



2006年第27卷第6期
(总第267期)
(1980年创刊)

主办单位:

辽宁省农牧业机械研究所

编辑出版:饲料工业出版社

地址:沈阳市金沙江街16号6门

邮编:110036

电话:总编室(024)86391923

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

总编:韩喜春

副总编辑:沈科宇

责任编辑:刘殿斌

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

业务内勤:刘占

地址:(110036)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:gggh@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

国内统一连续出版物号:CN 21-1169/S

国际连续出版物号:ISSN 1001-091X

邮发代号:8-163

发行范围:国内外发行

广告许可证:辽工商广字01-82号

开户行:中信银行沈阳分行营业部

帐号:72214101836000518-49

每册定价:6.00元

如蒙转载本刊文章及图片,请注明
摘自《饲料工业》杂志,并寄样刊。

饲料

SILIAO GONGYE

(半月刊)

目次

饲料添加剂

- 1 中草药多糖的免疫调节机制及其应用 张继东 王志祥
- 5 人参皂甙的生物学效应研究进展 王燕 马文强
- 9 类黄酮化合物在动物营养中的研究进展 陈辉 黄仁录 郗科前等
- 12 蚁酸、辣椒素及其复合添加对动物生产性能的影响 赵燕 陈安国

酶工程

- 14 饲用酶高产菌株的筛选 陈曦 赵建国
- 16 黑曲霉 ASP-12 固态发酵木聚糖酶培养条件研究 高洁 李军训 肖军等
- 19 溶菌酶的应用现状 刘莹 孙荣丹 杨翔华等

水产养殖

- 21 我国鱼类营养与饲料的发展及研究趋势 徐雷友
- 24 不同饲料蛋白质水平对吉富品系尼罗罗非鱼幼鱼生长和鱼体组成的影响 胡国成 李思发 何学军等
- 28 西达敌对鲤鱼肝脏保护与修复作用的初步研究 陈静 郭兆祥

试验研究

- 32 非淀粉多糖酶制剂对仔猪生长、消化性能及血液中某些生理、生化指标的影响 陈清华 朱立清
- 36 果寡糖和甘露寡糖对仔猪生产适有配比的研究 翟明仁 文虹

企业标识展示



江苏北方
通威集团
(0412)3343018
(024)88080922



江苏牧丰
(0514)7848811



江苏正昌
(0519)7309988



江苏牧丰
(0514)7848811



江苏保来
(0519)7966666



江苏良友
(0519)8309988



和成饲料 引春发
上海和成
(021)57355544



KING 康源
杭州康源
(0571)86433111



江苏裕达
(0519)8305886



挑战集团
(010)62146105



江苏无生
(0510)83797866



华鑫
(0510)83791888



北京爱绿
(010)88597542



武汉泛华
(027)83560722



广州海大
(020)84661599



广东恒威
(020)61368868

中草药多糖的免疫调节机制及其应用

张继东 王志祥

在畜牧业的长期生产中,抗生素等药物的普遍使用产生的抗药性、药物残留,危害人类健康,破坏生态环境,使人们开始积极探寻能取代抗生素的成分。中草药多糖是普遍存在于自然界植物、动物及微生物组织中的醛糖和(或)酮糖通过糖苷键连接在一起组成的天然高分子化合物。中草药多糖来源广泛、天然无毒,具备各种活性功能。近年来许多专家、学者对多种中草药多糖的作用机理进行了大量研究,结果表明,中草药多糖能从多个方面调节机体的免疫系统,具有抗病毒、抗氧化、抗肿瘤、降低血糖等作用。本文主要就中草药多糖对畜禽免疫系统的作用及研究现状和前景进行论述。

1 中草药多糖和畜禽免疫系统

1.1 中草药多糖

中草药多糖是指从动、植物体内和微生物中分离的活性多糖成分的总称。多糖根据其组成成分可分为离子型多糖和非离子型(中性)多糖。非离子型多糖根据其组分中单糖的种类又分为均聚糖和杂多糖两大类。均聚糖一般由10个以上的单糖通过糖苷键连接而成;杂多糖除含糖链外,还含有肽链和(或)脂类成分。多糖的结构十分复杂,糖单体之间有多种不同的链接方式,可以形成不同构型的直链和支链结构,通过单糖分子间氢键及基团的相互作用进一步形成不同形状的高级结构。多糖的活性与其结构有着密切的关系,有些多糖的一级结构相同,但活性不同,其原因是它们的二级结构和三级结构不同。

1.2 畜禽免疫系统

畜禽免疫系统主要包括免疫器官、免疫细胞、免疫分子及免疫信息系统。免疫器官包括中枢免疫器官(骨髓、胸腺,鸟类还有腔上囊)和外周免疫器官(脾、淋巴结);免疫细胞主要包括巨噬细胞、T淋巴细胞、B淋巴细胞、自然杀伤(NK)细胞、细胞毒性T淋巴细胞

(CTL)、淋巴因子激活的杀伤细胞(LAK)、树突状细胞(DC)和粒细胞(嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、中性粒细胞)等;免疫分子包括白细胞分化抗原、黏附因子、补体、免疫球蛋白超家族、细胞因子及受体、主要组织可溶性抗原。

2 中草药多糖对免疫系统的调节作用机制

中草药多糖主要作用于网状内皮系统,其作用机制为:①激活巨噬细胞、T淋巴细胞、B淋巴细胞、杀伤(K)细胞、自然杀伤(NK)细胞、细胞毒性细胞(CTL)等免疫细胞;②激活补体系统,调节红细胞免疫;③影响蛋白质的合成以及抗体的生成;④影响cAMP和cGMP浓度和相对比值,促进白细胞介素(IL)、干扰素(IFN)的生成;⑤打破机体免疫系统损伤造成的免疫耐受,提高免疫系统对抗原的识别能力。

2.1 中草药多糖对免疫器官的作用

脾脏是动物体内最大的免疫器官,是产生致敏淋巴细胞和抗体的重要场所,还具有过滤和贮存血液以及清除衰老细胞和微生物等的功能。左绍远等^[1]研究认为,螺旋藻多糖能显著促进腹腔M(单核细胞)吞噬功能、单抗M系统清除血液碳粒的速率及血清溶血素的形成,并能显著抵抗Cy(环磷酰胺)所致的小鼠胸腺与脾脏萎缩、腹腔M吞噬功能降低、血清溶血素形成减少及脾抗体形成细胞功能的抑制作用。杨铁虹等(2005)^[2]研究表明,中草药多糖在10~100mg/kg剂量范围内,当归多糖能显著增强小鼠脾细胞功能;牛膝多糖能升高血清溶血素和脾脏内抗体形成的细胞数,提高血清免疫球蛋白IgG的水平;猪苓多糖能明显促进小鼠脾细胞对刀豆素A(ConA)和细菌脂多糖的增殖反应^[3]。王莉等(1999)^[4]用芦荟多糖进行的小鼠体内试验和大鼠体外试验结果表明,芦荟多糖可促进小鼠免疫器官脾脏、胸腺增长,显著提高小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬百分数和吞噬指数。

2.2 中草药多糖对巨噬细胞的作用

巨噬细胞是免疫系统中一类具有防御和调节功能的细胞,这类细胞不仅参与非特异性免疫反应,还参与特异性免疫反应,并分泌某些单核因子影响其它免疫细胞的功能。刘俊栋等(2005)^[5]研究表明,当归多

张继东,河南农业大学牧医工程学院,在读硕士,450002,河南省郑州市文化路。

王志祥,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2006-01-09

糖通过活化巨噬细胞作用于各种免疫效应细胞,产生相应的细胞因子从而实现其免疫作用^[23]。大量研究表明,商陆多糖^[6,7]、党参多糖^[8]、马齿苋多糖^[9]均能显著增强小鼠腹腔巨噬细胞的功能,增加小鼠巨噬细胞的数量;黄芪多糖和枸杞多糖可显著对抗环磷酰胺对小鼠巨噬细胞的抑制作用^[10,24]。孟庆勇等^[11]研究表明,半叶马尾藻多糖对辐射损伤小鼠的胸腺细胞和巨噬细胞有保护作用。宋毅等(2000)^[12]采用小鼠碳粒廓清实验、刀豆蛋白 A(ConA)诱导小鼠脾淋巴细胞转化试验、溶血素实验对广夏枸杞汁的免疫调节功能进行了检测,结果表明,枸杞多糖能促进巨噬细胞的吞噬功能,即增强机体非特异性免疫功能。

2.3 中草药多糖对 T 淋巴细胞的作用

T 淋巴细胞是胸腺依赖性淋巴细胞的简称,主要完成细胞免疫。灵芝多糖可使 T 淋巴细胞增多,加强网状内皮系统功能,明显增强抗原结合细胞(RFC)数。近年来国内外在中草药多糖对 T 淋巴细胞功能的影响方面有大量研究,如黄芪多糖能促进雏鸡未成熟 T 细胞转化并提高其活性,刺激 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞的功能^[13];当归多糖显著上调降低的 TGF- β 活性,改善 T 淋巴细胞功能状态^[25];枸杞多糖能增加正常小鼠脾脏总 T 细胞数及辅助性 T 细胞亚群(Th)百分比,提高淋巴细胞转化率,而且可恢复环磷酰胺诱发的免疫功能低下,使降低的总 T 细胞数、Th 亚群百分比及淋巴细胞转化率恢复到正常或接近正常水平^[14]。另有很多报道表明,牛膝多糖对 T 淋巴细胞功能的影响是有选择性的;蘑菇多糖能促进体外 T 淋巴细胞的转化率,并增强自然杀伤细胞和巨噬细胞的活性。

2.4 中草药多糖对 B 淋巴细胞的作用

B 淋巴细胞是由动物骨髓或鸟类腔上囊中淋巴样前体细胞分化成熟而来。B 细胞是体内唯一能产生抗体的细胞,通过不同的抗体来发挥其体液免疫的功能。大量研究表明,中草药多糖可纠正环磷酰胺对抗体形成细胞的抑制作用,增进 B 细胞的功能,可对淋巴细胞有较强的活化作用,能提高 IL-2 和免疫球蛋白 IgG、IgM、补体 C5 的水平。郭颖杰等(2001)^[15]对柴胡多糖诱导 B 细胞成熟的机理研究表明,柴胡多糖通过诱导 PTK 的磷酸化、PLC 和 PKC 的启动、膜转移,促进各细胞周期调节蛋白及激酶的产生,从而诱导 B 细胞增殖和成熟。有些中草药多糖不需要其它细胞因子的激活作用,直接作用于 B 细胞,增进 B 淋巴细胞的有丝分裂,同时增加体液中 Ig 的含量。

2.5 中草药多糖对 NK 细胞和 LAK 细胞的作用

NK 细胞是生物体内的一类免疫调节细胞,它既不需要活化,也不需要抗体参与,具有直接杀伤某些靶细胞效应的淋巴细胞,它在宿主的免疫监视功能中与巨噬细胞一起有着重要的作用。NK 细胞能分泌白细胞介素-2(IL-2)、B 细胞生长因子、干扰素(IFN),是免疫监视细胞中最理想的效应细胞。NK 细胞对 T 细胞、B 细胞、骨髓干细胞等细胞的功能均有一定的调节作用。刘杰麟等(1996)^[16]研究表明,枸杞多糖(LBP)可明显提高 S₁₈₀ 荷瘤小鼠 NK 细胞的杀伤功能,并能部分对抗环磷酰胺对小鼠 NK 细胞的抑制作用;唐雪明等(1997)^[17]的研究发现,采用不同途径给予雏鸡黄芪多糖,均能显著增强雏鸡外周血中 NK 细胞的活性,并发现注射效果优于口服;刘彦平等(2001)^[18]的试验证明,枸杞多糖能增强 NK 细胞杀伤活性及增加白细胞数量,同时,对环磷酰胺所诱发的 NK 细胞杀伤活性的降低有恢复作用。灵芝多糖能促进 rIL-2 诱导人 LAK 细胞活性,并能协同 rIL-2 提高 LAK 细胞表面 IL-2R(IL-2 的受体)的表达^[19]。

2.6 中草药多糖对红细胞免疫功能的影响

红细胞有多种免疫功能,是整体免疫系统中不可缺少的部分。红细胞通过自身的 C3b 受体去识别、黏附、浓缩、杀伤抗原和清除有害物质,完成其免疫功能,同时,红细胞参与 γ -干扰素、IL-1、IL-2 及 Ig 的产生,NK、LAK 细胞及吞噬细胞免疫活性的调控。中草药多糖主要通过影响红细胞的调控发挥作用。高学军等(2000)^[20]用黄芪多糖、香菇多糖注射 1 日龄的 AA 肉雏鸡,并分别在不同日龄测定各组雏鸡红细胞 E-C3bR、E-IC 花环率。结果显示,黄芪多糖、香菇多糖组雏鸡的红细胞 E-C3bR 在大部分检测时期高于对照组雏鸡;黄芪多糖和香菇多糖组雏鸡在大部分检测时期 E-IC 花环率低于对照组雏鸡,表明黄芪多糖和香菇多糖对雏鸡红细胞免疫功能具有继发性增强作用。邵树军等(2002)^[21]探讨了牛膝多糖对正常及免疫低下小鼠红细胞免疫功能的影响,结果表明,牛膝多糖能显著提高正常及免疫低下小鼠红细胞 C3b 受体花环结合率和红细胞粘附免疫复合物花环结合率,证明牛膝多糖能提高正常及免疫低下小鼠的红细胞免疫功能。佟书娟等(2000)^[22]研究表明,枸杞多糖能显著增强正常小鼠红细胞补体受体花环率及红细胞免疫复合物花环率,增强小鼠红细胞免疫功能。

2.7 中草药多糖对细胞因子的作用

细胞因子是指淋巴细胞产生的淋巴因子和单核-巨噬细胞产生的单核因子。主要有白细胞介素(IL)、

干扰素 (IFN)、肿瘤坏死因子 (TNF)、集落刺激因子 (CSF)、趋化性细胞因子、生长因子 (GF) 等。各种细胞因子可作用于不同的靶细胞, 产生多种生物学效应。李晓勇等(2005)^[23]通过研究当归多糖对免疫性结肠炎大鼠免疫功能的影响, 认为当归多糖可降低模型组大鼠显著升高的结肠粘膜损伤指数 (CMDI) 以及结肠组织髓过氧化物酶 (MPO) 活性, 下调明显上升的 IL-2、TNF- α 活性及 NO 含量。胡国俊(1995)^[24]的研究表明, 枸杞多糖不仅使高表达 IL-2R(α 、 β) 的细胞数量增加, 还可以促进细胞表面的 IL-2R(α 、 β) 表达量的增加; 同时, 枸杞多糖可下调血清中 VEGF (血管内皮细胞生长因子)、TGF- β 1 (转化生长因子 β 1) 水平, 对胸腺具有一定的保护作用, 抑制肿瘤的生长^[25]。杨铁虹等(2005)^[26]用酶联免疫法测定培养上清液中 IL-2 和 IFN- γ 的浓度, 实验结果表明, 当归多糖能够显著促进巨噬细胞、混合淋巴细胞的增殖反应, 剂量依赖性地增加细胞上清液中 IL-2 和 IFN- γ (γ -干扰素) 的浓度。牛膝多糖不影响 IL-2 产生, 但可促进 TNF- β 的产生, 从而可活化巨噬细胞功能^[27]。另外, 也有很多关于中草药多糖调控翻译和转录水平的报道, 如人参活性多糖能促进转录水平上 IL-8 mRNA 的表达; 在体外试验中表明香菇多糖能增强小鼠脾单核细胞中 IL-2、IF- α 基因的表达, 它们的调控既发生在转录水平上, 又发生在翻译水平上。

2.8 中草药多糖对机体免疫信息的影响

环核酸是沟通神经系统、内分泌系统和免疫系统的共同信使, 在这 3 个系统的生理和病理生理作用中发挥着重要作用。cAMP 和 cGMP 作为第二信使对免疫活性细胞的各种功能有重要调控作用^[28], cAMP 能促进淋巴细胞的分化; cGMP 诱导免疫性细胞的增殖、活化和分泌, 促进 Th 亚群发展。一般认为, 能升高 cAMP 水平的因素都会抑制淋巴细胞的活化, 但同时也有许多证据表明, cAMP 水平的升高也可能参与细胞的活化过程, 并且不同外界因素导致的 cAMP 同等程度的升高所产生的生物学效应不同, 即等量 cAMP 的升高其“质量”并不相同, cAMP 可通过多条途径引起生物学效应^[29]。张新等(1997)^[30]的研究认为, 枸杞多糖发挥免疫调节的可能途径是枸杞多糖与细胞表面物质相互作用, 并通过 cAMP 和 cGMP 比值系统地增加 PKC (蛋白激酶 C) 活性, 促进免疫细胞活化、增殖, 来发挥广泛的免疫调节效应; 詹林盛等(2000)^[31]的研究表明, 褐藻多糖能调节免疫低下小鼠血浆和淋巴细胞内 cAMP 和 cGMP 水平, 抵抗 Cy 所致免疫功能低下小鼠

cAMP 与 cGMP 比值的升高, 有利于维持正常的环核苷酸系统的平衡, 从而调节机体免疫机能。

3 中草药多糖的应用现状与前景

近年来国内外的专家、学者对中草药多糖进行了广泛的研究, 有些中草药多糖已被广泛应用于畜牧业生产, 对促进畜禽的生长发育, 防病免疫等方面有很好的作用效果, 并创造了良好的经济效益。但是, 由于中药的种类繁多, 多糖成分复杂, 且目前的研究方法还相当落后, 水平参差不齐, 对不同来源、不同方法获得的多糖, 其不同组分、亚组分的生物学活性, 不同的药理还没能彻底弄清; 有关中草药多糖的分离、提取、提纯以及化学结构与药理性学作用的关系等方面还需要不断的研究探索。

当前对中草药多糖的使用还处在较粗糙的、实验性的阶段, 没有科学统一的规范, 存在很大的盲目性, 甚至造成了资源的浪费。在今后的研究中应积极更新技术手段, 同时结合中草药传统医药理论, 加强对中草药多糖的分离、纯化和化学结构鉴定, 从更深层次弄清中草药多糖的作用机理, 充分开发并利用中草药多糖潜在的精华, 开发出更多有益的新产品, 对畜牧生产的可持续发展、保护环境和人类健康都有十分重要的意义。

参考文献

- 1 左绍远. 螺旋藻多糖 (PSP) 对免疫功能的影响 [J]. 药物生物技术, 1996, 3(3): 158~162
- 2 杨铁虹, 贾敏, 梅其炳. 当归多糖对小鼠免疫功能的调节作用 [J]. 中成药, 2005, 27(5): 563~565
- 3 田庚元, 冯宇澄, 林颖. 植物多糖的研究进展 [J]. 中国中药杂志, 1995, 20(7): 441~444
- 4 王莉, 杜俊蓉, 蔡绍晖. AP 对正常和内毒素化大鼠脾细胞体外分泌细胞因子的影响 [J]. 华西药学, 1999, 14(5-6): 346
- 5 刘俊栋. 当归多糖对免疫系统作用的研究 [J]. 四川畜牧兽医, 2005, 32(3): 34~35
- 6 张俊平. 商陆多糖 I 对小鼠腹腔巨噬细胞毒作用及诱生肿瘤坏死因子和 IL-2 的影响 [J]. 中国药理学报, 1990 (11): 375
- 7 王洪斌. 商陆多糖 I 对小鼠脾淋巴细胞、巨噬细胞分泌细胞因子的影响 [J]. 药理学报, 1993, 28(10): 732
- 8 陈诗芸. 党参多糖对小鼠腹腔巨噬细胞的非特异性激活 [J]. 中国免疫学杂志, 1991, 7(3): 187
- 9 王晓波, 刘殿武, 丁月新, 等. 马齿苋多糖对小鼠腹腔巨噬细胞免疫功能作用 [J]. 中国公共卫生, 2005, 21(4): 462~463
- 10 潘惠娟, 宋涛. 黄芪多糖对抗环磷酰胺免疫抑制作用的实验研究 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 1997, 13(增刊 1): 54
- 11 孟庆勇, 刘志辉, 郑辉. 半叶马尾藻多糖对辐射损伤小鼠巨噬细胞功能和胸腺细胞周期进程的影响 [J]. 辐射防护, 2005, 25(4): 211~215

- 12 宋毅,王玉娥,冯玲玲,等.枸杞多糖免疫调节作用的实验研究[J].湖北预防医学杂志,2000,11(3):16
- 13 刘永杰,李庆章,郝艳红.黄芪多糖和香菇多糖对雏鸡 IL-2 活性和淋巴细胞增殖反应的影响[J].吉林农业大学学报,1999,21(3):89~91
- 14 刘彦平,毛辉青,李萍,等.枸杞多糖对小鼠 T 淋巴细胞亚群和淋巴细胞转化作用的研究[J].青海医学院学报,2000,21(4): 4~5,10
- 15 郭颖杰,松本司,迟岛桥,等.柴胡多糖诱导 B 细胞成熟的机理研究[J].中国药理学学会通讯,2001,18(4):15
- 16 刘杰麟,章灵华,钱玉昆.枸杞多糖对 S180 荷瘤小鼠的免疫抑瘤作用[J].中国免疫学杂志,1996,12(2):115
- 17 唐雪明,刘家国,宋大鲁.黄芪多糖对雏鸡外周血中 NK 细胞活性的影响[J].中国兽医杂志,1997,23(1):44~45
- 18 刘彦平,李积东.枸杞多糖对小鼠 NK 细胞和白细胞活性的免疫调节作用[J].青海医学院学报,2001,22(1):1~2
- 19 徐新,潘继存,曹容华,等.灵芝多糖对人脐血 LAK 细胞增殖活性的影响[J].中国实验临床免疫学杂志,1996,8(1): 19~21
- 20 高学军,李庆章.黄芪多糖和香菇多糖对雏鸡红细胞免疫功能的影响[J].东北农业大学学报,2000,31(1): 69
- 21 邵树军,陈琪.牛膝多糖对小鼠红细胞免疫功能的影响[J].中国药物与临床,2002,2(5):281
- 22 佟书娟,王宁萍,王大军,等.枸杞多糖对小鼠红细胞免疫功能的影响[J].宁夏医学杂志,2002,22(5):262
- 23 李晓勇,刘壮志.当归多糖对结肠炎大鼠免疫功能的影响[J].实用临床医学,2005,6(7):11~13,16
- 24 胡国俊.枸杞对 IL-2 产生 IL-2 受体表达的调节[J].中国免疫学杂志,1995,11(4):253~255
- 25 何彦丽,应逸,罗荣敬,等.枸杞多糖对荷瘤小鼠免疫抑制因子 VEGF、TGF- β 1 水平的影响[J].中国新药与临床药理,2005,16(3): 172
- 26 杨铁虹,贾敏,梅其炳.当归多糖组分促进淋巴细胞增殖及对 IL-2 和 IFN- γ 的诱导作用[J].中药材,2005,28(5):405
- 27 向道斌,蒋超,李晓玉.牛膝多糖对 T 淋巴细胞和天然杀伤细胞功能的影响[J].中国药理学与毒理学杂志,1994,8(3):209~212
- 28 Rong Q, Kenneth L M, Nanzoor. Cyclical camp is not a direct regulation of calcium flux and hydrolysis of phosphoinositides in human lymphocytes. Immunopharmacology, 1993, 25(1): 37~40
- 29 Janeway C A, Bottomly K. Signals and signs for lymphocyte responses. Cell, 1994(76):275
- 30 张新.枸杞多糖对小鼠淋巴细胞信号系统的效应[J].中国免疫学杂志,1997,13(5):289~292
- 31 詹林盛,张新生,吴晓红,等.褐藻多糖对第二信使系统及细胞膜流动性的影响[J].中国药理学通报,2000,16(4): 477~478

(编辑:高 雁, snowyan78@tom.com)

“乳仔猪营养生理及饲料配制技术论坛暨成果交流会” 取得圆满成功

2006年2月25~26日,由中国农业科学院畜牧研究所、中国牧工商集团公司、动物营养学国家重点实验室和中国畜牧兽医学学会动物营养学分会主办的“乳仔猪营养生理及饲料配制技术论坛暨成果交流会”于北京中国科技馆隆重召开,参加这此会议的代表有238人。中国工程院张子仪院士、国家科技部中国农村技术开发中心吴远彬主任、农业部畜牧业司张喜武副司长、刘继业调研员、中国农业科学院畜牧研究所时建忠所长、王加启副所长、中国饲料工业协会沙玉圣副秘书长等行业领导出席会议并作重要讲话。

短短两天的会议,主办者精心安排了由行业主管领导所作的2个政策和形势分析报告和19个由国内乳仔猪营养生理和饲料配制技术研究和开发方面知名、资深专家所作的专题报告,内容涉及业界高度关注的热点问题和面临的技术难题。报告既有前沿深奥的基础理论研究成果,又紧扣生产重大技术难题;既有理论高度,又紧密结合生产实际需要,使与会者不仅知其然,更能使其所以然!大会专家精彩的报告赢得了参会代表满意的笑容,搏得了阵阵热烈的掌声。

为开好这次会议,举办者还在会前出版了《断奶仔猪营养与饲养管理新技术》、《新生仔猪的营养与饲养》等专著,向与会者提供国际国内有关仔猪营养生理饲养管理最新的研究成果和一手资料,会后又为大家制作了成套的会议光盘,赢得了大家的一致好评。

在经历了养猪业生产由牛市转向熊市,又面临仔猪死亡率居高不下,母猪饲养和仔猪生产面临市场和疾病双重考验,企业界前途迷茫的时候组织召开这次高水平的会议,使大家感到主办者的良苦用心,也更让大家看到科技界为企业服务的精神。广西红塔的一位代表表示“这是我有生以来参加的最好的一次会议”;浙江萧山的一位代表说“我参加了几次同类会议,觉得这次来得值”;行业的一家媒体编辑说“我参加的会议很多,但这么充实、参加者反映这么好的会议还是第一次”;农业部畜牧司刘继业调研员说“要多提倡这种专题性的研讨会,通过研讨把一个问题搞清楚”……总之,这次会议反响非常好,大家一致认为这样的会议应多举行,对此主办者感到由衷的欣慰和巨大的鼓舞!

人参皂甙的生物学效应研究进展

王 燕 马文强

摘 要 人参皂甙在免疫调节、诱导细胞凋亡、抗组织损伤、抗肿瘤、抗氧化、治疗糖尿病等方面具有特殊的作用,同时也将作为一种绿色饲料添加剂应用于动物生产。因此,对人参皂甙的生物学效应的研究有重要意义。

关键词 人参皂甙;生物学效应;应用

中图分类号 S816.7

Research advance of the biological functions of ginsenoside

Wang Yan, Ma Wenqiang

Abstract Ginsenoside has special functions on immunomodulating, apoptosis inducing, anti-tissue injury, anti-tumor, anti-oxidation, diabetes-curing, and so on; and also it could be applied in animal production as one kind of safe feed additives. In this paper, the biological effects of ginsenoside and its advance of application in animal production are reviewed.

Key words ginsenoside; biological functions; application

人参又名神草、地精,为五加科植物人参的根。人参性甘、温,归脾、肺经,是我国珍贵的补益强壮养生佳品。中国古老的药学典籍《神农本草经》把人参列为上品,言其“主补五脏、安精神、定魂魄、止惊悸、明目、开心益智,久服有轻身延年之功效”。人参皂甙(Gnsenoside,GS)是人参主要药理活性成分,至今为止,人们已经从人参植物中至少分离出 40 多种人参皂甙单体,按人参皂甙在薄层色谱中 Rf 值的大小,由小到大命名为 R0、Ra、Rb1、Rb2、Rb3、Rc、Rd、Re、Rf、Rg1、Rg2、Rg3 等。人参皂甙均属于三萜皂甙,可分为三类:一为二醇型,如人参皂甙 Rb1、Rb2、Rc、Rd、Rh2 等;二为三醇型,如人参皂甙 Re、Rf、Rg1、Rg2、Rh1 等;三为齐墩果酸型,如人参皂甙 R0、Rh3 等。其中二醇型和三醇型皂甙占人参皂甙的大多数,被认为是人参的最主要活性成分。人参皂甙除单体皂甙外还含有蛋白质、酶类、多肽、氨基酸、人参多糖、人参挥发油、人参二醇、人参三醇等。人参皂甙具有多种生物学功能,如抗肿瘤、抗氧化、诱导细胞凋亡、免疫调节等,本文将生物学功能及其在畜牧兽医上的应用前景作

一综述。

1 人参皂甙的生物学效应

1.1 免疫调节作用

有研究表明,人参皂甙 Rg3 在体外能明显增强 NK(自然杀伤)细胞的吞噬活性,而 NK 细胞的吞噬功能属于机体非特异性免疫功能;人参皂甙 Rh2 注射液能提高荷瘤小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能、增加血清溶血素抗体生成能力、促进小鼠脾 NK 细胞杀伤活性和 IL-2(白细胞介素-2)活性,明显提高荷瘤小鼠免疫功能。张仲苗等(2004)研究发现,Rg3 能明显增加小鼠血清溶血素含量和抗体生成细胞数量,表明 Rg3 能明显增强小鼠体液免疫功能^[1]。胡松华等(2003)实验发现,当人参皂甙 Rb1 和金黄色葡萄球菌抗原混合注射豚鼠时,血清特异性抗体水平显著提高,表明 Rb1 可以增强体液免疫^[2]。

1.2 细胞毒作用

人参皂甙具有一定的细胞毒性,所以在应用时应加以注意,尤其在妊娠期尽量少用。柳鹏等(2005)研究表明:人参皂甙 Rb1 和 Rg1 对体外培养的大鼠胚胎均具有发育毒性,当浓度 $\geq 30\text{mg/l}$ 时,可使胚胎总形态学得分显著降低,说明人参皂甙 Rb1 和 Rg1 在较高浓度时对体外培养的大鼠胚胎有一定的毒性作用^[3]。也有人研究发现在较高浓度时,人参皂甙 Rb1 对体外培养的小鼠胚胎有一定的毒性作用,其中对卵黄

王燕,浙江大学饲料科学研究所,硕士,310029,杭州市秋涛北路 164 号。

马文强,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2006-02-27

囊胎盘结构和功能的影响可能是其发生毒性作用的机制之一。Hasegawa 等(2000)证实了人参皂甙对 B16-F10 黑色素瘤具有细胞毒性作用,还发现人参皂甙静脉注射后,大部分经胆汁分泌,一小部分在体内形成脂肪酸酯(EC-K)^[4]。

1.3 诱导细胞凋亡

细胞凋亡是一种受基因调控的程序性细胞死亡,表现为凋亡信号通路的启动及相关基因的表达,Bcl-2 基因家族在细胞凋亡调节过程中起重要作用。Bcl-2 是最重要的抗凋亡和抗氧化基因,能抑制许多因素诱发的细胞凋亡。Bax 是编码 Bcl-2 相关蛋白 X 的基因,具有对抗 Bcl-2 蛋白抑制细胞凋亡的作用,促进细胞凋亡。耿庆等(2005)用人参皂甙 Rb1 处理兔肺缺血再灌注损伤后发现,人参皂甙 Rb1 可显著抑制缺血再灌注损伤时 Bax 基因表达,但并不影响 Bcl-2 基因表达的增加;导致 Bcl-2 与 Bax 比值增加说明了人参皂甙 Rb1 可抑制肺缺血再灌注损伤时促细胞凋亡基因 Bax 的表达,使细胞凋亡抑制基因 Bcl-2 表达上调,Bcl-2 与 Bax 比值显著增加,从而抑制和减少肺缺血再灌注损伤所诱导的细胞凋亡^[9]。

李朝晖(2005)研究发现,人参皂甙 Rg1 作用于白血病细胞株 HL-60 细胞后,经流式细胞仪检测,在低于 G0/G1 期出现典型的亚二倍峰,该峰是出现细胞凋亡的特征之一。用流式细胞仪检测人参皂甙 Rg1 对 HL-60 细胞凋亡作用,可见随着药物剂量的增大,凋亡细胞数增加,凋亡率也增多,表明人参皂甙 Rg1 对白血病细胞株 HL-60 有促进凋亡作用^[6]。

Western blot 等(1996)实验揭示人参皂甙能够提高 p27kip1 的表达,降低 c-Myc 和周期素 D1 的表达。他们还发现人参皂甙也能通过激活 caspase-3 蛋白激酶的活力,诱导 LLC(Lewis 肺癌)细胞的凋亡^[7]。

1.4 抗组织损伤作用

孟丽娟等(2005)实验研究表明,油酸对家兔所致急性肺损伤可使动脉血氧分压、血氧饱和度降低,丙二醛(MDA)增高;用茎叶人参皂甙后,超氧化物歧化酶(SOD)的含量显著增高,而丙二醛则降低,茎叶人参皂甙可通过诱导体内一氧化氮生成,抑制急性肺损伤时自由基产生和脂质过氧化,减少对 SOD 的消耗,增强内源性清除氧自由基的能力,保护生物膜与亚细胞结构,从而减轻肺损伤^[8]。耿庆等(2005)亦得到相似结论,其研究结果表明人参皂甙 Rb1 可以通过减轻毛细血管的通透性,清除氧自由基、抗氧化、抗细胞凋亡等作用,减轻肺缺血再灌注损伤,提高肺保护效果。

杨凯等(2002)研究发现,人参皂甙单体 Rg2、Re、Rh1 均对小鼠皮层神经元缺氧损伤具有保护作用($P<0.01$),且能减轻细胞的形态学损伤。人参皂甙抗缺氧损伤作用的机制比较复杂,人参皂甙通过降低神经元的兴奋性,保护线粒体,维持细胞内 ATP 水平,从而使缺氧神经细胞得到保护;缺氧时脑内兴奋性神经递质大量释放,可引起兴奋性神经毒性,造成神经细胞损伤,人参皂甙可能通过降低缺氧时兴奋性神经递质释放,减轻兴奋性神经毒作用,从而保护神经细胞^[9]。

成云淑等(2003)研究表明,人参皂甙可明显降低谷氨酸引起神经细胞乳酸脱氢酶泄漏率的升高 ($P<0.01$),可以选择性降低大剂量谷氨酸引起的神经细胞内 Ca^{2+} 浓度异常升高($P<0.01$)。所以人参皂甙可通过降低神经细胞内 Ca^{2+} 浓度来对抗谷氨酸的神经性兴奋毒作用,进而保护神经细胞^[10]。

1.5 抗病毒、抗炎症反应

张勤等(2003)研究结果显示,大鼠腹腔感染后,血清白介素明显增高,提示感染应激后,促进炎症细胞因子增高,由于严重的炎症反应导致机体代谢亢进,从而造成血清白蛋白明显降低。应用人参皂甙后,血清白介素增高不明显,同时,血清白蛋白的下降减少,这说明人参皂甙具有一定的抗炎症反应作用^[11]。

此外,还有研究表明一定浓度的人参皂甙 Rg2 和 Rg3 对单纯疱疹病毒 1 型(HSV-1)有明显的抑制作用。

1.6 抗肿瘤诱导的血管新生

有研究发现,人参皂甙 Rg3 抑制 Lewis 肺癌瘤体生长的同时,对肿瘤诱导的新生血管形成同样有明显的抑制作用,其抗新生血管活性是通过抑制细胞生长因子 bFGF 的产生而发挥作用的。

人参皂甙 Rg3 对高转移性的小鼠黑色素瘤细胞(B16FE17)肺转移及 BALB/c 小鼠结肠癌细胞(26-M3.1)肺转移具有抑制作用,其抗肿瘤转移的作用与其抑制肿瘤细胞浸润、粘附和抗新生血管形成的活性有关^[12]。陈明伟等(2005)研究表明,Rg3 能够显著抑制人体肺癌新生血管的形成,使肺癌组织新生血管的数目明显减少^[13]。

目前研究肝窦状上皮(Hepatic Sinusoidal Endothelial)细胞与肝内肿瘤诱导的血管新生有关,而 CM-L5 分泌的 VEGF(血管内皮生长因子)可刺激 HSE 细胞的增殖和管道形成。Suda K 等(2000)将 HSE 细胞与 CM-L5 和不同浓度的人参皂甙一起进行培养,结果显示人参皂甙在无毒剂量下即可抑制 CM-L5 的活性。这一研究表明人参皂甙抑制肿瘤生长和肿瘤转移的

活性,可能与其抗肿瘤诱导的血管新生有关^[14]。

1.7 抗肿瘤转移

大量研究表明,人参皂甙 Rh2 能抑制癌细胞增殖,具有明显的抗癌作用。通过 20(R)-人参皂甙 Rh2 对抗癌细胞的转移实验研究发现,人参皂甙 Rh2 对小 B16-BL6 黑色素瘤细胞高转移株自发性肺部转移具有显著的抑制作用,Rh2 在 26、52mg/kg 的剂量下的肺系数与对照组有显著的差异,Rh2 在 8.3、16.6mg/kg 的剂量下预先给药,肺转移抑制率为 44%和 64%,其中 16.6mg/kg 的剂量下肺转移节结数与对照组比较,具有明显差异^[15]。

Hasegawa(1998)给 C57BL/6 小鼠皮下注射 LLC (Lewis Lung Carcinoma),观察人参皂甙同 5-FU(5-氟尿嘧啶)对小鼠肿瘤形成及转移的影响,发现人参皂甙不能抑制肿瘤形成,但却具有明显的抗肿瘤转移的作用,人参皂甙(10mg/kg P.O.)降低肿瘤转移(为对照组的 43%)明显高于 5-FU(为对照组的 56%)。在给小鼠皮下注射 LLC 后进行腿部切断,人参皂甙与 5-FU 具有相同的生存率,并且人参皂甙具有 38%的治愈率,而单纯切断治疗的治愈率只有 13%^[16]。人参皂甙是通过调节凋亡蛋白的调节诱导细胞凋亡,这也可能是人参皂甙实现抗肿瘤转移活性的机理。

1.8 治疗糖尿病

Ⅱ型糖尿病是伴有全身微循环障碍的常见病、多发病,也是心脑血管疾病发生、发展的独立危险因素。李世辉等(2004)研究发现,Ⅱ型糖尿病患者经人参皂甙 Rg1 治疗后,sIL-2R(可溶性白细胞介素 2 受体)水平下降,CD4/CD8 及 NK 细胞活性增高,提示人参皂甙 Rg1 能显著提高或纠正糖尿病患者低下的 T 淋巴细胞功能及 NK 细胞活性。人参皂甙 Rg1 可增强Ⅱ型糖尿病患者的细胞免疫功能^[17]。此外,李世军等(2004)通过静脉点滴人参皂甙 Rg1 治疗Ⅱ型糖尿病,观察到人参皂甙具有提高纤溶活性,改变血小板粘附性和聚集状态、改善微循环、抗凝血及防止血栓形成作用,是防治糖尿病血管病变的有效药物。

1.9 延缓衰老、抗氧化作用

人参皂甙使 D-半乳糖所致的衰老模型小鼠皮肤中 SOD(超氧化物歧化酶)活力、羟脯氨酸含量明显升高,MDA(丙二醛)含量显著降低,血中 CAT(过氧化氢酶)、GSH-Px(谷胱甘肽过氧化物酶)活力显著升高,差异均显著,表明人参皂甙灌胃对 D-半乳糖所致衰老小鼠皮肤有明显的抗衰老作用。其机制可能是人参皂甙水解后生成皂甙元,即人参二醇、人参三醇、齐墩

果酸等,特别是人参皂甙 Rb1 和 Rg1,其在人参中是主要的活性化合物,这些物质可促进细胞的新陈代谢,加快衰老皮肤细胞核酸和蛋白质的合成,同时增加皮肤中 SOD 含量和活性,发挥其强大的抗氧化和清除自由基作用,减少脂质过氧化产物如 MDA 的沉积,恢复细胞正常的生理功能,且人参皂甙还可刺激皮肤成纤维细胞的活性,促进胶原蛋白合成,使皮肤趋于年轻化,从而延缓皮肤衰老过程,发挥抗衰老作用,在一定范围内,其作用随剂量增加而呈增强趋势^[18]。

还有研究发现,小鼠力竭后即刻腹腔注射人参皂甙 Rg1,能降低小鼠肝组织中恢复期的 MDA 含量,减少自由基对细胞膜的氧化损伤作用,并且能提高小鼠肝组织中 SOD 和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的活性。

黄宗镑等(2001)实验研究发现,人参皂甙能明显延长果蝇的平均寿命,能明显降低血中过氧化脂质降解产物 MDA 的含量,增高血中 SOD 活力^[19]。

1.10 促进造血细胞发生

巨噬细胞是构成骨髓造血诱导微环境中的主要基质细胞,它来源于骨髓造血细胞,又反过来对血细胞发生起着调控作用。王莎莉等(2003)研究结果表明,人参皂甙能诱导单核巨噬细胞合成和分泌 Epo(促红细胞生成素)、GM-CSF(粒-巨噬细胞集落刺激因子)和 IL-3(白细胞介素-3)等造血生长因子样活性因子。经生物活性检测,认为人参总皂甙(TSPG)有可能促进造血诱导微环境中的巨噬细胞分泌多种造血生长因子来调控血细胞的发生^[20]。

陈小红等(2001)用血细胞培养增殖试验表明,人参皂甙能够明显地刺激粒系细胞株、红系细胞株、单核细胞株和巨核系细胞株细胞增殖($P<0.05$);研究还发现,人参皂甙能够有效地诱导三株细胞核内的 c-fos(原癌基因)转录调控蛋白量明显增加,c-fos 所编码的蛋白产物 c-fos 族蛋白,通过亮氨酸拉链结构结合形成同源或异源二聚体,构成转录因子 AP-1,而作用于基因调控序列中的转录因子 AP-1 结合位点。启动靶基因表达,调控细胞的增殖和分化。所以认为人参皂甙能够明显地刺激 3 种系列的细胞株增殖,并能有效地通过诱导 c-fos 或 GATA-1(指型蛋白质)转录因子而调控造血细胞与增殖或分化有关基因的表达^[21]。

