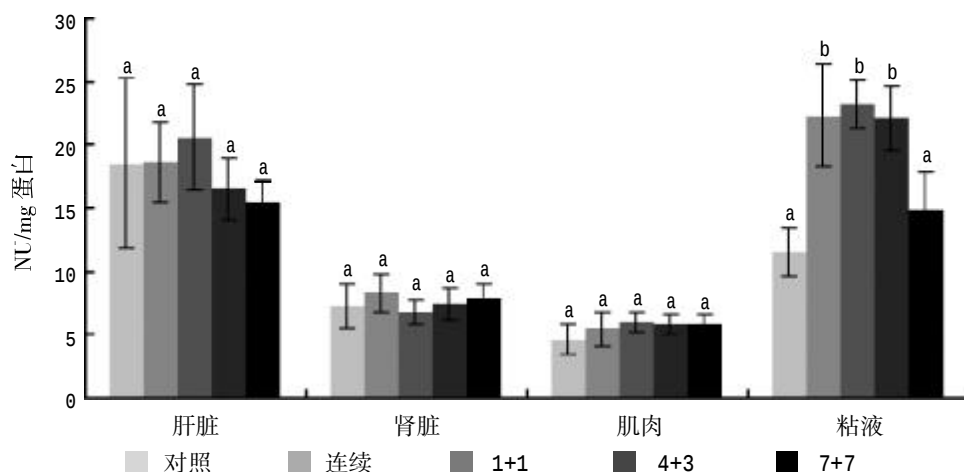
1.9 数据分析

采用SPSS.11.0分析软件进行单因素方差分析(One-way ANOVA),实验结果以Mean $\pm$ S.E(n=4)计。差异显著性在95%水平上($P<0.05$)。具体步骤为:输入实验统计数据 $\rightarrow$ Analyze $\rightarrow$ Compare means $\rightarrow$ One-Way ANOVA(选择Polynomial、LSD、Descriptive和Exclude cases analysis by analysis) $\rightarrow$ OK。

2 结果

2.1 不同投喂方式下,A3 α -PG对组织中SOD活性的影响(见图1)

不同组织中的SOD活力在未添加A3 α -PG时大



注:不同字母表示差异显著($P<0.05$),下同。

图1 不同投喂方式对各组织中SOD活性的影响

小各异,其中以粘液和肝脏中较高,而以肾脏和肌肉中稍低。在以不同方式摄入 A3 α -PG 后,各组织中的 SOD 的调节能力是不同的。其中肝脏、肾脏和肌肉中 SOD 活力,实验组与对照组基本持平,没有太大变化;

而对粘液 SOD 活力却有明显的增强作用,其中尤以“连续”组、“1+1”组和“4+3”组最为明显,与对照差异显著($P<0.05$)。

2.2 不同投喂方式下,A3 α -PG 对牙鲆各组织中 ACP

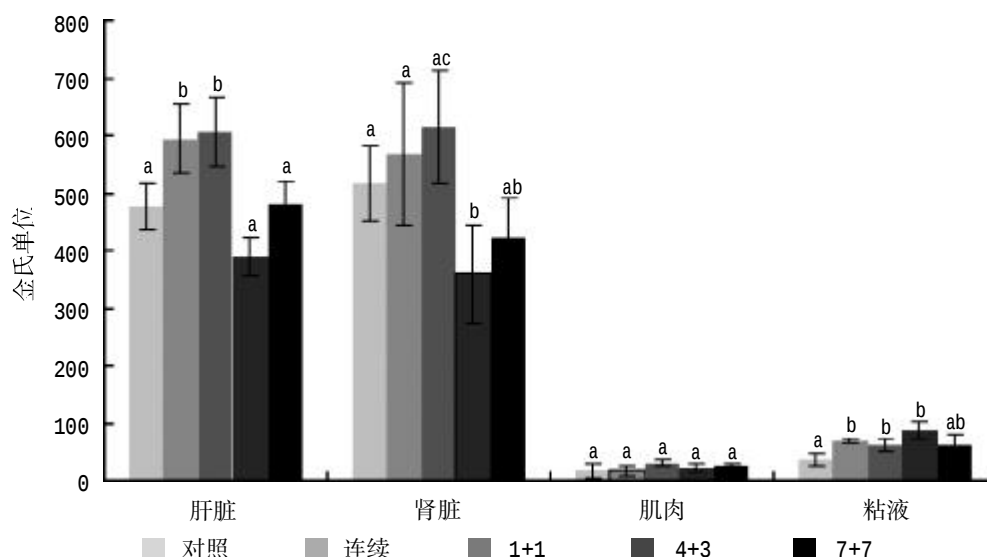


图2 不同投喂方式下 A3 α -PG 对牙鲆组织中 ACP 的调节

的调节(见图2)

如图2所示,不添加 A3 α -PG 时,ACP 活力在各组织中的水平是不一样的。肝脏、肾脏中 ACP 含量较为丰富,而粘液和肌肉中含量较少。不同方式投喂 A3 α -PG 后,除了肌肉中体现不出实验组与对照组及实验组与实验组之间的差异外,在肝脏和粘液中不同投喂方式其诱导能力是不一样的,肝脏中以“连续”组

和“1+1”组作用力最强,与对照差异显著($P<0.05$);而“4+3”组和“7+7”组未见显著差异性。肾脏中对 ACP 活力的提高作用不显著。粘液中“连续”组、“1+1”组以及“4+3”组均有较高的诱导能力,特别以“4+3”方式诱导力最强。

2.3 不同投喂方式下,A3 α -PG 对牙鲆各组织中 AKP 活力的影响(见图3)

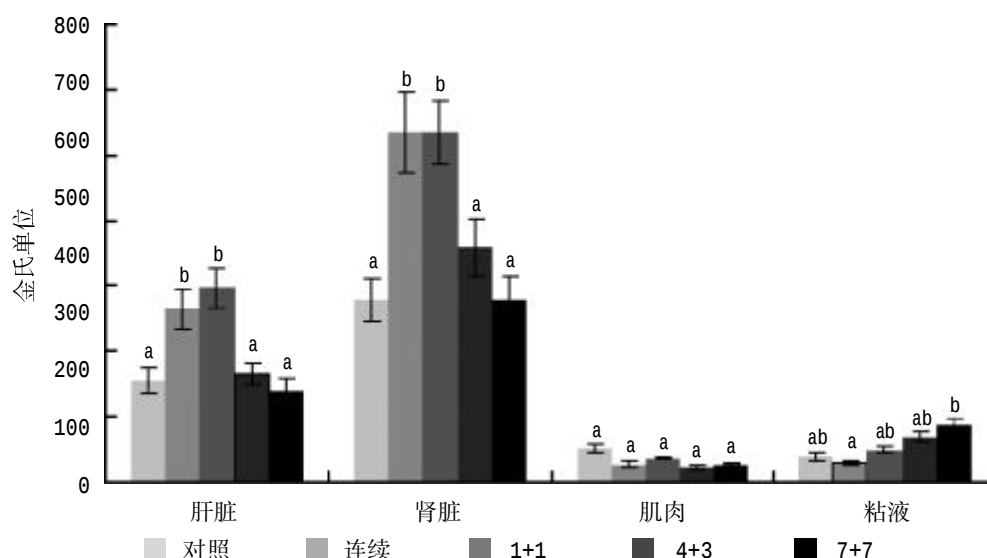


图3 不同投喂方式对牙鲆各组织中 AKP 活力的影响

AKP活力在未添加A3 α -PG时,以肾脏中最高,肝脏次之,粘液和肌肉中含量较少(图3)。当以不同间隔方式投喂肽聚糖时,在肝脏与肾脏中A3 α -PG对AKP的刺激情形大体相似,均以“连续”组和“1+1”组效果最为明显,不仅与对照组差异显著,而且与另外两个实验组(“4+4”组、“7+7”组)也表现出明显优势($P < 0.05$)。

肌肉与粘液中,AKP活力不受投喂方式的影响,在实验组与对照组之间无明显差异性($P > 0.05$)。

2.4 不同投喂方式下,A3 α -PG对牙鲆血清中3种酶的调节能力(见图4)

两种重要的水解酶类ACP和AKP及抗氧化酶类SOD在血清中的含量各异。从对照组中我们可以看

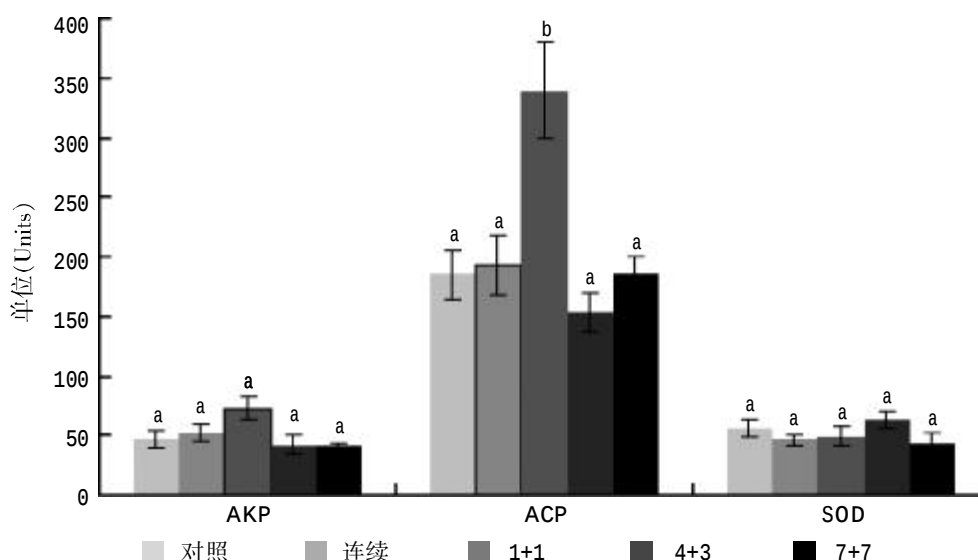


图4 不同投喂方式A3 α -PG对牙鲆血清中3种酶的调节能力

出,以ACP活力最高,AKP和SOD基本接近。采用不同的投喂方式将A3 α -PG作用于牙鲆后,血清中SOD和AKP均不受投喂方式的影响,虽有部分波动,但在实验组与对照组、实验组与实验组之间并未见显著差异($P > 0.05$);而对ACP活力的影响,以“1+1”投喂方式为最佳,其调节能力约为其它组的两倍,差异显著($P < 0.05$)。

3 讨论

超氧化物歧化酶(SOD)是机体内抗氧化酶系的关键酶之一,它的主要功能是清除体内产生的超氧阴离子自由基。超氧阴离子自由基在分子氧存在的反应中很容易产生,是体内主要的活性氧。机体内SOD活性的高低反应了器官组织抗氧化保护能力的大小^[5]。在正常情况下,生物体内超氧化物阴离子在一定的范围内不会引起细胞毒素反应,因为健康的生物体在超氧阴离子自由基产生后,自身的抗氧化体系就会被充分调动起来,特别是诱导性酶(如SOD)及时清除过多的自由基。当疾病或逆境条件下,生物体自身的氧化消除能力下降,因此SOD活性也是衡量生物体健康状况的一个主要指标。

本次实验结果表明,牙鲆的SOD活力在不同组织中的抗氧化能力是不同的。以粘液中最高,肝脏中次之,肌肉和肾脏中相对较低。这主要是由于粘液作为机体免疫保护的第一道屏障,不仅担负着润滑体表、维持渗透压,而且为机体提供粘膜表面的防御作用(包括免疫保护和非免疫保护两方面)。而且在防御O₂毒性,抗外界损伤方面扮演着重要角色^[6,7]。这就需要较强的抗氧化体系以维护体内正常的生理功能^[6,7]。肝脏中表现出较高的SOD活性,主要与肝脏中脂类含量丰富有关。肝脏中所积累的大量脂肪酸带有较多的自由基,需要较强的抗氧化酶系统,以维护肝脏的正常代谢^[5,8,9]。以不同的投喂频度将A3 α -PG作用于牙鲆后,只在粘液中见到有明显提高,其中尤以连续组、“1+1”组和“4+3”组较为突出,而“7+7”组虽有部分提高,但无显著差异($P > 0.05$)。而在肝脏、肌肉、肾脏中则未见SOD的明显变化。究其原因,我们可以认为,同一免疫增强剂对不同组织或不同免疫增强剂对不同种属其相应组织中的SOD活力的诱导能力是各异的。这一结果与牟海津等^[10]报道的情况类似,其采用海藻多糖和虫草多糖刺激栉孔扇贝,其血清和血细

胞中 SOD 活性有提高,而在肝脏中 SOD 变化不大。此外,基于本次结果可初步认为,A3 α -PG 对机体 SOD 的诱导作用有组织特异性,并不是对所有 SOD 活性部位都有作用。

作为高等动物体内巨噬细胞溶酶体的标志酶——酸性磷酸酶(ACP),在体内直接参与磷酸基团的转移与代谢,主要存在于生物体各脏器、血细胞和骨骼中^[14]。本次研究发现,未添加 A3 α -PG 的对照组,各组织中 ACP 活性以肝肾中较高,而以肌肉、粘液中较低。这一结果与牟海津^[10]研究栉孔扇贝 ACP 的分布、艾春香等^[8,9]研究河蟹组织中 ACP 活性的情况基本一致;也与高等脊椎动物体内 ACP 在不同组织中的分布大体相同^[12]。以不同方式投喂 A3 α -PG 后,肌肉中 ACP 活力实验组与对照组基本持平,肾脏中虽有部分波动,但不体现实验组与对照组之间的差异。肝脏中的“连续”组和“1+1”组,粘液中的“连续”组和“4+3”组调节能力较为明显,提高幅度与对照组相比差异显著($P<0.05$)。究其原因,一方面与 ACP 存在的组织差异性有关,肝脏作为解毒器官和脂肪代谢的场所,其水解酶类 ACP 含量较为丰富;粘液是一种富含多种酶类的体液因子,其中含有丰富的溶菌酶^[2],而 ACP 是溶酶体酶的标志酶。另一方面可能是由个体间的差异所造成。酸性磷酸酶是一种重要的水解酶,亦是溶酶体酶的重要组成部分,在鱼类等低等脊椎动物及软体动物中,溶酶体酶具有防御和消化双重功能,它的水解作用成为机体攻击异物的主要机制之一。在酸性条件下,ACP 可通过水解作用将表面带有磷酸酯的异物破坏清除掉,免疫诱导 ACP 活性的提高,已有实验证实了这一结果^[8-10,13,14]。但其活性的提高与免疫制剂的种类、实验动物种属及实验条件有关。Cheng^[15]认为,软体动物及低等的无脊椎动物的溶酶体酶是一种可诱导的“保护性”体液因子,起着与高等动物获得体液免疫相似的作用。然而这些酶的存在是先天的,属非特异性免疫因子,诱导作用只能提高其合成的数量及活性,且受到一定条件的制约。

实验结果亦表明,添加 A3 α -PG 能提高牙鲆相应组织中 AKP 活性,但不同的饲喂间隔在各组织中诱导能力有差异。未添加 A3 α -PG,AKP 活性为肾脏>肝脏>肌肉>粘液,这可能与肾脏作为免疫器官有关。而肝脏中较高的 AKP 活性是因为在脊椎动物中,它与骨髓一同构成体液(如血清)中 AKP 的来源^[11]。将 A3 α -PG 以不同投喂频度作用于牙鲆后,在肌肉与粘液中未见有较大变化,而在肝脏与肾脏中,均以“连续”组

和“1+1”组最为显著,与对照表现出明显差异($P<0.05$)。运用多糖类物质提高生物体 AKP 活性,已有过不少报道^[13,16-19]。AKP 作为一种重要的水解酶,直接参与有机磷代谢,亦与 DNA、蛋白质及脂类代谢有关。它对钙质的吸收、骨骼的形成具有重要作用。AKP 活性的提高,可以加速牙鲆相应组织的物质代谢,为 ADP 磷酸化形成 ATP 提供所需的无机磷,积累更多的能量,从而促进牙鲆生长,也间接增强了其非特异性免疫能力。

就血清中这 3 种酶活力的变化来看,投喂肽聚糖的实验组,以任何方式投喂均未对血清中 AKP 和 SOD 产生明显影响,虽有部分波动,但在实验组与对照组及实验组之间没有显著差异。仅在 ACP 的诱导中可见“1+1”方式组有较强的调节能力,与对照组及其它组差异显著($P<0.05$)。这一结果与王秀华^[20]先前的研究相似。其研究了 A3 α -PG 对南美白对虾非特异性免疫力的调节效果,同样证实对血清中 SOD 没有影响,与本实验相似。另外它也证实了“1+1”方式投喂法使虾类血清中 ACP、AKP 均明显高于“连续”组和空白组,而本次实验在选用“1+1”方式时仅见 ACP 的明显上升,没有见 AKP 的明显提高,造成差异的原因可能与实验所选对象有关。

最后值得一提的是,从本次实验结果并结合相关资料来看,口服多糖类免疫调节剂存在一个最佳饲喂频度。但各种酶活对不同作用方式有不同的敏感性,其中的原因不是一元的,而是多元的,影响因素包括多糖种类、纯度、实验动物、实验条件以及检测手段等。因此要想较为合理的确定某一投喂方式不能仅仅依赖某一项或某几项指标,而应从整体上把握。从本次实验来看,连续组、“1+1”组及“4+3”组的调节能力各有千秋,考虑到多糖类生产成本较高,建议采用“1+1”和“4+3”方式。此外,还有一个现象有必要指出,即在“7+7”方式的投喂中,这 3 种酶无论是在组织中还是在血清中均未显示出调节能力。分析原因我们可以推测,由于这种方式采用的是 7d 肽聚糖+7d 对照料,每次的取样时间落在饲喂对照料的最后 1d,可能是因为 PG 在体内的消褪时间少于 7d,诱导能力不能维持 7d 以上。另据张锦宜等^[21]报道,几丁质饲喂于斑节对虾,其诱导力可维持 5d;Itami 等^[22]也报道了肽聚糖投喂日本对虾,其氧化酶的提高能持续 5d,但 7d 后有所回落。

参考文献

- 1 Sakai M. Current research status of fish immunostimulants. Aqua-

大蒜素及其在畜牧生产中的应用

李长强 高士争

大蒜(*Allium sativum*)属于百合科,为多年生宿根草本植物。大蒜素(allicin)的有效成分为大蒜油,是大蒜中大蒜辣素、大蒜新素及多种烯丙醛硫醚化合物等主要成分的总称。大蒜素作为饲料添加剂用于饲养业,可增强动物抗病力、提高免疫力,改善饲料风味,促进动物生长发育,提高动物的肉、蛋产量,提高饲料报酬,经济效益十分显著。大蒜素以其作用广泛,效果显著,无残留,无抗药性,无致变、致畸、致癌性,低成本等优点备受养殖户和饲料厂家的青睐,成为广受欢迎的新型饲料添加剂。

李长强,云南农业大学动物营养与饲料科学重点实验室,650201,昆明。

高士争,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2005-11-13

1 大蒜及合成大蒜素的理化基础

1.1 大蒜的营养特点

大蒜富含营养物质、各种微量元素和维生素。100g鲜蒜含水70g、蛋白质4.4g、脂肪0.2g、碳水化合物23g、粗纤维0.7g、灰分1.3g;钙5mg、磷44mg、铁0.4g、VB0.24g、烟酸0.9g、VC3mg;大蒜油0.2g等^[1]。

1.2 大蒜素的化学组成

天然的大蒜中含有挥发油,天然大蒜油含丙基二硫化丙烯(约60%)、二硫化二丙烯(23%~39%)、三硫化二丙烯(13%~19%)、硫化二丙烯、甲基硫化丙烯、甲基二硫化丙烯、二硫化二丙烷(4%~5%)等挥发性含硫化合物,总含硫量约为35%~45%。每吨干蒜球中约含精油1~2kg。

合成的大蒜素是多种烯丙基有机硫化物复合体,主要成分为三硫化二丙烯(50%~80%)、二硫化二丙烯

culture,1999(172):63-92

- 2 陈昌福,罗宇良,蔡冰.实验水温对草鱼溶菌酶活性的影响[J].中国水产科学,1996,3(3):24~30
- 3 Irie T, Watarai S, Kodama H. Humoral immune response of carp (*Cyprinus Carpio*) induced by oral immunization with liposome-entrapped antigen [J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2003 (27):413~421
- 4 Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 1976(72):248~254
- 5 方允中,李文杰.自由基与酶[M].北京:科学出版社,1994.67~69
- 6 罗克.动物粘膜免疫系统研究进展[J].福建畜牧兽医,2000,22(5):44~49
- 7 梁明山,刘煜,曾宇,等.泥鳅体表粘液超氧化物歧化酶的发现[J].西南农业学报,1999,12(4):120~121
- 8 艾春香,陈立侨,温小波,等.VC对河蟹血清和组织中超氧化物歧化酶及磷酸酶活性的影响[J].台湾海峡,2002,21(4):431~438
- 9 艾春香,陈立侨,温小波,等.VE对河蟹血清和组织中超氧化物歧化酶及磷酸酶活性的影响[J].台湾海峡,2003,22(1):24~31
- 10 牟海津,江晓路,刘树青,等.免疫多糖对栉孔扇贝酸性磷酸酶、碱性磷酸酶和超氧化物歧化酶活性的影响[J].青岛海洋大学学报,1999,29(3):463~468
- 11 朱忠勇.实用医学检验学[M].北京:人民军医出版社,1997.368~378
- 12 宋善俊.临床医师手册[M].上海:上海科学技术出版社,1991.185~

200

- 13 孟凡伦,马桂荣,孔健.乳链球菌SB900肽聚糖对中国对虾免疫功能的影响[J].山东大学学报(自然科学版),1999,34(1):88~93
- 14 刘恒,李光友.免疫多糖对养殖南美白对虾作用的研究[J].海洋与湖沼,1998,29(2):113~118
- 15 Cheng. T. C. The role of lysosomal hydrolases in molluscan cellular response to immunologic challenge. *Comp Pathobiol*, 1978, (4):59~71
- 16 王秀华. 肽聚糖对对虾免疫因子的作用及其在对虾养殖中的应用[D].中国海洋大学硕士学位论文.2003.18~47
- 17 王宏田,张培军.重组酵母菌对牙鲆非特异性免疫能力的影响[J].海洋与湖沼,2000,31(6):631~635
- 18 孙虎山,李光友.脂多糖对栉孔扇贝血清和细胞中7种酶活性的影响[J].海洋科学,1999(4):54~57
- 19 刘树青,江晓路,牟海津,等.免疫多糖对中国对虾血清溶菌酶、磷酸酶和过氧化物酶的作用[J].海洋与湖沼,1999,30(3):278~283
- 20 王秀华. 肽聚糖对对虾免疫因子的作用及其在对虾养殖中的应用[D].中国海洋大学硕士学位论文.2003.18~47
- 21 张锦宜,李武忠,陈淑玲,等.饲料中添加几丁质对斑节对虾生长及免疫力的影响[J].水产研究(台湾),1997,5(1):11~19
- 22 Itami T, Asano M, Tokushige K. Enhancement of diseases resistance of kuruma shrimp, *Penaeus Japonicus*, after oral administration of peptidoglycan derived from *Bifidobacterium thermophilum*. *Aquaculture*, 1998(164):277~288

(编辑:张学智, mengzai007@163.com)

(20%~50%)以及 8%杂质(如丙酮、乙醇等)。

1.3 大蒜素的理化性质

大蒜素具有强烈的刺激味和蒜特有的辛辣味;不耐热,当温度高于 80℃时,易发生分解反应;对碱不稳定,但对酸较稳定,常温下在酸性(尤其是 pH 值为 5~7)条件下稳定性较好;长期暴露于空气中,则紫外线可诱发其分解;大蒜素难溶于水,但能与乙醚、乙醇等有机溶剂互溶,而且在无水乙醚、95%乙醇中稳定性很好。

2 大蒜素的处理方法及利用

据生物化学分析证明,新鲜的大蒜中并不含有大蒜素,而含有它的前体——蒜氨酸,蒜氨酸以稳定、无臭的形式存在于大蒜中。大蒜中有一种蒜酶存在,大蒜经切片或破碎,蒜酶活化,催化蒜氨酸形成大蒜素,大蒜素进一步分解成具有强烈臭味的硫化物。

大蒜的脱臭是大蒜素应用的重要步骤之一,经过脱臭处理后的大蒜素制品才具有实用价值。由于未处理的大蒜素性质极不稳定,大蒜的脱臭比较容易,但既要脱臭又要尽可能多的保留超氧化物歧化酶(SOD)、大蒜素等生物活性物质是比较困难的,目前以下几种方法可以借鉴。

2.1 酸性溶液浸泡法

酸浸泡法是抑酶法的代表。据资料介绍,其抑酶机理是半胱氨酸与蒜酶的活性辅基磷酸吡哆醛相结合生成稳定的化合物,半胱氨酸和铜离子分别对大蒜素和 SOD 有保护作用^[2],不会造成大蒜素损失。

2.2 低温保持法

大蒜素在 0℃,pH 值 3~5 条件下或者干燥环境中比较稳定。如果在处理大蒜的全过程中始终保持低温就能保证冻干之前大蒜素的高含量,而冻干蒜粉的低水分能保证贮存过程中的大蒜素含量,即使食用后胃液环境酸性很强,也能确保大蒜素不分解为有蒜臭味的二丙烯基二硫化物、二丙烯基三硫化物,从而达到脱臭又不失大蒜素功能的目的。

2.3 化学脱臭法

将去皮的大蒜在 30℃饱和碳酸溶液中浸泡 8~10d,再在同样温度的醋酸溶液中浸泡 10~20d;或将大蒜在 2%富马酸溶液中浸泡 20~25h,便可脱臭,再进行破碎、榨汁,即为脱臭大蒜液。

大蒜经提取后得到大蒜精油和大蒜渣液,大蒜精油可直接加入载体,同时辅以适合辅料,干燥粉碎后,包装获得饲用大蒜素添加剂产品。大蒜渣液经分离过滤,控温干燥后,加入定量的载体和适合辅料,混合后

粉碎过筛,包装获得饲用大蒜渣添加剂。

当前饲料工业中使用的大蒜素一般是人工合成的大蒜油为原料的预混料(大蒜油吸附在一定的载体上形成的预混料),呈白色流动性的细小粉末。有效成分纯度高,其药效优于其它方式制成的大蒜素。在饲料中的添加量为 50~100mg/kg。使用方便,价格低廉。

3 大蒜素饲料添加剂的特点

3.1 应用范围广

大蒜素的抗菌谱较广。大蒜素中的有效成分二烯丙基三硫醚对多种葡萄球菌、巴氏杆菌、伤寒杆菌、痢疾杆菌、绿脓杆菌、爱德华氏菌等病原微生物都有较强的抑制和杀灭作用,能有效地防治多种常见的传染病,促进动物健康生长。大蒜素可在牛、猪、肉鸡、蛋鸡、鸭以及鱼类和一些特种经济养殖动物中使用,且在动物的各生长阶段也均可使用,应用范围很广。

3.2 价格低廉

大蒜素的使用剂量较低,一般 50~100mg/kg 就有较好的作用效果。其价格也较为低廉,是一些进口促生长类添加剂价格的几十分之一,适合大范围应用。

3.3 无使用禁忌

大蒜素可与其它添加剂(包括多种抗生素)配伍使用,不会产生拮抗作用。大蒜素也没有停药限制,在畜禽产品上市前也可使用。

3.4 安全性高

目前研究表明,大蒜素在动物体内基本无积蓄作用。大蒜素的残留极低,常规在肌肉和内脏中均未检出大蒜素的含量,不会对人类和动物造成危害;大蒜素也不会致中毒、致癌和致畸形,因此,是一种安全性较高的添加剂。

3.5 不产生耐药性

使用抗生素较容易产生耐药性,且作用效果逐渐降低,一段时间后需换用其它药物。大蒜素是天然的抗菌物质,一般不会产生耐药性。到目前为止,还没有在动物体内和野外菌株中发现对大蒜素有耐药性的菌株,因此,大蒜素可在较长时间内使用。

4 大蒜素的作用机理

4.1 诱食助消化作用

大蒜素可明显改善家禽饲料的适口性,使之产生食欲,避免挑食行为,从而提高采食量;另外,大蒜素能促进胃肠蠕动,调节体内酶的分泌,从而提高增重和饲料利用率。这种强烈的诱食效果在鱼类和禽类中十分明显。

4.2 抗菌作用

大蒜素分子中的活性基团是硫醚基(S-O-S),其中的氧原子与细菌生长繁殖所必需的半胱氨酸分子中的巯基相结合,从而抑制细菌的生长和繁殖。因而大蒜素对多种致病菌,如大肠杆菌、葡萄球菌、痢疾杆菌、肺炎球菌、炭疽杆菌、霍乱弧菌、白喉杆菌等有明显的抑制和杀灭作用。大蒜素还对多种真菌有抑制和杀灭作用。

4.3 提高机体免疫力

大蒜素能抑制巨噬细胞产生一氧化氮,从而对T淋巴细胞激活有促进作用;大蒜素还能明显提高淋巴细胞转化率及T淋巴细胞酸性 α -醋酸萘酯(ANAE)阳性率的作用,使中枢淋巴器官和外周淋巴器官增殖,提高细胞免疫功能。另一方面,抗体与外毒素特异性结合,使其不产生毒性作用,显著增强体液免疫功能。大蒜素还可激活单核细胞的分泌水平,促使溶菌酶大量释放,从而水解细胞壁中的粘多糖使细菌死亡,增强非特异性免疫功能。

4.4 改善饲养环境

大蒜素在酶的作用下可变成大蒜辣素,以尿的形式排出,能够阻止成蝇在家禽粪便中的繁殖,抑制蝇蛆的生长,改善禽舍内外环境。

4.5 改善家禽产品品质

大蒜素能增加鸡肉、鸡蛋中的香味成分。据报道,鸡肉、鸡蛋香味成分主要是靠C、H、-S(O)-基团,而大蒜素的硫醚化合物中含有这一结构,因而在鸡饲料中添加大蒜素能生产出鲜美的风味蛋和鸡肉。另外,有关研究表明,大蒜素还能降低禽产品中胆固醇的含量。

5 在畜牧生产中的应用

5.1 在养鸡中的应用

5.1.1 在肉鸡中的应用

贾卫斌(1997)在肉鸡日粮中添加100mg/kg合成大蒜素,在鸡的成活率及增重效果等方面均无显著差异,但有效地降低了饲料系数,平均单鸡耗料比对照组降低63%,提高饲料报酬21.72%,差异显著($P<0.05$)。经核算,平均单鸡可增收1.23元,经济效益显著^[3]。郑诚等(1998)试验表明,饲料中添加大蒜素使肉仔鸡增重提高8.7%,耗料降低5%^[4]。何瑞国、严思霓(1997)在肉鸡日粮中添加大蒜素对肉鸡生长影响的试验,进一步得出结论:日粮中添加大蒜素能促进肉鸡的生长,提高饲料转化率和存活率,尤其以添加100mg/kg为佳,添加50mg/kg时,不需要添加痢特灵^[5]。

5.1.2 在蛋鸡中的应用

汪丽等(2002)试验研究表明:①大蒜素能刺激蛋鸡的食欲,提高蛋鸡的采食量,提高蛋鸡的产蛋性能和经济效益;②大蒜素在蛋鸡日粮中的添加量以40mg/kg(大蒜素含量为40%)较为理想,可提高采食量7.64%,提高产蛋率11.15%,降低料蛋比5.94%^[6]。王晓霞(2001)报道,大蒜素可以提高产蛋鸡采食量,从而缓解了产蛋鸡因为热应激造成的采食量下降^[7]。傅同禄等(1990)对11月龄蛋鸡试验表明,日粮添加2%的大蒜渣,产蛋率提高9.8%^[8]。

5.2 在养猪生产上的应用

张淑会等(2004)试验研究表明,在杜长大断奶仔猪日粮中添加大蒜素可使平均日增重提高16.54%,饲料转化率提高13%左右^[9]。广东三保养猪公司对15~24d的断奶仔猪进行试验时发现,添加100mg/kg大蒜素日采食量提高8.8g/(d·头),日增重比对照组提高6.97%,料肉比降低4.89%^[10]。在生长育肥猪日粮中添加大蒜素可显著提高其采食量和日增重^[11]。

5.3 在养兔中的应用

试验证明,肉兔食用大蒜素粉,抗病能力增加,死亡率降低,对粗纤维的消化率明显提高,提高了日增重,料肉比降低,经济效益显著提高^[12]。徐华军等在家兔日粮中添加大蒜素的研究结果显示,试验组日增重较对照组平均提高12%,料肉比平均下降10%。并可减少发病,降低死亡率,并具有抗菌、消炎、驱虫、解毒、健胃等功效^[13]。

5.4 在水产养殖上的应用

5.4.1 在鱼类养殖中的应用

曾虹等在罗非鱼饲料中添加大蒜素50mg/kg进行试验,结果能提高日增重,成活率增加2%以上,试验组饲料转化率提高11%,饲料生物学综合评定值为112,比对照组提高12%,并证实大蒜素具有强烈的诱食作用^[14]。在鲤鱼饵料中加11mg/kg合成大蒜素,可提高鲤鱼成活率2.5%;提高鲤鱼增重率14.3%,差异显著($P<0.05$);提高饲料转化率5.5%,可节约饲料费用4.7%^[3]。向泉等在淡水白鲢饲料中分别添加25、50、75、100mg/kg的大蒜素进行试验,结果试验组淡水白鲢鱼体的粗蛋白含量比对照组分别提高了3.82%、6.00%、17.67%和18.38%;粗脂肪含量则较对照组分别降低了5.74%、3.95%、2.63%和1.24%,淡水白鲢鱼体肌肉的品质发生了明显的变化^[15]。日本专家在虹鳟、真鲷、牙鲆等鱼饲料中添加50mg/kg的大蒜素粉,经长期不间断投喂可使成鱼的肉质细腻、紧密,肉味鲜

美。在此条件下停食 3 周,鱼体肌肉的强度为对照组的 1.2 倍,停食 6 周,则肌肉的强度增加 1.5 倍,且试验鱼的肌肉纤维粗度为对照组的 50%,鱼体的脂肪比例大约下降 1.8%^[16]。

5.4.2 在甲鱼养殖中的应用

贾卫斌等在甲鱼饲料中分别添加大蒜素 50mg/kg 和 100mg/kg 进行试验,结果试验组的成活率分别比对照组提高 2.44% 和 2.96%;增重率也分别提高 26.97% 和 45.35%;饲料转化率提高 15.18% 和 17.37%,差异极显著($P<0.01$)。而且平均单鳖收益比对照组分别增加了 12.80 元和 21.44 元,经济效益显著^[9]。

5.4.3 在对虾养殖中的应用

唐雪蓉等认为大蒜素与硫胺素的化合物有抑制硫胺素酶的作用,可明显增强对虾的抗病能力,大大降低其死亡率。试验结果表明,4 个试验组的成活率比对照组分别提高了 8.13%、2.09%、7.5%、14.59%,其中剂量为 100mg/kg 效果最明显。此外,有试验证实,饵料中添加 1% 的大蒜素可防治对虾的红腿病^[17]。

5.4.4 在牛蛙养殖中的应用

胡石亮等(2000)在牛蛙饲料中添加大蒜素的结果表明:试验组平均日增重提高了 15.2%,而平均饲料系数降低了 20.6%,并对防治牛蛙肠胃炎有比较理想的效果^[18]。

6 大蒜素的应用前景及存在的问题

抗生素在畜禽饲料中的广泛使用,尤其是超标使用,会引起各种病原微生物产生抗药性,并在畜禽产品中残留,严重影响畜禽产品的质量安全性,严重影响我国畜禽产品质量的提高和产品出口。大蒜素是一种多功能绿色天然饲料添加剂,安全无残留,不易产生抗药性,对人和动物不会产生致畸、致癌、致突变的“三致现象”。正确使用完全可以替代抗生素应用于畜牧业。大蒜素的无污染和安全性高的优点,在生产中有不可替代的作用,未来的应用前景十分广泛。但在目前的使用中还存在以下几个问题。

6.1 稳定性问题

大蒜素的性能极不稳定,在外界条件的影响下大蒜素的颜色易加深,变得粘稠、生物学功能和饲用效果降低。影响大蒜素稳定的因素有:①pH 值的影响。大蒜素在 pH 值 5~7 的环境中较稳定,而碱性条件下会加速大蒜素的水解反应,引起大蒜素分子中三硫键断裂,最后生成二烯丙基二硫化物和二氧化硫,影响作用效果。大蒜素应在中性或偏酸条件下保存。②温度的影响。在不同温度范围内,随保存时间延长,大

蒜素含量均呈下降趋势。据试验介绍,在 80℃ 时,15min 后,大蒜素残存率为 81.69%;当温度高于 80℃ 时,大蒜素的破坏速度大大加快^[19]。因此,大蒜素应低温密封保存。在生产中应用有限,为更好地应用大蒜素,需对其稳定性进行深入的研究。

6.2 改善畜禽产品品质的问题

大蒜素改善畜产品品质的作用机理不十分清楚,大多数的研究者认为,大蒜素能提高畜产品风味。由于大蒜油对皮肤和粘膜有刺激性,长期超剂量(如 200mg/kg 以上)使用很可能对小肠粘膜造成损伤,使之充血。也有报道,长期饲喂蒜产品会引起肉、蛋、奶带有蒜臭味。引起香味或臭味的原因,需要进一步探明。

参考文献

- 1 李萍.大蒜素提取技术[J].中国调味品,1996(2):2~3
- 2 余伯良,吴士业,穆芳.不同脱臭方法对大蒜抗菌效力的影响[J].中国调味品,1998(8):8~10
- 3 贾卫斌,任培桃,胡波.大蒜素的应用研究[J].粮食与饲料工业,1999(5):31
- 4 郑诚.肉鸡饲料中添加大蒜素的饲养试验[J].广东饲料,1998(1):20~22
- 5 何瑞国,严思宽.肉鸡日粮中添加大蒜素对生长影响的试验[J].饲料工业,1997,18(5):36~37
- 6 汪丽,苏宁.大蒜素对蛋鸡产蛋性能的影响[J].甘肃畜牧兽医,2002(5):23~25
- 7 王晓霞.大蒜素缓解蛋鸡热应激的效果[J].中国饲料,2001(14):15
- 8 傅同禄.大蒜渣预混料的研究和应用[J].饲料工业,1990(10):12~13
- 9 张淑会,李香丽.大蒜素对断奶仔猪生长发育及其周围环境的应用效果.江西饲料,2004(4):5~6
- 10 陈红平,温小杨,等.大蒜素及其功能研究[J].中国饲料,2002(4):13
- 11 邢成军.大蒜素对肥育猪生产性能的影响[J].畜禽生产,2005(2):32~33
- 12 黄玉德.合成大蒜素粉饲喂肉兔的效果[J].四川畜禽,1997(11):20
- 13 徐华军,李莉,张露文.大蒜素在家兔生产中的应用[J].中国养兔杂志,2004(6):5~7
- 14 曾虹,任泽林,郭庆.大蒜素在罗非鱼饲料中的应用[J].中国饲料,1996(21):29~30
- 15 向泉,刘长忠.大蒜素对淡水白鲢生长影响的研究[J].饲料研究,2002(4):5~7
- 16 张宁.改善鱼肉品味的新方法[J].饲料研究,1999(9):39
- 17 唐雪蓉,李敬欣,高伯棠.蒜硫胺在对虾饲料中的应用[J].饲料工业,1997,18(12):39~40
- 18 胡石亮,陈学文,谭利群,等.大蒜素在牛蛙饲料中应用效果的研究[J].饲料研究,2000(3):32~33
- 19 周爱梅,李汴生.大蒜素的稳定性研究[J].食品工业研究,1998(6):13~14

