



2006年第27卷第10期
(总第271期)
(1980年创刊)

主办单位:

辽宁省农业机械研究所

编辑出版:饲料工业杂志社

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:韩惠春青

副总编辑:沈柱宇 陈广鹏

责任编辑:孙峰

广告全权代理:沈阳阳光广告有限公司

常务副总经理:宋立南 林 勇

业务内勤:刘 占

地址:(110056)沈阳市长江街126号甲

B幢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:CN21-1169/S

国际连续出版物号:ISSN1001-091X

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:72214101826000548-49

每册定价:6.00元

如蒙赐教,本刊文、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

专家论坛

- 1 家禽蛋白质和氨基酸的维持代谢 计 成

饲料添加剂

- 6 饲料酸化剂的作用机理及其应用前景

- 10 1,4—二氧嗪啉—2—甲醒席夫碱的合成与

- 促鸡生长活性研究 马敬中 占升卫 胡超男

- 14 酵母细胞壁及其在水产养殖中的应用 郑凯迪

商工 程

- 17 发酵油莱籽壳产纤维素酶的初步研究

- 曾 莹 王伟平 黄 维等

- 21 饲用纤维素酶热稳定性的研究

- 冯 毛 王卫国 于海洋

- 22 一氧化氮合酶与动物生殖

- 陈礼强 郑凯迪

水 产 养 殖

- 25 不同添加剂及其组合对大菱鲆生长性能与水环境的影响

- 李 勇 王优军 王 雷等

- 29 氨基酸微量元素螯合物对异育银鲫生长及其品质的影响

- 罗 莉 梁金权 陈小川等

- 33 鲫鱼肠道对四种蛋白质饲料的体外消化与

其酶解液中氨基酸吸收效率的研究

- 白 燕 叶元士

试 验 研 究

- 37 饲料中植酸酶、钙、磷不同水平组合对

肉仔鸡生长和屠宰性能的影响

- 花 薇 魏时来 孟 婕等

- 43 有机铬对热应激蛋鸡生产性能和血液生化指标的影响

- 常 娟 林东康

- 48 11株益生菌对32种抗菌药物的敏感性试验

- 曹国文 戴荣国 周淑兰等

检 测 技 术

- 51 水产品药物残留的检测监控 刘明生 甘辉群

- 54 植酸酶的相关介绍及活性检测方法探讨

- 阮 静 刘晓玥

营 养 研 究

- 56 1-肉碱在水产动物中的应用

- 李海军 邵庆均 聂月美

- 59 鲈鱼的营养研究进展 邓锦锋 王安利 周初霞等

问 题 探 讨

- 61 抗菌素在养殖环节中的应用 顾君华

信 息 采 摘

- 28 提高猪的免疫力

- 32 2020年我国奶类产量将列世界第三

- 36 肉牛两种补充饲料的制作技术

- 64 澳洲牛肉凯麟我高端市场 最大竞争者来自中国本土

企业标识展示



江苏北方
通威集团
(0412)3343018
(024)88080722



江苏饲料
通威集团
(028)85188888



江苏正昌
(0519)7309988



江苏牧丰
(0514)7848811



布勒(常州)
(0519)7966666



江苏良友
(0519)8309988



上海和凤
(021)57355544



杭州通德和
(0571)86433111



裕达机械
(0519)8305886



挑战集团
(010)63146105



江苏华新
(0510)83797866



无锡华新
(0510)83791888



立达尔
(020)87656509



武汉立达
(027)83569722



广州海大
(020)84661599



广东恒威
(020)61368868

家禽蛋白质和氨基酸的维持代谢

计 成

摘 要 蛋白质及氨基酸的维持代谢比较复杂,一直是动物营养学研究的难点之一。维持需要作为一项基础研究,对于探索具有普遍意义的营养需要规律,比较不同动物或同一种类动物在不同的条件下的营养需要特点具有重要作用。文章就家禽氨基酸维持代谢的意义、途径,维持氨基酸需要量的研究方法与研究现状等几方面作以简单阐述。

关键词 家禽;蛋白质;氨基酸;维持代谢

中图分类号 S831.5

研究表明,动物用于维持和生长的氨基酸模式是不同的,这对理想蛋白模式存在不同程度的影响(Fuller等,1989)。随着家禽理想蛋白模式的深入研究,国内外学者对家禽维持氨基酸代谢途径、需要量及模式的研究越来越重视。家禽的维持蛋白质及氨基酸营养的研究,对蛋鸡饲养标准的修订,确立家禽动态的理想蛋白模式,更好地满足家禽的营养需要,充分发挥遗传潜力,提高家禽生产性能的同时,对减少氮和氨基酸的维持消耗、降低氮的排出,节约蛋白原料,减少环境污染都具有十分重要的意义。

1 家禽氨基酸维持代谢的途径

维持氨基酸需要量是指能够使动物处于正氮平衡的最小氨基酸量(Baker,1965)。Sakomura等(1999)把维持氨基酸需要量定义为氮的平衡,即氮摄入量等于氮损失量的总和,而机体氮含量保持不变的一种动态平衡。产蛋鸡氨基酸的维持需要,营养学上概括为维持蛋鸡正常生理状态而不产蛋情况下的氨基酸需要(Fisher,1956)。研究表明,用于维持和生长的氨基酸模式是明显不同的。因此,动物总需要量必须依赖于维持和组织蛋白沉积部分占总需要量的比率(Fuller等,1989)。动物总是首先满足它的维持营养需要,以保证机体正常的生理代谢,而蛋氨酸是家禽的第一限制性氨基酸,主要是由于家禽对蛋氨酸的维持需要量相对较高。

家禽用于维持的氮最终通过代谢粪氮、内源性尿氮和体表氮3个途径进行代谢。代谢粪氮主要包括唾

液、消化酶及消化道脱落的细胞所含的氮。内源性尿氮主要是指动物在维持生命过程中,必要的最低限度的体蛋白净分解代谢经尿中排出的氮。体蛋白处于分解和合成的动态平衡中,分解产生的氨基酸有一部分重新合成体蛋白,而另一部分氧化分解产生尿素或尿酸等经尿排出体外,这部分为体蛋白的净分解代谢。体表氮损失包括毛发、蹄甲、羽毛、皮肤损失的氮。在维持状态下羽毛、皮肤更新需要蛋白质极少,一般可忽略不计。

氨基酸的维持代谢主要参与体蛋白的更新,动物皮肤、羽毛和肠粘膜上皮脱落等正常损失的蛋白质合成过程,其次用于转化激素、酶、维生素及其它生物活性物质,而且,氨基酸的替补也可用作一定的氨基酸消耗,如胱氨酸可替代20%的蛋氨酸用于维持需要;酪氨酸可替代50%的苯丙氨酸用于维持需要(Leveille等,1960)。家禽用于维持的氨基酸需要主要考虑内源氮排泄带来的氨基酸损失,包括氨基酸形式的氮排泄,非氨基酸形式的氮排泄以及肌酐形式的氮排泄;羽毛、皮屑等皮肤覆盖物脱落引起的体表氨基酸损失。

Hurwitz等(1983)在研究火鸡氨基酸维持需要时,把氨基酸损失分为以消化道分泌液、黏膜上皮脱落为主的肠道损失;以羽毛、皮屑脱落为主的体表损失;合成肌酸酐引起的蛋氨酸、甘氨酸和精氨酸损失。其假定除了几种特殊的氨基酸不可逆代谢外(如脯氨酸羟甲基化,组氨酸甲基化等),组织更新没引起任何氨基酸净损失。但体蛋白周转过程中不同的氨基酸周转率是不同的,合成代谢对不同氨基酸利用率也有所差异,随着与氨基酸代谢相关的酶活性的不同,导致部分氨基酸氧化分解并最终以尿氮形式排出。贺建华等

计成,中国农业大学动物科学技术学院,教授,博导,100094,北京。

收稿日期:2006-04-25

(1996)报道,研究成年肉鸭用于维持的氨基酸需要时,考虑以下氨基酸的净损失:肠道损失,皮屑损失,肌酸肌酐排泄带来的甘氨酸、精氨酸和蛋氨酸损失(形成1mol 肌酸肌酐需消耗甘氨酸、精氨酸和蛋氨酸各1mol)。假设成年公鸭采食低氮饲料时体重不发生变化,即处于维持状态,采食无氮饲料时的排泄物氮损失即为内源氮损失。低氮饲料用来确定肌酸肌酐排泄总量和皮屑脱落的氮损失。肉鸭用于维持的氨基酸的模式主要依据内源氮排泄量与皮屑脱落的氮损失的比例、成年鸭的内源氨基酸和皮屑的氨基酸模式(假定其模式与羽毛的相同)及肌酸肌酐的排泄带来的甘氨酸、精氨酸和蛋氨酸损失来确定。

Moughan(2002)认为,动物氮代谢损失包括:皮肤覆盖物脱落引起的体表氮损失;反映体蛋白周转无效性的尿氮损失;肠道黏膜、细胞脱落和胆汁、消化酶分泌引起的氮损失;强制性合成必需的非蛋白含氮物引起的损失;不可逆的氨基酸化学变化(如赖氨酸变成羟赖氨酸)引起的损失;尿中游离氨基酸的损失,后3项损失所占比例较小,因此,在评定动物蛋白质及氨基酸需要时通常忽略不计。Li等(2003)在研究泰和乌骨鸡的氨基酸需要量时将粪尿排泄物中氨基酸组成当作是尿氮的氨基酸组成,但粪尿排泄物中的氨基酸主要是来自于消化道分泌物及脱落的黏膜和上皮;而在体蛋白周转中参与合成蛋白质的氨基酸有80%来源于体组织蛋白的降解。内源氮的损失对于氮维持需要来说是唯一最重要的因素(Nyachoti等,1997)。

2 家禽氨基酸维持需要的研究方法

家禽氨基酸维持需要比较难于确定,各学者所采用方法也不尽相同(Smith,1978;Hurwitz等,1983)。

2.1 氮平衡法

最初有关氨基酸维持需要的研究是由Illinois大学的Rose教授对人的维持需要并采用氮平衡的方法进行的。氮平衡法是根据食入氮与经粪和尿排出的氮的差异来进行的,最小的维持需要量就是能够维持动物零氮平衡的氨基酸的含量。由于氮平衡法存在许多内在问题,如饲料浪费,也不可能保证完全的粪排泄物收集,故由Rose和他的研究人员所测得的结果被认为是偏低的(Yong和Pellett,1991;Fuller和Garlick,1994)。随后许多学者对家禽维持需要的研究也采用了此方法(Leveille和Fisher,1958、1959、1960;Leveille等,1960)。Ishibashi(1973)和Burnham等(1992)对成年公鸡也同样采用氮平衡试验来测定鸡的异亮氨酸维持需要量。Kim等(1997a、b、c)采用氮

平衡方法对生长鸡的氨基酸维持需要进行了测定。Hruby等(1998)对肉鸡品种采用氮平衡试验,但结果都表明不能测得赖氨酸的维持需要。

2.2 数学模型

研究表明,可以通过数学模型来获得氨基酸的维持需要量,这是比较经典的数学推测方法。Shin等(1990)应用数学模型把蛋氨酸需要划分为基于代谢体重的维持需要部分和基于体增重或氮增重的生长需要部分,计算公式:

$$I=1/a(R-BW^{0.75})$$

式中: I ——氨基酸采食量;

R ——因变量;

$BW^{0.75}$ ——每千克代谢体重的维持需要量;