2 在畜牧兽医上的应用前景与展望

我国动物生产面临的严峻问题之一是违禁药物或抗生素的残留,添加它们是为提高机体免疫力、防治疾病,但其残留不仅给肉类产品出口带来屏障,而且会严重影响消费者的身体健康。因此,研制一种来

源于天然植物的、能提高动物免疫力和防病保健的安全饲料添加剂就显得非常必要和迫切。

人参皂甙以其天然性、多能性、无毒副作用和无抗药性等特点符合饲料工业发展的趋势,可开发为抗生素类替代产品。

随着结构研究方法和分离技术的发展,开发人参皂甙作为动物免疫调节促生长剂,对于推进动物饲料“无抗生素化”、无公害畜产品的生产和畜牧业可持续发展具有重要而深远的意义。因此,人参皂甙作为绿色环保饲料添加剂应用于畜牧业将具有广阔的前景。

参考文献

- 1 张仲苗,江波,章荣华,等.人参皂甙 Rg3 对小鼠免疫功能的影响[J]. 中药药理与临床,2004,20(6):4~6
- 2 胡松华,林锋强.人参皂甙 Rb1 的免疫佐剂作用[J]. 中国兽医学报,2003,23(5):480~482
- 3 柳鹏,殷惠军,许雅君,等.人参皂甙 Rb1 和 Rg1 对体外培养大鼠胚胎生长发育的影响[J]. 中国生育健康杂志,2005,16(3):150~153
- 4 Hasegawa H, Lee Ks, Nagaoka T, et al. Pharmacokinetics of ginsenoside deglycosylated by intestinal bacterial and its transformation to biologically active fatty esters [J]. Biol. Pharm. Bull., 2000, 23(3): 298~304
- 5 耿庆,乌达,谢远财,等.人参皂甙 Rb1 对肺缺血-再灌注损伤细胞凋亡及其调控基因表达的影响 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2005, 12(3): 159~161
- 6 李朝晖.人参皂甙 Rg1 诱导 HL-60 细胞凋亡的初步研究[J]. 广东药学,2005,15(4):63~65
- 7 Hideo Hasagawa, Jong HS, Jae DH. Ginseng intestinal bacterial Metabolite, IH901 as a antimetastatic agent [J]. Arch. Pharm. Res., 1996(6):539~544
- 8 孟丽娟,王学廷,田敏,等.茎叶人参皂甙对肺损伤的保护[J]. 中国临床康复,2005,9(15):136~137
- 9 杨凯,吴小梅.人参皂甙单体 Rg2、Re、Rh1 对小鼠皮层神经细胞缺氧的保护作用[J]. 南通医学院学报,2002,22(2):134~135
- 10 成云淑,熊文,程刚.人参皂甙对兴奋毒损伤的保护作用研究[J]. 中国实验诊断学,2003,7(2):132~134.
- 11 张勤,叶再元,杜卫东.人参皂甙对腹腔感染大鼠血清白蛋白及白介素-6 影响的实验研究[J]. 浙江中医学院学报,2003,27(4):66~67
- 12 Mochizuki M, Yung CY, Kaori M, et al. Inhibition effect of tumor metastasis in mice by saponins, ginsenoside-Rb2, 20(R)- and 20(S) ginsenoside-Rg3, of red ginseng [J]. Biol. Pharm. Bull., 1996, 18(9):1197~1202
- 13 陈明伟,姚昱,石志红.人参皂甙 Rg3 联合化疗对 30 例非小细胞肺癌的近期疗效观察[J]. 华南国防医学杂志,2005,19(1):4~6
- 14 Suda K, Murakami K, Murata J, et al. An intestinal bacterial metabolite of ginseng protopanaxadiol saponins inhibits tumor-induced neovascularization[J]. J. Trad. Med., 2000(17):144~150
- 15 王占峰,罗毅男,洪新雨,等.人参皂甙 Rh2 抗肿瘤作用机制的研究[J]. 北华大学学报(自然科学版),2005,6(1):50~52
- 16 Hasegawa H, Uchiyama M. Antimetastatic efficacy of orally administered ginsenoside Rb1 in dependence on intestinal bacterial hydrolyzing potential and significance of treatment with an active bacterial metabolite[J]. Planta. Med., 1998(64):696~700
- 17 李士辉,魏影飞.人参皂甙 Rg1 对 2 型糖尿病患者细胞免疫功能的影响[J]. 中华实用中西医杂志,2004,4(17):2321~2322
- 18 王红丽,吴铁,吴志华,等.人参皂甙抗皮肤衰老作用实验研究[J]. 广东药学院学报,2003,19(1):25~27
- 19 黄宗镑,陈冠敏,林蔚.人参皂甙延缓衰老的实验研究[J]. 实用预防医学, 2001, 8(5):385
- 20 王莎莉,李静,王亚平,等.人参皂甙诱导骨髓巨噬细胞表达造血生长因子的研究[J]. 解剖学报,2003,34(5):500~506
- 21 陈小红,高瑞兰,徐卫红,等.人参皂甙对红系、粒单系、巨核系细胞株的增殖及转录因子的诱导作用 [J]. 中国中西医结合杂志, 2001, 21(3):40~42 (编辑:刘敏跃, lm-y@tom.com)

· 信息采撷 ·

欧盟有关机构决定解除英国牛肉出口禁令

由 25 个成员国代表组成的欧盟食物链和动物健康常设委员会 8 日举行会议,决定解除因疯牛病对英国牛肉出口实施的长达 10 年之久的禁令,解禁的范围也包括英国活牛和小牛出口。

欧盟委员会负责卫生与消费者保护的委员马科斯·基普里亚努当天在决定通过后说,英国政府付出了巨大努力来应对疯牛病,英国已经达到了解除出口禁令的所有标准和要求。因此,欧盟应当恢复英国同欧盟其他国家之间正常的牛肉贸易。

20 世纪 90 年代,疯牛病在英国肆虐,引起了极大恐慌。1996 年,欧盟正式禁止英国向欧盟其他成员国出口牛肉,此举给英国牛肉产业造成重大打击。以禁令实施的前一年为例,1995 年英国向欧盟其他成员国共出口 27.4 万吨牛肉,价值 5.2 亿英镑。

按照规定,这一解禁决定尚需欧洲议会审查批准,其审查期限为 30d。

类黄酮化合物在动物营养中的研究进展

陈 辉 黄仁录 邸科前 郭云霞 张振红 潘 栋

摘 要 类黄酮化合物在动物营养学领域具有重要的应用价值,与动物的内分泌、脂质代谢及抗氧化有着密切的关系,在促进动物生产性能及提高免疫力等方面起着重要作用。文章通过对类黄酮在自然界中的分布及其生理功能进行的研究,综述了类黄酮化合物在动物营养领域中的应用研究现状。

关键词 类黄酮;动物营养;进展

中图分类号 S816.15

Advance in flavonoids on animal nutrition

Chen Hui, Huang Renlu, Di Keqian, Guo Yunxia, Zhang Zhenhong, Pan Dong

Abstract Flavonoids have an important value in the field of animal nutrition, it related the endocrine, lipids metabolism, antioxidative activity, and also improved animal performance and immunity. According to the attribution of flavonoids in the nature, and its biochemical characteristic, we report the application of flavonoids on animal nutrition area.

Key word flavonoids; animal nutrition; advance

黄酮类化合物广泛存在于自然界中,属植物次级代谢产物(Robards等,1997)。研究表明,类黄酮化合物是自然界药用植物中主要活性成分之一,具有调节血脂、消除氧自由基、抗氧化、抗过敏、抗炎、抗菌、抗突变、抗肿瘤、保肝、雌激素样作用、泻下、保护心脑血管系统和抗病毒以及杀虫等广谱的生理活性(姚新生,1996;周荣汉,1993;Torel J等,1986;胡春,1996;谷利伟、翁新楚,1997;毛雪石、徐世平,1995;富杭育,1988;吴文君等,1997;Yasukawa K等,1989;Simoes CMO等,1990;Hu CQ等,1994;朱晓薇,1998;Naim M等,1974;Pratt D E,1979)。生物类黄酮已引起国内外学者的广泛关注,成为国内外研究开发的热点课题,但绝大部分是以人或鼠为研究对象,在畜禽方面的研究报道甚少,为此本文就类黄酮对动物的生产性能、免疫机能、脂质代谢、内分泌等的影响方面进行综述。

1 类黄酮定义、分类及其分布

1.1 类黄酮定义

类黄酮化合物系色原烷或色原酮的衍生物,其基本骨架具有 $C_6-C_3-C_6$ 的特点,即由两个芳香环A和B,通过中央三碳链相互连结而成的一系列化合物(姚

新生,1996)。

1.2 类黄酮化合物的分类

根据中央三碳链的氧化程度,B环在C环上的连接位置以及三碳链是否构成环状等特点,将黄酮类化合物进行归类。此外,还存在由2分子类黄酮按C-C或C-O-C方式连接而成的双黄酮类化合物,其结构类型有20种。据统计,到1980年,黄酮类化合物总数约有2700多个,以黄酮醇类最为常见;1981年,口山酮类有200余种(包括口山酮甙40个);1994年,口山酮甙超过110个,其中含碳甙20个(谭沛、刘永隆,1995);到1988年,植物中已知的硫酸化黄酮40余种,而硫酸化黄酮醇近60种(李雄彪,1992)。

1.3 类黄酮化合物的分布

类黄酮化合物在植物界中的分布见表1。

2 类黄酮的生物学功能

2.1 类黄酮对脂质代谢及抗氧化的调节作用

最近几年有关对类黄酮作用的大量研究表明,类黄酮物质对动物的脂质代谢具有调节作用。Lichtenstein(1998)认为,大豆产品预防动脉粥样硬化、冠心病的作用归因于大豆类黄酮(主要是Daidzein、Genistein和Glycetein)的降血胆固醇、抗氧化和保护动脉完整的作用。Balmir等(1996)在大鼠试验中发现,大鼠日粮中添加大豆异黄酮可显著降低血清总胆固醇和LDL胆固醇浓度。Nagata等(1998)的研究资料显示,日常摄取大量大豆产品显著降低了血清总胆固醇水平。Kirk(1998)报道,大豆类黄酮可能通过增

陈辉,河北农业大学动物科技学院,在读硕士,071001,河北保定。

黄仁录(通讯作者)、邸科前、郭云霞、张振红、潘栋,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2006-02-07

表 1 类黄酮化合物结构类型及其在植物界中的分布情况

结构类型	分布概况
黄酮及黄酮甙	在苔藓植物和蕨类植物及裸子植物中有分布。广泛分布于被子植物中,尤以芹菜素和木犀草素黄酮最常见;广泛分布于维管植物中,特别是一些草本的植物中。六甲氧基黄酮仅存在于芸香科九里香属(Kinoshita T 等,1997);甲基黄酮只存在于桉属;呋喃黄酮只限于豆科的数属。
黄酮醇及黄酮醇甙	主要分布于双子叶植物特别是木本植物的花和叶中,其中最常见的是山奈酚、槲皮素和杨梅素。以山奈酚和槲皮素所组成的甙,较广泛地分布在双子叶植物的一些木本植物中。8-羟基黄酮醇局限于菊科、锦葵科、大戟科;呋喃黄酮醇存在于豆科中;七甲氧基黄酮醇仅存在于九里香属。
查耳酮	分布很广泛。从生源及分布看,较之其它黄酮原始,陆续在蕨类植物、苔藓植物和种子植物中发现,分布在一些原始类群如被子植物的芍药属中,在菊科、豆科、苦苣苔科植物中分布较多。
橙酮类	常呈金黄色,有数十种,多分布在双子叶植物比较进化的玄参科、菊科、苦苣苔科以及单子叶植物莎草科中。
花色素和花色甙	在被子植物中分布较广,尤以花青素、飞燕草素和缙纹天竺素及其甙最为常见。
黄烷醇	分布较广泛。在双子叶植物中特别是含大量鞣质的木本植物中较常见。自然界尚未发现游离态存在,都以儿茶素和表儿茶素的衍生物或聚合物形式存在,如缩合鞣质和黄色素。
双氢黄酮	较普遍地分布,尤其在被子植物的蔷薇科、芸香科、豆科、杜鹃花科、菊科、姜科中较多分布。杜鹃花科杜鹃属植物中含甲基取代的双氢黄酮,此类黄酮在松芥和蕨类植物贯众属、荚果蕨属中也有发现。
双氢黄酮醇	较普遍地存在于双子叶植物中,特别是豆科植物中相对较多,也存在于裸子植物、单子叶植物姜科的少数植物中。
碳-甙黄酮	被子植物中较广泛分布,尤以豆科、马鞭草科及龙胆科等存在较多。裸子植物麻黄科中也有发现。
双黄酮、二聚黄酮	主要分布于裸子植物中。亦在苔藓植物、蕨类植物以及被子植物中不断发现。在被子植物中,大约分布于 14 个科,但较集中在山竹子科的 <i>Calophyllum</i> 和 <i>Garcinia</i> 两属中,多以 Amentoflavone 及其衍生物形式存在,最近在小檗科淫羊藿属朝鲜淫羊藿中首次发现(孙朋悦,1998)。
异黄酮	主要分布在被子植物中,尤以豆科蝶形花亚科及鸢尾科、蔷薇科植物中居多。
异黄烷酮	仅限分布于豆科植物(个别存在于蔷薇科的樱桃属)。
苯并色原酮	在真菌、地衣、蕨类植物中有发现。主要分布在被子植物的山竹子科。龙胆科、桑科、豆科、远志科、藤黄科,其甙类大部分都存在于龙胆科(谭沛和刘永龙,1995)。集中于单子叶植物鸢尾科和百合科。
新黄酮	主要分布在豆科蝶形花亚科——黄檀族-黄檀亚族(<i>Dalbergimae</i>)的几个属植物中,茜草科 <i>Coutarea</i> 属植物中也有发现(D Agostino M 等,1990)。

加低密度脂蛋白受体 (LDLR) 活性来降低血浆胆固醇,进而防止动脉粥样硬化。类黄酮提取物可能通过影响与脂类代谢有关的基因的表达来降低血浆脂蛋白浓度。林秋石和陈吉棣(2000)报道,山楂叶黄酮可使大鼠 LDLR 的 mRNA 转录增强,同时 LDLR 表达也增强,从而增加低密度脂蛋白(LDL)的降解。Math 等(1999)报道,添加豆蛋白可使血浆中极低密度脂蛋白(VLDL)的鞘磷脂出现瞬间的升高,同时,LDL、LDL-2 中鞘磷脂降低,这可能是鞘磷脂在各种脂蛋白间转运造成的,并指出鞘磷脂可能是 VLDL 的重要结构成分。

尹靖东(2000)、郑君杰(2000)报道,在蛋鸡日粮中添加大豆异黄酮可显著降低蛋黄中的胆固醇水平。戴尧天等(1994)报道,鹌鹑饲料中添加刺梨汁能有效降低血浆总胆固醇(TC)和 TC 与高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)比值,延缓和阻断高脂诱发的动脉粥样硬化斑块的形成和发展,刺梨富含维生素 C(每 100g 鲜果中含 2 400mg)和类黄酮(每 100g 鲜果中含 6 000mg),黄酮与 VC 有协同作用,可增强血管壁弹性,防止脂质沉积。王国杰等(1994)在肉鸡日粮中添加黄酮,腹脂率下降 27.2%。闫祥华等(2000)报道,大豆异黄酮对

大鼠高血甘油三酯有降低作用。

关于大豆产品具有抗氧化性能,可以清除过氧化氢和超氧离子的报道已有不少(Lichtenstein, 1998; Anthony, 1996),并认为是大豆中的异黄酮在起作用。闫祥华等(2000)报道,大豆异黄酮能改善高脂所致体内过氧化状态,减轻对机体的过氧化损伤,且在大鼠饲料中甙元的效果优于糖甙。由于 LDL 胆固醇含量高,易于氧化,大豆异黄酮可使体内低密度脂蛋白(LDL)的氧化受阻。目前有几种解释抗氧化作用的机制(Tikkanen, 1998):①大鼠进食大豆后,循环系统中的大豆异黄酮浓度升高,可以保护体内的 LDL,结果导致在 LDL 分子颗粒中生成的脂质过氧化物减少,使氧化的初始化率降低。②由于 LDL 的载脂蛋白 B 与铜离子结合可启动脂质过氧化,可以推测,大豆异黄酮具有与大豆蛋白紧密结合的特性,同样也可以与载脂蛋白 B 结合,占据与铜离子结合的位点,抑制脂质过氧化物的生成。把 LDL 从含有大豆异黄酮和其它抗氧化剂的循环系统中分离出来后,其还具有一定的抗氧化稳定调节能力,这就证明了以上的假设。③大豆异黄酮可改变 LDL 颗粒的大小,但不改变其脂质和蛋白的组成。

2.2 类黄酮对内分泌的影响

大豆异黄酮具有植物雌激素活性(Farmakalidis 等, 1985), 被称为异黄酮植物雌激素(isoflavonic phytoestrogen), 这是由于它们与已烯雌酚结构相似的缘故, 其代表物是三羟异黄酮。这些植物雌激素与雌激素受体结合, 并在抑制子宫内膜和腺癌细胞系中起一定作用(Anthony 等, 1996)。大豆黄酮的作用表现出组织特异性, 对血浆脂质浓度、血浆脂蛋白分布和骨质的作用在剂量上与哺乳动物的雌激素作用类似(Anderson 等, 1995)。

大豆黄酮是二酚类黄酮物质, 其雌激素活性的效能大约是雌二醇的 1/500 000, 在体内和雌二醇竞争靶器官细胞膜上的受体, 类黄酮与雌激素受体结合, 并产生弱的雌激素效应, 这种弱的雌激素作用在一定浓度下会表现出抗雌激素活性, 这还取决于动物内源雌激素水平。不同种动物、同种动物不同性别、同种性别不同的靶组织、同一靶组织不同的功能状态以及给药途径都会使二酚类黄酮呈现出不同的雌激素活性。Han 等(1993)用放射受体分析表明, 饲喂 3mg/kg 大豆黄酮能使肉鸡下丘脑、垂体的雌二醇受体(E2-R)的最大结合容量和平衡解离常数(Kd)有不同程度的提高, 揭示了大豆黄酮能与下丘脑和垂体 E2-R 结合, 干扰内源雌二醇的反馈调节, 从而影响内源激素水平。这表明大豆黄酮可以首先通过提高靶组织雌二醇受体(E2-R)的最大结合容量和平衡解离常数(Kd)来与雌激素受体结合, 发挥自己的作用, 尤其在体内雌激素水平低的情况下, 表现出弱雌激素作用。Verdeal 等(1980)报道, 随着植物雌激素在动物体内的浓度增加, 其取代雌激素与受体结合的程度越高。当大豆黄酮超过这一限度时, 通过竞争受体, 反馈调控雌激素的水平, 使雌激素水平升高。可以看出, 二酚类黄酮实际上对雌激素具有双重调节作用, 从而维持机体适宜的雌激素水平。

2.3 类黄酮对免疫机能的影响

早在 1993 年我国已有学者提出异黄酮类化合物可显著提高小鼠免疫机能。张荣庆等(1994)报道, 大豆异黄酮可提高巨嗜细胞的吞噬功能, 从而提高机体免疫力。张荣庆等(1995)在母猪的试验中发现, 母猪妊娠后期连续口服大豆黄酮, 可明显提高母猪整体和乳腺局部的体液免疫功能, 并提出大豆黄酮提高动物免疫机能的机制: ①直接作用于免疫器官(胸腺和脾脏)或细胞(各种免疫细胞)上的雌激素受体。②调节垂体生长激素(GH)或催乳素(PRL)的分泌, 通过 GH 或

PRL 来间接发挥作用。垂体的 GH 或 PRL 具有明显免疫促进作用的机理是: ①直接作用于免疫细胞上的 GH 或 PRL 受体。②促进胸腺上皮细胞合成和分泌腺素, 通过胸腺素来间接调节免疫功能。③降低体内生长激素释放抑制激素(SS)水平, 解除 SS 对免疫系统的抑制作用; 同时, SS 的降低又促进垂体 GH 的分泌, 从而使动物的免疫机能得到提高。

3 类黄酮对动物生产性能的影响

尹靖东(2000)报道, 日粮中分别添加茶多酚、大豆黄酮对蛋鸡产蛋率有不同程度的改善。随着茶多酚添加水平升高, 产蛋率有相应提高的趋势, 当添加量为 40mg/kg 时, 产蛋率提高了 5%。日粮中添加大豆黄酮对产蛋率有较大幅度提高, 添加 10mg/kg 大豆黄酮时, 产蛋率提高 72%($P<0.05$)。日粮中分别添加 20mg/kg 茶多酚和 10mg/kg 大豆黄酮时, 料蛋比达到最佳, 分别为 2.43 和 2.46。茶多酚和大豆黄酮分别在 40mg/kg 和 10mg/kg 的添加量时有降低血浆总胆固醇、甘油三酯、LDL-C 的作用。茶多酚和大豆黄酮都显著降低了蛋黄中的甘油三酯含量, 最大降低幅度分别为 14.7%和 16.7%($P<0.05$)。

刘燕强、韩正康等(1998)发现, 饲喂大豆黄酮组母鸡产蛋率显著提高($P<0.05$), 且蛋重有提高的趋势, 饲料转化率也有所提高。产蛋是禽类在神经内分泌系统调控下复杂的生理过程, 体内激素和营养因素对产蛋性能有明显的影响。孕酮可刺激腺垂体释放 FSH 和 LH, 加速卵泡成熟和排卵, 而大豆黄酮可使产蛋鸡血液孕酮水平提高, 说明大豆黄酮提高产蛋鸡产蛋性能与其提高孕酮水平有关。另外, 大豆黄酮可使产蛋鸡血液中 T_3 、 T_4 明显升高, 促进甲状腺分泌、机体营养物质的代谢和利用, 从而影响产蛋性能。大豆黄酮提高产蛋鸡生产性能的机制, 一方面可能与其直接调控繁殖性能有关; 另一方面则在于其调控营养成分的有效利用、代谢与生殖内分泌的相互作用与协调, 从而提高产蛋性能。

综上所述, 类黄酮化合物与动物的内分泌、脂质代谢及抗氧化有着密切的关系, 在促进动物生产性能及提高免疫力等方面起着重要作用, 但其作用机理在许多方面还不清楚, 类黄酮在动物体内的消化、吸收、转运、代谢、分布及排泄等方面的研究较少, 有待进一步研究。

(参考文献 41 篇, 刊略, 需者可函索)

(编辑: 高 雁, snowyan78@tom.com)

蚁酸、辣椒素及其复合添加对动物生产性能的影响

赵 燕 陈安国

为了提高养殖业的经济效益,实现猪场的规模化、集约化,生产中普遍采取对仔猪 3~4 周龄断奶。断奶后的仔猪由于受环境、营养、断奶等应激的影响,常表现出养分消化吸收低、生长缓慢、体弱、腹泻等症状。大量试验结果表明,早期断奶仔猪由于胃酸分泌不足,使胃蛋白酶原不能被激活,导致仔猪难以消化以植物蛋白为主要蛋白来源的日粮,从而引起大肠杆菌大量繁殖、仔猪腹泻,使生产性能降低。近年来,由于抗生素具有抗菌、促生长作用,被大量广泛地添加到仔猪饲料中。然而,由于抗生素的不正确使用和滥用,使得病原菌产生抗药性,不同细菌间通过转座子或质粒以及一些抗生素本身诱导的抗药基因的转移,抗药类型也由单类抗药发展成多重抗药。因此,抗生素替代物的研究成为必然趋势。

蚁酸作为一种有机酸化剂,可以降低日粮 pH 值、促进胃液分泌、提高饲料利用率。辣椒素是一种天然植物提取物,它具有抗菌、抗毒素作用,在饲料中适量添加,有利于改善动物健康,促进动物生长。因此成为抗生素替代物的又一来源。

1 蚁酸的理化性质及生理功能

1.1 蚁酸的理化性质

蚁酸是最简单的羧酸,分子式为 HCOOH ,化学名为甲酸。蚁酸在自然界分布很广,常以游离状态存在,如在赤蚁、蜂、毛虫的分泌物中,某些植物如荨麻、蝎子草、松针和一些果实(绿葡萄等)中都存在。甲酸的羧基直接与氢原子相连,既可看成是一种羧酸,又可看成是一种羧基醛,同时具有羧酸和醛的某些性质。

1.2 蚁酸的生理功能

在我国,蚁酸已作为酸化剂添加到畜禽饲料中,但大多以甲酸钙的形式添加。甲酸钙在动物体内会游离出微量甲酸,使胃肠道 pH 值降低,从而抑制有害菌繁殖,促进有益微生物生长,防止仔猪腹泻。实验证明,蚁酸具有以下功能:①降低日粮的 pH 值,使胃内 pH 值下降,提高酶的活性。动物饲料中添加蚁酸可使胃内 pH 值下降,从而激活胃蛋白酶,促进蛋白质分解,而此分解可刺激十二指肠分泌较多的胰蛋白酶,

使蛋白质完全分解吸收。同时,胃内 pH 值降低可增进其它多种消化酶活性。②改善胃肠道微生物区系。酸化剂通过降低肠道 pH 值可抑制有害微生物繁殖,减少营养物质的消耗和抗生长毒素的产生,同时促进有益菌的增殖。③其它作用。胃排空速度的刺激因素为胃内容物体积和 pH 值,酸性食糜进入小肠后可对小肠壁作化学与机械性刺激,使之分泌肠抑胃素,反射性抑制胃的蠕动,减慢胃排空速度,使蛋白质有较多时间在胃内消化,减轻小肠负担。

2 辣椒素的理化性质及生物学功能

2.1 辣椒素的理化性质

辣椒素(Capsaicin)又名辣椒碱、辣椒辣素,是辣椒中的主要辣味成分,最早由 Thres(1876)从辣椒果实中分离出来。其化学名称为 8-甲基-6-癸烯香草基胺,是香草基胺的酰胺衍生物,分子式为 $\text{C}_{18}\text{H}_{27}\text{NO}_3$,化学结构为 $\text{H}_3\text{CO}(\text{HO})-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CO}-(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}(\text{CH}_3)_2$ 。纯品辣椒素为无色单斜长方形片状结晶,熔点 65°C ,沸点 $210\sim 220^\circ\text{C}$,易溶于乙醇、乙醚、苯及氯仿等有机溶剂,微溶于二硫化碳。辣椒素可被水解为香草基胺和癸烯酸,水解后呈弱酸性,并可与斐林试剂发生呈色反应。

2.2 辣椒素的生物学功能

辣椒素可以促进肾上腺分泌儿茶酚,并显著抑制蜡样芽孢杆菌及枯草杆菌,具有抗病毒、抗肿瘤和镇痛消炎作用;还可作为健胃剂,具有促进食欲、改善消化等生物学功能(狄云等,2000)。动物采食后,能促进胃液分泌,增强食欲,促进血液循环,提高机体的抗病能力,还有驱虫、发汗等功效,可用于动物的腹泻、炎症等疾病防治(郭建明等,1998)。因此,辣椒素在食品餐饮、畜禽饲料与医疗药品等方面具有较高的应用价值。

3 蚁酸、辣椒素在动物生产中的应用

作为酸化剂,与柠檬酸相比,甲酸钙在饲料生产过程中不会被潮解,流动性好,pH 值为中性,不会造成设备腐蚀,直接加入饲料中能防止维生素和氨基酸等营养成分被破坏,是一种理想的饲料酸化剂,完全可以替代柠檬酸、富马酸等。甲酸钙作为一种新型饲料添加剂,特别适用于断奶仔猪,它可影响肠道微生物的增殖,活化胃蛋白酶原,提高胃肠道代谢物的能量利用,提高饲料转化率、仔猪成活率和日增重,其在饲料中适宜添加量为 $1\%\sim 1.5\%$ 。吴天星等(2002)研究探讨了玉米-豆粕-乳清粉型日粮中添加甲酸钙和酸

赵燕,浙江大学动物科学学院,310029,浙江大学动物科学学院陈安国工作室。

陈安国,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2006-01-04

性蛋白酶对断奶仔猪生产性能的影响,研究表明,1%甲酸钙极显著提高仔猪日增重($P<0.01$)、仔猪采食量($P<0.05$);显著降低仔猪断奶后腹泻频率($P<0.05$)及结肠的大肠杆菌总数($P<0.05$)。N.Canibe 等(2005)用粗磨粉状料、精磨制粒饲料和加有 1.8%蚁酸的精磨制粒饲料饲喂生长猪,在不同的时间段进行取样研究,结果表明,饲喂加有蚁酸日粮的猪胃中消化物的 pH 值在所有时间取样都低于 4,并且饲喂蚁酸可以减少胃肠道近端总的厌氧微生物的数量和消化道各段乳酸菌、细菌和酵母菌的数量。

辣椒素添加到动物饲料中的试验在国内报道较少,相对而言,辣椒素在鸡上的研究较多。Tellez(1993)用含 18mg/kg 辣椒素的日粮饲喂 1 日龄来航鸡 14d,试验结果表明,辣椒素处理组盲肠内容物 pH 值显著降低,盲肠固有层有轻度至中度单核细胞和异嗜白细胞浸润,盲肠固有层和上皮细胞的厚度显著增高,并且辣椒素可以提高鸡抵抗肠道沙门氏菌侵入的能力。Sams(1995)试验证实,采食辣椒素的肉用仔鸡经常规加工、烹制后,胸肌和股二头肌在味道方面有显著改善。Maricela(1999)采用不同辣椒素含量水平的日粮(0、0.76、12.26、35.26mg/kg)饲喂白来航产蛋鸡,试验结果表明,辣椒素的添加对蛋鸡的生产性能没有影响,对蛋黄色泽以及对类胡萝卜素在蛋黄中的沉积量与效率都有显著影响。

4 蚁酸、辣椒素及其复合添加对断奶仔猪的影响

作为抗生素替代物,酸化剂在改善仔猪胃肠道微生物区系,促进仔猪生长方面的作用已被大量试验证实,但效果并不像抗生素那样显著。因此,发现新的抗生素替代物,以及不同替代物之间如何复合才能更有效的发挥作用成为当今饲料研究的重点。近年来,随着植物提取物的抗菌、抗毒素以及激活酶原活性、提高机体免疫力等作用的证明,植物提取物已成为又一抗生素替代物。

E.G.Manzanilla 等(2004)研究了植物提取物(XT)(2%辣椒素)分别在单独、与蚁酸复合两种情况下,对断奶仔猪生产性能、养分消化率、肠道微生物区系、发酵产物的影响。试验选取 240 头 21 日龄断奶仔猪,经过 12d 的预饲后,剔除体重不合格的,将剩余的 216 头随机分配到 24 个猪栏中。在蚁酸含量为 0、0.5%两种情况下,分别添加 0、150、300mg/kg 的 XT,饲喂 21d。试验结果表明:①处理间平均日采食量,平均日增重,回、盲肠干物质消化率差异不显著,但随着 XT 含量的增加,仔猪死亡率降低,当 XT 含量达到 300mg/kg 时,仔猪无死亡现象,且添加蚁酸后,肉料比显著升高 ($P<0.05$)(见表 1);②在仅添加辣椒素 ($p=$

0.006)或蚁酸($p=0.003$)时,胃内容物含量均显著增加,且随辣椒素含量增加,胃内容物含量线性增加,胃内容物 pH 值呈上升趋势;③在仅添加辣椒素或蚁酸时,乳酸杆菌数量均增加(见表 2)。

表 1 蚁酸、XT 对仔猪生长性能的影响

项目	XT(mg/kg)(蚁酸 0%)			XT(mg/kg)(蚁酸 0.5%)		
	0	150	300	0	150	300
平均日采食量(g)	693	645	645	634	613	655
平均日增重(g)	452	403	423	417	411	447
肉料比	0.65	0.63	0.66	0.66	0.67	0.68
死亡数	2	0	0	2	1	0

表 2 蚁酸、XT 对仔猪胃内容物的影响

项目	XT(mg/kg)(蚁酸 0%)			XT(mg/kg)(蚁酸 0.5%)		
	0	150	300	0	150	300
乳酸杆菌(log ₁₀ cfu/g)	7.3	7.9	8.7	7.9	7.6	7.9
肠杆菌(log ₁₀ cfu/g)	5.9	6.2	5.6	5.8	5.9	5.3
胃内容物含量(g)	137	275	333	308	213	257
胃内容物 pH 值	2.4	3.4	3.6	3.2	3.0	3.4
回肠内容物 pH 值	6.4	6.6	6.5	6.4	6.3	6.5

Hunt (1972) 报道,酸化剂可降低胃排空速度。Partanen(1999)也证实了酸化剂可以延长内容物在胃内停留的时间,这样可以提高植物蛋白消化率,抑制有害菌繁殖。Chang(1999)报道,辣椒素也有延长内容物在胃内停留时间的作用,这种作用源于辣椒素对胃运动的影响(Gonzalez, 1998)。E.G.Manzanilla 的试验,添加蚁酸或辣椒素后,所测胃内容物 pH 值略有上升,也正是由于胃内容物含量的增加,而胃内容物中的干物质和水分具有缓冲胃内 pH 值的作用。酸化剂和辣椒素可以增加胃内容物含量,延长胃内容物在胃内的停留时间,从而提高蛋白质的消化率,抑制有害菌繁殖,其作用机理还有待于进一步研究证实。

挥发性脂肪酸是猪大肠细菌代谢的终产物(Bergman, 1990),而挥发性脂肪酸的种类取决于到达后肠的前体物质和后肠中细菌种类与数量(Bergman, 1990)。E.G.Manzanilla 的试验结果表明,添加辣椒素后,盲肠、结肠中的醋酸盐分解量显著增加,而丁酸、戊酸分解量显著降低,这说明进入盲肠的物质中,较容易发酵的碳水化合物所占比例有所升高,同时也与盲肠中细菌数量的降低有关,但其机理尚不清楚。

辣椒素具有促进食欲、改善消化等生物学功能,蚁酸可降低肠道 pH 值,抑制有害微生物繁殖。两者复合后,具有协同效应,能够通过延长养分在胃内的停留时间,促进营养的消化吸收,抑制有害细菌的繁殖。在一定的剂量范围内,对动物无毒副作用,作为抗生素替代物,有着广泛的应用前景。

(编辑:孙崎峰, sqf0452@126.com)

饲用酶高产菌株的筛选

陈曦 赵建国

饲用复合酶是一类新型的活性饲料添加剂,不但能补充动物内源酶的不足,而且有效降低了饲料中的抗营养因子,从而提高饲料的营养价值,促进动物对营养物质的消化吸收,使饲料转化率明显提高,降低料肉比,从而降低了饲料成本。本文以菌株米曲霉 M-4.11 为供试菌株,经定向诱变、筛选到蛋白酶和纤维素酶两株突变株,并考察了培养基质配比对产酶的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 原始菌株

米曲霉 M-4.11,由本实验室从自然界中分离获得。

1.1.2 原料

市购麸皮、豆粕、玉米粉、稻草粉。

1.1.3 培养基

1.1.3.1 马铃薯葡萄糖(PDA)固体培养基

去皮马铃薯 200g,切成小块,加 1 000ml 水煮沸 30min,双层纱布过滤,滤液中加入 2%葡萄糖,补充因蒸发而失去的水分,加 2%琼脂,自然 pH 值,0.075 MPa 下灭菌 20min。

1.1.3.2 米曲霉初筛培养基

干酪素 4g/l、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 1.07g/l、 KH_2PO_4 0.36g/l、 BaCl_2 4g/l、琼脂 18g/l,pH 值 5.0,0.1 MPa 下灭菌 20min。干酪素需加碱在火上加热溶解, BaCl_2 单独灭菌后加入灭好菌的培养基中。

1.1.3.3 发酵基础培养基

麸皮 80%、豆粕 10%、玉米粉 10%、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2%、 KH_2PO_4 0.5%、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%、 CaCl_2 0.05%,料水比 1:1.6,pH 值 5.0,0.1 MPa 下灭菌 30min,250ml 三角瓶装料量为 5g。

1.2 试验方法

1.2.1 孢子悬液制备

挑取斜面上米曲霉 M-4.11 的孢子置于装有 85%

的生理盐水和玻璃珠的三角瓶中,充分振荡打散孢子,使孢子数为 $1.4 \times 10^7 \sim 1.6 \times 10^7$ 个/ml。

1.2.2 孢子数测定

采用血球计数法。

1.2.3 孢子悬液的热处理

取 5 支试管,每支装 5ml 孢子悬液,分别在沸水中煮 1、2、3、4、5min。处理后的孢子悬液按适当稀释倍数涂于米曲霉初筛培养平板上。

1.2.4 ^{60}Co 诱变处理

取 4 支试管,每支装 5ml 孢子悬液,分别于不同 ^{60}Co 放射剂量(6、8、10 万伦琴)照射,照射后的孢子悬液按适当稀释倍数涂于米曲霉初筛培养平板上。

1.2.5 菌株致死率

平板菌落计数法。

1.2.6 诱变处理后的米曲霉的筛选

1.2.6.1 初筛

采用透明圈法进行米曲霉的初筛。挑取初筛培养平板上的透明圈较大的菌株移接到斜面,30℃培养 3d,作为复筛菌株。

1.2.6.2 复筛

将初筛出的菌株接到发酵基础培养基中,培养 64h。培养 16h 时,物料表面呈现少量白色菌丝体时,进行翻料,使物料松散,过 24h 再翻料一次,直至发酵结束。发酵产物进行酶活检测。

1.2.7 酶活测定

1.2.7.1 蛋白酶测定

福林试剂显色法。

1.2.7.2 纤维素酶测定

CMC 酶活测定法。

2 试验结果与讨论

2.1 热处理对酶活的影响

孢子是霉菌在恶劣条件下产生的,现通过热处理,可提高菌株对高温的耐受性。对于不同时间复筛出的 5 支菌株试管,其水煮时间与蛋白酶和纤维素酶酶活的关系见图 1。

由图 1 可见,水煮时间对纤维素酶酶活影响不大;而当在沸水中煮 4min 时,突变菌株 M-4 蛋白酶酶活大幅提高,每克干曲为 2 380U,比未热处理时提高 37%。

陈曦,江南大学生物工程学院,硕士,214036,江苏无锡市惠河路 170 号。

赵建国,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2006-01-28

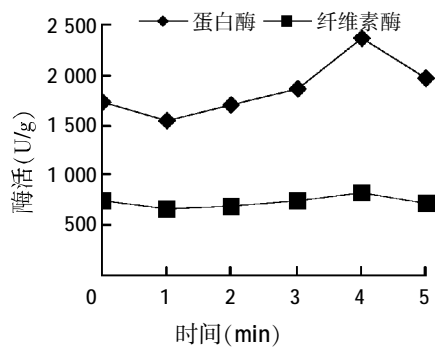


图1 水煮时间对酶活的影响

2.2 ⁶⁰Co 诱变处理对酶活的影响

以原始菌株 M-4.11 和热处理后的突变菌株 M-4 分别进行 ⁶⁰Co 诱变处理,考察不同诱变剂量对酶活的影响。从初筛平板挑选出 16 支透明圈较大的菌株进行复筛测酶活。不同诱变剂量对菌株的致死率见表 1,得出的酶活见表 2。

表 1 不同剂量的 ⁶⁰Co 诱变剂对菌株的致死率(%)

项目	⁶⁰ Co 剂量(万伦琴)		
	6	8	10
M-4.11	94	96	99
M-4	98	93	98

表 2 ⁶⁰Co 诱变处理后 16 支突变菌株的产酶结果(U/g)

项目	蛋白酶酶活	纤维素酶酶活
M-461	985	983
M-462	1 047	1 068
M-481	1 463	853
M-482	1 330	737
M-483	1 613	769
M-4101	1 422	975
M-61	380	657
M-62	913	742
M-63	847	716
M-81	897	853
M-82	413	912
M-83	1 480	1 053
M-101	1 813	997
M-102	1 480	995
M-103	497	843
M-104	1 113	811
原始菌株	1 828	737

由表 2 可见,诱变后蛋白酶没有正突变菌株,蛋白酶酶活均低于原始菌株;而纤维素酶有正突变菌株,其纤维素酶酶活大幅提高,其中突变菌株 M-462 的纤维素酶酶活为每克干曲 1 068U,比未诱变前提高了 45%。

2.3 突变菌株的转接实验

对突变菌株 M-4 和 M-462 进行转接实验,观察它们的稳定性,结果见表 3。

由表 3 可见,突变菌株 M-4 的蛋白酶酶活稳定在每克干曲 2 398U,突变菌株 M-462 纤维素酶酶活稳

定在每克干曲 1 056U,可作为供试菌株。

表 3 突变菌株 M-4 和 M-462 的转接实验结果(U/g)

项目	M-4 蛋白酶酶活	M-462 纤维素酶酶活
第一代	2 386	1 072
第二代	2 427	1 025
第三代	2 378	1 070
第四代	2 402	1 062
第五代	2 398	1 052
平均	2 398	1 056

2.4 培养基基质不同配比对产酶的影响

培养基的不同成分可诱发产生不同的酶,针对本研究中筛选出的突变菌株主要产蛋白酶和纤维素酶,添加豆粕有利于产蛋白酶,添加稻草粉有利于产纤维素酶。现将筛选出的两株突变菌株 M-4 和 M-462 作为饲用酶生产菌株,按 1:1 混合,试探豆粕、稻草粉、麸皮不同比例混合发酵后酶活的提高情况。培养基基质配比见表 4,结果见图 2。

表 4 培养基基质配比(%)

	豆粕	稻草粉	麸皮
1	10	10	80
2	10	20	70
3	10	30	60
4	20	10	70
5	20	20	60
6	20	30	50
7	30	10	60
8	30	20	50