(编辑:高 雁,snowyan78@tom.com)

PAL 材料对育肥猪增重及肉品微量元素营养成分的影响

杨杜录

摘要 试验设4个组(对照Ⅳ组和试验Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ组),对照Ⅳ组饲喂基础日粮,试验Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ组在饲喂基础日粮的基础上按基础日粮的1%、2%和4%添加PAL材料。试验猪经过一个育肥期饲养,结果表明:试验Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ组日增重分别高于对照Ⅳ组62.41g、19.79g和19.79g;经肉品微量元素分析,试验组瘦肉率高于对照组0.69%~4.02%,碘、锌含量明显增加,其中试验Ⅰ组、Ⅱ组、Ⅲ组碘含量水平(按100g肉中含量计)分别比对照Ⅳ组提高8.52μg、7.19μg和5.21μg,有毒有害微量元素砷、汞、镉含量试验组与对照组接近,铅含量水平由对照组的0.069μg/kg降为试验组的0.023μg/kg。

关键词 PAL材料;日增重;微量元素

中图分类号 S816.71

PAL材料(PAL生物工程材料简称,俗名坡缕石,又称凹凸棒石)的最主要成分坡缕石,是含水镁铝硅酸盐粘土矿物,主要化学成分为: SiO_2 、 Al_2O_3 、 Fe_2O_3 、 MgO 、 CaO 、 K_2O 、 Na_2O 、 P_2O_5 ,属纳米级多孔非金属矿物,具有很好的吸附交换性能。生物工程特征表现为药物、生物活性物质载体,富含微量生命元素。

坡缕石在甘肃矿藏丰富,储量大,以其为主要成分制成的PAL生物工程材料(天然矿物质饲料添加剂),富含碘、硒等动物有机体所必需的多种微量元素。

在育肥猪饲料中添加不同剂量PAL材料,一方面探求以其为主要成分制成的PAL生物工程材料对生猪生产性能和猪肉品质的影响,开辟新的特质饲料添加剂资源;另一方面探求生产富含高碘、高硒等微量生命元素的优质猪肉产品,并为其开发生产提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 PAL材料

由甘肃凯西生态环境工程有限公司提供。主要成分与含量(mg/kg)为:铜30.1、锌201.3、锰508.5、钼3.59、氟1333.0、硒5.504、碘330.0、铁344、钒110.6、铬110.6、锶138.8、钴18.6。

1.2 试验猪及分组

选健康无病,出生日龄、体重接近,活重35kg的杜×长×约、杜×约×长育肥猪40头,按品种、性别、窝

次、体重对称的原则随机分为试验Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ组,每组各为10头。

1.3 试验设计

采用单因子对比试验,设一个对照组和三个试验组。按照相似一致的原则,安排试验组与对照组的饲养管理及防疫等生产活动。对照Ⅳ组直接饲喂基础日粮,试验Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ组在饲喂基础日粮的基础上按基础日粮的1%、2%和4%添加PAL材料。试验期从35kg开始,到90kg结束,预试期15d。

1.4 测定项目与方法

1.4.1 体重与饲料消耗

试验开始与结束早饲前空腹称重,记录始重($P > 0.05$)、末重自由采食,清仓底法记录消耗量。

1.4.2 屠宰性能与肉品质测定

测定屠宰率、瘦肉率和胴体品质;分析测定猪肉中碘、硒、铜、锌及铅、砷、汞、氟含量,除碘用T2分光光度计、硒用荧光光度计外,其它元素采用GB/T5009—1996检验标准;观察记录试验猪采食、粪便、精神等有关状况。

1.4.3 数据处理

测定记录数据经方差分析,F值显著时,用Duncan's法比较。

1.5 试验时间、地点

试验从2003年1月26日至4月11日在兰州猪场进行。

1.6 试验猪饲养管理

试猪饲养在同一栋全封闭式舍内,每组两栏,每栏5头。日喂3次,自由饮水。每天记录猪群状况。育肥猪体重35~60kg和60~90kg阶段基础日粮配方及营养水平见表1。

杨杜录,甘肃省畜牧技术推广总站,730030,兰州市中山路113号。

收稿日期:2005-10-31

表 1 基础日粮配方及营养水平

原料	35~60kg	60~90kg	营养水平	35~60kg	60~90kg
玉米(%)	68.8	67.8	粗蛋白(%)	16.53	15.46
豆粕(%)	13	11	消化能(MJ/kg)	13.24	13.12
麸皮(%)	5	10	钙(%)	0.71	0.69
胡麻粕(%)	6	8	磷(%)	0.635	0.65
菜籽粕(%)	4	0	粗纤维(%)	3.51	3.501
磷酸氢钙(%)	1.2	1.2			
石粉(%)	0.6	0.6			
食盐(%)	0.4	0.4			
预混料(%)	1	1			

表 2 PAL 材料育肥猪生产性能的影响

项目	试验 I 组	试验 II 组	试验 III 组	对照 IV 组
始重(kg)	35±3.2	34.2±4.7	35.1±4.0	35.2±3.4
末重(kg)	87±12.9	82.3±7.0	83.9±9.7	82.2±5.3
育肥期(d)	73	73	73	73
增重(kg)	52±11.8	48.9±7.8	48.9±7.0	47.4±4.0
日增重(g)	712.33	669.71	669.71	649.92
料重比	3.215	3.455	3.13	3.474

2 结果与分析

2.1 PAL 材料对肥育性能的影响

表 2 表明,试验组日增重均高于对照组,以试验 I 组最高,试验 I、II、III 组分别高于对照 IV 组 62.41g、19.79g 和 19.79g。饲料增重比试验 III 组最优,试验 I 组其次,试验 II 组再次,分别比对照 IV 组每增重 1kg 节省饲料 344g、259g 和 19g。

2.2 PAL 材料对育肥猪屠宰成绩的影响

2.2.1 PAL 材料育肥猪屠宰成绩

表 3 的统计分析表明,出栏猪的屠宰率试验 I 组较高,但组间差异不显著;瘦肉率试验组均高于对照组,以试验 II 组最高,试验 II、III、I 组依次比对照 IV 组高 4.02 个百分点、1.85 个百分点和 0.69 个百分点。

2.2.2 PAL 材料对育肥猪胴体品质影响

由表 4 统计结果可以看出,后腿比例试验组比对照组高 1.69~0.28 个百分点,背膘厚度薄 0.18~

表 3 PAL 材料育肥猪屠宰成绩统计

项目	屠宰头数	宰前活重(kg)	屠宰率(%)	瘦肉率(%)	脂肪(%)	皮(%)	骨(%)
试验 I 组	4	89.67±1.23	73.36±1.00	61.2±2.25	17.77±1.65	7.07±1.26	13.95±1.51
试验 II 组	4	89.33±1.22	71.74±0.98	64.53±0.40	15.87±4.11	7.37±1.80	12.23±1.91
试验 III 组	4	90.67±1.24	72.94±1.00	62.36±2.63	17.82±0.75	7.64±1.32	12.18±1.51
对照 IV 组	4	89.67±1.23	72.88±1.00	60.51±4.32	17.52±0.47	7.91±0.42	14.06±4.27

0.27cm,眼肌面积增大 4.62~2.10cm²,熟肉率、肌肉颜色、大理石纹和酸度 pH 值各组间接近。

2.3 PAL 材料对猪肉微量元素的影响

2.3.1 PAL 猪肉中微量营养物质的变化

日粮中添加 PAL 材料饲喂育肥猪,猪肉中碘、锌含量明显增加。碘含量(以 100g 肉中含量计)以试验 I 组最高,比试验 II 组、III 组分别高 1.33μg、3.31μg;试验 II 组次之,比试验 III 组高 1.98μg;试验组与对照

表 4 PAL 材料育肥猪胴体品质评定分析

项目	屠宰头数	后腿比例(%)	熟肉率(%)	背膘厚(cm)	眼肌面积(cm ²)	肌肉颜色	大理石纹	pH 值
试验 I 组	4	32.57±0.62	66.91±2.56	2.26±0.03	36.45±0.50	4.67±0.58	4.00±0.00	5.44±0.09
试验 II 组	4	31.71±0.89	65.96±2.23	2.35±0.03	33.93±0.46	4.33±0.58	4.33±1.53	5.45±0.19
试验 III 组	4	33.12±2.84	67.63±2.06	2.3±0.03	36.03±0.49	4.83±1.26	4.00±0.00	5.55±0.10
对照 IV 组	4	31.43±1.64	67.35±6.21	2.53±0.03	31.83±0.44	5.33±0.58	5.00±1.00	5.47±0.28

IV 组相比, I 组、II 组、III 组碘含量水平分别提高 8.52μg、7.19μg 和 5.21μg。铁、铜、锌、硒含量试验组间接近,除铜水平略低外,铁、锌、硒的含量均高于(P>0.05)对照 IV 组。结果见表 5。

2.3.2 PAL 猪肉中微量元素与残留分析(见表 6)

猪肉中铅含量试验组明显低于对照组,以试验 I 组最低,试验 III 组次之,试验 II 组再次,分别低于对照组 0.046μg/kg、0.022μg/kg 和 0.016μg/kg;汞含量则随 PAL 材料添加量的增加,呈递减趋势,除试验 I 组与对照相近外,试验 II 组、III 组都低于对照 IV 组;砷试验

表 5 PAL 猪肉中微量营养元素测定分析

项目	铁(mg/kg)	铜(mg/kg)	锌(mg/kg)	碘(μg/100g)	硒(μg/100g)
试验 I 组	5.71±2.462	1.137±0.107	15.16±1.86	22.69±5.29 ^b	15.92±1.21
试验 II 组	5.394±2.702	1.183±0.275	16.02±2.02	21.36±2.55 ^b	16.44±1.98
试验 III 组	5.174±2.451	1.15±0.147	13.23±1.03	19.38±6.68 ^{ab}	15.34±0.41
对照 IV 组	5.04±1.457	1.393±0.295	12.85±2.91	14.17±3.92 ^a	14.53±1.27

注:同行或同列数据肩标带有相同字母或者没有肩标的表示差异不显著(P>0.05),带有不同的小写字母表示差异显著(P<0.05),下同。

组与对照组基本一致; 镉含量的变化表现与铅相似; 氟含量试验各组高于对照组 2~3 倍, 但在国家无公害畜禽肉产品中有毒有害物质限量范围之内。

3 结论与建议

3.1 PAL 材料富含猪体可直接吸收的常量和微量营养物质, 对肥育增重有良好的促进作用。在育肥猪饲

表 6 PAL 猪肉中微量元素与残留分析表($\mu\text{g}/\text{kg}$)

项目	铅	砷	汞	氟	镉
试验 I 组	0.023±0.012	0.014±0.001	0.003±0.001	0.793±0.600	0.003 7±0.005 5
试验 II 组	0.053±0.016	0.015±0.001	0.002±0.001 0	1.067±0.808	0.005 3±0.009 2
试验 III 组	0.047±0.032	0.009±0.003	0.001 7±0.001 2	0.84±0.052	0.004±0.006 9
对照 IV 组	0.069±0.059	0.014±0.003	0.002 7±0.001 2	0.3±0.100	0.007 7±0.013 3

料中分别添加日粮量 1%、2% 和 4% 的 PAL 材料, 育肥期平均日增重达到 669.71~712.33g, 尤其日粮中添加 1% 的 PAL 材料时, 其增重效果要比不添加 PAL 材料的对照组提高 9.7%。

3.2 添加 PAL 材料具有明显提高育肥猪饲料利用率的效果。PAL 材料中基本成分为坡缕石, 具有三维空间结构, 比表面积大、吸附性能强, 促使营养物质通过消化道的滞留时间延长, 从而能够有效地利用饲料。育肥猪饲料中添加日粮量的 1% 和 4% PAL 材料, 每增重 1kg 仅需饲料 3.215kg 和 3.13kg, 比不添加 PAL 材料节省饲料 259g 和 344g, 育肥期内头均可节约饲料 14.25kg 和 18.92kg。

3.3 在育肥猪饲料中添加不超过日粮量 2% 的 PAL 材料对提高猪肉中碘的含量具有直接明显的作用。由

于 PAL 材料不易被机体内电解质絮凝而排出, 有利于微量营养物质的吸收和利用。从屠宰肉样化验测定分析可以看出, 添加日粮量 1% PAL 材料, 猪肉中碘含量(100g 肉中含量计)显著增加, 达到 22.69 μg , 比不添加 PAL 材料的猪肉提高 60.13%。

3.4 在育肥猪日粮中添加适量 PAL 材料对猪肉品质无不良残留效应。

3.5 建议在育肥猪生产中, 添加 PAL 材料剂量宜控制在 2% 以内。为了充分利用 PAL 材料富含高碘、高硒等微量生命元素的特性, 建议进一步扩大育肥猪生产添加 PAL 材料的试验规模, 以代替常规单体无机盐添加剂, 并筛选最佳剂型、剂量, 更确切地掌握对育肥猪肥育增重和改善肉品质的效果。

(编辑: 孙崎峰, sqf0452@126.com)

2006 中国(广州)饲料工业展览会

同期举办中国(广州)畜牧业展览会

时间: 2006年3月23日-25日

地点: 广州体育馆会展中心

主办单位: 中国林牧渔业经济学会

承办单位: 广州金川展览服务有限公司

协办单位: 大北农集团 广东温氏集团

展览范围:

饲料原料、添加剂、预混料、特种饲料
饲料配方技术、饲料生产机械、包装机械、质量检测设备等相关产品。

中国大型行业盛会

详情浏览: www.gzjczl.com

组委会联系方式

地址: 广州市燕岭路138-142号华资大厦501-503

参展咨询: 020-61030977、61030979

联系人: 付兵

参观咨询: 020-61030975

行业精英
齐聚广州

我们用心做到最好

碳源和氮源对黑曲霉产木聚糖酶的影响

白爱枝 鲍秀珍 梁运章 潘仁瑞

摘 要 研究了碳源、氮源以及其它因子对黑曲霉 (*Aspergillus niger*) A3 菌株产木聚糖酶的影响。结果表明,当迟效碳源为玉米芯 70g/l、速效碳源为葡萄糖 10g/l,氮源为 NaNO_3 3g/l 和 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 3g/l,麸皮 5g/l,用无氮的 Mandels 无机盐溶液配制,起始 pH 值 5.5~6.0,并添加中和剂 CaCO_3 调控发酵 pH 值,250ml 三角瓶装液量为 30ml 时,黑曲霉 A3 液体发酵酶活力达 405.6IU/ml。采用玉米芯代替半纤维素作为主要碳源,可以大大降低生产成本,减少环境污染,有利于工业化生产。

关键词 碳源;氮源;木聚糖酶;液体发酵

中图分类号 Q559

Effects of carbon source and nitrogen source on xylanase production by *Aspergillus niger* A3 in submerged fermentation

Bai Aizhi, Bao Xiuzhen, Liang Yunzhang, Pan Renrui

Abstract Effects of carbon source, nitrogen source and other factors on xylanase production of *Aspergillus niger* A3 were studied. The appropriate medium composition was as follows: corn-core 70g/l, NaNO_3 3g/l and $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 3g/l, wheat bran 5g/l with nitrogen-free Mandels mineral salt solution, initial pH 5.4~6.0. Adjusting pH by neutralization agent H. When 3ml ($\sim 10^7$ /ml) spores were inoculated into 30ml medium in 250ml Erlenmeyer flask, and it cultivated in shaker at 28°C for 72h, the xylanase activity of culture filtrate reached 405.6 IU/ml. Using corn-core could reduce the cost, decrease the environment pollution and might be applied to industrial production.

Key words carbon source; nitrogen source; xylanase; submerged of xylanase fermentation

木聚糖酶是一类重要的半纤维素酶,已经被逐步应用到生物转化、食品与饲料工业等领域,在造纸工业中的应用也引起了人们的高度重视^[1]。陈惠忠等(1990)^[2]和蔡敬民等(1996)^[3]报道了黑曲霉木聚糖酶液体发酵条件的研究结果,他们的共同点都是用半纤维素作为碳源,主要目的是诱导生产木聚糖酶,同时限制纤维素酶的形成,以适合在纸浆漂白工艺中应用。毫无疑问,制备半纤维素必将增加生产成本,同时制备过程中使用碱或酸处理又会引起环境的污染。在饲料、食品等领域应用,纤维素酶的存在反而有利于降解植物纤维物质。近年有报道^[4],如果酶制剂中含有适量的纤维素酶,不仅有利于纸浆漂白的预处理,而且还能显著改善纸张的裂断长度等强度性能。因此,

我们采用玉米芯等天然材料作为主要碳源进行液体发酵。现将试验结果报告如下,今后将在此基础上利用离子束生物技术进一步提高黑曲霉的产酶能力。

1 材料与方法

1.1 菌种

黑曲霉 A3 (*Aspergillus niger* A3) 为野生型菌株,由合肥学院提供。

1.2 培养基和培养方法

1.2.1 产孢子培养基

马铃薯、葡萄糖、琼脂 PDA 培养基。

1.2.2 菌种保存培养基

麸皮 5g/l、蛋白胨 1g/l、琼脂 20g/l。

1.2.3 基础产酶培养基

玉米芯 25g/l, 无氮的 Mandels 无机盐液^[5], 起始 pH 值 5.5~6.0。

1.2.4 培养条件

除另有说明外,均在装有 30ml 发酵液的 250ml 三角烧瓶中接入 3ml (1.2×10^7 个/ml) 孢子悬液,于 28°C、200r/min 振荡培养。

1.3 测试方法

1.3.1 木聚糖酶活力的测定

白爱枝,内蒙古自治区离子束生物工程重点实验室,讲师,010021,呼和浩特市大学西路 235 号,内蒙古大学理工学院。

鲍秀珍、梁运章,单位及通讯地址同第一作者。

潘仁瑞,合肥学院生物科学与技术系。

收稿日期:2005-10-22

★ 内蒙古自治区专项经费资助项目,国家自然科学基金项目资助(10465002)

按照 DNS 法^[6],以木糖为标准,每分钟形成 1 μ mol 还原糖定义为 1 个酶活力单位(IU/ml)。

1.3.2 CM-纤维素酶活力的测定

按照陈惠忠等(1990)^[2]的方法。

1.3.3 pH 值

用 S-25 型精密酸度计测定。

1.4 试剂

Xylan (From Brichwood)为 Sigma 公司产品。按张宏书(1990)^[7]的方法制备蔗渣半纤维素。甘蔗渣、玉米芯、麦秸粉等经粉碎、过筛以备用。

2 结果与讨论

2.1 迟效碳源及发酵时间对黑曲霉 A3 产木聚糖酶的影响

为了考察含有半纤维素的天然碳源对黑曲霉 A3 产木聚糖酶的影响,选用了玉米芯、麦秸粉、甘蔗渣和蔗渣半纤维素等作为液体发酵培养基的迟效碳源,并用 Mandels 无机盐液分别配制成浓度为 2.5% (M/V) 的培养基,按上法进行发酵试验,每隔 24h 取样测定木聚糖酶与纤维素酶的酶活力。结果如图 1、图 2 和表 1 所示。由图 1、图 2 可知,第 3d 的木聚糖酶和纤维素酶的酶活为最高,与文献报道^[2,3]基本一致。从实验结果可以看出,玉米芯为最适碳源,甘蔗渣次之。蔗渣半纤维素产木聚糖酶和纤维素酶的酶活比很高,但是其木聚糖酶产量相对较低;麦秸粉作为碳源时,酶活比和木聚糖酶产量均很低。这可能与玉米芯和甘蔗渣含有相对较多的可供黑曲霉生长所利用的其它营养成分有关。发酵过程中产生适量的纤维素酶也可促进玉米芯纤维物质的降解。总之,玉米芯作为最适碳

源,不仅可以保证木聚糖酶的产量较高,而且这种廉价碳源也有利于木聚糖酶的工业化生产。

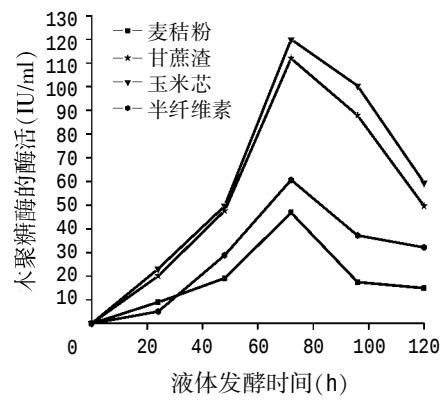


图 1 木聚糖酶酶活与发酵时间的关系

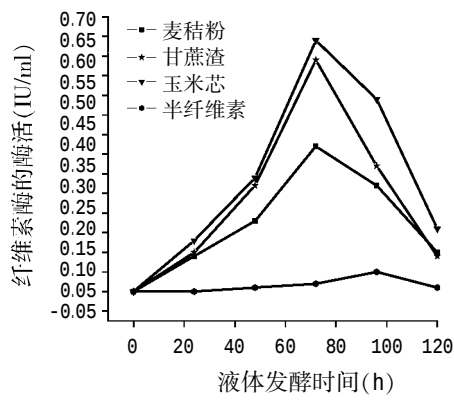


图 2 纤维素酶酶活与发酵时间的关系

2.2 迟效碳源浓度对木聚糖酶产量的影响
对不同浓度玉米芯的产酶进行考察, 结果见图

表 1 发酵第 3d 木聚糖酶与纤维素酶酶活的比

碳源	灭菌前 pH 值	灭菌后 pH 值	木聚糖酶(IU/ml)	纤维素酶(IU/ml)	木聚糖酶/纤维素酶
玉米芯	4.97	4.83	120.0	0.64	187.5
甘蔗渣	4.25	4.22	112.0	0.60	186.7
麦秸粉	5.42	4.81	46.8	0.37	126.5
蔗渣半纤维素	5.26	5.25	60.6	0.02	3 030.0

3。从图 3 中可以看出,当玉米芯的浓度为 70g/l 时,产酶量最高,酶活力为 202.1 IU/ml;当玉米芯浓度高于 70g/l 时,产酶量急剧下降。这可能由于基质过于粘稠,溶解氧减少,有碍菌体的生长和产酶。

2.3 速效碳源对产木聚糖酶的影响

在培养基的碳源组分中加入少量的速效碳源葡萄糖,对产酶的影响比较显著(见表 2)。在玉米芯浓度为 70g/l 的发酵培养基中,当葡萄糖的添加量

为 10g/l 时酶活力最高,说明葡萄糖作为一种易利用的碳源,适量的添加有助于菌体的生长繁殖,利于产酶。

表 2 葡萄糖的添加量对木聚糖酶酶活的影响

葡萄糖的量(g/l)	CK	6	8	10	12	14
酶活力(IU/ml)	225.7	234.6	241.9	254.4	234.2	211.4

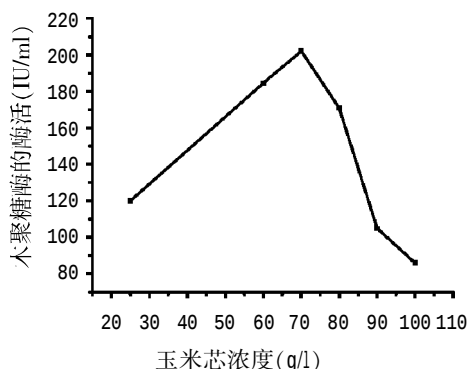


图3 玉米芯的浓度对木聚糖酶产量的影响

2.4 氮源对黑曲霉 A3 产木聚糖酶的影响

选定迟效碳源为 70g/l 的玉米芯 (不加速效碳源葡萄糖), 在 Mandels 盐液中分别加入有机氮、无机氮或它们的复合物[n(有机氮): n(无机氮)=1: 1], 用来研究氮源对木聚糖酶酶活的影响, 其结果见表 3。从表 3 中可以看出, 单一氮源以蛋白胨或 NaNO_3 为佳, 一般复合氮源对木聚糖酶产量的提高是有利的, 这同陈士成等(2000)^[4]的研究结果一致; 但是有机复合氮源和无机复合氮源对黑曲霉产木聚糖酶的酶活影响差异不明显却与陈士成等的研究结果有所不同, 这可能与菌种差异及不同的发酵培养工艺有关。从工业生产中经济适宜的角度看, 选择含有 NaNO_3 和 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 的复合氮源比较合适。

表3 不同氮源对木聚糖酶酶活的影响

氮源(6g/l)	起始 pH 值	48h 酶活力 (IU/ml)	72h 酶活力 (IU/ml)	84h 酶活力 (IU/ml)
尿素	4.52	22.8	105.8	148.4
蛋白胨	4.91	132.2	226.3	232.0
酵母膏	5.50	110.8	178.9	171.9
蛋白胨+酵母膏	5.25	119.0	217.4	211.5
NaNO_3	4.72	124.8	211.0	218.1
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	4.52	115.7	199.1	196.3
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ +尿素	4.55	103.2	202.5	198.6
NaNO_3 + $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	4.62	129.0	221.8	227.4

2.5 麸皮加入量与产木聚糖酶的关系

营养因子对微生物生长非常重要, 麸皮不仅可作为有机的碳、氮源, 也含有某些营养因子, 因此在与 2.4 节相同的发酵产酶培养基中添加不同用量的麸皮来考察其对产酶的影响。从图 4 可以看出木聚糖酶酶活随着麸皮浓度的增加而升高, 但是当麸皮的量超过 5g/l 时, 木聚糖酶的酶活有所下降。因此选用麸皮添加量以 5g/l 为宜。

2.6 发酵起始 pH 值对产酶的影响

培养基 pH 值对微生物的生长繁殖和代谢产物的

积累有着重要的影响。在玉米芯浓度为 70g/l, 速效碳源葡萄糖为 10g/l, 氮源 NaNO_3 + $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (1: 1) 为 6g/l 的发酵培养基中, 对不同 pH 值下的产酶发酵水平做了比较研究, 其结果见图 5。由图 5 可以看出, 当 pH 值为 5.5~6.0 时, 木聚糖酶的酶活达到 275~280 IU/ml, 说明黑曲霉 A3 的产酶最适 pH 值范围在 5.5~6.0 之间。

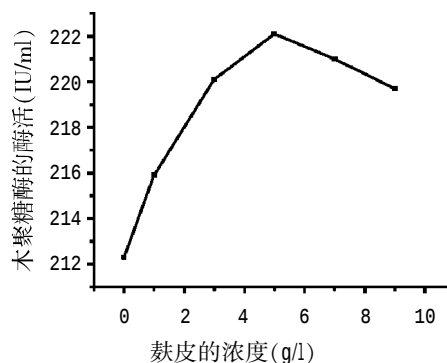


图4 麸皮的添加量与木聚糖酶酶活的关系

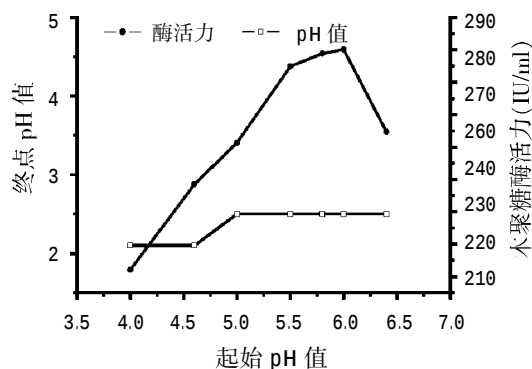


图5 培养起始 pH 值对产酶的影响

2.7 调控发酵 pH 值对产酶的影响

从图 6 可见, 黑曲霉发酵产木聚糖酶的同时产酸, 从而使得发酵液的 pH 值下降, 而抑制了木聚糖酶的产生。在发酵培养基中适量添加 CaCO_3 , 可大幅度的提高木聚糖酶酶产量。以玉米芯(70g/l)、麸皮(5g/l)、葡萄糖(10g/l)为发酵培养基, 分别加入不同质量的 CaCO_3 进行实验研究, 发现当加入 1.0g CaCO_3 时, 产酶最高, 达到 405.6 IU/ml, 之后随着 CaCO_3 用量的增加, 酶活力不再增大, 维持在一个平台上; 而发酵液的 pH 值的变化与酶活力的变化基本一致也呈上升趋势, 到酶活力达到高峰后, pH 值基本保持在 5.8 不变。可见 CaCO_3 作为一种 pH 值调节剂, 可有效的调控发酵过程中的 pH 值, 使产酶水平得到很大的提高。

国内外关于鱼类胰蛋白酶的研究进展

张美红 胡重江 李英文

胰蛋白酶(trypsin)是消化酶的一种,属于丝氨酸蛋白酶家族。胰蛋白酶是一种肽链内切酶,对由碱性氨基酸(精氨酸、赖氨酸)的羧基与其它氨基酸的氨基所形成的键具有高度的专一性。此外,还能催化由碱性氨基酸和羧基形成的酰胺键或酯键,其高度专一性仍表现为对碱性氨基酸一端的选择。胰蛋白酶对这些键的敏感性次序为:酯键 > 酰胺键 > 肽键。

胰蛋白酶来源于鱼类的肝胰脏、肠道和幽门盲囊。许多研究报道,胰蛋白酶是以无活性的酶原形式存在于鱼类胰脏中,被肠激酶或有活性的胰蛋白酶自身激活,从肽链 N 端赖氨酸和异亮氨酸残基之间的肽键断开,失去一段六肽,分子构象发生一定改变后转变为有活性的胰蛋白酶。本文围绕鱼类胰蛋白酶在分离纯化、特性、氨基酸组成以及序列分析等方面进行探讨,对其在国内外的研究作一个概括性的总结,为

进一步研究鱼类胰蛋白酶提供参考。

1 鱼类胰蛋白酶的分离纯化研究

从许多哺乳动物中都已经分离出了胰蛋白酶以及胰蛋白酶类丝氨酸蛋白酶,如鼠、狗、牛、猪及人类。有关鱼类消化酶的研究也有大量的报道,关于鱼类胰蛋白酶的研究,国外要比国内开展得早而且多。迄今为止,已研究报道了鲤鱼(Cohen 等 1981)、沙丁鱼(Murakami 和 Noda 1981)、柳叶鱼(Hjelmeland 和 Raa 1982)、鲶鱼(Yoshinaka 等 1983)、格陵兰鳕(Simpson 和 Haard 1984)、角鲨(Ramakrishna 等 1987)、凤尾鱼(Martinez 等 1988)、大西洋鳕(Bjarni 等 1989)、虹鳟(Kristjansson 1991)、大西洋鲑(Outzen 1996)、红点石斑鱼(Diaz 1999)、马苏大麻哈鱼(Sekizaki 2000)、笛鲷(Mishelle Rivera Santos 2003)等胰蛋白酶的纯化。截至 2004 年,国内外已对软骨鱼的 4 种、硬骨鱼的 27 种的胰蛋白酶进行了分离纯化工作,但其中只有两种淡水鱼(鲤鱼、欧洲鲫鱼)。

胰蛋白酶的分离纯化,一般都遵循蛋白质等生物大分子的原则。主要是利用它们之间特异性的差异进行分离,如分子的大小、形状、酸碱性、溶解性、溶解度、极性、电荷和与其它分子的亲和性等。常用的分离

张美红,西南大学水产与水文学院,400716,重庆北碚,水产与水文学院 640#。

胡重江,单位及通讯地址同第一作者。

李英文,重庆师范大学生命科学学院。

收稿日期:2005-10-19

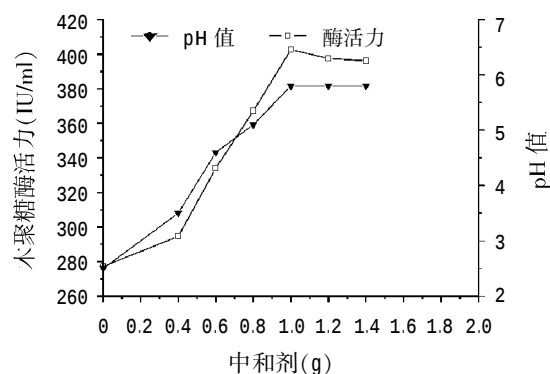


图 6 中和剂 CaCO_3 的添加量对发酵产酶及 pH 值的调控

综上所述,利用玉米芯取代半纤维素作为迟效碳源,葡萄糖作为速效碳源。既可供菌体早期迅速生长并产酶,又能使底物醪液中的葡萄糖含量不致过高。当葡萄糖添加量大于或等于 12g/l (见表 2),木聚糖酶产量明显下降,表明 A3 菌株产木聚糖酶的合成调控机制属于诱导阻遏型^[8,9],因此,采用玉米芯作为主要碳源,葡萄糖为附加碳源,复合无机氮为氮源,添加适

量碳酸钙控制发酵液的 pH 值,就可以大幅度地提高木聚糖酶的产量,降低生产成本,减少环境污染。

参考文献

- Viikari L, Ranua M, Kantelin en A, et al. Proceedings Third Int Biotechnol. Pulp Paper Industry, Stockholm, 1986.67~69
- 陈惠忠,高培基,王祖农. 产木聚糖酶菌株的选育及其液体发酵条件[J].微生物学报,1990,30(5):351~357
- 蔡敬民,于宙,张洁,等.曲霉木聚糖酶发酵条件与性质[J].微生物学杂志,1996(2):14~16
- 陈士成,曲音波,姜英辉. 芽孢杆菌 A-30 碱性 β -1,4-聚糖酶发酵条件的优化,工业微生物,2000,30(3):16~19
- Mandels M, Weber J. The production of cellulase. Adv. Chem. Ser., 1969(95):391~413
- Bailey M J, Biely P, Poutanen K J. Interlaboratory testing of methods for assay of xylanase. J Biotechnol., 1992(23):257~270
- 张宏书. 半纤维素及其结构研究. 广州化学, 1990(1):57~65
- Biely P. Induction and inducers of endo-1,4- β xylanase in the yeast *Cryptococcus albidus*. Eur. J. Biochem., 1980(108):323~329
- Purkharthofer H, Steiner W. Enzyme Microb Technol, 1995, 17 (2): 114~118

(编辑:张学智, mengzai007@163.com)

纯化方法有沉淀法、离心、透析、凝胶过滤层析、离子交换层析、亲和层析等等。早期纯化是用盐析、离心等简单的分离方式;后期纯化都偏向于用层析法,其中较为经典的方法为亲和层析法。亲和层析一般采用胰蛋白酶抑制剂作为亲和配体,如苯甲脒(凤尾鱼, Martinez 等 1988)、卵类粘蛋白(角鲨, Koiti Titani 1975)、大豆胰蛋白酶抑制剂(鲱鱼, Guizani 1991)等。主要采用的载体为 Sapharose-4B。离子交换层析一般是进行阴离子交换,因为鱼类胰蛋白酶在中性及碱性溶液通常以阴离子形式存在。凝胶过滤层析是用来除去胰蛋白酶中的盐等小分子物质。

2 鱼类胰蛋白酶的特性研究

在国内,黄峰等(1996)研究了鲢、鳙消化器官组织中胰蛋白酶活性的分布;阮国良等(2004)对月鳢消化系统不同部位胰蛋白酶的最适 pH 值进行了研究;杨代勤等(2003)研究了不同饲料对黄鳝胰蛋白酶活性的影响。

在国外,有关胰蛋白酶的研究更加多且深入。Jany(1976)报道了鲫的一些组织器官中的胰蛋白酶;Yoshinaka 等(1984)研究了日本鳗鲡的胰蛋白酶活性的分布;Uys 和 Hecht(1987)分析了胡子鲶的胰蛋白酶;Segner 等(1989)用酶组织化学方法观察了白鲑消化道胰蛋白酶的分布;Bitterlich (1985)研究了鲢、鳙 10 等分肠段内粗制胰蛋白酶的活性。

2.1 胰蛋白酶最适 pH 值的研究

国内关于胰蛋白酶最适 pH 值的研究资料较少。根据国内外学者所研究过的 14 种鱼类的结果显示,鱼类胰蛋白酶适宜 pH 值一般在 7.0~9.0。阮国良等(2004)测出月鳢胃粘膜组织、前肠粘膜组织和肝胰脏的胰蛋白酶的适宜 pH 值分别为 7.4、7.4 和 7.0;黄峰等(1996)根据实验得出鲢、鳙胰蛋白酶适宜 pH 值均为 8.3,大口鲶(1983)为 9.0,而虹鳟(1991)、鲑鱼(1996)则大于 9.0(分别为 9.5 和 10.6);与此同时,同属不同种的鱼类的胰蛋白酶活性的适宜 pH 值有时也存在明显差异。综合上述研究结果可知,大多数鱼类消化道中的胰蛋白酶活性适宜 pH 值都是中性偏碱性,在酸性条件下极不稳定,同时也存在种属特异性。

2.2 胰蛋白酶最适温度的研究

据研究报道,鱼类胰蛋白酶的最适反应温度在 30~60℃范围内。这与消化酶适宜的温度范围相一致。如非洲鲶鱼(Uys 和 Hecht 1987)、红点石斑鱼(1999)胰蛋白酶的最适温度为 30~40℃,虹鳟(1991)为 40~50℃,鲱鱼(1991)为 55℃,笛鲷(2003)的胰蛋白酶可高达 60℃。但胰蛋白酶稳定的温度范围与其最适反应的温度相差很大,如凤尾鱼(M.S.Heu 等 1995)胰蛋白酶在 45℃保温 30min,失去 20%的活性;在 55℃时失