$1/a$ ——每克体增重或每毫克氮增重。

许多学者都应用此数学模型对各种动物进行氨基酸需要量的测定(Yang等,1997a、b、c)。Kim等(1997)认为,此模型对测定肉鸡单一氨基酸的维持及生长需要更具有实际意义。但对母鸡的氨基酸测定具有一定难度。McDonald等(1985)运用阅读模型综合各种发表的数据提出了氨基酸维持的需要量。由于这些模型都是静态的,不能随着产蛋鸡营养需要和环境变化而改变,而且这些模型没有考虑氨基酸的消化率,并且认为食入的氨基酸用于维持和蛋白合成的效率是相同等诸多问题都限制了这些模型的应用,但这些模型的提出对研究家禽氨基酸营养需要起到了重要作用。

2.3 同位素标记法

同位素标记法测定氨基酸维持需要的原理是随着日粮中蛋白质或氨基酸含量的增加,测定L-[1- ^{14}C]苯丙氨酸氧化作用的变化情况。Ball和Bayley(1986)研究了日粮蛋白质水平的变化对仔猪苯丙氨酸氧化的影响,给仔猪饲喂含有一定浓度的完整蛋白(脱脂乳)、不同游离氨基酸浓度的日粮,或者饲喂含有一定量的游离氨基酸、不同脱脂乳含量的日粮,当猪重达到2.5kg时,除了对肝脏中放射性物质测定外,测定已消耗的 $^{14}CO_2$ 的量。结果表明,由于添加游离氨基酸而使日粮氮含量从19.2g/kg增加到38.4g/kg时,[^{14}C]苯丙氨酸的分解呈线性递减,当氮含量继续增加到49.2g/kg时,则没有影响。当通过添加干脱脂乳使日粮蛋白含量由160g/kg增加到280g/kg时也呈现苯丙氨酸降解减少的现象,但考虑到此方法存在着可操作性差、测定成本较高以及对环境有着一定的影响,以及现有的科技条件等都限制了此方法的使用。

2.4 氨基酸梯度日粮法

采用日粮配制成缺乏状态下的梯度日粮。Baker等(1996)提出了另一种测定维持氨基酸需要的方法——氨基酸梯度日粮法。即通过对肉仔鸡饲喂满足最大生长性能的缬氨酸需要量的5%~95%的不同缬氨酸水平的日粮来进行试验,然后分别用缬氨酸的沉积量对缬氨酸的食入量和蛋白质的沉积量进行回归分析,Y轴的截距值即为两种不同方法所得到的缬氨酸维持需要量。Edwards等(1997)也采用苏氨酸梯度日粮(满足最大生产性能苏氨酸需要的5%~95%),对生长鸡苏氨酸维持需要量进行了研究。目前,氨基酸梯度日粮法被认为是测定家禽氨基酸维持需要较好的方法。

2.5 析因法

贺建华等(1996)认为,用析因法估测生长动物的氨基酸需要量时,主要基于以下两个假设:①氨基酸需要量主要由维持需要和生长需要两部分组成;②不同年龄和体重的生长动物其蛋白质沉积只是数量上的增加,而组成蛋白质的氨基酸模式不发生变化,即用于生长的氨基酸需要可由沉积的蛋白质的数量和质量来估计。基于上述假设,建立肉罗鸭的氨基酸需要模式时,用于维持的氨基酸需要(MAA)按下式计算:

$$MAA=PRM \times AAm + C$$

式中:PRM=A×BW^{2/3}

PRM为用于维持的蛋白质需要;AAm为用于维持的氨基酸模式;C为肌酸和肌酐排泄造成的蛋氨酸、精氨酸和甘氨酸损失;A为蛋白质维持需要的系数;BW为体重。贺建华试验所用方法尽管可靠,但仍有争议(Simon, 1960)。尹清强(1995)曾采用析因法测定了产蛋鸡的可消化氨基酸维持需要量及模式。

2.6 剂量反应试验法

剂量反应试验也是测定氨基酸维持需要的一种方法(Fisher和Morris, 1970),采用生长性能指标作为变量对氨基酸食入量进行回归分析,Y轴的截距即为缬氨酸维持需要量。Owens等(1985)对生长鸡进行剂量反应试验,结果表明,生长鸡每千克体重的维持异亮氨酸需要量是203mg/d。

3 家禽氨基酸维持需要的研究进展

家禽必需氨基酸维持需要对研究氨基酸需要及理想蛋白模式是必需的。最初一些学者常忽略维持需要对整体需要的影响,这是不合理的,也是不科学的(Moughan, 1988)。Block等(1985)报道,仅用鸡蛋和机

体氨基酸组成提出的估测氨基酸需要的方法,忽略了氨基酸的维持需要。Leveille等(1960)研究发现,维持的氨基酸需要模式和鸡羽毛的氨基酸组成模式相关程度很高,建议应用蛋鸡羽毛氨基酸模式作为维持需要模式,但是由于羽毛中胱氨酸比例太高,尤其是对饲用玉米-豆粕型日粮的鸡来说,蛋氨酸是第一限制性氨基酸,蛋氨酸与胱氨酸的比例是非常重要的,因而用羽毛中的氨基酸组成模式来代替维持需要的氨基酸组成模式可信度是不高的,具有一定局限性。Fisher等(1983)和McDonald等(1985)均提出以成年公鸡的维持氨基酸需要模式代替产蛋母鸡维持需要模式,现有的资料也多半是对成年公鸡的试验结果,但由于公母鸡之间的生理代谢和基础代谢率存在一定的差异,因此,这种替代会导致较大的误差。Michell(1962)研究认为,雌性动物氨基酸维持需要比雄性动物低10%。

研究表明,动物的维持、生长和产蛋(肉或奶)3部分的氨基酸需要及模式各不相同(Fuller, 1989),对理想蛋白模式存在不同程度的影响。Hurwitz等(1973)认为产蛋鸡氨基酸的维持需要约占整体需要的25%;胡迪先(1985)认为产蛋鸡氨基酸的维持需要约占整体需要的15%~30%;尹清强(1995)研究认为产蛋鸡氨基酸的维持需要占整体需要的18%~25%,高于猪维持氮需要占总需要比例的4.2%。蛋鸡产蛋期氨基酸需要量和理想蛋白模式具有较高的动态性,蛋鸡产蛋水平的变化或维持需要量的改变都将不可避免地带来其产蛋需要与维持需要比例的变化,从而导致不同生产性能条件下蛋鸡理想蛋白模式的变化。因此,当前对蛋鸡维持氨基酸需要及模式的研究具有重要意义。

鸡氨基酸维持需要基本来自身体各器官、组织细胞的新陈代谢,而且在鸡蛋的卵蛋白质合成过程中,也会有非生产性氨基酸消耗,也属于维持氨基酸的部分。但由于机体各部分组织器官的蛋白量不同,即使蛋白量相同,蛋白质(或氨基酸)代谢强度也是不同的,因此,各部分组织和器官所分担的氨基酸维持需要的比例大不一样。但就目前来讲,对鸡氨基酸维持需要的估测,也是对鸡整体的、平均意义上的估测。在生长阶段,维持需要占总氨基酸需要的比例很少,但随着周龄的增加,比例也增大(Li等, 2003)。不同蛋鸡品种间体重、产蛋性能、增重变化也较大,因而对维持、产蛋、增重的氨基酸需要存在差异。

现有资料表明,对肉鸡和公鸡的氨基酸维持需要

的测定都是基于鸡体重或代谢体重的。但是,对动物来说,维持体脂的储备并不消耗氨基酸,维持需要应该表示为体蛋白增重下的需要量,因此,采用成年公鸡来测定氨基酸的维持需要在很大程度上避免了因产蛋和体脂较大变化带来的误差和测定上的困难。有学者认为,鸡氨基酸维持需要与鸡的体蛋白量(无羽毛)相关更具理论依据,而不是与鸡的体重相关,即动物维持氨基酸需要与其体蛋白量相关性更大(Baker等,1996;Edwards等,1997)。Fuller(1994)研究表明,与 Batterham 等(1990)采用的分别以整体蛋白和氨基酸沉积为基础的测定结果相比,采用氮平衡方法所得的赖氨酸维持需要是更低的,当采用零赖氨酸沉积作为反应变量时所得到的赖氨酸维持需要量比采用零蛋白沉积作为变量的需要量高 50%。

现有的氨基酸维持需要的数据多建立在总氨基酸需要量基础上,而忽略了内源氨基酸代谢对维持需要的影响,使研究结果缺乏可比性。研究表明,内源氨基酸代谢对维持氨基酸需要及模式的确定是不容忽视的。De lange 等(1995)认为,内源氮损失在畜禽维持氮需要中所占的比例最大,因此,确定可利用氨基酸维持需要及模式更具有实际意义。

有许多因素影响动物氨基酸的维持需要及整个理想蛋白模式,如遗传类型(品种)、环境和其它营养成分等。Edwards(1999)试验表明,肉鸡品种的不同导致对蛋白质沉积能力的不同,对于同性别、品种的肉鸡相对脂肪沉积率来说,蛋白沉积率越高,意味着必需氨基酸的需要也越高,这也是肉公鸡比肉母鸡氨基酸需要高的原因,即性别的不同影响肉鸡的氨基酸需要量(Han 和 Baker, 1991、1993、1994)。Baker(1995)认为,遗传基因、性别、依据的变量标准、日粮的能量浓度和统计方法等都将影响猪对赖氨酸需要量;同时,饲养密度、环境温度和疾病应激也同样影响其需要量,这些外在条件也影响着试验方法本身。

Kim 等(1997)报道,日粮营养成分、日龄、性别、生产潜力,生理状态及环境条件等因素影响蛋氨酸的生长和维持需要,进而影响家禽的最大生长性能和采食量。尹清强(1995)研究表明,随着蛋鸡日产蛋量的增加,每种必需氨基酸的维持需要占总体需要的比例却相对降低,这对于指导生产实践具有非常重要的意义。维持营养需要,无论就绝对量或就相对量而言,均非固定不变,而是随许多因素的改变而增减,如环境温度、饲养密度和疾病应激等。性别的不同也影响肉

鸡的氨基酸需要量(Baker, 1994)。

4 小结

氨基酸维持需要的研究是家禽蛋白质和氨基酸营养的重要组成部分,相对于猪来讲,家禽氨基酸维持代谢及营养需要更为重要。不同家禽或同一品种不同条件下的氨基酸维持需要的研究,对家禽氨基酸需要和理想蛋白模式的确定,节约蛋白原料和减少环境污染等方面都具有十分重要的意义。

然而,由于维持氨基酸代谢的复杂性,给家禽氨基酸维持需要方面的研究工作带来很大的困难,国内外学者对这方面的研究工作相对较少,但是,针对当前的蛋白原料市场紧俏,家禽养殖更趋于规模化,对饲料原料氨基酸消化率测定、家禽必需氨基酸维持需要及转化机体蛋白沉积的利用效率的研究是非常迫切和必需的。因此,对家禽氨基酸维持代谢的途径、营养需要及对理想蛋白模式影响的探讨和研究仍需进一步深入和开展,为当前养殖条件下的家禽氨基酸需要量的确定及理想蛋白模式的合理应用提供参考。