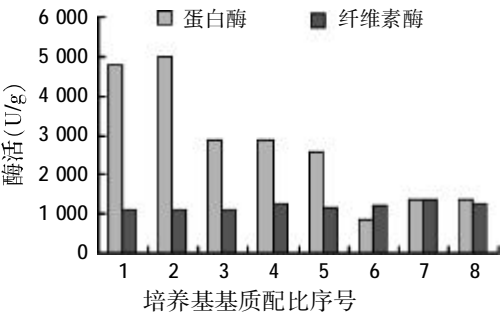


图2 培养基不同成分配比产酶结果

由图 2 可见,培养基基质不同的配比对纤维素酶酶活影响不显著,但对蛋白酶酶活有较大的影响。采用培养基基质配比 2 时蛋白酶酶活最高,可达每克干曲 5 013U,纤维素酶酶活为每克干曲 1 099U。

3 小结与讨论

供试菌株 M-4.11 通过热处理、⁶⁰Co 诱变处理后,筛选出突变菌株 M-4 和 M-462,经混株发酵,发酵产物蛋白酶酶活显著提高,可作为以蛋白酶为主,辅以纤维素酶的饲用酶高产菌株。

对影响产酶的因素包括温度、pH 值、无机盐的添加量等有待进一步研究。(编辑:孙崎峰,sqf0452@126.com)

黑曲霉 ASP-12 固态发酵木聚糖酶培养条件研究

高洁 李军训 肖军 杜金华

摘要 通过三角瓶和托盘固态发酵对黑曲霉 ASP-12 产木聚糖酶的各种环境因素进行了研究。结果表明,培养基的初始 pH 值为 4.5~5.0,发酵温度为 28~32℃,托盘发酵起始水分应控制在 60%~65%,三角瓶的水分分为 55%左右,接种量为 1%(v/m, 10^9 个/ml),培养 48h,可以达到最高酶活。对发酵过程酶活的变化趋势研究发现,高峰分别出现在 32h 和 48h,且 48h 高于 32h 时的木聚糖酶酶活。正交试验结果显示培养基最优配方为:玉米芯 5%、 K_2HPO_4 0.2%、豆粕 2%、麸皮 95%。

关键词 黑曲霉;固态发酵;木聚糖酶

中图分类号 S816.3

木聚糖在植物细胞壁中的含量仅次于纤维素,是半纤维素中含量最丰富的一种,是谷物籽实中的主要非淀粉多糖(NSP)之一。它的存在使谷物中的营养物质不能被充分暴露于动物消化液的表面,进而影响动物的消化吸收,降低了饲料的营养价值。木聚糖酶类是专一降解木聚糖的一类酶,它可以破坏植物细胞壁结构,提高内源性消化酶的活性,提高饲料养分的利用率;降解可溶性多糖,降低其粘性;减少胃肠道疾病,增进动物健康;减少粘粪和脏蛋,降低空气中有害气体浓度,减少环境污染。饲料工业中添加木聚糖酶可以为畜禽生产带来良好的生产效果和经济效益。

近年来木聚糖酶的发酵成为饲料行业研究的热点,使用菌种有细菌也有霉菌,但固态发酵多为霉菌。固态发酵有利于霉菌的生长及其代谢产物的积累,其培养条件主要包括温度、水分、pH 值、时间、接种量等方面,其中,温度和水分是生产中相对比较重要的因素。水分的高低会影响到基质的透气性和菌丝生长状况,也会影响代谢活动和目的产物合成;温度的高低会影响到菌丝的生长速度和代谢,也会影响到水分的含量;温度和水分控制相互关联并且存在矛盾。菌种的接种量、培养时间、起始 pH 值,甚至容器内基质的装量也会影响到固态发酵的好坏。因此,研究固态发酵木聚糖酶的培养条件对于进一步实现工业化生产具有重要的指导意义。本试验采用单因素试验逐步

优化了黑曲霉 ASP-12 固态发酵木聚糖酶的温度、水分、pH 值、时间等培养条件。

1 材料与方法

1.1 菌种

菌种为山东农业大学食品生物技术实验室保存菌种,经过诱变筛选到的黑曲霉 ASP-12,斜面(PDA)培养基保存。

1.2 主要仪器

1/10 000 电子分析天平(FA1004 型,上海)、恒温培养箱(500 型,山东)、精密 pH 计(PHS-3C 型,上海)、干燥箱(GZX-DH-50X 型,上海)、紫外分光光度计(UV2000 型,上海)、超净工作台(JHT 型,济南)、水分测定仪(SC69-02C 型,上海)、生物显微镜(XSS-600,山东)、温湿计(MC78 型,河北)、高压灭菌锅(DKB-8A 型,上海)。

1.3 培养基

1.3.1 斜面培养基(PDA)

马铃薯 400g、葡萄糖 20g、琼脂 18g、水 1 000ml。

1.3.2 固态培养基

麸皮 90%、玉米芯 10%、 K_2HPO_4 0.1%,麸皮和玉米芯混合均匀用沙布和牛皮纸包扎灭菌;醋酸-醋酸钠缓冲液溶解 K_2HPO_4 ,调节适当含水量和 pH 值,搅拌均匀灭菌。

1.4 培养

斜面菌种 30℃活化后传代,用无菌盐水制成孢子悬液,血球计数板法计数,按照 1%(v/m, 10^9 个/ml)接种固态基质,三角瓶装量约 40g,托盘约 250g,厚度约 3cm,置于 30℃培养箱 48h,箱内维持相对湿度 90%左右。除特殊培养条件外均按照以上条件培养,每个样品做 3 个平行。

1.5 酶活测定

高洁,山东农业大学食品学院生物技术研究室,硕士,讲师,271000,山东省泰安市。

李军训,山东宝来利来生物工程股份有限公司。

肖军,泰山学院生物科学系。

杜金华,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2006-01-04

1.5.1 木聚糖酶酶活的定义

1g 固体酶粉在 50℃, pH 值 4.6 的条件下, 每分钟水解木聚糖释放出 1 μ mol 木糖的酶量, 即一个酶活单位, 以 U/g 表示。

1.5.2 原理

木聚糖在木聚糖酶的作用下, 水解产生还原糖(以木聚糖表示), 还原糖能将 3,5-二硝基水杨酸中的硝基还原成橙黄色的氨基化合物, 在 540nm 波长下, 测吸光度 A, 吸光度与酶活成正比。

2 结果与讨论

2.1 培养温度对产酶的影响(见图 1)

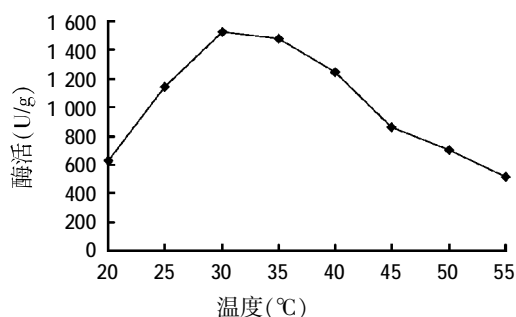


图 1 培养温度对酶活的影响

在三角瓶、托盘中培养研究了培养温度在 20~55℃ 范围内酶活的变化。结果表明, 最适的产酶温度为 28~32℃。当温度低于 24℃ 或高于 36℃ 时, 孢子生长很慢, 而且容易出现杂菌污染、基质过干, 甚至烧曲的现象。

2.2 培养基起始水分对产酶的影响(见图 2)

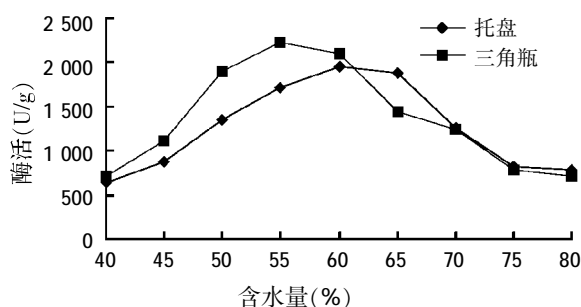


图 2 培养基含水量对酶活力的影响

三角瓶、托盘培养基含水量在 40%~80%, 培养箱内相对湿度 90% 左右。结果表明托盘和三角瓶出现结果不一致, 当托盘含水量处于 60%~65% 时, 酶活力达到最高, 而三角瓶为 55% 左右。出现不一致的原因可能在于托盘发酵时水分的损失更严重一些。培养基水分含量低于 45% 影响菌丝生长速度, 高于 70% 则酶活迅速下降。

2.3 培养基初始 pH 值对产酶的影响(见图 3)

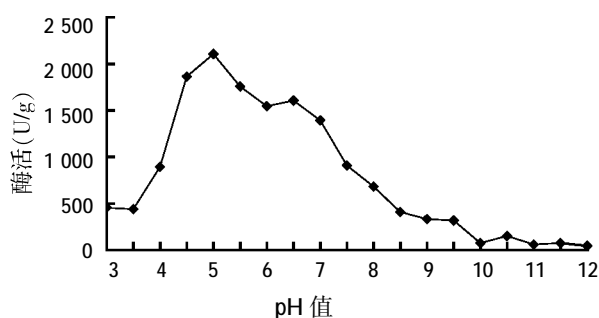


图 3 初始 pH 值对酶活的影响

用盐酸和氢氧化钠调节三角瓶培养基 pH 值为 3.0~12.0, 起始水分在 55% 左右, 30℃ 培养 48h, 低温烘干后测酶活。结果表明, 该酶在酸性条件下酶活较高, 当 pH 值 4.5~5.0 时酶活达到高峰, 当 pH 值高于 7.5 后酶活迅速下降, 菌丝生长非常缓慢, 还出现了较多杂菌污染的现象。

2.4 固态发酵过程的酶活变化

用托盘发酵研究发酵过程中的酶活随时间的变化规律, 结果发现(见图 4), 在孢子高产期 32h 出现第一个酶活高峰, 然后维持在一个较高的水平上, 直到 48h 左右出现最高峰之后下降, 而且水分损失严重, 孢子产量过高, 容易造成粉碎时孢子的污染。根据这个特点在大规模生产时可以选择第一个高峰期时结束发酵, 将有利于降低生产成本。

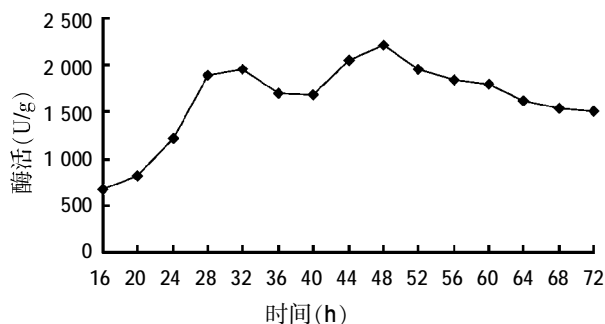


图 4 酶活随发酵时间的变化规律

2.5 培养基组分优化

在前期研究的基础上对培养基原料进行了单因素正交试验, 最终选择了培养基的主要原料, 原料包括麸皮、玉米芯、豆粕、 K_2HPO_4 , 培养基用稻壳粉来平衡干物质。

在种曲室利用托架培养盘子曲, 料层厚度 5cm 左右, 水分 65%, 起始 pH 值 4.5~5.0, 室温控制在 28~32℃, 湿度控制在 90% 左右, 发酵 48h, 发酵结束干燥

并测定酶活。

根据前期研究结果设计了 4 因素、3 水平的 $L_9(3^4)$ 正交表,见表 1 和表 2。

表 1 因素水平

水平	因素(%)			
	A(豆粕)	B(麸皮)	C(玉米芯)	D(K_2HPO_4)
1	0	85	0	0
2	2	90	5	0.1
3	5	95	10	0.2

表 2 正交试验结果

试验号	A	B	C	D	酶活(U/g)
1	1	1	1	1	1 463
2	1	2	2	2	1 945
3	1	3	3	3	1 925
4	2	1	2	3	2 069
5	2	2	3	1	1 845
6	2	3	1	2	1 687
7	3	1	3	2	1 833
8	3	2	1	3	1 781
9	3	3	2	1	1 968
m1	1 778	1 788	1 644	1 759	
m2	1 867	1 857	1 994	1 822	
m3	1 861	1 860	1 868	1 925	
R	89	72	350	166	

从表 2 可以看出因素水平的优先级为: $C2>D3>A2>B3$ 。结果显示玉米芯和 K_2HPO_4 的影响最大,其作用趋势见图 5。最终确定培养基配方为:玉米芯 5%, K_2HPO_4 0.2%,豆粕 2%,麸皮 95%。利用此配方进行验证试验,最终的 32h 发酵木聚糖酶活平均达到 1 987U/g, 48h 木聚糖酶活超过了 2 000U/g。

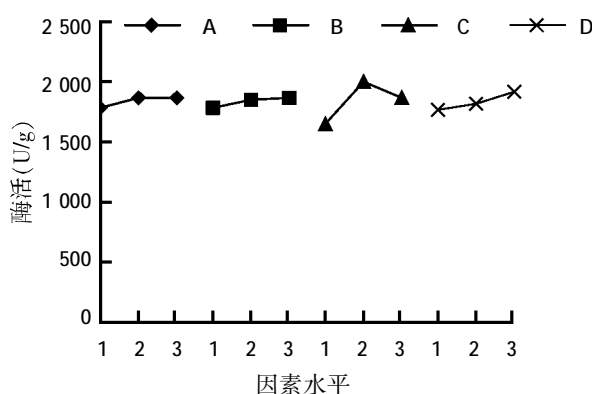


图5 因素水平作用趋势

3 小结

通过三角瓶和托盘固态发酵对黑曲霉 ASP-12 产木聚糖酶的各种环境因素进行了研究,结果表明:培养基的初始 pH 值 4.5~5.0,发酵温度为 28~32℃,托

盘发酵起始水分应控制在 60%~65%,三角瓶则为 55%左右,接种量为 1%(v/m, 10^9 个/ml)培养 48h,可以达到最高酶活。对发酵过程酶活的变化趋势研究发现高峰分别出现在 32h 和 48h,且 48h 高于 32h 时的木聚糖酶酶活,在大规模生产中考虑到生产成本,应在 32h 结束发酵。正交试验结果显示培养基最优配方为:玉米芯 5%, K_2HPO_4 0.2%,豆粕 2%,麸皮 95%。验证试验结果显示,32h 发酵木聚糖酶活接近 2 000U/g,取得了较为理想的效果。

参考文献

- 高雯. 食品酶学原理与分析方法. 黑龙江科学技术出版社, 1991.323~330
- 张树政. 酶制剂工业. 科学出版社, 1998.595~625
- 毕瑞明. 黑曲霉产木聚糖酶发酵条件的研究. 工业微生物, 2000, 30(1):53~55
- 白云铃. 细菌木聚糖酶高产菌株的筛选及产酶条件. 微生物学报, 2000, 40(4):440~443
- 陈惠忠. 产木聚糖酶菌株的选育及其液体发酵条件. 微生物学报, 1990, 30(5):351~357
- 陈红歌. 酸性木聚糖酶产生菌的筛选及产酶条件. 微生物学报, 1999(39)
- 洪枫. 调控 pH 值提高木聚糖酶活力的研究. 南京林业大学学报, 1999, 23(5):23~26
- 禹慧明. 木聚糖酶高产菌株选育. 工业微生物, 2002, 32 (1):43~44
- 杨瑞鹏. 木聚糖酶高产菌株筛选与鉴定. 华中农业大学学报, 1990, 9(3)
- 周德庆. 工业发酵培养基的特点及其原料组分. 工业微生物, 1992, 22(3):19~28
- 朱静. 微生物产生的木聚糖酶的功能和应用. 生物工程学报, 1996, 12 (4):375~378
- Black G W, hazlewood G P, millward Mo1. Microbol. 1995(15):31
- Berrin J G. High-level production of recombinant fungal endo-beta-1,4-xylanase in the methylotrophic yeast *Pichia pastoris*. Protein Expr. Purif., 2000, 19(1):179~187
- Chauraux. J. Bio.Chem., 1992(267):4 472
- Damaso M C, Andrade C M, Pereira Junior N. Use of corncob for endoxylanase production by thermophilic fungus *Thermomyces lanuginosus* IOC-4145. Appl. Biochem. Biotechnol., 2000 (84~86):821~834
- Dekker R F H. Chem. Biochem., 1976(532):317
- De groot PW. An endo-1,4-beta-xylanase-encoding gene from *Agaricus bisporus* is regulated by compost-specific factors. Mol. Biol., 1998, 277(2):273~284
- Duck H. Sub. Biotech. Bioeng. 1978(32):821~825
- Friderick M M. biotechnology. Bioengineer. 1985(27):525~532
- Forronen A., Ronvien, J.chem. 1995(34):47~56
- Gomez B., Multiplicity and expression of xylanases in the rumen fungus *Neocallimastix frontalis*. FEMS Microbiol. Lett., 1998, 1164 (1):47~53
- Henrissal. biochem. J. 1996(316):695~696

(编辑:孙崎峰, sqf0452@126.com)

溶菌酶的应用现状

刘莹 孙荣丹 杨翔华 王丽

摘要 溶菌酶(Lysozyme Ec 3.2.17)又称胞壁质酶或N-乙酰胞壁质聚糖水解酶,它能专一性的作用于目的微生物的细胞壁,而不能作用于其它物质,是一种无毒、无害、安全性很高的盐基水解蛋白酶,被广泛应用于医药、食品、饲料等行业。文章介绍了溶菌酶的来源、结构、抑菌机理,论述了溶菌酶在饲料中的应用,并展望了其发展及应用前景。

关键词 溶菌酶;胞壁质酶;N-乙酰胞壁质聚糖水解酶;饲料

中图分类号 S816.7

畜禽胃肠道疾病是影响生产的主要疾病之一,传统预防措施是在饲料中添加抗生素。近10年来,随着科学水平的提高,人们对抗生素的副作用有了深刻认识,如耐药菌的产生、抗生素在畜产品的残留以及抗生素的长期使用而导致畜禽细胞免疫及体液免疫功能的下降等。溶菌酶是1922年Alexander Fleming发现的一种能选择性的溶解微生物细胞壁的酶类,在实际应用中,溶菌酶具有抗菌、抗病毒、止血、消肿、镇痛及加快组织修复等功能。因此,可用于医疗和食品添加剂,用于提取微生物细胞内各类物质和进行原生质体制备及融合育种。近年来,在饲料行业中也开展了一些有关溶菌酶应用方面的研究工作,但还有待于进一步的研究开发。为了更好地促进这一开发研究工作,本文概述了国内外有关溶菌酶在畜禽饲料添加剂方面的应用情况。

1 溶菌酶

溶菌酶(Lysozyme Ec 3.2.17)又称胞壁质酶,它广泛存在于鸟类、家禽的蛋清中和哺乳动物的泪液、唾液、血浆、乳汁、胎盘以及体液、组织细胞内,其中在蛋清中含量最丰富(约0.3%)。在一些植物体如卷心菜、萝卜、无花果和微生物体内也存在溶菌酶。溶菌酶是一种糖苷水解酶,在干燥条件下可在室温下长期保存,其纯品为白色或微白色结晶型或无定型粉末,无臭、味甜、易溶于水,不溶于丙酮、乙醚等。其化学性质稳定,在pH值4~7范围内,100℃处理1min仍能保持原酶活性,但在碱性环境中该酶对热稳定性较差。溶菌酶最适pH值为6.6,等电点pH值为10.5~11。

2 溶菌酶的催化作用机制

刘莹,辽宁石油化工大学环境与生物工程系,硕士,113001,辽宁抚顺。

孙荣丹、杨翔华(通讯作者)、王丽,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2006-01-05

细胞壁多糖是N-乙酰氨基葡萄糖(NAG)-N-乙酰氨基葡萄糖乳酸(NAM)的共聚物,其中的NAG及NAM通过 β -1,4糖苷键而交替排列。溶菌酶是一种葡萄糖苷酶,能催化水解NAG的C1和NAM的C4之间的糖苷键,但不能水解NAG的C1和NAM的C4之间的 β -1,4糖苷键。

3 微生物溶菌酶

参与细菌细胞壁溶解作用的酶大致可分为作用于糖苷键和作用于肽和酰胺部分的两类。目前主要有七种微生物溶菌酶:内-N-乙酰己糖胺酶、酰胺酶、 β -1,3, β -1,6葡聚糖酶和甘露聚糖酶、壳多糖酶(几丁质酶)、磷酸甘露糖酶、脱乙酰壳多糖酶。

4 溶菌酶在畜禽饲料中的应用

4.1 降低毒素释放

梁爱华等研究表明,鸡蛋清溶菌酶与 β -内酰胺类抗生素联合使用能阻止细菌溶解,降低细菌内毒素的释放,并减少巨噬细胞 $\text{TNF}\alpha$ 和L-6的产生。证明鸡蛋清溶菌酶与 β -内酰胺类抗生素联合使用能降低细菌内毒素的释放,从而可能减轻内毒素血症。

4.2 作饲料防腐剂和杀菌剂

由于溶菌酶本身是一种天然蛋白质,无毒性,是一种安全性高的饲料酶,它能专一性的作用于目的微生物的细胞壁,而不能作用于其它物质。该酶对革兰氏阳性菌、枯草杆菌、耐辐射微球菌有强力分解作用;对大肠杆菌、普通变形菌和副溶血弧菌等革兰氏阴性菌等也有一定的溶解作用;与聚合磷酸盐和甘氨酸等配合使用,具有良好的防腐作用。在饲料中添加溶菌酶可防止霉变,延长饲料的贮存期,减少不必要损耗。黄健等指出,溶菌酶与葡萄糖氧化酶有增效作用,且抗酸作用还可以通过花生四烯酸的加入得到进一步增强。

4.3 具有防治仔猪腹泻的作用

Linderman等报道,仔猪断奶时,胰腺的分泌突然下降,使动物消化功能出现短期障碍,养分吸收降低

而导致腹泻。添加溶菌酶制剂后能有效地控制因消化不良而引起的腹泻,这是因为溶菌酶可以提高内源性蛋白酶的活性,促使抗炎多肽的产生,具有抵抗和消除炎症的作用。李小辉等报道,溶菌酶与免疫球蛋白在功能上有着紧密的联系,并能与其它生命活性物质进入补体增强抗体的活性,从而杀灭细菌,因为溶菌酶对引起仔猪腹泻的埃希氏大肠杆菌和轮状病毒具有较强的抑制作用。在现代饲料工业中,经常使用微生物添加剂,其作用是维持动物体消化道内生态平衡。在微生物生态系统中,微生物添加剂抵抗病原菌的主要方式是依靠竞争性排斥作用,即产生不利于有害菌的产物,例如产生溶菌酶、抗菌物质、乳酸和过氧化氢等。

Morgan 等报道,溶菌酶制剂还能有效防治球虫病。饲喂小麦基础日粮的鸡,添加和不添加酶对球虫病的应激呈现不同的反应,对照组鸡生长被抑制 52.5%,而加酶组为 30.5%,而且损伤系数加酶组好。

4.4 改善肠道微生物群,提高抗病力

胃肠道微生物区系过度发酵会干扰消化的正常生理过程。Choct 等认为,完整的可溶性 NSP 的提高将对增加小肠中发酵微生物的活性产生负面影响。Carre 等报道,添加酶制剂后,使 NSP 的分子量减小,降低食糜粘度,从而减少回肠微生物发酵,增加盲肠的发酵作用,为机体提供部分能量,相应改善动物的生产性能。

胃肠道微生物的发酵状态还与动物的某些疾病有关,NSP 的增加使发酵水平提高。添加酶制剂后,可使结肠和直肠中短链脂肪酸的产生显著下降,从而预防某些疾病的发生。酶还能改变肠道微生物群,增加肠道有益菌,使肠道内的胺、甲酚等有害物质减少,增加机体抗病力,提高动物的生产性能。

4.5 可促进鸡体的健康

在不用任何抗生素情况下,在肉鸡饲料中添加饲用溶菌酶制剂,可促进鸡体的健康,提高增重和饲料报酬,减少死亡。邵春荣等用自制的饲用溶菌酶制剂作为饲料添加剂,对 175 羽肉用仔鸡进行了饲养对比试验,结果显示,在不用任何抗生素的情况下,饲料中添加 4~100mg/kg 的饲用溶菌酶制剂,试验组平均增重比对照组提高 2%~2.8%;饲料消耗量降低 2.1%~5.2%;存活率提高 14%~17%;饲料报酬提高 5.0%~8.8%。

Okonenon.T 等用鸡蛋白在 0~4℃下添加 5%氢氧化钠和氯化钠,加热得到白色凝胶状物,用于饲喂肉鸡,结果活重比对照组提高 2%;饲料报酬提高 5.0%~

8.8%;存活率提高 2%~9%。

4.6 促进饲料中营养物质的消化、吸收

饲用溶菌酶可以促进饲料中营养物质的消化、吸收,提高饲料的消化率,最大限度地提高饲料原料的利用率。

4.7 在水产养殖工业中的应用

活菌制剂中有益微生物进入水产动物机体后,形成优势菌群,产生溶菌酶、过氧化氢等物质,可杀灭潜在病原菌,并且产生各种消化酶,有利于养分分解,具有高度安全性,不会对水产动物产生任何危害,也不会在水中和鱼体内有残留。

5 溶菌酶使用时的注意事项

在使用溶菌酶时首先应充分研究掌握溶菌酶的特性;其次,要控制好物理因素如水分、pH 值、离子强度等对其活性的影响。因为溶菌酶通常对革兰氏阳性菌的作用非常有效,但对革兰氏阴性菌则效果很差或无效,因此,首先要弄清要抑制菌的微生物种类,才能更大程度地发挥溶菌酶的作用。

6 小结及展望

由于饲料生产中长期使用抗生素而导致畜禽细胞免疫及体液免疫功能下降,同时抗生素可在畜禽体内残留而危及人类的健康,饲料生产急需无毒、无害的添加剂,饲用酶制剂应运而生。饲用酶制剂一般是直接作用于饲料的水解酶,可以改变肠道微生物群落,促进饲料的消化、吸收,提高饲料的利用率。但是这类酶大多热稳定性差,易失活,在胃内酸性环境下易被破坏,因而起不到实际效果。但是饲用溶菌酶具有以下优点可弥补其不足:①高热稳定性、耐酸性,便于储藏和运输,是一种安全性很高的添加剂。②饲用溶菌酶可使用溶菌酶的粗制品,节省了生产成本,同时还具有添加量小、容易保存等优点。③作为畜禽饲料酶制剂在饲料加工及通过胃内酸性环境时仍能保持较高的酶活力。④最大限度地提高饲料原料的利用率,促进营养物质的消化和吸收。我国现有的溶菌酶的生产几乎都采用从鸡蛋清中提取溶菌酶,因此,研究开发经济、高效的溶菌酶生产方法是急需解决的问题。预测今后饲用溶菌酶的生产及应用在以下几个方面开展:①高效、无毒菌株的筛选;②高效生产菌的基因重组;③新工业、新技术的研究开发应用;④拓宽溶菌酶的品种及应用领域;⑤饲料高效防腐剂研制。

(参考文献 40 篇,刊略,需者可函索)

(编辑:刘敏跃,lm-y@tom.com)

我国鱼类营养与饲料的发展及研究趋势

徐奇友

20世纪80年代初期,国家把水产动物营养学与饲料配方等研究列入了国家饲料开发项目,开始了我国水产动物营养与饲料的研究。目前,对鲤鱼、草鱼、鲫鱼、斑点叉尾鲴、罗非鱼等营养与饲料研究具备了一定基础,但由于起步晚、投入少、基础研究薄弱,缺乏系统的科学研究,大多数养殖品种营养研究不够深入,制约了渔用饲料工业的发展。水产动物营养研究与饲料技术的开发是水产饲料工业的基础,因此,我国对水产动物营养的研究和开发十分迫切。

1 研究现状

1.1 鱼类营养的科技成就

我国从“六五”至“八五”期间,相继开展了“我国主要养殖鱼类的营养需求和鱼饲料配方的研究”、“主要水生动物饲料标准及检测技术的研究”、“鱼类营养及饲料配制技术的研究”等项目研究,取得了一些成果:①取得了主要水产养殖动物,如草鱼、青鱼、团头鲂、鲤鱼、罗非鱼、鳊鱼和对虾等不同生长阶段的营养需求和配合饲料的主要营养参数,为实用饲料的配制提供了理论依据。②制订了水产饲料的质量检测技术和饲料生物学综合评定技术标准,建立了一批国家、省部级渔用饲料检测机构,使渔用饲料工业生产走上正规化。③查清了我国水产养殖饲料源,对常用饲料源进行了营养价值评定,为高效使用人工配合饲料的开发提供了依据。④研制了主要养殖品种的人工配合饲料,如鳊鱼、中国对虾、鲤鱼等饲料已达到或接近国际水平;开发了一些名贵品种如鳙鱼、长吻鮠、大口鲶、斑鳊、中华鳖、鲟科鱼类等的沉性或浮性人工饲料。⑤开发了一批渔用饲料添加剂及预混料。研制了草鱼、鲤鱼、中国对虾等品种的高效优质复合预混料配方;开发了具有中国特色的中草药添加剂,对水中稳定型维生素C衍生物、氨基酸微量元素螯合物、各种酶制剂和活菌制剂等也做了很好的研制、开发与应用工作。⑥颁布了草鱼(SC/T 1024—2002)、鲤鱼(SC/T 1026—2002)、鳊鱼(SC/T 1004—1992)、虹鳟(SC/T

1030.7—1999)、罗氏沼虾(SC/T 1066—2003)、中华鳖(SC/T 1047—2001)、真鲷(SC/T 2007—2001)、牙鲆(SC/T 2006—2001)、中国对虾(SC 2002—2002)和大黄鱼(SC 2012—2002)的饲料标准;目前一些主要养殖鱼类的饲料标准也在制定。⑦水产饲料机械在20世纪80年代初发展起来,技术水平达到发达国家20世纪80年代末或90年代水平,完全有能力设计和制造我国水产饲料加工企业所需的大中型水产饲料成套生产设备(任泽林,2001)。

1.2 鱼类营养与饲料研究存在的问题

目前,国产鲤鱼、草鱼、罗非鱼、鳊鱼、对虾、罗氏沼虾和鳖的商品饲料的质量已接近或达到国际平均水平。但由于我国水产动物营养研究起步晚,人力和物力的投入也相对较少,在鱼虾类营养生理和营养参数等应用基础研究方面与国外先进水平的差距仍然较大。

1.2.1 基础研究不足,缺乏系统性

目前研究主要集中于蛋白质、脂肪与碳水化合物等营养素需要上,但对微量营养元素的营养作用及其需要量缺乏深入的研究。在研究方法上主要是配方筛选,忽视了消化生理、营养生理等基础研究。

1.2.2 水产专用添加剂的开发不足

水产专用添加剂的应用基本是套用畜禽的,在开发水产专用添加剂上投入不足。

1.2.3 冷水鱼营养研究滞后

我国在冷水鱼的营养和饲料研究方面投入较少,如虹鳟等冷水鱼饲料与国外的差距较大,严重影响冷水鱼类养殖业的发展。

1.2.4 对亲鱼营养和开口饲料研究不足

我国在亲鱼和仔稚鱼、幼稚虾、稚贝的营养生理和定量营养需要方面的研究非常薄弱,在微颗粒饲料工艺研究领域仍然有许多空白。

1.2.5 对水产饲料原料的开发与质量控制不够

据专家测算,目前我国饲料工业蛋白饲料短缺1000万吨,能量饲料短缺3000万吨。水产饲料的蛋白源主要来自鱼粉,而我国自产鱼粉不足20万吨,大量鱼粉依靠进口,是世界最大的鱼粉消费市场,实际使用鱼粉量占全球水产饲料鱼粉使用总量的近50%。近年来,受全球渔业自然资源衰退的影响,世界鱼粉产量

徐奇友,中国水产科学研究院黑龙江水产研究所,博士,副研究员,150070,哈尔滨市道里区河松街232号。

收稿日期:2006-01-26

逐年下降,而目前,我国水产饲料中鱼粉的使用比例偏高。

1.2.6 环境污染

在淡水养殖中,还有部分营养成分是通过直接大量投喂糠麸、饼粕类农副产品来获得的。直接投喂这些农副产品,造成鱼类营养不平衡,转化率不足 20%,这样不仅每年要浪费饲料原料,而且更严重的是加速了养殖水域环境的污染,使养殖对象疾病频生,直接威胁水产养殖业及相关产业的可持续发展。在海水养殖中,估计有 5 万吨左右的对虾和鱼类是由 10 万吨人工配合饲料养殖的,而其它的 39 万吨鱼虾几乎是用杂鱼、虾和低质贝类养殖的(麦康森,2001)。这不仅是对有限资源的巨大浪费,更是环境污染、病害发生的重要因素。因此,必须全面开展水产养殖动物的营养研究,开发优质高效的人工配合饲料,提高饲料的利用率,减少资源浪费和环境污染,保证水产养殖的可持续发展。

2 我国水产动物营养与饲料的展望

我国水产动物营养与饲料的研究虽然取得了一定成绩,积累了一些成功经验,但与发达国家和实际需要相比还有一定差距。如果维持水产品每人每年的消费量是 28.8kg,到 2030 年每年约需要水产饲料 2 050~3 000 万吨,然而,我国目前的商品化水产配合饲料年产量仅 300 万吨左右(麦康森,2001)。基于目前水产饲料的产量和研究水平,要达到上述目标任务是相当艰巨的。为推动水产动物营养和饲料科学的进步,保证水产养殖业健康发展,在今后一个时期,需着重加强下列方面的工作。

2.1 水产动物营养需要量及饲料营养价值评定的研究

营养需要研究是水产动物营养研究的主要内容,是饲料工业发展和提高的科学基础。深入系统研究我国主要水产养殖动物的营养需要仍然是今后的主要课题,主要加强能量、氨基酸、维生素和矿物元素(特别是微量元素)的营养需要研究,与动物营养生理、生化等学科结合,与动物体内代谢循环等内部调控机制相组合,与动物免疫机能相结合,采用当代最新的技术和手段进行营养需要研究。

选择研究对象以我国特有的、具有重要经济价值的养殖品种为主,以生态环境、食性和种属进行分类,对具有代表性的进行集中研究,即冷水性和温水性种类,淡水种类和海水种类,草食性、杂食性种类、肉食性的鱼、虾、贝类。每类属选择 1 个代表种进行研究。对研究已经较为完善的种类如鲤鱼,国外研究较多的如罗氏沼虾、虹鳟、斑点叉尾鮰、鳊鲶等,则侧重于国外研究成果在国内饲料生产中的开发和产业化应用。

确定动物营养需要量和饲料营养价值评定,是动物营养学的两大基础性研究工作,前者虽已取得了丰硕成果,但尚未确立有效养分的营养需要量。由于对有效养分的营养需要研究非常有限,所以要加强水产动物饲料原料的营养价值评定,实现按饲料有效养分来研究动物营养需要和设计配方。通过测定我国海、淡水主要养殖种类常用的饲料源营养素的消化率和消化能,研究主要饼、粕类饲料源中抗营养因子对水产动物生长与健康影响以及脱毒与营养增效技术。

2.2 环境营养学研究与环保饲料的开发

饲料中的营养成分,例如氮和磷,如果添加过量或添加的物质不利于动物的吸收,则会污染水质。研究表明,水体氨氮和亚硝酸盐过高导致鱼体血液中血红蛋白转化为高铁血红蛋白,降低血液载氧能力,减少鱼体对营养物质的利用率,其实质是增加了鱼体对饲料中营养物质的需要。水产养殖系统排出物所造成的养殖环境磷污染和氮污染日趋严重,这迫使营养学家需要进行深入的研究,发展高能量、低蛋白、高利用率的环保饲料。环保饲料是要尽量降低饲料中的氮和磷,特别是不可利用氮和磷的含量;另一方面是对饲料中利用效率低的成分尽量提高其利用率。如利用各种生物技术产品、酶制剂,可以提高难消化营养成分的有效利用。使用植酸酶一类的饲料添加剂以改善水产养殖动物对植物性饲料中磷的利用。

发达国家早已开始研究动物饲料组成与生态环境之间的相互作用关系,开发低污染的绿色环保饲料。我国的水产养殖品种众多、养殖环境多样、养殖模式各异。我们通过环境营养学的研究,开发出满足不同品种的、不同养殖环境和养殖模式的配合饲料,如混养饲料、添补饲料等,以降低养殖的饲料成本和对环境的污染。

2.3 水产动物营养免疫学、营养病理学、分子营养学的研究

随着集约化养殖的发展,动物病害成了制约动物健康养殖的关键因素之一。在水产动物营养研究中,营养免疫学是国际上近几年来发展起来的一门新兴学科。通过营养学方法来提高养殖动物的免疫力和抗病力,是健康养殖、维持养殖业可持续发展的重要途径。营养与免疫之间存在着许多相互作用关系,许多微量营养素如维生素 A、维生素 E、维生素 C、维生素 B₆、铁、硒、氟化物、DHA(廿二碳六烯酸)和 EPA(廿碳五烯酸),在养殖鱼处于应激状态下,最低需要量就不能保证其健康,容易被病原体感染。已知多种营养素能提高水产养殖动物免疫活性的作用。由于机体免疫

与健康养殖、绿色养殖紧密联系,营养免疫学在水产动物营养中的地位将越来越突出。

同时,利用分子生物学所进行的研究主要包括转基因鱼营养需要研究、转基因植物在饲料中安全评价、营养物质合成的基因控制等。

2.4 鱼粉和鱼油替代饲料的研究

全球鱼粉产量与饲料市场的鱼粉需求缺口无疑将越来越大,而我国人口众多、养殖业规模巨大,这个问题将尤为突出。我国鱼粉产量很有限,每年不足20万吨,而且从捕捞、运输、储藏到加工等环节缺乏严格的质量控制,鱼粉质量较差,目前每年都要从国外进口70~80万吨鱼粉来生产配合饲料。组织力量加大投入开发新的饲料蛋白源如单细胞蛋白,或通过植物蛋白的生物工程改质、化学或物理方法脱毒等,提高植物蛋白源的消化率和利用率,降低鱼粉在饲料配方中的比例,对我国养殖业的健康、持续发展具有重大的战略意义和经济意义。

同时,由于鱼油的产量和质量都不能满足饲料业发展的需求,研究鱼油的替代品及其对鱼生长和代谢的影响非常必要。

2.5 水产动物的肉质和安全

营养与水产品质量的关系,重要的是改善养殖产品肉质。随着生活水平的提高,人们对养殖动物产品品质的要求也越来越高,除了要求产品中不能残留对人体有害的成分外,还要求营养丰富、口感好。水产养殖产品保持野生天然肉质和风味,可以提高养殖产品市场价格。由于摄食与自然水体生物饲料营养组成有差异的配合饲料,加之不良水质对肌肉成分的影响和品种退化等诸原因,养殖水产动物肉质(口感、色泽等)逊于野生水产动物,这就需要进一步研究饲料的营养平衡和微量营养成分在饲料中的作用。维生素A、E和C,尤其类胡萝卜素等色素类和脂肪酸等是存在于天然饲料中的有效活性成分,能够起到改善养殖产品的体色和肉质的作用。

同时,有害物质在水产品中沉积而进入人类的食物链,因此,对含有这些潜在毒素的饲料及饲料添加剂进行安全评估势在必行。

2.6 加强水产饲料添加剂的开发

我国饲料添加剂工业严重滞后于饲料加工业,而在水产饲料方面,这一状况更为突出。水产饲料专用添加剂品种极少,多数是套用畜禽饲料添加剂,一个突出问题是适用于畜禽的添加剂可能不适用于水产动物,且可能对水产动物产生负面效应。营养性添加剂,如氨基酸、脂肪酸、维生素、无机盐等,可与畜禽饲料通用。

因此,可集中开展中性植酸酶、主要消化酶、诱食剂、着色剂、水产稳定性维生素和微量元素等水产饲料添加剂的研究开发。重点研究中性植酸酶饲料添加剂,以提高我国主要淡水养殖种类中无胃鱼类有效利用植物性饲料中的磷源;研究中草药添加剂,以增强水产养殖动物的免疫功能和肉质。

2.7 饲料原料的开发

全国饲料工业办公室预测,今后一段时间我国饼、粕类饲料原料呈短缺趋势。随着养殖业的进一步发展,这一缺口将继续增加,成为限制包括水产饲料在内的饲料加工业发展的瓶颈。饲料蛋白质资源是我国饲料工业和水产养殖业发展的制约因素。研究内容包括:①含有毒物质饼、粕类的开发应用。我国的含有毒物质的饼、粕(棉籽、菜籽)产量十分丰富,可采取多种途径进行减毒、脱毒。②动物屠体副产品的开发利用。主要有胶原(皮革废料)蛋白粉的研制开发;肉骨粉的加工利用;屠体血粉的处理(包括发酵)与利用;畜禽肠和羽毛粉的有效处理利用等。③发酵工业副产品的开发应用。主要有下述几种途径:利用造纸、味精生产、制糖工业副产物进行微生物发酵(深层),生产出优质的单细胞蛋白质——饲料酵母;应用生产玉米淀粉和酒精的副产物,加工制成植物性优质蛋白粉;利用一般的杂粕类植物性蛋白质原料为底物,选用多种混合菌株的固体发酵工艺,生产出含有复合酶的高蛋白饲料。④优质树叶粉、草粉的研制开发。

此外,研究和规范我国水产动物营养与饲料研究方法和操作规程、亲鱼和育苗期幼苗的营养生理研究与开口饲料的研制、水产养殖投饲系统的研究都将是研究的热点。

参考文献

- 1 麦康森,赵锡光,谭北平,等.我国水产动物营养研究与渔用饲料的发展战略研究.浙江海洋学院学报(自然科学版),2001,20(21):1-5
- 2 岑玉吉.我国水产饲料业的现状与发展动态.淡水渔业,1999,29(2):37-40
- 3 麦康森.鱼类营养研究的新动态.广东饲料,1997(1):40-41
- 4 任泽林,周文豪.我国水产动物营养与饲料的发展概况及展望.饲料广角,2001(8):1-4
- 5 黄少涛.未来水产饲料的发展趋势.台湾海峡,1998,17(12):213-216
- 6 周志刚.国际鱼类营养发展现状与趋势——第11界国际水产动物营养与饲料研讨会印象.饲料广角,2004(11):35-36

(编辑:高雁, snowyan78@tom.com)

不同饲料蛋白质水平对

吉富品系尼罗罗非鱼幼鱼生长和鱼体组成的影响

胡国成 李思发 何学军 邓效伟 周培勇

摘要 用3种不同蛋白含量(23.1%、37.6%和47.9%)的配合饲料投喂吉富品系尼罗罗非鱼幼鱼78d,结果显示,①随着饲料蛋白质含量从23.1%上升到47.9%,平均日增重从0.30g/d上升到0.74g/d,3组之间的日增重和体重有显著差异($P<0.05$);饲料系数从1.53下降为0.98,3组之间的饲料系数有显著差异($P<0.05$)。②不同的蛋白质水平对鱼体蛋白质和脂肪的含量有影响,各组之间差异显著($P<0.05$),对灰分的影响差异不显著($P>0.05$)。③蛋白含量为23.1%、37.6%和47.9%的配合饲料的成本分别为2.77元/kg、3.67元/kg、4.60元/kg。④初步认为蛋白含量为37.6%的配合饲料更适合吉富品系尼罗罗非鱼苗种培育的生产需要。

关键词 饲料蛋白质含量;尼罗罗非鱼;吉富品系;幼鱼;生长;鱼体组成

中图分类号 S816.32

The effects of varying dietary protein level on the growth and body composition of juvenile of GIFT strain oreochromis niloticus

Hu Guocheng, Li Sifa, He Xuejun, Deng Xiaowei, Zhou Peiyong

Abstract Juveniles of GIFT strain oreochromis niloticus were maintained on diets of different dietary protein levels(23.1%, 37.6% and 47.9%)for 78 days within nine cages in a rectangle concrete tank. The results showed: ①With dietary protein level vary from 23.1% to 47.9%, the average of the daily growth rate was increased from 0.30g/d to 0.74g/d. The average of the daily growth rate and final weight were both very significantly affected by experimental diets ($P<0.05$); Feed coefficient was decreased with dietary protein levels varying from 23.1% to 47.9%, feed efficient from 1.53 to 0.98. ②Body composition analysis showed that the protein and fat of gross body of juvenile of GIFT strain oreochromis niloticus were affected by dietary protein content significantly($P<0.05$), moisture insignificantly($P>0.05$).③The cost of three diets was 2.77yuan/kg, 3.67yuan/kg, 4.60yuan/kg respectively. ④The experimental result showed that the diet with 37.6% protein level was better than other diets.