去 60%的活性;在 60℃时则全部失去活性。

2.3 底物浓度影响胰蛋白酶水解速度的研究

底物浓度对胰蛋白酶水解速度的影响可用米氏常数(K_m)来表示。米氏常数即为反应速度达到最大反应速度一半时的底物浓度。它是酶的特征性常数, K_m 值越小,酶与底物的亲和力越大。大西洋鲑(Bjarni 等 1989)的胰蛋白酶用对甲苯磺酰-L-精氨酸甲酯(tosyl-L-arginine-methyl ester, 简称 TAME)作底物时,其 K_m 值为 29 μ M;以 N-苯甲酰-L-精氨酸-对硝基苯胺(benzoyl-L-arginine-p-nitroanilide, 简称 BAPA 或 BAPNA)为底物时, K_m 值为 77 μ M,其中以 BAPA 为底物所测得的 K_m 值比同样条件下测得的牛胰蛋白酶的 K_m 值小 8 倍。结果表明,大西洋鲑胰蛋白酶与 BAPA 的亲和力要比 TAME 的亲和力小。N.Guizani 等(1991)也做了类似的研究,发现鲱鱼胰蛋白酶对 TAME 的亲和力也比 BAPA 要大些。这充分证明了胰蛋白酶对酯键催化水解活性的敏感度要大于对酰胺键催化水解活性的敏感度。

2.4 抑制剂影响胰蛋白酶活力的研究

胰蛋白酶的抑制剂是一种能够降低胰蛋白酶活性的小分子物质,可分为 3 类:蛋白抑制剂、竞争性抑制剂和活性中心滴定剂。以大西洋鲑(Bjarni 等 1989)为例,其胰蛋白酶以 BAPA 为底物,在 25℃添加不同浓度的竞争性抑制剂保温 30min,测其剩余活性。结果显示,加入 50mM 乙二醇双(2-氨基乙基)四乙酸(EGTA),胰蛋白酶剩余活性还有 17%;加入 1mM 苯甲基磺酰氟(PMSF),其剩余活性还有 11%;加入 20 μ g/ml 大豆胰蛋白酶抑制剂,其剩余活性还有 9%,而加入 0.2mg/ μ l 的大豆胰蛋白酶抑制剂,其剩余活性为 91%;加入 0.5mg/ml 卵类粘蛋白或者 5mM 的苯甲脒可以完全抑制其活性。这表明了不同抑制剂的不同浓度对胰蛋白酶活性的抑制程度是不同的。

2.5 胰蛋白酶分子量的研究

鱼类胰蛋白酶的分子量一般是通过 SDS-PAGE 凝胶电泳来进行测定的。1971 年,Keil 曾报道胰蛋白酶的分子量为 20 000~24 000。但是从很多鱼类分离出的胰蛋白酶的分子量都在这个范围之外。Martinez 等(1988)测得凤尾鱼的胰蛋白酶的分子量为 25 600;Outzen 等(1996)得出大西洋鲑的胰蛋白酶分子量为 25 000、笛鲷(2003)为 26 100;鲤鱼(Min-Jie CAO 等 2000)则为 28 000。据目前研究,鱼类胰蛋白酶的分子量主要范围是在 18 000~28 000。

2.6 胰蛋白酶等电点的研究

总结几十年来许多学者的研究报道,鱼类胰蛋白酶的等电点一般在 4.5~6.0 范围内。所以,在中性条件下,绝大部分胰蛋白酶都属于碱性蛋白酶,只有个别

鱼类胰蛋白酶为酸性。如 Outzen 等(1996)从大西洋鲑中纯化得出的 4 种带电不同的胰蛋白酶,其中 3 种属于碱性胰蛋白酶,而另外一种属于酸性胰蛋白酶,这是首次从鱼类中分离纯化出了酸性胰蛋白酶。这与哺乳动物相比有很大的差异,哺乳动物的胰蛋白酶的等电点一般为 8.0~9.0,因此,哺乳动物类胰蛋白酶都属于酸性蛋白酶。

3 胰蛋白酶的氨基酸组成与序列分析

牛、猪、鼠胰蛋白酶的氨基酸序列表现出广泛的同源性,都由 223 个氨基酸残基组成。鱼类胰蛋白酶的氨基酸组成与哺乳动物的氨基酸组成也很相似。Titani 等(1975)测出角鲨的胰蛋白酶比牛和猪的胰蛋白酶只少一个氨基酸;Yoshinaka 等(1984)得出鲶鱼胰蛋白酶的氨基酸组成与牛胰蛋白酶相似的结论;Beirao(2001)研究了鳕胰蛋白酶的氨基酸组成,也得出了同样的结论。

据目前鱼类胰蛋白酶的序列研究报道显示,日本凤尾鱼(Ahsan MN 等 2001)、大西洋鲑(Male R 等 1995)、大马哈鱼(Toyota E 等 2002)和日本比目鱼(Tohru Suzuki 等 2002)的胰蛋白酶存在有多条 cDNA,数量分别为 2、5、4、3。Tohru Suzuki 等(2002)将日本比目鱼与其它硬骨鱼及哺乳动物的胰蛋白酶基因进行系统进化分析,得知胰蛋白酶的倍增早于有鳍鱼类的分化。Min-Jie CAO 等(2000)测出鲤鱼两种胰蛋白酶的 N-末端序列,发现它与狗、鼠、猪、牛、角鲨和大西洋鳕的氨基端序列非常相似。

总之,胰蛋白酶是广泛应用于轻工业、医药工业、食品加工业、畜牧业和现代生物技术领域的一种非常重要的酶。据统计,在众多蛋白质水解酶中,胰蛋白酶的年消耗量就占了酶制品市场的 3%左右。对胰蛋白酶的纯化及其特性的研究,不仅有助于了解胰蛋白酶结构与功能的关系,而且有助于探究鱼类的营养生理特点,为人工饵料的设计提供理论依据。较高活性胰蛋白酶的提取利用,还有利于水产品加工过程中充分利用废弃物。但是到目前为止,鱼类胰蛋白酶的研究在国内还处于刚刚起步的阶段,迫切需要对胰蛋白酶的基础理论进行更加深入透彻的研究,使该研究领域赶超世界先进水平。

参考文献

- 1 尾崎久雄.鱼类消化生理[M].上海:上海科学技术出版社.1985
- 2 阮国良,杨代勤,严安生. pH 值对月鳢胰蛋白酶活性的影响[J]. 水利渔业,2004,24(2):13~19
- 3 黄峰,严安生. 鲢、鳙胰蛋白酶的研究[J]. 水产学报,1996,20(1):68~71
- 4 杨代勤.不同饲料对黄鳝消化酶活性的影响[J].水产学报,2003,27(6):558~563
- 5 于国英,朱莉,等.鲈鱼消化道中蛋白酶的分离纯化及其活性研究[J].中国海洋药物,2002,21(4):54~56
- 6 陈清西,陈祥仁.鲨鱼肠道蛋白酶的分离纯化及性质的初步研究[J].厦门大学学报(自科版),1994,33(6):83~84
- 7 Cohen T, Gertler A, Y. Birk. Pancreatic proteolytic enzymes from carp (*Cyprinus carpio*) -I. Purification and physical properties of trypsin, chymotrypsin, elastase and carboxypeptidase B. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1981, 69B:639~646
- 8 Guizani N, Rolle R S, Marshall M R, et al. Isolation, purification and characterization of a trypsin from the pyloric caeca of mullet (*Mugil cephalus*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 1991, 98B: 517~521
- 9 Heu M S, Kim H. R, and J. H. Pyeun. Comparison of trypsin and chymotrypsin from the viscera of anchovy, *Engraulis japonica*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1995, 112B: 557~567
- 10 Hjelmeland K, J. Raa. Characteristics of two trypsin type isozymes isolated from the arctic fish capelin (*Mellatus villosus*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 1982, 71B:557~562
- 11 Kristjansson M M. Purification and characterization of trypsin from the pyloric caeca of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Agric. Food Chem.*, 1991(39): 1 738~1 742
- 12 Martinez A, Olsen R L, J. L. Serra. Purification and characterization of two trypsin-like enzymes from the digestive tract of anchovy, *Engraulis encrancholus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1988,91 B: 677~684
- 13 Outzen H, Berglund G I, Smalaas A O, N. P. Wilson. Temperature and pH sensitivity of trypsins from Atlantic salmon, *Salmo salar*, in comparison with bovine and porcine trypsin. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1996, 115B: 33~45
- 14 Reeck G R., H. Neurath. Pancreatic enzymes of the African lungfish *Protopterus aethiopicus*. *Biochem.*, 1972(11): 503~510
- 15 Simpson B K, N. F. Haard. Purification and characterization of trypsin from the Greenland cod (*Gadus ogac*). *Can. J. Biochem. Cell. Biol.*, 1984(62): 894~900
- 16 Sekizaki H, Itoh K, Murakami M, Toyota E, K. Tanizawa. Anionic trypsin from chum salmon: activity with p-amidinophenyl ester and comparison with bovine and *Streptomyces griseus* trypsins. *Comp. Biochem. Physiol.*, 2000,127B:337~346
- 17 Quinones B. Partial purification and characterization of trypsin from the pyloric caeca and intestine of the queen snapper, *Etelis oculatus*. Master's Thesis. University of Puerto Rico-Mayaguez Campus, 2000
- 18 Michelle Rivera Santos. Purification and Characterization of Trypsin from Intestinal and Pyloric Caecal Tissues from the Silk Snapper, *Lutjanus vivanus*. MASTER OF SCIENCE in Biology, 2003
- 19 M.Volpicella, L. R. Ceci, J Cordewener, et al. Properties of purified gut trypsin from *Helicoverpa zea*, adapted to proteinase inhibitors. *Eur. J. Biochem*, January, 2003, 270(1):10~19
- 20 Yoshinaka R, M. Sato, T. Suzuki, et al. Enzymatic characterization of anionic trypsin of catfish (*Parasilurus asotus*). *Comp Biochem. Physiol.*, 1984,77B: 1~6
- 21 Titani K, Ericsson L H, Neurath H, K. A. Walsh. Amino acid sequence of dogfish trypsin. *Biochem.*, 1975(14): 1 358~1 366
- 22 Bjarni ASGEIRSSON. Purification and characterization of trypsin from poikilotherm *Gadus morhua*. *Biochemistry*,1989(180):85~94

(编辑:张学智, mengzai007@163.com)

外源酶制剂在反刍动物上的应用

王红云 高占锋 付 才

酶是由活细胞生产的具有催化活性的一类蛋白质,细菌、真菌等微生物是各类酶的主要来源,目前已发现用于饲料的酶有 20 多种。但这些酶制剂主要用于猪、鸡等单胃动物中。虽然早在 20 世纪 60 年代,科研人员已经尝试在反刍动物日粮中应用酶制剂产品,然而由于应用的效果并不一致,再加上当时酶制剂的生产成本很高,从经济角度考虑未能广泛应用于反刍动物。近年来随着发酵成本降低,酶制剂生产技术提高,饲料成本增加,环保意识的增强,人们开始重新审视外源酶制剂在反刍动物上的应用,并开展了一系列的研究来试图揭示酶制剂在反刍动物上的作用机理。本文对应用酶制剂的必要性以及生产应用情况做了综述。

1 在反刍动物上应用酶制剂的必要性

为了最大程度的发挥反刍动物的生产性能,提高饲料利用率,节约生产成本,目前需要解决以下问题:①最大程度地发酵在小肠中难于被消化吸收的碳水化合物;②尽量避免在小肠中易被消化的碳水化合物的发酵;③最大程度的利用非蛋白氮合成微生物蛋白;④尽量减少日粮蛋白质在瘤胃的分解。日粮中的碳水化合物可以分为两类:一类是在小肠中可被吸收的碳水化合物(基本上是单糖如葡萄糖、果糖和半乳糖,以及部分乳糖、麦芽糖等双糖);另一类是在小肠中不可被消化吸收的碳水化合物[包括非淀粉多糖(NSP),棉籽糖、果寡糖等寡糖,主要是饲料纤维素成分]。

使用酶制剂可以解决上述问题。首先,添加外源酶制剂可以促进纤维素的分解供能。纤维素是牧草主要的 NSP 成分,因其具有高度而有序的结晶结构,故很难把它降解掉。只有通过一系列多糖降解酶的共同作用,纤维素才能被降解成单糖,添加外源纤维素酶

可以促进纤维素的分解。Li 等(1992)研究证明:在一年生苜蓿类植物 *Trifolium subteraneum* CV Junee 和 *Trifolium resupinatum* CV kyambro 中添加阿拉伯糖酶或半乳甘露糖酶,可以提高苜蓿的消化率。Richards (1976)研究发现:以酯酶为饲料添加剂可以增强饲料原料,特别是纤维素部分的降解,而在饲喂低质量的粗饲料的反刍动物中添加角质酶可以促进牧草角质层的降解。

其次,禾本科饲料的主要成分是淀粉,由于淀粉在瘤胃快速发酵,导致瘤胃 pH 值降低,抑制了纤维微生物的生长。因此,高淀粉日粮会引起牧草纤维素消化率降低,添加外源纤维素酶和半纤维素酶,可以促进纤维素的降解。在小肠中添加蛋白酶可以提高小肠中蛋白质的利用率。但需要包衣技术把蛋白酶传递到小肠。

2 使用酶制剂的意义

反刍动物的主体饲料是含粗纤维较多的作物秸秆和青干草饲料,其中的细胞壁含有 NSP,使饲料中蛋白质、淀粉的消化吸收受到影响。因此,添加酶制剂具有重要意义。

2.1 酶制剂可以破坏植物细胞壁,使营养物质释放出来,便于反刍动物的消化吸收,从而提高多纤维饲料的利用率。

2.2 可以补充反刍动物内源酶的不足,明显提高反刍动物对粗纤维的消化利用率。

2.3 改善反刍动物消化道、瘤胃有益菌的环境,改善反刍动物肠道菌群,改善微生物发酵,提高养分利用率,从而改善动物健康状况和提高生产性能;对细胞免疫、体液免疫、补体功能和白细胞吞噬作用等有重要影响。因此,提高了反刍动物的抗病性,提高免疫力。

2.4 消除抗营养因子,促进内源酶扩散,增加养分消化吸收。NSP 部分溶于水,产生粘度,降低饲料的消化吸收率。酶制剂可以全面促进反刍动物日粮的分解和消化利用,提高动物生长速度和饲料转化。

2.5 酶制剂提高饲料利用率的同时,减少了动物有害物质的排放量,减少环境污染;同时可以降低饲养

王红云,河北省农林科学院遗传生理研究所动物营养研究中心,050051,河北石家庄市和平西路 598 号。

高占锋、付才,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2005-10-19

成本,增加农民收入。

3 酶制剂在反刍动物上的应用现状

3.1 反刍动物外源性酶制剂的生产

目前,市场上应用在反刍动物上的酶主要是基于其具有促进降解植物细胞壁的作用,如纤维素酶、木聚糖酶、蛋白酶或果胶酶。尽管市场上销售的动物酶制剂产品多达上百种,但它们大多是来源于4种主要细菌菌种(*Bacillus subtilis*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum* 和 *Streptococcus faecium*)和3种真菌(*Aspergillus oryzae*, *Trichoderma reesii* 和 *Saccharomyces cerevisiae*)。结构较为复杂的饲料(如干草、谷物等)在胃肠道内的彻底消化过程实际上需要上百种酶的参与才能完成。即使是单独消化纤维素和半纤维素也同样需要许多不同种类的酶参与才能完成,只是在所需不同种类酶的比例方面存在差异。不同种类酶活性的不同也同样会影响这些商品酶制剂对细胞壁的降解作用。国外酶制剂的纯度较高,但通常也并非活菌制剂,而且在反刍动物上应用的酶制剂最初并非是饲料添加剂,纤维素酶和木聚糖酶,就被广泛应用于食品、果酱、造纸、煤炭和化学工业。而国内酶制剂产品的生产通常是混入一些粗酶制剂提取物来获得产品标志的某一种或两种酶活性水平,如木聚糖酶或纤维素酶。饲料监督检查部门并未要求列出所登记的饲料酶制剂的最低酶活,而且这些酶制剂产品中其它酶的种类及其活性水平也没有被列出。所以这就给使用者造成一定难度。每种酶产品都有自己独特的酶活性系统,只有当制备的酶与饲料成分互补时,使用外源酶才有效。目前国内已经有了牛、羊专用复合酶,但应用范围不广,产品还比较单一。今后还应该在酶成分、比例与不同动物、同种动物不同生理阶段等方面加强研究,开发一系列的牛、羊用复合酶,促进这一产业的发展。

3.2 酶制剂在反刍动物上的应用效果与应用前景

3.2.1 肉牛

许多研究证明:使用外源酶制剂可以改善肉牛的平均日增重和饲料转化效率。育肥期肉牛添加酶制剂都是正效应(Rovics 和 E 1962; Beauchemin 等 1995; Michal 等 1996; Pritchard 等 1999; Wang 等 1999; Zo-Bell 等 2000)。但是,Leatherwood 等(1960)在饲喂苜蓿日粮的犊牛补料日粮中添加了真菌酶后,没有发现日增重和饲料转化率的改善。饲喂 80%精料和 20%切短的苜蓿干草的肉牛使用两种含有淀粉酶和蛋白酶的酶制剂后没有日增重和饲料转化率的改善(Clark

等 1961)。Perry 等(1960)在玉米青贮日粮中添加真菌酶、在玉米芯中添加 Agrozyme 酶,肉牛日增重反而下降。由于酶的作用效果受日粮组成、酶类型及酶制剂添加水平或酶制剂应用方法的影响,所以早期的一些实验结果并不一致。近年来越来越多的实验开始考虑上述影响因素。不同的饲料类型(Beauchemin 等 1995、1997)、应用添加水平(Beauchemin 和 Rode 1996; Michal 等 1996; Deng 1999)和酶制剂产品种类(Pritchard 等 1996)及酶应用方法((Beauchemin 等 1998; Hristov 等 1998; Yang 等 1999)等方面的比较研究已经开展并完成。苜蓿干草对饲喂比例为 30%和草块饲喂比例为 36%的阉牛而言,日粮中添加 0.25~0.4g/t 木聚糖酶和纤维素酶的混合物可以提高日增重,但在大麦日粮中使用时对日增重没有影响(Beauchemin 等 1995)。当这种同样的酶制剂混合物添加于 95%高谷物日粮时,饲喂大麦的肉牛饲料转化效率改善高达 11%,但对饲喂玉米的肉牛无此效应(Beauchemin 和 Rode 1996)。在含有 82.5%玉米的日粮中添加多种酶产品后可以提高育肥牛日增重 10%和饲料转化率 7.5%(Weichental 等 1996)。在高粱日粮中添加淀粉酶后可以改善肉牛的饲料转化率(Krause 1989; Boyles 等 1992)。目前,国内关于酶制剂在肉牛上的研究报道很少。

3.2.2 奶牛

外源酶制剂对奶牛产奶量影响的报道最早始于 20 世纪 90 年代,与在肉牛上的实验相似,奶牛对外源酶制剂所表现出来的效应同样是变异的。在高粱日粮中使用酶制剂没有改善荷斯坦奶牛的产奶量(Chen 等 1995)。产奶量对酶制剂的效应同样取决于以大麦为基础日粮时的酶制剂使用方法(Beauchemin 等 1999)。在由 45%~50%的精料和苜蓿青贮、苜蓿干草或苜蓿青贮、苜蓿干草混合日粮中应用纤维素酶和木聚糖酶混合物时,并没有提高奶牛的产奶量(Luchini 等 1997; Nussio 等 1997)。与此相对照,将同样的两种酶制剂混合物喷施在含精料 50%的玉米青贮日粮中,提高奶牛日产奶量 2.5kg/d,但没有改变牛奶组成(Kung 等 1996)。酶制剂之所以能在产奶量方面表现出正效应取决于酶的使用量(Sanchez 等 1996)。例如,当酶的添加量由 1g/kg 升高到 2g/kg 时,产奶量由 23.7kg/d 分别提高到 24.6kg/d 和 25.6kg/d (Yang 等 1999)。尤其是在泌乳早期,这些酶制剂的作用尤为明显。在由 24%青贮玉米、15%苜蓿干草、61%大麦为基础的日粮组成的奶牛日粮中使用酶制剂,可以提高产

奶量 4kg/d。在全混合日粮中喷施酶制剂对产奶量没有影响,而若直接添加在精料中则可以提高产奶量(Beauchemin 等 1998)。

总之,在奶牛和肥育牛日粮中添加外源酶制剂可以促进植物细胞壁的分解,提高粗纤维的利用率。随着消费者对反刍动物产品中使用的生长激素和抗生素的日益关注,以及使用饲料酶制剂提高动物生产性能的重要性的认识,毫无疑问,酶制剂将在未来的反刍动物生产中发挥重要作用。

参考文献

- 1 呼和,朝鲁.外源酶在反刍动物营养中应用研究进展.内蒙古畜牧科学,2003,24(2):14~19
- 2 王岗,黄玉琴.反刍动物饲料酶制剂的研究与应用.内蒙古畜牧科学,2002,23(3):7~9
- 3 王金军,朱伟云.在反刍动物上应用酶制剂的必要性.黑龙江畜牧兽医,2000(9):9~10
- 4 王金军,朱伟云.在反刍动物上应用酶制剂的研究.江西畜牧兽医杂志,2000(5):31~33
- 5 Beauchemin,K.A.,L.M.Rode and V.J.H.Sewalt. Fibrolytic enzymes increase fiber digestibility and growth rate of steers fed dry forages. Can. J. Anim. Sci., 1995(75):641~644
- 6 王世荣,岳寿松.微生物制剂与瘤胃原虫.饲料博览,2003(2):11~12
- 7 郭旭生,姚爱星,王菁青.外源酶在反刍动物日粮中的应用.饲料工业,2003,24(10):7~11
- 8 杨永明,张世才,卢德勋,等.外源纤维复合酶在反刍动物应用中的研究进展.饲料工业,2003,24(9):32~34
- 9 何长芳,韩增祥,李长慧,等.纤维素复合酶不同添加量对舍饲绵羊增重的影响.中国饲料,2004(5):28~29
- 10 D.Colombatto,D.P.Morgaviti,et al. Screening of exogenous enzymes for ruminant diets:Relationship between biochemical characteristics and in vitro ruminal degradation J. Anim.Sci.,2003(81):2 628~2 683
- 11 K.A.Beauchemin,D.Colombatto, et al. Use of Exogenous Fibrolytic Enzymes to Improve Feed Utilization by Ruminants J. Anim. Sci., 2003,81(2):E37~E47
- 12 曹殿景,买买提.饲喂牛羊专用复合酶提高奶牛产奶量的研究.新疆畜牧业,2001(3):30~30
- 13 Beauchemin,K.A.,L.M.Rode, et al. Evaluation of a non-starch polysaccharidase feed enzyme in dairy cow diets J. Dairy Sci., 2000(83):543~553
- 14 Colombatto,D. Use of enzymes to improve fibre utilization in ruminants.A biochemical and in vitro rumen degradation assessment. Ph.D.Diss, Univ. of Reading,U.K.2000
- 15 Gwayumba W, D.A.Christensen. The effect of fibrolytic enzymes on protein and carbohydrate degradation fractions in forages. Can. J. Anim. Sci., 1997(77): 541~542
- 16 Prichard,G.,C.Hunt,A.Allen, R.J.Treacher.Effect of direct-fed fibrolytic enzymes on digestion and growth performance in beef cattle.J. Anim. Sci., 1996,74(1):296
- 17 Stokes M R, S.Zheng.The use of carbohydrase enzymes as feed additives for early lactation cows. Page 34 in Proc.23rd Conf. Rumen Function, Chicago.1995
- 18 Wang Y T. A.McAllister,R.E.Wilde,J.Baah,et al. Effects of monensin ,exogenous fibrolytic enzymes and Tween 80 on performance of feedlot cattle.Can. J. Anim.Sci.1999(79):587
- 19 ZoBell,D.R.,R.D.Weidmeier,K.C.Olson. Treacher.The effect of an enzyme treatment on production and carcass characteristics of growing and finishing steers. Anim.Feed Sci.Tech-nol., 2000(87):279~285

(编辑:孙崎峰,sqf0452@126.com)

· 光盘推荐 ·

品 名	定价(元)	品 名	定价(元)	品 名	定价(元)
中国牧业企事业单位名录	100	肉鸡饲养管理与屠宰	25	海狸鼠养殖技术	25
畜牧业经济与规模化养殖场经营管理	125	养鸡生产	125	麝鼠 果子狸养殖技术	25
高致病性禽流感预防与控制	25	鸡的饲养	50	兰狐养殖	25
家畜生理学	325	雏鸡和蛋鸡的饲养与管理	25	养鹿	25
兽医微生物学	250	农村养鸡	25	中国对虾的养殖	25
兽医药理学	200	良种肉鸭大棚饲养技术	25	罗氏沼虾 大口鲈鱼的养殖	25
兽医学	375	鸭鹅养殖技术	25	海参人工养殖秘诀	25
瘦肉型猪的繁殖与饲养	25	鸭病防治	25	珍珠的养殖	25
猪的养殖	75	养鹅 蛋鸭的放牧饲养管理	25	河蟹的养殖	50
猪病防治	50	四季鹅的养殖技术	25	实用养鳖新技术	25
养牛技术	75	獭兔	50	塑料大棚控温快速养鳖	25
人工培育天然牛黄	25	兔病防治	25	甲鱼	25

邮局汇款地址:110036沈阳市金沙江街 16 号 6 门(本社发行部收)

联系电话:(024)86391237

银行汇款单位:辽宁省农牧业机械研究所有限公司 开户行:沈阳市工商行皇姑支行 帐号:33010090092640542-61

外源酶对异育银鲫鱼种生长及 表观消化率的影响研究

王爱民 刘文斌

摘要 均重 60.0g 的异育银鲫鱼种 300 尾随机分为 5 组,即 I、II、III、IV、V 组,每组设 3 个重复。I 为对照组,饲喂基础日粮,II、III、IV、V 为试验组,分别在基础日粮中添加复合酶制剂 250、500、750、1 000mg/kg,饲喂 60d。试验结果表明:添加外源酶能有效地改善异育银鲫对干物质、蛋白质及磷的消化吸收,其中以对改善磷的利用率最显著,以添加 500~750mg/kg 为佳,但超过 750mg/kg 时消化率有下降趋势;在异育银鲫饲料中添加 500~750mg/kg 外源酶制剂显著促进了异育银鲫的生长。而过量添加时,外源酶则会抑制异育银鲫生长。

关键词 异育银鲫;表观消化率;增重率;饵料系数

中图分类号 S965.117

Effects of exogenous enzymes on the growth and apparent digestibility of
alogynogenetic crucian carp fingerlings

Wang Aimin, Liu Wenbin

Abstract Three hundreds Alogynogenetic crucian carp fingerlings (average weight 60.0 g) was divided into five groups randomly,namely I, II, III, IV and V group, everyone of which had three duplicates. The I group was contrast,fed with basic diet,the others were tested groups,fed with the basic diet added 250,500,750 and 1 000mg/kg “kemzeme” preparation respectively. Raised for 60 days, the results showed:It was effective for alogynogenetic crucian carp fingerlings to improve the digestibility of the nutrition when the exogenous enzymes was added in the alogynogenetic crucian carp fingerlings diet, among which the effect of P was significant and the amount of exogenous enzymes between 500mg/kg and 750mg/kg, when the added amount was over 750mg/kg, there was a tendency to make the digestibility decline; exogenous enzymes with the amount between 500mg/kg and 750mg/kg can significantly enhance the alogynogenetic crucian carp to grow, but when the amount was over 750mg/kg, it will inhibit Alogynogenetic crucian carp to grow.

Key Words alogynogenetic crucian carp;exogenous preparation enzymes;apparent digestibility; gained weight ratio

近年来,人们开始关注和研究水产酶制剂。Deguara 等^[1]在金头鲷、韩庆等(2002)^[2]在黄颡鱼、余年丰等(2001)^[3]在团头鲂中分别研究了添加酶制剂对其的影响。试验结果都表明:添加适量的外源酶有显

著的促生长作用。然而关于外源酶对水产动物营养物质消化的影响等方面研究甚少,仅仲军等(1994)^[4]、刘文斌等(1999)^[5]分别研究了在中国对虾、异育银鲫中添加酶制剂对营养物质消化率的影响。本试验以异育银鲫鱼种为研究对象,在饲料中添加复合外源酶,研究其对异育银鲫鱼种在营养物质消化率及生产性能方面的影响,为进一步在水产饲料中应用外源酶提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验鱼

采用购自南京市五旗渔场异育银鲫鱼种,试验鱼

王爱民,盐城工学院化学与生化学院,讲师,224003,江苏盐城。

刘文斌,南京农业大学动物科技学院。

收稿日期:2005-11-28

★ 基金项目:国际合作项目

均重 60.0g。

1.2 试验外源酶

本试验采用美国建明公司提供的复合外源酶,具体组成见表 1。

表 1 复合外源酶的配方、来源及活性

种类	来源	活性 (每千克商品酶)	活性单位
α -淀粉酶	地衣性杆菌	20 000	抗菌素单位
β -淀粉酶	黑色曲霉菌	20 000	抗菌素单位
β -葡聚糖酶	枯草杆菌	300	BGU
支链淀粉酶	嗜酸杆菌	69	PUU
果胶酶	黑色曲霉菌	27 500	PCU
内-蛋白酶	枯草杆菌	100 000	PU
外-蛋白酶	黑色曲霉菌	100 000	PU
纤维素酶	绿色木霉	3 750	CU

注:1.淀粉酶单位(抗菌素单位)规定为 1g 酶 1min 消化 1mg 淀粉;

2. β -葡聚糖酶单位即降解大麦 β -葡聚糖每分钟产生 1 μ mol 葡萄糖为 1BGU;

3.支链淀粉酶单位即能够水解出芽短梗孢糖的酶,其降解出短梗孢糖每分钟产生 1mol 葡萄糖为 1PUU;

4.果胶酶单位为每分钟催化果胶水解生成 1 μ g 半乳糖醛酸的酶量;

5.蛋白酶为每分钟水解 1 μ g 酪氨酸的酶量;

6.纤维素酶单位即降解底物每分钟生成 1 μ mol 葡萄糖为 1CU。

1.3 试验日粮

试验基础日粮主要由菜籽粕、花生粕、豆粕及鱼粉等组成,配方见表 2。

表 2 异育银鲫夏花基础日粮配方

原料组成	含量	营养水平	
鱼粉 (%)	6	粗蛋白 (%)	32.76
豆粕 (%)	18	有效磷 (%)	0.75
花生粕 (%)	30	钙 (%)	1.05
菜籽粕 (%)	16	蛋氨酸 (%)	0.48
次粉 (%)	24	赖氨酸 (%)	1.56
棒土 (%)	2		
磷酸二氢钙 (%)	2.4		
食盐 (%)	0.3		
大蒜宝 (mg/kg)	100		
添加剂 (%)	1.3		

1.4 试验时间与地点

试验于 4 月 8 日~6 月 18 日在南京农业大学动物科技学院水产营养实验室进行,其中驯化期 10d,正式试验期 60d。

1.5 试验设计

300 尾均重 60.0g 的异育银鲫鱼种随机分为 5 组,即 I、II、III、IV、V,每组设 3 个重复,15 个水族箱 (0.85m×0.55m×0.45m),每箱放养 20 尾试验鱼。其中 I

为对照组,饲喂基础日粮,II、III、IV、V 为试验组,分别饲喂在基础日粮上添加 250mg/kg、500mg/kg、750mg/kg、1 000mg/kg 复合酶制剂日粮,试验期间进行粗蛋白、磷、干物质表观消化率及酶活性测定,肠道中肠组织切片制作及称重等。

1.6 饲料制备与饲养管理

按照异育银鲫营养需求,设计配方,自制饲料。在基础饲料上按添加量加入不同水平的外源酶,混合均匀,再加水搅拌均匀,用小型绞肉机制成颗粒,自然晾干,放入 -20℃ 冰箱中冷藏备用。

每天投饲 3 次,时间分别为 8:00、13:00 和 18:00,投饲率为 2%~3%。具体投饲量还要根据天气、水质及鱼采食情况而调整,投饲做到“四定”,即定时、定点、定质和定量,每次投饲时间约 20~30min,使鱼吃饱,尽量不剩余饵料。每天排污一次,采用循环流水系统养鱼,每 5d 换水一次,换水量约为 1/4~1/3;每天充氧 10h 以上,保证溶解氧(DO)高于 5mg/l。试验期间,平均水温为 19.5℃。

1.7 测定指标及方法

1.7.1 生产性能测定

$$\text{增重率}(\%) = \frac{\text{鱼体末重} - \text{鱼体初重}}{\text{鱼体初重}} \times 100\%$$

1.7.2 营养物质表观消化率测定

1.7.2.1 收集粪便

采用虹吸管收集法收集粪便。具体方法如下:饲喂含 1%Cr₂O₃ 饲料 5d 后,开始收集,每天喂料 2h 后收集粪便,用捞网捞起完整条状粪便,选择外表带有包膜的完整粪便放入干燥容器内,凉干后放入 103℃ 烘箱中烘干备用。

1.7.2.2 测定方法

蛋白质采用凯氏定氮法^[6],Cr₂O₃ 含量采用湿式灰化定量法^[7],磷含量采用钒钼酸显色剂比色法^[6]。

1.7.2.3 表观消化率计算公式

$$\text{磷表观消化率} = \left(1 - \frac{\text{饲料 Cr}_2\text{O}_3 \text{ 含量}}{\text{粪便 Cr}_2\text{O}_3 \text{ 含量}} \times \frac{\text{粪便磷含量}}{\text{饲料磷含量}}\right) \times 100\%$$

$$\text{CP 表观消化率} = \left(1 - \frac{\text{饲料 Cr}_2\text{O}_3 \text{ 含量}}{\text{粪便 Cr}_2\text{O}_3 \text{ 含量}} \times \frac{\text{粪便 CP 含量}}{\text{饲料 CP 含量}}\right) \times 100\%$$

$$\text{干物质表观消化率} = \left(1 - \frac{\text{饲料 Cr}_2\text{O}_3 \text{ 含量}}{\text{粪便 Cr}_2\text{O}_3 \text{ 含量}}\right) \times 100\%$$

1.8 数据统计与分析方法

原始数据经 Excel2000 初步整理后,用 SAS6.12 中的单因子方差分析(One-way ANOVY)进行 LSD 法多重比较。

2 结果与分析

2.1 异育银鲫鱼种生产性能测定

表 3 外源酶对异育银鲫鱼种生产性能的影响

组项	增重率(%)
I	27.83±0.98 ^b
II	29.50±1.11 ^{ab}
III	31.23±0.37 ^a
IV	32.33±2.83 ^a
V	27.93±2.98 ^b

注:同一列肩标小写字母不同者差异显著($P<0.05$),同一列肩标小写字母相同者差异不显著($P>0.05$)。

从表 3 可知:随着外源酶添加量增大,增重率先上升,而后下降,与对照组的增重率比较,添加 500mg/kg、750mg/kg 复合酶制剂的试验组 III、IV 增重率差异显著($P<0.05$),其增重率分别提高了 3.40、4.50 个百分点,而添加 250mg/kg、1 000mg/kg 复合酶制剂的 II、V 组增重率差异不显著($P>0.05$)。

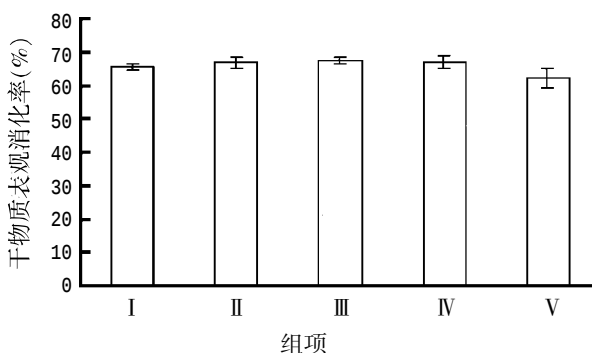
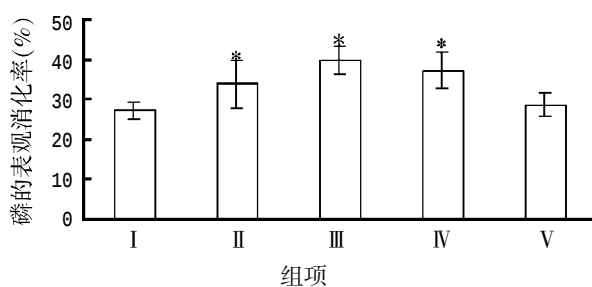
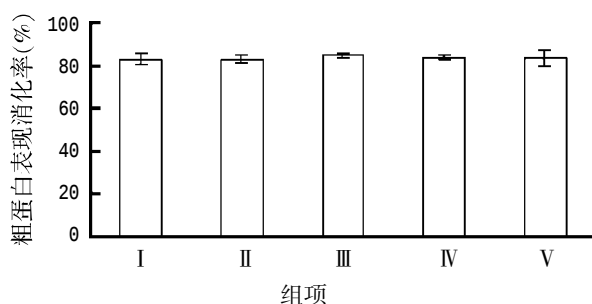
2.2 异育银鲫鱼种对营养物质的表观消化率的影响

表 4 外源酶对异育银鲫鱼种对营养物质表观消化率的影响(%)

组项	粗蛋白消化率	磷消化率	干物质消化率
I	82.94±2.63 ^a	27.28±2.11 ^b	65.47±1.13 ^a
II	82.98±1.74 ^a	33.95±6.08 ^a	66.68±1.62 ^a
III	84.63±1.33 ^a	39.80±3.60 ^a	67.32±0.88 ^a
IV	83.82±0.98 ^a	37.29±4.47 ^a	66.86±1.95 ^a
V	83.60±3.92 ^a	28.65±3.03 ^b	62.20±3.10 ^a

注:同一列肩标小写字母不同者差异显著($P<0.05$),同一列肩标小写字母相同者差异不显著($P>0.05$)。

由表 4 及图 1 可知:添加外源酶的异育银鲫鱼种对粗蛋白、干物质表观消化率影响不显著($P>0.05$),但随着外源酶添加量的增加,表观消化率呈先上升后下降趋势,其中以添加 500mg/kg 外源酶试验组蛋白质表观消化率和干物质表观消化率最高。而日粮中添加外源酶使异育银鲫鱼种对磷的表观消化率作用显著($P<0.05$),其中以添加 250、500、750mg/kg 复合酶制剂的试验组 II、III、IV 作用显著($P<0.05$),其磷的表观消化率比对照组分别提高了 6.67、12.52、10.01 个百分点,而当添加量大于 750mg/kg 时,试验组 V 的异育银鲫鱼种对磷的表观消化率提高不显著($P>0.05$)。说明添加 500mg/kg 外源酶的试验组其磷、粗蛋白及干物质表观消化率最高。