参考文献

- 1 Baker D H. Qualitative and quantitative evaluation of the amino acid needs of adult swine for maintenance. Ph. D. Thesis. University of Illinois, Urbana. IL, 1965
- 2 Baker D H, Yanming Han. Ideal amino acid profile for chicks during the first three weeks posthatching. Poultry Science, 1994(73):1 441~1 447
- 3 Burnham D, R. M. Gous. Isoleucine requirements of the chicken requirement for maintenance. Br. Poult. Sci., 1992(33):59~69
- 4 Fisher H, Dewey Johnson JR. The amino acid requirement of the laying hen. I. The development of a free amino acid diet for maintenance of egg production. Journal of Nutrition, 1956(60):261~273
- 5 Fisher C, T. R. Morris. The determination of the methionine requirement of the laying pullet by a diet dilution technique. British Poultry Science, 1970(11):67~82
- 6 Fuller M F, R. McWilliam, T. C. Wang, et al. The optimum dietary amino acid pattern for growing pigs. 2. Requirements for maintenance and for tissue protein accretion. Br. Poult. Sci., 1989(62):255~267
- 7 Fuller, M. F., Amino acid requirements for maintenance, body protein and accretion and reproduction in pigs. In: J. P. E., D'Mello (ed.) Amino Acids in Farm Animal Nutrition. CAB International, 1994.155~184
- 8 Hurwitz S, Y. Frisch, A. Bar. U, et al. The amino acid requirements of growing turkeys. 1. Model construction and parameter estimation. Poult. Sci., 1983(62):2 208~2 217

- 9 Ishibashi, I. Amino acid requirements for maintenance of the adult rooster. Jap. J. Zootech. Sci., 1973(44):39~49
- 10 Kim J H, W. T. Cho, C. J. Yang, et al. Partition of amino acids requirement for maintenance and growth of broilers I. Lysine. Asian-Austral. J. Anim. Sci., 1997,178~184
- 11 Kim J H, W. T. Cho, C. J. Yang, et al. Partition of amino acids requirement for maintenance and growth of broilers II. Methionine. Asian-Austral. J. Anim. Sci., 1997(10):277~283
- 12 Kim J H, W. T. Cho, I. S. Shin, et al. Partition of amino acids for maintenance and growth of broilers III. Tryptophan. Asian-Austral. J. Anim. Sci., 1997(10):284~288
- 13 Leveille G A, H. Fisher, The amino acid requirements for maintenance in the adult rooster. I. Nitrogen and energy requirements in normal and protein-depleted animals receiving whole egg protein and amino acid diets. J. Nutr., 1958(66):441~453
- 14 Leveille G A, H. Fisher, Amino acid requirements for maintenance in the adult rooster. II. The requirements for glutamic acid, histidine, lysine and arginine. J. Nutr., 1959(69):289~294
- 15 Leveille G A, H. Fisher. Amino acid requirements for maintenance in the adult rooster. III. The requirements for leucine, isoleucine, valine and threonine, with reference also to the isomers of valine, threonine, and isoleucine. J. Nutr., 1960(70):135~140
- 16 Leveille G A, R. Shapiro, H. Fisher. Amino acid requirements for maintenance in the adult rooster. IV. The requirements for methionine, cystine, phenylalanine, tyrosine and tryptophan; the adequacy of the determined requirements. J. Nutr., 1960(72):8~15
- 17 Leveille G A, R. Shapiro, H. Fisher. Amino acid requirements for maintenance in the adult rooster. IV. The requirements for methionine, cystine, phenylalanine, tyrosine and tryptophan; the adequacy of the determined requirements. J. Nutr., 1960(72):8~15
- 18 Li G H, M. R. Qu, N. H. Zhu, et al. Determination of the amino acid requirements and optimum dietary amino acid pattern for growing Chinese Taihe silky fowls in early stage. Asian-Austral. J. Anim. Sci., 2003(12):1 782~1 788
- 19 McDonald M W, T. R. Morris. Quantitative review of optimum amino acid intakes for young laying pullets. Br. Poult. Sci., 1985 (26):253~264
- 20 Moughan P J. Simulating the partitioning of dietary amino acids: New directions. J. Anim. Sci., 2002(81):60~67
- 21 Nyachoti C M, C. F. M., De Lange, et al. Significance of endogenous gut nitrogen losses in the nutrition of growing pigs: a review. Canadian Journal of Animal Science, 1997(77):149~163
- 22 Owens F N, J. E. Pettigrew, S. G. Cornelius, et al. Amino acid requirements for growth and maintenance of rats and chicks. J. Anim. Sci., 1985,61(1):312
- 23 Skin I S. Subdividing amino acid requirements for maintenance from requirement for growth. Doctoral thesis. Oklahoma State University. Stillwater, Oklahoma. 1990
- 24 Smith W K. The amino acid requirements of laying hens: models for calculation. 1. physiological background. World's Poult. Sci. J., 1978(34):81~96
- 25 Yang C J, D. W. Lee, I. B. Chung, et al. Developing model equation to subdivide threonine requirements into requirements for growth and maintenance in pigs. Asian-Austral. J. Anim. Sci., 1997(10):122~133
- 26 Yang C J, D. W. Lee., I. B. Chung, et al. Developing model equation to subdivide methionine+cystine requirements into requirements for growth and maintenance in pigs. Asian-Austral. J. Anim. Sci., 1997(10):86~97
- 27 Yang C J, D. W. Lee, I. B. Chung, et al. Developing model equation to subdivide lysine requirements into requirements for growth and maintenance in pigs. Asian-Austral. J. Anim. Sci., 1997(10):54~63
- 28 贺建华,王康宁,陈可容,等. 肉鸭氨基酸需要量的研究[J]. 畜牧兽医学报, 1996(2):105~123
- 29 胡迪先译. 产蛋母鸡日粮的蛋白质和氨基酸标准[J]. 国外畜牧学-猪与禽, 1985(2):5
- 30 尹清强. 产蛋鸡必需氨基酸需要量的测定及其模式和模型的建立[D]. 东北农业大学, 1995

(编辑:高 雁, snowyan78@tom.com)

·作者简介·

计成,男,出生于1956年4月,动物营养博士,留德博士后,教授,博士生导师。现任中国农业大学教代会副主席,动物科技学院工会主席,动物营养系主任,民主促进会农大支部副主委,兼任中国畜牧兽医学会动物营养学分会常务理事,中国饲料工业协会理事,中国畜牧兽医学会微生态学会理事,《中国畜牧杂志》常务副主编等。1997年入选国家人事部“百千万”人才工程和农业部“神农计划”,1998年度获国务院突出贡献科学家特殊津贴,2000年2月作为归国留学生代表受到江泽民主席的接见,2000年获评中国民主促进会优秀成员,2001年被授予“北京市科技经济创新标兵”。入选学校“新世纪人才工程”第二层人才。

从事动物营养学与饲料科学领域的教学和科研工作。主要研究方向为单胃动物蛋白质、氨基酸和寡肽营养;畜禽产品品质营养调控;绿色无公害饲料添加剂开发等。先后主持完成国家自然科学基金等纵向课题20余项。科研成果先后获得国家科技进步二等奖1次,北京市科技进步一等奖1次,农业部科技进步三等奖1次,北京市科技进步三等奖1次;“蛋鸡全阶段可利用氨基酸需要及理想蛋白模式”获2005年北京市科学技术二等奖。

饲料酸化剂的作用机理及其应用前景

李 鹏 齐广海

pH 值是动物体内消化环境的重要因素之一。动物胃中 pH 值为 2.0~2.5、小肠内 pH 值为 5~7,这个酸性环境是饲料组分在体内被充分消化吸收、有益菌群合理生长、病原微生物受到有效抑制的必要条件,保证这些条件即可达到提高动物生长性能和饲料利用率、增强机体抗病能力的目的。

然而幼龄动物消化系统的发育尚未完善,胃酸分泌不足,消化酶活性低下,胃肠道 pH 值高于酶活性和有益微生物生长的适宜范围。饲料酸化剂作为一种可以降低消化道中 pH 值的物质为动物提供最适消化道环境,以满足营养及防病需要的新型生长促进剂而在畜禽饲料中得到应用。如今,酸化剂已成为继抗生素之后与益生菌、酶制剂等并列的重要添加剂,虽然短期内取消抗生素及抗菌药物在配合饲料中的使用尚不可能,但以酸化剂代替部分药物类添加剂是大有可为的。

1 常用酸化剂的种类及特性

1.1 单一型有机酸化剂

有机酸化剂主要有柠檬酸、延胡索酸、乳酸、甲酸、丙酸等。不同的有机酸各有其特点,但国内使用最广泛的而且效果最好的是柠檬酸和延胡索酸。

柠檬酸最初是从柠檬中提取的,故此得名,现在工业上所用的柠檬酸都是黑曲霉发酵生产的。柠檬酸为一种无色晶体,易溶于水及乙醇,具有良好的热稳定性和与金属离子的配位性。延胡索酸为白色结晶粉末,对氧化和温度的变化反应稳定。

在以往的生产实践中,人们往往偏好于使用有机酸,主要是因为有机酸具有良好的风味,并可以直接进入体内三羧酸循环。但是,有机酸可能会腐蚀饲料厂或养殖场的设备,而且价格较贵,添加比例过高还会影响适口性或导致维生素的损失。近年来,人们又开始研究中性有机盐的酸化作用,而且取得了一定进展。

1.2 单一型无机酸化剂

无机酸化剂主要包括硫酸、盐酸和磷酸等。硫酸和盐酸都是强酸,对机体组织有很强的刺激性和腐蚀性。在青贮料中添加硫酸或盐酸的稀释液后,可使青贮料迅速下沉,有利于青贮料的压实,同时杀死细菌,抑制杂菌,增加乳酸含量,降低 pH 值。但添加硫酸或盐酸会影响动物体内的矿物质代谢,产生钙的负平衡现象,对动物骨骼发育造成影响。强酸的强腐蚀性对饲养动物、设备及工人身体都带来很大的危害,现在这两种无机酸基本已被淘汰。

饲料中添加磷酸可以使饲料的 pH 值很快下降。磷酸的腐蚀性比硫酸和盐酸小,对动物、设备和人体都比较安全。但过量地使用磷酸同样会引起饲料中钙和磷比例失衡,部分磷酸没有被充分利用就排出体外,造成环境污染。

1.3 全酸复合型酸化剂

全酸复合型酸化剂一般指那些以某一种酸作为主要有效成分,再配合其它的一种或几种酸来达到协同作用的复合型酸化剂。全酸复合型酸化剂由具有更广的抑菌和调菌区系,任何一种酸对有害菌群的抑制和对有益菌种的激活都需要在一定的 pH 值下进行,由几种可在不同 pH 值范围起作用的酸复配在一起,从而拓宽了抑菌和调菌的区系。复合型酸化剂在饲料中添加量比单一型的要小,作用效果更显著,在动物体内残留更少。

虽然全酸复合型酸化剂在加工技术和作用性能方面要比单一型的提高很多,但随着饲料行业和养殖业的进一步发展,这种全部由酸复配而成的酸化剂已在多方面不能满足行业的需求,因为全酸复合型酸化剂主要以酸的形式存在,产品的缓冲能力低下,易造成胃肠道中的酸度不稳定。当饲料刚进入胃内时,由于酸化剂含量相对较高,使得胃内 pH 值相应较低,当通过一段时间的消化后,酸化剂浓度下降,胃内 pH 值又恢复到原来较高的水平,难以持续保持一个理想的消化环境。