Key words dietary protein;oreochromis niloticus;GIFT strain;juvenile;growth;body composition

蛋白质是影响鱼类生长和饲料成本的主要因素。一般情况下,增加饲料中蛋白质的含量可以提高养殖产量,但是如果饲料蛋白质含量过高,则可能造成蛋白质的浪费,而且氨基酸代谢产生的氨会破坏水质;另一方面,如果饲料蛋白质含量不能满足水产动物的需要,又会影响其生长。因此,饲料中蛋白质含量必需适宜,才能保证养殖产量的提高,并保持较为合理的

成本。

尼罗罗非鱼已经成为我国集约化养殖如网箱、流水和工厂化养殖的重要种类。它具有生长快、养殖周期短、无肌间刺、肉质细嫩、味道鲜美等优点,深受养殖者和消费者的喜爱^[1]。关于罗非鱼的营养需要和配合饲料的研究,国内^[2-4]、国外已有很多报道^[5-9],但大多报道尼罗罗非鱼成鱼生长所需的饲料蛋白质,对其幼鱼的报道并不多,即使有一些报道,意见也不一致。本试验通过饲料蛋白质不同水平对吉富品系尼罗罗非鱼幼鱼生长和鱼体组成影响的研究,寻找符合其最佳生长的饲料配方,促使其快速生长,提高养殖产量和经济效益。

1 材料与方法

1.1 试验用鱼

胡国成,上海水产大学,农业部水产种质资源与养殖生态重点开放实验室,200090,上海。

李思发、何学军,单位及通讯地址同第一作者。

邓效伟、周培勇,国家级青岛罗非鱼良种场。

收稿日期:2006-01-04

★ 国家“十五”攻关项目子专题

尼罗罗非鱼是本实验室在国家级青岛罗非鱼良种场系统选育的吉富品系尼罗罗非鱼。2004年3月初在温室大棚中配组繁殖,雌雄比为3:1。4月份大量出苗,及时捞出转移到育种室水泥池(14m³)中强化培养;5月初从中挑选体重约为3~4g,规格基本一致、体格健壮鱼约2000尾,暂养于水泥池中。

1.2 试验饲料

试验用饲料为自制,设计3个蛋白质水平,分别为20%(简称D1)、35%(简称D2)、50%(简称D3)。实际测得D1、D2、D3的粗蛋白含量分别为23.1%、37.6%、47.5%。试验饲料用秘鲁白鱼粉、豆粕、花生粕、菜粕作为蛋白源;用玉米、麦麸、米糠提供碳水化合物;用次粉和鱼油平衡能量,同时鱼油可提供必需脂肪酸;用磷酸二氢钙调节有效磷;另外添加维生素和矿物盐,具体配方见表1。按照饲料配方,各种成分先在多功能搅拌机中混匀,然后加入鱼油和水继续混合,直到有面团形成时为止。作好的面团放到不锈钢电动绞肉机中制粒,分别制成粒径为1.5mm、2.5mm两种规格,晒干放在阴凉处保存。

表1 试验饲料的主要成分

成分	D1	D2	D3
白鱼粉(%)	15	30	49
豆粕(%)	11	31	31
玉米(%)	40	20	3
麦麸(%)	14	6	4
次粉(%)	15	8	8
鱼油(%)	1.5	1.5	1.5
(维生素+矿物盐) ^① (%)	3.5	3.5	3.5
实际成分(干重)			
粗蛋白(%)	23.1	37.6	47.9
粗脂肪(%)	5.9	6.6	7.6
粗灰分(%)	6.3	8.9	11.6
水分(%)	7.6	9.1	7.5
(NFE ^② +粗纤维)(%)	57.0	37.8	25.4
总能量(MJ/kg)	17.58	17.98	18.69

注:1.矿物盐、维生素由上海金童饲料有限公司提供;

2.NFE(无氮浸出物)=100-[(粗蛋白(%)+粗脂肪(%)+粗灰分(%))].

1.3 试验时间、地点和设备

试验于2004年5月7日开始,7月24日结束,共计78d。

试验在国家级青岛罗非鱼良种场育种室中进行。在育种室中选择一个长方形水泥池(28m³,8m×3.5m×1m),用竹竿搭建9个架子,将9个聚乙烯网箱(1m×1m×1m)固定其上。箱底用装有沙子的PVC管(d=30mm)作沉子,两排网箱下面分别有两根7.5m长的

气管。

1.4 饲养管理

试验鱼平均初始规格为3.61~3.89g。本试验设计3个蛋白质水平,每个水平设3个重复,随机分配9个网箱。试验开始前先将试验鱼在网箱中驯养一周。每个网箱放养120尾,每天投喂4次(8:00、10:30、14:30、16:30),投喂量为体重的3%~5%。每隔半月称量体重一次,根据体重及时调整投饵量。试验期间每天早晨8点虹吸法吸污,同时换水泥池中2/3的水,并且记录水温,每隔一个月清洗网衣一次。

水温26~30℃,pH值7.6左右;24h冲气,采用自然光照周期(12h白天,12h黑夜),溶氧5mg/l左右。

1.5 生长样品的采样测定和数据处理分析

按下式计算生长率^[9]:

$$\text{绝对增重率(AGR)(g/d)} = (W_2 - W_1) / (t_2 - t_1)$$

$$\text{特定增重率(SGR)(%/d)} = [(\ln W_2 - \ln W_1) / (t_2 - t_1)] \times 100$$

式中:W₁、W₂分别是时间为t₁与t₂时的体重。

饲料系数(FCR)=饲料摄取量/鱼体净增重

试验数据采用SPSS12.0统计软件分析,采用单因素方差分析(ANOVA)和Duncan's多重比较法比较各组之间的差异^[10]。

1.6 鱼体组成样品的采集和分析

试验结束后称重取样,每个网箱取鱼5尾烘干作为全鱼样品。鱼体蛋白质含量采用凯氏定氮法测定,用Kjeltec 2200自动凯氏定氮仪测定每份样品氮的含量,粗蛋白含量=6.25×含氮量;用索氏抽提法测定脂肪含量;用马福炉在550℃高温下灼烧至恒重测定灰分含量;用恒温干燥法(105℃)测定样品中水分的含量。每次样品均重复测定2次,若相对偏差大于2%,则增加重复次数,采用相对偏差在2%以下的两个测定值的平均数为测定结果。

2 结果

2.1 吉富品系尼罗罗非鱼幼鱼的生长

经过78d的饲养,吉富品系尼罗罗非鱼幼鱼的生长情况见图1、表2。从图1可以看出,随着养殖天数的增加,3组幼鱼的体重均有显著增长,D3(47.9%)组的幼鱼生长最快,D2组(37.6%)次之。从表2可以看出,3组饲料对尼罗罗非鱼幼鱼的生长有显著性影响(P<0.05),其中,摄食D3(47.9%)的幼鱼平均日增重为0.74g/d,试验结束时体重最大,为61.7g;摄食D1(23.1%)的幼鱼平均日增重为0.30g/d,试验结束时体重最小,为27.0g。

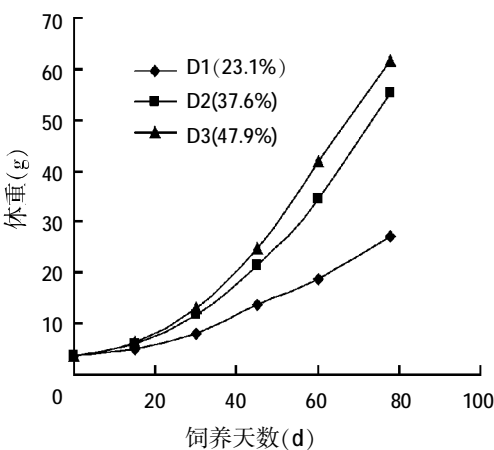


图1 投喂不同蛋白质水平饲料的吉富品系尼罗罗非鱼幼鱼生长曲线

3个试验组的饲料系数有显著性差异($P<0.05$),其

表2 摄食不同蛋白质水平的饲料罗非鱼幼鱼的绝对增重率(AGR)、特定增重率(SGR)、饲料系数(FCR)($\bar{X}\pm SD$)

饲料组	初始均重(g)	结束均重(g)	绝对增重率(g/d)	特定增重率(%/d)	饲料系数(FCR)	饲料成本(元/kg)
D1(23.1%)	3.67±0.05	27.0±0.7 ^a	0.30±0.01 ^a	2.56±0.02 ^a	1.53±0.07 ^b	2.77
D2(37.6%)	3.79±0.10	53.3±1.2 ^b	0.63±0.02 ^b	3.39±0.06 ^b	1.00±0.01 ^{ab}	3.67
D3(47.9%)	3.81±0.07	61.7±4.5 ^c	0.74±0.06 ^c	3.57±0.10 ^c	0.98±0.06 ^a	4.60

注:表中同一列数据右肩标字母不同表示差异显著($P<0.05$),字母相同表示差异不显著。

比初始样品脂肪含量高,其中摄食D1组(23.1%)的幼鱼鱼体脂肪含量高达31.7%,显著高于摄食D2组(37.6%)和D3组(47.9%)的鱼体脂肪含量,而D2组(37.6%)、D3组(47.9%)鱼体脂肪含量变化并不明显。说明当满足鱼体蛋白需求后,饲料蛋白质含量变化并不影响鱼体脂肪的含量。饲料中蛋白质含量变化也不影响鱼体灰分的含量。

表3 摄食不同蛋白质水平饲料的尼罗罗非鱼幼鱼全鱼的化学组成

鱼体成分	初始鱼样	饲料组		
		D1(23.1%)	D2(37.6%)	D3(47.9%)
粗蛋白(%)	62.2	54.7 ^a	60.5 ^b	60.3 ^b
脂肪(%)	16.2	31.7 ^a	20.1 ^b	21.5 ^b
灰分(%)	15.6	15.0 ^a	15.6 ^a	15.7 ^a
水分(%)	5.1	2.9 ^b	4.2 ^a	2.7 ^b

注:表中同一行数据右肩标字母不同表示显著差异($P<0.05$),相同字母表示差异不显著。表中水分值为干物质含的水分。

3 讨论

3.1 不同饲料蛋白质水平对吉富品系尼罗罗非鱼幼鱼生长的影响

蛋白质是维持鱼体生命活动所必需的营养成分,它是构成鱼体的主要物质,也是能量的来源。鱼类需要的饲料蛋白质水平明显高于陆生动物,一般说来是

中D3组(47.9%)的饲料系数最低,为0.98;D1组(23.1%)的饲料系数最高,为1.53。从饲料成本看,D3组(47.9%)的价格最高,为4.60元/kg;D2组(37.6%)的价格居中,为3.67元/kg;D1组(23.1%)的价格最低,为2.77元/kg。综合以上各项指标,我们初步认为尼罗罗非鱼幼鱼最适合的饲料蛋白质含量为37.6%(D2组)。

2.2 鱼体的化学组成

从表3可以看出,试验结束时,鱼体粗蛋白含量低于初始样品鱼体粗蛋白含量,组间鱼体粗蛋白的含量有差异,摄食D2组(37.6%)、D3组(47.9%)饲料的幼鱼粗蛋白含量显著高于摄食D1组(23.1%)饲料的鱼体粗蛋白含量($P<0.05$),但是D2、D3组之间差异不显著。说明不同水平饲料蛋白质对鱼体粗蛋白含量有影响,随着饲料蛋白含量的升高,鱼体粗蛋白含量也升高。就鱼体脂肪含量而言,试验组样品中脂肪含量

陆生动物的2~4倍。罗非鱼对蛋白质的需求国内外不少学者都进行过研究。黄忠志等(1985)利用酪蛋白和植物蛋白分别对体重为3g和4g的罗非鱼在水温23~28℃下进行试验,蛋白质在饲料中含量为31%时,其生长最快;Cru等(1975)试验得出,尼罗罗非鱼蛋白质适宜范围为20%~30%;王基伟等(1985)用酪蛋白试验饲料对体重为6g的尼罗罗非鱼进行试验,认为罗非鱼的生长受饲料中蛋白质含量的影响,当饲料中蛋白质含量达30%时,获得最大生长效果;雍文岳等(1994)^[12]认为,尼罗罗非鱼的蛋白质需要量可定为:鱼苗到鱼种阶段30%~35%,成鱼及亲鱼28%~30%;Juancey等(1982)^[13]报道,饲料中蛋白质含量为56%时,莫桑比克罗非鱼的生长速度低于蛋白质含量为48%时的生长速度。这些试验都说明虽然蛋白质作为生命的基础在鱼体生长和存活过程中必不可少,但当饲料中蛋白质含量过高时,会导致鱼体生长速度下降。这可能由于一方面饲料中蛋白质过高增加了氮的排泄,造成蛋白质浪费;另一方面可能是过多的蛋白质产生毒性作用。

本次试验中,饲料中蛋白质含量从23.1%升高到47.9%,生长速度逐渐加快,饲料系数逐渐降低。这一结果与Juancey等(1982)的研究结果一致。试验结束

时摄食 D3 组(47.9%)的鱼平均体重最大;摄食 D2 组(37.6%)的次之;摄食 D1 组(23.1%)的最小。饲料蛋白质水平不同,3 种饲料的成本也存在较大的差异,3 种饲料成本的大小顺序为:D3>D2>D1。饲料成本在养殖生产中占很大比例,而蛋白源又是影响饲料成本的主要因素。因此,综合鱼体生长和饲料成本等指标,本试验可初步认为蛋白质含量为 37.6%的饲料对吉富品系尼罗罗非鱼幼鱼的生长是最理想的。

3.2 不同饲料蛋白质水平对吉富品系尼罗罗非鱼幼鱼鱼体组成的影响

饲料中不同蛋白质含量对鱼体组成的影响已在莫桑比克罗非鱼、草鱼、红姑鱼、牙鲆、褐鳟、美国红鱼和尖吻鲈等鱼类中有过报道。Juancey 等(1982)认为,低蛋白饲料可以降低全鱼粗蛋白含量;曹俊明等(1997)^[14]对草鱼的研究发现,高蛋白质饲料在一定程度上可以提高全鱼粗蛋白含量;而 Page 等(1973)、Millikin 等(1982)、张显娟等(1998)、刘永坚等(2002)对胡子鲇^[15]、条纹鲈^[16]、牙鲆^[17]、红姑鱼^[18]的研究结果表明,饲料中蛋白质含量变化时,鱼体蛋白质变化不大。本试验中,饲料中蛋白质含量从 23.1%升高到 47.9%时,鱼体粗蛋白含量逐渐升高,D2、D3 与 D1 组之间差异显著 ($P<0.05$);而鱼体中粗脂肪的含量有减少的趋势;水分和灰分并不受饲料中蛋白质含量的影响。

3.3 影响尼罗罗非鱼对饲料蛋白质最适量需求的因素

鱼类对蛋白质的最适需求量只是在特定条件下的试验结果,如试验条件发生变化,试验结果也会发生变化。影响鱼饲料中蛋白质适宜量的因素主要有:鱼的食性、规格、饲料中能量及投喂量、蛋白质的质量等。尼罗罗非鱼属杂食性鱼类,因此对蛋白含量要求并不是很高。黄忠志等(1985)、王基伟等(1985)报道,罗非鱼的最适蛋白质需求量为 30%。但幼鱼的新陈代谢强,生长速度较快,因此这一生长阶段对蛋白质的需求量也较高。本试验证明,所设计的试验饲料中的能量、矿物盐和维生素均能满足罗非鱼的需求。综合考虑试验结果,本试验可以初步认为饲料蛋白含量为 37.6%时最适合吉富品系尼罗罗非鱼幼鱼的生长。

参考文献

- 1 王武. 鱼类养殖学[M].北京:中国农业出版社,2002
- 2 余伟明. 罗非鱼的营养与饲料[J]. 科学养鱼,2002(4):54~55
- 3 彭爱明. 罗非鱼的营养需求[J]. 中国饲料,1996(21):25~28
- 4 吴建开,雍文岳,游文章,等. 13 种饲料原料蛋白质对尼罗罗非鱼的营养价值[J]. 中国水产科学,2000,7(2):37~42
- 5 吴锐权. 罗非鱼的营养需求与饲料[J]. 渔业科技产业,2003(1):22~25
- 6 常青,梁萌青. 罗非鱼的营养和饲料[J]. 饲料工业,2002,23(3):36~38

- 7 Mazid M A, Tanaka Y, Katayama, T, et al. Growth response of tilapia zillii fingerlings fed isocaloric diets with variable protein level[J]. Aquaculture, 1979(18):115~122
- 8 Ofojekwu P C, Ejike C. Growth response and feed utilization in the tropical cichlid Oreochromis niloticus fed on cottonseed based artificial diets[J]. Aquaculture, 1984(42):27~36
- 9 De Silva S S, Gunasekera R M. Effects of dietary protein level and amount of plant ingredient (Phaseolus aureus) incorporated into the diets on consumption, growth performance and carcass composition in Oreochromis niloticus fry [J]. Aquaculture, 1989(80):121~133
- 10 李思发. 中国淡水鱼类种群生态学[M]. 北京:中国农业出版社,1990
- 11 明道绪. 生物统计附试验设计[M]. 中国农业出版社,2001.94~95
- 12 雍文岳. 尼罗罗非鱼营养需要量[J]. 淡水渔业,1994,24(5):22~24
- 13 Juancey K. The effects of varying dietary protein level on the growth, food conversion, protein utilization and body composition of juvenile tilapias (Sarotherodon mossambicus)[J]. Aquaculture, 1982(27):43~54
- 14 曹俊明,美国强,刘永坚,等. 饲料蛋白质、脂肪、碳水化合物水平对草鱼生长和组织营养成分组成的影响 [J]. 水产科技情报,1997,24(2):56~60
- 15 Page J W. Interaction of dietary levels of protein and energy on channel catfish (Ictalurus punctatus)[J]. Journal of Nutrition, 1973(103):1 339~1 346
- 16 Millikin M R. Effect of dietary protein concentration on the growth, feed efficiency and body composition of age -0 striped bass [J]. Trans. Am. Fish Soc., 1982(111):373~378
- 17 张显娟,李爱杰,等. 牙鲆稚鱼对蛋白质、脂肪及碳水化合物营养需求的研究[J]. 上海水产大学学报增刊,1998(7):98~103
- 18 刘永坚,刘栋辉,等. 饲料蛋白质和能量水平对红姑鱼生长和鱼体组成的影响[J]. 水产学报,2002,26(3):242~246

(编辑:高 雁,snowyan78@tom.com)

· 广 告 ·

争做稳定性 VC 系列优秀供应商——

**富阳市优派特
生物技术有限公司**

**L-抗坏血酸-2-磷酸酯 35%(2000 吨/年)
包衣 VC、VC 钙、VC 钠**

农业部生产许可证号:饲添(2003)1542

公司地址:杭州富阳市凤浦路 86 号(311400)

生产基地:富阳市灵桥镇工业小区 2 号

电话:0571-63349309

传真:0571-63340623

http://www.fyupdate.com

E-mail:sate@fyupdate.com

联系人:陈先生(13806517850)

四逆散对鲤鱼肝脏保护与修复作用的初步研究

陈鹏飞 陈 静 郭兆祥

摘 要 在饲料中添加不同剂量的四逆散对自然鱼体和利用喹乙醇诱导其肝受损后的鱼体进行试验,通过测定投喂前后鱼体血清中谷丙转氨酶(GPT)、谷草转氨酶(GOT)浓度变化情况,研究不同剂量的四逆散对鲤鱼血清肝功能指标的影响。试验结果表明,四逆散可降低鱼体血清 GPT、GOT 活性;对自然鱼体肝细胞有保护作用;对由喹乙醇诱发的肝损伤的鲤鱼,投喂 200mg/kg 的四逆散有恢复和治疗作用,且效果显著($P<0.05$)。

关键词 四逆散;鲤鱼;肝脏;喹乙醇;谷丙转氨酶(GPT);谷草转氨酶(GOT)

中图分类号 S962.3

大量的研究表明,鱼病防治采用我国传统的中草药是水产健康养殖的重要措施。复方中草药制剂在草鱼、鳊鱼、鲢鱼、甲鱼等的肠炎、肝胆综合症防治中有显著疗效^[1];用中草药活血化瘀方和保肝健脾散治疗中华鳖出血性肠道坏死症,成活率达 75%~92%^[2];以黄芪、黄芩、连翘等为主药配制的“平肝解毒止血散”可治疗海水鱼肝、肾病^[3]。彭汉光^[4]等采用复合致病因素造成大鼠脂肪肝模型,以加味四逆散为治疗组,结果模型组大鼠血清 GPT 和 GOT 升高,加味四逆散能明显降低血清 GPT 和 GOT 活性,表明加味四逆散对肝细胞有保护作用。本试验通过对自然鱼体和由喹乙醇引发的肝受损的鲤鱼投喂添加不同剂量四逆散的基础饲料的研究,对不同试验小组鲤鱼的谷丙转氨酶、谷草转氨酶等指标的测定,了解该复方对鲤鱼肝脏的生理指标的影响,为今后生产实践和相关研究提供参考。

1 材料和方法

1.1 试验鱼

试验用鲤鱼从荣昌县梅石坝渔场购得,选择体质健壮、平均体重(39.3±1.25)g 的鱼种 360 尾,购回用 4% 的食盐水消毒处理,暂养一周备用。

1.2 试验用药及试验仪器

喹乙醇由湖北省龙感湖东方兽药厂生产(倍育偌);四逆散组方由柴胡、枳实、白芍、炙甘草组成(质量比为 4:4:3:3)。

试验仪器为日立 7020 全自动生化分析仪、美国 AVL9130 电解质分析仪、电子天平等。

1.3 试验设计与方法

中草药根据组方及添加浓度粉碎后,按试验设计浓度与饲料粉料充分搅拌混合待用。

试验在(1.0×0.45×0.5)m³水族箱内进行养殖,水深 0.4m。试验期间增氧器 24h 增氧,试验鱼经暂养,待鱼全部适应环境、正常摄食后开始试验。每天投饲两次,每次投饲量以试验鱼体在 20min 左右基本摄食完为度;2~3d 换水一次。试验共分 3 个阶段,各组设一个重复,试验数据取平均值。

第一阶段(对自然鱼体的保健试验):选择自然鱼体按照表 1 的分组情况进行投喂,饲养 10d 为一个疗程,进行血清中谷丙转氨酶(GPT)和谷草转氨酶(GOT)浓度的测定,并与对照组进行比较,由此判断四逆散对肝功能转氨酶浓度的影响情况。

表 1 自然鱼体分组

组号	组别	组数	数量	投喂药物
6#	对照组	2	40	正常饲料
7#	四逆散 1# 组(低剂量)	2	40	50mg/kg
8#	四逆散 2# 组(中剂量)	2	40	100mg/kg
9#	四逆散 3# 组(高剂量)	2	40	200mg/kg

第二阶段(对自然鱼体的中毒试验):另选用 200 尾相同规格的鲤鱼进行中毒试验,即在试验鱼体饲料中按照 150mg/kg 添加喹乙醇,连续投喂 10d 后随机抽取数尾试验鱼测定血清转氨酶的浓度,以确定是否中毒。

第三阶段(对中毒鱼体的治疗试验):按照表 2 的分组情况将已经喹乙醇中毒的鱼体随机分组,并投喂不同剂量的四逆散,一个周期(10d)和两个周期(20d)后分别进行血清转氨酶浓度的测定,分别与自然痊愈组鱼体和对照组鱼体血清转氨酶浓度进行比较,由此

陈鹏飞,西南大学水产学院(荣昌校区),高级实验师,412460,重庆市荣昌县学院路 190 号。

陈静,单位及通讯地址同第一作者。

郭兆祥,四川省隆昌县农机水电局。

收稿日期:2006-01-09

★ 本课题由湖南农业大学青年科技基金资助完成

判断由喹乙醇导致的肝损伤在中草药组方治疗下的恢复情况。

表 2 喹乙醇诱导鱼体肝受损后分组

组号	组别	组数	数量(尾)	投喂药物
1#	对照组	2	40	一直喂喹乙醇
2#	自然痊愈组	2	40	先喂喹乙醇,后用正常饲料
3#	四逆散 1# 组(低剂量)	2	40	50mg/kg
4#	四逆散 2# 组(中剂量)	2	40	100mg/kg
5#	四逆散 3# 组(高剂量)	2	40	200mg/kg

1.4 数据处理和分析

用 SPSS 11.0 for Windows 软件对试验数据进行处理和统计学分析。若差异达到显著,则进行 Duncan's 多重比较,显著性水平为 $P<0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 四逆散对自然鱼体转氨酶的影响及作用机理

不同浓度的四逆散对鲤鱼血清中转氨酶的影响见表 3、图 1、图 2。

表 3 四逆散对自然鱼体转氨酶的影响($\bar{X}\pm SD$)(IU/l)

组号	组别	谷丙转氨酶(GPT)	谷草转氨酶(GOT)
6#	对照组	96.50 \pm 8.50 ^a	315.00 \pm 13.00 ^a
7#	四逆散 1# 组(低剂量)	77.00 \pm 1.00 ^b	273.00 \pm 16.00 ^{ab}
8#	四逆散 2# 组(中剂量)	70.50 \pm 1.50 ^{bc}	229.50 \pm 45.50 ^{ab}
9#	四逆散 3# 组(高剂量)	59.00 \pm 12.00 ^c	178.50 \pm 26.50 ^b

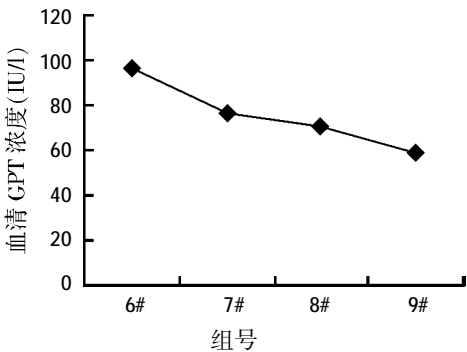


图 1 四逆散对鲤鱼血清 GPT 的影响

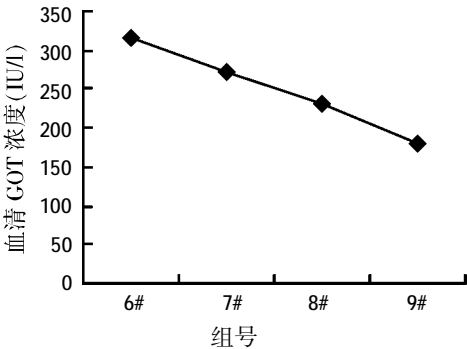


图 2 四逆散对鲤鱼血清 GOT 的影响

四逆散以不同浓度拌饵投喂试验鱼体,鱼体血清中谷丙转氨酶(GPT)和谷草转氨酶(GOT)都不同程度地得到了降低,并且随四逆散在饲料中添加浓度的升高,鱼体血清中谷丙转氨酶(GPT)和谷草转氨酶(GOT)的下降幅度也随之增大。经统计分析得知,添加四逆散各组(7#、8#、9#)无论 GPT 还是 GOT 与空白对照组比较,都存在显著差异($P<0.05$),表明添加四逆散的各个试验组对自然鱼体血清转氨酶都有一定的影响,受试鱼体血清转氨酶均呈下降趋势。经 Duncan's 多重比较可知,高剂量添加四逆散(9#)组与低、中(分别为 7#、8#)组间差异显著($P<0.05$),而低、中剂量组间差异不显著($P>0.05$)。结果显示,高剂量的四逆散添加在饲料中比中、低剂量的添加降低转氨酶的效果明显。因此,高剂量可以作为治疗和修复肝损伤的参考剂量;而低剂量可以作为保护肝损伤的参考剂量。

四逆散方源自《伤寒论》,由柴胡、白芍、枳实、甘草等组成,方中柴胡疏肝解郁、调畅气机,为君药;芍药柔肝、养阴、和血,与柴胡配合,助疏肝解郁之力,为臣药;枳实泻脾气、调运化;甘草调和诸药,缓急止痛,为使药,全方疏肝理脾、透解郁热、和中缓急,配伍十分精妙,散收结合、升中有降。许多临床报道,四逆散及其加减方治疗肝炎的临床有效率在 90% 以上^[6-11]。研究已经发现,四逆散对多种实验性肝损伤有明显的改善作用,其作用机理主要包括对肝细胞膜的保护作用,促进肝细胞保护性因子 NO 的产生,以及抑制免疫细胞的活化,阻止其向肝脏“迁移”,并通过诱导其凋亡而消除其杀伤肝细胞的能力等^[10]。

柴胡皂苷(saikosaponins, SS)是柴胡的主要生物活性成分。大量研究证明,SS 具有镇静、止痛、抗炎、抗菌、保肝、护肾、抗癌、抗病毒等药理作用^[9]。

2.2 四逆散对由喹乙醇诱发肝损伤的保护修复作用

不同浓度的四逆散对喹乙醇诱发的肝损伤的鲤鱼血清中转氨酶的影响见表 4、图 3、图 4。

表 4 四逆散对喹乙醇诱发的肝损伤鲤鱼的影响($\bar{X}\pm SD$)(IU/l)

组号	组别	谷丙转氨酶(GPT)	谷草转氨酶(GOT)
1#	对照组	152.67 \pm 2.40 ^a	405.00 \pm 44.64 ^a
2#	自然痊愈组	142.50 \pm 27.50 ^{ab}	347.00 \pm 66.00 ^{ab}
3#	四逆散 1# 组(低剂量)	138.33 \pm 18.17 ^{ab}	369.67 \pm 43.91 ^{ab}
4#	四逆散 2# 组(中剂量)	99.00 \pm 8.00 ^{ab}	313.50 \pm 11.50 ^{ab}
5#	四逆散 3# 组(高剂量)	88.50 \pm 8.50 ^b	241.50 \pm 18.50 ^b

统计分析结果表明,第 5 组(高剂量组)谷丙转氨酶(GPT)和谷草转氨酶(GOT)与对照组差异显著($P<$

0.05),同其余各试验组差异均不显著($P>0.05$)。

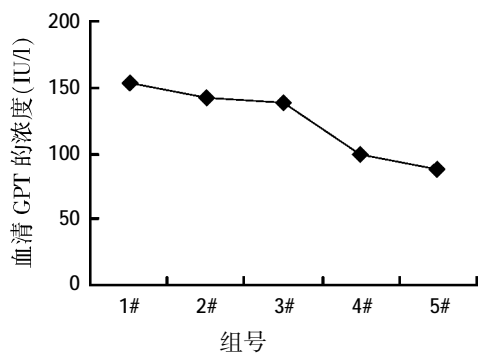


图3 四逆散对已发生肝损伤鲤鱼血清 GPT 的影响

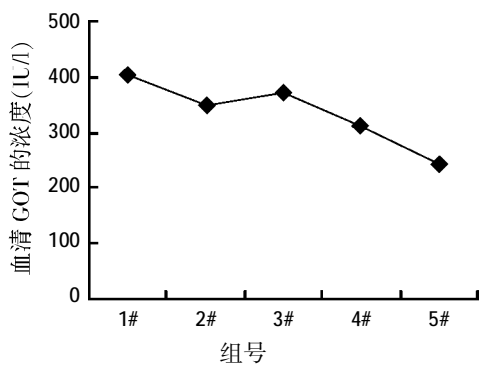


图4 四逆散对已发生肝损伤鲤鱼血清 GOT 的影响

第三阶段试验的中毒鱼体在投喂中药一个周期

(10d)后,体表及鳍条出血症状开始缓解,解剖观察胆汁颜色变深;二个周期(20d)后,体表及鳍条出血症状基本消失,解剖观察肝脏颜色和弹性基本恢复正常。

四逆散对肝损伤有保护作用,主要因为组方中有柴胡皂苷。柴胡皂苷可以有效地稳定肝细胞膜系统,中和可溶性细胞因子对肝细胞增殖的抑制效应,防止肝细胞损伤和坏死^[12]。实验证明,柴胡可以抑制小鼠肝细胞的凋亡^[13]。柴胡皂苷对 CCl₄、D-氨基半乳糖和脂多糖与卡介苗致小鼠慢性肝损伤有显著的修复保护作用^[14]。此外组方中的白芍可以养肝柔肝,对自由基有清除作用^[15]。

本次试验结果同样显示,对于喹乙醇造成的鲤鱼肝脏损伤,四逆散具有降低血清中谷丙转氨酶(GPT)和谷草转氨酶(GOT)浓度的显著作用($P<0.05$),这对于保护肝脏和治疗因饲料中添加喹乙醇而造成的肝损伤具有明显的作用。

2.3 四逆散的保肝效果

对各试验组试验鱼体进行血清转氨酶浓度测定(见表5),与对照组相比,各试验组鱼体的血清转氨酶浓度都有不同程度的降低(图5、图6)。结果表明,四逆散对喹乙醇中毒鱼体的肝损伤有一定的恢复和治疗作用。

表5 四逆散对由喹乙醇诱发的鲤鱼肝损伤的影响(IU/l)

项目	0		50(mg/kg)		100(mg/kg)		200(mg/kg)	
	GPT	GOT	GPT	GOT	GPT	GOT	GPT	GOT
0d(自然鱼体)	91.50	273.00	91.50	273.00	91.50	273.00	91.50	273.00
10d(投喂喹乙醇 10d)	151.00	396.00	151.00	396.00	151.00	396.00	151.00	396.00
20d(投喂中药 10d)	148.00	351.00	143.00	336.00	139.00	322.00	124.00	313.00
30d(投喂中药 20d)	142.50	347.00	138.33	369.67	99.00	313.50	88.50	241.50

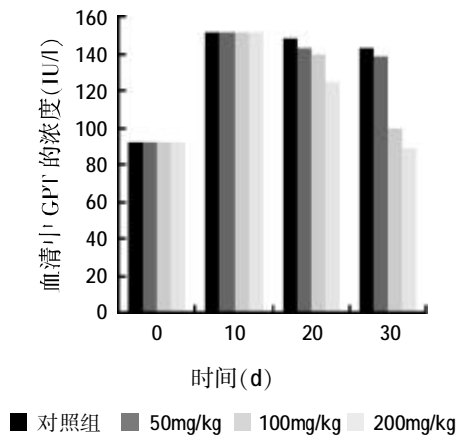


图5 四逆散对鲤鱼血清 GPT 的影响

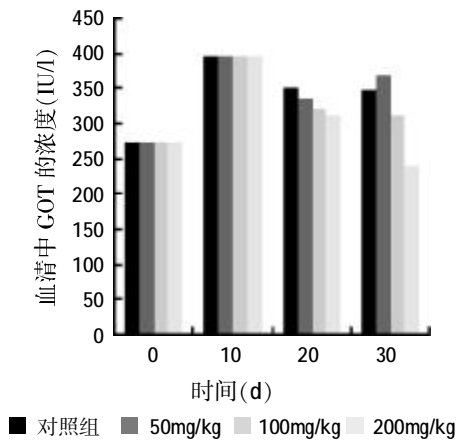


图6 四逆散对鲤鱼血清 GOT 的影响

现代药理学证明,乙酰胆碱具有调节消化系统和神经系统功能的作用,乙酰胆碱可被胆碱酯酶水解。柴胡皂苷可以抑制胆碱酯酶,发挥拟胆碱样作用,进而对消化系统和神经系统发挥调节作用,从而治疗肝郁症,起到疏肝解郁的作用^[12]。肝星状细胞(HSC)又称贮脂细胞(FSC),在某些病理状态下,FSC激活和增殖并合成胶原和细胞外基质(ECM),使胶原和ECM过度蓄积从而形成肝纤维化。有实验证明:柴胡可以直接抑制HSC分泌胶原蛋白^[16];柴胡皂苷还可以抑制FSC激活,从而抑制了FSC的增殖,进而间接抑制了FSC合成ECM的能力^[17];柴胡皂苷还可以有效地稳定肝细胞膜系统,中和可溶性细胞因子对肝细胞增殖的抑制效应,防止肝细胞损伤和坏死^[12]。

参考文献

- 1 李莉,徐志军,荣克明.肝肠宝(复方中草药)在水产养殖中的应用初探[J].科学养鱼,2003(6)
- 2 罗晓松,刘志刚,张征,等.中华鳖出血性肠道坏死症及中草药防治实验[J].淡水渔业,2000,30(7):46~47
- 3 中国水产学会鱼病研究会.我国水产药的发展现状、存在问题及国外的研究概况[J].鱼类病害研究,1990,12(4):3~10
- 4 彭汉光,王萍,张茂林.加味四逆散对脂肪肝大鼠血清肝功能酶活性的影响[J].中国现代临床医学,2004,9(3):7~8
- 5 李芳,李建北,张东明.柴胡的药理研究进展[J].时珍国医国药,2004,15(2):120~121
- 6 任豪.四逆散合五苓散加减治疗急性黄疸型肝炎20例[J].湖北中医,1992,14(5):55
- 7 程润泉.四逆散I临床应用三则[J].四川中医,1986,4(8):13
- 8 陈继明.慢性肝炎辨治一得[J].中医杂志,1986,27(3):13~15
- 9 蒲青海.黄疸肝炎I临证十二法.四川中医,1986,4(8):20
- 10 Jiang J,Zhou C,Xu Q. Effects of Si-Ni-San,a traditional Chinese prescription, on experimental liver injury and its mechanisms [J]. BiolPharmBull, 2003, 26(8): 1 089~1 094
- 11 孙洋,徐强.四逆散药全方对刀豆蛋白A活化的小鼠脾细胞移动的粘附能力的影响[J].中国天然药物,2003,1(2):103~106
- 12 陈爽,杨美娟.柴胡皂苷对肝细胞增殖及基质合成实验研究[J].中国中医基础医学杂志,1999,5(5):21~21
- 13 陈东鸿,李平.柴胡及甘草酸对小鼠肝细胞凋亡的影响[J].第四军医大学学报,1998,19(3):279~279
- 14 王胜春,胡咏武,赵辉萍.柴胡与丹参配伍抗大鼠肝纤维化作用的实验研究[J].中国药房,2001,12(10):586~589
- 15 金海玲,张学武,赵红,等.珍珠梅提取物对四氯化碳所致大鼠急性肝损伤的保护作用.世界华人消化杂志,2002(10):783
- 16 邓丽娜,韩涛.柴胡对肝星状细胞胶原蛋白分泌的影响[J].天津医科大学学报,2001,7(4):502
- 17 陈爽.柴胡皂苷对FSC激活及合成细胞外基质的实验研究[J].北京中医药大学学报,1999,22(1):31~31

(编辑:高雁, snowyan78@tom.com)

· 书 讯 ·

书 名	作 者	定价(元)	书 名	作 者	定价(元)
畜禽十大高效饲料添加剂	李尚波等	22	蛋鸡饲养技术	白修明等	8
饲料非营养调控物质的研究与应用	单安山	41	肥牛饲养技术	雷云国	16
饲料安全与动物营养调控技术研究	单安山	41	肉牛饲养技术大全	韩荣生	15
饲料添加剂	王安	29	实用大病诊疗图册	赵玉军	29
毛皮动物饲养技术	杨福合等	14	实用猪病防治图册	陈国庆	13
猪鸡常用饲料配方	张洪翔等	11	饲料添加剂安全使用规范	杨振海等	100
养猪技术大全	王彪等	19	全国规模化养猪场大全		120
养猪问答	李树德等	14	默克兽医手册		123
经济动物疾病诊疗新技术	程世鹏等	11	实用养鸭技术	杨桂芹	13
珍禽饲养技术	王峰等	16	肉鸡生产新技术精选		14
新编畜禽用药手册	葛宝伟等	17	实用鸡病防治图册	张爱民等	13
农家养兔技术	韩俊彦等	10	鸡主要传染病防治技术	贺伟等	7
禽病诊疗新技术	张英	13	养鸡技术大全	韩俊彦	25
观赏犬饲养调教服饰	郑雅文	51	饲料配制金点子	邵彩梅等	11
饲料工业标准汇编(1996~1999)		42	养鸡饲料手册	袁纛等	12
饲料工业标准汇编(1996)下		55	养鸡问答	孙长湖等	14
养鸡十大疫病防治		17	家禽孵化手册	王晓霞	17
百项养鸡新技术	卫广森等	21	家禽产蛋与综合效益	刘文奎	17