注: * 代表差异显著($P<0.05$)。

图1 外源酶对异育银鲫鱼种的营养物质表观消化率的影响

3 讨论

3.1 外源酶对异育银鲫鱼种营养物质消化率的影响

试验结果表明:添加外源酶对异育银鲫鱼种营养物质消化有促进作用,其中对磷的利用率提高最为显著,而对粗蛋白、总饲料利用率有先上升后下降趋势。这与白东清等(2002)^[8]在鲫鱼饲料中添加外源酶促进其对氮、磷利用率相吻合。Rajan 等(1999)^[9]报道:在以鱼粉、油饼、麦麸为基础原料的鲤鱼饲料中添加 0.25、0.50、1.0、2.0mg/kg 外源酶,试验结果以添加 1.0mg/kg 的试验组干物质表观消化率最高,蛋白质利用率也最高^[9]。表明了添加外源酶能提高动物对营养物质的消化率,促进生长,与本试验结果相符。外源酶提高鱼类营养物质消化率的原因有两方面:一是外源酶作为消化酶参与鱼类对饲料成分的分解,破坏植物性饲料的细胞壁,使存在于细胞内大分子营养源能够充分释放,降解抗营养因子^[10]。本试验的基础饲料是以菜籽

粕、豆粕、小麦为主,而外源酶中含有果胶酶、纤维素酶等,可不同程度地分解或消除这些物质,综合提高了饲料效率和有助于改善主要营养物质的消化吸收。二是外源酶促进鱼类本身内源酶的分泌,与外源酶协同作用,从而加强对饲料营养成分的消化与吸收,提高鱼类对营养物质的转化率。

试验还发现,随着外源酶添加到 1 000mg/kg 时,其表观消化率反而下降,甚至低于对照组。外源酶对异育银鲫促生长的作用也有类似趋势。原因有两点:一是添加适量外源酶(如 500mg/kg)时,饲料中的淀粉具有粘性,使饲料在肠道滞留时间过长,从而使饲料中营养成分能够被充分吸收,提高其表观消化率;而添加过量外源酶后使淀粉分解过快,饲料在肠道中滞留时间短,营养来不及消化吸收,从而导致表观消化率下降。另外一点,外源酶添加量过大时,可能抑制了异育银鲫内源酶的分泌,从而产生了反馈抑制作用,降低了消化率。

3.2 外源酶对异育银鲫鱼种生产性能的影响

在畜禽研究中已经证明:添加外源酶对动物有明显的促生长作用。本试验在异育银鲫鱼种以含豆粕、花生粕等植物性蛋白原为基础饲料中添加 250、500、750、1 000mg/kg 复合酶制剂,结果表明:添加 500、750mg/kg 复合酶制剂的试验组增重率显著提高,分别比对照组提高 3.40、4.50 个百分点,差异显著 ($P < 0.05$)。说明以蛋白酶、淀粉酶、 β -葡聚糖酶为主的复合酶对异育银鲫鱼种有显著的促生长作用,且其最佳添加范围为 500~750mg/kg。国内外的研究都表明,添加一定量的外源酶对水产动物有明显的促生长作用。Carter 等(1996)^[11]在对大西洋鲑的以鱼粉和豆粕为基础饲料的日粮中添加外源酶,试验表明:外源酶能促进大西洋鲑生长,提高饲料转化率;周小秋等(2001)^[12]在鲤鱼饲料中添加外源酶也证实了其对动物的促生长作用。外源酶对异育银鲫促生长作用的原因可能是外源酶进入异育银鲫体内,一方面参加对营养物质的消化分解,添加的复合酶中含有蛋白酶、淀粉酶等消化酶,能直接参与蛋白质、糖类的分解,提高异育银鲫对这些营养物质的消化率,试验中对粗蛋白消化率比对照组高就说明这点;另一方面,外源酶由于含有 β -葡聚糖酶,有利于降低食糜的黏度,使内源消化酶与营养物质充分接触,促进生长。高峰(1998)^[13]研究表明,在蛋雏鸡 60%大麦饲料和 60%小麦饲料中添加含有 β -葡聚糖酶等复合外源酶,结果加酶组小肠食糜黏度显著降低,也证明了这一推断。

试验发现,外源酶对异育银鲫鱼种促生长作用的一个最佳添加范围为 500~750mg/kg,而达到 0.1%时其增重率反而下降。刘文斌等(1999)^[5]在异育银鲫、Rajan 等(1999)^[9]在鲤鱼饲料中添加外源酶,发现外源酶均有最佳添加量,分别为 750、1 000mg/kg,且过量对生产性能具有抑制作用。原因可能有两点:一方面过量添加外源酶可能抑制了动物内源酶活性,降低了内源酶对营养物质的分解,影响其消化率。本试验发现添加 1 000mg/kg 试验组的蛋白质消化率低于添加 500、750mg/kg 试验组,说明了这一因果关系,从而导致增重率下降。另一方面过量添加外源酶降低食糜黏度,缩短食糜在肠道的滞留时间,加快营养物质成分的流动,减少动物对营养物质的消化吸收,使其生产性能下降。

参考文献

- 1 Deguara S, Jauncey K, Feord J, et al. Growth and feed utilization of gilthead sea bream, Sparus aurata, feed diets with supplementary enzymes[J].
- 2 韩庆,夏维福,等.酶制剂对黄颡鱼生长性能的影响[J].水产学杂志,2002,15(1):84~86
- 3 余丰年,王道尊,等.纤维素酶对团头鲂生长及饲料利用率的影响[J].上海水产大学学报,2001,10(1):90~92
- 4 仲军,王健鹏.复合酶制剂对中国对虾消化率的影响[J].海洋科学,1995(1):57~59
- 5 刘文斌.饲料中添加酶制剂对异育银鲫消化和增重影响[J].南京农业大学学报,1999,22(3):57~60
- 6 杨胜.饲料分析及饲料质量检测技术[M].北京:中国农业出版社,1991
- 7 李爱杰.鱼类饲料的总消化率及其蛋白质消化率的测定[M].水产动物营养与饲料学,中国农业出版社,1994.199~200
- 8 白东清,乔秀亭,等.添加复合酶对鲤鱼氮磷利用率的影响[J].水利渔业,2002,22(7):17~18
- 9 Rajan MR, Priya V. Growth feed utilization and apparent digestibility of common carp cyprinus carpio var communis using amylase enzyme[J]. Environment and Ecology, 1999,17(3):654~659
- 10 赵林果,王传槐.复合酶制剂降解植物性饲料的研究[J].饲料研究,2001(1):2~3
- 11 Carter CG, Houlihan DF, Buchanan B, et al. Growth and feed utilization efficiencies of seawater Atlantic salmon, salmon salar L fed a diet containing supplementary enzymes [J]. Aquaculture and Fisheries Management, 1994,25(1):37~46
- 12 周小秋.酶制剂在鲤鱼饲料中适宜添加量研究[J].水利渔业,2001,21(6):7~8
- 13 高峰.非淀粉多糖酶制剂对鸡、猪生长的影响及作用机制[C].南京农业大学,硕士论文

(编辑:孙崎峰, sqf0452@126.com)

饥饿对异育银鲫主要器官组织 游离氨基酸含量和生化组成的影响

伍代勇 叶元土 丁小峰 蒋蓉

摘要 异育银鲫在饥饿60d的过程中,设置11个时间点取样,采用茚三酮方法测定异育银鲫主要器官组织游离氨基酸总量,同时测定粗脂肪、粗蛋白、水分含量,探讨在饥饿过程中各器官组织生化组成和游离氨基酸库中游离氨基酸含量的变化规律。结果发现:①饥饿过程中,鲫鱼各器官组织粗脂肪和水分含量都有所降低,不同器官组织下降的趋势不一致;而全鱼、肌肉和肝胰脏粗蛋白含量基本保持不变。②饥饿0~60d,各器官组织游离氨基酸含量变化不一致。以饥饿60d和0d值比较,降低比例依次为肠道71.09%、肝胰脏70.95%、肌肉58.14%、肾脏50.02%、心脏38.87%,降低比例较大;而脾脏、大脑、性腺含量则变化不大。③整个饥饿过程,各器官组织游离氨基酸含量并不是一直下降的,部分器官组织出现上升的过程。游离氨基酸含量呈上升趋势的时间:肌肉和肠道出现在饥饿5~10d;全鱼、肾脏出现在5~20d;而肝脏、心脏在1~3d。

关键词 鲫鱼;饥饿;游离氨基酸

中图分类号 S965.117

The changes of free amino acid in all organs and tissues of carssius aurtus during starvation

Wu Daiyong, Ye Yuantu, Ding Xiaofeng, Jiang rong

Abstract The Carssius Aurtus have been starved for 60 days and exampled in 0 (4h after last feeding), 1th, 3th, 5th, 10th, 15th, 20th, 30th, 40th, 50th, 60th day respectively. The content of free amino acid (FAA) in the whole body, muscle, brain, gut, liver, spleen, kidney, heart, spermary, ovary was measured with the method of ninhydrin and at the same time the lipid, protein and water content were measured during starvation. The following conclusion was obtained:①The lipid and water content of all the organs and tissues decreased. There was different decreasing tendency in different organs and tissues. The protein content in the whole body, muscle and liver did not change significantly during the starvation.②The FAA content of different organs and tissues changed differently, which in the gut, liver, muscle, kidney, heart deceased 71.09%, 70.95%, 58.14%, 50.02%, 38.87%, respectively, comparing the value in 60th day with that in 0 day. The FAA content of spleen, ovary, brain did not changed significantly.③The content of FAA in some organs and tissues have not been decreasing in the whole process of starvation, while some organs and tissues which showed the increasing tendency were the muscle and gut in the 5~10th day, the whole body and kidney in the 5~20th day, and the liver and heart in the 1~3th day.

Key words carssius aurtus;starvation;free amino acid

处于饥饿状态下的鱼类代谢机能会发生变化,它可以利用自身贮存的物质如糖类、脂肪和蛋白质提供能量,称为内源营养或自体营养。已有学者利用鱼体生物化学组成来评价在饥饿胁迫情况下鱼类对内源物质

的利用^[1,2],而目前关于饥饿对鱼体器官组织氨基酸库中游离氨基酸变化的影响研究不多。本试验在饥饿60d内,设置11个饥饿时间点取样,测定鲫鱼主要器官组织部分生化组成含量以及游离氨基酸含量,并结合其变化,探讨饥饿过程中鲫鱼对内源物质的利用情况和主要器官组织游离氨基酸的变化规律。

1 材料与方法

1.1 试验鱼管理

试验鲫鱼为当年异育银鲫鱼种,大小为(253.6±

伍代勇,苏州大学生命科学学院,硕士,215123,江苏苏州大学独墅湖校区生命科学学院702栋2222室。

叶元土(通讯作者)、丁小峰、蒋蓉,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2005-11-28

6.9)g,共60尾。随机将其分成4组,放于 $1\text{m}\times 0.5\text{m}\times 0.6\text{m}$ 的PVC水簇箱中,水簇箱在同一循环系统中。用同种饲料暂养一周后,开始饥饿试验。饥饿期间不投喂任何食物,且在养殖水簇箱的进水口放置过滤棉,防止循环水带进固体杂物。饥饿试验从10月开始,到12月结束(共计60d),以充分曝气的自来水为水源,经过增氧泵增氧后由出水管抽回各水簇箱,每天补充总水量5%~10%的自来水,水温由 22°C 降至 16°C ,溶解氧保持在 6.0mg/l 以上,pH值6.5~7.5。

1.2 取样和样品处理

试验设置0、1、3、5、10、15、20、30、40、50、60d共11个饥饿时间点取样,投饲后4h作为饥饿0d。每次试验随机抽取4~5尾鲫鱼,按照常规解剖方法取出鲫鱼的肝脏、脾脏、肾脏、心脏、卵巢、大脑、肌肉和肠道。剔除肠道外的脂肪、系膜,去除肠道内容物。肌肉为背部、侧线鳞以上的白肌。每2~3尾鱼的器官组织合并成一个分析样品,另取2尾鱼作为全鱼样品。所有样品均用定性滤纸吸干表面血污,用剪刀剪碎混匀后,取少量鲜样,按照茚三酮方法^[3]测定游离氨基酸含量,含量以每克鲜组织含氨基酸的毫克数表示(mg/g)。剩余样品在 70°C 下恒温烘干至恒重,用恒重法可以计算样品水分的含量。干样用氯仿-甲醇抽提法^[4]测定粗脂肪,常规半微量凯氏定氮法测定粗蛋白含量。

2 试验结果

2.1 鲫鱼各器官组织游离氨基酸含量的变化

2.1.1 全鱼和外周器官组织游离氨基酸含量的变化(见图1)

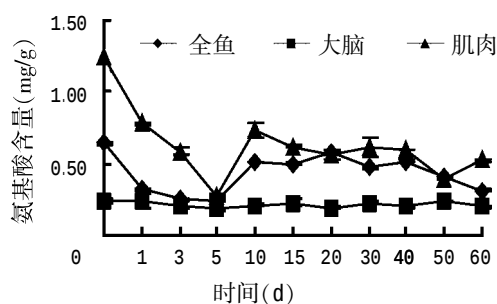


图1 饥饿0~60d全鱼和外周器官组织游离氨基酸含量的变化

由图1可以看出,饥饿0~60d鲫鱼全鱼游离氨基酸含量有所降低,由饥饿0d的 $(0.641\pm 0.007)\text{mg/g}$ 降低到饥饿60d的 $(0.310\pm 0.007)\text{mg/g}$,降低了51.64%。但整个过程中游离氨基酸含量并不是一直下降的,在饥饿初期,全鱼游离氨基酸含量明显下降,由0d时的 $(0.641\pm 0.007)\text{mg/g}$ 下降到5d时的 $(0.246\pm 0.006)\text{mg/g}$;随着饥饿时间延长,其含量出现升高的过程,在饥饿

20d时出现一个峰值,为 $(0.572\pm 0.009)\text{mg/g}$,饥饿20~60d逐渐降低。

饥饿0~60d,外周器官组织包括肌肉和大脑的游离氨基酸含量总体呈降低趋势,肌肉由 $(1.250\pm 0.013)\text{mg/g}$ 降低到了 $(0.523\pm 0.002)\text{mg/g}$,降低了58.16%;而在饥饿5~10d,肌肉游离氨基酸含量表现出上升的趋势,由整个饥饿过程中的最低点 $(0.277\pm 0.004)\text{mg/g}$ 上升到了饥饿10d时的 $(0.734\pm 0.029)\text{mg/g}$;以后随饥饿时间而逐渐下降。

饥饿过程中,外周器官组织的大脑游离氨基酸含量维持一个相对稳定的值,由饥饿0d的 $(0.239\pm 0.008)\text{mg/g}$ 降低到了60d的 $(0.197\pm 0.006)\text{mg/g}$ 。

2.1.2 内脏器官组织游离氨基酸含量的变化(见图2、图3)

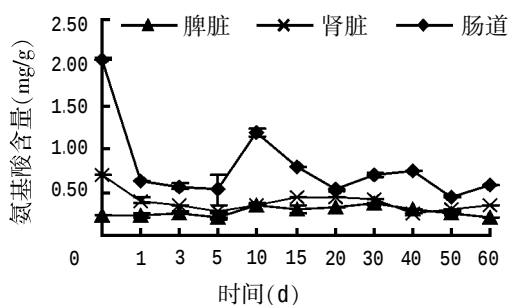


图2 饥饿0~60d,内脏器官组织游离氨基酸含量的变化

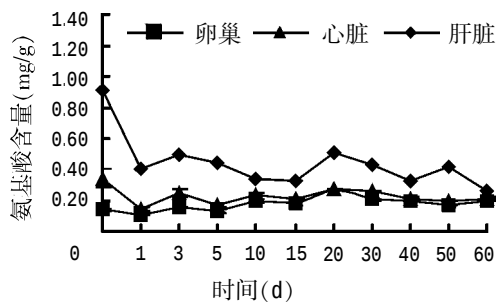


图3 饥饿0~60d,内脏器官组织游离氨基酸含量的变化

本试验鲫鱼内脏器官组织的取样主要包括肠道、肝脏、肾脏、脾脏、心脏和卵巢。饥饿0~60d,由器官组织游离氨基酸的变化(见图2、图3)可以发现,随着饥饿时间的延长,鲫鱼内脏器官组织中肠道、肝脏、肾脏和心脏的游离氨基酸含量都有明显的降低。以饥饿60d与饥饿0d的比较,肠道、肝脏、肾脏、心脏分别降低了71.09%、70.95%、50.02%、38.87%,下降较为显著,以肠道降低最大。除肝脏呈现一直降低的趋势外,肠道、肾脏、心脏在饥饿期间出现一个游离氨基酸含量回升的阶段,肠道出现在饥饿5~10d,由 $(0.535\pm 0.04)\text{mg/g}$ 回升到峰值 $(1.189\pm 0.009)\text{mg/g}$,以后饥饿

10~60d,肠道游离氨基酸含量缓慢下降;同样,肾脏游离氨基酸含量在饥饿 0~5d 时下降到最低值 (0.152±0.037)mg/g,以后缓慢上升至饥饿 15d 后,逐渐下降。心脏则在饥饿 1d 时,迅速下降后逐渐回升,大约在饥饿 20~60d 期间缓慢下降。

脾脏和卵巢总体来看与其它内脏器官组织的变化趋势不一致,即随着饥饿时间的延长,组织中游离

氨基酸含量却平稳的上升,脾脏由饥饿 0d 的(0.231±0.005)mg/g 上升到了 30d 的(0.376±0.012)mg/g,饥饿 30~60d 降低到(0.207±0.031)mg/g。卵巢由饥饿 0d 的(0.139±0.004)mg/g 上升到饥饿 30d 的 (0.303±0.009)mg/g,以后降低到了(0.202±0.001)mg/g。

2.2 鲫鱼各器官组织生化组成的变化

2.2.1 各器官组织水分含量的变化

表 1 饥饿过程中鲫鱼各器官组织水分的含量(% ,70℃干物质)

器官组织	饥饿时间(d)										
	0	1	3	5	10	15	20	30	40	50	60
全鱼	73.48	71.47	73.31	75.02	72.75	-	72.65	77.22	73.43	75.33	78.57
肌肉	76.37	77.05	76.64	78.12	77.60	78.13	77.70	77.09	77.28	78.46	77.38
大脑	75.08	-	-	71.79	74.57	79.27	75.35	78.4	81.36	75.86	-
肠道	67.26	66.96	69.64	73.22	72.94	75.61	74.08	76.13	77.68	76.86	75.56
肝脏	69.06	69.58	69.61	70.32	68.42	74.77	68.25	72.11	70.74	69.81	82.95
脾脏	74.32	81.51	76.85	77.12	74.61	77.81	73.27	75.62	76.2	72.68	75.72
肾脏	71.28	75.46	74.75	77.87	72.48	77.36	75.8	77.48	79.91	76.83	-

注:表中无数值是因为试验中没有测出。下表同。

鲫鱼全鱼和主要器官组织水分含量见表 1。鲫鱼全鱼和器官组织水分都有不同程度的上升,其中内脏器官组织中的肠道、肾脏和肝脏水分含量上升比例比其它器官组织高。以饥饿 60d 与 0d 值比较,以肠道上升比例最高,由饥饿 0d 的 67.26%上升至饥饿 60d 的

75.56%,上升了 12.33%;其次是肾脏升高 7.79%和肝脏升高 5.63%,全鱼升高了 4.21%;而内脏器官组织中的脾脏以及外周器官组织(肌肉和大脑)升高比例较小,分别为 1.83%、1.32%和 1.04%。

2.2.2 鲫鱼各器官组织脂肪含量的变化(见表 2)

表 2 饥饿过程中,鲫鱼各器官组织脂肪的含量(% ,70℃干物质)

器官组织	饥饿时间(d)											平均值
	0	1	3	5	10	15	20	30	40	50	60	
全鱼	23.20	21.01	15.59	17.80	23.31	20.00	21.62	13.53	17.87	19.36	17.30	19.14
大脑	47.14	47.25	46.95	55.64	45.28	49.49	50.00	55.53	48.95	48.09	46.25	49.14
肌肉	15.18	10.93	7.40	9.77	11.56	9.89	11.59	8.26	11.05	12.83	12.07	10.96
肠道	39.66	32.00	38.20	36.09	33.63	28.36	27.96	21.08	21.65	27.50	25.11	30.11
肝脏	25.00	20.50	24.02	10.96	28.47	18.25	6.39	5.75	11.52	12.04	11.76	15.88
脾脏	23.65	17.57	16.58	18.47	24.86	15.09	16.88	10.30	12.50	12.03	15.64	16.69
肾脏	34.92	23.75	26.50	25.90	54.95	32.74	28.95	27.59	25.89	26.67	-	30.79

以整个饥饿过程中脂肪平均值比较,其中大脑脂肪含量最高,为 49.14%;肌肉最低,为 10.96%;其余依次是肾脏 30.79%、肠道 30.11%、全鱼 19.14%、脾脏 16.69%、肝脏 15.88%。

饥饿 0~60d,鲫鱼全鱼和各器官组织脂肪含量随饥饿时间延长都有降低,不同器官组织脂肪含量降低的程度不一致。以饥饿 60d 与 0d 值比较,降低比率依次是,肝脏 52.96%、肠道 36.69%、脾脏 33.87%、全鱼 25.43%、肾脏 23.63%、肌肉 20.49%、大脑 1.89%。其中,内脏器官组织(肝脏、肠道、脾脏和肾脏)降低比例明显高于外周器官组织(肌肉和大脑),而大脑在整个饥饿过程中脂肪含量的变化相对比较缓慢。

同时,各器官组织在饥饿过程中,脂肪含量在饥

饿初期显著降低,而随着饥饿时间的延长脂肪含量都会出现上升的过程,如全鱼、肌肉和脾脏都在饥饿 3~10d 阶段脂肪含量上升,上升趋势一致,肠道出现在饥饿 1~3d;肾脏在 1~15d;肝脏在 5~10d。不同器官组织上升趋势不完全一致,但是都有上升的过程。

2.2.3 鲫鱼各器官组织粗蛋白含量的变化(见表 3)

从表 3 可以看出,在饥饿整个过程中,鲫鱼的各器官组织的蛋白质的百分含量基本上保持一个相对稳定的水平,没有出现明显的变化,而且以肌肉的蛋白质含量最高,平均值为 85.6%,肝脏和全鱼较肌肉低,分别为 61.9%和 36.4%。

3 讨论

3.1 饥饿对鲫鱼器官组织生化组成的影响的分析比较

表3 饥饿过程中,鲫鱼全鱼和各器官组织蛋白的含量(% ,70℃干物质)

器官组织	饥饿时间(d)									
	0	1	3	5	10	20	30	40	50	60
全鱼	59.22	58.84	64.17	62.94	58.02	58.88	57.24	62.72	56.50	57.92
肌肉	86.00	85.81	87.50	86.36	87.60	86.67	86.51	85.96	80.69	83.62
肝脏	34.10	34.55	35.31	39.77	37.65	34.23	34.00	36.15	34.18	-

饥饿或食物不足时,动物体消耗自身贮存的能量以维持生命活动。多数水产动物的主要贮能物质为脂肪和糖原,机体主要消耗这两种物质,一般脂肪大量消耗后开始利用蛋白质作为代谢能源^[9]。但也有不少研究者发现,饥饿或食物不足对动物体蛋白质含量没有显著影响^[6]。伴随能源物质的不断消耗,机体内水分和灰分含量逐渐上升。本试验的结果与后两者研究结论一致,在饥饿 0~60d 过程中,异育银鲫鱼体及各器官组织中脂肪的含量降低较为明显,水分有所上升,而蛋白质含量没有明显的降低,表明鲫鱼在饥饿状态下首先是动用机体中的脂肪来提供能量需要的。

饥饿期间鱼体动用机体内能量物质有先有后,而对不同器官,动用贮能物质也有先后次序。谢小军等^[7]认为饥饿状态下,鱼类首先动用的是贮存性组织(store tissues)中的物质,然后才利用重要器官和运动系统中的结构物质。宋昭彬等^[8]在饥饿试验中对南方鲇仔稚鱼消化系统的形态和组织学的研究中发现,饥饿易于在肠上体现,接下去是肝、胰和骨骼肌等。而肠和肝脏最先受到影响,主要因为它们与贮存能量物质有关。本试验发现,饥饿过程中鲫鱼的主要内脏器官(肠道、肝胰脏、脾脏、肾脏)脂肪含量降低明显,且降低比例都高于肌肉、大脑。同时,饥饿期间大脑和卵巢游离氨基酸不易受饥饿的影响,含量没有明显变化,这一发现支持了上述观点。这可能是由于异育银鲫各器官组织的功能不同,肠道、肝脏等内脏器官组织起贮存能源物质的作用,对饥饿等外界条件敏感,饥饿时优先动员其中的能源物质,而大脑和性腺(卵巢)在饥饿等恶劣的条件下,首先就会得到保护。

3.2 饥饿过程中器官组织游离氨基酸的影响的分析比较

机体氨基酸库是蛋白质合成代谢的前体库,饥饿状态下,体内氨基酸的氧化速率高于维持状态,氨基酸用于葡萄糖再生的比例增加,相应地用于蛋白质合成的比例减少,就造成体内氨基酸代谢库的缩小和蛋白质合成量的下降^[9]。本试验各器官组织游离氨基酸含量的减少说明了饥饿对氨基酸库的影响。各器官组织氨基酸总量上存在差异,以肠道、肝脏、肌肉最高,而肾脏、脾脏、心脏、性腺、大脑较低。同时,不同器官

组织受饥饿影响程度不一样,从饥饿 0~60d,各器官组织游离氨基酸含量降低比例来看,依次为肠道 71.09%、肝脏 70.95%、肌肉 58.14%、肾脏 50.02%、心脏 38.87%,而脾脏、大脑、性腺含量则变化不大。这说明鲫鱼在内源营养条件下,仍然是贮能器官(肠道、肝脏、肌肉组织)中的游离氨基酸受饥饿影响最为显著,对脾脏、大脑、性腺影响较小。

在饥饿 0~60d 过程中,异育银鲫主要器官组织游离氨基酸含量都呈现降低的趋势,但是部分器官组织却出现含量回升的过程,不同器官组织上升的时间不完全一致,其中肌肉和肠道出现在饥饿 5~10d,全鱼、肾脏出现在 5~20d,而肝脏、心脏则在 1~3d。而脾脏、大脑、性腺含量则变化不大。肌肉、肠道、肾脏、肝脏、心脏在短期饥饿后出现游离氨基酸含量的上升可能是由于这些器官组织对饥饿的胁迫影响更为敏感,更容易对外界环境条件的改变做出回应,而脾脏、大脑、性腺在环境的急剧变化时不容易受到影响,这种保护机制可能对维持生命和种族的延续有重要的意义。

参考文献

- 1 沈文英,林浩然,张为民.饥饿和再投喂对草鱼鱼种生物化学组成的影响[J].动物学报,1999,45(4):404~412
- 2 吴立新,董双林.水产动物继饥饿或营养不足后的补偿生长研究进展[J].应用生态学报,2000,11(6):943~946
- 3 叶元土.茚三酮法测定蛋白质饲料中水溶蛋白质成份[J].饲料工业,1993,14(9):18~20
- 4 王少梅,陈少莲,崔弈波.用氯仿-甲醇抽提法测定鱼体脂肪含量的研究[J].水生生物学报,1993,17(2):193~196
- 5 Strling H P. Effects of experimental feeding and starvation on the proximate composition of the European bass[J]. *Picentrarchus labrax* Mar.Biol.,1976(34):85~91
- 6 Maddock D M, Burton M P M. Some effects of starvation on the lipid and skeletal muscle layers of the winter flounder, *Pleuronectes americanus*[J]. *Can.J.Zool.*,1994(72):1 672~1 679
- 7 谢小军,邓利,张波.饥饿对鱼类生理生态学影响的研究进展[J].水生生物学报,1998,22(2):181~187
- 8 宋昭彬,何学福.饥饿对南方鲇仔稚鱼消化系统的形态和组织学影响[J].水生生物学报,2000,24(2):155~160
- 9 罗莉,叶元土,林仕梅.营养和非营养因素对动物蛋白质周转的调控[J].西南农业学报,2001,14(4):96~101

(编辑:高 雁, snowyan78@tom.com)

不同蛋氨酸源对肉仔鸡生产性能的影响

李石强 姚军虎 张维军 黄苏西 刘玉瑞 王跃杰

摘要 DL-蛋氨酸(DLM)和蛋氨酸羟基类似物(MHA-FA)是常用的两种蛋氨酸添加剂。本试验旨在研究两种蛋氨酸添加剂对肉仔鸡生产性能的影响。试验采用单因素完全随机设计。7日龄艾维茵肉仔鸡560只,随机分为7个处理,每处理5个重复,每重复16只,试验持续至42日龄。自由采食饮水。计算各周及全期增重、采食量和料肉比。试验结果显示,基础日粮中添加适宜水平的蛋氨酸可显著改善肉鸡的生产性能($P<0.05$),但不影响肉鸡的采食量。以料肉比为指标肉仔鸡的蛋氨酸需要量为:肉小鸡阶段0.44%(ME12.12MJ/kg,CP19.5%);肉中大鸡阶段0.35%(ME12.25MJ/kg,CP18.0%)。MHA-FA的相对生物学效价分别是:64%(肉小鸡日增重)、55%(肉小鸡料肉比);85%(肉中大鸡日增重)、60%(肉中大鸡料肉比);74%(全期日增重)、61%(全期料肉比)。

关键词 肉仔鸡;固体蛋氨酸;蛋氨酸羟基类似物;相对生物学效价;生产性能

中图分类号 S831.5

蛋氨酸,又名甲硫氨酸,是家禽的一种必需氨基酸。在玉米-豆粕型家禽生长日粮中,它还是第一限制性氨基酸。目前,蛋氨酸主要有两种商品形式,一类为DL-蛋氨酸(DLM)及其钠盐(DL-Met-Na);另一类为蛋氨酸羟基类似物(MHA),有游离酸(MHA-FA)和钙盐(MHA-Ca)两种形式。本试验旨在比较DLM和MHA-FA对肉仔鸡生产性能的影响。

1 材料与方法

1.1 试验动物

7日龄艾维茵肉仔鸡560只,随机分为7个处理,每处理5个重复,每重复16只,试验持续至42日龄。

1.2 试验日粮

试验共设计7种日粮,日粮组成及营养水平见表1和表2。DLM设2个添加水平,MHA-FA设4个添加水平。其中处理A、B、C蛋氨酸符合NRC(1994)标准(前期占日粮的0.50%,后期占日粮的0.37%)。处理D、E、F的蛋氨酸不能满足NRC(1994)标准要求(前期占日粮的0.40%,后期占日粮的0.32%)。处理G为对照组。7种日粮均为颗粒料。

1.3 饲养管理

李石强,河南商都集团,硕士,451191,河南郑州新郑龙湖经济开发区。

姚军虎(通讯作者),西北农林科技大学动物科技学院。

张维军、黄苏西,德国萨太平洋有限公司。

刘玉瑞、王跃杰,深圳康达尔(高陵)饲料有限公司。

收稿日期:2005-10-31

试验前育雏室用甲醛和高锰酸钾(2:1)熏蒸消毒,封闭24h,通风1周。试验期肉仔鸡全程笼养,自然通风。光照、温度和免疫依常规进行,自由采食和饮水。

表1 基础日粮组成及其主要营养水平

原料	配方		营养水平	
	7~21日龄	22~42日龄	7~21日龄	22~42日龄
玉米(%)	63.26	67.71	代谢能(MJ/kg)	12.13
豆粕(%)	1.20	1.40	粗蛋白(%)	19.50
豆粕(%)	19.30	9.20	钙(%)	1.00
棉粕(%)	8.00	12.00	总磷(%)	0.67
菜粕(%)	3.00	4.00	有效磷(%)	0.45
血粉(%)	0	1.00	蛋氨酸(%)	0.33
肉骨粉(%)	3.20	2.70	赖氨酸(%)	1.10
石粉(%)	0.80	0.80	苏氨酸(%)	0.74
食盐(%)	0.30	0.30	色氨酸(%)	0.22
赖氨酸(%)	0.44	0.39	蛋+胱氨酸(%)	0.64
预混料(%)	0.50	0.50		0.61

注:两阶段预混料向每千克日粮中分别提供,VA 20 000和15 000IU;VD₃ 6 800和5 100IU;VE 32和24IU;VK₃ 6.0和4.5mg;VB₁ 4.0和3.0mg;VB₂ 13.6和10.2mg;VB₆ 8.0和6.0mg;VB₁₂ 40.0和30.0μg;烟酸 40.0和30.0mg;泛酸 20.0和15.0mg;叶酸 1.6和1.2mg;生物素 260.0和195.0μg;Cu 10.0和8.0mg;Fe 60.0和40.0mg;Zn 80.0和60.0mg;Mn 80.0和60.0mg;I 600.0和400.0μg;Se 300.0和300.0μg。

1.4 观测指标

试验开始时按重复称重,以后每周末早饲前空腹称重。记录每周给料量和剩料量,计算每周及各阶段平均日采食量、平均日增重和料肉比。详细记录鸡群健康状况,统计死亡率。

表2 试验日粮蛋氨酸的添加量(%)

项目	蛋氨酸类型	蛋氨酸实际添加量	
		7~21 日龄	22~42d 日龄
G	基础日粮	-	-
D	DLM	0.070	0.050
A	DLM	0.160	0.080
F	MHA-FA	0.118	0.071
E	MHA-FA	0.143	0.074
C	MHA-FA	0.221	0.112
B	MHA-FA	0.268	0.140

表3 不同处理对 7~21 日龄肉鸡生产性能的影响

项目	21 日龄体重(g/只)	采食量(g/只·d)	日增重(g/只·d)	料肉比
A	600±15 ^{ab}	55.21±1.68 ^a	34.98±1.35 ^b	1.580±0.069 ^{bc}
B	593±11 ^{bc}	54.72±1.08 ^a	34.57±0.80 ^{ab}	1.584±0.039 ^{bc}
C	618±18 ^a	55.77±2.21 ^a	36.60±1.32 ^a	1.524±0.030 ^c
D	601±14 ^{ab}	54.17±0.80 ^a	34.85±0.76 ^b	1.555±0.026 ^{bc}
E	605±22 ^{ab}	55.40±1.60 ^a	35.35±1.81 ^{ab}	1.569±0.037 ^{bc}
F	593±16 ^{bc}	54.92±1.66 ^a	34.53±0.80 ^b	1.591±0.052 ^b
G	577±9 ^c	59.06±2.01 ^a	33.24±0.53 ^c	1.687±0.043 ^a

注:同列数据上标不同者表示差异显著(P<0.05),下同。

1.5 数据分析

利用方差分析处理所获数据,并采用 Duncan's 法多重比较。

利用 SAS 软件,采用多元非线性回归(二次模型)对试验数据进行回归分析。通过回归方程的系数,计算 MHA-FA 相对于 DLM 的相对生物学效价。

试验数据排列方式如下(0 表示未添加,1 表示添加):

$X_{11}, X_{21}, Y_{11}; X_{11}, X_{21}, Y_{21}; X_{11}, X_{21}, Y_{31}; \dots$

其中: X_1, X_2 分别表示 DLM 与 MHA-FA 的添加量;当 $X_1=0, X_2=0$ 时, Y 为对照组的各项指标; $X_1=1, X_2=0$ 时, Y 为 DLM 添加组的各项指标; $X_1=0, X_2=1$ 时, Y 为 MHA-FA 添加组的各项指标。

所用二次模型: $Y = \alpha + \beta_{11}X_1 + \beta_{21}X_2 + \beta_{12}X_1^2 + \beta_{22}X_2^2$

式中: Y ——观测指标;

α ——常数项;

X_1 ——DLM 的添加量;

X_2 ——MHA-FA 的添加量。

β_{11} 和 β_{12} 分别是 X_1 的一次项和二次项回归系数, β_{21} 和 β_{22} 分别是 X_2 的一次项和二次项回归系数。

由回归方程得出极值点时的蛋氨酸添加量和各指标值,计算 MHA-FA 相对于 DLM 的生物学效价。

$$RBV(\text{日增重}) = \frac{Y_{MHA-FA}}{Y_{DLM}} \times \frac{X_{DLM}}{X_{MHA-FA}}$$

$$RBV(\text{料肉比}) = \frac{Y_{DLM}}{Y_{MHA-FA}} \times \frac{X_{DLM}}{X_{MHA-FA}}$$

2 结果与分析

21 日龄时(见表 3),C 组体重显著高于 B、F、G 组(P<0.05),采食量各处理间差异不显著(P>0.05)。第一阶段日增重和料肉比以 C 组最好、G 组最差(P<0.05)。由图 1 可知,肉仔鸡第一阶段的生产性能随 DLM 或 MHA-FA 添加量的添加呈显著的二次曲线形式。

日增重: $Y = 33.07 + 34.71X_1 + 25.36X_2 - 142.02X_1^2 - 65.12X_2^2$ ($R^2=0.667\ 6$)

料肉比: $Y = 1.691 - 2.841X_1 - 1.362X_2 + 13.356X_1^2 + 3.356X_2^2$ ($R^2=0.908\ 0$)

因此,21 日龄以日增重和料肉比为指标,MHA-FA 相对于 DLM 的生物学效价分别是 65%和 55%。

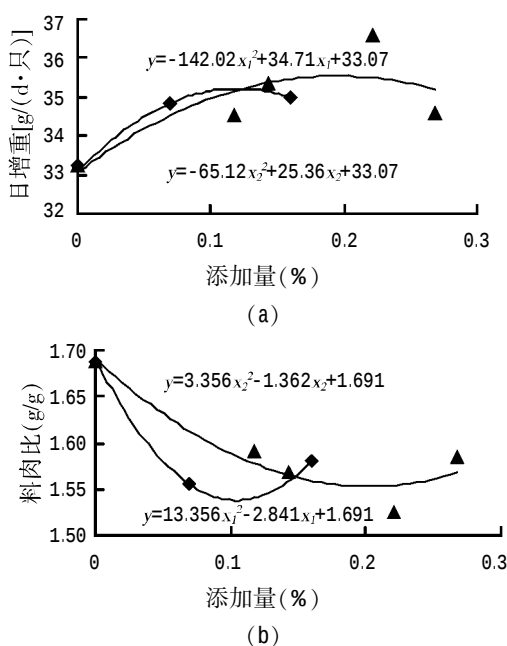
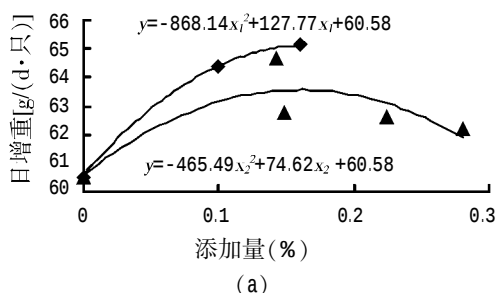