1.4 酸盐复合型酸化剂

酸盐复合型酸化剂是由有机酸及有机酸盐复配而成的一种饲料酸化剂。这种新一代复合型饲料酸化剂,在配方技术上更趋于科学合理,作用功能上克服

李鹏,中国农业科学院饲料研究所,在读硕士,100081,北京市海淀区中关村南大街 12 号。

齐广海,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2006-02-20

了全酸复合型酸化剂的不足,产品作用更全面,功能更优越。

酸盐复合型酸化剂有较高的缓冲能力,避免动物胃肠道酸度产生过大波动。通过有机酸盐的形式把部分有机酸暂时转化为有机酸盐,从而避免由于酸化剂刚进入胃肠时因浓度过高导致 pH 值下降程度过大;另一方面,当动物通过一段时间的消化后,胃肠酸化剂浓度相对下降,pH 值回升时,有机酸盐通过水解方式又转化成有机酸,使得胃肠内能长时间保持一个稳定的酸性消化环境。

2 饲料酸化剂的作用机理

2.1 降低饲料 pH 值,使胃内 pH 值下降,提高消化酶的活性

Weerden 等在饲料中添加 1.5%的甲酸钙使饲料 pH 值降低了 0.5,添加 1%甲酸钙和 0.5%丙酸使饲料 pH 值下降 0.7;Burnell 研究表明,当饲料中添加 1%和 1.5%的柠檬酸时,pH 值降低 0.18 和 0.34;Risley 等在仔猪日粮中添加 1.5%的柠檬酸和 1.5%的延胡索酸,日粮 pH 值由 6.42 分别降低到 4.92 和 4.70,胃内容物 pH 值由 4.07 分别降到 3.82 和 3.87。可见,酸化剂能够在一定程度上降低胃内容物的 pH 值。

每一种酶都有其适宜的 pH 值环境,胃蛋白酶的适宜 pH 值为 2.0~3.5。当 pH 值大于 3.6 时,活性显著降低;当 pH 值大于 6.0 时,胃蛋白酶失活。动物饲料中添加酸可使胃内 pH 值下降,从而激活胃蛋白酶,促进蛋白质分解,而蛋白质的分解又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。

早期断奶仔猪,胃酸分泌不足,而仔猪饲料的 pH 值又多在 5.8~6.5 之间,常使仔猪胃内的 pH 值高于胃蛋白酶的适宜活性范围,影响仔猪对饲料的消化吸收。在仔猪饲料中添加有机酸,可以改善仔猪的生长性能。Kirchessner 的试验结果统计表明,使用 1.5%~2.0%的延胡索酸可提高仔猪平均日增重 9%,采食量提高 5.2%,饲料利用率提高 4.4%。Giesting 等研究了断奶仔猪日粮中添加盐酸和硫酸的效果,结果导致试验仔猪采食量骤减,日增重和饲料利用率严重下降,这可能是无机酸影响了饲料的适口性和电解质平衡。

2.2 减慢胃排空的速度,促进消化

胃排空速度的刺激因素是胃内容物的体积和 pH 值。酸性食糜进入小肠后刺激小肠粘膜,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。

2.3 改善胃肠道微生物区系

几种病原微生物生长的适宜 pH 值都是中性偏碱,如大肠杆菌适宜 pH 值为 6.0~8.0、链球菌为 6.0~7.5、葡萄球菌为 6.8~7.5,而乳酸菌等有益菌适宜在酸性环境中生长增殖。因此,酸化剂通过降低胃肠道 pH 值可抑制有害微生物繁殖,促进有益菌增殖。Danielson 等报道了乳酸菌代谢产物——乳酸能够阻碍大肠杆菌在肠道内与其受体结合,抑制大肠杆菌生长。

断奶仔猪由于胃酸分泌不足,胃肠道内 pH 值升高,为大肠杆菌的大量繁殖提供了适宜的环境,而大肠杆菌正是引起腹泻的主要病菌。Mathew 等指出,仔猪断奶后 2d 内,回肠内乳酸菌几乎降为零,回肠内 pH 值升高,大肠杆菌大量繁殖,仔猪出现腹泻,而在仔猪饲料中添加酸化剂可以明显降低腹泻发生的次数。

国外还有研究表明,有机酸进入肠道可以改变肠道形态,如可以使断奶仔猪小肠隐窝深度变浅,绒毛高度增加。

2.4 促进矿物质和维生素的吸收

一些常量和微量元素在碱性环境中易形成不溶性的盐而极难吸收。酸化剂在降低胃肠道内容物 pH 值的同时,还能与一些矿物元素形成易被吸收利用的络合物。许多学者都证实了高铜与酸化剂的添加效果具有相加效应,即延胡索酸、柠檬酸或磷酸与铜形成生物效价高的络合物,促进了铜的吸收和保留,同时降低了铜的氧化催化活性。

有些有机酸如延胡索酸具有抗氧化作用,柠檬酸为抗氧化剂的增效剂。在预混料中添加延胡索酸并保存 6 个月,VA 和 VC 的稳定性比不添加延胡索酸的都有所提高。同时小肠的酸性环境有利于 VA 和 VD 的吸收。

2.5 直接参与体内能量代谢,作为能量来源

有些有机酸是能量转换过程中的重要中间产物,可直接参与代谢。如三羧酸循环反应就是由乙酰 CoA 与草酰乙酸缩合成柠檬酸开始的;延胡索酸也是三羧酸循环的中间产物;乳酸也参与体内代谢,是糖酵解的终产物之一,并通过糖异生释放能量,故有机酸可作为能量来源。

2.6 提高营养物质消化率

Kirchessner 报道,仔猪饲料中加入延胡索酸后,干物质、能量和蛋白质的消化率各提高 1.7%、2.2%和

2.5%,蛋白质沉积增加 4.1%。在 Eckel 等的报道中,甲酸显著提高了日粮氮的消化率。但也有与上述相反的研究结果,Fclkowski 及侯永清等报道,饲料中添加有机酸不能改善干物质和氮的消化率。Giesting 等研究表明,在饲料中补充延胡索酸不能提高断奶仔猪回肠末端氮的表现消化率。可见,添加酸化剂能否提高营养物质的消化率还有待进一步研究论证。

3 影响酸化剂使用效果的因素

3.1 日龄和体重

酸化剂应用的首要前提是胃肠道酸度不够。猪胃中 pH 值随年龄增长而下降,到 10~12 周龄趋于稳定。研究表明,2~3 周龄仔猪和仔猪断奶后 1~2 周使用酸化剂效果较好,断奶后 4 周因仔猪可以分泌足量的胃酸和消化酶的活性提高而使酸化剂的效果不显著。一般添加酸化剂的研究都在 7~32 日龄的仔猪中进行。

Gromevell 发现,仔猪从出生到 5~6 周龄的胃酸产生量与体重呈线性相关。Provimi 研究认为,添加酸化剂的有效时间一般是在断奶前至 25~30kg 体重之间。

3.2 饲料蛋白质来源

饲料中不同的蛋白质来源要求胃肠道中有不同的酸度条件,才能获得最佳的消化效果。例如,奶产品要求 pH 值为 4.0,大豆粕和鱼粉则要求 pH 值为 2.5。

Giesting 在研究加酸日粮中蛋白质的消化率时,发现豆饼粉日粮中蛋白质的消化率有改进,而以脱脂奶为基础的日粮中则未改变。Bunell 等在每千克玉米-大豆型和玉米-大豆-乳清型两种日粮中各添加柠檬酸 10g,仔猪增重分别提高 9.3%和 4.2%,表明酸化剂添加在以植物蛋白为主的日粮中,效果要优于添加到奶蛋白为主的日粮中。其主要原因可能是含奶制品的日粮中乳糖可被乳酸菌发酵成为乳酸,减少了胃肠道对酸的需要。

3.3 饲料原料的缓冲力

饲料原料的缓冲能力是影响胃内游离酸量的主要因素。缓冲能力越大,能吸附胃内的游离酸就越多,这使得采食后胃内的游离酸减少,胃内 pH 值升高,进而影响胃蛋白酶的活性和蛋白质的消化分解。一般来说,蛋白质、钙、磷和微量矿物质的含量越高,饲料的缓冲能力越高。因此,开发具有低缓冲能力而又能提供有效营养的矿物质资源很有必要。

3.4 酸化剂的种类及使用量

当前为世界所公认的有肯定效果的酸化剂主要有柠檬酸、延胡索酸和甲酸钙,而丙酸、丁酸、苹果酸、

盐酸和硫酸等经过大量实验证明效果不明显甚至是有负效应的。从日增重和饲料利用率来看,3 种有正效应的酸化剂效果依次是:柠檬酸>延胡索酸>甲酸钙,复合酸化剂的效果优于单一酸化剂。

不同酸化剂的使用效果及适宜用量也不同。一般认为,适量的酸化剂才能发挥正效应。酸剂量不足,达不到应有的降低消化道 pH 值的效果;酸添加量过高,可能影响饲料的适口性。一般来说,饲料酸化剂的添加量范围为 0.5%~3.0%。另外,如何确定不同年龄阶段中采食饲料的 pH 值适宜范围也需要进一步研究。

3.5 酸化剂与抗生素及铜的协同效应

Burnell 等指出,同时使用 1.25%柠檬酸和 40mg/kg 泰乐菌素,日增重和饲料利用率最高。Cromwell 报道,对 28 日龄断奶仔猪生长性能的效果比较:酸化剂+抗生素+铜>抗生素+铜>抗生素+酸化剂。添加酸化剂可以促进抗生素的吸收,增强抗菌效果。酸化剂也可以和铜形成容易被吸收和利用的络合物,促进铜的吸收和利用。

4 当前酸化剂使用中存在的问题及其应用前景

4.1 存在的问题

①添加量大,成本高;②添加的酸容易被碱中和,失去酸化作用;③在胃中吸收过快,反射性抑制胃酸分泌,影响胃功能的正常发育;④添加的酸无法到达小肠,不能有效降低小肠中的 pH 值,无法达到抑制有害微生物生长、促进有益菌生长的目的;⑤容易发生稀结块或造成饲料受潮。因此,开发新一代酸化剂产品势在必行。

4.2 应用前景

4.2.1 替代抗生素的作用

当前病原菌的耐药性问题已受到广泛关注,其中大肠杆菌的耐药菌株大量存在,使用抗生素治疗此类大肠杆菌感染的效果并不理想,而酸化剂作为一种无残留、无抗药性、无毒害的环保型添加剂正越来越被人们重视。大量试验研究表明,在饲料中添加酸化剂可以起到调节动物胃肠道 pH 值,改善消化道微生物区系,抑制大肠杆菌等有害微生物繁殖,促进乳酸菌等有益微生物增殖的作用。因此,用酸化剂部分代替抗生素是有理论和实践依据的。尤其对于仔猪,往往是通过母猪的粪便而感染大肠杆菌,引起腹泻等症状的。通过给母猪饲喂酸化饲料,可以控制其肠道内的微生物菌群平衡,使母猪粪便中的大肠杆菌数量明显下降,从而减少了仔猪被大肠杆菌感染的机会,降低