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:中信银行沈阳分行皇姑支行

帐号:72214101826000548-49

非淀粉多糖酶制剂对仔猪生长、消化性能及 血液中某些生理、生化指标的影响

陈清华 朱立涛

摘 要 选取 280 头 $[(17\pm 1.5)\text{kg}]$ “杜长大”三元杂交仔猪,随机分成 5 组,每组 4 个重复,每重复 14 头(公母各半),以圈为重复单位,分别饲喂添加量水平为 0%、0.01%、0.02%、0.03%和 0.04%的非淀粉多糖(NSP)酶制剂的玉米-豆粕型试验日粮,试验猪均为自由采食、自由饮水。预试期 7d、正试期 28d,在正试期的开始及结束时对试验猪空腹称重,准确记录饲料的消耗和试验猪健康情况。在正试期的第 15d 清晨,每重复取接近该圈平均体重的公猪和母猪各 1 头,空腹前腔静脉采血并制备血清。试验结果表明,加酶组仔猪日增重比对照组有所提高,料肉比、腹泻率比对照组有所下降。饲养试验结束后再另外选取 10 头仔猪,随机分成两组,分别饲喂基础日粮和添加 0.02%复合酶的日粮,采用全收粪法进行消化试验。结果表明,干物质、粗蛋白、粗纤维、粗灰分、能量、粗脂肪和无氮浸出物的表观消化率都有提高。检测血清中的血糖、血液尿素氮、 T_3 、 T_4 和胃泌素含量,其中对照组 4 个重复中的血糖、 T_3 和胃泌素含量比基础日粮组有所上升, T_4 没有发生变化,血液尿素氮含量下降。在本试验条件下,0.02%酶制剂添加水平对仔猪生长性能、养分消化率的改进效果最明显。

关键词 非淀粉多糖酶制剂;仔猪;生长性能;消化性能;血清;激素

中图分类号 S816.32

酶制剂是目前动物营养学研究的一大热点。猪日粮中添加酶制剂的目的在于弥补仔猪消化系统发育不成熟导致的内源酶分泌不足,如脂肪酶、蛋白酶、淀粉酶的含量低,消化能力弱,而这些在生产上常导致仔猪营养应激反应和早期断奶综合症,引起消化功能紊乱并出现腹泻^[1-4]。酶制剂可以转化和消除饲料中的抗营养因子,提高饲料利用率,提高某些营养物质的生物学价值;还可以降低由于动物排泄而造成的环境污染,从而生产出无残留、安全有益的健康肉产品。由于在我国仔猪日粮类型多为玉米-豆粕型,而国外的研究和实际生产多用麦类-豆粕型日粮,二者在营养成分和抗营养因子等诸多方面存在不同。麦类主要抗营养因子是木聚糖和 β -葡聚糖等,而玉米-豆粕型日粮主要抗营养因子是木聚糖、果胶和乙型甘露聚糖等^[5]。本试验旨在以玉米-豆粕型日粮为基础探讨不同水平非淀粉多糖(NSP)酶制剂对仔猪生长、消化性能和血液中某些生理、生化指标的影响,为 NSP 酶制剂在我国传统玉米-豆粕型基础日粮中的使用提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物与分组

以平均体重 $(17\pm 1.5)\text{kg}$ 的 280 头仔猪为试验动物,根据体重相近、公母各半、来源不同的原则随机分 5 组,每处理组 4 圈,每圈 14 头。

1.2 酶制剂

由湖南某公司生产提供的 NSP 酶制剂,内含纤维素酶 500IU/g、 β -葡聚糖酶 1000IU/g、木聚糖酶 4000IU/g、果胶酶 150IU/g、甘露聚糖酶 200IU/g。国际单位定义(IU/g)为:在适宜条件下,1min 分解底物产生 $1\mu\text{mol}$ 产物所需的酶量为一个国际单位。

1.3 试验日粮

试验日粮共分 5 种,即对照 A、处理 B、处理 C、处理 D 和处理 E。处理组分别在对照组日粮的基础上添加不同水平的 NSP 酶制剂(0.01%、0.02%、0.03%、0.04%)组成。基础日粮按 NRC(1998)标准配制,所有营养素均满足仔猪的营养需要。日粮设计分为 5 组,见表 1,基础日粮组成见表 2。

表 1 试验日粮设计

处理组	日粮组成
A(对照组)	基础日粮
B	基础日粮+0.01%NSP 酶制剂
C	基础日粮+0.02% NSP 酶制剂
D	基础日粮+0.03% NSP 酶制剂
E	基础日粮+0.04% NSP 酶制剂

陈清华,湖南农业大学动物科技学院动物营养教研室,在读博士,410128,长沙。

朱立涛,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2006-01-24

★ 本课题由湖南农业大学青年科技基金资助完成

表2 基础日粮配方及营养水平

原料	组成(%)	营养水平	
玉米	60.00	粗蛋白(%)	19.0
豆粕	25.53	钙(%)	0.90
鱼粉	3.37	总磷(%)	0.60
小麦麸	3.00	有效磷(%)	0.40
乳清粉	3.00	赖氨酸(%)	1.20
次粉	1.53	蛋+胱氨酸(%)	0.65
石粉	1.39	消化能(MJ/kg)	13.28
磷酸氢钙	0.73		
盐	0.20		
预混料	1.00		
赖氨酸	0.25		
合计	100.00		

注:预混料可为每千克全价料提供铁 101mg、锌 101mg、锰 4mg、铜 6mg、碘 0.28mg、硒 0.33mg、维生素 A 2 615IU、胡萝卜素10.5mg、维生素 D 302IU、维生素 E 22IU、维生素 K 4.0mg、维生素 B₂ 4.4mg、维生素 B₁₂ 22mg、维生素 B₁ 2.2mg、烟酸 24mg、泛酸 22mg、生物素 0.20mg、叶酸 1.21mg。

1.4 饲养试验

试猪采用高架床网上饲养,每天饲喂 4 次,自由采食、自由饮水。按照常规方法进行疫苗注射和饲养管理。预试期 7d,正试期 28d,分别于正试期开始和结束时清晨空腹称重,以栏为单位统计耗料量、总增重,计算日增重、料肉比、腹泻率。于正试期第 15d 清晨空腹采血,每栏随机选取公母各 1 头,前腔静脉采血,并迅速用离心机离心,制备血清存放于-20℃冰箱保存待用。

1.5 消化代谢试验

选取“杜长大”去势公猪 10 头,随机分为 2 组,将猪放入代谢笼饲养,一猪一笼。一组喂基础日粮 A,另

一组喂经过饲养试验生长效果最好的饲料 C,采用全收粪法,预试期 7d,正试期 3d,收集粪便,每天收集粪便放入铝盒中,放在 4℃冰箱贮存。试验结束后,将粪样于 65℃烘箱烘干,粉碎后混匀放入广口瓶中,供化学分析使用。

1.6 检测指标

1.6.1 饲养试验

日增重(ADG)=增重/试验天数

料肉比(F/G)=饲料消耗量/增重

腹泻率=[腹泻头数总和/(猪头数×试验天数)]×100%

1.6.2 消化代谢试验

用常规方法测定饲料及粪样中的干物质、粗蛋白、粗纤维、粗灰分、能量、粗脂肪和无氮浸出物,计算饲料中养分的表观消化率。

1.6.3 血液中生理、生化指标的测定

血糖采用氧化酶法测定,试剂盒购自美国 Beekman 公司;尿素氮 BUN 采用脲酶法测定,试剂盒购自美国 Beekman 公司;三碘甲腺原氨酸(T₃)、甲状腺素(T₄)采用放射免疫方法测定,试剂盒购自北京倍爱康生物技术有限公司;胃泌素采用放射免疫方法测定,试剂盒购自天津协和医药科技有限公司。

1.7 数据统计与分析

用 SPSS 11.0 统计软件对试验数据进行统计分析。

2 试验结果与分析

2.1 酶制剂对仔猪生长性能的影响(见表 3)

与对照组(A 组)相比,添加 NSP 酶制剂的 B、C、

表3 酶制剂对仔猪生长性能和料重比的影响(n=56)

项目	初均重(kg)	末均重(kg)	平均日采食量(g)	平均日增重(g)	饲料/增重	腹泻率(%)
A	17.54±1.36	31.53±1.54	1 046±26 ^{ab}	500±7.24 ^{aA}	2.09±0.04 ^A	2.29±0.23 ^a
B	17.89±1.41	32.5±1.67	1 017±29 ^b	521±12.63 ^{abAB}	1.95±0.02 ^{bb}	1.27±0.54 ^{ab}
C	17.73±1.39	33.74±1.84	1 118±34 ^a	571±18.91 ^{cB}	1.952±0.03 ^{bb}	1.15±0.30 ^b
D	17.58±1.52	32.94±1.77	1 079±20 ^{ab}	549±9.8 ^{bcAB}	1.96±0.01 ^{bb}	1.34±0.28 ^{ab}
E	17.64±1.18	32.43±1.2	1 058±13 ^{ab}	528±5.02 ^{abAB}	2.00±0.02 ^{AB}	2.10±0.18 ^{ab}

注:同一列中不同肩注字母表示差异显著,不同小写字母表示差异显著(P<0.05),不同大写字母表示差异极显著(P<0.01),下表同。

D、E 组仔猪日增重分别提高 4.2%(P>0.05)、14.2%(P<0.01)、9.8%(P<0.05)和 5.6%(P>0.05);每千克增重所消耗的饲料依次下降 6.7%(P<0.01)、6.7%(P<0.01)、6.2%(P<0.01)和 4.3%(P<0.05)。平均采食量 C 组最高,明显高于(P<0.05)B 组,与其它组无明显差异。采食加酶日粮的 B、C、D、E 组,仔猪腹泻率分别比对照降低了 44.5%、49.8%、41.5%和 8.3%,其中 C 组与 A 组之间差异达到统计学的显著水平(P<0.05),其余各组之间差异不显著(P>0.05)。结果显示,在玉米-豆粕型日粮中添加复合酶制剂可以明显改善仔猪

的生长性能,并减少仔猪腹泻。综合各项生长性能指标,酶制剂的最佳添加水平为 C 组,即基础日粮+0.02%复合酶制剂。

2.2 酶制剂对仔猪营养物质表观消化率的影响

消化试验是在饲养试验的基础上进行的,其目的是检测由饲养试验筛选出的最佳酶制剂添加水平组与对照组在日粮中养分消化率上的差异。仔猪消化试验的结果(见表 4)表明,与对照组 A 相比,加酶组 C 能提高仔猪日粮中养分的表观消化率,分别提高了干物质 5.3%(P<0.05)、能量 6.7%(P<0.05)、粗灰分 0.2%

表 4 酶制剂对仔猪营养物质表观消化率的影响(n=5)(%)

项目	干物质	能量	粗灰分	粗蛋白	粗脂肪	粗纤维	无氮浸出物
A	80.84±1.77 ^a	79.91±2.16 ^a	54.11±3.32	78.93±2.26 ^a	63.74±1.9 ^a	33.97±1.19 ^a	88.12±1.57 ^a
C	85.1±0.61 ^b	85.26±0.78 ^b	54.21±0.64	84.9±0.89 ^b	68.64±0.91 ^b	39.19±1.0 ^b	91.93±0.62 ^b

(P>0.05)、粗蛋白 7.6%(P<0.05)、粗脂肪 7.7%(P<0.05)、粗纤维 15.4%(P<0.05)及无氮浸出物 4.3%(P<0.05)。

2.3 酶制剂对仔猪血液某些理化指标的影响(见表 5)

表 5 酶制剂对仔猪血液某些指标的影响

项目	血糖 (mmol/l)	血液尿素氮 (mmol/l)	T ₃ (nmol/l)	T ₄ (nmol/l)	胃泌素 (pg/mg)
A	4.97±0.174 ^{aA}	4.60±0.177 ^{aA}	1.49±0.071 ^{aA}	101±2.41	63.5±1.86 ^{aA}
B	5.77±0.187 ^{bBC}	3.93±0.059 ^{bB}	1.70±0.024 ^{bABC}	103.1±2.73	70±1.10 ^{bA}
C	6.37±0.147 ^{cC}	3.32±0.082 ^{cC}	1.84±0.042 ^{cC}	102.7±6.95	78.7±1.13 ^{cB}
D	5.84±0.063 ^{bBC}	4.17±0.103 ^{bAB}	1.78±0.066 ^{cBC}	99.6±2.02	69±2.35 ^{bA}
E	5.45±0.105 ^{bAB}	4.22±0.102 ^{bAB}	1.54±0.086 ^{bAB}	102±1.56	68.1±2.20 ^{bA}

与对照组 A 相比,试验组血液生化和激素指标有明显的变化,其中 C 组效果最为显著。C 组与 A 组相比,血糖、T₃、T₄ 及胃泌素分别提高了 28.2%(P<0.01)、23.5%(P<0.01)、1.68%(P>0.05)和 23.9%(P<0.01),而血液尿素氮下降了 27.8%(P<0.01);B 组与 A 组相比,血糖、T₃、T₄ 及胃泌素分别提高了 16.1%(P<0.01)、14.1%(P<0.05)、2.08%(P>0.05)和 10.2%(P<0.05),而血液尿素氮下降了 14.6%(P<0.01);D 组与 A 组相比,血糖、T₃ 及胃泌素分别提高了 17.5%(P<0.01)、19.5%(P<0.01)和 8.7%(P>0.05),而 T₄ 和血液尿素氮下降了 1.4%(P>0.05)和 9.3%(P<0.05);E 组与 A 组相比,血糖、T₃、T₄ 及胃泌素分别提高了 9.7%(P<0.05)、3.3%(P>0.05)、1%(P>0.05)和 7.2%(P>0.05),而血液尿素氮下降了 8.3%(P<0.05)。

3 讨论

3.1 酶制剂对仔猪生长性能和消化功能的影响

仔猪饲料中的谷物、饼粕类等植物性饲料的细胞壁含有抗营养因子——非淀粉多糖(NSP)。玉米的 NSP 主要是纤维素;豆粕中 NSP 主要是半乳糖和 β-葡聚糖^[6];而小麦麸中的 NSP 主要是纤维素、阿拉伯木聚糖和 β-葡聚糖^[7]。研究发现,非淀粉多糖增加胃肠道食糜的粘性,减缓各种养分从日粮中溶出的速度,减少内源消化酶与养分的接触;同时,也使养分向肠粘膜扩散的速度减缓,吸收率降低,并影响肠道微生物区系,减弱酶活性^[8]。仔猪不分泌降解非淀粉多糖的聚糖酶,因此,在日粮中添加聚糖酶,打破细胞壁的屏障作用,有利于细胞内容物中淀粉、蛋白质和脂肪等养分从细胞中释放出来,更好地与内源消化酶作用;同时

由于仔猪生长早期或受断奶应激的影响导致内源酶分泌不足,而外源性消化酶的添加,可以通过分解相应的淀粉或蛋白质,增加经分解后的养分量,从而刺激内源消化酶的分泌^[9],如提高了总蛋白水解酶活性、α-淀粉酶活性^[10]。在玉米型日粮中添加外源酶,对仔猪胰淀粉酶、胰蛋白酶、胃蛋白酶的活性有提高的作用;对小肠粘膜蔗糖酶活性有提高的作用;对小肠粘膜麦芽糖酶和乳糖酶活性没有明显影响^[11]。本饲养试验的结果显示,添加酶制剂可以改善仔猪的生长性能,主要表现在生长速度加快,饲料转化效率提高,腹泻率降低等方面。酶制剂不同添加水平之间在仔猪生长性能和健康方面也出现了差异,平均采食量、日增重、料肉比、腹泻率等指标均有反映。本研究中消化实验的结果表明,日粮中添加酶制剂后,常规养分的表观消化率除粗灰分外,均明显提高。血液生化及激素指标的变化与之吻合,说明酶制剂可有效提高营养物质的消化率,从而改善动物的生产性能,与前人的研究结果基本一致^[12]。酶制剂的添加水平直接影响其使用效果,因此酶制剂的添加量应有一个合理的范围而不是越多越好。

3.2 酶制剂对仔猪血液生化指标的影响

血液尿素氮可以较准确地反映动物体内蛋白质的代谢情况和日粮氨基酸的平衡情况^[13]。在本试验中,仔猪血液尿素氮含量降低,说明蛋白质降解速度减缓,而合成速度加快,猪体内氮存留的量增多且时间延长,从而吸收到体内的蛋白质分解产物如氨基酸和肽类增加,说明酶制剂可促进蛋白质沉积^[14]。血糖主要指血液中的葡萄糖,它是由小肠吸收的葡萄糖,首

先经门静脉进入肝脏,再经肝静脉进入血液循环,被送到各组织细胞供全身利用^[15],日粮营养水平对血糖有明显影响^[16]。本试验中血糖含量的增高,在一定程度上反映了体内营养物质消化吸收的增强。血液尿素氮降低和血糖的升高与消化试验中蛋白质、粗纤维和无氮浸出物等营养物质消化率提高的结果相一致。

3.3 酶制剂对仔猪血液激素的影响

甲状腺激素(主要包括 T_3 和 T_4)能调节基础代谢率,促进氧消耗,促进小肠吸收单糖和肝糖元分解,改善葡萄糖吸收,升高血糖,同时也能促进脂肪组织与骨骼肌吸收和氧化葡萄糖,还能增强肾上腺素对糖代谢的作用和促进胰岛素降解。甲状腺激素对甘油三酯、磷脂和胆固醇的作用总的来讲是促进分解;甲状腺激素使机体在不同营养条件下维持总氮平衡,促使细胞内的蛋白质核糖核酸及脱氧核糖核酸的合成增多,促进细胞分化和组织器官的发育。本试验结果表明,酶制剂能明显提高血液中 T_3 和胃泌素的水平而对 T_4 没有太大影响,这与夏枚生^[17]、许梓荣^[18]等研究结果相近。血液中的 T_4 大部分在外周组织(特别是肝、肾)脱去碘,形成 T_3 而发挥生理作用。 T_3 的活性比 T_4 大好几倍,而且发挥作用比 T_4 快,一般认为 T_3 是在组织内发挥生理作用的主要激素。本试验中之所以出现 T_3 增高而 T_4 差异不显著,其原因可能是饲喂酶制剂提高了促使 T_4 转变为 T_3 的脱碘酶活性,使 T_3 含量明显增加,进而促进了生长^[19]。

胃泌素具有促进胃肠道上皮增生,促进胃的排空,增加胃蠕动和促进胃酸、胃蛋白酶原分泌的作用,还能促进胰脏、小肠和胆囊的分泌活动等。胃泌素在采食后通常出现两个峰值,前一个峰值是采食引起的神经反射性的;第二个峰值是体液因素调节性的。因此,胃泌素含量增加时胃液分泌量、胃液总酸度、胃蛋白酶活性都随之加强,pH 值呈下降趋势^[20,21]。本试验结果表明,酶制剂可以促进胃泌素分泌,其原因一方面可能是外源酶促进了日粮中蛋白质分解,产生更多的多肽,多肽可强烈刺激幽门部粘膜分泌胃泌素^[22];另一方面添加酶制剂在一定程度上提高了采食量,增强了体内营养物质的代谢强度,进而促使各种消化因子分泌,以便加强体液调节,这两个因素综合起来使胃泌素分泌增加。

4 小结

研究表明,在玉米-豆粕型日粮中添加 NSP 酶制剂可以提高仔猪生长性能和消化功能。在本试验条件下,0.02% NSP 酶制剂添加水平对仔猪生长性能、养分消化率的改进效果最明显。

参考文献

- Owsley W F, Orr D E, Tribble L P. Effect of age and diet on the development of the synthesis and secretion of development of the pancreatic enzymes in the young pig[J]. Anim.Sci., 1986(63):497~504
- Lindemann M D, S G Cirnelivs, S M E1 Kandelgy, et al. Effect of age, weaning and diet on digestive enzyme level in the piglet[J]. Journal of Animal Science, 1986(62):1 298~1 307
- Cera K R,Mahan D C,Reihart G C. Effect of weaning week post-weaning and diet composition on pancreatic and small intestinal luminal lipase response in young seine[J]. Anim.Sci., 1990(68):384~391
- Jesen M S, K.Jesen, K Jakogsen. Development of digestive enzymes in pigs with emphasis on lipolytic activity in the stomach and pancreas. Journal of Animal Science, 1997(75):437~445
- 刘亚力,刘宁. 饲用酶制剂生产技术研究及其应用. 畜禽业, 1998(8): 21~24
- 刘强,冯学琴. 非淀粉多糖酶制剂的研究与应用进展. 动物营养学报, 1999,11(2):6~11
- Bach Kundsens K E, Eggum B O,Steenfeldt S,et al. The Nutritive value of decorticated mill fraction of wheat.I.Chemical composition of raw and enzyme treated fraction and balance experiments with rats[J]. Anim. Feed Sci. and Tech., 1995(52):205~225
- Bedford M R. Reduced viscosity of intestinal digesta and enhanced nutrient digestibility in chickens given exogenous enzymes [A].Enzymes in Poultry and Swine nutrition[C]. 1996.19~28
- Shields R G, K E Ekstrom, D C Maban. Effect of weaning age and feeding method in digestive enzyme development in swine from birth to weeks[J]. Journal of Animal Science,1980(50):257~265
- Ikegami S, Tsuchihashi F, Harada H, et al. Effect of viscous in digestible polysaccharides on pancreat-icbiliary secretion and digestive organs in rats[J]. Anim. Nutr., 1990(120):353~360
- 沈水宝. 外源酶对仔猪消化系统发育及内源酶活性的影响[D]. 华南农业大学学位论文, 2002.58
- 赵京杨,刘子炎,孙书林. 酶制剂及其添加水平对生长猪生产性能及消化率的影响[J].粮食与饲料工业, 2001(10):37~39
- Borg B S, Libal G M Wahlstrom R C, et al. Tryptophan and threonine requirements of young pigs and their effects on serum calcium, phosphorus and zinc concentrations.J.Anim.Sci., 1987(64): 1 070~1 078
- 刘燕强,韩正康.粗酶制剂添加于大麦日粮中对鸡生长和血液生化值的影响[J].动物营养学报,1999,11(2):30~37
- 周顺武主编. 动物生物化学(第三版)[M]. 中国农业出版社, 1999
- Sturkie P D. Avian Physiology, Springer-Verlag [M].New York: 4th edition,1986
- 夏枚生. 高麸日粮中添加复合酶制剂对仔猪血液中几种激素水平的影响[J]. 浙江农业科学, 2000(6):300~303
- 许梓荣,王振来,王敏奇. 高麸饲料中添加复合酶制剂对仔猪血液中几种激素水平的影响[J].中国养猪学报,1999(6):36~39
- 向涛. 家畜生理学原理[M]. 农业出版社, 1986.462
- 刘智洁,刘丽梅,崔丽,等. 香猪采食前后胃液分泌与血浆胃泌素浓度的变化[J].东北农业大学学报, 1998, 29(1):43~47
- 高峰,江芸,周光宏,等. 小麦基础日粮添加酶制剂对断奶仔猪生长、代谢和血液 IL-2 水平的影响 [J]. 南京农业大学学报, 2002,25(1):57~60
- 许梓荣,卢建军,杨英. 饲料中添加半纤维素酶对生长猪的促生长作用及其内分泌机制[J].中国兽医学报,2002,3(2):201~202

(编辑:孙崎峰, sqf0452@126.com)

果寡糖和甘露寡糖对仔猪生产适宜配比的研究

宋小珍 瞿明仁 文 虹

摘 要 选择日龄相近、体重 15~20kg 的健康仔猪(杜长大)60 头,随机分成 10 组,每组 6 头,分别饲喂不同配比的寡糖日粮,测定各组仔猪的日增重、饲料转化率、死亡率和腹泻率。结果表明:①果寡糖与甘露寡糖能提高仔猪的日增重,其中试验 6 组和 8 组仔猪日增重分别比对照组提高 22.31% ($P<0.01$)和 19.23% ($P<0.05$);②果寡糖与甘露寡糖能明显提高仔猪的饲料转化率,试验 6 组与试验 8 组的料重比分别比对照组降低 18.57%和 20.85%;③不同配比果寡糖与甘露寡糖可不同程度的降低仔猪腹泻,试验 6 组与试验 8 组腹泻率比对照组分别降低 100%和 83.33%。从仔猪的日增重,饲料转化率及腹泻率来看,试验 6 组与试验 8 组可作为果寡糖和甘露寡糖在仔猪日粮中的适宜配比添加量。

关键词 仔猪;果寡糖;甘露寡糖;适宜组合;适宜添加量

中图分类号 S816.7

果寡糖 (Fructooligosaccharides, FOS) 是蔗糖分子以 β -1,2 糖苷键结合几个(8 个以下)D-果糖而形成的寡糖,应用于饲料添加剂的主要有果寡三糖、果寡四糖和果寡五糖。甘露寡糖(Mannan Oligosaccharides, MOS) 是几个甘露糖分子或甘露糖与葡萄糖通过 α -1,2、 α -1,3、 α -1,6 糖苷键组成的寡糖,一般通过富含 MOS 的酵母细胞壁发酵获得。Van(1995)认为,寡糖不能被动物消化,而是直接到达大肠,被大肠内的细菌选择性发酵利用,产生大量乳酸和琥珀酸等有机酸、短链脂肪酸(SCFA)和抗菌素,这些消化产物能进一步被动物吸收或直接作用于动物体。大量研究表明,果寡糖和甘露寡糖单独使用可以提高仔猪的生产性能。但是,目前对寡糖的研究还停留在研究单一寡糖对动物的饲养效果和作用机理上,有关果寡糖和甘露寡糖的联合作用的研究与应用很少。本试验根据断奶仔猪的生理特点和生产中存在的问题,结合科技发展的趋势,提出在断奶仔猪饲料中添加果寡糖、甘露寡糖替代抗生素的最佳组合与比例的研究,为今后寡糖在畜牧业中的应用提供一定的参考。

1 试验材料与方法

1.1 添加剂的来源

宋小珍,江西农业大学动物科技学院,讲师,330045,江西。

瞿明仁,单位及通讯地址同第一作者。

文虹,江西省饲料兽药检测所。

收稿日期:2006-01-05

果寡糖由河北维尔康制药有限公司提供,含量为 95%;甘露寡糖由北京中科院深蓝公司提供,含量为 95%。

1.2 试验动物及分组设计

试验动物是由江西省农科院试验猪场提供的杜长大三元杂交仔猪,选用胎次相同或相近,体重 15~20kg 健康的仔猪 60 头,按初始体重相同或相近,公母一致的原则随机分成 10 组,每组 6 头仔猪(见表 1)。试验开始后进入 7d 预试期,预试期内完成编号、驱虫,正常疫防注射。预试开始分别饲喂不同的试验日粮,各组的基础日粮相同(不添加任何抗生素药物),其营养水平根据 NRC(1998 版)仔猪的营养需要和试验需求设计配方,试验日粮及营养水平见表 2。预试结束称重,并且组间体重经统计检验差异不显著($P>0.05$),进入正式试验期,正式试验期为 30d。

表 1 试验设计

组别	添加量
试验 1 组	0.15%果寡糖+0.05%甘露寡糖
试验 2 组	0.15%果寡糖+0.10%甘露寡糖
试验 3 组	0.15%果寡糖+0.15%甘露寡糖
试验 4 组	0.30%果寡糖+0.05%甘露寡糖
试验 5 组	0.30%果寡糖+0.10%甘露寡糖
试验 6 组	0.30%果寡糖+0.15%甘露寡糖
试验 7 组	0.45%果寡糖+0.05%甘露寡糖
试验 8 组	0.45%果寡糖+0.10%甘露寡糖
试验 9 组	0.45%果寡糖+0.15%甘露寡糖
试验 10 组(对照组)	不加寡糖

表2 试验日粮配方及其营养水平

原料	含量(%)	营养水平	
玉米	63	消化能(MJ/kg)	13.80
豆粕	23	粗蛋白(%)	18.0
乳清粉	4	钙(%)	0.9
鱼粉	4	磷(%)	0.7
植物油	2	赖氨酸(%)	1.25
磷酸氢钙	1.5	蛋氨酸(%)	0.45
石粉	0.75		
食盐	0.25		
赖氨酸	0.35		
蛋氨酸	0.1		
1%预混料	1		
合计	100		

注:1%预混料为每千克全价料提供 Cu 200mg、Fe 120mg、Zn 120mg、Mn 50mg、Co 2.0mg、Se 0.3mg、I 0.45mg、维生素 A 800IU、维生素 D₃1 800IU、维生素 E 30IU、维生素 B₁1.8mg、维生素 B₂ 6mg、维生素 B₁₂ 0.024mg、叶酸 0.3mg、生物素 0.44mg、烟酸 3.2mg、胆碱 800mg。

1.3 饲养管理

试验猪各组条件一致,圈养在座北朝南,砖瓦结构,水泥地面,单列式猪舍中,分 10 栏饲养,由同一名饲养员负责日喂 3 次,自由饮水,上下午打扫清理粪便及运动场地各一次。试验进行过程中观察仔猪精神状况,分别记录各组仔猪每天腹泻次数,于试验结束

时对仔猪进行个体称重,记录各组仔猪饲料消耗量。

1.4 测定项目与方法

1.4.1 日增重和饲料转化率

分别于试验初和试验结束时的清晨对每头猪进行空腹称重,计算平均体重和平均日增重;同时于试验结束时称量各组猪的饲料消耗量,计算各组试验猪的饲料转化率。

1.4.2 死亡率及腹泻率

试验全期观察猪群的健康状况,记录各组试验猪的死亡数和腹泻数,试验结束时统计猪群的死亡率和腹泻率。

腹泻率=[总腹泻次数/(试验猪头数×试验天数)]×100%

1.5 统计分析

利用 SAS 软件进行统计分析,用 Duncan's 法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 日增重和料重比

各试验组猪的初始重、末重、日增重及饲料转化率的影响情况见表 3。

从表 3 可以看出,试验 1、试验 3、试验 4 组日增

表3 寡糖不同配比对仔猪日增重及饲料转化率的影响

组别	初始重(kg)	末重(kg)	日增重(g)	日采食量(g)	料重比
试验 1 组	16.96±1.17	27.25±4.46	343.06±57.91	935.65	2.73
试验 2 组	16.67±1.08	28.17±3.20	383.33±48.20	1 019.66	2.66
试验 3 组	16.59±1.29	26.84±4.52	341.67±60.10	949.84	2.78
试验 4 组	16.00±0.74	26.08±2.60	336.11±38.17	883.97	2.63
试验 5 组	16.67±1.58	28.46±2.98	393.06±42.32	1 010.03	2.59
试验 6 组	16.71±1.23	29.96±2.20	441.67±34.56 ^a	1 104.18	2.50
试验 7 组	16.59±1.20	27.71±3.85	370.83±53.76	1 045.74	2.82
试验 8 组	16.17±0.80	29.09±1.25	430.56±27.48 ^a	1 046.26	2.43
试验 9 组	16.60±1.39	29.10±3.10	416.67±49.15	1 075.01	2.58
试验 10 组	16.75±0.87	27.58±3.11	361.11±50.37 ^a	1 108.61	3.07

注:表中右肩标不同小写字母表示差异显著(P<0.05),不同大写字母表示差异极显著(P<0.01)。

重比试验 10 组(即对照组)略低,但差异不显著(P>0.05);料重比分别比对照组下降 11.07%、9.45%、14.33%。试验 2、试验 5、试验 7、试验 9 组日增重比试验 10 组(即对照组)有所提高,分别提高 6.15%、8.85%、2.69%、15.39%,但差异不显著(P>0.05);料重比分别比对照组下降 13.36%、15.64%、8.14%、15.96%;试验 6 组日增重比对照组提高 22.31%,差异极显著(P<0.01);试验 8 组仔猪日增重比对照组提高 19.23%,差异显著(P<0.05);试验 6 组和试验 8 组料重比分别比对照组下降 18.57%和 20.85%。

2.2 死亡率和腹泻率

各试验组仔猪在试验期间的死亡及腹泻情况见表 4。

表4 寡糖不同配比对仔猪死亡率及腹泻率的影响

组别	死亡数	死亡率(%)	总腹泻次数	腹泻率(%)
试验 1 组	0	0	15	8.33
试验 2 组	0	0	3	1.67
试验 3 组	0	0	9	5.00
试验 4 组	0	0	10	5.56
试验 5 组	0	0	1	0.56
试验 6 组	0	0	0	0
试验 7 组	0	0	1	0.56
试验 8 组	0	0	2	1.11
试验 9 组	1	16.7	10	5.56
试验 10 组	0	0	12	6.67

由表4可以看出,除试验9组有1头死亡外,其它各组均无死亡。腹泻数除试验6组为0以外,其它各组均有不同程度的腹泻,其中以试验1组最高为15次,腹泻率为8.33%;其次为对照组12次,腹泻率为6.67%,其它各组均低于对照组;试验2、试验3、试验4、试验5、试验7、试验8、试验9组腹泻率分别比对照组下降75%、25%、17%、92%、92%、83%、17%。

3 讨论与小结

3.1 果寡糖与甘露寡糖能提高仔猪的日增重,在仔猪日粮中添加0.45%果寡糖+0.10%甘露寡糖组(试验8组)日增重比对照组提高19.23%,差异显著($P<0.05$);添加0.30%果寡糖+0.15%甘露寡糖组(试验6组)日增重比对照组提高22.31%,差异极显著($P<0.01$),这与前人的研究结果基本一致。Canada(1993)在仔猪饲料中添加1.8g/kg的MOS,日增重提高13.56%。试验1组(0.15%果寡糖+0.05%甘露寡糖)、试验3组(0.15%果寡糖+0.15%甘露寡糖)、试验4组(0.30%果寡糖+0.05%甘露寡糖)日增重比试验10组(即对照组)略低,但差异不显著($P>0.05$),这可能与试验组仔猪比对照组采食量偏小有关,这与前人报道的寡聚糖能提高仔猪的采食量结果相矛盾,具体原因有待进一步研究。

3.2 果寡糖与甘露寡糖都能明显提高仔猪的饲料转化率,试验6组与试验8组比对照组分别下降18.57%和20.85%。卢福庄等(1999)在日粮中添加FOS(果寡糖)发现,仔猪日增重提高6.4%;单位增重的饲料消耗下降11.7%;饲料效率提高10%。

3.3 从腹泻情况来看,果寡糖与甘露寡糖不同组合对仔猪腹泻也有不同程度的降低。试验9组有1头死亡,可能与低聚糖加入过多反而提高腹泻率有关(Judith和Spiegel等,1994),其它各组均无死亡。腹泻

率试验6组与试验8组比对照组分别降低100%和83%,这可能与寡聚糖能促进有益菌增殖,抑制有害菌繁殖有关。Morishita等(1993)在日粮中添加1%寡果糖,结果肠道中双歧杆菌和乳酸杆菌的数量都有所增加,有益菌得到增殖。王亚军等(2000)报道,仔猪日粮中添加0.1%FOS,提高断奶仔猪日增重19.88%($P<0.01$)、降低料重比2.2%($P>0.05$)、降低腹泻率46.7%,具体作用机理待进一步研究。

4 结论

本研究发现,从对仔猪生产性能(日增重、饲料转化率及腹泻率)影响上看,试验6组(0.30%果寡糖+0.15%甘露寡糖)与试验8组(0.45%果寡糖+0.10%甘露寡糖)可作为果寡糖和甘露寡糖组合在仔猪日粮中的适宜添加配比。

参考文献

- 1 张子仪主编. 中国饲料学. 北京: 中国农业出版社, 2000
- 2 林云. 饲料抗生素的应用及面临的问题 [J]. 饲料研究, 2001(4): 25~26
- 3 Oyarzabal O A, Conner D E, et al. Application of Direct Fed Microbial Bacteria and Fructooligosaccharides for Salmonella Control in Broilers During Feed Withdrawal. Poultry-Science, 1996, 75 (2): 186~190
- 4 Ohta A, Motohashi Y, Sakai K, et al. Dietary fructooligosaccharides increase calcium absorption and levels of mucosal calbindin-D9k in the large intestine of gastrectomized in rats. Scandinavian Journal of Gastroenterology, 1998, 33(10): 1 062~1 068
- 5 宋小珍, 瞿明仁, 等. 益生菌和中草药替代抗生素对乌骨鸡生产的影响. 江西饲料, 2003(2): 12~14
- 6 瞿明仁. 低聚果糖替代抗生素使用对泰和鸡免疫促进作用的研究. 饲料工业, 2003(12): 1~4

(编辑: 高 雁, snowyan78@tom.com)

· 信息采集 ·

不能同时使用的饲料添加剂

在畜禽饲料中,加入一些饲料添加剂,可起到促进生长,提高肉、奶、蛋产量,降低饲料消耗和防病治病等作用。但是,有些饲料添加剂不能同时使用。

胆碱不能和某些维生素、钙、磷同时使用。胆碱易溶于水,碱性很强,对于水溶性维生素,如维生素C、维生素B和泛酸等能起破坏作用。此外,磷和钙在酸性环境中易被吸收,而在碱性环境中则吸收很少。所以,胆碱不能与钙粉、磷酸氢钙等一起添加。

维生素B₁不能与青霉素同时使用。因为维生素B₁的水溶液呈弱酸性,会破坏青霉素的功效。

硫酸亚铁、氯化亚铁、硫化亚铁不能与维生素A、维生素D、维生素E和维生素B₁、B₂同时使用。若同时使用,前者会加快后者的氧化过程。

碳酸钙不能与维生素B₁、维生素B₂、维生素C、维生素K₁、维生素K₂和泛酸、链霉素、土霉素同时应用,因碳酸钙属碱性,在碱性环境中,上述维生素等添加剂易被破坏。

不同赖氨酸水平下添加高浓缩酶制剂对生长猪生产性能的影响

刘延贺 苑会珍 聂芙蓉 王关生

摘 要 试验选用 70 头、体重为 15kg 左右的长×大×杜三元杂交猪,随机分为 7 组,研究在不同的赖氨酸水平下添加高浓缩酶制剂对生长猪生产性能的影响,探讨添加酶制剂提高蛋白质、氨基酸消化率基础上能否适当降低赖氨酸水平而不影响生产成绩,从而节约合成赖氨酸添加量。基础日粮配方参照美国 NRC 生长猪 10~20kg 和 20~50kg 两阶段饲养标准,确定两阶段基础日粮的能量、蛋白质水平,赖氨酸水平控制为 0.68%,对照组喂给基础日粮。各试验组添加赖氨酸的量依次为 (%):0.25、0.20、0.15、0.10、0.05、0.00;相应的各试验组添加浓缩酶的量依次为 (g/kg): 0.00、0.1、0.1、0.1、0.1、0.1。结果表明:猪体重为 30kg 前的生长速度和日粮的赖氨酸水平呈正相关,随赖氨酸水平提高,生长速度持续提高;适当较低水平的赖氨酸和酶结合添加,比单一添加高水平的赖氨酸效果更好;在营养需要的基础上,生长猪前期使用浓缩酶制剂可以适当降低赖氨酸的添加量,期望较高日增重(600g/d)时,赖氨酸水平可降低 10%,约可节约 25%~40%的合成赖氨酸添加量;较低日增重(近 500g/d)时,约可节约 50%合成赖氨酸添加量。

关键词 赖氨酸;浓缩酶制剂;生长猪;生产性能

中图分类号 S816.7

在猪饲料中添加复合酶制剂(或单项外源酶)可以促进猪胃肠道组织和胰腺的生长发育、提高小肠粘膜蔗糖酶活性、空肠后段胰淀粉酶活性、胰脏和小肠胰蛋白酶活性、改善小肠绒毛生长(沈水宝等,2004),从而提高饲料主要营养物质的消化率,最终显著提高猪日增重和饲料转化率(蒋宗勇,1995;陶勇,1997;鲍咏梅,1998;管武太等,2004;钟正泽等,2004;沈水宝等,2004;何中山等,2004;黄金秀等,2004;顾宪红等,2004),这些都已经得到很多资料证实。但在生产中,添加酶制剂往往造成饲料成本升高,影响用户使用。使用酶制剂提高了蛋白质的消化率,也提供了更多的可利用赖氨酸,能否通过添加酶制剂降低商品赖氨酸的添加量(或整体饲料的赖氨酸水平)而不影响生产性能指标,从而保持饲料成本不变以利于酶制剂的推广应用,尚未见到此方面的报道。本试验主要探讨在不同赖氨酸水平下添加浓缩酶对生长猪生产性能的影响,以期对使用浓缩酶能否节约赖氨酸及节约的比例提供参考依据。

刘延贺,郑州牧业工程高等专科学校,副教授, 450008, 郑州。

苑会珍,河南省平顶山市饲料监测站。

聂芙蓉,单位及通讯地址同第一作者。

王关生,河南省荥阳市王村猪场。

收稿日期:2006-01-28

1 试验材料与方法

1.1 试验设计

采用 1×6+1 设计,即设 1 个对照组,6 个试验组。对照组按照猪在试验阶段的正常营养需要配制日粮,不添加赖氨酸和浓缩酶制剂。6 个试验组分别在对照组基础上添加同量的浓缩酶(有一组除外,浓缩酶为 0),但每个组赖氨酸水平通过添加合成赖氨酸而形成 6 个赖氨酸的浓度梯度。

1.2 试验动物及分组

选取健康、体重在 15kg 左右的长×大×杜三元杂交猪 70 头作为试验猪,随机分为 7 组,每组设两个重复,每个重复 5 头。每组中的公母比例均控制在 6:4。