图1 7~21 日龄肉鸡生产性能回归分析

42 日龄(见表 4),各处理组体重、采食量和日增重间无显著差异(P>0.05),G 组料肉比最差(P<0.05)。

表4 不同处理对 21~42 日龄肉鸡生产性能的影响处理

处理	42 日龄体重(g/只)	采食量(g/只·d)	日增重(g/只·d)	料肉比
A	1 972±73 ^a	140.84±3.42 ^a	65.12±2.31 ^a	2.164±0.047 ^b
B	1 904±32 ^a	137.85±3.29 ^a	62.16±1.35 ^a	2.214±0.025 ^b
C	1 947±60 ^a	140.71±4.85 ^a	62.58±2.55 ^a	2.249±0.046 ^{ab}
D	1 967±29 ^a	140.59±4.61 ^a	64.41±2.40 ^a	2.184±0.039 ^b
E	1 927±100 ^a	141.63±7.27 ^a	62.75±3.98 ^a	2.258±0.040 ^{ab}
F	1 962±27 ^a	142.51±3.26 ^a	64.65±1.47 ^a	2.204±0.019 ^b
G	1 855±114 ^a	139.61±5.01 ^a	60.50±5.23 ^a	2.317±0.148 ^a



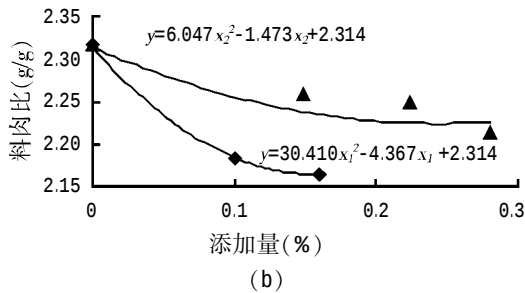


图2 21~42日龄肉鸡生产性能回归分析

由图2可以看出,蛋氨酸添加量与日增重、料肉比间呈显著的二次曲线关系。

日增重: $Y = 60.58 + 127.77X_1 + 74.62X_2 - 868.14X_1^2 - 465.49X_2^2$ ($R^2 = 0.8620$)

料肉比: $Y = 2.314 - 4.367X_1 - 1.473X_2 + 30.410X_1^2 + 6.047X_2^2$ ($R^2 = 0.8489$)

因此,21~42日龄时以日增重和料肉比为指标,MHA-FA相对于DLM的生物学效价分别是85%和60%。

全期(7~42日龄)日增重和料肉比与蛋氨酸添加量间呈显著的二次曲线关系(见图3)。

日增重: $Y = 49.31 + 78.41X_1 + 47.53X_2 - 430.35X_1^2 - 197.82X_2^2$ ($R^2 = 0.9783$)

料肉比: $Y = 2.140 - 3.407X_1 - 1.378X_2 + 19.173X_1^2 + 4.658X_2^2$ ($R^2 = 0.9695$)

全期按日增重和料肉比计算,MHA-FA相对于DLM的生物学效价分别是74%和61%。

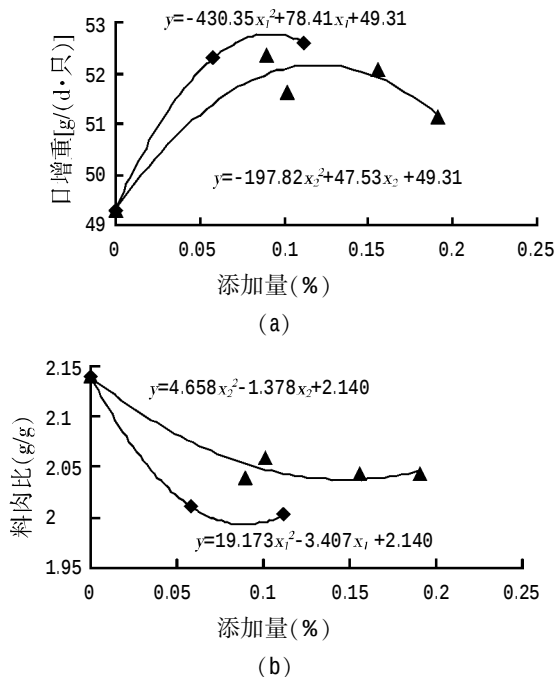


图3 全期肉鸡生产性能回归分析

3 讨论

3.1 肉仔鸡最佳蛋氨酸需要量的确定

本研究表明,肉仔鸡各阶段日增重和料肉比均呈现明显的二次曲线关系,说明试验中添加的蛋氨酸可能过量。本试验虽按NRC(1994)的推荐量添加蛋氨酸,但实际日粮的代谢能低于标准要求,若按相同的蛋氨酸能量比,则试验中肉小鸡和肉中大鸡阶段蛋氨酸的需要量分别应是0.45%和0.34%。根据试验得到的回归方程,可得出极值点时的蛋氨酸添加量(见表5)。肉小鸡和肉中大鸡阶段基础日粮中蛋氨酸含量分别为0.33%和0.28%,由此可得出肉仔鸡蛋氨酸的最佳需要量:肉小鸡阶段以日增重为指标,蛋氨酸需要量为0.45%,以料肉比为指标为0.44%。肉中大鸡阶段则分别为0.35%、0.35%。本试验得出的蛋氨酸需要量,与根据NRC标准(1994)按相同蛋氨酸能量比得到的需要量数据一致。

3.2 相对生物学效价的计算

本试验由于基础日粮中蛋氨酸含量较高,对生产性能来说,两种蛋氨酸添加剂已经添加过量,使生产性能与添加量间呈明显的二次曲线关系,无法用线性模型或指数模型来确定MHA-FA相对于DLM的生物学效价。但可采用一些确定的数据来评估MHA-FA的相对生物学效价。由于对照组相同,所以同一添加量时生产性能的不同是两种添加剂效价不同引起的。同样,达到相同的生产性能时,两种添加剂添加量的不同也是由二者的效价差异引起的。把二者结合起来,就可推算出MHA-FA的相对生物学效价。由试验得到的回归方程可计算出各添加剂极值点的添加量对应的日增重或料肉比。

结果显示,肉小鸡阶段以日增重和料肉比为指标,MHA-FA的相对生物学效价分别为64%和55%;肉中大鸡阶段,这两个效价分别为85%和60%;从试验全期来看,这两个效价则是74%和61%。随着年龄的增长,MHA-FA的相对生物学效价也随着升高,与Mandal等(2004)^[7]的结果一致。MHA-FA和DLM生物学效价的不同主要与其分子组成和肠道吸收机制有关^[1-6]。

3.3 生产性能

各处理间肉仔鸡日采食量差异不显著,说明蛋氨酸的添加改善了饲料利用率。蛋氨酸是家禽玉米-豆粕型日粮的第一限制性氨基酸,它的缺乏将降低家禽对日粮粗蛋白的利用率。当使用蛋氨酸添加剂时,日粮中氨基酸组成接近于理想蛋白模式,提高家禽对氨基酸的利用率。蛋氨酸含量不适宜影响肉仔鸡生产性能的发挥且与总含硫氨基酸和赖氨酸不平衡有关。

表5 肉仔鸡蛋氨酸需要量

阶段	指标	Met 源	回归方程	Y 极值	X Y= Y 极值	RBV (%)
肉小鸡	日增重	DLM	$Y=33.07+34.71X_1-142.02X_1^2$	35.19	0.12	100
		MHA-FA	$Y=33.07+25.36X_2-65.12X_2^2$	35.54	0.19	64
	料肉比	DLM	$Y=1.691-2.841X_1+13.356X_1^2$	1.842	0.11	100
		MHA-FA	$Y=1.691-1.362X_2+3.356X_2^2$	1.829	0.20	55
肉中母鸡	日增重	DLM	$Y=60.58+127.77X_1-868.14X_1^2$	65.28	0.07	100
		MHA-FA	$Y=60.58+74.62X_2-465.49X_2^2$	63.57	0.08	85
	料肉比	DLM	$Y=2.314-4.367X_1+30.410X_1^2$	2.471	0.07	100
		MHA-FA	$Y=2.314-1.473X_2+6.047X_2^2$	2.404	0.12	60
全期	日增重	DLM	$Y=49.31+78.41X_1-430.35X_1^2$	52.88	0.09	100
		MHA-FA	$Y=49.31+47.53X_2-197.82X_2^2$	52.16	0.12	74
	料肉比	DLM	$Y=2.140-3.407X_1+19.173X_1^2$	2.291	0.09	100
		MHA-FA	$Y=2.140-1.378X_2+4.658X_2^2$	2.242	0.15	61

Waldroup 等(1976)^[8]发现,赖氨酸与总含硫氨基酸比例不变(100 : 77)时生产性能无差异。通常认为赖氨酸与总含硫氨基酸保持 100 : 72 的比例时,肉仔鸡的生产性能较好。

本试验设置蛋氨酸满足需要和蛋氨酸缺乏两个添加水平。但从试验结果看,这两个添加水平对肉鸡的生产性能无显著影响,甚至蛋氨酸缺乏组的生产性能还稍好于蛋氨酸满足组水平。说明试验日粮中蛋氨酸可能处于临界缺乏状态,少量的添加即可满足需要,而超量添加使肉鸡的生产性能下降。另一个可能的原因是 NRC 标准规定的添加量对我国的实际生产来说有些偏高。NRC 标准中代谢能需要量较高,而我国实际所用的配方代谢能普遍偏低。本试验所用的配方,其能量约为 NRC 标准的 90%。

就绝对采食量而言,本试验肉仔鸡绝对采食量为 3.71kg/只,NRC 标准中相应为 3.34kg/只,与之相比,提高了 11%左右。进食代谢能的绝对值本试验为 45.2MJ/只,NRC 标准为 44.9MJ/只,二者基本接近。蛋白质、氨基酸和代谢能的绝对采食量也基本接近 NRC 标准要求。本试验虽然日粮中营养素的含量较低,但由于采食量较高,整个生长周期营养素的进食量和 NRC 标准基本一致。

从试验结果看,肉仔鸡生长前期采食合适 MHA-FA 添加水平时生产性能较好,生长后期采食相应 DLM 时生产性能较好。综合多种因素,为了更好的发挥肉仔鸡的生产性能,可考虑前期使用 MHA-FA,后期使用DLM。

参考文献

1 Estere -Garcia E, R.E.Austic. Intestinal absorption of methionine (Met) and methionine hydroxy analogue (MHA) in broiler chicks[J]. Poult. Sci., 1987,65(1): 40

2 Estere -Garcia E, R.E.Austic. Digestibility of methionine hydroxy

analogue(MHA) in broiler chicks[J]. Poult. Sci., 1988,67(1): 14

3 Han Yanming, F.castanon, C.M.Parson, et al. Absorption and bioavailability of DL-methionine hydroxy analog compared to DL-methionine[J]. Poult. Sci., 1990(69): 281~287

4 Knight C D, J.J.Dibner. Comparative absorption of 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid and L-methionine in the broiler chick[J]. J.Nutr., 1984(114):2 179~2 186

5 Knight C D, C.W.Wuelling, C.A.Atwell, et al. Effect of intermittent periods of high environmental temperature on broiler performance response to sources of methionine activity [J]. Poult. Sci.,1994(73): 627~639

6 Lawson C Q, F.J.Ivey. Hydrolysis of 2-hydroxy-4-(methylthio)-butanoic acid dimmer in two model systems[J]. Poult. Sci., 1986(65): 1 749~1 753

7 Mandal A B, A.V.Elangovan, T.S.Johri. Comparing bio-efficacy of liquid DL-methionine hydroxy analogue free acid with DL-methionine in broiler chickens [J]. Asian-Aust.J.Anim.Sci., 2004,17 (1): 102~108

8 Waldroup P W, R.G.Mitchell, J.R.Payne, et al, Performance of chicks fed diets formulated to minimize excess levels of essential amino acid[J]. Poult. Sci., 1976(55):243~253

(编辑:高 雁,snowyan78@tom.com)

·信息采撷·

中草药治疗猪流行性感胃

猪流行性感胃是猪的一种急性呼吸器官传染病。临床特征为突然发病,传播迅速。病猪体温升高到 40~41.5℃,精神不振,食欲减退后不食,肌肉疼痛,喜伏卧,呼吸困难、急速,咳嗽,眼鼻流出分泌物,大便干结呈粒状。如果在发病期治疗或管理不当,则可并发支气管炎、胸膜炎等,甚至引起死亡。对此病的治疗,最近有研究表明中草药方剂治愈率较高。其配方为:金银花、连翘、黄芩、柴胡、牛蒡子、陈皮、甘草各 15g,水煎汤拌入饲料喂服。这些药材的价格不高,且一般一剂即可治愈。

生物制剂对合浦鹅生长性能和养分利用率的影响

何仁春 杨家晃 廖玉英 麦伟虹 周 恒 卢桂猷

摘 要 72只28日龄合浦鹅随机被分为3组,用来研究生物制剂对其生长性能、养分利用率的影响。处理1为基础日粮组,处理2为基础日粮加酶组,处理3为基础日粮加酶和益生菌组。饲养试验结果表明:28~49日龄阶段,处理2、3组的日增重明显高于处理1组($P<0.05$),饲料效率得到明显改善($P<0.05$);49~70日龄阶段,各处理组生长性能无明显差异($P>0.05$);整个试验期,处理2、3组日增重和饲料效率都明显高于对照组($P<0.05$)。代谢试验结果表明:在生长后期,添加生物制剂对养分利用率无明显提高。

关键词 生物制剂;鹅;生长性能;养分利用率

中图分类号 S835

Effect of biological reagent on Hepu geese performance and nutrients availability

He Renchun, Yang Jiahuang, Mu Yuying, Mai weihong, Zhou Heng, Lu Guiqiu

Abstract 72 Hepu geese at age of 28d were randomly divided into 3 groups to study the effect of biological reagent on performance, nutrients availability. The result of feeding trial showed: In period of 28~49 days, daily gain and feed efficiency of group 2 and group 3 were significantly higher than those of group 1 ($P<0.05$); However, no much difference was found in performance among 3 groups during period of 49~70 days ($P>0.05$); In the whole period, the results were the same as those in the first period. There were no much difference occurred in nutrients availability among 3 diets in metabolic trial during period of 56~61days.

Key words biological reagent; goose; performance; nutrients availability

鹅是草食家禽,与其它单胃动物相比,其发达的肌胃和特殊的消化道结构,使它能更好的消化利用粗饲料。合浦鹅是1958年引进的广东狮头鹅与合浦本地鹅杂交,经三十多年良种培育而成的中大型的鹅种。具有生长快、成熟早、产肝性能好、蛋粒大、耐粗饲等特点。目前,在合浦鹅的饲养过程中,常常是在饲喂精饲料的基础上辅饲一定量的牧草,此种饲养模式在广大农村得到了很好的推广并取得了较好的经济效益。但与规模化程度很高的猪、鸡、鸭养殖业相比,鹅的饲养仍显得粗放和落后。有关在合浦鹅的日粮中添加生物制剂如酶、益生菌等能否提高鹅对粗纤维及其它养分的利用率并因此提高鹅的生长性能的报道甚少。我们做了本试验,为在生产实践中使用生物制剂

提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 生物制剂

1.1.1 益生菌

以植物乳杆菌、枯草芽胞杆菌、蜡样芽胞杆菌和地衣芽胞杆菌分别培养发酵后混合而成,每克含植物乳杆菌、地衣芽胞杆菌、枯草芽胞杆菌、蜡样芽胞杆菌个数分别为 1.1×10^8 、 4.2×10^9 、 3.7×10^8 、 8.4×10^7 。

1.1.2 酶制剂

对黑曲霉、米曲霉进行选育和发酵后的复合酶制剂。其部分酶活为植酸酶7500FYT/g,纤维素酶900U/g。

1.2 试验动物及分组

选取1日龄健康活泼、公母各半的广西合浦灰鹅72只,逐个称重并带脚号,随机分成3组,每组3个重复,每重复8只鹅(4只公鹅,4只母鹅)。预饲至28日龄时,各重复平均体重无显著差异后进行为期42d的饲养试验。试验于2005年3月28日至2005年5月8日在广西畜牧研究所实验基地内进行,试验日粮的精料部分参照NRC(1984)推荐并结合实践经验进行配制。试验分两阶段进行,第一阶段为28~49日龄,此阶

何仁春,广西畜牧研究所,530001,南宁市邕武路24号。

杨家晃、廖玉英、麦伟虹、周恒、卢桂猷,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2005-10-24

★ 广西科技厅回国基金资助项目(桂科回0236006)

段基础日粮为精料(风干)25%+黑麦草(新鲜)75%;第二阶段为50~70日龄,此阶段基础日粮为精料(风干)25%+象草(新鲜)75%。

试验设计分组为:A组(对照组)喂基础日粮;B组喂基础日粮+酶制剂(占精料的0.15%);C组喂基础日粮+酶制剂(占精料的0.1%)+益生菌(占精料的0.1%)。精料组成及营养水平见表1。

表1 精料组成及营养水平

组成	含量比(%)	营养成分	
玉米	61	代谢能(MJ/kg)	11.23
豆粕	14.5	粗蛋白(%)	16.93
鱼粉	6	粗纤维(%)	5.36
菜粕	5	赖氨酸(%)	0.76
象草粉	4.2	蛋氨酸(%)	0.21
统糠	5	钙(%)	1.09
食盐	0.5	磷(%)	0.71
磷酸氢钙	0.8		
石粉	1		
麦饭石	2		

1.3 饲养管理

采用地面(白天)和网上(夜晚)两种方式结合进行饲养。自由饮水,按一定的采食量灵活给食,按常规方法对试鹅进行免疫。

1.4 测定指标

1.4.1 体重和耗料

分别于28日龄、49日龄、70日龄早晨空腹逐个称重。于称重当天结算该阶段的耗料情况。

1.4.2 营养物质表观利用率

营养物质表观利用率的测定是根据内源指示剂法(4N-HCl-AIA),于56日龄时从每组选取5只体重近似、性别一致的试鹅,单个置于不锈钢代谢笼中进行为期5d的代谢试验,后3d为正式收粪期。收粪期间,于每天不同时段分别收取每只试鹅排出的粪尿,每天收完的粪样置于-20℃的冰箱中保存。试验结束后,充分混匀每只试鹅3d的粪尿样,置于65℃烘箱中烘干后,取出置于空气中回潮24h制成风干样。采用Parr1351型氧弹热量仪测定能量,Buchi B-324自动定氮仪测定粗蛋白,索氏浸提法测粗脂肪,Vansoest法测中性、酸性洗涤纤维,Weende法测粗纤维,高锰酸钾法测钙,钒钼酸胺法测总磷,Shrivastava法测酸不溶灰分,干燥恒重法测水分。根据如下公式,算出营养物质的表观利用率。

某种养分的表观利用率(%)=[1-(b/a)×(c/d)]×100%

式中:a——日粮中某养分的含量;

b——粪尿样中某养分的含量;

c——日粮中指示剂含量;

d——粪尿样中指示剂含量。

1.5 数据处理

用Excel软件对数据进行处理,采用SPSS12.0 for windows统计软件One-Way ANOVA法进行方差分析。

2 试验结果

2.1 生产性能(见表2)

表2 生物制剂对合浦鹅生长性能的影响

项目	第1组	第2组	第3组
28~49d			
平均日增重(g)	46.64±0.04 ^a	53.81±0.58 ^b	53.22±0.27 ^b
日采食量(g)	128.57	128.57	128.57
料肉比	2.76±0.04 ^a	2.39±0.03 ^b	2.41±0.01 ^b
50~70d			
平均日增重(g)	40.93±1.38	41.59±3.08	39.13±2.33
日采食量(g)	196.07	196.47	196.47
料肉比	4.79±0.16	4.74±0.34	5.03±0.31
28~70d			
平均日增重(g)	43.78±0.69 ^a	47.70±1.62 ^b	46.17±1.30 ^b
日采食量(g)	162.32	162.52	162.52
料肉比	3.71±0.06 ^a	3.41±0.11 ^b	3.52±0.10 ^b

注:表中数据为平均数±标准差,同行肩标不同字母者为差异显著(P<0.05)。下同。

2.1.1 日增重

28~49日龄阶段,复合酶组、复合酶加益生菌组都极显著高于对照组(P<0.01);50~70日龄阶段,3组间差异不显著(P>0.05);从全期来看,复合酶组、复合酶加益生菌组都显著高于对照组(P<0.05)。

2.1.2 采食量

本试验由于是限食饲养,因此各组采食量基本一致。

2.1.3 饲料效率

28~49日龄阶段,复合酶组、复合酶加益生菌组都极显著高于对照组(P<0.01)。

2.2 养分利用率(见表3)

表3 生物制剂对合浦鹅养分利用率的影响(%)

项目	第1组	第2组	第3组
干物质	54.76±2.08	54.97±1.85	54.91±1.85
能量	61.84±1.95	62.35±1.65	62.25±1.50
粗蛋白	59.67±3.59	56.92±3.72	57.21±1.27
粗脂肪	74.41±4.46	68.70±7.75	65.52±2.56
粗纤维	4.25±6.04	8.15±4.70	4.63±6.11
中性洗涤纤维	28.85±4.88	31.18±5.33	32.15±3.37
酸性洗涤纤维	3.66±2.51	3.65±4.36	2.85±3.20
半纤维素	50.90±7.49	55.25±6.17	57.36±3.94
钙	28.12±6.99 ^a	34.58±3.83 ^{ab}	47.21±4.06 ^b
磷	22.64±3.16	21.30±4.60	18.28±2.98

试验中,除 56~61 日龄时添加生物制剂对合浦鹅钙的利用率有明显提高外($P<0.05$),其余各种养分利用率无明显差异($P>0.05$)。

3 分析与讨论

3.1 生长性能

大量研究表明(Hew 等 1999;Krzysztof 等 1999)^[1,2],生物制剂能提高动物生产性能、改善动物健康和减少环境污染,正日益受到人们的重视。目前,在动物饲料中添加生物制剂已十分普遍。但生物制剂毕竟是一种活性制剂,它们受外界因素的影响很大,培养、包装、贮藏、运输等都会影响其活性,因而它们的使用效果也千差万别。

从本次试验结果看,在 28~49 日龄阶段,添加生物制剂可明显提高鹅的生长性能、改善饲料效率。动物在幼龄阶段由于消化系统未发育完善,此时机体分泌的消化酶不足、消化道中的有益微生物种群也不占优势,添加外源酶及益生菌有利于营养物质的吸收和动物的健康。艾晓杰等(2004)^[3]在米糠日粮中添加酶制剂后,使雏鹅胰腺蛋白酶活性略有下降的同时,其十二指肠和空肠的酶活性却有升高,此变化与以上饲喂生大豆日粮的结果相反。提示酶制剂可能有使胰蛋白酶抑制因子失活的作用。Bird(1979)^[4]指出,饲料中添加微生物源性的酶制剂,影响到内源酶的产生与分泌,并对内源酶的功能起到补偿的作用。本试验中酶制剂可降低回肠食糜的粘性,缩短了在消化道中的存留时间,导致小肠食糜中酶活性的变化。艾晓杰等(2003)^[5]报道,添加酶制剂后鹅的增重在 7~14 日龄、15~21 日龄、22~28 日龄和 29~35 日龄这 4 周内分别较对照组高 17.40%($P<0.05$)、29.44%($P<0.01$)、18.59%($P<0.01$)和 19.62%($P<0.01$)。

加酶益生菌在鹅日粮上的应用尚未见报道,有关这类制剂在其它动物日粮中的应用也只有少量报道。赵京杨等(2001)^[6]在断奶仔猪日粮中添加加酶益生菌发现,试验组哺乳仔猪日增重比对照组提高 15.94%($P<0.01$),而腹泻率比对照组降低 8.92%($P<0.05$)。酶制剂和益生菌作为复合制剂,一方面有助于胃肠道微生物区系的建立和维持,利于胃肠道微生物功能的发挥;另一方面酶制剂弥补幼龄动物内源性消化酶的不足,它们均可提高动物对养分的消化吸收,提高生产性能。酶制剂和益生菌作用机制各有偏重,它们之间是否存在互作,尚需进一步研究。

在 50~70 日龄阶段,添加生物制剂对鹅的生长性能和饲料效率影响不大。在生长后期,鹅的消化系统

发育已趋于完善,此时再添加外源的酶制剂或益生菌往往效果不明显。有研究表明^[7],在成年鹅的大麦日粮中添加酶制剂后,胰液的分泌量下降 17.67%。胰液中的 HCO_3^- 是小肠中碱性物质的主要来源,所以胰液分泌量的多少将直接影响到小肠食糜的 pH 值,进而影响消化酶的活性和机体的消化。

值得一提的是,由于气候的缘故,本次试验的两个阶段补饲的青料不一样,28~49 日龄阶段补饲的是黑麦草,50~70 日龄阶段补饲的是象草。第一阶段基础日粮的粗纤维含量为 8.5%,第二阶段为 10.5%。通常认为家禽日粮的粗纤维的合适含量在 7%以下,纤维含量高了会影响家禽对其它营养物质的利用。其原因是高纤维日粮使家禽的肠道蠕动加快,营养物质在消化道中停留时间减少。从试验中我们发现,第二阶段试鹅青草采食量有下降的趋势,这可能是象草的适口性较差或气温升高的缘故。本次试验,高纤维日粮、生长后期添加生物制剂的效果不佳。究竟是由于动物日龄、日粮类型还是气温的差异,而导致前后阶段生物制剂作用效果的不一致,需进一步试验探讨。

3.2 养分利用率

在采食量基本一致的情况下,生长性能的提高是养分利用率提高的结果。本试验中,第一阶段生物制剂组的生长性能明显高于对照组,但由于条件所限我们没有进行代谢试验,因此无法在养分利用率上体现出来。第二阶段生长性能各组间无明显差异,这主要是因为此阶段各组日粮养分利用率差异不明显。其机理可能是随着日龄的增长,鹅的消化系统已逐步发育完善,在内源酶充足、消化道菌落处于动态平衡的情况下生物制剂发挥作用的的空间已经不大。但也有相关报道认为^[8],在生长后期(80 日龄时),日粮中添加纤维素酶可明显提高鹅对养分的利用率。本试验结果与此不一致,这可能与所使用的酶不同有关。

鹅虽然有一定的食草性,但从表 3 可知,鹅对粗纤维、酸性洗涤纤维的利用率还是比较低的。中性洗涤纤维与酸性洗涤纤维之差是半纤维素,从表 3 数据中可以发现鹅对纤维成分有一定的选择性,鹅可以利用的纤维成分主要是半纤维素,对木质化程度比较高的牧草利用率低,其适口性也较差。关于鹅对纤维成分的利用方面也有一些相关报道。麻艳群等(2004)^[9]认为鹅对纤维成分的利用率分别为:中性洗涤纤维 24.12%~39.74%;酸性洗涤纤维 8%~17.55%;半纤维 43.54%~62.50%。裴相元等(1990)^[10]试验的结果为:中性洗涤纤维 28.88%~40.57%;酸性洗涤纤维 4.99%~

酵母 β -葡聚糖对仔猪生产性能的影响

段丽娟 潘树德 边连全 刘显军 萨立富

据有关研究表明,从酵母中提取的 β -葡聚糖可能是一种很好的天然免疫增强剂。适量添加可降低动物的各种应激反应,增强疫苗的保护效果,提高动物的健康状况,进而提高动物的生产性能。研究发现,酵母 β -葡聚糖能提高小鼠对细菌、真菌、病毒和寄生虫的抵抗能力。Buddle等用 β -葡聚糖降低了母羊乳房炎的发生率^[1];刘影等(2003)研究发现, β -葡聚糖能提高肉仔鸡的免疫机能,并有提高生长性能的趋势^[2]。本试验旨在考察 β -葡聚糖在断奶仔猪生产上的应用效果,并探索其最适添加量。

1 材料与方法

1.1 试验设计

段丽娟,沈阳农业大学畜牧兽医学院,110161,沈阳市东陵路120号。

潘树德、边连全、刘显军、萨立富,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2005-12-12

9.25%;半纤维素45.42%~54.07%。本试验结果与上述报道基本一致。从以上结果我们知道,粗纤维只是一概略养分,在分析牧草纤维成分时,不能仅以粗纤维含量指标来评定营养价值,而应该结合Vansoest法测定半纤维素、纤维素和木质素的含量。日粮纤维在促进鹅消化器官发育的同时对其组织形态也有一定影响。Chiou(1994)试验报道,不同纤维源显著影响鹅十二指肠绒毛长度、回肠绒毛长度和肌肉层厚度($P<0.05$),其中,果胶、苜蓿粉和稻谷壳组鹅的十二指肠绒毛明显长于木质素组;纤维素组鹅的回肠、盲肠肌肉层厚度较其它处理组厚。Jamroz(1992)研究表明,含纤维素、半纤维素丰富的日粮可增加鹅小肠、大肠表层肌肉厚度。另外,Chiou(1994)对鹅肠壁组织学观察发现:木质素等粗纤维对小肠绒毛有一定的破坏作用。鹅消化木质素的能力是十分低下的,因此种草养鹅,应在其老化之前及时收割。

总之,生物制剂在28~49日龄阶段对合浦鹅的生长性能有明显的提高作用,在生长后期提高作用不明显。此外,生物制剂在生长后期对合浦鹅的养分利用率无明显的改善。

参考文献

1 Hew Lap Im. The apparent metabolisable energy and amino acid

试验设4个处理,分别是:对照组;0.025% β -葡聚糖组;0.05% β -葡聚糖组;0.1% β -葡聚糖组。

1.2 试验饲料

依据理想氨基酸配比设计基础配方,其它处理在基础配方的基础上添加0.025%、0.05%、0.1%的 β -葡聚糖。所需 β -葡聚糖由湖北安琪酵母有限公司提供。

试验用基础日粮按照NRC(1998)标准配制,由沈阳众友饲料公司提供:玉米57.3%、豆粕24%、鱼粉5.5%、乳清粉6.0%、石粉1.0%、磷酸氢钙1.2%、豆油1.0%、预混料4.0%。其中复合预混饲料向每千克试验日粮添加:VA1.5万国际单位、VD₃0.33万国际单位、VE60mg、VK₃6mg、VB₃33mg、VB₂9mg、VB₆6mg、VB₁₂0.03mg、烟酸60mg、泛酸钙18mg、叶酸1.5mg、生物素0.46mg、氯化胆碱750mg、铁80mg、铜12mg、锰10mg、锌75mg、碘0.35mg、硒0.3mg。营养水平(计算值)为:DE14.229MJ/kg、CP20.0%、Ca0.8%、总磷P0.66%、有效磷0.45%、Lys1.35%、苏氨酸0.90%、色氨酸0.25%、蛋氨酸+胱氨酸0.70%。饲料以粉状形式饲喂,自由采食,

- digestibility of wheat, triticale and wheat middlings for broiler chickens as affected by exogenous xylanase supplementation [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1999, 79(12): 1 723~1 732
- Krzysztof Zyla, Dorota Gogol, Jerzy Koreleski, et al. Simultaneous application of ph., phytase and xylanase to broiler feeds based on wheat: feeding experiment with growing broilers [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1999(79): 1 841~1 848
- 艾晓杰, 郑元林, 刘根桃, 等. 米糠日粮添加酶制剂对雏鹅胰腺和食糜酶活性的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2004, 40(6): 32~34
- Bird F H, Guilford E M. The effect of dietary protein levels in isocaloric diets on the composition of avian pancreatic juice [J]. Poult Sci., 1979(57): 1 622~1 628
- 艾晓杰, 陈伟华, 陈杰, 等. 粗酶制剂对鹅生长及某些激素的影响[J]. 养殖与饲料, 2003(11): 4~6
- 赵京杨, 张金洲. 加酶益生菌对哺乳及断奶仔猪生产性能和腹泻频率的影响[J]. 华中农业大学学报, 2001, 20(2): 148~150
- 艾晓杰, 韩正康. 粗酶制剂对鹅胰液和十二指肠食糜酶活性的影响[J]. 南京农业大学学报, 2001, 24(4): 55~58
- 裴相元, 马振凯, 陈侠甫. 日粮中添加纤维素酶对鹅增重及饲料利用率的影响[J]. 兽医大学学报, 1990, 10(3): 78~82
- 麻艳群, 杨家晃, 夏中生, 等. 日粮能量水平对鹅生长性能及营养物质代谢的影响. 广西动物营养与饲料学会 2004 年学术年会论文集. 58~65

(编辑:高 雁, snowyan78@tom.com)

自由饮水,试验期间仔猪腹泻后不用药物治疗。

1.3 试验猪选择

选取发育正常,28日龄断奶的72头健康三元杂交仔猪,喂给对照组饲粮,预饲3d后,空腹称重。依据体重、窝别将试验猪随机分4个处理组,每处理组设3个重复,每重复6头猪。各处理间试验猪体重经统计检验差异不显著($P>0.05$),开始正式试验后,分别喂给相应的饲粮。

1.4 饲养管理

试验猪在同一圈内饲养,自由采食,自由饮水,做好保暖防寒工作。试验进行过程中观察仔猪精神状况,分别记录各组每天仔猪腹泻数,试验期结束对仔猪进行个体称重,记录各组仔猪饲料消耗量。试验期间按猪场常规免疫操作程序进行卫生防疫及消毒。

1.5 数据统计

统计指标为平均日增重、平均日采食量、饲料转化效率、腹泻率。

统计指标:平均日增重=试验期内仔猪增重/试验天数

平均日采食量=试验期内耗料量/(试验天数×每组仔猪数)

料重比=平均日采食量/平均日增重

腹泻率=试验期内腹泻头次数/试验仔猪头日数

试验数据处理用SPSS11.5进行数据处理和统计分析。

2 结果与讨论

由表1可知,添加3种剂量的 β -葡聚糖都可不同程度降低仔猪的腹泻率。其中添加0.025% β -葡聚糖可通过提高采食量而提高日增重10.51%;添加0.05%组可显著降低整个试验期内的腹泻率,但通过增加采食量提高日增重的差异不显著,与对照组相比提高了7.6%。0.1%组与对照组相比日增重及采食量无明显差异,但是却提高了料重比。本试验结果表明, β -葡聚糖的添加量在0.025%至0.05%之间具有提高仔猪生产性能的趋势,高于此剂量,不但不能改善生产性能,甚至还会产生副作用。 β -葡聚糖作用于仔猪的效果如下:生长速度加快,可能是非特异性免疫力得到增强的结果; β -葡聚糖可能激活了猪的特异性免疫反应; β -葡聚糖可能会减轻胞质变异产生的炎症反应;饲粮中添加 β -葡聚糖可能增强了仔猪对大豆蛋白的耐受力,从而减轻了由大豆引起的过敏反应。已证实,在断奶仔猪饲粮中添加 β -葡聚糖对提高断奶仔猪抗应激能力改善生产性能具有重要作用。

Schoenherr等(1994)评价了19日龄断奶的仔猪

饲粮中分别添加0、0.025%、0.05%、0.075%、0.1%、0.125% β -葡聚糖对生长性能的影响,发现在前两周内生长性能没有改善,但在整个试验期(断奶后0~34d)提高了日增重($P<0.01$),平均日增重分别为(g):498、548、528、538、507、495^[3]。由此得出结论,在整个保育期内 β -葡聚糖的最适添加量为0.025%~0.05%之间,与本试验结论相符。Dritz等(1995)的研究也证实,添加0.025%和0.05% β -葡聚糖可通过增加采食量提高日增重($P<0.01$)^[4]。但是他同时也发现,在用链球菌攻毒后的第12d,0.025%添加组的死亡率明显高于对照组($P<0.04$)。由此提出 β -葡聚糖最好用于超早期隔离断奶仔猪。

表1 饲粮中添加酵母 β -葡聚糖对仔猪生产性能的影响

项目	对照组	0.025%添加组	0.05%添加组	0.1%添加组
始重(kg)	7.528±0.768	7.637±0.825	7.570±0.402	7.311±0.517
末重(kg)	16.400±0.549	17.325±0.438	17.040±0.911	16.261±0.825
日增重(kg)	0.314±0.037	0.347±0.012	0.338±0.027	0.319±0.071
日采食量(kg)	0.532±0.096	0.592±0.049	0.546±0.073	0.607±0.106
料重比	1.694±0.546	1.706±0.213	1.615±0.761	1.903±0.362
腹泻率(%)	7.381±1.150 ^a	4.853±1.541 ^{ab}	2.280±1.712 ^b	6.122±2.133 ^a

注:同行有相同字母为差异不显著($P>0.05$),不同为差异显著($P<0.05$)。

3 结论

3.1 与对照组相比:添加0.025% β -葡聚糖可提高试验期内的仔猪日增重10.51%($P>0.05$),对降低腹泻率的影响差异不显著($P>0.05$);添加0.05% β -葡聚糖可显著降低仔猪腹泻率($P<0.05$),可提高日增重7.6%($P>0.05$);添加0.1% β -葡聚糖对日增重和腹泻率都无显著影响($P>0.05$)。

3.2 本研究表明 β -葡聚糖的适添加量应为0.025%至0.05%之间,添加0.025%和0.05% β -葡聚糖具有提高断奶仔猪的生产性能的趋势,当添加剂量为0.1%时,生产性能反而略有下降。

参考文献

- Buddle B M, Pulford H D, Ralston M. Protect effect of glucan against experimentally induced staphylococcal mastitis in ewes [J]. Vet Microbiol., 1988(16):67-76
- 刘影, 冯于明. β -葡聚糖对肉仔鸡生产性能和免疫功能的影响[J]. 中国农业大学学报, 2003, 8(1):91-94
- Schoenherr W D, D. S. Pollmann, J. A. Coalson. Titration of MacroGardTM-S on growth performance of nursery pigs [J]. Anim. Sci., 1994, 72(2): 57
- S.S. Dritz, J. Shi, T. L. Kielian. Influence of Dietary β -glucan on Growth Performance, Nonspecific Immunity and Resistance to Streptococcus suis Infection in Weanling Pigs [J]. Anim. Sci., 1995 (73):3 341-3 350

(编辑:高 雁, snowyan78@tom.com)

饲料中己烯雌酚的检测方法

朱将伟 柴春彦 刘国艳 史贤明

己烯雌酚(diethylstilbestrol, 简称 DES)诞生于 20 世纪 40 年代, 为第一个口服有活性的人工合成雌激素, 化学名为 1,2-双(4-羟苯基)-1,2-二乙烯基, 俗名乙底酚, 为无色结晶或白色结晶性粉末, 在人造雌激素中是作用较强的一种。医学上主要用于治疗雌激素缺乏症, 但是由于其具有促进动物生长、增加蛋白质沉积和提高饲料转化率的作用, 曾经作为促生长剂广泛应用于畜牧养殖业。自从人们发现动物因食用含 DES 的饲料在组织中残留给人类健康带来危害以来, 世界上绝大多数国家禁止在食品动物中使用 DES。2002 年我国农业部规定 DES 及其盐、酯制剂取消在所有食品动物的所有用途^[1]。