了仔猪的腹泻率,还可以提高其生长性能。

Hyden 报道,在肉鸡饲料中添加酸化剂,通过对肠道微生物菌群的调控,抑制了有害微生物的繁殖,促进了双歧杆菌、乳酸菌等微生物的增殖,达到了预防疾病的目的。

4.2.2 抗应激作用

郭芳彬报道,延胡索酸可提供动物应激时所需能量。延胡索酸本身具有镇静作用,会抑制神经中枢,减少机体活动,较好的缓减热应激反应。

在工厂化养猪业中,早期断奶、分群、运输、接种等因素均会导致猪抵抗力下降,发生由应激反应引起的生产力变化,产品品质下降,发病率和死亡率增加。全苏非传染病研究所从仔猪补料的 7~10 日龄开始投喂延胡索酸 10d,可使食欲提高,生长加快;用延胡索酸预防仔猪运输应激,连喂 16d,结果运输应激引起血糖浓度下降 36.9%、乳酸和丙酮酸降低 8.4%,运输后 15d 试验组和对照组不同的是,前者血糖代谢恢复正常。

延胡索酸是广泛应用于工业化养禽中的一种应激保护剂。在全苏非传染病研究所对家禽分群应激所产生的不良影响的试验研究中,试验组雏鸡在分群前 10d 和分群后 20d 内按每千克体重 100mg 投喂延胡索酸,在 15d 适应期内对照组死亡率为 4%,日增重提高 6.4%;试验组死亡率为 1%,日增重提高 13%。

4.2.3 研制特殊的载体或包被技术,增强酸化剂缓释功能

由于酸化剂在胃中吸收很快,其酸度常常无法到达小肠,无法在小肠继续发挥作用,这也是有时候在仔猪饲料中添加酸化剂后还是会发生腹泻的一个重要原因。当前国际上推出的新型酸化剂采用微胶囊型制剂或脂质保护外膜来解决这个问题。经保护处理的酸化剂在消化道中逐渐溶解,释放出来,可以使酸化范围有效地扩展到小肠部位,所以只要很低剂量就可以具有与较大剂量未经包被处理的酸化剂相同的效果。

综上所述,饲料酸化剂不仅可以降低胃肠道 pH 值,增强胃蛋白酶的活性,促进蛋白质消化吸收,而且可以改善胃肠道微生物区系,抑制有害微生物繁殖,促进有益菌增殖,替代部分抗生素的功能。在关注食品安全、关注人类健康的今天,由于酸化剂具有无抗药性、无残留、无毒害等特点,在饲料养殖业中的应用前景将十分广阔。同时,也有诸如酸化剂的某些作用

机理等问题没有彻底研究清楚,仍然需要进行大量的试验研究。

参考文献

- 1 张艳云,陆克文.饲料添加剂[M].北京:农业出版社,1998.128~129
- 2 侯永清,吕于明.酸化剂在断奶仔猪日粮中的应用研究进展[J].中国饲料,1997(13):14
- 3 林映才,陈建新,蒋宗勇,等.复合酸化剂对早期断奶仔猪生产性能、血清生化指标、肠道形态和微生物区系的影响[J].养猪,2001(1):13~16
- 4 张振斌,蒋宗勇,林映才,等.超早期断奶应激对仔猪胃肠道内容物 pH 值和微生物区系的影响[J].养猪,1998(3):14~15
- 5 杨建策.绿色饲料的生产及应用[J].畜禽业,2000,7(12):159~160
- 6 马启军,贺东昌,曹日亮.酸化剂对仔猪生产性能转向的研究[J].当代畜牧,2000(4):41~42
- 7 冯留连,谷建勇.不同酸化剂对仔猪生产性能的影响[J].中国饲料,2002(13):14
- 8 王宵燕,杨明君,经荣斌.有机酸在畜禽生产中的应用[J].饲料研究,2002(7):22~24
- 9 Kirchgesner M, Roth F X. Fumaric acid as feed additive in pig nutrition. Pig News and Information, 1982(3):259~263
- 10 Falkowski J F, F.x. Aherne. Fumaric and citric acid as feed additives in starter pig nutrition. J.Animi.sci., 1984,58(4):935~938
- 11 Schoenherr W D. Phosphoric acid-based acidifiers explored for starter diets. Feedstuffs, 1999,26(66):14~40
- 12 McCartney E. Feed hygiene and acidifiers. Feed International, 2001(2):20~22

(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)

1,4—二氧喹喔啉—2—甲醛席夫碱的合成与促鸡生长活性研究

马敬中 占升卫 胡超男

摘要 用水杨醛、1,4—二氧喹喔啉—2—甲醛与邻苯二胺反应制备了二种单席夫碱中间体,用 2 种中间体、8 种取代芳香胺与 1,4—二氧喹喔啉—2—甲醛反应合成了 10 种新席夫碱。用元素分析法、MS 法(质谱法)、IR 法(红外吸收光谱分析法)和 ^1H NMR 法(核磁共振氢谱法)对这些新席夫碱的结构进行了表征。用这些新席夫碱对鸡进行了促生长活性实验,实验结果显示了苯胺、对—氯苯胺和对—乙酰胺基苯胺的席夫碱有明显促进鸡生长的作用,相对增重率在 30% 以上。

关键词 1,4—二氧喹喔啉—2—甲醛席夫碱;合成;结构表征;促鸡生长活性

中图分类号 S816.73

Study on synthesis and promoting chicken growth activity of

1,4—dioxoquinoline—2—formaldehyde schiff bases

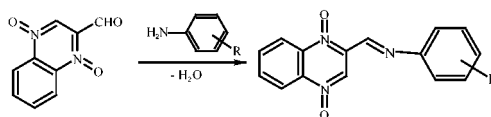
Ma Jingzhong, Zhan Shengwei, Hu Chaonan

Abstract 2 intermediates were prepared by the reaction of salicylaldehyde and 1,4—dioxo—quinoline formaldehyde with 2—aminophenylamine. 10 novel schiff bases of 1,4—dioxo—quinoline formaldehyde also synthesized through reaction of the intermediates, substituted anilines with the 1,4—dioxoquinoline formaldehyde. The structure of schiff bases were characterized by IR, MS, ^1H NMR and elemental analysis. The activity of promoting chicken growth of the title compounds were probed. The result shows that the activity of 3 schiff's bases are obvious: aniline's, p—chloroaniline's and N—(4—aminophenyl)acetamide's above 30% to comparing chicken.

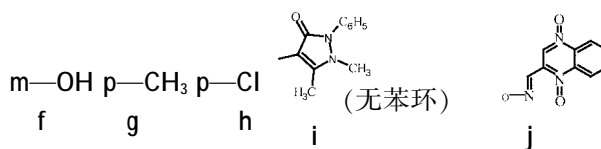
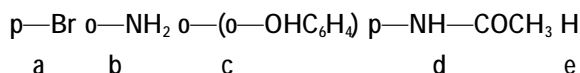
Key Words 1,4—dioxoquinoline-2-formaldehyde schiff base; synthesis; structure characterized; promoting chicken growth activity

1,4—二氧喹喔啉类衍生物具有低毒副作用和较明显抑菌活性^[1,2],所以被广泛作为兽药^[3]和医药^[4]进行研究。文献中所报道的化合物主要是 1,4—二氧喹喔啉甲酸的衍生物如酯和酰胺类化合物,但其醛的衍生物,如席夫碱类化合物的合成研究工作极少见报道,我们曾经发现 1,4—二氧喹喔啉—2—甲醛(简称二氮氧喹喔啉甲醛)酰胺具有促进鸡生长的活性^[5]。本文设计合成 10 种 1,4—二氧喹喔啉—2—甲醛新席夫碱,研究了它们的促鸡生长活性,为寻找新的药物饲料添加剂提供科学依据。

二氮氧喹喔啉甲醛席夫碱合成反应如下:



各席夫碱苯环上取代的 R 基团与位置如下:



1 实验材料与方法

1.1 仪器与试剂

1.1.1 仪器

Bruker ARX—500 HNMR 谱仪(溶剂为 $\text{F}_3\text{CCO}_2\text{D}$, DSS 为内标)、Elementar Vario 直型元素分析仪、 X_4 数字显微熔点仪、日本岛津 IR—453 红外光谱仪(溴化钾压片法)、美国 Varian 公司 MS Saturn 2000 型质谱仪。

马敬中,华中农业大学理学院,副教授,430070,湖北武汉。

占升卫、胡超男,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2006-02-21

★ 湖北省科学技术委员会资助重大攻关课题子课题:饲料添加剂的研制

1.1.2 试剂

水杨醛、苯胺、邻苯二胺、对氯苯胺、间羟基苯胺、对乙酰氨基苯胺、对甲基苯胺、4-氨基安替比林、95%的乙醇、DMSO(二甲基亚硝胺)、0.5 mol/l 的稀盐酸。以上试剂均为分析纯试剂。

1.2 合成方法

1.2.1 中间体的合成

水杨醛—邻苯二胺单席夫碱的合成:取水杨醛 3.5ml(约 0.03mol)加入 100ml 烧杯中,加入 95%乙醇 10ml 稀释备用;称取邻苯二胺 4.5g(约 0.04mol)溶于 20ml 乙醇备用;混合两溶液,置电磁搅拌仪上室温搅拌约 10min,有大量沉淀析出,减压过滤;固体用 95%乙醇洗涤,80℃烘箱烘干得产品 4.3g,产率 78%(以水杨醛计)。

二氮氧喹啉甲醛—邻苯二胺单席夫碱的合成:称取邻苯二胺 3.2g(约 0.03mol)溶于盛有 20ml 乙醇的 200ml 烧杯中,在烧杯中加入 0.5mol/l 的二氮氧喹啉甲醛的 DMSO 溶液 60ml(约 0.03mol),置电磁搅拌仪上室温搅拌约 30min,缓慢有沉淀析出,减压过滤,固体物质用 95%的乙醇洗涤,80℃烘箱烘干得产品 7.2g,产率 85.5%(以二氮氧喹啉甲醛计)。

1.2.2 目标化合物的合成

1.2.2.1 二氮氧喹啉甲醛—对溴苯胺席夫碱的合成

取对溴苯胺 5.5g(约 0.032mol)放在 100ml 烧杯中,再加入 95%的乙醇 20ml。将烧杯置于电磁搅拌器上,开动搅拌器,待对溴苯胺溶解后加入 0.5mol/l 的二氮氧喹啉甲醛的 DMSO 溶液 60ml(约 0.03mol),电磁搅拌 10min,有黄色沉淀析出。停止搅拌,减压过滤,滤渣用 95%乙醇淋洗,至洗出液无色为止。120℃烘箱烘干得粗产品,在 DMSO 中重结晶(120℃)两次,得纯品。

1.2.2.2 二氮氧喹啉甲醛的其它单席夫碱的合成

合成方法同对溴苯胺席夫碱的合成方法,各取约 0.04mol 苯胺、对氯苯胺、间羟基苯胺、对乙酰氨基苯胺、邻苯二胺、对甲基苯胺、4-氨基安替比林,分别溶解于 50~100ml 乙醇中。在电磁搅拌器搅拌下缓缓加入 0.5mol/l 的二氮氧喹啉甲醛的 DMSO 溶液 60ml(约 0.03mol),搅拌 10~20min 有沉淀生成(与苯胺的反应需要 2~3h),继续搅拌 10min 左右,减压过滤。滤渣用 95%乙醇淋洗,至洗出液无色为止。固体在 120℃烘箱烘干得粗产品,DMSO 中(120℃)重结晶得相应各种席夫碱的纯品。