1.3 基础日粮

基础日粮参考 NRC 生长猪 10~20kg 和 20~50kg 的营养需要标准编制配方,赖氨酸水平为 0.68%,不添加浓缩酶制剂。基础日粮配方及营养成分含量见表 1。

表 1 基础饲料配方及营养成分含量

原料	组成(%)	营养水平	
玉米(%)	67.25	消化能(MJ/kg)	13.22
小麦麸(%)	5.10	粗蛋白(%)	17.26(实测)
大豆粕(%)	23.65	钙(%)	0.75(实测)
4%预混料(%)	4.00	总磷(%)	0.66(实测)
		有效磷(%)	0.38
		赖氨酸(%)	0.71(实测)
合计	100	蛋氨酸+胱氨酸(%)	0.52(实测)

1.4 试验日粮

按基础日粮配方为标准,添加赖氨酸的水平(%)依次为0.25、0.20、0.15、0.10、0.05、0.00的6个梯度,同时分别添加0.1g/kg的浓缩酶构成试验组日粮(见表2)。

表2 各组添加浓缩酶和赖氨酸量情况

项目	赖氨酸(%)	浓缩酶(g/kg)
试验1组	0.25	0
试验2组	0.20	0.1
试验3组	0.15	0.1
试验4组	0.10	0.1
试验5组	0.05	0.1
试验6组	0	0.1
对照组	0	0

注:基础日粮配方参考美国NRC10~20kg和20~50kg两阶段猪的营养需要量,并按其能量蛋白比适当降低了能量蛋白水平,表中添加赖氨酸量为纯赖氨酸量,而非赖氨酸盐酸盐。

1.5 浓缩酶来源及指标

用于试验的高浓缩酶由江苏江阴爱顿生物工程有限公司提供,蛋白酶酶活在1 000万单位以上。

1.6 测定指标及记录数据

记录每组猪的总采食量和平均日采食量、总增重和平均日增重及每组的饲料增重比。

1.7 结果分析

对数据进行方差分析,并用LSD法进行差异显著性检验和比较。

2 结果与讨论(见表3)

表3 不同赖氨酸水平下添加浓缩酶对生长猪增重和饲料转化率的影响

指标	试验组						对照组
	1	2	3	4	5	6	
始重(kg)	15.56	16.35	15.63	16.05	15.35	15.60	15.78
末重(kg)	27.36	28.10	27.26	26.10	25.55	25.20	25.08
增重(kg)	11.80	11.75	11.63	10.05	10.20	9.60	9.30
采食(kg)	18.72	19.26	16.99	17.13	18.53	17.80	18.55
ADG(g/d)	590.0 ^{Ac}	587.5 ^{Ac}	581.5 ^{Ac}	502.5 ^b	510.0 ^b	480.0 ^{Ba}	465.0 ^{Ba}
ADFI(g/d)	936.0	963.0	849.5	856.5	926.5	890.0	927.5
F/G	1.59 ^c	1.64 ^c	1.46 ^{Ad}	1.70 ^c	1.82 ^{Bb}	1.85 ^{Bb}	1.99 ^{Ba}

注:1.ADG——平均日增重,ADFI——平均日采食量,F/G——饲料增重比;

2.同一行中,数据肩标有大写字母不同者间差异极显著($P<0.01$),有小写字母不同者间差异显著($P<0.05$),凡有任一字母相同者间差异不显著($P>0.05$)。

在基础日粮的0.68%赖氨酸水平上,不论单一添加浓缩酶制剂、赖氨酸还是同时添加两者组合,猪的日增重、料重比都较对照组有明显改善($P<0.05$);随着赖氨酸添加量的增加,猪的日增重也持续提高。赖

氨酸添加量为0.25%的试验组日增重最高为590g/d,其次为添加0.20%、0.15%赖氨酸同时添加浓缩酶的两组,分别为587.5g/d和581.5g/d,三者间差异不显著($P>0.05$),但均极显著高于对照组和只添加浓缩酶制剂组($P<0.01$);添加浓缩酶同时添加赖氨酸的所有试验组表现结果均明显优于在较低赖氨酸水平下只使用浓缩酶的试验组(试验6组)($P<0.05$)。同时添加赖氨酸和浓缩酶的4个试验组中,在同样的酶用量下,0.20%和0.15%的赖氨酸添加没有显著差异($P>0.05$);0.10%和0.05%的赖氨酸添加同样没明显差别($P>0.05$),但从0.10%提高到0.15%在增重上得到了显著提高的效果($P<0.05$)。从考察日增重的角度分析,在同一个期望的ADG范围内,在使用高浓缩酶的情况下,0.05%的赖氨酸水平差异对增重没有影响,即以原有添加赖氨酸水平为基础,降低添加量的25%~50%不会影响生产成绩。原有添加赖氨酸的基础水平越高,要达到同样增重的赖氨酸可降低幅度越小。本试验中,要达到近500g/d的增重,在添加0.10%赖氨酸基础上可降低50%;但要达到近600g/d的增重,赖氨酸至少要添加0.15%,与增重没有明显差异的高添加量0.20%、0.25%相比分别可降低25%、40%。从高增重的试验3组结果看,0.25%赖氨酸添加量、不使用酶制剂的效果,通过添加0.1g/kg的高浓缩酶,降低40%赖氨酸添加量来实现是完全可行的;同样,低增重组降低50%赖氨酸添加量是完全可行的。按基础日粮的赖氨酸水平0.68%计算,添加赖氨酸后,从高到低各试验组赖氨酸水平依次为:0.93%、0.88%、0.83%、0.78%、0.73%、0.68%。增重最高达590g/d的组,其赖氨酸水平也是最高的0.93%,此值接近NRC建议的10~20kg阶段猪的营养需要标准,在使用高浓缩酶制剂后,降低赖氨酸水平的0.88%、0.83%两试验组所获得的ADG成绩587.5、581.5g/d与590g/d相比差异不显著($P>0.05$)。因此,从配合饲料赖氨酸水平来说,使用浓缩酶制剂后整体赖氨酸水平较推荐需要量降低10%也是完全可行的。但要实现增重明显的跨越提高(本试验中跨越幅度为近100g),在使用酶的同时,赖氨酸需要翻倍添加(0.05%到0.15%)才能实现,赖氨酸似乎仍是决定因素。

从饲料转化率来看,也基本支持由日增重所反映出的效果,对照组和只使用酶制剂组、0.05%赖氨酸组在F/G上没有显著差异($P>0.05$);0.10%至0.20%赖氨酸添加水平、同时添加浓缩酶制剂与0.25%赖氨酸添加水平、不加酶制剂的4个试验组,其饲料转化率均

显著($P<0.05$)优于其余3个组。与所得ADG结果不同的是,这4个组的最好成绩不是出现在最高赖氨酸添加量为0.25%的试验1组,而是0.15%赖氨酸和0.1g/kg酶制剂组合的试验3组。该组合的饲料转化率极显著高于对照组、0.05%赖氨酸水平组和只添加酶制剂组($P<0.01$),同时也显著优于0.10%、0.20%、0.25%3个赖氨酸水平组($P<0.05$)。这一结果似乎显示,添加的浓缩酶制剂不但提高了饲料中原有的赖氨酸消化率,同时也提高了整个蛋白质和其它氨基酸以及碳水化合物等有机物的消化率,使饲料全面的可消化利用养分增加,除赖氨酸以外的其它氨基酸也得到了相对更好的平衡,因而表现出最好的饲料转化率。只添加赖氨酸而没使用酶,尽管添加水平是最高的(0.25%),但最终总的生产成绩却不是最好,只是在生长速度上表现出较好优势。

3 结论

3.1 15~30kg阶段生长前期的小猪,其生长速度(ADG)和日粮的赖氨酸水平成正相关,在需要量的范围内,随饲料赖氨酸水平的上升,ADG持续提高,这与传统的早期生长猪和饲料赖氨酸水平关系的理论一致。

3.2 生长前期的小猪,饲料中添加浓缩酶制剂和赖氨酸可以有效提高猪的生产性能,适当较低水平的赖氨酸和酶结合添加,比单一添加更高水平的赖氨酸效果更好,饲料转化率更高。

3.3 在营养需要的基础上,生长猪前期使用浓缩酶制剂可以适当降低赖氨酸的添加量,期望的增重速度越快,可降低的幅度越小。较高生长速度(近600g/d)时,使用高浓缩酶约可使配合料赖氨酸水平降低10%左右,若在低于需要量的基础料中添加赖氨酸,约可节约25%~40%的合成赖氨酸添加量;较低生长速度(近500g/d)时,约可节约50%的合成赖氨酸添加量。

参考文献

- 1 陈文,等.植酸酶对仔猪饲料能量和蛋白质利用率影响的研究.四川农业大学学报,2003(3)
- 2 冯定远,等.含有木聚糖酶和 β -葡聚糖酶的酶制剂对猪日粮消化性能的影响.饲料毒物与抗营养因子研究进展.西安:西北大学出版社,1997.176~179
- 3 冯定远,等. β -葡聚糖酶和戊聚糖酶等对猪日粮营养物质消化的影响.动物营养学报,2000(2):31
- 4 管武太,等.复合酶对仔猪生长性能和饲料养分消化的影响.动物营养学分会第九届学术研讨会论文集,重庆:2004
- 5 顾宪红,等.复合酶对断奶仔猪日粮养分消化率的影响.动物营养学分会第九届学术研讨会论文集,重庆:2004
- 6 何中山,等.豆粕酶解参数及酶解豆粕对猪的饲用效果的研究.动物营养学分会第九届学术研讨会论文集,重庆:2004
- 7 黄金秀,等.仔猪饲料木聚糖水平与添加木聚糖酶对养分消化率的影响.动物营养学分会第九届学术研讨会论文集,重庆:2004
- 8 沈水宝,等.外源酶对仔猪生长性能的影响.动物营养学分会第九届学术研讨会论文集,重庆:2004
- 9 沈水宝,等.外源酶对仔猪消化道组织生长的影响.动物营养学分会第九届学术研讨会论文集,重庆:2004
- 10 沈水宝,等.外源酶对仔猪消化系统胰蛋白酶活性的影响.动物营养学分会第九届学术研讨会论文集,重庆:2004
- 11 梁海英,等.不同饲料类型添加NSP酶对断奶仔猪生产性能及养分消化率的影响.动物营养与饲料科学研究论文汇编,四川大学动物营养研究所,2004
- 12 罗献梅,等.35~60kg生长猪可消化氨基酸需要量研究.动物营养学报,2001(3)
- 13 倪志勇,等.不同营养水平饲料中添加饲用复合酶对肉鸡生产性能的影响研究.四川农业大学学报,2001,19(1):80~85
- 14 张克英,等.饲料中添加植酸酶对断奶仔猪生长性能及蛋白质、氨基酸和磷利用率的影响.动物营养学报,2001,13(3):19~24
- 15 张克英,等.25~35kg生长猪可消化氨基酸的需要量研究.中国畜牧杂志,2001,37(2):26~27
- 16 Bohme H, et al. Effect of enzyme supplements for pigs. Landbauforschung Volkenrode, 1990(40):213
- 17 Inbarr J, et al. The influence of supplementary feed enzymes on nutrient disappearance and digesta characteristics in the GI-tract of early-weaned pigs. Wageningen (Doorwerth), Netherlands, 1991.24
- 18 Li S, et al. Effect of beta-glucanase supplementation to hullless barley-or wheat-soybean meal diets on the digestibilities of energy, protein, beta-glucans, and amino acids in young pigs. Journal of Animal Science, 1996(74):1 649

(编辑:高雁, snowyan78@tom.com)

·信息采撷·

瑞士修订关于转基因食品的法令

2006年1月10日,瑞士联邦公共卫生办公室修订关于转基因食品的法令。法令第2条c定义了术语“GMO产品”。修订为:不再认为直接得自转基因生物GMOs的产品(即第1代产品;如玉米淀粉)与第1代产品的化学修饰产品(即第2代产品;如玉米淀粉生产的葡萄糖/果糖糖浆)之间有差别。根据先于上述法令、至2005年12月31日有效的转基因生物食品、转基因生物添加剂及转基因生物加工助剂审批程序法令,只有第1代产品上市前须经强制性批准。修订使瑞士法律与欧共体法律一致。

生效日期为2006年1月1日。

镁的抗氧化功能及其作用机制

李宗付 陈代文 余冰

摘要 镁是动物的必需营养元素之一,日粮中添加镁具有抗应激、抗氧化、改善肉品质、提高生产性能的重要作用。文中综述了镁对动物体抗氧化机能的影响,并探讨了其可能的作用机制。

关键词 镁;脂质过氧化;机制

中图分类号 S816.72

Research on the antioxidation function and mechanism of magnesium

Li Zongfu, Chen Daiwen, Yu Bing

Abstract Magnesium is regarded as an essential nutrition for all animals. It plays an important role in antioxidation, antistress, improving meat quality and performance. Effects of magnesium on animal's antioxidation function were reviewed in this paper. Meanwhile, the underlying mechanisms were preliminary discussed.

Key words magnesium; lipid peroxidation; mechanism

镁是动物的必需营养元素之一,是动物体内最富含的第七大元素。镁不仅参与体内所有的能量代谢,催化或激活 300 多种酶体系,而且在维持骨骼和牙齿的完整性、神经肌肉脉冲传递、体内蛋白以及脂肪代谢中都起着重要作用。过去对镁的研究重点是在反刍动物上,对于非反刍动物,镁的作用常常被忽视。近年来一些文献报道,在单胃动物日粮中额外添加镁,特别是有机镁,具有抗应激、抗氧化、改善肉品质、提高生产性能的重要作用。

1 镁对动物抗氧化机能的影响

镁对动物抗氧化机能影响的研究主要集中在鼠类基础研究方面,在禽类上的研究不太多,猪方面的研究主要是改善肉的品质,反刍家畜就镁抗氧化功能的研究还未见报道。

1.1 在鼠类上的研究

在组织 (Guthrie 等, 1992、1994)、血浆脂蛋白 (Rayssiguier 等, 1993)、活体小鼠肝脏 (Rimbach, 1999; Günther, 1994) 和离体培养的肝细胞 (Günther, 1995; Hélène, 2003) 的研究中都发现,缺镁使组织脂质过氧化程度增加。Jay (2003) 以镁日推荐量的 9%、20%、40%、100% 4 个水平的镁饲喂小鼠,三周后的测定结果发现,与 100% 对照组相比,前 3 个水平组红细胞

(RBC) 中谷胱甘肽 (GSH) 含量分别下降了 50%、29.4%、20.6%; 硫代巴比妥酸反应物 (TBARS) 则分别增加了 148%、60%、20%。这表明,在一定范围内随着日粮镁含量的增加,红细胞中 GSH 含量线性上升,血浆中 TBARS 含量则线性下降,脂质过氧化减少。Peker (2004) 给 α -射线照射的小鼠饲喂添加 600mg/kg 的 $MgSO_4$ 日粮后,丙二醛 (MDA) 显著下降 ($P < 0.001$)。Vernet (2004) 发现,缺镁情况下,大鼠肝、肾中的谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性显著下降,但附睾中未变化。Rayssiguier (1993) 以刚断乳的雄性大鼠为研究对象,分别饲喂缺镁和正常饲料,结果发现,缺镁大鼠血浆极低密度脂蛋白 (VLDL) 和低密度脂蛋白 (LDL) 氧化程度增高,且 VLDL 和高密度脂蛋白 (HDL) 在体外也更易由离子诱导发生过氧化反应。

1.2 在禽类上的研究

邱榕生 (2003、2004) 分别研究了有机镁与有机硒联合使用以及有机镁的不同饲用时间对肉仔鸡机体组织氧化机能的影响,结果表明:日粮中使用有机镁可提高肝脏和心脏中过氧化氢酶的活性 ($P < 0.05$),增加肝脏中 GSH 的合成量 ($P < 0.01$),减少肌肉和肝脏中 MDA 的产生量 ($P < 0.01$);有机镁和有机硒的使用对提高机体总抗氧化能力 (TAOC) 和减少肝脏中 MDA 的数量有显著的交互效应 ($P < 0.01$);最后 4 周使用有机镁有降低肝脏和心脏 MDA 含量的趋势,使用有机镁可显著提高肝脏的 TAOC (总抗氧化能力) ($P < 0.05$),并表现出对使用时间的依赖性。张桂梅 (2001) 在玉米-豆粕型肉鸡日粮中添加 0.1%~0.2% 氨基酸镁,显著降低

李宗付,四川农业大学动物营养研究所,在读硕士,625014,四川雅安。

陈代文、余冰,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2006-01-23

了鸡腿肉的 TBARS 值。Sahin(2005)对日本鹌鹑在高温应激条件下日粮中添加氧化镁和蛋白镁进行的研究也表明,随着日粮镁含量的增加,血清($P=0.001$)、肝脏($P=0.04$)和大腿肌肉($P=0.0001$)中 MDA 的含量线性($P=0.001$)下降;在降低热应激对鹌鹑的负效应上,蛋白镁比氧化镁具有更多的保护作用。

1.3 在猪上的研究

许多研究表明,日粮添加镁对于抵抗宰后猪肉脂质氧化,改善肉的品质,延长肉贮存期具有重要作用。Frederick 等(2004)分别在屠宰前的 0、2、4、6d 给予 900mg/l 浓度的镁($MgSO_4$)饮水,然后屠宰,结果发现饮水 2d 试验组的最长肌和半膜肌所含 TBARS 低于饮水 0、4、6d 试验各组。这表明短时期内供给镁可以减小肉质的氧化,但是屠宰前超过 2d 的供给则会增加肉的氧化程度。石亚中(2005)用七水硫酸镁对 20 头杜长大肥育猪宰前 8d 饲料进行处理,结果显示:每头猪每天的饲料中添加 9g 七水硫酸镁有改善肉质的趋势,试验组猪宰后 24h 肌组织中脂质氧化的终产物 MDA 含量显著低于对照组($P<0.05$),说明宰前饲料中添加镁可能对猪宰后肌肉抗脂质氧化有相关作用,在一定时间内有望抑制宰后猪肉变质、变味,提高肉质。Apple 等(2001)对 78 头杂交猪饲喂不同水平的云母镁(0%、1.25%、2.5%),宰后取其胸腰最长肌 2℃贮存 0、4、8 周,结果贮存 0 周的猪肉的 TBARS 值无显著变化,对冷藏 4 周后的猪肉,添加 2.5%云母镁的肉 TBARS 值低于添加 0%和 1.25%云母镁组,而贮存 8 周后,添加 1.25%云母镁的肉 TBARS 值低于添加 2.5%云母镁组。表明镁通过减少脂质氧化,延长了肉的贮存期。镁的这种效果在天门冬氨酸镁、氧化镁和氯化镁试验中都得到证实(Souza,1999;Schaefer,1993;D'Souza,1998)。

动物屠宰后脂质氧化是肉变质、变味的主要原因,在实际生产中,镁的抗脂质过氧化的功能可能会为我们提供一条解决这一问题的途径(董瑞鹏等,1994)。

2 镁抗脂质过氧化的作用机制

2.1 镁可能通过影响细胞膜的功能而发挥作用

细胞膜表面有很多阳离子的结合位点,在正常情况下主要为镁和钙离子所结合,并起到稳定脂质双层结构的作用。一旦镁结合点被其它阳离子(主要是二价铁离子)占据,就会发生膜功能的紊乱。镁缺乏时,细胞膜上与铁离子竞争位点的镁减少,导致细胞膜上的铁离子结合位点增加,细胞膜上形成错位铁

(Schaick,1992),提高了自由基产生的催化反应速度。镁缺乏还可导致细胞溶血脆性升高(Anthony 等,1992),RBC 破裂增多,细胞内的二价铁离子释放到细胞外液中,进一步催化血浆中自由基连锁反应。Edmond 等(1995)利用电子自旋共振(ESR)光谱学技术来测定自由基的产生量,在二甲基亚砷(DMSO)的存在下,组织浆液在苯基-N-t-硝酸丁醇(PBN)中孵育,90min 后,发现缺镁组大鼠的组织匀浆中自由基浓度显著大于对照组,并且当孵育液中含有硫酸亚铁 200 μ mol/l 时,差异更显著,说明铁离子确实有增加组织自由基产生量的作用。Abrowska 等(1990)还发现,在缺镁鲤鱼的日粮中增加镁的添加量还可显著减少肾和肝等软组织中的铁含量。

2.2 镁可能通过对体内抗氧化物质的影响产生作用

正常情况下体内活性氧的产生与清除处于一种动态平衡,当活性氧产生过多而清除物质过少时,就会对机体造成氧化损伤。体内自由基的清除物质包括非酶性和酶性物质两大类,非酶性物质主要有 GSH、VE 等;酶性物质主要有 GSH-Px(谷胱甘肽过氧化物酶)、SOD(超氧化物歧化酶)、CAT(过氧化氢酶)等。这些物质对体内自由基的清除具有重要作用。很多研究表明,镁对动物体内这些物质的含量都有显著的影响。

2.2.1 对 GSH 的影响

许多研究表明,低镁或缺镁时肝脏(Mak 等,1994;邱榕生,2003)、心脏(Freedman,1992)、红细胞(RBC)(Weglicki,1996;Jay,2003)、内层表皮细胞(Regan,2001)中 GSH 的含量减少。Betty 等(1986)研究发现,缺镁降低大鼠血中 GSH 浓度的同时,非蛋白巯基的合成量没受影响,其结果证明了镁是 RBC 中 GSH 合成及其生物合成所需 ATP 的必需辅助因子,因此,认为镁的缺乏抑制了 GSH 从巯基前体合成的速度(或数量)。进一步的解释是 GSH 的合成需要两种酶:谷氨酰半胱氨酸合成酶和谷胱甘肽合成酶。这两种酶都需要镁离子作为辅酶(Minnich 等,1971),因此镁的缺乏可影响到谷胱甘肽的合成。但也有些不同的看法认为,镁缺乏导致的 GSH 减少,不是由于 GSH 合成酶的活性受到影响,而是由于自由基产生过多攻击 GSH 而使其损耗的结果(Mak 等,1994;邱榕生,2004)。关于镁影响 GSH 的机理仍需进一步研究。

2.2.2 对 VE 的影响

Anthony 等(1992)还发现,缺镁导致仓鼠心肌损伤,而维生素 E 的添加则表现出抗自由基的效果——

可显著减少心肌损伤数量和面积,并随着剂量的增加有增加效果的趋势 (Anthony 等,1990)。Freedman 等(1991)也观察到类似的效果:发现缺镁或注射儿茶酚胺异丙肾上腺素导致心肌坏死和钙化,维生素 E 表现出保护作用。这说明缺镁提高了动物对维生素 E 的需要量,也就意味着在缺镁的情况下,体内抗氧化物质减少了,并且在一定程度上,镁与维生素 E 可能存在协同作用。

2.2.3 其它

吕晓华 (2001) 研究表明,与空白对照组相比,0.6mmol/l、1.2mmol/l、2.4mmol/l Mg^{2+} 组 Se-GSH-Px 活性显著升高 ($P<0.05$),与 H_2O_2 组相比, $H_2O_2+Mg^{2+}$ 各剂量组 Se-GSH-Px 和 non-Se-GSH-Px 活性升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)。镁的缺乏还可影响到 SOD 和 CAT 的活性,缺镁使大鼠大动脉中 SOD 活性下降 54%,使 CAT 的酶活下降了 37% (Shivakumar 等,1997)。冯东福 (2000) 研究也表明,灌注 $MgSO_4$ 可显著提高损伤大鼠脑线粒体中 SOD 水平 ($P<0.05$)。

2.3 镁可能通过减少细胞内钙超载而发挥作用

Ca^{2+} 是机体内维持正常生命活动不可缺少的电解质。在正常情况下,细胞膜两侧钙离子浓度极不平衡,细胞外液钙离子的浓度是细胞内液的 10^6 倍。而钙的平衡一旦遭到破坏(细胞内钙超载),即可导致细胞损伤甚至死亡。镁缺乏时细胞膜对胞液中钾和镁离子的通透性降低,而对胞液中钠和钙的通透性增加。胞液中钠离子的提高导致线粒体中钙的释放,进一步提高了胞液中的钙离子。细胞质内钙超载后可能会通过以下两种途径增加自由基的产生:①细胞内钙离子的提高抑制了线粒体的呼吸活动, Ca^{2+} 与胞浆受体钙调节蛋白结合后可激活蛋白酶,使黄嘌呤脱氢酶转变为黄嘌呤氧化酶,并激活 ATP 酶分解 ATP,产生黄嘌呤氧化酶底物——次黄嘌呤,二者经酶促反应可生成氧自由基和过氧化氢 (Rey 等,1983)。②依赖钙的磷脂酶 A_2 被激活,游离脂肪酸从膜磷脂上释放,就会发生花生四烯酸瀑布。通过脂肪氧合酶和环氧合酶对花生四烯酸的作用,伴随着类二十烷酸合成的增加就会产生过量的内过氧化物,即促进膜磷脂-花生四烯酸-前列腺素和白三烯代谢,在前列腺素 G_2 转变成前列腺素 H_2 过程中伴有氧自由基产生。Wiles 等(1997)的研究结果与之相符,发现使用阿司匹林、水杨酸盐(对环加氧酶有抑制作用)和茚甲新(抑制环前列腺素合成酶)等类二十烷酸合成抑制剂可显著减少因缺镁引起的氧化产物的数量。而镁作为钙的天然生理性拮抗剂 (Iseri

LT 等,1984),在细胞外可通过与钙竞争载体而抑制钙内流;通过 $Mg^{2+}-Ca^{2+}$ 交换,促进钙外流。另外, Schechter 等(1992)还指出,细胞内的镁可提高细胞膜、肌浆网钙泵活性,也可增加 Ca^{2+} 的排出。Astier 等(1996)在缺镁的大鼠体内也观察到细胞内钙水平的升高。齐志敏等(2005)和张莹等(2004)则发现,随着镁浓度的增加,心肌组织中钙水平显著下降,并且 MDA 显著减少。因此,镁可能通过减缓钙超载而间接减少氧自由基的产生。

2.4 镁可能通过抗应激效应影响脂质过氧化

脂质过氧化是氧化应激的一个主要结果。镁通过调节某些激素的分泌而抵抗氧化应激,从而起到抗脂质过氧化的作用。在生产中,动物会遇到各种应激,应激信号通过脑中中枢刺激促肾上腺皮质激素 (ACTH) 的产生,从而促进肾上腺激素的分泌,包括肾上腺素和去甲肾上腺素(合称儿茶酚胺类激素)。儿茶酚胺会促进细胞内第二信使环磷酸腺苷(cAMP)合成和糖酵解。镁能减少血浆中应激类激素的产生,先后顺序为:儿茶酚胺→皮质醇和醛固酮→睾丸激素和雌二醇,降低机体对应激的敏感性 (Go1f,1994)。Kaemmerer 等(1984)发现,临屠宰前注射天门冬氨酸镁可降低猪血液中儿茶酚胺和皮质醇的浓度。在应激环境中使用葡萄糖酸镁可显著减少大鼠血清中的儿茶酚胺和皮质醇的浓度 (Kietzmann 等,1989)。有机镁还可降低血浆中去甲肾上腺素含量 (D'Souza 等,1998)。Classen 等(1983)认为其原因可能是镁减少了神经末梢和肾上腺的去甲肾上腺素及肾上腺素的分泌量。镁还可调控去甲肾上腺素激活的传递,并可能参与去甲肾上腺素的储存和释放 (Fink 等,1990)。

2.5 镁可能通过影响抗氧化还原系统的基因表达产物发挥作用

研究表明,一定浓度的活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 影响基因表达和蛋白质的翻译后修饰过程。在较高浓度下,ROS 如 H_2O_2 作为信号转导信使,参与基因转录的调控,影响增殖和分化、凋亡、基因转录与表达等生命活动中的许多过程 (Sen,1996;Sies,1994)。为了从转录水平揭示镁的抗氧化作用机制,吕晓华 (2002) 利用免疫组织化学技术研究了 Mg^{2+} 对人脐静脉内皮细胞中氧化还原相关基因 c-fos、c-jun、p53 和 ref-1 表达的影响,结果表明,镁抑制了与细胞氧化还原状态有关的 c-fos、c-jun、p53 和 ref-1 基因表达,而这些基因则会通过不同的途径增加自由基的产生和加重自由基所致的损伤。吕晓华 (2003) 又研究了

Mg²⁺对 H₂O₂ 诱导的内皮细胞热休克基因表达的影响,采用同样的处理办法和研究方法,结果发现,在 Mg²⁺ 存在的情况下,H₂O₂ 诱导的内皮细胞脂质过氧化反应被明显抑制,H₂O₂ 诱导的热休克基因的表达也随 Mg²⁺ 浓度升高而增强,而 HSP(热休克蛋白)对于氧化应激之后迅速发生的细胞损伤及随后的损伤修复过程和细胞增殖中具有重要作用,所以 Mg²⁺通过促进热休克基因的表达,发挥抗氧化功能。以上结果表明,镁通过影响与细胞氧化还原状态有关的基因表达,从而影响氧化还原信号传导通路发挥抗氧化功能,这可能是其抗氧化作用机制之一。

2.6 镁还可能通过维持线粒体的完整性而影响自由基的产生

线粒体是细胞内生物氧化和能量代谢的场所,也是细胞内产生氧自由基的主要部位,因此,其功能一旦受损,就会导致大量的自由基累积,对机体造成氧化损伤。线粒体内膜与外膜之间呼吸链的底物端(特别是泛醌区)电子漏出引起氧分子进行单电子还原产生过氧化氢,清除这二者的酶分布在线粒体基质中。镁在细胞内大部分(60%~80%)存在于线粒体中,维持线粒体的完整性,并与 ATP 形成复合物,激活许多重要的酶系。缺镁造成线粒体肿胀、线粒体脊结构破坏、钙在线粒体集聚(Rock,1995),改变线粒体酶活性,造成 ATP 的氧化磷酸化过程发生障碍。Heaton 等(1984)试验表明,缺镁可造成线粒体趋于膨大,并且导致部分的氧化磷酸化解偶联。Edmond 等(1995)电镜观察缺镁大鼠的亚细胞结构时发现,线粒体和网状组织异常,线粒体脊组织紊乱。徐海(1995)以低(0mol/l)、中(1.2mol/l)、高(15mol/l)3个水平给小鼠供镁,发现线粒体的流动性高水平组大于中间组(P<0.01),正常组大于低水平组(P<0.001)。

3 结语

综上所述,镁与脂质过氧化有着密切关系。缺镁导致脂质过氧化作用增强,镁可通过直接或间接的途径,起到抗脂质过氧化的作用。缺镁导致脂质过氧化作用增强及镁对抗自由基生成的机制尚不完全明确。一方面动物机体本身是一个非常精细的调节结构;另一方面,已知需 Mg²⁺催化或激活的酶促反应有 321 种,其生理作用涉及脂肪、蛋白质和核酸的合成、能量代谢、膜结构及膜离子转运系统等多个方面,因此可以肯定镁影响脂质过氧化的作用机制不可能是某一个机制或途径起作用,而应该是多个机制或途径共同起作用的结果。

随着现代畜禽生产力水平的大大提高,受到的各种应激也显著增加(新的疾病、环境、高水平的生产性能),应激的发生可导致机体多种生理、生化和组织学的改变,甚至造成机体代谢紊乱,组织器官功能衰竭,引发广泛的脂质过氧化反应,给畜牧业带来巨大的经济损失。自然界中有碳酸盐、硅酸盐、硫酸盐和氯化物等,镁矿种类超过 200 种;植物饲料中的麸皮、油饼、豆粕、向日葵、甜菜叶、干草(2~3mg/kg)、禾本科草(2mg/kg)含镁都很丰富;还有工业生产的有机镁(蛋白镁、氨基酸螯合物、葡萄糖镁等)。所以畜禽日粮添加镁具有来源丰富、价格低廉、效益明显的优点。今后对镁抗氧化应激的需要量、各种家畜的适宜添加时间、影响抗氧化酶的作用机制及和其它抗氧化物质联合使用的效果方面仍需进一步研究。

参考文献

- 1 冯东福,等.硫酸镁对大鼠脑损伤后线粒体的影响.上海医学,2000,23(7):408~410
- 2 吕晓华,王瑞淑.镁对过氧化氢诱导内皮细胞热休克基因表达的影响[J].中国公共卫生,2003,19(5):540~541
- 3 齐志敏,王倩,任婕,等.氯化镁对大鼠缺血再灌注损伤心肌的保护作用.中国临床康复,2005,9(3):78~79
- 4 邱榕生.有机镁饲用时间对肉仔鸡抗氧化机能的影响.中国畜牧杂志,2004,40(5):7~10
- 5 石亚中,等.宰前饲料添加硫酸镁对杜长大猪肉质的影响.动物科学与动物医学.2005,22(1):54~56
- 6 张桂梅.有机镁和无机镁对肉仔鸡的营养作用研究[D].中国农业大学,2001
- 7 张莹,郭磊,齐志敏,等.葡萄糖酸镁对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用.锦州医学院学报,2004,25(5):15~18
- 8 Anthony M F,H A Aisar, et al. Magnesium deficiency-induced cardiomyopathy: Protection by vitamin E [J]. Biochemical and biophysical Research communications, 1990, 170(3): 1 102~1 106
- 9 Anthony M F,I T Mak,E S Richard, et al. Erythrocytes from magnesium-deficient hamsters display an enhanced susceptibility to oxidation stress[J]. American Journal Physiology, 1992, 262(6): 1 371~1 375
- 10 Apple J K,C V Maxwell,B DeRudas, et al. Effect of magnesium on performance and carcass quality of growing-finishing swine[J]. J. Anim. Sci., 2000(78): 2 135~2 143
- 11 Astier C,E Rock,C Lab, et al. Function alterations in sarcoplasmic reticulum membranes of magnesium-deficient rat skeletal muscle as consequences of free radical-mediated process[J]. Free Radic. Biol. Med., 1996, 20(5): 667~674
- 12 D'Souza D N,R D Warner,B J Leury, et al. The effect dietary magnesium aspartate supplementation on pork quality [J]. J. Anim. Sci., 1998(76): 104~109
- 13 Dabrowska H,K Dabrowski. Influence of dietary magnesium on

- mineral, ascorbic acid and glutathione concentrations in tissues of a freshwater fish, the common carp [J]. *Magn. Trace Elem.*, 1990(9): 101~109
- 14 Edmond R, Catherine Astier, Claudine Lab, et al. Dietary magnesium deficiency in rats enhances free radical production in skeletal muscle [J]. *Journal of Nutrition*, 1995, 125(5~8): 1 205~1 210
- 15 Frederick R, R. E, van Heugten, M.T. See, et al. Timing of magnesium supplementation administered through drinking water to improve fresh and stored pork quality. *J. Anim. Sci.*, 2004(82): 1 454~1 460
- 16 Günter T, Hollriegl, V, Vormann J, et al. Increased lipid peroxidation in rat tissues by magnesium deficiency and vitamin E depletion. *Magn. Bull.*, 1994(16): 38~43
- 17 Günther T, Vormann, J, & Hollriegl, V. Effects of magnesium and iron on lipid peroxidation in cultured hepatocytes. *Mol. Cell. Biochem.*, 1995(144): 141~145
- 18 Hélène Martin, Lysiane Richert, Alain Berthelot. Magnesium Deficiency Induces Apoptosis in Primary Cultures of Rat Hepatocytes. *American Society for Nutritional Sciences*, 2003(5): 2 505~2 511
- 19 Jay H. Kramer, I. Tong Mak, Terry M. Phillips, et al. Dietary Magnesium Intake Influences Circulating Pro-Inflammatory Neuropeptide Levels and Loss of Myocardial Tolerance to Postischemic Stress. *Experimental Biology and Medicine*, 2003(228): 665~673
- 20 Kietzmann M. Influence of magnesium gluconate on stress reactions in rats [J]. *Dtsch Tierarztl Wochenschr*, 1989 (96): 292~293
- 21 P Vernet, A Britan, E Gueux, A Mazur, and JR Drevet. Dietary magnesium depletion does not promote oxidative stress but targets apical cells within the mouse caput epididymidis. *Biochim. Biophys. Acta.*, 2004, 1 675(1~3): 32~45
- 22 Rayssiguier Y, Gueux E, Bussiere L, et al. Dietary magnesium affects susceptibility of lipoproteins and tissues to peroxidation in rats. *J. Am. Coll. Nutr.*, 1993(12): 133~13
- 23 Rimbach, G, Pallauf, J. Effect of dietary phytate on magnesium bioavailability and liver oxidant status in growing rats. *Food Chem. Toxicol.*, 1999(37): 37~45
- 24 S Peker, U Abacioglu, I Sun, et al. Prophylactic effects of magnesium and vitamin E in rat spinal cord radiation damage: evaluation based on lipid peroxidation levels. *Life Sci.*, 2004, 75(12): 1 523~1 530
- 25 Sahin M, Onderci, K, Sahin G, Cikim et al. Magnesium Proteinate Is More Protective than Magnesium Oxide in Heat-Stressed Quail. *J. Nutr.*, 2005(135): 1 732~1 737
- 26 Schaefer A L, A C Nurray, A K W Tong, et al. The effect of ante mortem electrolyte therapy on animal physiology and meat quality in pigs segregated at the halothane gene [J]. *Can J. Anim. Sci.*, 1993(73): 231~240
- 27 Schaick K M. Metals and lipid oxidation. *Contemporary issues [J]. Lipids*, 1992(27): 209~218
- 28 Schechter M, E Kaplinsky, B Rabinowitz. The rationale of magnesium supplementation in acute myocardial infarction [J]. *Arch. Intern. med.*, 1992(152): 2 189~2 196
- 29 Sen CK, Packer L. Antioxidant and redox regulation of gene transcription [J]. *FASEB J.*, 1996(10): 709~720
- 30 Shivakumar K, B P Kumar. Magnesium deficiency enhances oxidative stress and collagen synthesis in vivo in the aorta of rats [J]. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.*, Nov., 1997(29): 1 273~1 278
- 31 Sies H. *Oxidative stress [M]*. London: Academic Press. 1994. 650~653
- 32 Wiles M E, T. L. Wagner, W. B. Weglicki. Effect of acute magnesium deficiency on aortic endothelial cell oxidant production [J]. *Life Science*, 1997, 60(3): 221~236

(编辑: 刘敏跃, lm-y@tom.com)

· 信息采撷 ·

活 虾 运 输 新 方 法

活青虾运输以前有塑料袋充气法、帆布篓法、活水船法,这三种方法各有优缺点。近年来,虾商常使用一种虾箱组合运输活虾的方法,效果很好,其主要优点是运输数量大;行程远,成活率高;运输不受季节限制;操作管理方便;成本低。其方法如下:

- 1 虾箱组合: ① 虾箱按容积大小有 5、3、2t 级。箱底部一角有一排水孔,箱前部和箱内装有增氧系统的管导。② 增氧和动力系统。该系统由增氧泵、直径 50mm 的空心铁管、直径 15mm 自来水管、二只闸阀和相应的橡胶管组成。每只虾箱配 2 台增氧泵,每台增氧泵配 1 台 6~12HP 的动力。一台增氧泵与一台动力同装在一个机座上,用皮带拖动增氧泵运行。安装在长车车厢内虾箱的前端,一边装一台。③ 集虾箱。虾箱由直径 6mm 的钢筋、8 号铁丝、无结网片制成。钢筋做箱架,容积为 85cm×40cm×10cm,集虾箱的装虾口位于箱的宽边。按虾箱的吨级大小配一定数量的集虾箱,如 5t 级箱,应配集虾箱 15 只以上。
- 2 装运虾的方法: ① 装运数量。以 5t 级箱为例,秋末、冬季、春季气温较低,每次装运活虾 1 500kg;春末、夏季、秋季中气温较高装运量为 1 000kg。其它吨级虾箱装运量,以 5t 级装虾量换算。② 装运方法。将虾箱内洗净,注入纯净水,注水多少,以人能在其内操作为准。开动增氧泵增氧后,把暂养 1~3d 的青虾装进集虾箱,每只装 10kg,扎紧集虾箱口,立即平置于虾箱内,待虾箱一层放满后,接着放第二层,第三层,以此类推,一直装到所需运输量后,注满水,盖好箱盖立即起运。
- 3 途中管理: 气温较低季节,需弥补因卡车途中颠簸从箱盖口溢出的水份,气温较高季节需换一次或二次净水。

饲料中锌与维生素 A 水平对肉仔鸡生产性能的影响

刘素杰 于德强 肖秀娟

摘要 选用 1 日龄艾维茵肉仔鸡 480 只为试验动物,随机分为 16 组,以玉米和大豆粕为主要原料配制基础日粮,采用二因子($Zn \times VA$) 5×3 试验设计,通过饲料中添加不同水平锌和维生素 A 来初步探讨肉仔鸡体内锌与维生素 A 代谢的相互关系及其对肉仔鸡生产性能的影响。结果表明:基础日粮中维生素 A 水平在 3 000~12 000IU/kg 范围内,对肉仔鸡生产性能无明显影响。锌水平为 22.61mg/kg、维生素 A 水平为 3 000IU/kg 的对照组在试验期内无缺乏症状,死亡率低,采食量、体重和饲料效率均与锌正常组相似。锌水平在 47.61~87.61mg/kg、维生素 A 水平在 3 000~12 000IU/kg 范围内,肉仔鸡各项生产指标较好,尤以锌 47.61mg/kg、维生素 A 3 000~6 000IU/kg 时的效果最佳。锌水平在 167.61mg/kg 时生产性能下降,在 327.61mg/kg 以上时各项生产指标均较差,且有典型症状。