但目前滥用己烯雌酚的现象仍然存在, 对饲料和动物性食品中 DES 残留的检测已引起了国内外的高度重视。己烯雌酚通常在排泄物和胆汁中浓度最高, 在肝脏和肾脏中的浓度高于其它组织, 而在肌肉、脂肪中的浓度很低, 通常小于 $0.5\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[2]。这表明用于检测己烯雌酚残留的方法必须非常灵敏。目前国内外文献报道用于 DES 残留检测的方法很多, 主要有免疫学方法: 放射免疫法(RIA)、酶联免疫吸附法(ELISA)等; 色谱学方法: 气相色谱法(GC)、气相色谱-质谱联用法(GC-MS)、高效液相色谱法(HPLC)、薄层色谱法(TLC)、气液色谱法(GLC)等。此外还有辐射分光光度法、电化学法、生物分析法等。在这些分析方法中, 气相色谱-质谱联用法、放射免疫法以及带电子捕获检测器的气相色谱法是目前已有的测定 DES 检测限可达 10^{-9} 的检测方法。本文综合相关文献, 主要介绍上述检测方法的工作原理与最低检出限以及优缺点等。

1 免疫学方法

1.1 酶联免疫吸附测定法(ELISA)

酶联免疫吸附法(ELISA)是目前用于检测己烯雌酚最为普遍的方法, 市场上已有多家公司的己烯雌酚 ELISA 试剂盒销售。比较知名的生产厂家有: 德国拜发

公司、德国罗氏公司、英国 Randox 公司、荷兰 ED 公司等。此方法将酶促反应的高效性与免疫反应的高度专一性有机结合, 具有灵敏度高、特异性强、适应性好等特点。胡鲲等人曾使用德国拜发公司生产的 DES 试剂盒检测中华鳖肌肉中的己烯雌酚残留, 其检测限可达 $0.012\mu\text{g}/\text{kg}$, 试验中平均回收率为 74.8%^[3]。也有报道, 将液相色谱与酶标免疫分析法联用来测定动物组织中的己烯雌酚, 即先用液相色谱净化, 再用酶标免疫分析测定 DES^[4]。该方法的不足之处在于结果不太稳定, 假阳性率高。

1.2 放射免疫法(RIA)

放射免疫法是以同位素作为标记物, 利用被测抗原与同位素标记抗原竞争结合相应抗体的原理, 通过液体闪烁仪或 γ -谱仪检测结合或游离标记物的放射性强度间接推测被测抗原的含量。此方法特异性强、灵敏度高(已达到 pg/ml 水平), 同时还具有取样少, 能同时检测多个样本, 适于批量测定的优点。因此, 此法被广泛的用于 DES 残留检测以及在动物组织中的消除规律的研究上。该方法的缺点是需要有同位素防护设备, 测定程序比较繁琐和费时, 对样品的前处理有较高要求, 并且仪器价格昂贵。Hoffmann 等人使用此法检测了猪肌肉、肝脏及肾脏中的残留 DES, 先用反相色谱柱进行纯化, 然后用 RIA 检测, 其检测限可达 $0.029\sim 0.069\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[5]。Moslemi 等报道用 RIA 检测牛奶中的 DES, 其检测限可达 $6.25\text{pg}/\text{ml}$ ^[6]。

2 色谱学方法

2.1 气相色谱法(GC)

气相色谱法是利用载气载着待分离的样品通过色谱柱中的固定相, 依据不同物质在气和固两相中具有不同的分配系数。当两相相对运动时, 样品中各组分就在两相中进行反复多次的分配, 而实现不同组分彼此分开; 再通过电子捕获检测器、氢火焰离子化检测器、电化学仪、质谱仪等仪器来检测。该方法具有高选择性、高效能、低检测限、分析快速、应用广泛等特点。但由于被分析样品需要有一定的蒸汽压才可进行分析, 那么就需要对一些不易挥发的物质进行衍生化, 使其生成易挥发的稳定的衍生物。此法较广泛的用于动物组织中残留 DES 的分析。

朱将伟, 上海交通大学农业与生物学院, 201101, 上海闵行区七莘路 2678 号第三实验楼 217 室。

柴春彦、刘国艳、史贤明, 单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期: 2005-11-10

Donoho 等^[7]与 Coffin 等(1973)^[8]分别报道了用该方法检测动物组织中残留的己烯雌酚。利用 DES 能溶于碱性溶液的性质,用 NaOH 溶液和 CHCl_3 反复分批萃取,以三氟醋酸酐为衍生物,用电子捕获检测器检测,检测限可达 $2\sim 10\mu\text{g/kg}$,回收率为 70%~110%。Tirpenou 等(1983)^[9]采用苯溶液和 NaOH 溶液提取样品,然后用硅胶柱提纯,使回收率提高到 81%。韩见龙等^[10]报道用毛细管气相色谱法测定肉类食品中 DES 残留,采用液-液分配,三氟乙酸酐衍生化,以电子捕获检测器检测,取得较满意的结果,不同加标量回收率为 81%~116%。20 世纪 90 年代初,人们将一种专一性、灵敏度都很好的气相色谱-质谱联机方法 (GC-MS) 用于检测 DES 残留,其检测限可低于 $0.1\mu\text{g/kg}$ ^[11]。该方法将气相色谱仪与质谱仪串联成一个整体,既具有气相色谱的高分离效能,又具有质谱仪快速准确鉴定化合物结构的特点。但存在样品前处理繁琐,测定样品的成本高等不足之处。郭志峰等(1997)首次在我国报道了用 GC-MS 测定鸡蛋中的 DES 残留,检测限为 $0.05\mu\text{g/g}$ 。丁雅韵等^[12]采用基体固相扩散和固相萃取结合的方法提取并净化动物肝脏组织中残留的己烯雌酚,用 N-甲基, N-三甲基硅烷三氟乙酰胺衍生化,毛细管气相色谱-质谱联用对衍生物检测分析,检出限低于 $1\mu\text{g/kg}$,回收率为 81.6%~100.9%。

2.2 高效液相色谱法 (HPLC)

高效液相色谱法是在 20 世纪 60 年代中期开始发展起来的一项高效、快速的分离分析技术。它是在经典的液体柱色谱基础上,引入了气相色谱的理论,在技术上采用了高压泵、高效固定相和高灵敏度检测器,实现了高速分离、高灵敏度和操作自动化。此法与 GC 的主要区别在于流动相是液体而不是气体,与 GC 相比,它由于不受样品挥发度和热稳定性的限制,所以应用范围也更广泛,特别适合于高沸点、大分子、强极性和热稳定性差的化合物的分析分离。在高效液相色谱中常采用紫外检测器,但在检测 DES 上,国内外报道多采用电化学检测器。

Reuvers 等^[13]用 HPLC/ECD 检测动物组织中的残留己烯雌酚,检测限可达 $0.1\sim 0.2\text{ng/g}$,回收率为 65.8%。国内报道万美梅等^[14]采用此方法,运用 Hypersil ODSC18 柱、以乙腈- $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 作流动相,电化学检测仪工作电压 0.9V,己烯雌酚在 $0.2\sim 100\text{ng/g}$ 范围具有良好线性关系,相关系数为 0.999 5,检测限为 0.2ng/g 。禽畜肉中己烯雌酚测定的国标方法 (GB/T 5009.108-2003) 即为 HPLC 紫外检测器检测法,检测

限为 0.25mg/kg 。近来,国内外均有报道将高效液相色谱与质谱联用用于己烯雌酚的检测,常碧影等用 LC-MS 测定饲料中的己烯雌酚,最低检出限为 0.5ng ,回收率平均 92.86%。

2.3 薄层色谱法 (TLC)

它是将吸附剂或载体均匀的铺在玻璃板上,形成厚薄一致的薄层,在其下端点加试样溶液后放入到展开剂中,依据色谱原理,展开剂在薄层上向上移动而使样品中各组分得到分离。此方法的优点是展开时间短、分离能力强、谱带集中、仪器简单、操作方便。其缺点是灵敏度不高,易受环境因素影响,直接用于定量误差大。但可用 TLC 作为分离方法,用其它方法进行检测,以获得满意的结果。例如,牛服用 C^{14} 标记的己烯雌酚,残留 DES 用 TLC 分离,然后检测其放射性来定量^[15]。但 TLC 用于 DES 检测的报道并不多见。

3 其它方法

3.1 电化学法

电化学法是指使待测物质在电极上发生氧化还原反应,通过电化学仪来检测氧化还原过程中的电化学变化。例如,在给定的电压下,某物质在电极上发生氧化还原反应并产生电流,其电流的大小与该物质的量呈现相关性,以此来对该物质定量。该方法简单方便、灵敏度高。缺点主要是在测试中其它物质对其干扰较大。假如选定在 0.7V 时测定某物质的氧化电流,这时在体系中的许多其它物质也能发生氧化还原反应,无疑会影响检测结果的准确性。但如果该物质已得到高度分离纯化,其它物质的干扰会很小,这时准确性是可靠的,故此法常用于高效液相色谱分离后的检测。现在,人们常通过在电极上修饰诸如亚甲基兰、二茂铁、溴化十六烷基嘧啶等电活性物质,使之能在较低的电位选择氧化目标物质,从而减少其它物质的干扰。武雪梅等利用酞菁包埋二茂铁聚合膜修饰电极检测对抗坏血酸的电催化,发现使氧化电位较裸玻碳电极降低了 270mV。Zhang^[16]等人用自制的碳糊电极并以溴化十六烷基嘧啶作为电子媒介来对己烯雌酚定量,取得了较好的结果。孙延一^[17]等利用多壁碳纳米管修饰的电极对己烯雌酚进行定量测定,其氧化峰电流与己烯雌酚浓度在 $1\times 10^{-8}\sim 2\times 10^{-6}\text{mol/l}$ 有良好的线性关系。

3.2 化学发光分析法

化学发光分析法是基于某些化学反应过程中有发光现象,且其发光强度与参与反应的物质的量的多少直接相关而建立的,该法其背景较低,有很高的灵

敏度。金属酞青可催化发光氨-H₂O₂的化学发光反应,而已烯雌酚则对这一化学反应有增强发光的特性。Jian Wang 等(2004)^[8]报道利用这一性质发展了流动注射化学发光方式对 DES 定量,其检测限可达 $6.42 \times 10^{-8} \text{ mol/l}$,其灵敏度、重复性、精确度均较好。

另外,还有运用荧光分光光度法、生物测定法、分光光度比色法等测定 DES 的报道。荧光分光光度法利用己烯雌酚与浓硫酸反应后水解可生成有荧光的产物这一性质,通过检测荧光强度来定量 DES。生物测定法的原理是通过给母鼠饲喂样品后检测其子宫是否增重来判断样品中是否含有 DES。比色法的原理是 DES 在紫外光辐射下会转变成黄色的二酮化合物,此化合物在 415nm 处有最大吸收,通过测定光吸收值来定量^[9],但这些方法由于受到灵敏度、准确度、重复性不佳的限制而较少使用。

参考文献

- 1 王凤菊,徐爱珍.己烯雌酚的临床应用[J].中国乡村医药杂志,2003,10(7):36~37
- 2 沈美芳,杨利国,丁炜东.动物性食品中己烯雌酚残留量检测方法评定[J].动物科学与动物医学,2004,21(5):24~26
- 3 胡鲲,杨先乐,张菊.酶联免疫法检测中华鳖肌肉中己烯雌酚[J].上海水产大学学报,2002,11(3):199~202
- 4 林黎明,管恩平,王建华,等.液相色谱/酶标免疫分析法测定动物组织中己烯雌酚[J].中国动物检疫,2001(3):26
- 5 Hoffmann B, Weiler S. Radioimmunological determination of stilbene residues in tissue sample from pigs[J]. Archiv-Fur-Lebensmittelhygiene, 1986,37(6):137~142
- 6 Moslemi S, Silberzahn P, Seralini GE. Measurements of steroid and dexamethasone concentrations in infant milks[J]. Lait, 1996,76(6):537~550
- 7 Donoho AL, Johnson WS, Sieck RF, et al. Gas chromatographic determination of diethylstilbestrol and its glucuronide in cattle tissues [J]. Journal of the AOAC,1973,56(4):785~792
- 8 Coffin DE, Pilon JC. Gas chromatographic determination of diethylstilbestrol residues in animal tissues [J]. Journal of the AOAC, 1973,56(2):352~357
- 9 Tirpenou AE, Kilikidis SD, Kamarianos AP. Modified method for electron capture gas-liquid chromatographic determination of diethylstilbestrol residues in urine of fattened bulls [J]. Journal of the AOAC,1983,66(5):1 230~1 233
- 10 韩见龙,于村,葛乐瑶,等.毛细管气相色谱法测定肉类食品中游离己烯雌酚的残留量[J].中国卫生检验杂志,2004,14(6):726~728
- 11 Busico F, Moretti G, Cartoni GP. Determination of estrogens in animal tissues by GC-MS with negative ion chemical ionization[J]. Journal of High Resolution Chromatography, 1992,15(2):94~98
- 12 丁雅韵,徐晓云,谢孟峡,等.动物组织中己烯雌酚残留的基体固相扩散-气相色谱-质谱分析方法研究[J].分析化学,2003(31):1 356~1 359
- 13 Reuvers TH, Perogordo E, Jimenez R. Rapid screening method for the determination of diethylstilbestrol in edible animal tissue by column liquid chromatography with electrochemical detection[J]. Journal of Chromatography,1991(564):477~484
- 14 万美梅,陈杖榴,刘雅红,等.动物组织中己烯雌酚残留的高效液相色谱/电化学检测方法研究[J].中国兽药杂志,2004,38(7):4~6
- 15 Aschbacher PW. Metabolic fate of oral diethylstilbestrol in steers[J]. Journal of Animal Science,1974,39(6):1 185~1 192
- 16 Shenghui Zhang, Kangbing Wu, Shengshui Hu. Voltammetric determination of diethylstilbestrol at carbon paste electrode using cetylpyridine bromide as medium[J]. Talanta,2002(58):747~754
- 17 孙延一,吴康冰,胡胜水.己烯雌酚在多壁碳纳米管修饰电极上的电化学行为及其电化学测定[J].药科学报,2003,38(5):364~367
- 18 Jian Wang, Huazhen Ye, Zhou Jiang, et al. Determination of diethylstilbestrol by enhancement of luminal-hydrogen peroxide-tetrakisulfonated cobalt phthalocyanine chemiluminescence[J]. Analytica Chimica Acta, 2004(508):171~176
- 19 沈川,吕晓东.己烯雌酚在动物食品中残留检测方法简述[J].中国兽药杂志,2000,34(6):47~49

(编辑:孙崎峰,sqf0452@126.com)

·信息采撷·

与催化特性 植酸酶的生产研究

Purva Vatsa
印度微生物技术研究所

在生物学系统中,植酸(豆类、谷物、油籽和坚果中磷的主要贮存形式)的水解(水解为肌醇和无机磷酸)对能量代谢、代谢调节和信号转导途径而言都是一个很重要的生物反应。该反应主要由植酸酶(肌醇六磷酸水解酶)催化。植酸酶是组氨酸酸性磷酸酶(HAPS),属磷酸酶亚类,可催化植酸的磷酸部分水解,所以导致植酸螯合金属离子的能力丧失。动物饲料中添加植酸酶除了降低养殖小区的磷污染外,还可提高单胃动物对磷的利用率。植酸酶的来源包括植物、动物和微生物,但就商业化生产植酸酶而言,微生物是最有前景的。在报道的各种微生物中,Aspergillus sp.是植酸酶生产中应用最广的菌种,发酵方式为固体发酵或液体发酵。各种来源植酸酶的理化性质和催化特征表明,植酸酶是一种酯水解酶,分子量因来源不同而异,估计都在 35~700kDa 之间,45~60℃时的 pH 值活性范围为 4.5~6.0。总而言之,细菌来源的植酸酶的最适 pH 值在中性到碱性范围内,而真菌来源的多在 2.5~6.0。在检测条件下,植酸酶对植酸是相当特异的,有可能将其与酸性磷酸酶区别开来,因为酸性磷酸酶不能降解植酸盐。

(郭宝林 译)

高效液相色谱法检测鱼肉中甲砒霉素残留的研究

陈眷华 毛以智 王兴群 卢占军

摘要 用高效液相色谱法检测鱼肉中甲砒霉素残留。采用乙酸乙酯超声波提取鱼肉中残留的甲砒霉素,紫外检测波长 225nm,流动相为甲醇:水[60:40 (V/V)],流速 1.2ml/min,进样量 10 μ l,用色谱柱分离后在高效液相色谱仪上进行检测。在以上色谱条件下,内标物氟苯尼考的均保留时间为 1.970min;甲砒霉素的均保留时间为 2.239min,在鱼肉中的最低检测限为 0.05 μ g/g,标准曲线的线性范围为 0.02~16 μ g/ml,线性相关系数为 0.999 8。甲砒霉素浓度为 0.05、0.5、40 μ g/g 时鱼肉回收药物的均回收率为 92.08%~105.38%;批间变异系数分别为 3.61%、2.33%、3.56%。结果表明,高效液相色谱法是一种快速、灵敏、可靠的检测鱼肉中甲砒霉素残留的分析方法。

关键词 甲砒霉素;残留;高效液相色谱;鱼肉

中图分类号 S859.84

氯霉素类抗生素包括氯霉素、甲砒霉素和氟苯尼考。由于氯霉素对人、畜有巨大的毒副作用,包括中国在内的许多国家禁止此药用于食源性动物;虽未发现氟苯尼考对动物和人有不良反应,但由于其合成成本较高,故价格高,仅用于对虾和鳗鱼等高等海产品中,尚难广泛应用于生产实践;甲砒霉素是氯霉素类抗生素中的第二代广谱抗生素,由于其具较好的抗菌活性,价格也相对便宜,自氯霉素禁用以来是目前我国广泛应用的抗生素。虽然其血液系统毒性不及氯霉素,抑制红细胞、白细胞和血小板程度比氯霉素轻。但免疫抑制作用比氯霉素强,仍有较强的毒副作用,在国内外研究中已得到学者的广泛验证。现除我国与日本外,欧盟和美国均禁用于食品动物。

甲砒霉素残留分析方法的研究起始于 20 世纪 70 年代,国外已先后建立了平面色谱法^[1]、气相色谱法^[2-5]、气质联谱法^[6]、液相色谱法^[7,8]等方法。目前,我国国家标准采用气相色谱法,检测限为 0.5 μ g/g。但样品预处理繁琐,相对于国际要求有较大差距,而国内尚未见关于鱼肉中甲砒霉素残留的高效液相色谱检测方法的报道。为了保障消费者的饮食安全及与各国的正常贸易,建立快速、灵敏、可靠的甲砒霉素残留分析方法很有必要。

1 试验方法

1.1 仪器与条件

1.1.1 检测器 CTO-10ASVP;柱箱 SPD-10AVP;色谱柱迪马 C18。

1.1.2 流动相为 V_{甲醇}:V_水=60:40;柱温 40℃;流速

1.2ml/min;检测器波长 225nm。

1.1.3 进样量 10 μ l。

1.2 标准样品配制

1.2.1 氟苯尼考标准内标液

准确称取氟苯尼考精制品 20mg,置于 1 000ml 容量瓶中,加入甲醇溶解后,用双蒸水定容至刻度,摇匀,制成 20 μ g/ml 的氟苯尼考标准储备液,4℃冰箱保存。临用前,取此储备液稀释成浓度为 1 μ g/ml 的标准工作液。

1.2.2 甲砒霉素标准液

准确称取甲砒霉素标准品 16mg,置于 100ml 容量瓶中,加入氟苯尼考内标液溶解,定容至刻度,摇匀,制成 160 μ g/ml 的甲砒霉素标准储备液,置 4℃冰箱保存。临用前,取储备液分别稀释成浓度为 80、40、4、2、0.2 μ g/ml 的标准工作液。

1.3 样品预处理方法

取 4.0g 鱼肉剁碎试样,加 3ml 乙酸乙酯,超声波提取 15min,静置 10min,再以 4 000r/min 离心 5min,分离有机相。残渣用乙酸乙酯洗涤后,再重复以上操作 3 次,离心合并有机相,置 60℃水浴锅中氮气流下吹干去除乙酸乙酯至剩少量油性溶液;残余物加 2ml 乙腈溶解后,加 3ml 正己烷再旋涡混合后静置 10min 分层,以 4 000r/min 离心 5min,弃上层正己烷层,置 60℃水浴中氮气流下吹干,放入 -4℃冰箱保存待测。测前用流动相定容至 10ml,置旋涡混合器上旋涡混合 3min,定容的溶液 4 000r/min 离心 5min 后,取上清液 10 μ l 进样,进行 HPLC 分析。

2 结果与讨论

2.1 内标法的确定

本试验保留时间定性;内标法定量。在本试验的色谱条件下,杂质峰与内标峰、检测峰分离良好,因此,本试验选用内标法(见图 1)。

陈眷华,贵州大学动物科学学院,副教授,550025,贵州大学花溪南校区。

毛以智、王兴群、卢占军,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2005-10-31

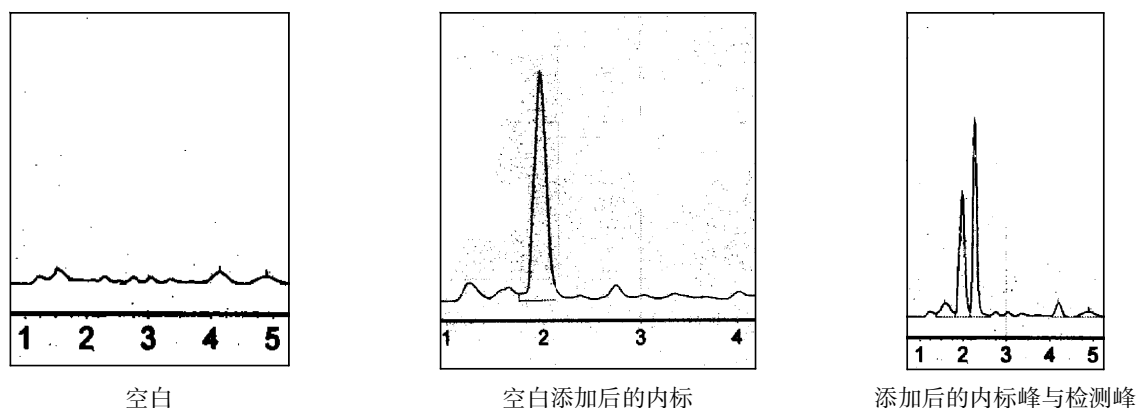


图1 内标法图谱

2.2 预处理方法的确定

提取试剂通常为乙酸乙酯、丙酮、乙腈,参照日本 Nagata T 和 Saeki M 的方法^[9]和我国国家标准^[4],经反复筛选,最后确定用乙酸乙酯超声波提取,氮气流下吹干,残余物溶于乙腈,用正己烷除脂的方法。

2.3 色谱条件的确定

通过紫外扫描,以氟苯尼考作内标物时,甲砒霉素、氟苯尼考的最大吸收为 225nm。因此,检测波长选用 225nm。

2.4 标准曲线的绘制

取活鱼 10 尾处死,洗净,沿脊背剖开取背肌,每尾 50g,总量 500g。用刀剁碎,于研钵中研碎后于 -4℃ 冰箱过夜(反复冻溶 3 次),在 7 支离心管中加入 4.0g 鱼样,再依次加入 1ml 甲砒霉素标准工作液(0.2~160μg/ml),旋涡混合,各样品中甲砒霉素浓度为 0.05~40μg/g,第一管为空白对照(见表 1)。在确定的样品预处理方法液相色谱条件下上机测定,将甲砒霉素的色谱峰面积(S)与相对应的药物浓度(C)作直线回归。结果表明,该方法线性范围为 0.02~16μg/ml,线性方程 $Y=6.666\ 6X-6.380\ 5$, $r=0.999\ 8$ 。

表1 标准曲线系列浓度

编号	0	1	2	3	4	5	6
鱼肉量(g)	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
甲砒霉素量(μg)	0	0.2	2	4	40	80	160
药物浓度(μg/g)	0	0.05	0.5	1	10	20	40

2.5 方法准确度和精密度

3 个水平(0.05、0.5、40μg/g)添加的试样。旋涡混合后,在液相色谱条件下上机测定。再将相对应的甲砒霉素标准液(0.02、0.2、16μg/ml)进样作高相液相分析,用下述公式计算各对应浓度的回收率。回收率=

(鱼样预处理后药物色谱峰面积/相应浓度药物色谱峰面积)×100%(见表 2);同样,该系列浓度的均批间变异系数为 3.17%。

表2 甲砒霉素回收率测定(%)

重复	浓度(μg/g)		
	0.05	0.5	40
1	109.11	103.86	91.49
2	106.04	100.14	94.37
3	111.05	100.07	97.75
4	103.17	104.73	89.02
5	100.62	101.62	87.64
6	102.28	101.00	92.22
X±S.E.	105.38±4.09	101.90±1.96	92.08±3.66

3 结论

根据以上分析,可知该方法样品前处理简单、灵敏度高、准确度和精密度好、检测数据准确可靠,可代替我国现用气相色谱法用于进出口或相关部门进行检测。

参考文献

- Dreassi E, Corbini G, Ginanneschi V. Journal of AOAC International. 1997,80(4):746~750
- Jacobson W C, Alien E H, Wisernon H G. Presented at 88th Annual Meeting of AOAC. 1974(10):14~17
- Sobhy H M, Mohamed E A, Shehab G G, et al. Animal Health Research Institute. 2000(5):15~17
- 《中华人民共和国行业标准》(SN 0199-93)
- 王建华,陈世山.分析测试学报.2001,20(3):88~91
- Tutor J A, Havard A C, Robinson S, et al. Food Chem Toxicol. 2000,38(10):925~938
- 胡顶飞,沈建中.中国兽药杂志.2001,35(5):55~57
- Paape M J, Miller R H. Journal of Dairy Science. 1990,73(7):1 734~1 744
- Nagata T, Saeki M. J. Liq. Chromatogr. 1992,5(12):2 045~2 056

(编辑:孙崎峰, sqf0452@126.com)

动物肠道免疫的构成与功能

钟乐伦 姚军虎

肠道作为机体重要的组成部分,人们对它的认识长期集中在对营养物质的消化和吸收上。近年来随着对机体组织器官的深入研究和科研手段的进步,胃肠的研究工作也从单纯的养分消化向全方位发展。正常情况下,肠道可有效阻挡肠内 500 多种、浓度高达 10^{12} 个/g 的肠道内寄生菌及其毒素向肠外组织移位,同时产生高效的细胞和体液免疫,防止内源性微生物及其毒素的侵害;对于无害抗原(食物或正常菌群),肠黏膜可下调免疫应答反应,保证机体及时获得养分,不会因对无害抗原反应而耗竭免疫资源。肠黏膜对其接触物这种准确无误的识别和迅速的反应依赖于肠道的免疫保护功能。目前认为,正常的肠黏膜免疫依赖于肠道三大屏障,即肠黏膜上皮屏障、肠道免疫细胞及其分泌物所形成的免疫屏障以及肠道正常微生物群所构成的生物屏障。本文就近年对肠道屏障功能的认识 and 观点作一综述。

1 肠黏膜细胞与上皮屏障

肠黏膜表面布满许多柱状、杵状和叶状的肠绒毛(intestinal villus),肠绒毛主要由两类细胞组成,即吸收细胞(absorptive cell)和杯状细胞(goblet cell)(沈霞芬 2000)。吸收细胞是具有吸收功能的柱状细胞,数量最多,是构成小肠上皮的主要细胞。相邻吸收细胞之间形成紧密连接,可以有效防止肠腔内物质经细胞间隙穿过上皮细胞层,对细胞间隙起封闭作用。紧密连接处,相邻细胞的胞质紧密融合,脂膜间隙消失(崔中和 2000)。冷冻蚀刻显示,紧密连接形成的胞间融合是由膜中蛋白质颗粒融合并形成分支及吻合的嵴构成。这种结构说明,物质要穿过上皮细胞必须经细胞膜和细胞质的选择,而不可能经相邻细胞之间的缝隙实现这种穿越。此机制有利于防止肠腔内细菌、毒素及炎症

介质渗透到周围组织,以维持肠道正常功能。组成肠绒毛的杯状细胞多为柱形和圆锥状,散在分布于吸收细胞之间,其分泌的黏液附于肠上皮表面,有润滑和保护作用。肠道固有层 B 淋巴细胞分泌的 IgA 抗体,可以在杯状细胞的基底膜或侧通过胞饮的方式进入杯状细胞,再由杯状细胞分泌到肠腔中去,发挥免疫防护的功能并分泌到管腔,起免疫防护功能。

此外,在淋巴小结上方的黏膜上皮,可见数量极少的一种特殊细胞,称为微皱褶细胞(microfold cell),简称 M 细胞,其基底面质膜内陷形成穹窿腔,腔内含数个淋巴细胞。M 细胞是肠黏膜上皮中唯一具有通透性的上皮细胞,因此也是肠道上皮屏障的一个薄弱环节,充当了病原微生物入侵的门户。抗原及细菌、病毒、原生动物等通过胞饮及吞噬作用穿越 M 细胞,突破上皮屏障,与穹窿腔内的淋巴细胞相互作用,后者进一步将抗原信息递呈给固有层淋巴细胞,引起 B 细胞和 T 细胞活化,导致黏膜及全身免疫反应(见图 1)。因此, M 细胞在肠道抗原的获取和递呈中发挥重要作用。此外,肠上皮中还散在分布有内分泌细胞和潘氏细胞(paneth cell),对肠黏膜的免疫屏障起协调增强作用。

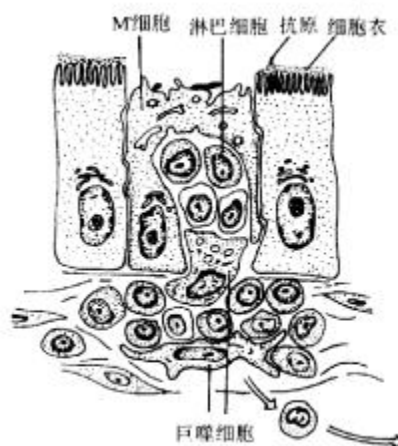


图1 M细胞与肠淋巴组织

钟乐伦,西北农林科技大学动物科技学院,在读硕士研究生,712100,陕西杨凌西北农林科技大学北校区 11#。

姚军虎,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2005-08-22

肠内致病菌及其毒素可损害肠上皮屏障,其机制主要是破坏黏膜吸收细胞之间的紧密连接。如肠出血大肠杆菌、鼠伤寒沙门菌、产气荚膜杆菌以及霍乱弧菌等可直接破坏紧密连接的蛋白质,导致肠道黏膜上皮的抵抗力下降(Lencer 2001);致肠病大肠杆菌通过破坏紧密连接蛋白的磷酸化和去磷酸化过程,间接造成紧密连接蛋白破裂。McNamara 等(2001)发现,致病大肠杆菌通过其 III 型分泌系统,分泌一种 EspF 蛋白,粘附于上皮细胞,并通过调节细胞骨架导致紧密连接的蛋白分子重新排布,增加肠道通透性而损伤肠上皮细胞。

谷氨酰胺(Gln)是肠黏膜上皮代谢的重要底物,它既可以通过三羧酸循环产生 ATP,也能提供氮源作为合成核苷酸及蛋白质的原料,在保持肠道结构完整性和维持肠黏膜屏障方面发挥重要作用(Wilmore 等 1998)。张军民(2000)报道,一定剂量的 Gln 对提高断奶仔猪及应激动物免疫力与抗病力发挥重要作用。表皮生长因子(EGF)是与细胞生长、增生、分化、组织修复等密切相关的一类细胞因子,可改善肠黏膜结构,维持上皮正常功能,同时可加速肠上皮细胞对 Gln 的利用(Klimberg 等 1990)。此外,类胰岛素生长因子、重组人生长激素(rhGH)、精氨酸等也在维持小肠上皮结构及小肠黏膜免疫方面发挥重要作用。

2 肠道免疫细胞与免疫屏障

肠道之所以能选择性允许肠腔内的食物、药物等抗原进入,而阻止细菌毒素等抗原进入,这除了肠道黏膜上皮屏障的选择保护外,还与肠道免疫细胞及免疫分子的监视识别有关。

2.1 肠道的免疫细胞群

淋巴细胞是免疫系统的主要效应细胞(陈慰峰 2005)。肠道拥有机体最大的黏膜相关淋巴样组织,包括消化管黏膜内弥散淋巴组织、孤立淋巴小结、集合淋巴小结以及淋巴细胞、巨噬细胞和浆细胞等(沈霞芬 2000),它们参与构成机体免疫防疫的第一线。当消化道黏膜受到抗原作用后,黏膜内淋巴组织随即产生免疫应答并向消化管分泌免疫球蛋白,以抵御细菌、病毒及其它有害物质侵入。目前发现,肠道有两种不同表型的淋巴细胞存在,即分散在上皮细胞层中的肠上皮内层淋巴细胞(intestinal intraepithelial lymphocytes, iIEL)和位于疏松结缔组织的固有层淋巴细胞(propria lymphocytes, PL)。

iIEL 位于肠黏膜基底膜上方,黏膜上皮细胞之间

的一群表型及功能异质的淋巴细胞。常人中,每 100 个上皮细胞中有 6~40 个 iIEL,空肠、回肠和结肠中分别为 20、13 和 5 个(马克勤等 2003)。Veazey 等(1997)用流式细胞仪及免疫组化技术研究表明,人和小鼠 90%以上的 iIEL 为 CD₃ 阳性 T 细胞, sIg 阳性 B 细胞的数量不足 6%,尚有少量的自然杀伤(Nature Kill, NK)细胞。iIEL 的组成受物种、年龄及肠道抗原的影响。牛、鸟类的 iIEL 约 50%表达 TCR_{γδ};小鼠 iIEL 中 67%表达 TCR_{γδ}, 25%表达 TCR_{αβ};大鼠 iIEL 中 75%表达 TCR_{αβ}。成人 iIEL 约 10%表达 TCR_{γδ};20 周龄胎儿肠道 1/3 表达 TCR_{γδ};出生后 1 年表达 TCR_{αβ} 的 iIEL 数量要增加 10 倍。在肠道各段的不同部位 iIEL 的表型也不尽相同。关于 iIEL 的起源至今尚无定论,但有研究发现, iIEL 前体细胞在小肠中发育成熟,不受胸腺因子影响,是一条独立的胸腺外途径(Lefrancois 等 1995)。Maric 等(1996)用小鼠肠上皮细胞与骨髓中前 T 细胞一起培养,可诱导出 iIEL,说明肠上皮可以提供 iIEL 发育成熟的环境。最近,在小肠上皮细胞中发现可促进 iIEL 生长、发育和增殖的 IL-7 和干细胞因子,进一步证实了 iIEL 的发育成熟与传统的 T 细胞有所不同。iIEL 参与免疫监视活动和第一线的防御,主要功能是发挥溶细胞活性。它能杀伤对 NK 细胞不敏感的靶细胞,其效应可能是通过释放穿孔素及丝氨酸酯酶等细胞毒物质而实现;也可杀伤病毒感染和被各种癌基因转化后的上皮细胞,发挥免疫监视功能(黄守雄 1996)。iIEL 还可阻止肠道中外源性抗原强大的致敏作用,诱导和维持经口免疫耐受(Lundqvist 等 1996)。

PL 分布于血管和淋巴丰富的结缔组织中,其中 45%~50%为 B 细胞, T 细胞仅占 25%,含大量单核细胞、肥大细胞、NK 细胞及其它炎性细胞(艾国平 2000)。PL 细胞可以产生大量抗体,其大部分属于 IgA。免疫荧光标记可清楚看到 PL 的浆细胞中 70%~90%产生 IgA,仅有 18%产生 IgM。与其它器官相比肠固有层还有丰富的能产生 IgE 的细胞。PL 所产生的各种免疫球蛋白在肠道局部体液免疫中发挥重要作用。

此外,派尔集合淋巴小结(Peyer's Patches, PP)在肠黏膜免疫中也起关键性作用,它是 M 细胞穹窿下所形成的淋巴滤泡。成熟 PP 中, T 细胞占 11%~40%; B 细胞占 40%~70%;还有 16%的淋巴细胞既不像 B 细胞也不像 T 细胞。外来抗原从 M 细胞进入 PP 后,经

CD₄ 阳性 T 细胞处理抗原可诱导 B 细胞增殖分化,转变成能产生细胞因子的细胞或浆细胞,产生分泌型免疫球蛋白(Karczewski 等 2000)。可见,对肠道途径的抗原,PP 是一个关键的调节部位。

2.2 肠道产生的免疫抗体

IgA 是体内主要分泌型免疫球蛋白,成人肠道平均每天分泌 3g,超过其它免疫球蛋白分泌量的总和(于勇 1994;罗治彬 1997)。与 IgG 和 IgM 等免疫球蛋白不同,IgA 在血清和分泌液中以不同结构形式存在,血清中主要是沉降系数为 7s 的单体,占血清免疫球蛋白总量 10%~15%;分泌型 IgA(secretory IgA, sIgA)主要为 11s 的二聚体以及少量 15.5s 的四聚体。一种叫 J 链的糖蛋白通过二硫键将两个 IgA 单体连接成双体 IgA,再与分泌成分(Secret Component, SC)结合即形成 sIgA(见图 2)。

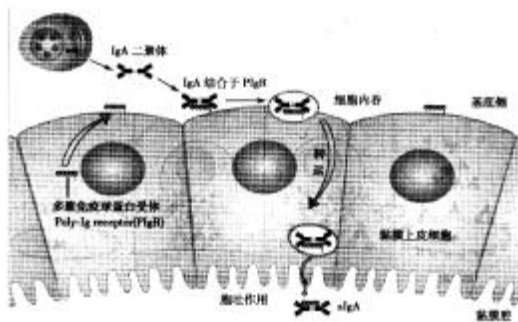


图 2 分泌型IgA 抗体结构

J 链在浆细胞中合成,SC 作为 IgA 的特异性受体由上皮细胞合成。IgA 结合 SC 片断后,结构更为紧密,不易被酶解,有利于 IgA 在黏膜表面及外分泌液中保持较高的抗体活性。sIgA 与黏膜上皮细胞表面的多聚免疫球蛋白受体 (poly-immunoglobulin receptor, PIgR)结合经细胞内吞作用进入胞内,再经胞吐作用分泌到肠腔(见图 3)。