1.2.2.3 二氮氧喹啉甲醛—水杨醛—邻苯二胺双席夫碱的合成

在 100ml 的烧杯中加入水杨醛—邻苯二胺单席夫碱 4.1g(约 0.02mol),加入 20ml DMSO 溶液和 95%的乙醇 10ml。将烧杯置于电磁搅拌器上,开动搅拌器,待固体溶解后加入 0.5mol/l 的二氮氧喹啉甲醛的 DMSO 溶液 40ml(约含二氮氧喹啉甲醛 0.02mol)。继续搅拌 30min,停止搅拌,将烧杯置于干燥器中过夜沉淀。过滤沉淀物用 95%乙醇洗至洗出液无色为止。固体在 120℃烘箱中烘干得粗产品,DMSO 中(120℃)重结晶得二氮氧喹啉甲醛—水杨醛—邻苯二胺双席夫碱的纯品。

1.2.2.4 二(二氮氧喹啉甲醛)—邻苯二胺双席夫碱的合成

用二氮氧喹啉甲醛—邻苯二胺单席夫碱与二氮氧喹啉甲醛反应合成,合成方法同邻苯二胺—水杨醛—二氮氧喹啉甲醛双席夫碱的合成方法。

2 结果与讨论

2.1 新化合物的物理性质与结构表征

新化合物 a~j 的物理性质与结构参数见表 1,元素分析、红外光谱、质谱和核磁共振分析结果说明了

表 1 物理性质和元素分析数据

化合物	产率(%)	颜色	熔点(℃)	最大质荷比(M/Z)	基峰(M/z)	元素分析(%)		
						C	H	N
a	81.3	淡黄	232~233	345	160	52.35 (52.24)	2.93(2.92)	12.21(12.17)
b	85.5	红褐	257~258	280	143	64.28(64.21)	4.32(4.31)	19.99(19.94)
c	80.1	金黄	293~294	385	120	68.74(68.56)	4.20(4.19)	14.58(14.54)
d	79.0	米黄	218~219	266	140	67.92(67.80)	4.18(4.18)	15.84(15.78)
e	83.2	黄色	243~244	282	160	64.05(63.97)	3.94(3.93)	14.94(14.89)
f	89.1	黄色	297~298	322	184	63.35(63.26)	4.38(4.37)	17.38(17.34)
g	86.3	浅黄	187~188	290	144	68.81(68.72)	4.69(4.68)	15.05(15.00)
h	85.5	鲜黄	232~233	300	143	60.11(60.03)	3.37(3.36)	14.02(13.98)
i	88.4	鲜黄	244~245	376	160	63.99(63.87)	4.57(4.56)	18.66(18.62)
j	79.5	深黄	331~332	453	158	63.71(63.68)	3.56(3.57)	18.58(18.52)

注:括号中数据是元素实验测试值,元素分析的百分含量指质量百分比。

合成的新衍生物结构与设计的结构一致。

2.2 影响反应的因素

二氧喹啉醛—苯胺类席夫碱属于 C=N 双键两端都具有芳香环的席夫碱,其结构是相当稳定的。其合成反应在室温时就能发生,反应物芳香胺分子电子效应与空间位阻是影响反应的两个重要因素。

对—溴、对—氯苯胺分子中氨基对位卤原子的存在增强了氨基的亲核性,使反应在室温下 10min 内完成。另外,卤原子的存在使其产品的溶解度减小,产品能较快沉淀也是有利因素之一。相比之下二氧喹啉醛—苯胺席夫碱的生成要慢得多(2~3h 时才沉淀),这是苯胺的亲核性较小和其产品溶解度较大之故。

而具有明显推电子作用的对位取代基:甲基、乙酰氨基的苯胺席夫碱生成在 4~5min 内就可以完成。

间羟基对苯胺分子中的氨基亲核性基本没有影响,所以间羟基苯胺生成席夫碱的时间与苯胺生成席

夫碱的时间差不多。

4—氨基安替比林是一个大体积和大共轭体系的分子,虽然分子中有吸电子的 C=O 双键,但仍然能很快与二氧喹啉醛反应生成席夫碱沉淀,归结于生成的席夫碱具有更大的体积与更大的共轭体系之故。

邻苯二胺与水杨醛、二氧喹啉醛反应时因为 2 个氨基互为邻位而产生位阻效应,反应在 10~30min 才沉淀。在邻苯二胺—水杨醛单席夫碱与二氧喹啉醛反应时,一个氨基变成了邻—羟苯甲胺基,位阻更大,所以一般在 10h 以上才会与二氧喹啉醛反应析出沉淀。邻苯二胺—二(二氧喹啉醛)双席夫碱的合成也是因为位阻效应而使反应速度大大降低。

本文合成的各种新衍生物都能够在室温下生成,以沉淀析出,而且容易分离。合成的以上各种席夫碱在室温下贮存 3 个月后测熔点未见明显变化,说明它

表 2 新化合物的 IR 和 ¹HNMR 数据

化合物	IR	¹ HNMR (δ)
a 1645(CH=N-R), 1582(C-N-O), 813(苯环对位取代), 695(苯环邻位取代)		7.30~7.50(4H, m), 8.20~8.24 (2H,m), 8.75~8.87 (2H,m), 8.88 (1H ,s) , 9.82 (1H,s)
b 3459(NH), 1653(CH=N-R), 1580(C-N-O), 695(苯环邻位取代)		6.50~7.10(4H,m), 8.20~8.24 (2H,m), 8.75~8.87
c 3537(OH), 1668(CH=N-R), 1587(C-N-O), 705(苯环邻位取代)		(2H ,m), 8.88 (1H ,s), 9.82 (1H,s) 6.60~7.30(8H,m), 8.20~8.24
d 1668(CH=N-R), 1575(C-N-O), 682(苯环邻位取代), 747(苯环—取代)		(2H,m), 8.75~8.87 (2H,m), 8.88 (1H ,s), 9.82 (1H,s)
e 3599(OH), 1644(CH=N-R), 1573(C-N-O), 695(苯环邻位取代), 828(苯环间位取代)		6.60(2H,d), 7. 0(2H,d), 8.20~8.24(2H,m), 8.75~8.87 (2H ,m), 8.88 (1H ,s), 9.82 (1H,s)
f 3557(NH), 1651(CH=N-R), 1585(C-N-O), 687(苯环邻位取代), 759(苯环对位取代)		1.63 (3 H, s,CH3), 2.62 (3 H, s,CH3), 7.10 (1H,m), 7.25 (2H,m), 7.45 (2H,m), 8.20~8.24 (2H,m), 8.20~8.24 (2H,m),
g 2917(CH3), 1637(CH=N-R), 1598(C-N-O), 717(苯环邻位取代), 771(苯环对位取代)		8.75~8.87 (2H ,m), 8.88 (1H ,s), 9.82 (1H,s) 6.55~6.60 (4 H,m,), 8.20~8.24 (4H,m), 8.75~8.87 (4H,m), 8.88
h 1672(CH=N-R), 1591(C-N-O), 719(苯环邻位取代), 807(苯环对位取代)		(2H ,s), 9.82 (2H,s)
i 1689(C=O), 1641(CH=N-R), 1647 cm ⁻¹ (N-N), 1593(C-N-O), 695(苯环邻位取代), 766(苯环—取代)		
j 1651 (CH=N-R), 1577 (C-N-O), 687 (苯环邻位取代), 790 (苯环邻位取代)		

们的理化性质比较稳定。

3 新化合物促鸡生长活性实验

3.1 实验方法

将 20 日龄湖南桃源麻黄鸡的健康小鸡 300 只随机分为 10 组,每组 3 个重复,每个重复 10 只,称重后分笼饲养。参考喹乙醇用法的有关文献^[9],以新化合物质量分数为 1%的预混饲料为添加剂,与豆粕、玉米、米糠、碎米等饲料混合,每日早晚各一次喂养小鸡。取每千克饲料 30mg 添加剂为实验剂量,喂养期定为 15d。以同样饲料不加添加剂为对照组喂养小鸡。实验开始

时和实验结束时称量各组小鸡重量,其平均值为实验基本数据,每种新席夫碱进行 3 次平行实验。

3.2 结果与分析(见表 3)

鸡的增重率(%)=

$$\frac{\text{实验结束时小鸡重量}-\text{实验开始时小鸡重量}}{\text{实验开始时小鸡重量}};$$

鸡的相对增重率(%)=

$$\frac{\text{实验组增重率}-\text{对照组增重率}}{\text{对照组增重率}}。$$

实验组增重率低于对照组增重率的,相对增重率

数值为负值;实验组增重率高于对照组增重率的,其相对增重率数值为正值。

促生长作用实验结果显示,10种二氮氧喹啉甲醛的新席夫碱中的3种d、e、h作为添加剂喂养的小鸡的相对增重率在30%以上,具有明显的促生长作用;a、b、c、i 4种席夫碱促鸡生长作用不明显,相对增重率在10%以下;另有f、g、j 3种席夫碱呈负的促生长作用,可能是其具有一定毒性影响了鸡的生长。

表3 10种新席夫碱促鸡生长作用效果

项目	始重 (g/只)	末重 (g/只)	增重 (g/只)	增重率 (%)	相对增重率 (%)
a	130.1	233.0	102.9	62.7	+7.2
b	142.5	230.9	88.4	62.0	+6.0
c	152.0	245.0	93.0	61.0	+4.3
d	147.7	260.7	113.0	76.5	+30.8
e	138.5	248.2	109.7	79.2	+35.4
f	129.5	200.5	71.0	54.8	-6.3
g	154.8	236.3	81.5	52.6	-10.1
h	135.0	240.9	105.9	78.4	+34.0
i	149.3	238.0	88.7	59.4	+1.5
j	158.2	239.8	81.6	51.6	-11.8
对照组	148.4	235.2	86.8	58.5	0

4 结论

用取代苯胺等与二氮氧喹啉甲醛在室温下反应可以合成相应的二氮氧喹啉甲醛席夫碱。元素分析、红外光谱、质谱和核磁共振分析结果说明了合成

的10种席夫碱结构与设计的结构一致。

用合成的新席夫碱作为饲料添加剂做促鸡生长活性实验,其中3种具有明显的促鸡生长活性,相对增重率在30%以上,实验结果揭示了二氮氧喹啉甲醛席夫碱一类物质作为促进动物生长的饲料添加剂具有使用的潜在可能性。

参考文献

- Ganley B, Chowdhury G, Bhansali J, et al. Redox-activated, hypoxia-selective DNA cleavage by quinoxaline 1,4-di-N-oxide: Bioorganic & medicinal chemistry, 2001(9): 2 395-2 401
- Antonio Carta, Mario Loriga, Giuseppe Paglietti. Synthesis, anti-mycobacterial, anti-trichomonas and anti-candida in vitro activities of 2-substituted-6,7-difluoro-3-methylquinoxaline 1,4-dioxides. European Journal of Medicinal Chemistry, 2004, 39(2): 195-201
- 朱柱振,冯洪辉. 喹乙醇在鸡体内的药物动力学及组织浓度研究. 畜牧兽医学报, 1993, 24(3):258-264
- 仇文升,吴艳芬,鲁伟,等. 苯并咪唑-N-氧化物类和喹啉双N-氧化物类化合物的合成及其乏氧选择性细胞毒作用. 中国药物化学杂志, 1995, 5(4): 242-244
- 马敬中,江洪, N, N'-二氧喹啉甲醛衍生物的合成及促家禽生长活性研究. 饲料工业, 2005(3): 9-12
- 马敬中,李建洪,江洪,等. 几种二氮氧喹啉衍生物的合成及其抑菌活性研究. 华中农业大学学报, 2002(1): 91-94
- 焦家俊. 有机化学实验. 上海科技文献出版社, 2000
- 王铁岗. 养鸡慎用喹乙醇新化合物. 农村养殖技术, 2002(14): 26