关键词 肉仔鸡;饲料;维生素 A;锌;生产性能

中图分类号 S816.71

锌是动物体必需的微量元素,参与蛋白质、糖类和脂类的代谢,可提高消化系统分泌机能和组织细胞酶的活性,对动物的生长发育和繁殖机能等有着极其重要的作用。维生素 A 是动物体必需的脂溶性维生素,能促进禽体内营养物质的吸收、代谢和运转,适宜的维生素 A 水平能增强机体的免疫能力。因为维生素 A 和锌都参与体内许多重要生命过程,所以二者的相互作用及关系受到普遍的关注。锌水平能影响血中维生素 A 浓度,缺锌则使血清维生素 A 浓度降低;而维生素 A 能增强锌的转运进而增加对锌的吸收,维生素 A 不足能限制肉仔鸡对锌的吸收,对玉米-豆粕型日粮尤为明显。本试验旨在探讨锌与维生素 A 水平及交互作用对肉仔鸡生产性能的影响,进而根据生产性能确定肉仔鸡日粮中锌和维生素 A 的适宜营养需要。

1 材料和方法

1.1 试验设计

本试验采用二因子($Zn \times VA$) 5×3 试验设计,除试验因素外,其它指标均参照我国肉仔鸡的营养需要。在玉米-豆粕型基础日粮中分别添加不同水平的锌和维生素 A 构成试验日粮。锌以葡萄糖酸锌粉末形式添加,设置 5 个添加水平,每千克日粮分别添加 25、65、145、305 和 625mg;维生素 A 以视黄醇乙酸酯粉剂形式添加,设 3 个添加水平,每千克日粮分别添加 3 000IU、6 000IU 和 12 000IU,共组成 15 组。同时又设计一个

基础日粮(对照组),与上述 15 组中维生素 A 添加剂量为 3 000IU/kg 的 1、4、7、10 和 13 组组成一个单因素(锌)6 水平试验设计(见表 1)。

表 1 试验设计方案

组别	添加水平	
	锌(mg/kg)	维生素 A(IU/kg)
1	25	3 000
2	25	6 000
3	25	12 000
4	65	3 000
5	65	6 000
6	65	12 000
7	145	3 000
8	145	6 000
9	145	12 000
10	305	3 000
11	305	6 000
12	305	12 000
13	625	3 000
14	625	6 000
15	625	12 000
对照组	0	3 000

1.2 试验基础日粮组成

试验以玉米和大豆粕为主要原料,按照肉仔鸡生长发育阶段配制基础日粮,锌含量为 22.61mg/kg。除锌和维生素 A 按试验添加外,其它营养成分均满足肉仔鸡营养需要,具体日粮配方和营养水平见表 2 和表 3。

1.3 试验动物与饲养管理

选用 1 日龄健康无病的艾维茵肉仔鸡 480 只,称重后随机分为 16 组,每组 30 只,公母各半,按肉仔鸡饲养管理要求进行管理。饲养方式采用笼养,整个实验期 7 周,分 3 个阶段饲养,前期 0~3 周龄;中期 4~5 周龄;后期 6~7 周龄。自动控温,自由采食,自由饮水。

刘素杰,辽宁农业职业技术学院,115009,辽宁省营口市。

于德强,单位及通讯地址同第一作者。

肖秀娟,大石桥市动物防疫站。

收稿日期:2006-01-16

每天记录采食量,观察鸡群精神状态。试验期内按肉仔鸡场正常免疫程序进行免疫,并采用各种方式进行消毒防疫。

表 2 试验肉仔鸡基础日粮组成及营养水平

原料	0~3 周龄	4~5 周龄	6~7 周龄
玉米(%)	54.82	60.30	65.01
豆粕(%)	39.00	33.50	28.40
石粉 (%)	0.90	0.90	0.90
磷酸氢钙(%)	2.00	2.00	2.00
食盐(%)	0.37	0.37	0.37
赖氨酸(%)	0.03	0	0
蛋氨酸(%)	0.18	0.21	0.11
葵籽油(%)	2.00	2.00	2.00
矿物质预混料(%)	0.50	0.50	0.50
维生素预混剂(%)	0.20	0.20	0.20
营养水平			
代谢能(MJ/kg)	12.22	12.55	12.77
粗蛋白(%)	21.86	19.47	17.61
钙(%)	0.99	0.90	0.88
总磷(%)	0.71	0.65	0.67
有效磷(%)	0.47	0.45	0.43
赖氨酸(%)	1.10	0.97	0.73
蛋+胱氨酸(%)	0.81	0.79	0.64
蛋氨酸(%)	0.50	0.43	0.38

表 3 基础日粮中微量元素测定值(mg/kg)

微量元素	0~3 周龄	4~5 周龄	6~7 周龄
Zn	22.61	22.61	22.61
Fe	145.16	141.46	141.22
Mn	91.32	87.57	86.91
Cu	14.84	14.18	14.21
I	0.347	0.363	0.333
Se	0.126	0.148	0.149

1.4 生产性能指标测定方法

1.4.1 测定肉仔鸡的死亡率

试验期内每天观察鸡群健康状况,记录鸡发病死亡数目,并观察病鸡临床症状,计算肉仔鸡发病率和死亡率。

1.4.2 测定肉仔鸡体重和饲料效率

试验进行到每期的期末即 3、5 和 7 周末分别对各组鸡早晨空腹称重,计算每组鸡平均体重,记录采食量,计算饲料效率。

2 结果与分析

2.1 肉仔鸡临床症状及发病死亡情况

从整个试验期内的临床症状看,日粮补锌在 145mg/kg 以下的 1~9 组和对照组鸡未出现明显临床症状;日粮补锌在 305mg/kg 以上的 10~15 组,鸡全部精神沉郁、食欲下降、羽毛蓬乱,腿病发生机率增加,尤以补锌最高(625mg/kg)的 13~15 组症状最为严重(见表 4)。

表 4 锌与维生素 A 对肉仔鸡死亡率的影响

组别	添加水平		总死亡率(%)
	锌(mg/kg)	维生素 A(IU/kg)	
1	25	3 000	0
2	25	6 000	0
3	25	12 000	3.55
4	65	3 000	0
5	65	6 000	3.54
6	65	12 000	3.54
7	145	3 000	0
8	145	6 000	0
9	145	12 000	3.54
10	305	3 000	5.45
11	305	6 000	3.54
12	305	12 000	5.46
13	625	3 000	12.96
14	625	6 000	7.47
15	625	12 000	10.69
对照组	0	3 000	0

从表 4 的死亡率结果看,日粮补锌在 305mg/kg 以上的 10~15 组鸡死亡率增加,尤以补锌最高的 13~15 组死亡率最高。对照组在整个试验期内无死亡现象。

2.2 Zn 与 VA 对肉仔鸡采食量的影响(见表 5)

表 5 Zn 与 VA 对肉仔鸡采食量的影响

组别	添加水平		周龄		
	锌(mg/kg)	维生素 A(IU/kg)	3	5	7
1	25	3 000	424.82	1 661.05	5 047.23
2	25	6 000	463.50	1 666.59	5 097.57
3	25	12 000	345.96	1 537.61	4 774.19
4	65	3 000	376.18	1 540.12	4 756.08
5	65	6 000	496.87	1 554.56	4 763.23
6	65	12 000	393.99	1 504.08	4 765.03
7	145	3 000	439.56	1 652.01	4 870.45
8	145	6 000	395.45	1 469.23	4 546.01
9	145	12 000	400.27	1 599.21	4 999.89
10	305	3 000	371.08	1 379.66	4 188.98
11	305	6 000	375.66	1 348.97	4 215.25
12	305	12 000	404.75	1 379.34	3 977.05
13	625	3 000	310.45	1 193.56	3 136.03
14	625	6 000	330.67	1 128.90	2 826.34
15	625	12 000	312.98	1 067.25	2 865.12
对照组	0	3 000	403.12	1 573.09	4 842.29
显著性检验					
因素 Zn			P<0.05	P<0.01	P<0.01
因素 VA			NS	NS	NS

由表 5 可看出,在整个试验期内,在同一维生素水平下(3 000IU/kg),日粮锌水平对采食量有显著影响(P<0.05 或 P<0.01)。在试验期末(7 周龄末),日粮补锌 305mg/kg 和 625mg/kg 的 10 组、13 组较补锌 25mg/kg 的 1 组的采食量分别下降了 17.0%和 37.9%。说明日粮补锌在 305mg/kg 水平以上时,肉仔鸡采食量显著下降,而且补锌水平越高,采食量下降趋势越

明显。不补加锌的基础日粮对照组采食量与补加锌为

25mg/kg 和 65mg/kg 水平的 1、4 组采食量相比,未发

生明显变化。

2.3 Zn 与 VA 对肉仔鸡体重的影响(见表 6)

表 6 Zn 与 VA 对肉仔鸡体重的影响(g)

组别	添加水平		周 龄								
	锌(mg/kg)	维生素 A(IU/kg)	3			5			7		
			n	均值(g)	SD	n	均值(g)	SD	n	均值(g)	SD
1	25	3 000	30	315.45 ^{AB}	41.07	27	979.85 ^A	104.25	22	2 465.13 ^A	280.81
2	25	6 000	30	310.01 ^{ab}	29.63	27	928.53	108.13	22	2 418.25	292.69
3	25	12 000	29	279.56 ^c	41.25	26	893.17	144.65	21	2 165.01	453.12
4	65	3 000	30	283.27 ^{CA}	34.71	27	878.40 ^B	97.58	22	2 246.00 ^{AB}	284.17
5	65	6 000	30	283.95 ^c	46.58	27	787.01	144.60	21	2 231.18	429.19
6	65	12 000	30	287.80 ^c	50.69	27	866.30	131.95	21	2 283.10	375.15
7	145	3 000	30	295.72 ^{abcA}	48.35	27	908.60 ^{AB}	174.10	22	2 133.95 ^B	510.12
8	145	6 000	30	277.15 ^c	36.10	27	854.26	131.42	22	2 066.17	370.45
9	145	12 000	29	289.78 ^{bc}	42.06	26	905.52	128.01	21	2 309.45	317.58
10	305	3 000	30	237.01 ^{dB}	37.29	26	673.10 ^c	128.12	20	1 684.97 ^c	345.10
11	305	6 000	30	242.18 ^d	32.29	27	685.45	124.35	21	1 727.68	373.97
12	305	12 000	29	247.89 ^d	39.12	26	662.01	163.74	20	1 600.45	350.12
13	625	3 000	29	177.32 ^{cC}	29.67	25	415.98 ^D	106.10	18	930.10 ^D	242.54
14	625	6 000	30	168.15 ^e	27.56	26	431.20	98.99	20	865.12	275.20
15	625	12 000	29	189.10 ^e	28.66	25	427.65	84.01	19	889.01	191.61
对照组	0	3 000	30	295.52 ^A	46.55	27	901.23 ^B	128.03	21	2 331.98 ^{AB}	350.18
显著性检验											
因素 Zn			P<0.01			P<0.01			P<0.01		
因素 VA			NS			NS			NS		
Zn×VA			P<0.01			NS			NS		

注:表中数字后小写字母相同表示差异不显著,小写字母不相同表示差异显著,肩标大写字母不同表示差异极显著。

2.3.1 日粮锌水平对肉仔鸡体重的影响

表 6 的分析结果表明,从整个试验期来看,日粮锌水平极显著影响肉仔鸡体重($P<0.01$)。试验期末,在维生素 A 水平为 3 000IU/kg,日粮补加锌为 25、65 和 145mg/kg 时,体重较高,其中以补加锌 25mg/kg 时最高。日粮补加锌为 305 和 625mg/kg 时,体重下降严重。试验所用基础日粮锌为 22.61mg/kg,因此日粮锌含量在 47.61~647.61mg/kg 范围内,随着日粮锌水平增加,肉仔鸡体重呈下降趋势,锌水平越高,下降趋势越明显。日粮锌水平为 327.61 和 647.61mg/kg 的 10 组和 13 组的鸡在试验期末体重较锌水平为 47.61mg/kg 的 1 组体重分别下降了 31.65%和 62.27%。

表 6 结果还表明,不补锌的基础日粮对照组肉仔鸡体重与补锌(维生素 A 为 3 000IU/kg)为 25 和 65mg/kg 试验组相比体重无明显差异;当补锌 145mg/kg 时体重有下降趋势;补锌 305 和 625mg/kg 时,体重与基础日粮对照组相比极显著下降($P<0.01$)。

2.3.2 日粮维生素 A 水平对肉仔鸡体重的影响

表 6 结果表明,日粮维生素 A 水平在整个试验期内对肉仔鸡体重的影响不显著,因此不对其进行详细分析。

2.3.3 Zn 与 VA 的相互作用对肉仔鸡体重的影响

从本试验结果看,整个试验期,日粮锌与维生素 A 的相互作用对肉仔鸡体重影响从总体上看并不显著。但试验前期(3 周龄)差异极显著($P<0.01$),试验中期和末期(5 周龄和 7 周龄)差异不显著。

2.4 Zn 与 VA 对肉仔鸡饲料效率的影响(见表 7)

表 7 Zn 与 VA 对肉仔鸡饲料效率的影响

组别	添加水平		周龄		
	锌(mg/kg)	维生素 A(IU/kg)	3	5	7
1	25	3 000	1.56	1.77	2.10
2	25	6 000	1.74	1.89	2.16
3	25	12 000	1.46	1.80	2.23
4	65	3 000	1.55	1.85	2.17
5	65	6 000	1.65	1.86	2.18
6	65	12 000	1.60	1.83	2.11
7	145	3 000	1.73	1.92	2.33
8	145	6 000	1.66	1.80	2.26
9	145	12 000	1.62	1.85	2.21
10	305	3 000	1.86	2.18	2.55
11	305	6 000	1.86	2.10	2.50
12	305	12 000	1.93	2.21	2.57
13	625	3 000	2.25	3.17	3.53
14	625	6 000	2.20	2.87	3.42
15	625	12 000	2.10	2.71	3.33
对照组	0	3 000	1.58	1.84	2.13
显著性检验					
因素 Zn			P<0.05	P<0.01	P<0.01
因素 VA			NS	NS	NS

表 7 的结果表明,日粮锌水平对肉仔鸡饲料效率的影响规律与对其体重的影响趋势相似。不同日粮补锌水平(同一维生素 A 水平)对饲料效率的影响整个试验期差异显著或极显著($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。不同维生素 A 水平(锌水平相同)整个试验期差异不显著($P>0.05$)。

3 小结与讨论

3.1 小结

本次试验通过肉仔鸡各项生产性能结果可以得出,日粮维生素 A 水平在 3 000~12 000IU/kg 范围内,对肉仔鸡生产性能无明显影响。基础日粮中含锌 22.61mg/kg、维生素 A 3 000IU/kg 的对照组肉仔鸡在整个试验期内无缺锌临床症状,死亡率低,采食量、体重和饲料效率均与锌正常组相似。日粮锌水平在 47.61~87.61mg/kg 范围内,维生素 A 水平在 3 000~12 000IU/kg 范围内,肉仔鸡各项生产指标均较好,尤其是含锌 47.61mg/kg,含维生素 A 3 000~6 000IU/kg 时效果最佳。日粮含锌 167.61mg/kg 时,生产性能有下降趋势。日粮锌水平在 327.61mg/kg 以上,肉仔鸡各项生产指标均较差,有典型临床症状出现。

3.2 讨论

据报道,肉仔鸡体内锌与维生素 A 代谢之间存在密切的关系,尤其当机体锌和维生素 A 营养状况异常时相互影响更为突出。含锌 22.61mg/kg 的临界缺锌日

粮不会引起肉仔鸡体内 VA 代谢的明显改变,但日粮锌含量低于 9.67mg/kg 或超过 327.61mg/kg 时即可引起 VA 代谢的明显改变,主要表现在肝脏和血清中的 VA 浓度明显降低。由试验也可知,VA 水平在 3 000~6 000IU/kg 时对锌代谢无明显影响,结果进一步说明只有在日粮维生素 A 供应不适宜的情况下,对锌代谢才会产生明显影响。由于试验条件的限制,本次试验只通过锌与维生素 A 不同添加水平的 5×3 试验初步探讨了二者的相互作用及对肉仔鸡生产性能的影响,而对于日粮中锌低于 22.61mg/kg 临界缺锌及维生素 A 低于 3 000IU/kg 和高于 12 000IU/kg 水平对肉仔鸡的生产性能的影响未进行研究,其作用如何有待进一步探讨。

参考文献

- 1 马云云. 饲料锌水平对肉仔鸡营养和代谢的某些影响. 中国畜牧杂志,1997,33 (4):30~22
- 2 单安山. 微量元素生物学功能和鸡对锌的营养需要. 东北农学院学报,1987,18(3):265~271
- 3 孙存孝. 饲料锌水平对肉仔鸡生产性能的影响. 中国家禽,1996(4):29~30
- 4 刘学剑. 微量元素锌的生物学功能及其应用进展. 饲料工业,1995,16(8):29~31
- 5 苏琪. 我国畜禽饲料中微量元素锌含量的调查研究. 中国农业科学,1994,27(2):83~88

(编辑:高 雁, snowyan78@tom.com)

稳定 可靠 长寿 值得您信赖

适合饲料行业的超稳牌料位器

超稳牌 TLWJ 阻旋式料位器

超稳牌 TLWY 薄膜压力式料位器等等

详细图片资料请关注网站 <http://www.shcwjd.com>

——建造新厂及改造老厂的理想选择——

欢迎新老客户来函来电洽购

生产企业:上海超稳机电设备有限公司
地址:上海市松江区仓桥开发区玉树路 103 号

电话 / 传真:021-67726134 邮编:201600
联系人:沈小姐 经理:沈雅林 13621965285

Charm II 放射免疫法快速检测虾中磺胺类药物残留

林杰 黄晓蓉 郑晶 汤敏英 陈彬 陈健

摘要 探讨应用 Charm II 放射免疫分析方法检测虾中磺胺类药物残留, 确定制样和控制点设定的方法, 评价了免疫反应体系的灵敏度和特异性, 验证了磺胺类最大残留限量为 50 μ g/kg 的检测稳定性, 90min 可出检测结果。

关键词 Charm II 放射免疫分析方法; 磺胺类; 虾

中图分类号 S816.17

Rapid detection of sulfonamides in shrimp by Charm II radioimmunoassay method

Lin Jie, Huang Xiaorong, Zheng Jing, Tang Mingying, Chen Bin, Chen Jian

Abstract Rapid detection of sulfonamides in shrimp by charm II radioimmunoassay was studied. Extraction procedure for shrimp and control point are confirmed. The immunoassay sensitivity and specificity of this competitive system are discussed. The stability of detection for maximum residue limit 50 μ g/kg is validated. The whole detection process could be finished within 90min.

Key word Charm II radioimmunoassay method; sulfonamides; shrimp

国际上对动物源性食品的安全性要求越来越高。国际食品法典委员会(CAC)和欧美等大多数国家规定食品和饲料中的磺胺类药物总量及磺胺二甲基嘧啶等单个磺胺类药物的含量不得超过 0.1mg/kg, 日本规定食品中不得检出磺胺类药物。磺胺类药物(Sulfonamides, SAs)是指具有对氨基苯磺酰胺结构的一类药物的总称, 是一类用于预防和治疗细菌感染性疾病的化学治疗药物。通过任何途径摄入的 SAs 都会在人体中蓄积, 其残留能破坏人的造血系统, 造成溶血性贫血症、粒细胞缺乏症、血小板减少症等。过敏反应病人中, 轻者引起皮肤瘙痒和荨麻疹, 重者引起血管性水肿, 严重的过敏病人甚至出现死亡。能导致许多细菌产生抗药性, 对人类的身体健康产生很大的危害。磺胺类药物检测方法有许多种, 包括气相色谱法、液相色谱法、薄层色谱法、电分析法、电位滴定法、酶联免疫分析法、容量分析法、电导光谱法、分光荧光法、分光光度法和亚硝酸盐法等。但是这些检测方法都存在处理方法繁琐, 操作时间长及只能检测单个磺胺类药物的问题。基于细菌受体分析的 Charm II 放射免疫

法的样品前处理提取方法简便, 具有灵敏度高、特异性强的特点, 并且可以检测磺胺类残留总量, 已经为欧盟国家和美国 FDA 认可并且应用于初筛分析, 目前国内尚未见有关虾的检测报道。本研究建立了虾类中磺胺类残留的 Charm II 放射免疫检测方法。

1 材料和方法

1.1 设备和材料

Charm 6600/7600 分析仪(美国 Charm 公司生产)、IEC 离心机、均质器、涡旋混合器、恒温孵育器 [(65 \pm 1) $^{\circ}$ C、(80 \pm 2) $^{\circ}$ C]、闪烁液加液器、50ml 离心管、硼硅玻璃试管及试管塞、pH 试条、药片压杆。

1.2 样品和试剂

1.2.1 检测基质

检测的基质为虾。

1.2.2 检测试剂

磺胺类 Charm II 检测试剂盒、闪烁液(Optifluor)、阴性对照液、多抗标准品, 以上试剂均由美国 Charm 公司提供; 磺胺二甲基嘧啶(SM₂)、磺胺甲基嘧啶(SM₁)、磺胺喹噁啉(SQ)、磺胺间甲氧嘧啶(SMM)、磺胺甲氧嘧啶(SM)、磺胺间二甲氧嘧啶(SDM)、磺胺吡啶(SPD)、磺胺二甲异噁唑(SIZ)、磺胺甲基异噁唑(SMZ)、磺胺嘧啶(SD)、磺胺苯吡唑(SPP)、磺胺甲氧嘧啶(SMP)、磺胺氯噻唑(SCP)等磺胺类药物标准品由 Sigma 公司提供; 四环素、氯霉素、氨苄青霉素、卡那霉素标准品由 Sigma 公司提供。

1.3 方法

林杰, 福建出入境检验检疫局技术中心, 工程师, 350001, 福建省福州市湖东路 312 号。

黄晓蓉、郑晶、汤敏英、陈彬、陈健, 单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期: 2006-01-19

1.3.1 测试原理

测定的基础是竞争性受体免疫反应。用 $[^3\text{H}]$ 标记的磺胺二甲嘧啶(示踪剂)与样品中磺胺类药物的竞争结合试剂(微生物细胞上的特异性受体)上的磺胺结合位点,当样品中残留有磺胺类药物时,残留物与受体上的结合位点结合,从而阻止了 $[^3\text{H}]$ 标记的磺胺类药物与结合剂位点的结合。样品中的磺胺类药物含量越高竞争的结合位点越多, $[^3\text{H}]$ 标记磺胺二甲嘧啶的则越少,用 Charm II 分析仪测定样品中的 $[^3\text{H}]$ 含量的 cpm(每分钟脉冲数)值,cpm 值越低则样品中的磺胺类药物残留量越高。

1.3.2 提取步骤

①取 50ml 离心管,加入 30ml MSU 提取缓冲液;
②加入 10g 切好的虾肉使离心管内的液面达 40ml 刻度,如为已预先均质过的样品,则强力振荡离心管 5min 后进入步骤④;
③将加入组织的提取液倒入均质器中,均质 30~60s,再将全部均质好的液体倒回原离心管;
④将离心管置 $(80\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 孵育器内孵育 45min;
⑤再将离心管置冰水内 10min;
⑥于 1 750g(IEC 离心机 $3.3\times 1\,000\text{r/min}$)离心 10min;
⑦吸出上清液用于测试,注意不要将漂浮的脂肪颗粒混入上清液内。

1.3.3 测定步骤

①用药片压杆的平端,将白色药片压入一洁净的玻璃试管内;
②加 300 μl 蒸馏水到试管内用涡旋混合器振荡 10s 至药片破碎;
③用加样器加 4ml 样品到试管内(每一样品用一新加液吸嘴);
④用笔的平端,压入粉红色药片,用振荡器振荡大约 15s,使样品上下振荡 15 次;
⑤置 $(65\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 孵育器内,孵育 3min;
⑥1 750g(IEC 离心机 $3.3\times 1\,000\text{r/min}$)离心 3min;
⑦离心停止后立即取出试管,倒掉上层液,用棉签清除试管内的脂肪环并吸干管壁内的残渣,不要接触沉淀物;
⑧加 300 μl 蒸馏水到试管内,振荡使沉淀物完全破碎;
⑨加 3ml 闪烁液到试管内涡旋混匀至试管内没有不均一的云状物;
⑩试管放入 Charm II /7600 分析仪内;
⑪按 Charm II /7600 分析仪操作程序选项(检测控制点需预先设定并输入仪器),读 $[^3\text{H}]$ 项的 cpm 值。

1.3.4 阳性结果的确定

样品的 cpm 值<控制点数值时,需要重新检测样品及同时测定一个阴性质控和一个阳性质控,以确定试剂和设备是否工作正常。通常有两种情况:①测试的阴性质控应该是阴性质控平均值的 $\pm 20\%$ (每一试剂盒都会给出阴性质控平均值,平均值一般为运行三份阴性质控液的 cpm 值的平均数);②测试的阳性质

控应该小于控制点。如果重测样品的 cpm 值<控制点数值,且①、②两条件符合,则判定样品阳性。

1.3.5 控制点的建立

在 6 份已知无磺胺类残留的烤鳗样品中加入测试所要求浓度的抗生素(参照试剂盒说明书)。按照分析程序运行(见 1.3.3 方法)。得出 6 个 cpm 值,计算其平均值。在平均值上加上平均值的 30%即为此类样品的控制点。

2 结果与分析

2.1 抗原抗体竞争性反应标准曲线

将浓度为 1 000 $\mu\text{g/l}$ 的多抗标准品添加入阴性虾样品中,添加浓度分别为 5、10、20、30、40、50、60、80、100、150、200 $\mu\text{g/kg}$,按 1.3.3 测定步骤检测其 cpm 值,结果见图 1 和图 2。

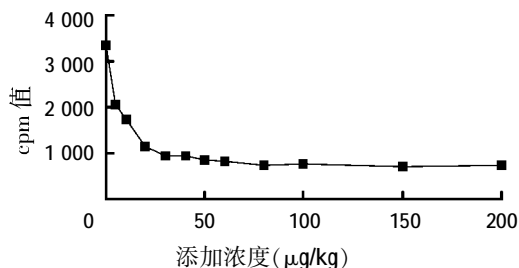


图 1 虾肉中磺胺二甲嘧啶的竞争性 RIA 曲线

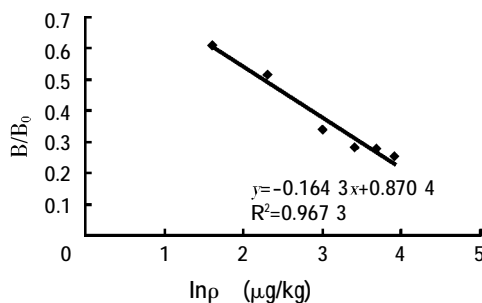


图 2 虾肉中磺胺二甲嘧啶的竞争性 RIA 半对数曲线

任何受体分析的灵敏度都存在限制,Charm II 放射免疫分析中细菌受体和 $[^3\text{H}]$ 的磺胺二甲嘧啶抗原的量是固定的。从图 1 可以看出,当样品中竞争性磺胺二甲嘧啶浓度达到 50 $\mu\text{g/kg}$ 时,浓度继续增加则其竞争效率下降,表现为斜率绝对值变小。样品抗原浓度达到 80 $\mu\text{g/kg}$ 后,随浓度继续增加 cpm 值读数变化很小。抗原质量浓度达到 200 $\mu\text{g/kg}$ 时,分析体系已接近饱和。

在磺胺二甲嘧啶添加浓度为 5~50 $\mu\text{g/kg}$ 的范围内,以质量浓度对数为横坐标,以相应质量浓度的 cpm 数值的相对值(即其 cpm 读数与阴性样品 cpm 读

数的比值, B/B_0) 为纵坐标, 得到半对数曲线 (见图 2)。因为是以细菌细胞壁受体作为抗原的结合位点, 其亲和性不均一, 而且抗原抗体反应的复杂性使得不能得到相关系数很高的线形拟合, 但是从图 2 可以看出, 在添加浓度为 $5\sim 50\mu\text{g/kg}$ 的范围内, 分析体系是比较灵敏的。根据实际情况确定检测限时, 考虑到分析相对标准偏差, 一般要求空白加标样品与空白样品的 cpm 相对值小于 0.6, 即虾类中磺胺二甲嘧啶检测浓度需大于 $5.2\mu\text{g/kg}$ 。

2.2 特异性验证实验

本实验室选取阴性虾样品, 分别加入 13 种磺胺类药物标准品 [分别为磺胺二甲基嘧啶 (SM_2)、磺胺甲基嘧啶 (SM_1)、磺胺喹噁啉 (SQ)、磺胺间甲氧嘧啶 (SMM)、磺胺甲氧嘧啶 (SM)、磺胺间二甲氧嘧啶 (SDM)、磺胺吡啶 (SPD)、磺胺二甲异噁唑 (SIZ)、磺胺甲基异噁唑 (SMZ)、磺胺嘧啶 (SD)、磺胺苯吡唑 (SPP)、磺胺甲氧嘧啶 (SMP)、磺胺氯嘧啶 (SCP)] 及四环素、氯霉素、氨苄青霉素、卡那霉素标准品, 添加水平为 $50\mu\text{g/kg}$, 测定加标后 cpm 值, 与控制点 cpm 值 978 相比较, 结果添加 13 种磺胺类标准品的样品测定结果阳性率为 100%。分别添加四环素、氯霉素、氨苄青霉素、卡那霉素等标准品, 添加水平为 $1\ 000\mu\text{g/kg}$, 样品测定结果均为阴性。上述实验验证了 Charm II 放射免疫分析法测定饲料中磺胺类残留的特异性能满足检测要求。

2.3 最大残留限量 MRL 验证

现在日本等一些国家把磺胺类最大残留限量从 $100\mu\text{g/kg}$ 降为 $50\mu\text{g/kg}$, 我们对放射免疫法在此水平的检测灵敏度做了加标验证。

首先按 1.3.5 控制点的建立方法确定虾类中磺胺类检测限为 $50\mu\text{g/kg}$ 的控制点 cpm 值是 978。

选取阴性样品, 添加多抗标准品, 添加水平分别为 $20\mu\text{g/kg}$ 、 $50\mu\text{g/kg}$ 和 $80\mu\text{g/kg}$, 每个水平做 10 份样品, 测出的 cpm 值与控制点 cpm 值 978 进行比较。如样品的 cpm 值大于 978, 则结果为阴性; 如样品的 cpm 值小于 978, 则结果为阳性。实验结果见表 1。

表 1 虾中磺胺类加标验证

项目	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$0\mu\text{g/kg}$	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$20\mu\text{g/kg}$	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$50\mu\text{g/kg}$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
$80\mu\text{g/kg}$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

2.4 实测结果分析

应用 Charm II 放射免疫分析方法测定 132 份虾

样品的磺胺类药物的残留, 其中检测出 2 份样品初筛阳性, 经 GC-MS 确认其中 1 份为阴性, 检测的假阳性率为 0.75%。取 10 份初筛阴性的样品, 经 GC-MS 确认均为阴性, 假阴性率为 0%。

3 结论

应用 Charm II 放射免疫分析方法测定虾样品的磺胺类药物的残留, 检测方法可靠、灵敏度高、特异性强, 符合欧美等国磺胺类最大残留限量的检测要求; 同时, 快速、简便, 在 90min 内可出初筛结果, 假阴性率为 0%, 特别有助于大批量样品的初筛。但是, 该检测方法检测结果有假阳性的可能, 因此, 初筛阳性的样品必须用其它方法确证。食品安全, 尤其是食品中的农药、兽药残留问题, 已经成为国际贸易中的主要技术壁垒, 我国势必要顺应潮流, 加强对食品中的药物残留的监测。我国农药、兽药残留检测技术还处于起步阶段, 应更多引进与借鉴国际上先进的技术方法, Charm II 放射免疫分析方法作为目前一种快捷可靠的检测手段, 值得进一步研究应用。

参考文献

- 1 美国 Charm 公司生产的 Charm II /7600 操作说明
- 2 美国 Charm 公司生产的磺胺类药物 Charm II 定性测定试剂盒的说明书方法
- 3 Sherri B. Turnipseed Austin R. Long 编著. 动物源性食品中药物残留分析方法. 福建省进口食品行业协会译. 天津科技翻译公司出版, 1998.403~412
- 4 王晶, 王林, 黄晓蓉主编. 食品安全快速检测技术. 化学工业出版社, 2002.41~56
- 5 黄晓蓉. 放射性受体免疫分析方法快速检测筛选烤鳗中氯霉素残留. 水产养殖, 2003, 24(4)
- 6 郑晶. 应用放射免疫分析方法快速筛选烤鳗中四环素类药物残留. 福建水产, 2005(3)

(编辑: 孙崎峰, sqf0452@126.com)

· 信息采撷 ·

我国研制出禽流感新型双价疫苗

中国农业部副部长尹成杰在 8 日举行的中外记者招待会上透露, 中国新研制出一种禽流感新型双价疫苗, 可以一苗防两病, 既可以防禽流感, 又可以防新城疫。疫苗成本低, 操作简便, 便于广大防疫工作者来掌握使用。

据尹成杰介绍, 经过几年的努力, 中国禽流感参考实验室的专家已研究出了四种优质、高效的疫苗。

不同指示剂对 EDTA 法测定饲料中钙含量准确性影响的研究

聂芙蓉 刘庆华 杜 垒 李霞飞

摘 要 EDTA 法测定饲料中钙含量时,使用的指示剂有钙红指示剂、钙黄绿素-甲基百里香酚蓝指示剂(以下简称:钙黄绿素指示剂)两种。通过使用钙红指示剂、钙黄绿素指示剂对同种样品进行测试,结果显示:钙红指示剂法变异系数小,并且在滴定过程中颜色变化明显、易判断。

关键词 钙;钙红指示剂;钙黄绿素指示剂;分解液

中图分类号 S816.17

钙是饲料中的常规测定成分。目前,测定饲料中钙含量的化学分析方法中,常用的有国标法(GB/T6436—2002)中的高锰酸钾法和 EDTA 法。本实验旨在通过 EDTA 快速测定法中,使用两种不同指示剂(钙红指示剂、钙黄绿素指示剂)的比较,确定一种更准确、快速、简便、实用的钙含量的测定方法。

1 方法原理

将试样中有机物破坏,使钙溶解制备成溶液,用三乙醇胺、乙二胺、盐酸羟胺、淀粉溶液消除干扰离子的影响,在碱性溶液中分别以钙红、钙黄绿素为指示剂,用 EDTA 标准溶液络合滴定测定钙含量。

2 材料与设备

2.1 试剂和溶液

V_1 代表试剂中物质溶液的体积; V_2 代表试剂中蒸馏水的体积。

盐酸:分析纯, $V_1:V_2=1:3$;浓硝酸:分析纯;三乙醇胺:分析纯, $V_1:V_2=1:1$;乙二胺:分析纯, $V_1:V_2=1:1$;淀粉溶液(10g/l):称取 1g 可溶性淀粉加入 200ml 烧杯中,加 5ml 水润湿,加 95ml 沸水搅匀加热,煮沸,冷却备用(现用现配);孔雀石绿指示剂(1g/l):称 0.1g 孔雀石绿溶于 100ml 蒸馏水中;氢氧化钠溶液:20%;氢氧化钾溶液:20%;盐酸羟胺:分析纯。

钙红指示剂(钙-羟酸指示剂):1g 钙-羟酸钠与 99g 氯化钠(分析纯)混合研细;钙黄绿素-甲基百里香酚蓝指示剂:0.1g 钙黄绿素与 0.13g 甲基百里香酚蓝、5g 氯化钾混合研细混匀,贮存于磨口瓶中备用。

钙标准溶液(1mg/ml):准确称取 2.497 4g 于 105~110℃干燥至恒重的基准碳酸钙,溶于 40ml ($V_1:V_2=1:3$)盐酸中(沿烧杯壁慢慢加入),加热除去 CO_2 ,冷

却,转移到 1 000ml 容量瓶中,稀释至刻度;乙二胺四乙酸二钠(EDTA)标准溶液(0.01mol/l):称取 3.8g EDTA 加入 200ml 烧杯中,加 200ml 水,加热溶解,冷却后转至 1 000ml 容量瓶中,用水稀释至刻度。

EDTA 对钙的滴定度的测定:准确吸取钙标准溶液 10ml,按试样测定步骤进行滴定。

$$T=(a \times V_1)/V$$

式中: a ——钙标准溶液的浓度(mg/ml);

V_1 ——称取钙标准溶液的体积(10ml);

V ——消耗 EDTA 的体积(ml)。

2.2 仪器

实验室用样品粉碎机;电子分析天平(感量 0.000 1g);高温炉[可控温度在(550±20)℃];可调温电炉、坩埚、容量瓶、滴定管、漏斗、移液管、烧杯。

2.3 实验样品

市售产蛋鸡、猪浓缩料和石粉、磷酸氢钙、磷酸二氢钙、骨块、肉骨粉等原料,按国标采样方法取样,每个样本约 200g,粉碎过 40 目筛,装入试剂瓶备用。

3 测定法

3.1 干法与湿法

3.1.1 干法

主要适用于含有机物质的饲料和原料(骨块、成品质料)。准确称取样品(骨块)0.2~0.3g,成品质料 2g 左右于坩埚中,先在电炉上炭化至无烟,然后放入高温炉中灼烧 3~4h,取出冷却后加 10ml 盐酸($V_1:V_2=1:3$),再加几滴浓硝酸,放在电炉上小心煮沸 2~3min,趁热过滤入 100ml 容量瓶中,用蒸馏水冲洗坩埚、滤纸数次,洗液全部流入容量瓶,冷却后用水稀释至刻度,摇匀为试样分解液备用。

3.1.2 湿法

适用于石粉、磷酸氢钙、磷酸二氢钙等无机物饲料。准确称取 0.2~0.3g 样品转入容量瓶(100ml)中加入 10ml 盐酸($V_1:V_2=1:3$)溶液,再加几滴浓硝酸,加水定容至刻度,摇匀为试样分解液。

聂芙蓉,郑州牧业工程高等专科学校畜牧工程系,硕士,讲师,450011,河南郑州市北林路 16 号。

刘庆华、杜垒、李霞飞,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2006-01-09

3.2 钙红指示剂法

准确移取试样分解液 10ml 于锥形瓶中,加蒸馏水 50ml、三乙醇胺 2ml、孔雀石绿指示剂 1 滴,滴加 20%氢氧化钠至溶液无色,再过量滴加 2ml,加 0.1g 盐酸羟胺摇匀溶解后,再加入钙红指示剂少许。立即用 EDTA 标准溶液滴定,溶液由紫红色变为纯蓝色为终点。

3.3 钙黄绿素指示剂法

准确移取试样分解液 10ml 于锥形瓶中,加蒸馏水 50ml、淀粉溶液 10ml、三乙醇胺 2ml、乙二胺溶液 1ml、孔雀石绿指示剂 1 滴,摇匀。滴加 20%氢氧化钾溶液至无色,再过量滴加 10ml。加 0.1g 盐酸羟胺(每

加完一种试剂要充分摇匀)摇匀溶解后,再加入钙黄绿素指示剂少许,在黑色背景下立即用 EDTA 标准溶液滴定至绿色荧光消失呈现紫红色时为滴定终点。

4 数据处理

4.1 计算公式

$$Ca(\%) = (T \times V) / W$$

式中: T ——EDTA 标准溶液对钙的滴定度(mg/ml);

V ——测定样本时所用 EDTA 的标准体积(ml);

W ——样本的重量(g)。

4.2 结果

每个样品做 5 个重复,分别用钙红指示剂、钙黄绿素指示剂进行测定比较。测定结果见表 1、表 2。

表 1 钙红指示剂法(%)

石粉	磷酸氢钙	磷酸二氢钙	骨块	肉骨粉	产蛋鸡浓缩料	猪浓缩料
35.51	21.75	16.71	29.16	20.85	11.37	4.12
35.83	22.03	17.00	29.87	20.60	11.85	4.21
35.83	22.03	16.71	29.52	20.60	11.61	4.12
35.51	22.03	17.00	29.87	20.73	11.73	4.27
36.14	22.32	16.42	29.16	20.47	11.49	4.35
平均值 35.76	22.03	16.77	29.52	20.65	11.61	4.21
S 0.26	0.20	0.24	0.36	0.14	0.19	0.10
CV 0.74	0.91	1.45	1.20	0.70	1.63	2.35

表 2 钙黄绿素指示剂法(%)

石粉	磷酸氢钙	磷酸二氢钙	骨块	肉骨粉	产蛋鸡浓缩料	猪浓缩料
35.66	20.27	17.01	29.28	22.70	10.93	4.60
36.28	22.69	16.48	29.28	21.94	10.93	4.55
36.91	22.12	17.66	29.99	22.20	11.53	4.32
35.97	22.69	17.37	29.63	22.20	11.65	4.50
35.03	21.55	16.48	30.35	22.07	11.78	4.32
平均值 35.97	22.06	17.01	29.71	22.22	11.36	4.46
S 0.70	0.65	0.53	0.46	0.29	0.41	0.13
CV 1.95	2.94	3.10	1.56	1.30	3.57	2.94

5 结论

两种不同指示剂比较,结果显示,使用钙红指示剂法标准差和变异系数较小,而钙黄绿素指示剂法标准差和变异系数较大。

通过结果比较,说明使用钙红指示剂测定的数值误差较小,并且在滴定过程中,被测样品中含钙量越高,在滴定终点时的颜色变化越明显。但在对猪浓缩料的测定中,在滴定过程中,由红变纯蓝后终点颜色不纯,这可能是由于猪浓缩料中的某些化学成分的影响;而使用钙黄绿素指示剂法,要在黑色背景下观察,颜色变化不是太明显,不利于终点的判断,结果误差大。