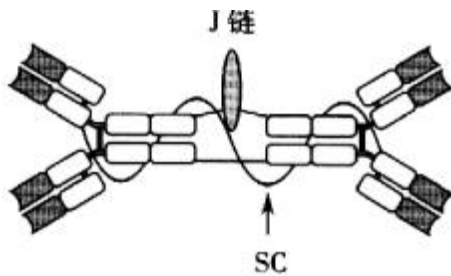


图 3 分泌型IgA 通过肠粘膜

sIgA 能中和病毒、毒素和酶等生物活性抗原,有广泛的保护作用,其主要功能是阻止细菌对肠上皮细胞的吸附。细菌对肠上皮吸附是实现机体致伤的关键,细菌一旦吸附到细胞表面,就可避免被肠道蠕动、内容物定向运动所清除,其分泌的有毒产物也可直接作用于靶细胞,有效地发挥毒性作用。sIgA 有抗原结合位点,具有类似凝集素的功能,通过与细菌结合阻止其对肠上皮吸附。此功能在 sIgA 与肠道黏液中的粘蛋白结合后得到加强。sIgA 与补体、溶菌酶协同还具有杀菌作用,但因 IgA 没有调节抗体的功能,其杀伤微生物的效力并不高。sIgA 还能在小肠结合并阻挡未经充分消化的食物蛋白穿过肠黏膜。因饲料抗原而发生超敏反应的动物血清中出现食物蛋白抗体,可能与 sIgA 缺乏而不能有效阻止食物抗原经肠黏膜入侵有关。新生动物易患消化道感染,可能是 sIgA 合成较晚所致。

除 IgA 外,肠黏膜上皮细胞还可以分泌 IgE、IgM、IgG 等免疫球蛋白,在肠道体液免疫中发挥重要作用。IgE 在动物与经肠黏膜吸收的抗原相互作用中有重要意义,也是肠道过敏反应的重要原因。IgM 也具有肠道黏膜保护作用,在 IgA 缺乏的病人中尤为明显,此类病人肠黏膜固有层中产生 IgM 细胞的数量明显上升,避免经常出现肠道感染。IgG 在炎症反应的发病机制中以及某些肠道疾病的组织损伤中起一定作用。

3 肠道微生物群和生物屏障

肠道作为机体最大的细菌库,寄居着约 $10^{13} \sim 10^{14}$ 个细菌。肠内微生物对肠道屏障功能扮演着双重角色。一方面,作为抗原对肠黏膜存在潜在的危害;另一方面,肠内寄生菌可为肠黏膜细胞提供某些营养成分,维持肠道微生态平衡,激活肠免疫系统,也是肠道屏障功能的组成部分(Baumgart 等 2002)。

对肠道屏障起重要作用的微生物主要是一些专性厌氧菌,包括乳酸杆菌、双歧杆菌。它们具有生态学稳定性,可防御和排斥外源致病菌入侵和对肠黏膜的侵袭。同时,寄居在肠黏膜表面的共生菌可直接控制炎症性转录因子,调节肠道抗感染能力。目前,肠共生菌对肠道屏障功能的保护机制尚未完全清楚,可能与以下几个方面有关:①调节并维持肠道微生态平衡,对致病菌起拮抗作用,中和和减少肠内某些有毒物质对肠黏膜造成的损伤。Hudaut 等(2001)发现,大肠杆菌株 EM0 及 JM105K 可有效防止鼠伤寒沙门菌 C5 所致的感染发生,降低细菌繁殖程度及细菌移位率,提

高动物存活率。②通过酵解产生短链脂肪酸(short chain fatty acid, SCFA)为肠黏膜提供能量,改善肠黏膜组织的局部供血,促进肠上皮修复。③激活肠黏膜免疫系统活性,增加 IgA、IgM 等抗体分泌量。④提高营养素的消化和吸收率,改善动物营养代谢状况。研究发现,一些共生菌可以调节某些对肠道屏障功能起重要作用的基因表达,如营养物质的吸收、肠黏膜免疫屏障结构的形成、异生化代谢、血管形成及肠道上皮细胞的成熟、分化等。

Fuller(1989)指出,稳定的肠道微生态区系能协助动物免受感染,尤其是消化道感染。无菌动物比正常动物更易感染疾病。例如,从口腔注入 10 个沙门氏菌就可杀死无菌小鼠,而杀死普通小鼠需要 10^6 个沙门氏菌,如采用静脉注射上述动物的半数致死量是相等的。由此可见,正常微生物群所形成的生物屏障的重要性。

动物正常的微生态区系具有相对的稳定性,并受日粮和环境因素的影响,其中主要为过度卫生、抗菌素治疗、应激和疾病等。由此对动物造成的不利影响可以通过使用化学益生菌、益生菌来调整,使动物重新建立完整的肠道微生物群系。

4 结语

肠黏膜与腔内大量的细菌及毒素广泛接触,是机体受威胁最大的部位,机体 95% 的感染也发生于黏膜或者通过黏膜入侵。因此,肠黏膜是病原微生物主要入侵门户,也是机体防护的关键。长期以来,肠道免疫防护功能未引起人们关注。近年发展起来的营养免疫学也集中在对全身细胞和体液免疫的探讨,而对局部的肠道黏膜免疫很少涉及。20 世纪 90 年代后,肠道免疫防护功能引起了医学界广泛关注,但至今取得的成果不多。近年,动物营养学家从肠道微生态平衡方面做了一些研究,并取得一定成果,但对肠道的免疫防护机制及其营养调控方面尚缺乏足够的认识。从肠道免疫角度解决断奶仔猪腹泻、日粮抗原过敏应该有其独特的效果,而且完整有效的肠道保护体系可以保护上皮细胞的完整性,促进养分吸收,有望进一步提高养分利用率。肠道免疫对我们预防病毒、寄生虫引起的动物肠道感染也有重要的意义。

参考文献

- 艾国平.肠道黏膜免疫的构成与功能[J].免疫学杂志,2000,16(4): 82~84
- 陈慰峰.医学免疫学[M].第四版.北京:人民卫生出版社,2005.40~47
- 崔中和.细胞生物学[M].北京:高等教育出版社,2000.87~90
- 黄守雄.表达 T 细胞抗原受体的肠上皮内淋巴细胞[J].国外医学免疫学分册,1996(5):247~251
- 罗治彬.肠道黏膜 sIgA 免疫系统的研究进展[J].细胞与分子免疫学杂志,1997,13(2):38~41
- 马克勤,马恩陵,温泉,等.肠道免疫屏障中上皮内层淋巴细胞的特点及其影响因素[J].中国临床营养杂志,2003,11(1):51~55
- 沈霞芬.家畜组织与胚胎学[M].第三版.北京:中国农业出版社,2000.151~158
- 于勇.IgA 在肠道免疫屏障中的作用及其创伤后的改变[J].国外医学免疫学分册,1994,15(1):15~18
- 张军民.谷氨酰胺对早期断奶仔猪肠道的保护作用及其机理研究[D].北京:中国农业科学院,2000
- Baumgart D C, Dignass A U. Intestinal barrier function [J].Current clinical nutrition metabolic care,2002,5(6):685~694
- Fuller J. Probiotics in man and animals [J].Applied Bacteriology, 1973(66):365~378
- Hudaut S, Guignot J, Servin AL. Escherichia coli strains colonizing the gastrointestinal tract protect germfree mice against Salmonella typhimurium infection [J].Gut,2001,49(1):47~55
- Karczewski J, Groot J. Molecular physiology and pathophysiology of tight junction. III: Tight junction regulation by intracellular messengers: difference in response within and between epithelia [J]. Physiology gastrointest Liver Physiology,2000,279(5):660~665
- Klimberg V S, Salloum R M, Kasper M et al. oral glutamine accelerates healing of the small intestinal and improves outcome after whole abdominal radiation [J].Arch Surgery,1990,125:1 040~1 045
- Lefrancois L, Puddington L. Extrathymic intestinal T -cell development :virtual reality[J].Immunology today,1995,16(1):16~21
- Lencer W I. Microbes and microbial toxins: paradigms for microbial-mucosal toxins [J].Physiology gastrointest Liver physiology, 2001,280 (6):781~786
- Lundqvist C, Melgar S, Yeung M, et al. Intraepithelial lymphocytes in human gut have lytic potential and a cytokine profile that suggest Th1 and cytotoxic function [J].Journal of Immunology, 1996,157(5):1 926~1 934
- Maric D, Keiserlian D, Croitour K. Intestinal epithelial cell line induction of T cell differentiation from bone marrow precursors[J]. Cell Immunology,1996(172):172~179
- McNamara B P, Koutsouris A, O'Connell CB, et al. Translocated EspF Protein from enteropathogenic Escherichia coli disrupts host intestinal barrier function [J].Clinical Invest, 2001,107(5):621~629
- Veazey RS, Rosenzweig M, Shvetz DE. Characterization of gut - associated lymphoid tissue of normal rhesus macaques[J].Clinical immunology,1997(82):230~242
- Wilmore D W, Shabert J K. Role of glutamine in immunologic response [J].Nutrition,1998(14):618~626

(编辑:张学智, mengzai007@163.com)

海洋生物寡糖对 养殖类海洋无脊椎动物免疫机能的影响研究

李 伟 佟长青 熊川男 汪秋宽

摘 要 海洋生物寡糖是一类新型寡糖,它们往往具有特殊的化学结构,带有独特的活性基团,因此具有一些特殊生物活性。研究表明,把它作为营养素添加到水产养殖的饲料里,可以提高养殖类海洋无脊椎动物的免疫机能,从而提高抗病性。这为解决当前日益严重的养殖海参病害和虾病害提供了一条新的途径。

关键词 寡糖;海洋无脊椎动物;免疫机制

中图分类号 Q533

The effect of marine oligosaccharides on immunological mechanism of mariculture invertebrates

Li Wei, Tong Changqing, Xiong Chuannan, Wang Qiukuan

Abstract The marine oligosaccharides from marine organisms are new group oligosaccharides. These structural peculiarities are actually for structure-biological activity correlation. There are increasing data suggesting these oligosaccharides displayed effects on immunological mechanism of mariculture invertebrates. The indicates a pathway to prevent the diseases of mariculture invertebrates.

Key words oligosaccharides;mariculture invertebrates;immunological mechanism

海洋生物寡糖由海洋生物多糖降解而得来。海洋生物多糖资源丰富,它们往往具有特殊的化学结构,带有独特的活性基团,例如卡拉胶带有硫酸基、甲壳素带有氨基等,从而使海洋生物多糖表现一定的生理活性。但是由于多糖分子量较大以及特殊的结构,导致多糖的溶解度较低,溶液粘性较大,限制多糖的应用。以海洋生物多糖为原料,通过降解途径制备出的寡糖不仅溶解性较好,而且表现出相对多糖更强的生理活性。人们已经在海洋生物寡糖抗植物病毒方面做了很多研究,例如壳寡糖对大豆、辣椒、烟草及木瓜等植物病毒有明显的防效^[1-4]。另有研究表明,寡糖可以促进家畜生长;增强家畜的抗病能力;提高家畜对饲

料中营养物质的吸收和利用。在鱼类饲养中,加入甘露聚糖作为饲料添加剂,可以促进鱼类生长,增强免疫力^[5]。此外,海洋生物寡糖具有同源性、易吸收和高效的特点,是一种新型绿色水产饲料添加剂。

1 海洋生物寡糖的来源

褐藻中含有大量的昆布多糖、岩藻多糖和藻酸。总多糖的重量可以达到褐藻干重的40%到80%。昆布多糖是一组从海藻(Phaeophyta 属)中分离出来的水溶性的低分子量的1,3和1,6-β-D-葡聚糖^[6]。褐藻胶存在于海带等褐藻细胞间质中。从弧菌、黄杆菌、固氮菌、克雷伯氏菌、假单胞菌中可分离出褐藻胶酶,它可以降解甘露糖醛酸和古罗糖醛酸残基以1,4糖苷键连接的褐藻胶,从而得到褐藻胶寡糖。从褐藻和一些海洋无脊椎动物中分离得到岩藻聚糖^[7-10]。L-岩藻糖残基以α-1,3-键连接。从鲍鱼、帽贝、蟹类等动物中可分离出岩藻聚糖降解酶,应用它们可以得到岩藻寡糖。从红藻中分离出一种亲水性琼胶,它包括琼脂糖和硫酸琼胶。经过从微生物和海洋软体动物中的琼胶降解酶降解得到一些琼胶寡糖。从红藻如角叉菜、杉藻、麒麟菜中提取到一种水溶性多糖卡拉胶。卡拉胶已发现有13种类型,主要有κ-卡拉胶、λ-卡拉胶、ι-卡拉

李伟,辽宁省水产品加工与贮藏重点开放实验室,博士,副教授,116023,大连。

佟长青、汪秋宽,单位及通讯地址同第一作者。

熊川男,中国科学院研究生院大连化学物理研究所生物技术部。

收稿日期:2005-11-28

★ 辽宁省自然科学基金项目(项目编号 2050885),大连水产学院科研项目(项目编号 015690)

胶等。从海洋假单胞菌(*Pseudomonas carrageenovora*)分离到κ-卡拉胶降解酶^[11,12]。该酶的降解产物为4-硫酸-新卡拉二糖。

在甲壳类动物外骨骼和真菌细胞壁及一些绿藻中广泛存在有几丁质,它是由N-乙酰氨基葡萄糖聚合而成的多糖。利用粘细菌、生孢噬细菌属、芽孢杆菌属、弧菌属、肠杆菌属、克雷伯氏菌属、假单胞菌属、沙雷氏菌、色杆菌属等可以提取出几丁质酶和壳聚糖酶,可以生产出一定聚合度的几丁寡糖和壳寡糖。

另外,还可以通过酸性溶液采用使多糖中的糖苷键断裂方法、微波方法、超声波方法和辐射降解方法来获得寡糖。获得的寡糖经过分子修饰改变其结构,进而提高其生物活性或降低毒副作用。近年来,广泛采用糖分子修饰的方法有硫酸酯化、脱硫酸根、乙酰化、脱乙酰化、羧甲基化、磷酸酯化、接枝共聚、糖苷化和交联^[13]等方法。通过对寡糖分子的修饰可以获得各种结构类型和各种生物活性的寡糖衍生物,这在水产养殖中应用海洋生物寡糖提供了新的来源。

2 海洋生物寡糖的活性

从海藻中分离出来的水溶性的低分子量1,3和1,6-β-D-葡萄糖对动物和植物来说是一种有效的、无毒的免疫增强剂。它还具有抗辐射、抗肿瘤和抗菌等活性^[14-16]。近10年来,岩藻寡糖众多的生物活性,如抗凝血、抗血栓、抗焦虑、避孕、抗肿瘤和抗病毒等被广泛研究^[17-19]。岩藻寡糖的生物活性和它们的硫酸酯化程度有关,同时也和它们的结构和分子量有关。例如,均一的硫酸酯化岩藻寡糖比非均一的硫酸酯化岩藻寡糖具有更好的抗HIV活性^[20]。

壳寡糖具有众多的生物活性。抗菌活性是壳寡糖应用的比较多的一个活性。它对一些细菌系有抗菌活性。它抗菌活性是通过以下几个途径实现的。首先,它可以改变细菌细胞膜的渗透性,进而阻止物质的进入或者使细胞成分泄漏而导致细菌死亡^[21];其次,它所具有的正电荷和分子量大小也对抗菌活性有影响。壳寡糖对真菌的生长也有抑制作用。它和真菌上的负电荷反应从而抑制真菌的生长。具体的机制和抗菌活性类似。在细胞表面上,壳寡糖和真菌上的负电荷形成的多电荷复合物直接影响了真菌的正常生理功能和真菌的生长。在低pH值和低温时,有较好的抗真菌活性^[22]。壳寡糖还具有抗植物病毒、动物病毒和噬菌

体的活性。

动物的非特异性免疫反应是一种普遍的抗微生物反应。免疫增强剂可以增强非特异性免疫反应,提高防御能力。大多数免疫增强剂能特异地结合到噬菌细胞或淋巴细胞表面受体蛋白上,并刺激它们产生免疫物质,如干扰素、白介素、补体蛋白等,从而激活免疫系统。另外,免疫增强剂可以和病菌感染的靶细胞上的特异性受体竞争结合。甘露寡糖、糖肽和壳寡糖是被报道过的免疫增强剂^[23]。

几丁寡糖和壳寡糖可以使噬菌细胞具有迁移活性^[24]和趋向性。而几丁质和壳聚糖则减少它们的这种活性。这说明,几丁质和壳聚糖可以吸收培养基中的某些和噬菌细胞有关的物质。水溶性的壳寡糖可以活化白细胞产生白介素,如IL-1β、肿瘤坏死因子(TNF-α)和非活性氧介导的活化防御系统抵抗微生物的侵袭^[24]。

3 海洋生物寡糖在海洋无脊椎动物养殖中的应用

生物寡糖在家畜生产中的应用已有很多报道。如王秀武等^[25]研究了日粮添加0.1%壳寡糖对肉仔鸡矿物质代谢、盲肠内容物中大肠杆菌、乳酸杆菌、双歧杆菌的影响。发现壳寡糖能显著降低排泄物(粪尿混合物)中重要生命元素Ca、P、Mg、Zn、Cu、Mn的含量($P<0.05$),使其利用率提高,增加了Pb、Al元素的排出量($P<0.05$);对盲肠内容物中大肠杆菌、乳酸杆菌和双歧杆菌均有不同程度的抑制作用;回肠微绒毛密度增加;显著提高胸腺、法氏囊和脾脏的相对质量($P<0.05$)。

在水产养殖中,已有研究证实,寡糖可改善鱼类肠道内的微生态环境,提高鱼类免疫力,增强其抵抗疾病的能力。另有很多海洋生物多糖在海洋无脊椎动物水产养殖中应用的研究。如于栉孔扇贝体中分别注射海藻硒多糖后,测定栉孔扇贝血清和血细胞中两种参与免疫防御的酚氧化酶(PO)和髓过氧化物酶(MPO)的活力。结果表明,注射硒多糖后,血清中PO活力在1h和15h时显著高于对照组,而血细胞中未检测到PO活力;血清中MPO活力在1h、15h和30h时,血细胞中MPO活力在1h和15h时实验组显著高于对照组,说明硒多糖对栉孔扇贝血淋巴中PO和MPO的活力均有增强作用^[27]。周永灿等^[27]以不同浓度的珍珠贝多糖肽投喂合浦珠母贝(*Pinctada martensii*),15~75d后,实验合浦珠母贝的血细胞的总量及各种血细胞的

数量、吞噬细胞的吞噬力、血清对细菌的凝集、抑菌和杀菌活力等都有不同程度的提高,表明珍珠贝多糖肽可以增强合浦珠母贝非特异性免疫能力。

近年来,随着海洋无脊椎动物人工养殖的兴起,同时出现了一些具有传染性的病害。如海参“刺参腐皮综合症”(俗称化皮病)和对虾的病毒病。这已成为阻碍水产养殖业发展的主要因素。以使用抗生素为代表的传统治疗方法,因其易导致养殖动物产生抗药性、易有残留等原因,在各国逐渐被禁用和取代。这就迫使人们去寻找绿色环保型饲料添加剂。

越来越多的研究表明,海洋生物寡糖是一类新型绿色海洋无脊椎动物免疫增强剂。它来自海洋生物,又应用于海洋生物,具有同源性、易吸收和高效的特点。因此,在不久的将来,寡糖有可能取代抗生素,成为新一代安全高效、无毒副作用的水产养殖用药物。

参考文献

- 张付云,冯斌,杜显光,等.壳寡糖诱导的烟草 SKP1 基因表达.植物生理与分子生物学学报,2005, 31(2): 213~216
- 郭红莲,李丹,白雪芳,等.壳寡糖对烟草 TMV 病毒的诱导抗性研究.中国烟草科学, 2002, 23 (4): 1~3
- 何培青,蒋万枫,张金灿,等.壳寡糖对番茄叶挥发性抗真菌物质及植保素日齐素的诱导效应.中国海洋大学学报(自然科学版), 2004, 34 (6): 1 008~1 012
- 商文静,赵小明,杜显光,等.壳寡糖诱导植物抗病毒病研究初报.西北农林科技大学学报(自然科学版), 2005, 33(5):73~75
- 王高学,徐翔.鲫鱼对不同剂量 α -甘露聚糖肽免疫应答的研究.黑龙江畜牧兽医, 2005(3):53~54
- Painter T.J., Algal polysaccharides. In: Aspinall, G.O. (Ed.), The polysaccharides, Academic Press, New York, 1983:53~71
- Chevolot L., Foucault A., Chaubet F., Kervarec N., Sinquin C., Fisher A.M., Boisson-Vidal C. Further data on the structure of brown seaweed fucans: relationships with anticoagulant activity. Carbohydr. Res. 1999, 319(1~4): 154~165
- Chizhov A O Dell A, Morris H R, et al. Shashkov A.S., Nifant'ev N. E., Khatuntseva E.A., Usov A.I. A study of fucoidan from the brown seaweed Chorda filum. Carbohydr. Res. 1999, 320 (1): 108~119
- Pereira M S, Mulloy B, Mourao P A. Structure and anticoagulant activity of sulfated fucans. J. Biol. Chem., 1999, 274(12): 7 656~7 667
- Usov A I, Kir'yanov A V. Polysaccharides of algae. 47. Isolation of fucoidan fractions from the brown seaweed Laminaria cichoriodes Miyabe (in Russian). Bioorg. Khim., 1994, 24 (3): 437~445
- Yaphe W, Boxter B. The enzymic hydrolysis of carrageenan. Appl. Microbiol., 1955(3): 987~993
- Weigl J, Yaphe W. The enzymic hydrolysis of κ -carrageenan with κ -carrageenase from *Pseudomonas carrageenovora*. In: Young E.G., McLachlan J.L. Proc Fifth Inter Seaweed Symp. London: Pergamon Press, 1965,329~332
- Takano R, Yoshikawa S, Ueda T, et al. Sulfation of Polysaccharides with Sulfuric Acid Mediated by Dicyclohexylcarbodiimide. J. Carbohydr. Chem., 1996(15):449~457
- Albersheim P, Darvill A, Augur C, et al. Oligosaccharins-oligosaccharide regulatory molecules. Acc. Chem. Res., 1992, 25 (1): 77~83
- Bohn J A, BeMiller J N. 1,3- β -D-Glucans as biological response modifiers: a review of structure-functional activity relationships. Carbohydr. Polymers, 1995, 28 (1): 3~14
- Zvyagintseva T N, Sundukova E V, Shevchenko N M, et al. The effect of 1,3; 1,6- β -D-glucans on the phytoalexin set and the activity of carbohydrases in the soybean callus cultures and shoots. Acta Phytopathol. Entomol. Hungarica, 1997, 32 (1): 59~67
- Nagumo T, Nishino T. Fucan sulfates and their anticoagulant activities. In: Dumitriu, S. (Ed.), Polysaccharides in Medicinal Applications. New York-Basel-Hong Kong, 1997. 545~574
- Witvrouw M, DeClercq E. Sulfated polysaccharides extracted from sea algae as potential antiviral drugs. Gen. Pharmacol., 1997, 29 (3): 497~511
- Zvyagintseva T N, Shevchenko N M, Nazarova I V, et al. Inhibition of complement activation by water-soluble polysaccharides of some far-eastern brown seaweeds. Comp. Biochem. Physiol. 2000, 126C (3): 209~215
- Shaeffer D J, Krylov V S. Anti-HIV activity of extracts and cyanobacteria. Exotoxicol. Environ. Safety, 2000, 45 (2): 208~227
- Chen Y M, Chung Y C, Wang L W, et al. Antibacterial properties of chitosan in waterborne pathogen. J. Environ. Science Health A, 2002(37): 1 379~1 390
- Hirano S, Nagao N. Effects of chitosan, pectic acid, lysozyme and chitinase on the growth of several phytopathogens. Agri. Biol. Chem.,1989(53): 3 065~3 066
- Matsuo K, Miyazono I. The influence of long-term administration of peptidoglycan on disease resistance and growth of juvenile rainbow trout. Nippon Suisan Gakkaishi, 1993(59): 1 377~1 379
- Feng J, Zhao L, Yu Q. Receptor-mediated stimulatory effect of oligochitosan in macrophages. Biochem. Biophys. Res. Commun., 2004(317): 414~420
- 王秀武,张丽,杜显光,等.壳聚糖对肉仔鸡矿物质微量元素代谢、肠道菌群及微绒毛形态密度的影响.中国粮油学报,2004,19 (6):94~97
- 李光友,孙虎山.免疫多糖对栉孔扇贝血淋巴中氧化酶活力的影响.高技术通讯, 2001, 11 (5): 10~12

(编辑:高 雁, snowyan78@tom.com)

乳酸菌的生理功能及在畜牧业中的应用

国春艳 杜红芳 刁其玉 史 良

摘 要 乳酸菌通过发酵产生的有机酸、特殊酶系、细菌表面成分等物质,在体内能发挥许多生理功能,如改善胃肠道功能、提高免疫能力、抗菌、降低胆固醇、调节血脂等。其中的部分功能已被应用到畜牧业中,尤其在增强牛奶保健功能、提高青贮品质、提高畜禽生产性能、降低畜产品贮藏对肉品风味的影响等方面已取得较好效果。

关键词 乳酸菌;生理功能;畜牧业

中图分类号 Q939.11*7

随着人们对乳酸菌生理功能研究的深入,大多数研究表明,乳酸菌具有改善胃肠道功能、提高免疫能力、改善机体营养状况等。其中改善营养状况、免疫功能等特殊作用已在食品、医药方面广泛运用。乳酸菌能提高如牛免疫能力,提高饲料利用率以及强化牛奶保健功能,延长肉品货架期等作用已在畜牧业中应用。

1 乳酸菌的定义

乳酸菌(Lactic acid bacterium, LAB)是一群能从可发酵性碳水化合物中产生大量乳酸的革兰氏阳性细菌的通称。乳酸杆菌有 44 个种,连同亚种共 51 个种,是革兰氏阳性、无芽孢、细长、有弯曲的杆菌。有 9 个属:其中 5 个属呈球状,如乳酸球菌(lactococcus)、迷走球菌(vagococcus)、链球菌(streptococcus)、明串珠菌(leuconostoc)和片球菌(pedicoccus);4 个属呈杆状,如肉食杆菌(caronobacterium)、乳酸杆菌(lactobacillus)、双歧杆菌(bifidobacterium)和孢子乳酸菌(sporolactobacillus)。这些菌都和乳酸发酵有密切关系,其中人们对嗜酸乳杆菌和双歧杆菌的研究比较多。

2 乳酸菌的生理功能

乳酸菌在动物体内能发挥许多的生理功能。大量研究资料表明,乳酸菌能调节胃肠道正常菌群、维持微生态平衡,从而改善胃肠道功能;提高食物消化率

和生物效价;降低血清胆固醇,控制内毒素;抑制肠道内腐败菌生长;提高机体免疫力等。

乳酸菌通过发酵产生的有机酸、特殊酶系、细菌表面成分等物质具有生理功能(郑坚 2002),可刺激组织发育,对机体的营养状态、生理功能、细胞感染、药物效应、毒性反应、免疫反应、肿瘤发生、衰老过程和应激反应等产生作用。总之,乳酸菌的生理功能与机体的生命活动息息相关。

2.1 改善胃肠道功能

乳酸菌是肠道常在菌。畜禽服用乳酸菌后,可以改变肠道内环境,抑制有害菌繁殖,调整胃肠道菌群平衡。乳酸菌通过粘附素与肠粘膜细胞紧密结合,在肠粘膜表面定植占位,成为生理屏障的主要组成部分,从而达到恢复宿主抵抗力,修复肠道菌群屏障、治愈肠道疾病的作用。如果这个屏障遭到抗生素或其它因素的破坏,宿主丧失了对外来菌的抵抗力,会使具有耐药性的肠内菌异常增殖而取代优势菌的位置,造成肠道内微生态平衡的失调。

2.2 改善免疫能力

乳酸杆菌和双歧杆菌一方面能明显激活巨噬细胞的吞噬作用,另一方面由于它能在肠道定植,相当于天然自动免疫。它们还能刺激腹膜巨噬细胞、诱导产生干扰素、促进细胞分裂、产生抗体及促进细胞免疫等,所以能增强机体的非特异性和特异性免疫反应,提高机体的抗病能力。Pergidon 等(1988)报道,口服乳酸菌后,对巨噬细胞的 β -半乳糖苷酶活性、巨噬细胞的吞噬活性等具有显著的激活和促进作用。当异物侵入机体时,免疫细胞被乳酸菌激活,增强了机体对异物产生抗体的作用。Chandra(1984)认为,乳酸菌之所以具有刺激机体产生抗体的作用,是由于菌体通过淋巴结、粘膜和 M 细胞刺激淋巴细胞,接受刺激的

国春艳,中国农业科学院饲料研究所,在读研究生,100081,北京市海淀区中关村南大街 12 号,中国农业科学院饲料研究所 501 室。

杜红芳、刁其玉(通讯作者)、史良,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2005-09-19

淋巴细胞再通过肠系膜淋巴结(MLN)循环到血流中,并分布全身,从而调节机体的免疫应答。

2.3 抗菌作用

研究资料表明(赵红霞 2003),乳酸菌对一些腐败菌和低温细菌有较好的抑制作用。可用于防治腹泻、下痢、肠炎、便秘和由于肠道功能紊乱引起的多种疾病以及皮肤炎症。其抗菌机制主要表现在以下几个方面:①产生的乳酸等有机酸能显著降低环境 pH 值和 Eh(氧化还原电位)值,使肠内处于酸性环境,对于致病菌如痢疾杆菌、伤寒杆菌、副伤寒杆菌、弯曲杆菌、葡萄球菌等有拮抗作用;②产生的过氧化氢能够激活牛乳中的过氧化氢酶-硫氰酸系统,抑制和杀灭革兰氏阴性菌、过氧化氢酶阳性细菌如假单孢菌属、大肠杆菌类和沙门氏菌属等;③产生类似细菌素的细小蛋白质或肽类,如各种乳酸杆菌素和双歧菌素,对葡萄球菌、梭状芽孢杆菌以及沙门氏菌和志贺氏菌有拮抗作用。

另外,双歧杆菌等还可将结合的胆酸分解为游离的胆酸,后者对细菌的抑制作用比前者更强。

2.4 改善营养健康状况

2.4.1 降低胆固醇

人们对乳酸菌降低胆固醇的作用及其机理做了广泛的研究,认为乳酸菌菌体成分或菌体外代谢物中有抗胆固醇因子。在乳酸菌产生的特殊酶系中,有降低胆固醇的酶系,它们在体内可能抑制羟甲基戊二酰辅酶 A(HMGCoA)还原酶(胆固醇合成的限速酶),从而抑制胆固醇的合成。由于乳酸菌能在肠黏膜上黏附并定植,故能显著减少肠道对胆固醇的吸收。乳酸菌可吸收部分胆固醇并将其转变为胆酸盐从体内排出。

Gilliland 等(1985)实验证明,嗜酸乳杆菌对胆固醇具有同化作用;Rasic(1993)的研究也有同样结果;Klaver 等(1993)研究表明乳酸菌对胆固醇具有共沉淀作用,当 pH 值低于 6.0 时,由于乳酸菌的胆盐共轭活性增加,使胆固醇与胆盐形成了沉淀,从而降低了培养基中的胆固醇含量。包惠燕等(2003)研究显示,嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌单独和混合发酵均可以使蛋奶中胆固醇量下降 10% 左右,嗜热链球菌比保加利亚乳杆菌的降胆固醇能力稍强。

2.4.2 改善血脂

乳酸菌在降低机体胆固醇的同时,可降低甘油三酯,使 HDL 升高,从而达到改善血脂的目的(郑坚 2002)。目前对乳酸菌对血脂影响的研究还不很成熟,

但大量的动物试验已表明,乳酸菌制剂发酵产生的有机酸、特殊酶系、细菌表面的成分以及乳酸在体内的代谢能改善血脂。那淑敏(1999)认为,有机酸中的醋酸盐、丙酸盐和乳酸盐可对脂肪的代谢进行调节,对降低血浆 TC(总胆固醇)和 LDL(甘油三酯),升高 HDL 起着一定的作用。

2.4.3 抗肿瘤作用

在肠道内的部分细菌分泌的一些酶类,如 β -葡萄糖酶、 β -葡萄糖苷酸酶、硝基还原酶、偶氮还原酶、7 α -脱羟基酶等,在肠内可使前致癌物转化为致癌物。肠道菌中的乳酸菌(包括补充到肠道中的乳酸菌)可通过调整肠道菌群抑制这些细菌酶的活性,达到降低肿瘤发生的危险。乳酸菌抗癌的机理可能是乳酸菌的某些代谢产物可促进肠胃蠕动,缩短致癌物质在肠内滞留的时间,减少致癌物质与上皮细胞的接触;或者是乳酸菌的代谢产物在肠道内膜内附植,形成不利于这些细菌酶作用的环境,抑制其活性,阻断肠内的前致癌物向致癌物的转化。肠道内具有抗肿瘤作用的乳酸菌列于表 1。

表 1 具有抗肿瘤作用的乳酸菌

菌名	菌名	菌名
德氏乳杆菌保加利亚亚种	莱希曼氏乳杆菌	草绿色乳杆菌
干酪乳杆菌乳油亚种	植物乳杆菌	纤维二糖乳杆菌
瑞士乳杆菌古特亚种	婴儿双歧杆菌	詹森乳杆菌
乳酸链球菌乳酸亚种	瑞士乳杆菌	短乳杆菌
肠膜明串珠菌肠膜亚种	两歧双歧杆菌	发酵乳杆菌
唾液链球菌嗜热亚种	格氏乳杆菌	长双歧杆菌
乳酸链球菌乳脂亚种	唾液乳杆菌	
青春双歧杆菌	嗜酸乳杆菌	

资料来源:郑坚等,2004。

3 乳酸菌在畜牧业中的应用

3.1 接种乳酸菌对青贮饲料品质的影响

不同的研究或者接种不同类型的乳酸菌有不同的结果。一般接种同型乳酸菌(如乳酸片球菌, *pediococcus acidilactid*; 植物胚芽乳杆菌, *lactobacillus plantarum*; 酪蛋白乳杆菌, *lactobacillus casei*; 粪链球菌, *streptococcus faecium*; 戊糖片球菌, *pediococcus pentosaceus*)可降低青贮饲料 pH 值,增加乳酸含量,降低丁酸含量(许庆方 2004; Tengerdy 1991; Phillip 1990; Nadeau 2000); 接种异型乳酸菌(如布氏乳杆菌, *lactobacillus buchneri*; 发酵乳杆菌, *lactobacillus fermentum*)则提高青贮饲料 pH 值,增加乙酸的生成。

3.2 补喂乳酸菌对畜禽生产性能的改善

王会娟等(1998)在雏鸡饮水中分别添加 0.05%、0.1%、0.5%的乳酸菌,发现 3 种浓度的乳酸菌均能提高蛋雏鸡成活率和日增重,尤其以添加 0.1%效果最好。孙宁(2004)在断奶前仔犬和断奶后仔犬日粮中添加乳酸菌,试验结果表明,在日粮中添加乳酸菌对断乳前仔犬体重无显著影响,而断乳后仔犬体重显著增加,可显著提高饲料利用率。

3.3 乳酸菌发酵对乳制品保健功能的影响

通过在牛奶中添加活性乳酸菌发酵制作而成的乳酸菌奶,含有新鲜牛奶的全部营养成分,是新一代的牛奶改良食品。经发酵的乳酸菌奶酪蛋白及乳脂被转化为短肽、氨基酸和低分子的游离脂类等更易被人体吸收的小分子(戴必胜等 2002)。奶中丰富的乳糖已被分解成乳酸,乳酸与钙结合形成乳酸钙,极易被人体吸收,也可被乳糖不耐症人群选用。乳酸菌奶能促进胃液分泌,促进消化,对胃具有保养功能,并能抑制肠道内腐败菌的生长,其生物保健价值远远高于牛奶。

乳酸菌奶中含有高活性的乳酸菌,它的代谢产物能干预人体内的肠肝循环功能,从而降低对脂肪的吸收,尤其对女性而言,常喝乳酸菌奶可降低乳腺癌的发生率。乳酸菌奶可以增进食欲,促进胃液分泌,增强肠胃消化功能,促进胃肠蠕动,因而可防治老年习惯性便秘、婴幼儿消化不良、幼儿腹泻等病症。

3.4 乳酸菌对肉品贮藏的影响

为了延长肉品的货架期,最有效的方法是冷藏,但是在冷藏条件下单核细胞李斯特增生菌和假单胞菌属等嗜冷菌仍可生长,并引起冷藏食品发生致病和腐败。真空包装和气调包装等方法也有利于肉毒梭菌等致病菌的生长。因此,目前较关注的是生物防腐,即利用自然的或人为控制的微生物以及它们产生的抗菌物质来延长肉品的货架期,提高食品的安全性。Leroi F 等(1996)研究结果表明,用乳酸菌发酵液保鲜肉品,可以抑制肉品中的致病菌和腐败菌的生长,保存风味物质,不改变食品组织状态,而且在正常冷却贮存条件下,也不影响食品的感官特性。马丽珍等(2004)进行了乳酸菌发酵液保鲜冷却猪肉的研究,结果表明,乳酸菌发酵液对猪肉上的致病菌如金黄色葡萄球菌和粪大肠菌群有明显的抑制作用,而对嗜冷菌如假单胞菌属、肠杆菌科等抑制作用不明显。乳酸菌

发酵液处理冷却猪肉后,不影响产品的感官特性,除贮存末期产品的生物胺含量较高外,其余均处于较低水平。

4 结束语

总之,乳酸菌及其发酵产物在畜牧业中应用可提高畜禽的增重、存活率,改善青贮的品质及延长肉品货架期,生产功能性牛奶,可以起到防病、治病、增强机体免疫力的功效,还可以提高饲料的品质,提升畜禽对饲料的利用率。作为添加剂,与传统的抗生素、化学药物相比,具有无公害、安全、高效的优点。

参考文献

- 1 赵红霞,詹勇,许梓荣.乳酸菌的研究及其应用[J].江西饲料,2003(1):9~12
- 2 郑坚.乳酸菌对乳脂的影响[J].黄冈师范学院学报,2002(3):37~39
- 3 Gilliland S E, Nelsor C. R, Maxwell C. Assimilation of cholesterol by lactobacillus acidophilus[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1985(49):337~381
- 4 Rasic J L, Vujicic L F, Skringer M, et al. Assimilation of cholesterol by some culture of lactic acid bacteria and bifidobacteria [J]. Biotechnology letters, 1992(14):39~44
- 5 张红. 乳酸菌的发酵性质和生物学功能 [J]. 生物学通报, 1999, 34(12):18~20
- 6 那淑敏, 贾士芳, 陈秀珠, 等. 嗜酸乳杆菌发酵代谢产物的分析[J]. 中国微生态杂志, 1999, 11(2):266~268
- 7 包惠燕, 欧仕益, 傅亮, 等. 乳酸菌发酵对蛋奶胆固醇的影响[J]. 暨南大学学报(自然科学版), 2003, 24(3):115~117
- 8 Nadeau E M G, Russell J R, Buxton D R. Intake, digestibility, and composition of orchard grass and alfalfa silages treated with cellulase, inoculant, and formic acid fed to lambs [J]. Journal of Animal Science, 2000, 78(11):2980~2989
- 9 Phillip L E, Underhill L, Garino H. Effects of treating Lucerne with an inoculum of lactic acid bacteria or formic acid upon chemical changes during fermentation, and upon the nutritive value of the silage for lambs [J]. Grass and Forage Science, 1990(45):337~344
- 10 Tengerdy R P, Wweinberg Z G, Szakacs G, et al. Ensiling alfalfa with additives of lactic acid bacteria and enzymes [J]. JSci Food Agric., 1991(55):215~228
- 11 郑坚, 罗冬英. 乳酸菌的抗肿瘤作用及其机理[J]. 黄冈师范学院学报, 2004, 24(3):63~64
- 12 戴必胜, 郑坚. 谈牛奶与乳酸菌奶[J]. 生物学通报, 2002, 37(2):31~32
- 13 马丽珍, 南庆贤, 戴瑞彤, 等. 乳酸菌发酵液保鲜冷却猪肉的效果研究[J]. 中国农业科学, 2004, 37(8):1222~1228

(编辑:张学智, mengzai007@163.com)

共轭亚油酸对动物体脂代谢的影响及其作用机制

贺喜 戴求仲 李剑波 张立凡

摘要 对共轭亚油酸的结构和来源、生物学功能及对动物体脂代谢的影响与作用机制进行了综述。重点论述了共轭亚油酸影响动物体脂代谢的作用机制,并对共轭亚油酸有待继续研究的问题进行了探讨。

关键词 共轭亚油酸;动物体脂代谢;作用机制

中图分类号 S816.7

The influence and mechanism of conjugated lionleic acid on animal lipids metabolism

He Xi, Dai Qiuzhong, Li Jianbo, Zhang Lifan

Abstract The structure, source and biological function of Conjugated lionleic acid (CLA) and the influence and mechanism of CLA on animal lipids metabolism were reviewed, in which the mechanism of CLA on lipids metabolism were stressed .Meanwhile the directions of CLA nutrition for further research were presented.