(编辑:刘敏跃, lm-y@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	实用犬病诊疗图册	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

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

酵母细胞壁及其在水产养殖中的应用

郑凯迪

摘要 酵母细胞壁通过激发机体免疫功能,维持微生态平衡来增强动物免疫力,改善动物健康状况,提高生产性能。它无污染、无残留,是很有价值的新型饲料添加剂,在水产养殖中应用十分广泛。文中介绍了酵母细胞壁的化学组成、作用机理及其在水产动物中的应用,展望了酵母细胞壁作为饲料添加剂的应用前景。

关键词 酵母细胞壁;饲料添加剂;作用机理;水产养殖

中图分类号 S816.79

酵母及其产品用作饲料添加剂始于 20 世纪 70 年代中期,最早被用作反刍动物的蛋白质补充饲料。酵母细胞中含有丰富的蛋白质、B 族维生素、脂肪、糖、酶等多种营养成分。目前已发现的酵母菌超过 500 种,分属 41 属,但并不是所有的酵母菌都能作为饲料添加剂,生产上应用时要注重菌种类型的选择,常用的有假丝酵母、得巴利酵母、球拟酵母和红酵母。利用酵母生产单细胞蛋白(SCP),具有生长速度快、周期短的优点。多项试验表明,酵母作为饲料添加剂,可以促进胃内微生物的生长,防治禽畜胃肠道疾病,增进健康,提高生产性能。但是,由于饲料酵母味苦、适口性差,使它在生产中的应用受到了限制。

酵母细胞壁是生产啤酒酵母过程中由可溶性物质提取的一种特殊副产品,占整个细胞干重的 20%~30%,它在维持细胞形态和细胞与细胞间的识别中起重要作用。Gertien 等(1999)曾从分子水平上研究了酵母细胞壁的结构,认为它是一个动态、可被调控的结构,它的结构和组成可以被严格调控并能对环境变化做出广泛响应,现在酵母细胞壁饲料添加剂已引起人们的广泛关注。酵母细胞壁是淡黄色粉末,与酵母饲料比起来没有苦味,适口性好,可以作为免疫促进剂,通过激发和增强机体免疫力,改善动物健康来提高生产性能,尤其能使幼龄动物发挥其生长潜力。酵母细胞壁在饲料中的用途日益广泛。

1 化学组成

在生产过程中,酵母细胞的破壁方法也一直受到关注,目前最常用的是音波震碎法。在尽量保持酵母细胞壁完整的前提下,用音波震碎法将细胞震碎,震碎过的酵母溶液通过多次清洗过滤,除去苦味和杂质,再经高温、酸、碱处理,离心分离等操作获得细胞

壁后再喷雾干燥即可得到成品。

酵母细胞壁的主要活性成分是葡聚糖(约占其干重的 57.0%)、甘露寡糖(约占干重的 6.6%)、糖蛋白(约占干重的 22.0%)、几丁质和其它成分(蛋白质、核酸、类脂和灰分共占其干重的 20.0% 以下)。

2 生理功能的作用机理

酵母细胞壁的主要生理功能由甘露寡糖和 β -葡聚糖发挥,它们在动物体内分别行使各自的功能,能对细菌、真菌和病毒引起的疾病以及因为运输、接种、气候等变化引起的应激反应产生非特异性免疫力。

2.1 甘露寡糖(Mannan Oligosaccharides, MOS 或 BIO-MOS)

甘露寡糖是由甘露糖和葡萄糖组成的寡糖,一般含有 2~10 个单糖,单糖之间以 α -1,2、 α -1,3 及 α -1,6 键相连。甘露寡糖易溶于水,不易溶于有机溶剂,黏度随温度上升逐渐下降,具有独特的胶凝性能,一般在生理 pH 值和通常饲料加工条件下较为稳定,其理化性质因来源不同会稍有差异。

甘露寡糖含有大量不能被消化酶切断的化学键,在小肠中几乎不能被消化利用,进入消化道后段经浓缩才能被动物消化道菌群中的有益菌选择性发酵利用,以有机酸、 CH_4 、 CO_2 、 H_2 的形式释放或参与代谢,提供能量。同时,发酵产生的酸性物质会使整个肠道的 pH 值下降,能抑制有害菌的生长。甘露寡糖还可极大地影响动物的免疫系统,能够干扰肠道病原体的定植,是肠道微生物菌群的强大改良剂。胃肠道非免疫防御系统的主要组成部分是内源微生物菌群,有益微生物菌群覆盖在胃肠道黏膜上皮上以阻断病原微生物的附着,而甘露寡糖有助于肠道有益菌的增殖。因此,甘露寡糖被称为“病原菌吸附剂”或“病原菌清除剂”,甘露寡糖的这些功能也在一系列的试验中得到证实。

甘露寡糖还可以增加细胞因子的释放,细胞因子

郑凯迪,西南大学水产水文学院,在读硕士,400716,重庆。

收稿日期:2006-02-23

可以协调不同免疫细胞的活动。甘露寡糖也能提高白细胞介素(IL-2)的浓度,白细胞介素使T细胞增殖和分化。另外,甘露寡糖能够增强IFN(干扰素)的活性,IFN是由活化的T细胞释放的细胞因子,IFN的出现促使白细胞、体液和蛋白质向感染的部位迁移,并活化巨噬细胞,促使其杀死所包围的细菌。

Cooney 研究发现,甘露寡糖可以整合胃肠道释放的黄曲霉素,也可以结合玉米赤霉烯酮,结合力呈非直线关系。大量的体外试验证明,酵母细胞壁吸附毒素的程度与霉菌种类和细胞壁的制备有关,最有效的是从啤酒酵母细胞壁中提取的脂化甘露聚糖。

2.2 β -葡聚糖

β -葡聚糖约占细胞总重的12%~14%,是一种具有特殊结构的多糖,通常由10~20个单糖组成,相对分子质量为6 500~7 500,大多数为不溶于水的胶质颗粒。 β -葡聚糖中的单糖之间以 β -1,3键和 β -1,6键相连,由于特殊的键结合方式和分子氢键的存在, β -葡聚糖呈螺旋形分子结构,其特殊的构型对动物免疫系统具有较强的刺激作用。

大多数动物体内的网状内皮系统存在大量的巨噬细胞,一般情况下,巨噬细胞不具有活性,当 β -葡聚糖通过细胞表面糖蛋白与巨噬细胞结合后,巨噬细胞就被激活,通过吞噬作用吸收、破坏和清除体内损伤、衰老和死亡的自身细胞及侵入体内的病原微生物,并诱导机体产生一系列的细胞免疫和体液免疫反应,故又将 β -葡聚糖称为免疫多糖。 β -葡聚糖除了可激活自然杀伤细胞,提高血液中单核细胞、中性粒细胞和巨噬细胞的吞噬能力之外,还能影响循环血液中细胞因子的含量,也能影响体外培养的淋巴细胞细胞因子的分泌,并可促进脾脏淋巴细胞白细胞介素、干扰素的分泌,还能增强细胞因子的作用。同时, β -葡聚糖可增强T淋巴细胞功能,促进淋巴细胞转化和增殖。机体还有一个重要的免疫系统——补体系统,它除可直接杀伤和溶解细菌或靶细胞和病毒外,还具有对免疫复合物的调理作用,趋化功能及调节T细胞、B细胞免疫力等作用。因此, β -葡聚糖具有明显激活补体系统的作用。

2.3 蛋白质、几丁质、类脂和酶

酵母细胞壁中蛋白质的含量约为5%~10%,大部分蛋白质和糖类结合形成甘露寡糖——蛋白质复合物,酵母细胞壁中的几丁质是N-乙酰葡萄糖胺的线性多聚物,在细胞壁中N-乙酰葡萄糖胺以 β -1,4键连接而成。酵母细胞壁的脂质大多由酰化甘油及固

醇脂等中性脂质组成,决定细胞壁中脂质含量的因素尚不清楚。存在于酵母细胞壁内的酶包括转化酶、 α -半乳糖苷酶、L-天门冬酰胺酶、氨基酸肽酶II、丙酰基- β -葡萄糖苷酶、葡萄糖淀粉酶等,它们都是水解酶,可使细胞在细胞内摄取营养物质。此外,还包括葡聚糖酶、蛋白质二硫还原酶等,这些酶都与细胞壁增殖有关。

3 酵母细胞壁在水产养殖中的应用

3.1 在鱼类中的应用

酵母细胞壁可使鱼、虾免疫器官的发育加快,淋巴细胞的数量增加,既可增强非特异性免疫,又能激发机体体液免疫的产生。大量的试验证实,酵母细胞壁及其提取物在畜禽和水产养殖中发挥了很好的防病、治病和保健作用,在美国、巴西和我国台湾省早已普遍使用酵母细胞壁,国内也已开始积极地开发利用。

Nureco 公司试验研究表明,酵母细胞壁中的 β -葡聚糖和维生素C的组合对巨噬细胞的活性有积极影响。投喂含酵母细胞壁饵料的鱼群,其死亡率(14.6%)大大低于对照组(35.5%)。巴西 ICC 公司试验证实,饲喂酵母细胞壁可使感染冷水性弧菌病的大西洋鲑鱼成活率由17%提高到70%左右(感染前3周左右饲喂酵母细胞壁),而酵母细胞壁与疫苗联合使用具有更强、更持久的免疫保护作用,使感染的鲑鱼成活率提高到90%。

外国学者用鲑鳟鱼做了大量试验,证实了酵母细胞壁能够增强鱼类的免疫力。Robertson 等的试验结果表明,从酵母菌中提取的 β -葡聚糖能增强大西洋鲑对灭活气单胞菌、鳃弧菌和鲁克氏耶尔森氏菌感染的抵抗力。Engstad 等的研究证明了大西洋鲑的巨噬细胞上存在 β -葡聚糖的受体。Brattgjerd 等对大西洋鲑注射酵母葡聚糖后,发现试验鱼的巨噬细胞在离体条件下的吞噬活性明显上升。Anderson 等采用注射和浸泡法对溪红点鲑接种免疫多糖后,试验鱼对人工感染活菌的抵抗力显著增强。Jeney 等将葡聚糖作为佐剂与灭活菌苗联合使用,结果证明能显著提高供试虹鳟的非特异性免疫力。Kawakami 等分别用灭活的菌苗、真菌葡聚糖、几丁质和福氏完全佐剂接种鲫鱼,试验发现,各种处理的受免鱼均对杀鱼巴斯德氏菌感染的抵抗力显著增强。Samuel 等的试验结果表明, β -葡聚糖能显著增强毛足鲈的抵抗力。

我国学者在酵母细胞壁对鱼类免疫力影响方面也做了很多对照试验。Chen 等的报道指出,注射 β -葡

聚糖能提高斑点叉尾鲴抗叉尾鲴爱德华氏菌感染的能力。陈昌福等(2004)探讨了口服免疫多糖(酵母细胞壁)对受免异育银鲫免疫应答的调节效应,结果表明,以每千克体重其饲料中添加 150.0mg 的免疫多糖(酵母细胞壁),对受免异育银鲫的免疫应答具有较强的调节效应,与对照组鱼相比,不仅血清中凝集抗体效价有所提高,而且血液中白细胞的吞噬百分比(PP)和吞噬指数(PI)明显上升。