综上所述,使用钙红指示剂能迅速地检测饲料中钙的含量,并且能够准确地判断滴定终点,误差较小。因此,使用钙红指示剂是一种快速、准确、简便的测钙

含量的方法。

参考文献

- 1 丁在亮.国标钙测定方法的改进.中国饲料,2001,16
- 2 金宪,李永才,等.快速测定饲料中钙磷含量的方法.饲料工业,2004,25(11):61~62
- 3 王燕华,隋连敏,等.两种饲料钙含量检测方法的比较.中国饲料,2001(19):30
- 4 泰山,郑金玉,等.两种方法测定饲料中钙含量的比较.饲料工业,2003,24(12):44~45
- 5 宋瑞芳主编.生物统计学.中国农业大学出版社,1999
- 6 汪梦萍.饲料营养成分分析.华中农业大学教务处印,1998
- 7 中国标准出版社第一编辑室编.中国农业标准汇编-饲料卷.北京:中国标准出版社,2002

(编辑:王 芳,xfang2005@163.com)

猪圆环病毒与附红细胞体混合感染的诊治

秦晓光 尹荣兰 沈国顺

猪圆环病毒与附红细胞体混合感染是一种以新生仔猪双侧性震颤,断奶仔猪出现进行性消瘦、发育障碍等为特征,同时出现贫血、黄疸、发热等症状的疾病。

1 发病情况

某猪场有种猪 150 多头,育肥猪 1 000 余头。2005 年 8 月份,该猪场新生仔猪突然出现震颤,有的全窝仔猪发病,表现为剧烈的有节奏的阵发性痉挛;断奶仔猪出现皮肤苍白、进行性消瘦、发育障碍、咳嗽、呼吸困难。病猪体温升高至 42℃,体表淋巴结、特别是腹股沟淋巴结肿大,部分病猪皮肤、可视粘膜黄疸。发病率达 80%,给该养殖场造成严重的经济损失。

2 临床症状

新生仔猪体温升高至 42℃,精神沉郁,心跳和呼吸加快,四肢和耳部发绀,双侧性震颤,头部、四肢和尾部尤为明显,症状轻的在几日内恢复,重的可见全身抖动,行动困难,最终衰弱而死。发病后期,部分病猪粪便中附有血液和粘液。发病仔猪生长缓慢,成为僵猪。

3 剖检变化

剖检濒死期典型病猪表现为:病猪尸体消瘦,不同程度的贫血和黄疸,体表皮肤、粘膜黄染,血液稀薄呈水样;皮下水肿,呈黄白色;淋巴结肿大 4~5 倍,尤以腹股沟淋巴结、肠系膜淋巴结、气管和支气管淋巴结明显,切面多汁呈黄色;肺实变,肺小叶间散在有棕黄色至灰白色的小叶,整个肺呈花斑状;肝肿大,呈黄棕色;肾脏颜色变淡或苍白,有小出血点;部分病猪心肌变软,表面有坏死条纹。

4 诊断

根据临床症状和剖检变化初步诊断为猪圆环病毒与附红细胞体混合感染。为进一步确诊,我们进行了下列实验室检查。

4.1 血液压片镜检

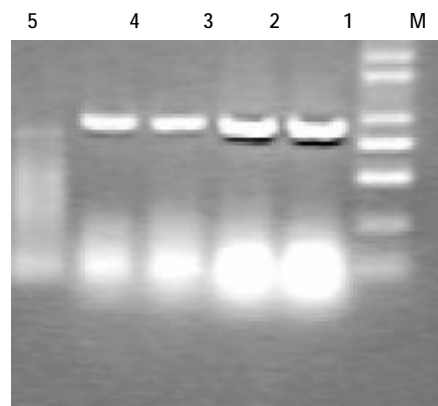
取病猪新鲜耳尖血一滴,加等量生理盐水后用盖玻片压置,在油镜下观察,发现有圆形和椭圆形虫体附着在红细胞表面或游离于血浆中,并不停运动,有的虫体附着在红细胞表面使红细胞形态发生变化,呈菠萝状、锯齿状、星状等不规则形状。

4.2 姬姆萨染色观察

在病猪耳静脉处采血,姬姆萨染色后置于显微镜下观察,发现有染成粉红色或紫红色的菌体。

4.3 猪圆环病毒(PCV)的 PCR 检测

根据已发表的 PCV-2 序列 (GenBank Accession No.055391)设计检测 2 型圆环病毒的引物对,产物长度为 894bp。取病死猪肺、淋巴结等组织提取组织 DNA,进行 PCR 扩增。采用 25μl 反应体系, H₂O 16.5μl、Taq Buffer 2.5μl、dNTP 2μl、Taq 酶 0.25μl、上下游引物各 0.5μl、组织提取 DNA 3μl,反应条件为:94℃ 3min、94℃ 20s、52℃ 30s、72℃ 30s,进行 30 个循环,最后 72℃延伸 10min,并设置阴性对照、阳性对照,扩增结果与预期片段长度相符合,说明该组织中含有猪圆环病毒(见图 1)。



M——Marker DGL2000;1——阳性对照;2——被检肺组织;3——被检肝组织;4——被检淋巴结组织;5——阴性对照。

图 1 病猪肺、肝、淋巴结中 PCV 的 PCR 扩增结果

5 防治

5.1 加强饲养管理

对发病严重的病猪立即淘汰,发病轻微的猪进行隔离治疗。用 2%~3%的烧碱对猪舍进行彻底消毒,保

秦晓光,沈阳农业大学畜牧兽医学院,110161,沈阳。

尹荣兰、沈国顺(通讯作者),单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2006-01-28

持猪舍饲养用具的清洁卫生;切断附红细胞体病的传播途径;加强饲养管理,给予全价饲料增加机体的抗病能力,减少不良应激的发生。

5.2 治疗

猪圆环病毒感染尚无有效的治疗方法,也没有有效的疫苗。确诊后对全群猪应用环丙沙星进行治疗,防止继发感染,并及时采取隔离、消毒等综合性防疫措施。

为了有效控制附红细胞体,应在猪发病初期,对病猪应用贝尼尔进行治疗,按每千克体重 5~7mg 深部肌肉注射,间隔 48h 重复用药一次,同时补充 VB₁₂、VC,对不食或少食的病猪,应用口服补液盐和葡萄糖饮水。采用上述综合防治措施,病情会有所好转,死亡数也会减少,2 周后病情会得到有效控制。

6 讨论

6.1 本次疫病根据流行病学、症状和剖检变化及实验室诊断,最后确诊为猪圆环病毒与附红细胞体混合感染。

6.2 猪圆环病毒感染是由 PCV-2 感染新生仔猪及断奶仔猪,使仔猪发生先天性震颤和断奶后全身消耗性综合症。断奶后全身消耗性综合症是断奶仔猪发生的一种慢性消耗性疾病,导致断奶仔猪生长缓慢,发育障碍,机体免疫力下降,易继发其它疾病,如附红细胞体病等而加重病情。

6.3 猪附红细胞体病是由猪附红细胞体引起的猪的一种血液病,蚊虫是重要的传播媒介,尤其在多雨季,蚊虫易孳生,加上猪群感染圆环病毒,机体抵抗力下降,而发生猪附红细胞体病。防治该病应消灭蚊虫、切断传播途径,加强器械的消毒,提高管理水平。

参考文献

- 1 沈国顺.猪病诊断与防治[M].辽宁科技出版社,2003.124~126
- 2 王学玲.天津地区首次发现猪附红细胞体病的诊治[J].天津农学院学报,2000(3)
- 3 殷震,刘景华.动物病毒学[M].第二版,北京:科学出版社,1997
- 4 周继勇,陈庆新,等.猪圆环病毒 2 型感染的血清学分析.中国兽医学报,2004,24(1):1~3

(编辑:高 雁,snowyan78@tom.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
高产奶牛饲养技术	25	家兔的饲养与管理	25	海产养殖致富经	25
肉牛养殖技术	50	家兔繁殖与兔病防治	25	稻田养鱼 河蚌育珠	25
奶牛繁育技术南方梅花鹿养殖	25	养蝎技术	75	黄鳝鳊鱼福寿螺养殖技术	25
养牛养羊学	125	养蛇技术	50	鲍鱼人工养殖秘诀	25
奶牛的饲养管理	50	毒蛇饲养技术	25	流水养鲟	25
牛羊育肥技术	25	鹌鹑及蜗牛的养殖	25	药用虫养殖技术	25
波杂羊繁育饲养技术中华土元养殖技术	25	蜗牛的室内养殖	25	观赏昆虫	25
绵羊山羊养殖技术	50	蜗牛 蚯蚓饲养	25	怎样办好一个养鸽场	25
高腿小尾寒羊饲养秘传	25	肉鸽的饲养	25	怎样办好一个养牛场	25
高效养羊技术	25	肉用犬养殖新技术	25	怎样办好一个养羊场	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:中信银行沈阳分行皇姑支行 帐号:72214101826000548-49

莱姆病的现状及防治

常华 段纲 花群义 项勋 曾昭文

摘要 莱姆病(Lyme disease)亦称莱姆疏螺旋体病(Lyme borreliosis),是20世纪70年代发现的以蜱作为传播媒介,由伯氏疏螺旋体(*Borrelia burgdorferi*)感染所致的人畜共患传染病,其特征有慢性游走性红斑(ECA),同时伴随发热多汗、头疼、颈强直、肌疼、关节疼等症状。通过对该病的现状的分析,提出防治措施,开展有关疫苗的研究。

关键词 莱姆病;防治措施;症状;伯氏疏螺旋体

中图分类号 S855.9+9

Current situation of Lyme disease and its prevention and cure

Chang Hua, Duan Gang, Hua Qunyi, Xiang Xun, Zeng Shaowen

Abstract Lyme Disease also called as Lyme borreliosis, It was found in 1970s and was spread by tick. Lyme disease is a bacterial disease caused by *Borrelia burgdorferi*, .Throughout animals to transmit Lyme disease to man..Some people have Lyme disease go with some early symptoms such as fever, headache, and muscle or joint pain, and so on . Throughout knowing of the current situation of Lyme disease to bring forward measure of prevention and cure, and study situation of vaccine correlated with this.

Key words Lyme disease; measure of prevention and cure; symptom; *Borrelia burgdorferi*

莱姆病是由蜱叮咬传播的一种自然疫源性疾病,是新发现的人畜共患传染病,病原体为伯氏疏螺旋体^[1]。1975年Streere在美国康涅狄克州莱姆镇从一些“少年红斑性关节炎”的儿童中发现了蜱传螺旋体感染性人畜共患病;1977年耶鲁大学的学者描述了该病的全部临床表现,1980年将该病命名为莱姆病^[2];1981年Burgdorfer发现该病与螺旋体有关;1982年Burgdorfer及其同事从蜱中分离出螺旋体称伯格多疏螺旋体(*Borrelia burgdorferi* 简称Bb),证实为莱姆病的病原。艾承绪等(1986)在黑龙江省海林县首次分离出3株Bb。感染伯氏疏螺旋体后可引起多系统、多器官损害,如游走性红斑(erythema migrans, EM)、神经炎、心肌炎、关节炎等,严重者可致残,甚至死亡。在过去,蜱叮咬后出现的红斑、发热等症状被人们误认为是过敏

或蜱传脑炎等;关节炎、神经系统和心血管损害则被认为是“风湿”或其它症状^[3]。张哲夫等(1987)从病原学上证实人被蜱叮咬后发生的皮肤、神经、关节、心血管等损害的多种临床病症是莱姆病。1992年世界卫生组织(WHO)将此病列为重点防治对象^[4],该病已成为全球性的公共卫生问题^[5]。莱姆病在全球范围内流行在我国分布相当广泛,估计全球年发病30万人左右,仍有不断增多的趋势。在北美和欧洲,莱姆病为主要虫媒传染病。

1 病原学

1.1 形态结构和培养特性

伯氏疏螺旋体属于原核生物界螺旋体目螺旋体科疏螺旋体属的一种,是一个单细胞疏松盘绕的左旋螺旋体,长10~40μm,宽0.2~0.3μm,由表层、外膜、鞭毛、原生质4部分组成,革兰染色阴性,姬姆萨染色呈蓝紫色,微嗜氧,属发酵型菌。Bb最适生长温度33~34℃,在含发酵糖、酵母、矿盐和还原剂的培养基内生长良好,在BSK2培养基的固体和液体中均可生长。从生物标本新分离的菌株发现,溶菌株一般需培养2~5周才可在显微镜下观察到。暗视野显微镜下

常华,云南农业大学动物科技学院,在读硕士,650201,云南昆明。

段纲、项勋、曾昭文,单位及通讯地址同第一作者。

花群义,云南省出入境检验检疫局。

收稿日期:2006-01-20

可见有 4~10 个疏螺旋,呈旋转、扭曲的方式活动,能通过 0.3 μ m 的滤膜^[5]。

据遗传学特征,分为 3 个基因种,其中两个未被确认。基因种共分为 7 个组;即 Vs116 组、PotiB2 组、DN127 组、21123 组、HV501、Y2501 和 Am501。美国、中国菌株都分属于这 3 个基因种,而 BJ 基因种仅局限于日本菌株。

伯氏疏螺旋体含 100 多种蛋白,包括免疫显性的外膜蛋白。应用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS2PA GE)法,以考马斯兰或银染色显色,可见 30 多条蛋白带,比较重要的有外膜蛋白 A(Out surface protein A, OspA) (30~31kD)、OspB(34~36kD)、OspC (20~25kD)、39kD、41kD 和 81~100kD。OspA 和 OspB 是重要的菌株候选者。重组 OspA 免疫人体可产生特异性抗体,具有保护作用;OspC 抗原性强,在人体感染伯氏疏螺旋体后最早出现特异性抗体;抗 39kD 抗体亦是早期感染的标志;41kD 即鞭毛蛋白,其蛋白肽链中央区域为种特异性抗原表达位点,可用于莱姆病的特异诊断^[6]。

1.2 抵抗力

伯氏疏螺旋体对外界抵抗力不强且不耐热,巴氏消毒液、高温、脱水都会使其存活性下降。在室温条件下可以存活 1 个月左右,4℃条件下能存活较长时间,-80℃可以长期存放。在生长的高峰期,BSK2 培养基中加入适量的二甲基亚砷或甘油,-80℃或液氮中存放 12 个月仍可有 95%的螺旋体保持毒力。LD 螺旋体对氨基青霉素、四环素、头孢三嗪等高度敏感,对氨基甙类、利福平、甲基达唑、磺胺 5-氟尿嘧啶等不敏感。

2 致病机制

一种学说认为,伯氏疏螺旋体具有高能动性和入侵性,它们在组织中传播并能直接穿过内皮细胞层,并在特定的组织中定植。伯氏疏螺旋体可通过与宿主的血纤维蛋白溶酶结合而促进侵染,在体外,它们能与整合素、锚定蛋白、粘多糖相结合。伯氏疏螺旋体的致病性包括补体激活和血清抗性。螺旋体在感染时表达的脂蛋白激活多种细胞,包括巨噬细胞、内皮细胞、嗜中性粒细胞、树突状细胞、肥大细胞、B 细胞和神经胶质细胞,并引发了很多的炎症反应。莱姆病病程发展与螺旋体的存在与否紧密相关,但组织中螺旋体的数量与患者病理的严重程度之间的关系尚不明确。实验感染的结果显示,伯氏疏螺旋体可以长时间的在皮

肤中散布而不引起疾病,只有当宿主的免疫系统失衡时,疾病才出现^[4]。

第二种学说认为,在患者的关节液里积累着螺旋体-抗体-补体免疫复合物的酶,这种酶也能攻击关节并侵蚀骨骼和软骨组织,引起类似关节炎的各种症状。机体感染产生抗体后形成免疫复合物沉积于组织中引起机体的慢性炎症和组织损害。感染早期,OspC 等刺激机体产生 IgM,数周后冷沉淀球蛋白阳性,循环免疫复合物阳性等。应用免疫组化法检测组织中 IgG 及抗伯氏疏螺旋体抗体显示均有阳性物表达。神经性莱姆病病人轴突 64kD 蛋白与伯氏疏螺旋体鞭毛蛋白有交叉反应而造成神经系统的损害,说明神经炎与交叉免疫反应有关。

第三种学说认为,增强螺旋体致病效应不仅是由中性粒细胞分泌的酶,还有白细胞介素-1(IL-1)参与了作用。在研究中莱姆病患者的细胞因子水平也发生了变化。如白介素-1(IL-1)、白介素-4(IL-4)、肿瘤坏死因子(TNF- α)等均有升高^[9]。

近几年来随着伯氏疏螺旋体基因操作技术上的突破,通过分子遗传学分析方法对致病机制的探索也成为莱姆病研究的热点之一。基因操作技术上取得的主要进展集中在抗性标记的选择、穿梭质粒的构建以及转座突变研究。与非感染性的菌株相比,对感染性菌株进行遗传操作的难度更大。Hub-tier 等人首次对感染菌株进行了 RpoS 和 RpoN 基因敲除和互补的研究。2004 年,Grimm 等人对感染菌株 1331-A3 的 Os-pc 蛋白进行了基因敲除和互补研究,并成功筛选出基因敲除后仍具有感染性的突变菌株,对突变菌株进行老鼠-蜱-老鼠感染周期的研究^[4]。

3 流行病学特征

3.1 传染源

患病和带菌动物是传染源,贮存宿主为啮类动物和蜱类,且贮存宿主多样,如白尾鹿、牛、马、鼠类、鸟类。我国北方地区厥类和姬鼠类可能是主要贮存宿主^[7]。黑线姬鼠和棕背平是中国莱姆病螺旋体的重要贮存宿主。鸟类对莱姆病的远距离传播有重要作用^[8]。

3.2 传播途径

硬蜱属中某些种类的硬蜱是莱姆病的重要传播媒介,伯氏疏螺旋体是通过某些硬蜱的吸血活动传播到人和动物的。蜱叮咬动物时,伯氏疏螺旋体随蜱唾

液进入皮肤,也可能随蜱粪便污染动物的创口而进入体内。经 3~32d 潜伏期后病原在皮肤中扩散,形成皮肤损害,当病原侵入血液后,引起发热,关节肿胀疼痛,神经系统、心血管系统和肾脏受损并出现相应的临床症状,所以莱姆病的流行与硬蜱的生长活动密切相关。

另外,有研究表明,莱姆病在人、牛、马、鼠等动物中可通过胎盘垂直传播;动物与动物间可通过尿液相互感染,甚至可以传染给接触密切的人;皮下注射及输血也可能引起本病的传播。

3.3 流行特征

具有明显的地区性,硬蜱能大量生长繁衍的山区、林区、牧区此病多发;其次,具有明显的季节性,多发生于温暖季节,一般从 5 月开始,11 月终止,冬春无病例^[9]。

Tallekliln 等人(1993)对瑞典 Bogesund 地区 6~10 月份的宿主潜能进行了比较,首次探讨了特定地域宿主潜能的时间格局,认为自然疫源地的特征是一个随时间、空间变动的特征,从变化角度探讨莱姆病的自然疫源地特征将是明确莱姆病传播和流行的重要手段之一。有研究从西部大开发天然林保护工程实施过程中所出现的环境变化入手,探讨了莱姆病随环境变动而产生的传播新特点,结果发现,天然林保护工程的实施对于莱姆病的媒介、宿主及其潜在在一定程度上起保护作用,其媒介、宿主等亚群落多样性也得到了-定的保护,自然疫源地活力将有所增加。因此,天然林保护工程实施过程中,莱姆病的感染风险将有一定增加,也提示了进一步加强对进入天然林保护区人员进行防护和监测的必要性^[10]。

4 临床症状

莱姆病可引发多种不同的临床症状,不同基因型螺旋体引发的临床症状也不相同。莱姆病的 I 期临床表现是因蜱叮咬引起的皮肤损伤;II 期临床表现是心脏和神经系统疾病;III 期临床表现是关节炎,眼睛、神经系统、皮肤疾病也能在 III 期发生。游走性红斑是莱姆病的一种可靠的临床诊断标准^[11]。

如马精神沉郁、嗜眠、消瘦,触摸蜱叮咬部位高度敏感,间歇性跛行或步行异常,发生蹄叶炎、肢关节肿胀、肌肉压痛、四肢僵硬、不愿走动。有些病马出现脑炎症状,大量出汗、头颈倾斜、尾巴麻痹,吞咽困难,常无目标地运动。妊娠马容易发生死胎和流产^[9]。

在病理剖检时,皮肤红斑组织切片可见上皮增生,轻度角化伴单核细胞浸润及表层水肿,无化脓性及肉芽肿反应。关节炎患者滑膜囊液中含淋巴细胞及浆细胞,少数患者可发生类似于类风湿性关节炎的病理改变,如滑膜、血管增生,骨及软骨的侵蚀等慢性损害。

5 诊断

莱姆病的诊断主要根据流行病学史(疫区接触史、蜱叮咬史)、临床表现和实验室检查 3 方面的结果进行确诊。在莱姆病的实验诊断中,病原学检测是确诊的最好依据,但由于病原体分离率低,生长缓慢,操作周期长,难以及时准确的诊断,因此,病原体分离培养一般只用于莱姆病的调查研究。聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR) 技术检测病原体,具有高的灵敏度和特异性,快速方便,需要的样本量少,尤其适用于发病早期的实验室诊断。血清学检查方法目前常用间接免疫荧光抗体法(IFA)、间接酶联免疫吸附试验(ELISA)、蛋白印迹试验(Western blot, WB)等检测特异性抗体(IgG、IgM)。IFA 或 ELISA 法检出的阳性血清,再经 WB 法确定,如为阳性即可确诊,这种两步血清学诊断方法,可以大大的提高诊断的特异性^[12]。

现在一些新技术如单克隆抗体及基因工程技术的发展,在莱姆病实验室诊断中的作用也越来越突出,使得该病的诊断技术在传统的基础上又有了很大的丰富和提高(如 Dot-ELISA、基因工程抗原 ELISA 法检测抗体等)。实验室诊断上选择的余地更大,并可针对莱姆病临床中的各个特点采取适当的一种或几种诊断方法,从而做出合理的判断。对实验室工作者来说,则需进一步提高方法的特异性及敏感性,研究出更好的诊断方法,从而最大限度地为临床疾病的诊断与治疗提供参考依据。

6 预防措施

莱姆病的预防应采取综合措施,即环境防护、个体防护和预防注射相结合的措施^[13]。

6.1 加强流行病学调查是做好预防莱姆病的前提条件。要建立良好的卫生监测体系,只有做到早发现,才能早治疗。

6.2 各部门要有健全的卫生防病组织,经常进行防病工作交流,总结和推广防病工作经验,实行目标责任制,卫生防病人员要经常下基层指导落实防病措施。

6.3 清除蜱媒孳生地是预防莱姆病的必要手段。搞好环境卫生,清除路边杂草和灌木丛,清理家畜和家禽圈舍,堵塞间隙,以消除蜱媒的孳生和栖息场所;对有蜱媒孳生的草地、灌木丛、畜舍地面等使用超低容量喷洒 90%的马位硫磷原油 0.1g/m 或 90%辛硫磷原油 0.1g/m 进行杀蜱。

6.4 加强疫情监控是预防莱姆病的重要环节。及时准确报告疫情,各职能部门密切协同,形成完善的防疫网络,莱姆病是完全可以预防的。预防莱姆病是一项经常性、长期性、群众性的工作,必须常抓不懈。

7 治疗

伯氏疏螺旋体对青霉素、红霉素及第三代头孢菌素非常敏感^[9],疗效显著,所以在莱姆病的治疗时使用抗生素最有效。治疗莱姆病首选药物是头孢菌素类、青霉素类以及红霉素和四环素类,一般是大剂量使用,对早期病人也可以口服红霉素和四环素类。

在临床实践研究中证实:银花、连翘、黄连、甘草、板蓝根、贯众等不但有较明显抑杀病毒、细菌作用,又能对西医尚无疗效的病菌感染,如抗菌耐药菌株,机体免疫缺陷或组织器官损害不能耐受抗菌素者,有独到的优越性。同时与西药联用有协同作用^[10],且中药更兼标本兼治,无明显毒副作用的特点,其成本低廉,尤其适用于林区基层医院^[11]。

8 疫苗

1986年,Russell Johnson进行了第一项自动免疫研究,用疏螺旋体的裂解物主动免疫仓鼠,能有效地保护动物抵抗同源性伯氏疏螺旋体的攻击,然而用异源性疏螺旋体分离物进行攻击时其保护作用差。还不能肯定用 OspA 免疫是否能诱导长期的保护性免疫,已知伯氏疏螺旋体可以在宿主中长期存在,在人类疾病中,疏螺旋体已被从初次感染后数年的组织标本中培养出来,用动物模型也看到了类似的结果。用单价 OspA 和 OspB 蛋白接种是否会引起交叉保护仍不清楚。

未来的疫苗,将使用单一蛋白重组 OspA 疫苗制剂的潜在局限性包括缺乏对不同伯氏疏螺旋体株的交叉保护,以及因疏螺旋体修剪了外表面蛋白使之不能与保护性抗体相结合而逃逸免疫系统,因此,多重抗原疫苗可能更为有效。

人们也探索了其它疏螺旋体蛋白的预防接种,潜在的候选物包括 OspB、OspF、DbpA,以及 110kD 的含

有伯氏疏螺旋体热休克蛋白(HSP70)的融合蛋白。此外,用 BBK32(P35)和 BBK50(P37)免疫,这是两种在体内被选择性诱导出的蛋白,也能够提供保护性免疫。使用 OspD、OspE 或者 30kD、83kD 或 P55kD 的疏螺旋体蛋白的疫苗接种试验可能均不能保护动物以抵御感染。

采用疫苗抵抗莱姆病的经验在逐年增加,在抗伯氏疏螺旋体免疫方面也取得了重要进展,包括激发保护性应答的抗原,今后研制多种基因种多价亚单位混合疫苗仍将是重要的研究方向。

参考文献

- 1 杜雯英,陈晓宁,等.承德地区莱姆病自然疫源性特征分析[J].中国公共卫生,2005,21(7):836~837
- 2 黎伟明,杨修军,等.莱姆病研究进展[J].中国卫生工程学,2005,4(2):107~110
- 3 刘敏,王树声,等.莱姆病研究进展[J].中国药物与临床,2004,4(8):611~612
- 4 何静.莱姆病研究进展[J].传染病信息,2005,18(2):64~66
- 5 崔步云.莱姆病研究进展[J].中国药物与临床,2004,4(8):611~613
- 6 郝永建.莱姆病病原学研究进展[J].医学动物防治,2003,19(3):170~172
- 7 许荣满,郭天宇.莱姆病媒介和宿主动物研究进展[J].寄生虫与医学昆虫学报,1998,5(1):120~124
- 8 张哲夫.中国莱姆病研究的进展[J].中华流行病学杂志,1999,20(5):269~271
- 9 金鑫,苏敬良.人兽共患病的现状与防治[J].疫病控制,2005,32~33
- 10 孙毅,刘增加,等.天然林保护对莱姆病自然疫源地特征的影响[J].寄生虫与医学昆虫学报,2005,12(2):106~111
- 11 何静,曹务春,张习坦.莱姆病研究进展[J].传染病信息,2005,18(2):63~66
- 12 蒋毅,万康林.莱姆病实验诊断研究进展[J].中国公共卫生,2004,20(2):243~245
- 13 黄振宇.中国莱姆病研究的新进展[J].中国自然医学杂志,2002,4(2):97~99
- 14 唐兰.莱姆病的预防措施[J].北京军区医药,2000,12(5):330
- 15 I oewen PS.Mstts CA.Marra F.Systematic review of the treatment of early Lyme disease[J].Drugs.1999,57(2):157~173
- 16 Subhuti Dharmananda,Lyme disease:treatment with Chinese Herbs. June [M].Institute for traditional medicine,Port -land, Oregon,1999
- 17 黄煌.中西医结合治疗莱姆病的临床研究[J].实用预防医学,2005,12(2):236~238

(编辑:高雁,snowyan78@tom.com)

纳米级维生素的研究

赵成萍 田野

纳米材料作为物质存在的一种新状态,正逐渐被人们所认识,纳米技术和纳米材料的科学价值和应用前景,已逐渐被人们所接受。纳米材料的制备及其相关性能的理论与应用研究作为一个新的学科领域,正在形成与发展之中,目前已广泛应用在工业、农业、医疗和纺织等行业。运用纳米技术可以改善或改变维生素的水溶性、分散性和吸收率;改善维生素在畜禽体内的生理、生化过程,提高维生素的生物利用率;改善维生素和饲料加工之间的相容性,并且在纳米尺度上观察认识维生素在提高人类和畜禽的保健功能和营养功能上的新现象和新规律。在复合维生素中加进免疫球蛋白(IgG)和低聚糖,从而强化维生素的免疫和保健功能,使它们和高溶解、高吸收、高营养的维生素在纳米技术这一平台上得到完美的融合,是纳米级维生素的技术核心。

1 纳米级维生素

所谓纳米级维生素是指通过一定的微细加工方法,把维生素微粒粉碎到100nm以内,直接操纵维生素的原子、分子或原子团和分子团,利用复配技术使其重新排列,形成具有纳米尺度的新剂型维生素;研究它的物理特性,并研究其和微米粒度(10~25 μ m)的维生素在比表面积、表面活性、溶解性、吸收率、营养性和在机体内的生理生化过程中的差异,最终研制成具有独特的溶解度,吸收率,生理、生化特点,对机体起到高营养免疫作用的新剂型维生素。

纳米级维生素是由零维的维生素纳米微粒、二维和三维的维生素纳米结构所组成的纳米级非连续相液体,由于尺寸小,比表面积大等原因,使它具有不同于微米粒度维生素的特性,即它的光学、热学、电学、磁学、力学、化学方面,生理、生化过程和营养性与微米粒度的维生素相比,都有着显著的不同。

2 纳米级液体维生素制备技术

2.1 制备方法

赵成萍,山西农业大学,030801,山西太谷。

田野,山西馨韵维康生物科技有限公司。

收稿日期:2006-01-09

纳米级维生素的制备方法采用乳液法,利用水、油两种互不相溶的溶剂在表面活性剂的作用下形成一个均匀的乳液,通过表面修饰,避免脂溶性维生素油滴之间的重新团聚。这一方法的关键是使每个脂溶性维生素油滴被一连续水相包围,即形成水包油(O/W)型乳液,这种非均相的液相合成法具有粒度分布窄,并且容易控制等特点。

2.2 基本原理

纳米级维生素的微乳液是由表面活性剂、助表面活性剂、稳定剂、脂溶性维生素、水溶性维生素、氨基酸、低聚糖等和去离子水组成透明的各向同性的热力学稳定体系。在经过液体粉碎后的微乳液中,微小的脂溶性维生素“油滴”被表面活性剂、助表面活性剂和稳定剂所组成的单界面所包围,形成微乳颗粒,其粒径在20~25nm之间。微小的脂溶性维生素“油滴”尺度小且彼此分离,因而构不成油相,通常称之为“准相(pseudo phase)”,这种特殊的微环境,我们称之为“微反应器(microreactor)”。大量实验已证明它是形成多种维生素“功能协同结构体”的理想介质。

纳米级维生素微乳颗粒在不停地做布朗运动,不同维生素颗粒在互相碰撞时,组成界面的表面活性剂、助表面活性剂和稳定剂的碳氢链可以相互渗入,与此同时,一种脂溶性维生素“油滴”中的离子可以穿过界面进入另一种脂溶性维生素的“油滴”中,“油滴”中的这种渗透可以在“油滴”之间进行,也可以在水溶性维生素颗粒和“油滴”之间进行;此外,水溶性维生素之间通过碳氢键也有离子交叉。微乳液的这种物质交换的性质,使维生素中功能相同的不同离子间形成“功能协同结构体”成为可能,这也是纳米级维生素比微米级维生素具有更高的营养性和更好的保健功能的原因所在。

2.3 微粒的尺寸评估

纳米级维生素的纳米结构是由维生素纳米微粒所组成的准一维、准二维和准三维纳米结构团簇,颗粒尺寸(粒径)即指其直径。我们用激光散射技术,采用日本大冢电子公司所生产的激光光散射仪(OLS 700型),实验温度为(25 \pm 45) $^{\circ}$ C,激光波长为632.8nm,

检测其粒度大小结果为 19.7~24.8nm,在此范围,粒度分布为 100%。

3 纳米级维生素功能特点

3.1 复合维生素配方的独特性和先进性

运用纳米技术能把维生素对畜禽的免疫保健功能和维生素的高溶解度、高吸收率和高利用率结合起来。复合维生素配方的组成至关重要,不仅要考虑到各维生素组分之间的协同、维生素和其它营养物质间的协同,还要考虑到纳米级维生素在机体内代谢的特殊性、纳米结构自组装体系和分子自组装体系形成所衍生的“功能协同结构体”对整体复合维生素的营养和保健功能的影响,这些特点也恰恰是复合维生素配方的独特之处和先进所在。

3.2 自动衍生“功能协同结构体”特性

纳米级维生素是由 10 种水溶性维生素纳米颗粒、4 种脂溶性维生素纳米颗粒、4 种氨基酸纳米颗粒、7 种微量元素纳米颗粒、双歧因子纳米颗粒和免疫因子纳米颗粒、电解离子等所组成的一个非连续相液体,这些纳米微粒我们称之为“反应池”。这些纳米微粒在液体中不停的做布朗运动,不同的纳米微粒在碰撞时,由于组成界面的表面活性剂、助表面活性剂和稳定剂的碳氢键相互渗入,一个“反应池”中的离子可以进入到另一“反应池”,使得这些纳米微粒发生了多种物理反应和化学反应,这种特殊的微环境,我们称之为“微反应器”。“微反应器”是各种保健物质和免疫物质发生催化反应、配位反应和络合反应的理想介质。通过研究证实,刚生产出来的纳米级复合维生素,其气味和口感一般,放置两个星期以后,就会变得和正常生产的维生素味道一样,芳香可口,对机体的抗应激效果和补给效果也大大提高,所以,纳米级复合维生素有一个动态的“功能协同结构体”的衍生过程。

纳米级复合维生素的“功能协同结构体”的衍生过程,实际上是维生素纳米结构的自组装体系或是分子自组装体系的形成过程。

纳米结构的自组装体系是指通过弱的和较小方向的非共价键,如氢键和范德耳瓦斯键的协同作用,把原子、离子和分子连接在一起,构筑成一个纳米结构或纳米结构的花样(pattern)。自组装过程的关键不是大量原子、离子和分子间弱作用力的简单叠加,而是一种整体系统的协同作用。纳米结构的自组装体系的形成有两个重要的条件:一是有足够数量的非共价键或氢键存在,这是因为氢键和范德耳瓦斯键等非共价键很弱,只有足够量的弱键存在,才能通过协同作

用,构筑成稳定的纳米结构体系;二是自组装体系的能量较低,否则很难形成稳定的自组装体系。

分子自组装体系是分子与分子在平衡条件下,依靠分子间非共价键力,自发的结合成稳定的分子聚合体(aggregate)的过程。营造分子自组装体系要划分为 3 个层次:第一,有序的共价键,首先结合成结构复杂的、完整的中间分子体;第二,由中间分子体通过弱的氢键、范德耳瓦斯键及其它非共价键的协同作用,形成结构稳定的大分子聚集体;第三,由一个或几个分子聚集体作结构单元,多次重复自组装,排列成纳米结构体系。也就是说,纳米级复合维生素是由许多维生素和维生素、维生素和其它营养物质所组成的纳米结构体及大的分子聚集体所组成。例如:维生素 E 和维生素 C 形成的“功能协同结构体”,其抗氧化功能会大大加强,这可能是缩短了维生素与自由基反应后,通过维生素 C 得到再生的路径所致,因为这些过程可直接在“功能协同结构体”上进行。

纳米级维生素正因为有此特性,所以它的保健和免疫功能的形成,并不是数种维生素的保健和免疫功能的简单叠加和复合,而是所有具有保健和免疫功能的物质间,通过纳米结构和分子间的自组装,形成一种新型鲜活的、协同作用更强的、有独特营养保健免疫功能的“功能协同结构体”存在的维生素复合剂。这样结构状态的复合维生素,自然界可能存在,也可能是自然界尚不存在的新的营养物质。这种“功能协同结构体”的衍生过程在复合维生素产品中表现较为突出,而在单项维生素产品中则表现不明显。

3.3 表面效应

球形颗粒的表面积与半径的平方成正比,其体积与半径的立方成正比,故其比表面积(表面积/体积)与半径成反比。表面效应是指纳米微粒表面原子数与总原子数之比,随粒径变小而急剧增大后,所引起的性质变化。纳米级维生素的粒径为 20~25nm,比表面积为 70m²/ml,这样的比表面积使处于表面的原子数越来越多,同时,表面能迅速增加。由于表面原子数目增加,比表面积大,致使原子配位不足,表面原子的配位不饱和性,导致产生大量的悬空键和不饱和键,加之表面能高,因而导致这些表面具有高的活性,极不稳定,很容易与其它原子结合。这种表面原子的活性,不但引起纳米粒子原子运输和构型的变化,同时,也会引起表面电子构象和电子能谱的变化。

3.4 高吸收利用性

纳米级维生素中脂溶性维生素是亲水性的,又处

在胶体分散状态,因而是一种热力学稳定体系,更重要的是 20~25nm 的脂溶性维生素,改善了脂溶性维生素在畜禽体内的药物动力学特性。主要表现在 3 个方面:第一,纳米级脂溶性维生素可使脂溶性维生素的吸收效率明显增加,纳米级脂溶性维生素液在胃肠中可使脂溶性维生素释放迅速,而且与胃肠道上皮层有良好的接触,通过胃肠道上皮细胞间质,穿过肠道并进入血液循环,结果使脂溶性维生素容易吸收,生物利用率明显提高。普通的脂溶性维生素的平均生物利用率为 30%左右,而纳米级脂溶性维生素的平均生物利用率可达 98%。第二,纳米级脂溶性维生素吸收更迅速,平均达峰时间提前。第三,纳米级脂溶性维生素,可使其体内药物动力学稳定性提高,补充脂溶性维生素者之间个体差异变小。纳米级脂溶性维生素的吸收受胃肠道生理状态的影响(如胆汁分泌、采食和饲料内脂肪含量的影响)比较小,可以不通过胆汁溶解,便可到达肠细胞的表面,通过非载体介导的被动扩散,进入肠黏膜细胞。若这一推论成立,纳米级脂溶性维生素的吸收将达到 100%,而患有肝脏疾病和脂肪吸收障碍的禽畜,脂溶性维生素的吸收都不会受到影响,这在医药行业具有十分重要的意义,也为纳米技术在营养保健和医药领域的应用提供了依据。

水溶性维生素和蛋氨酸、苏氨酸、赖氨酸等的吸收,是通过易化扩散、被动转运以及钠泵的主动转运而进入小肠黏膜的,而钠泵的主动转运,也只有当氨基酸和水溶性维生素的浓度高时才起作用,所以说氨基酸和水溶性维生素的粒度大小、溶解程度和胃肠道的有效接触面是氨基酸和水溶性维生素吸收的关键。纳米级氨基酸和水溶性维生素的微粒,以其独特的表面效应、界面效应和小尺寸效应,无疑可加大氨基酸和水溶性维生素与胃肠道细胞的有效接触面,从而提高其吸收率和生物利用率,这对畜禽限制性氨基酸和水溶性维生素的及时补充,具有十分重要的生理意义。

3.5 安全性

纳米级维生素的生产,所用原辅材料是对人体和动物有益的有机物,包被材料为生物原料,在加工生产过程中,采用低温高压工艺,加工过程中,将有害菌的细胞壁完全破碎,使其失活,再通过微滤工艺,将其滤去,所以说纳米级维生素是真正安全无菌的。若在包装过程中不发生二次污染,将会延长其货架寿命。

3.6 稳定性

纳米级维生素由于采用了先进的界面工艺,充分利用了维生素间不同的表面张力,瞬间纳米级超微粉

碎,并在分子水平上瞬间进行生物膜深层次包埋,使不同酸碱度、不同热敏度、不同光敏度和不同氧化还原程度的维生素及其它营养物质共处于同一非连续相的液体中,彼此稳定而互不干扰,很好地解决了由于环境因子不稳定而使维生素效价降低的问题,货架寿命可达二年以上。

3.7 高效价性

乳化复合维生素中的脂溶性维生素,是以表面活性剂、葡萄糖和糊精乳化后,均质、燃干、碎粒而得。研究认为:粉状复合维生素中的脂溶性维生素的吸收率为 20%~25%,生物利用率为 30%;乳化复合维生素中的脂溶性维生素的吸收率为 40%~45%,生物利用率为 55%;纳米级复合维生素中的脂溶性维生素的吸收率为 100%,生物利用率为 90%以上。由此可得:粉状复合维生素的生物学效价为 6%~7.5%;乳化复合维生素的生物学效价为 22%~25%;纳米级复合维生素的生物学效价为 90%以上。粉状复合维生素的目前市场价为 70 元/kg;按同等维生素含量折算,乳化复合维生素的市场价为 200 元/kg;纳米级复合维生素的预计市场价为 400 元/kg。最终得出 3 种维生素剂型的效价比,粉状复合维生素的效价比为 107:1 000;乳化复合维生素的效价比为 125:1 000;纳米级复合维生素的效价比为 225:1 000。

综上所述,纳米级维生素巧妙地应用了纳米技术,明显地增加了维生素的有效性和稳定性。药物经经济学研究表明,纳米级维生素可减少用量 20%左右,综合成本可减少 30%左右,可带来极大的社会效益和经济效益。

3.8 适用性广

纳米级维生素的剂型有两种:一种为液体,一种为粉体。液体纳米级维生素可向饮水中添加;可和液体蛋氨酸一起喷洒,也可单独喷洒,用于配制全价料和浓缩料;可作为膨化料的后喷涂液。粉体纳米级维生素由液体维生素喷雾所得,喷雾后的粒度约为 35nm,可拌料,也可饮水,溶水后,液体仍为透明状。总之,纳米级维生素可适用于不同的使用方式和方法。

4 小结

由于纳米级维生素具有上述独特的物理特性和营养保健免疫功能,以及在生产应用中优良的效价比和任意的使用方式,所以说纳米级维生素是继粉状维生素和乳化维生素后的第三代新剂型维生素,势必会引发饲料添加剂领域的革命,甚至会改变人们对畜禽营养、保健和免疫的思维方式。