Key words conjugated lionleic acid;lipids metabolism of animal;mechanism

动物脂肪沉积是能量贮存的主要方式,体脂的沉积量是脂肪合成代谢与分解代谢的一种平衡状态。适当的肌间脂肪沉积,可以改善肉品质。但过多的腹脂及皮下脂肪沉积,既造成能量的浪费导致饲料成本的上升,也影响胴体品质,不适应现代人们的消费需求。为此,国内外学者的研究重点已大多从过去的“生长效率”即“投入”与“产出”的比率转到了动物的体脂沉积上,特别是关于体脂沉积的营养调控方面。近年来,共轭亚油酸在动物营养中的作用受到较大的关注,并逐渐成为动物营养研究的崭新领域和热点。本文重点讨论共轭亚油酸对动物体脂代谢的影响及其作用机理。

共轭亚油酸(Conjugated lionleic acid,CLA)一般认为是由必需脂肪酸亚油酸衍生的共轭双烯酸的多种位置与几何异构体的总称。它有很多同分异构体,常见的是 c9,t11 和 c12,t10 两种异构体,它们是天然

CLA 活性的主要成分。共轭亚油酸主要存在于反刍动物如牛、羊等的肉及其乳制品中,在一些植物和单胃动物中也发现 CLA 的存在,但含量非常少。反刍动物的瘤胃是 CLA 合成的主要场所,瘤胃中存在的厌氧微生物丁酸弧菌(*Butyrivibrio fibrisolvens*)在亚油酸生物氢化过程中能将其转化为 CLA。由于单胃动物没有瘤胃,因而合成的 CLA 非常有限或基本不合成(Kramer 等 1998)。

共轭亚油酸具有很多生物学功能,如抗癌变、抗动脉硬化、抗氧化,提高免疫功能,增加骨质密度,降低血脂和血液胆固醇等。同时 CLA 作为营养再分配剂,具有降低机体脂肪、增加肌肉等生理功能。CLA 在动物饲料中添加能够提高动物的生长速度和饲料转化率(Wiegand 等 2001;Corino 等 2002);降低体脂沉积,增加胴体瘦肉率(Ostrowska 等 1999;Ramsay 等 2001;Wiegand 等 2002;Corino 等 2003);提高动物免疫力,减少疾病的发生(Bassaganya-Riera 等 2001);促进骨骼形成(Li 等 1998)。同时可提高肉产品中 CLA 的含量,并改善肉品质(Wiegand 等 2002;Joo 等 2002)。

1 共轭亚油酸对体脂代谢的作用效果

1.1 降低体脂沉积,提高胴体瘦肉率

CLA 的生物学作用涉及到脂肪的沉积和氮的分

贺喜,中国农业大学动物科技学院,100094,中国农业大学西校区 54 博 5 信箱。

戴求仲、李剑波,湖南省畜牧兽医研究所。

张立凡,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2005-10-16

配,是一种新型的营养重分配剂。对鼠及猪、鸡的大量试验表明,CLA能够显著降低动物体脂含量,增加瘦肉沉积和肌肉中水分含量,明显改善饲料转化率。Xu等(2003)研究表明,日粮添加0.5%CLA能够降低大鼠体脂含量(57%~60%),增加体蛋白(5%~14%)和水分的含量。Sike等(2001)用小鼠作为动物模型研究在高脂日粮中添加不同梯度CLA对小鼠体脂沉积的影响时发现,与对照组相比,添加0.5%CLA组体脂含量明显降低,更高CLA添加组体蛋白含量显著增加。Sirri等(2003)发现在肉鸡日粮中添加2%CLA可降低体脂含量22%,并提高瘦肉组织含量。Szymczyk等(2001)报道,肉鸡日粮中添加梯度水平的CLA(0%、0.5%、1.0%、1.5%)能明显降低肉鸡腹脂沉积量(从2.68%降低到1.78%);他们还发现,尽管CLA添加对胸肌无影响,却明显增加腿肌比例,而且发现肌肉和组织中CLA的含量随CLA添加量的增加呈线性增加。

许多研究表明,在日粮中添加CLA能降低背膘厚度和皮下及腹部脂肪含量。Dungan等(1997)研究报告,给61.5~106kg的猪饲喂含2%CLA的大麦日粮,与对照组相比(饲喂含2%葵花籽油的大麦日粮),CLA添加组的皮下脂肪沉积降低了6.8%,瘦肉率提高了2.3%,尽管饲料采食量有所下降,但饲料转化率却提高了5.9%。Ostrowska等(1999)研究表明,23.5~114.0kg猪日粮中添加2%CLA油(含54.0%CLA),对猪的采食量和饲料转化率无明显影响,但与对照组相比,饲喂CLA组猪胴体瘦肉率明显提高,背膘厚度也呈现降低趋势。Wiegand等(2001)在26.3~116kg生长肥育猪日粮中添加梯度水平CLA发现,随着CLA添加水平的提高,平均日增重呈线性增加,但采食量并不受影响,因此,饲料增重比也线性增加。CLA对眼肌面积无影响,却明显降低第十肋处背膘厚度,并线性增加腹脂硬度。

1.2 影响胴体及其它动物产品脂肪酸的组成

CLA可使动物的机体组织发生变化,对胴体脂肪酸的组成产生影响(Simth等2002)。Corino等(2003)在超重肥育猪日粮中添加CLA,使猪背脂和腹脂中的饱和脂肪酸含量增高,而单不饱和脂肪酸含量降低。CLA对腹脂硬度同样产生影响,研究表明,软脂肉发生的主要原因是由于饲料中不饱和脂肪酸含量升高。如果日粮中添加CLA,猪能够沉积饱和脂肪酸。与不补饲CLA的猪胴体相比,补饲CLA显著地提高了猪

胴体的硬度(Simth等2002;Wiegand等2002)。Simth等(2002)发现,添加1.5%CLA可以分别使猪皮下脂肪c12,t10CLA和c9,t11CLA的含量从0增加到1.62g/100g和2.52g/100g脂肪,从而改变了皮下脂肪的含量。

CLA对于禽类及其产品同样能产生影响,Badanga等(2003)证明,添加CLA可以改变肉鸡肝脏脂肪酸的组成,既增加其饱和脂肪酸的成分又减少单不饱和脂肪酸的成分,并可以促进CLA进入肝脏脂肪代谢池。Szymczyk等(2003)添加不同梯度的纯CLA到蛋鸡日粮中,结果发现,采食富含CLA日粮的蛋鸡所产鸡蛋的脂肪酸组成发生明显变化,CLA在蛋黄中的含量增加,且蛋黄中饱和脂肪酸增加而不饱和脂肪酸明显的降低。Latour等(2000)也得出相似的结论。

2 共轭亚油酸影响体脂代谢的作用机制

关于CLA降低体脂沉积的作用机制目前还不清楚,存在下列几种可能的解释。

2.1 提高动物代谢率并增加能量消耗

Terpstra(2002)采用能量平衡试验研究CLA对Balb-C大鼠能量代谢的影响发现,CLA降低大鼠体脂是通过增加能量消耗和增加排泄物能量损失来实现。West等(1998)对AKR/J小鼠的研究表明,CLA添加使其代谢率提高,并降低了能量的摄入量和夜间呼吸熵。Evans等(2002)用CLA处理3T3-L1前脂细胞发现,CLA可以加快细胞内脂肪酸氧化,同时促进葡萄糖的代谢。

2.2 抑制脂肪组织中脂肪细胞分化和诱导脂肪细胞的凋亡(apoptosis)

脂肪细胞来源于中胚层,大量脂肪细胞聚集在一起形成脂肪组织。胚胎期动物脂肪组织的生长发育主要是位于基质椎管的前脂肪细胞的增生,其前脂肪细胞再发育成脂母细胞。出生后脂肪组织的生长则以脂母细胞体积增大为主,动物仅在出生后早期有前脂肪细胞数量上的增生,所以调控脂肪细胞分化就可以减少脂肪的大量沉积。Brodie等(1999)研究CLA对3T3-L1前脂细胞增值和分化的影响时发现,随着CLA浓度的增加,CLA可以同时影响脂肪细胞的增值与分化。Sylvia等(2001)研究指出,CLA降低小鼠体脂沉积主要是降低脂肪组织细胞的体积而不是细胞数量。Tsuboyama-Kasaoka等(2000)用添加CLA的标准纯化日粮饲喂大鼠来研究CLA降低体脂沉积的作用机理,结果表明,CLA使血清中肿瘤坏死因子- α

(TNF- α)和解偶连蛋白-2(UCP-2)升高,从而引起脂肪细胞凋亡,这是导致脂肪组织萎缩和体脂降低的重要原因之一。另有资料表明,PPAR γ 除了通过调节一些转译因子的活性从而改变细胞因子的表达外,它本身也是一种调节前脂肪细胞分化的转译因子。在前脂肪细胞开始分化时,由于缺乏配体,CLA可能充当了PPAR γ 的配体,结合到PPAR γ 上并激活它,促进前脂肪细胞的分化。但是随着细胞分化的进行,更多、更有效的PPAR γ 配体出现,CLA变成了细胞分化拮抗剂,阻止细胞进一步的分化,这也是导致脂肪组织萎缩和体脂降低的重要原因之一。

2.3 影响调节机体脂肪代谢关键酶的活性

脂肪的合成与分解都是复杂的生化过程,这些过程的调控都是由生物体内的酶来实现的,CLA可以影响一些酶的活性,从而影响机体的体脂代谢。Park等(1997)研究发现,CLA可增加脂肪组织和骨骼肌中肉碱棕榈酰转移酶(CPT)活性。用CLA处理体外培养的3T3-L1脂肪细胞能明显降低脂蛋白脂酶活性(-66%)和细胞内三酰甘油酯(-8%)及甘油(-15%)浓度,但与对照组相比,明显增加培养液中游离甘油浓度(+22%)。这表明CLA对体脂组成的影响可能部分是由于CLA降低了脂肪的沉积,加强了脂肪细胞的脂解作用,同时增强肌肉和脂肪细胞脂肪酸氧化。Xu等(2003)研究认为,CLA降低小鼠的体脂沉积主要是通过抑制脂蛋白脂酶(LPL)的活性和增加肉碱棕榈酰转移酶(CPT)活性来实现的。Smith等(2002)发现,CLA能抑制猪皮下脂肪硬脂酰CoA去饱和酶(SCD)的活性,由此而导致猪皮下脂肪酸组成发生变化。Corino等(2002)研究表明,兔日粮中添加CLA对生长性能、胴体品质并没影响,却降低肾周围脂肪重量。CLA能明显降低肝脏和脂肪组织中乙酰CoA羧化酶(CBX)活性,但对ME酶及G-6-P-D酶活性无影响。不同性别兔肩胛和肾周围脂肪中CBX和ME酶活性存在明显差异。

2.4 影响脂类代谢相关酶基因表达

随着营养学研究的深入,分子生物学的发展,营养学与分子生物学的交叉,人们发现日粮中的营养成分可以通过多种途径来调控基因的表达,从而影响动物机体的代谢过程,并最终影响动物的生产。CLA对动物的作用,同样部分由于其对脂类代谢过程关键基因表达的影响结果。近年来的许多研究表明,CLA对动物的作用与PPARs有许多的关联(Dreyer等

1993)。过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferator-activated receptor,PPAR)是一类由配体激活的核转录因子,属II型核受体超家族成员。存在3种亚型,即PPAR α 、PPAR β 和PPAR γ ,这3种亚型在结构上有一定的相似性,均含DNA结合区和配体结合区等。PPAR α 主要在代谢活跃的肝、肌、肾、心和肾上腺等组织中表达,而PPAR γ 主要在肠、脂肪和乳腺等组织中表达。PPAR β 被认为与体内脂质稳定有关,但因与该基因相关的重要临床表现缺乏,故现在还未引起足够的重视,至今对其知之较少。CLA可以和PPARs配体结合区相结合,从而激活PPARs,CLA和PPARs形成的复合体再与视黄醛衍生物(RXR)形成异质二聚体,异质二聚体能够与目标基因启动子的上游元件发生特异结合,从而促进目标基因的转录。PPAR α 的目标基因是一组相互联系的参与脂类分解的基因,如脂肪酸穿过膜吸收、脂肪酸结合于细胞,在微粒体、过氧化物酶体、线粒体中脂肪酸氧化,脂蛋白组装和转运,肝脏中脂肪酸分解中起重要作用的基因。PPAR α 被激活后可在多个水平上增加脂肪酸的分解,能增加肝脏的脂肪酸转运蛋白、脂肪酸移位酶、乙酰辅酶A合成酶的表达、促进肝的脂肪酸摄取;增加肌型的肉毒碱棕榈酰基转移酶-1(CPT-1)表达而促进脂肪酸进入线粒体;还增加微粒体中限速酶基因转录,促进脂肪酸分解和 β -氧化。PPAR γ 在控制脂肪的储存和释放,维持机体能量平衡,调节胰岛素抵抗及血糖的稳定,促进脂肪细胞基因表达等方面起调节作用。在脂肪细胞分化的全过程,特别在脂肪细胞分化的早期,起正向调节作用。PPAR γ 协同C/EBP(CCAAT/enhancer bind protein)转录因子影响脂肪酸在脂肪组织中的贮存,并能够诱导脂肪前体细胞成熟为脂肪细胞。因此,PPAR γ 的适量表达在脂肪细胞分化中起重要作用。大部分PPAR γ 的目标基因直接参与脂肪合成途径,包括脂蛋白脂酶(LPL),脂肪酸结合蛋白(A-FABP和Ap2),乙酰辅酶A合成酶和脂肪酸转运蛋白(FATP)。所以,CLA作为配体而广泛的与机体内PPARs发生结合,从而参与复杂脂类代谢过程的调控(Meadus等2002;Hsu等2003)。

另外研究表明,CLA对动物机体及产品脂肪酸组成的影响主要是因为CLA能够抑制硬脂酰辅酶A(SCD)和其它一些去饱和酶mRNA的表达,从而降低不饱和脂肪酸的含量(Smith等2002)。

关于CLA对动物体脂代谢的影响及其作用机

制,目前报道有不同的作用效果且存在多种解释,但对各种现象和解释均缺乏足够的研究。CLA的作用效果究竟是某一种机制在起作用还是几种机制共同起作用还不能从理论上加以阐明,有必要运用多种方法深入研究。

参考文献

- 1 A.H.M.Terpstra,A.C.Beynen,H.Everts,et al. The decrease in body fat in mice fed conjugated linoleic acid is due to increases in energy expenditure and energy loss in the excreta [J].J. Nutr., 2002(132): 940~945
- 2 Badinga L, Selberg KT, Dinges AC, et al. Dietary conjugated linoleic acid alters hepatic lipid content and fatty acid composition in broiler chickens[J].Poult. Sci., 2003(82):111~116
- 3 Corino C, Magni S, Pastorelli G, et al. Effect of conjugated linoleic acid on meat quality, lipid metabolism, and sensory characteristics of dry-cured hams from heavy pigs [J]. J. Anim .Sci., 2003(81):2 219~2 229
- 4 Corino C, Mourot J, Magni S, et al. Influence of dietary conjugated linoleic acid on growth, meat quality, lipogenesis, plasma leptin and physiological variables of lipid metabolism in rabbits [J].J. Anim . Sci., 2002(80):1 020~1 028
- 5 Demaree S R, Gilbert C D, Mersmann H J, et al. Conjugated linoleic acid differentially modifies fatty acid composition in subcellular fractions of muscle and adipose tissue but not adiposity of post-weaning pigs[J].J.Nutr., 2002(132):3 272~3 279
- 6 Dreyer C, H Keller,A Mahfoudi, et al. Regulation of the peroxisomal betaoxidation pathway by fatty acids through activation of peroxisomal proliferator-activated receptors (PPAR) [J]. Biol.Cell, 1993(77): 67~76
- 7 Dugan M E R, Aalhus J L. The effects of linoleic acid on fat to lean repartitioning and feed conversion in pigs[J]. Can.J. Anim.Sci., 1997 (77):723~725
- 8 Hsu J M, Ding S T. Effect of polyunsaturated fatty acids on the expression of transcription factor adipocyte determination and differentiation-dependent factor 1 and of lipogenic and fatty acid oxidation enzymes in porcine differentiating adipocytes [J]. Br. J. Nutr., 2003 (90):507~513
- 9 Kramer J K G, N.Sehat,M.E.R.Dugan. Distributions of conjugated linoleic acid (CLA) isomers in tissue lipid classes of pigs fed a commercial CLA mixture determined by gas chromatography [J]. Lipids, 1998(33):549~558
- 10 Li and Watkins.B.A. Conjugated linoleic acids alter bone fatty acid composition and reduce ex vivo prostaglandin E2 biosynthesis in rats fed n-6 or n-3 fatty acids[J].lipids, 1998(33):417~425
- 11 Park Y,Albright K J. Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice[J]. Lipids, 1997(32):853~858
- 12 Sirri F,Tallarico N, Meluzzi A, et al. Fatty acid composition and productive traits of broiler fed diets containing conjugated linoleic acid [J].Poult.Sci.,2003(82):1 356~1 361
- 13 Smith S B, Hively T S, Cortese G M, et al. Conjugated linoleic acid depresses the delta9 desaturase index and stearyl coenzyme A desaturase enzyme activity in porcine subcutaneous adipose tissue[J]. J. Anim .Sci., 2002(80):2 110~2 115
- 14 Szymczyk B, Pisulewski P M. Effects of conjugated linoleic acid on growth performance, feed conversion efficiency, and subsequent carcass quality in broiler chickens[J].Br .J.Nutr., 2001(85):465~473
- 15 Szymczyk B, Pisulewski P M. Effects of dietary conjugated linoleic acid on fatty acid composition and cholesterol content of hen egg yolks[J].Br .J.Nutr., 2003(90):93~99
- 16 Terpstra A H, Beynen A C, Everts H, et al. The decrease in body fat in mice fed conjugated linoleic acid is due to increases in energy expenditure and energy loss in the excreta [J]. J .Nutr., 2002 (132):940~945
- 17 Tsuboyama -Kasaoka N, M.Takahashi,K.Tanemura. Conjugated linoleic acid supplementation reduces adipose tissue by apoptosis and develops lipodystrophy in mice[J].Diabetes., 2000(49):1 534~ 1 542
- 18 West D B, Delany. Effects of conjugated linoleic acid on body fat and energy metabolism in the mouse [J]. Am.J.Physiol., 1998,275~ R672
- 19 W J Meadus,R MacInnis,M E R Dugan. Prolonged dietary treatment with conjugated linoleic acid stimulates porcine muscle peroxisomal proliferator-activated receptor α and glutamine fructose aminotransferase gene expression in vivo [J].J.Mole.Endoc., 2002(28):79~ 86
- 20 Xu X, Storkson J, Kim S, et al. Short-term intake of conjugated linoleic acid inhibits lipoprotein lipase and glucose metabolism but does not enhance lipolysis in mouse adipose tissue [J]. J. Nutr., 2003(1 333):663~667

(编辑:高 雁,snowyan78@tom.com)

· 信息采撷 ·

用鸡粪养鱼可能加剧禽流感大面积传播

据世界知名禽类观察组织表示,虽然用禽类粪便作饲料喂养鱼类能够使鱼类生长的速度变快,但是如果人们将已感染了禽流感的鸡的鸡粪当作饲料撒进鱼塘,也会导致禽流感通过鱼类而大面积传播。目前已经有很多地方出现这种情况。

专家表示,由于以鸡粪作饲料的现象非常普遍,而很多养殖户更是在养殖的时候“走捷径”,将未经发酵的鸡粪直接投入鱼塘,这就非常危险。人们一直都认为禽类是传染禽流感的载体,但事实并非如此,没有任何证据足以支持这一说法。任何一种生物包括水产类、飞禽类、走兽类,都可能成为病毒的侵犯对象,成为病毒的宿主。

海藻饲料资源及其在水产养殖中的应用研究

常巧玲 孙建义

海藻是生活在海洋里的含有叶绿素或其它辅助色素的低等自养植物。这种植物不像高等植物那样有根、茎、叶,更不会开花结果,属单细胞植物。由于海藻是自养植物,能进行光合作用,把海洋里的无机物质转化为有机物质,所以海藻是动物丰富的低成本饲料资源,海藻作为饲料原料和饲料添加剂开发潜力很大(刘纯仁 1996)。用海藻粉作畜禽动物饲料的研究和应用始于 20 世纪 50 年代(孙克年 2001)。海藻含有丰富的海藻多糖、蛋白质、脂肪、维生素、矿物质以及具有特殊功效的生理活性物质,是食品、药物、饲料的原料库。

1 海藻的营养组成和生物功能

1.1 海藻的营养组成

海藻的化学组成、氨基酸组成、不饱和脂肪酸组成及微量元素含量见表 1~表 4。

表 1 几种海藻的一般化学组成(g/100g 干物质)

项目	蛋白质	脂肪	糖类	纤维素	灰分
紫菜	38.8	1.9	39.5	1.8	6.9
长海带	8.3	1.5	45.6	12.9	21.7
裙带菜	15.0	3.2	35.3	2.7	30.8
浒苔	19.5	0.3	58.1	6.8	15.2
羊栖菜	10.6	1.3	47.0	9.2	18.3

表 2 海藻氨基酸的组成(g/100g 干物质)

项目	丙氨酸	谷氨酸	甘氨酸	异亮氨酸	亮氨酸	赖氨酸	蛋氨酸	缬氨酸
紫菜	3.39	3.17	2.35	1.37	2.63	0.88	0.38	3.17
巨藻	2.13	1.98	0.76	0.55	0.89	0.60	0.36	1.06

表 3 几种海藻脂肪酸中不饱和脂肪酸所占比例

项目	藻类						
	扁浒苔	松节藻	多节泡叶藻	墨角藻	沟鹿角藻	糖海带	掌状海带
所占比例(%)	73.3	54.0	78.3	64.6	76.7	59.6	77.5

每千克海藻干物质中维生素含量(mg):VB₁ 0.27~7.2、VB₂ 0.84~23.08、VB₁₂ 0.004~2.8、烟酸 1.0~

68.33、泛酸 0.18~12.5、叶酸 0.046~8.5、岩藻黄素 9.0~469、VC 30.0~2 674、VD 0.01、VE 10~340、VK (凝血维生素) 10~14.2。

表 4 海藻中微量元素的含量(mg/kg 烘干海藻)^[3]

项目	Sr	Ti	V	Mn	Cu	Ag	Ni
浒苔	300	360	≤23	<26	510	<12	<13
石莼	110	39	<36	59	<3	-	<20
小石花菜	960	52	<21	130	8	<11	<12
真江蓠	-	75	<26	220	<2	<14	<15
海萝	-	<25	<24	<27	5	-	<13
麒麟菜	800	-	<38	-	210	<20	<21
沙藻	200	9	<17	46	50	<9	<9
海带	340	70	<27	<31	≤2	<14	<15
鹿角菜	1 600	97	<30	42	170	<16	<16
马尾藻	1 600	≤26	≤24	<27	<2	-	<13

资料来源:杨小强,2000。

1.2 海藻的生物功能

1.2.1 提高机体免疫力

藻类多糖具有提高动物免疫力的作用。范曼芳(1998)报道,褐藻酸钠、褐藻淀粉和褐藻酸酯均能提高小鼠的非特异性免疫功能。李应全等(1995)从褐藻中提取出甘糖酯,经实验发现,口服甘糖酯可增加小鼠免疫器官的重量,提高小鼠外周血清溶血素的生成。甘糖酯可增强小鼠特异性和非特异性免疫功能。紫菜多糖、莼菜多糖也有提高动物机体免疫力的作用。

1.2.2 抗菌作用

凡含有丙烯酸、萜烯类、溴化酚类和某些含硫化合物的海藻都可能具有抗菌作用。分布较广的多节泡叶藻含有酚类物质,具有广谱强抗微生物作用。从漂浮马尾藻中萃取分离出的马尾藻素复合物能抑制金色葡萄球菌、大肠杆菌、普通变形菌的生长。石莼、车网藻、钝形凹顶藻因含有溴酚化合物、萜烯类等,具有抗生素的特性。有研究者用海藻磨碎液饲养中国对虾幼体,发现孔石莼、鼠尾藻和萱藻的磨碎液对对虾幼体病原菌有一定的抑制作用。海藻中的抗菌物质不会使细菌产生抗药性,对环境不会造成不良的影响,在生产上有一定的应用价值(杨小强 2000)。

1.2.3 促生长作用

海藻含有多种维生素,对促进动物生长非常有益。如海藻中的生育酚(VE)和碘能提高动物的受孕率和产仔数。海藻含生物活性激素和促生长因子,可

常巧玲,浙江大学饲料科学研究所动物分子营养学教育部重点实验室,在读硕士,310029,杭州。

孙建义,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2005-09-19

调节饲料营养的平衡,促进营养物质的代谢和消化吸收,提高动物生长速度,降低饲料成本。

1.2.4 改善畜产品品质

海藻含较多色素(藻黄素、胡萝卜素等)和碘、氯、钠等成分,可改善肉、蛋、奶的品质。如增加肉畜日增重,提高蛋鸡产蛋率和蛋中的含碘量(方希修 2003)

1.2.5 理想的鱼虾类饲料粘合剂

大多数海藻均含有一定量的生物胶状物,如海带含有大量的海藻胶、褐藻糖胶等粘性胶状物,经过加工以后,能够成为鱼虾类饲料的天然优质黏合剂,可以增强鱼虾类饲料的稳定性,防止水质污染。

1.2.6 有效的诱食剂

海藻粉中含有各种丰富的氨基酸,其中 L-丙氨酸、L-蛋氨酸、组氨酸、精氨酸、鸟氨酸等对一些动物具有强烈的诱食作用,是有效的摄食刺激源,尤其在水产当中,作为诱食剂很受欢迎(刘开永 2004)。

2 海藻在饲料中的作用机理

海藻的饲用价值主要存在于其含的碘化物、矿物质、维生素及未知的刺激动物生长的活性物质,特别是海藻中营养物质多以有机态形式存在,动物易于吸收。其作用机理有:①矿物质含量高,易被吸收。海藻不仅含有丰富的矿物质,而且多以有机态形式存在,不易氧化变质,动物摄食后的消化吸收强度比无机矿物质好,如海藻粉中钙的含量比玉米、麸皮高 2.39%、2.29%;磷的含量比玉米高 0.29%。用 SM(海藻粉)作碘剂既稳定又易吸收,利用率较高,而无机碘则相反。②含有丰富的纤维素和维生素。海藻的纤维素分别比玉米、麸皮高 8.87%、2.67%,并含有后两者所缺乏的维生素 A、B、K、E 及胡萝卜素等,而这些营养素对水产动物的生长、繁殖均有较好的促进作用,如海藻中的维生素 E(生育酚)可提高动物的怀卵量、受精率。③海藻中的生物活性物质和促生长因子可调节饲料营养的平衡,提高动物对营养物质的代谢和消化吸收,促进动物生长,降低饲养成本,并使鱼体脂肪转换为能量,使肉质结实可口。④海藻中的抗病、抗营养因子对许多病原菌(如金黄色葡萄菌、大肠杆菌等)均有抑制作用,对提高水产动物的免疫力及对环境的适应能力、耐低氧能力有很大帮助。⑤海藻中含多种色素(如藻黄素、胡萝卜素等)和碘、钠等成分,可较好地改善水产品的品质,如可使动物皮肤、肌肉颜色鲜艳,味道鲜美,以提高销售价;可适当降低产品胆固醇含量,以利人类健康(陈琴 2002)。

3 海藻粉的生产工艺流程

大型海藻粉的生产工艺如下:

新鲜海藻→清洗去泥→干燥→粉碎→计量配制→混合→称量→包装→海藻粉。

采集野生海藻的适宜季节为夏初至秋季,此时海藻生长旺盛,营养成分含量较高。采集的新鲜海藻往往混有泥沙或其它杂质,因此必须清洗。清洗时一定要用海水,不能用清水,以防海藻中的可溶性有机物如甘露醇、氨基酸以及大部分矿物质等随水漂洗流失。沥净水后再放到晒架上晒干,也可用热风炉烘干,当水分含量降到 13%左右可进行贮藏或进行粉碎。粉碎时,可用齿爪式粉碎机,过 40 目筛,最好采用二级粉碎法,第一步将海藻粉碎成较大颗粒,然后再用粉碎机粉碎成细末状。配料时,可根据不同海藻的营养水平与其它饲料营养物质配成复合藻粉,以调节海藻粉的营养成分,改善口味,提高适口性(方希修 2003)。

日本水产综合研究中心用海藻制作鱼饲料的方法:在打捞上来的海藻里,添加纤维素酶、乳酸菌和酵母等,使其在发酵槽内发酵,经过大约 24h,海藻便能分解成一个个细胞大小的颗粒,如海洋浮游生物一般。这样,就可以作为养殖场的幼鱼及贝类的饲料。因为这一制作过程仅是一个厌氧发酵过程,不需要搅拌装置和供氧设备,所以投资少,成本低(陈春道 2001)。

除了海带外,海藻对渔业养殖来说,基本上是一种有害生物,要清除它需要花费时间和劳力,而且打捞上岸之后,还容易散发恶臭,处理起来相当困难。但如用其制作鱼饲料,则可变废为宝(陈春道 2001)。

4 海藻在水产养殖中的应用研究

海藻作为饲料添加剂的研究始于 20 世纪 50 年代,西欧和北美各国用于生产海藻粉的原料主要是泡叶藻、翅藻、墨角藻和巨藻等,亚洲地区主要用马尾藻。目前,海藻粉作为饲料添加剂在英国、法国、美国等一些发达国家得到了广泛应用,相关的机构和生产厂家也都已建立。在我国,海藻粉作为水产动物的饲料添加剂的应用才刚刚开始。据报道,日本学者将海藻制成粉末喂鱼,每天添加饲料量的 1%~5%,鱼摄食后体色变艳,肉质有所改善,体表粘度增加。米康夫(1986)报道,在加腊鱼饲料中分别添加 5%的裙带菜和褐藻,鱼的生长率分别比对照组提高 18.9%和 14.4%,但添加 10%时则无显著影响。王如才(1989)用鼠尾藻、石莼、马尾藻等海藻的榨取液代替单细胞藻类投喂海湾扇贝,取得一定的效果,且海藻渣还可作

幼鲍、稚海参等的饵料(房兴堂 2000)。Santiago 等(1989)用海藻喂遮目鱼,证明海藻添加剂比单独使用效果明显。Ekro(1989)用尼罗非鱼和鲢作试验,发现干海藻的消化率显著低于新鲜海藻,这说明海藻的营养和加工工艺有一定关系,而且不同鱼类对海藻的消化率也不一样。Brit ZPJ(1994)在用鱼粉、豆粕、复合维生素和粘合剂为主要成分的配合饲料中加入少量的海藻干粉,可较好地改善水产动物的摄食效果。常日青等(1999)在用海带、裙带菜、石莼等褐藻混合投喂虾夷马粪海胆时,发现海藻饲料对海胆的生长有一定的促进作用,并能较好地改变海胆的体色和性腺色泽,从而提高海胆的价格。吴永沛(1999)的试验表明,红藻类的紫菜对红鲍有一定的诱食作用。据报道,日本和韩国在鱼虾饲料中加胶化的海藻粉,不但有较高的营养价值,而且饲料粘结性好,不易溃散,有利于鱼虾采食,并能减少残饵沉淀量,保证水质良好,特别是在矿物质和维生素缺乏的水中效果尤为明显。另外有试验表明,在养殖水体中混养少量海藻可吸收和富集水中的营养物质、重金属和有机毒物,以降低水体富营养化程度,维持海区生态平衡。大量试验表明,海藻作为添加剂,不但对动物无毒性等不良作用,还能有效改进饲料的营养结构,提高饲料利用率,改善产品品质,提高动物生产率和抗病、抗应激能力,是水产动物维持正常代谢,保证动物健康生长的重要饲料添加剂原料(陈琴 2002)。

潘国英等(1997)在日本对虾饵料中添加 2% 的石莼藻粉,发现对虾成活率比对照组(未添加海藻组)提高 8.69%,增重率比对照组提高 1.73%,饵料系数也由 4.05 下降到 3.64。周歧存等(2001)添加不同浓度的海藻粉到罗氏沼虾饲料中,试验结果表明,海藻对罗氏沼虾促生长的效果显著。在罗氏沼虾饲料中添加 3% 的海藻粉效果最好,随着海藻粉浓度的增加,罗氏沼虾的头胸甲增长,体增重反而下降。而杨小强等(2000)在对虾养殖试验中也观察到投喂同样的配合饲料,养殖在室外水泥池(内生浒苔等海藻)的对虾生长速度明显快于养殖在室内水泥池中的对虾。以上的研究表明,饲料中添加一定量的海藻对养殖动物具有促生长作用,然而海藻中哪种成分对对虾具有促生长作用尚待深入研究。

周歧存(2003)报道,饲料中添加海藻粉对南美白对虾的生长产生影响。以体增重为指标,南美白对虾饲料中海藻粉的适宜添加量为 3%。饲料中添加海藻粉对南美白对虾的蛋白质效率和饲料系数产生影响,以饲料系数和蛋白质效率为指标,饲料中海藻粉的适

宜添加量为 3%。饲料中添加海藻粉对南美白对虾体成分产生影响,其中尤以灰分、脂肪和总糖含量受其影响显著。

5 前景展望

我国海藻资源丰富,其中有经济价值的海藻就有 100 多种,是一种开发利用前景广阔的海洋饲料资源。但目前在国内仅有少数几家海藻加工企业,而主要是生产人类食品、药品以及提取工业品,而至今尚无专门的海藻蛋白质饲料加工企业,对海藻饲料蛋白质研究正处于刚刚起步的阶段。今后研究的重点应集中在以下几个方面:①应大量选育优质、高产,量含生物活性物质的品种,利用生物工程技术加快培育品种的步伐,大力发展饲用海藻生产。②对加工工艺的研究。应用酶解工艺是今后发展海藻饲料业的一种很有希望的加工工艺,还有待于继续深入研究,开发更好的提取方法。③由于海藻中的各种营养物质成分和含量差异很大,所以在生产海藻饲料过程中,如何进行科学配伍也是一个难题,在生产中要有针对性地科学选择海藻种类进行合理的配伍,才能发挥其特殊功效,达到安全高效,提高动物生产性能的目的(孙耀华 2003)。

参考文献

- 1 刘纯仁.海藻饲料添加剂.中国饲料,1996(7):34
- 2 孙克年.海藻饲料资源在水产养殖中开发应用.广东饲料,2001,10(2):10~12
- 3 杨小强.新一代活性饲料——大型海藻饲料.饲料研究,2000(1):22~25
- 4 范曼芳,陈琼华.褐藻淀粉和褐藻硫酸酯的提取、分析及生物活性的比较.中国药科大学学报,1988,19(1):30~34
- 5 李应全,盛少虎.甘糖酯对小鼠免疫功能的影响.中国海洋药物,1995(3):14~16
- 6 方希修,王冬梅,袁旭红.海藻饲料的应用研究.中国饲料,2003(6):33~34
- 7 刘开永,黄虎平,赵瑞峰.海藻饲料添加剂的开发前景诱人.动物科学与动物医学,2004,21(1):45~46
- 8 陈琴.海藻在渔用饲料中的应用.水产养殖,2002(6):36~38
- 9 陈春道.用海藻制作鱼饲料.饲料世界,2001(8):14
- 10 房兴堂,朱惠民,董恒文.海藻饲料资源的开发应用.饲料工业,2000,21(5):16~18
- 11 潘国英,王宁珠.新的蛋白源——石莼粉在对虾饲料中的应用研究.南海研究与开发,1997(3):65~67
- 12 周歧存,赵华超.海藻在罗氏沼虾饲料中的应用研究.饲料研究,2001(8):5~7
- 13 周歧存,肖风波.海藻在南美白对虾饲料中的应用研究.海洋科学,2003,27(3):66~69
- 14 孙耀华.开发利用海藻饲料资源.农村养殖技术,2003(10):5

(编辑:高 雁,snowyan78@tom.com)