酵母细胞壁及其提取物作为水产动物饲料添加剂,能够促进鱼类生长,减少死亡率,降低粪便中氮的排放量,防止污染。酵母细胞壁通过激发免疫功能,维持微生态平衡而增强了动物免疫力,改善动物健康状况,从而提高生产性能,使幼龄动物的生长潜力得到充分发挥。酵母细胞壁及其提取物对鱼类生产性能的作用也备受关注。Yoshida 等(1995)报道,甘露寡糖能显著提高鲑鱼细胞活性和饲料利用效率。张起信等(1997)在对牙鲆、石鲈的工厂化养殖中,进行了投喂口服型免疫多糖的试验,在牙鲆饵料中添加免疫多糖,投喂 100d 后试验组的牙鲆成活率、全长、体重分别比对照组提高 0.9%、1.28%和 2.82%。张起信(2003)作了在大菱鲆的饵料中添加免疫多糖的对比养殖试验,经 210d 投喂后,鱼的平均体长、体重、成活率较未添加免疫多糖的组分别提高 14mm、32.6g 和 4.8%。还有研究表明,鳟鱼苗在体重 1~7 g 期间受冷水病原菌侵袭后死亡率达 25%,饵料中加入 0.7%的 MOS 后可使该阶段鳟鱼苗的死亡率下降到 1%。张红梅(2004)研究了在健康的建鲤日粮中添加不同水平的酵母甘露寡糖对其生产性能的影响,结果表明,日粮中添加 MOS 可提高鲤鱼的生产性能,随 MOS 添加量的增加养殖成活率先升后降,当添加量增加到 0.2%时养殖成活率最高达到 99.40%,而后成活率降低。

3.2 在虾类中的应用

陈昌福在酵母细胞壁对水产动物的影响方面做了很多工作,不但研究了其对一些鱼类的影响,还做了口服免疫多糖(酵母细胞壁)对南美白对虾抗哈维弧菌感染作用的试验,结果表明,在南美白对虾饲料中添加免疫多糖(酵母细胞壁),能显著提高供试南美白对虾血清和肌肉中酸性磷酸酶 (ACP)、碱性磷酸酶 (ALP)活性,极显著地提高肝胰腺中 ACP、ALP 和过氧化物酶(POD)的活性,增强抗哈维弧菌感染的能力。许第新等(2004)将免疫多糖(酵母细胞壁)作为免疫刺激剂注射到克氏原螯虾体内后发现克氏原螯虾肝胰腺中的 ACP 和 ALP 活性明显增加。1998 年,刘恒等利

用从海藻中提取的免疫多糖作为饵料添加剂,以口服形式对南美白对虾进行免疫,结果表明,除个别情况外,试验组南美白对虾的酚氧化酶活力,溶菌、抗菌活力和超氧化物歧化酶活力,均高于对照组。这种免疫多糖虽然是从植物中提取的,但其与微生物多糖有类似结构和性质。刘栋辉(2002)探讨了啤酒酵母 β -葡聚糖制剂和维生素 C 的组合对斑节对虾生长和抗病力的效果,结果发现,啤酒酵母 β -葡聚糖制剂和维生素 C 的组合能显著提高斑节对虾的生长、存活率和血清蛋白水平,显著降低饲料系数,其效果和高剂量 VC 组是相当的,在攻毒试验中,啤酒酵母 β -葡聚糖制剂和维生素 C 的组合大大提高注射白斑病毒虾的存活率。

3.3 在其它水产动物中的应用

除对鱼、虾外,酵母细胞壁及其提取物在水产动物中的应用研究较少。张起信(2002)在剥离后的杂交鲍苗配饵中添加 5%的口服型免疫多糖,平均壳高和成活率分别较对照组提高 1.55mm 和 3.2%。孙虎山(2001)给栉孔扇贝体中注射酵母聚糖(酵母细胞壁)后,测定了栉孔扇贝血清和血细胞中参与免疫防御的酚氧化酶(PO)和髓过氧化物酶(MPO)的活力,结果表明,注射酵母聚糖后仅 1h,试验组血清中 PO 活力极显著地高于对照组,而血细胞中无 PO 活力,说明酵母聚糖对栉孔扇贝血淋巴中 PO 和 MPO 的活力有增强作用。北京佳伟生物技术有限公司用添加了免疫多糖的饲料对甲鱼进行了饲喂试验,结果试验组甲鱼死亡数量明显少于对照组,并分析得出以 0.2%的量进行添加从预防疾病效果及节约养殖成本方面考虑均为最佳。

4 展望

在饲料中添加少量酵母细胞壁或其提取物,能有效的改善水产动物消化道微生物菌群,降低消化道和水产产品中大肠杆菌、沙门氏菌等病原菌量,明显提高水产动物机体的抗病能力。还能够提高增重、饲料转化率等生产性能,而且酵母细胞壁是天然成分,不会带来污染,在动物营养上有良好的应用前景。但要注意的是不同种类、年龄和生理状态下的水产动物,酵母细胞壁的最佳添加量会有所不同,应该经过充分试验后确定最佳添加量;日粮中的其它成分或其它添加剂有可能对酵母细胞壁作用的发挥产生协同或拮抗作用,这方面还需要深入研究。

(参考文献 34 篇,刊略,需者可函索)

(编辑:高 雁, snowyan78@tom.com)

发酵油菜籽壳产纤维素酶的初步研究

曾 莹 王伟平 黄 维 邱 思

摘 要 为了开发利用油菜籽壳这一油脂工业副产品,从60株保藏菌种中筛选得到一株能发酵油菜籽壳高产纤维素酶的菌株木霉T5。通过实验初步研究其适宜产酶的工艺条件。结果表明,木霉T5在 $m(\text{油菜籽壳}):m(\text{啤酒糟}):m(\text{麸皮})=5:2:3$ 、 NH_4NO_3 2%、 CaCl_2 0.1%、Tween80 0.1%的基质上,加水量为120%,接种量为10%,置30℃下培养60h,产酶量可达80.116 IU/g,具有较好的应用前景。

关键词 油菜籽壳;固态发酵;纤维素酶;木霉

中图分类号 S816.43

Preliminary studies on cellulase produced by rapeseed hull fermentation

Zeng ying, Wang Weiping, Huang Wei, Qiu Si

Abstract A cellulase producing strain, *Trichoderma* spT5 was screened by rapeseed hull fermentation from 60 strain of collection. cellulase production conditions of *Trichoderma* spT5 by rapeseed hull solid-state fermentation were investigated through experiment. The result shows that the composed of medium were: rapeseed hull: brewer's grains:wheat bran=5:2:3, NH_4NO_3 2%, CaCl_2 0.1%, Tween80 0.1%, water 120%. The optimum for producing cellulase were inoculate amount 10%, temperature 30℃ and cultivation for 60h. The cellulase production by *Trichoderma* spT5 can reach 80.116IU/g.

Key words rapeseed hull;solid state fermentation;cellulase;*Trichoderma* sp

纤维素酶(cellulase)是降解纤维素生成葡萄糖的一种复合酶,主要由外切 β -葡聚糖酶、内切 β -葡聚糖酶和 β -葡萄糖苷酶等组成。

由于纤维素酶能将纤维类废弃物转化成有用物质而受到世界各国的普遍重视。研究发现:①纤维素酶可破解富含纤维素的细胞壁,使其包含的蛋白质、淀粉等营养物质释放出来,同时又可以将纤维素降解为可被畜禽机体消化吸收的还原糖,从而提高饲料利用率。因此,纤维素酶在饲料工业中具有极大的应用潜力。②纤维素酶在扩大食品工业原料和植物原料的综合利用、提高原料利用率、净化环境和开辟新能源等方面也具有十分重要作用。目前存在的主要问题是酶活性不高导致的生产成本过高,使其应用受到一定的限制。因此,选育高活性纤维素酶产生菌,采用工农业生产的废弃物作原料进行纤维素酶的生产,是降低生产成本的重要措施。

一直以来,我国油菜籽制油是采用带壳高温压榨后浸出工艺,而近年来,新研制出的油菜籽脱壳制油

工艺不仅可以提高出油率5%~10%,还能有效地去除以往存在于油菜籽饼粕中的色素、芥子碱、单宁等抗营养物质,使菜籽饼粕蛋白质含量提高到45%,极大地提高了饼粕的质量。由此也带来了约占油菜籽重量17%的壳,即油菜籽壳是采用油菜籽脱壳制油工艺生产的副产品,其中粗纤维含量高达31%~34%。据报道,油菜籽壳既可作牛饲料也可加工成纤维板或提取增粘剂——羧甲基纤维素钠,还可以用来生产食用菌。本研究对以油菜籽壳作为主要原料,添加其它辅料,利用一株通过筛选得到的纤维素酶产生菌——T5进行固态发酵生产饲用纤维素酶的工艺条件进行初步研究。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 油菜籽壳

取自武汉工业学院。

1.1.2 菌种

黑曲霉 n1、n2、n3、n4; G1、G2、G3、G4、G5、G6; An1、An3、An4、An5、An6、An54; An54-1、An54-2、An54-3、An54-4; 85.6/85.6-1; 3.758; 柠-1、As3.4309、黑 X、B1。

米曲霉 O1、O2、O3; Ao-2-N-4、Ao-3、Ao-6、Ao-

曾莹,湖北工业大学生物工程学院,副教授,430068,武汉。

王伟平、黄维、邱思,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2006-01-21

6-1; 3.042A; 3.042G。

木霉 T5、T6、T8 等。共 60 个菌株,均为课题组保藏菌种。

1.1.3 斜面培养基(PDA 培养基)

马铃薯 20%、蔗糖 2%、琼脂 1.5%~2%,自然 pH 值。

1.1.4 发酵(基础)培养基

$m(\text{油菜籽壳}) : m(\text{麸皮}) = 6 : 4$ 。添加培养基干料重 2%的 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$,自然 pH 值。

1.2 方法

1.2.1 菌种的活化

将菌种接入斜面培养基中,置 30℃下培养至长满孢子。

1.2.2 菌种的筛选

将孢子浓度为 $3.0 \sim 5.0 \times 10^6$ 个/ml 的孢子悬浮液定量接入发酵培养基中,摇匀后置 30℃下培养 48h,测定酶活力。

1.2.3 纤维素酶活力测定

1.2.3.1 酶液的制备

称取固态培养物 2g,加入 20ml 自来水,在 40℃下浸提 1h,过滤,滤液即为酶液。

1.2.3.2 酶活力测定

取 0.1ml 适当稀释的粗酶液,加入用 pH 值 4.8 的醋酸缓冲液配制的 1%羧甲基纤维素钠悬液 0.9ml 于试管中,40℃水浴保温 10min 后加入 2.0ml DNS 试剂,沸水浴加热 3min,用 3,5-二硝基水杨酸比色定糖法(DNS 法)测定葡萄糖含量,以 100℃灭活粗酶液作对照。

酶活力单位定义为:每分钟水解羧甲基纤维素钠形成 $1 \mu\text{mol}$ 葡萄糖所需的酶量(IU/g)。

1.2.4 发酵条件的研究

将筛选得到的优良菌株分别在不同的基质条件 and 环境条件下进行固态发酵培养,以酶活力为指标优化发酵工艺条件。

2 结果与分析

2.1 可发酵油菜籽壳高产纤维素酶菌株的筛选

将课题组保藏的 60 个菌株分别接入以油菜籽壳为主要碳源的发酵培养基中,经培养后测定酶活力。再对其中酶活力较高的菌株进行多次传代培养,测定酶活力,结果见表 1。

综合比较表 1 中数据可见,T5 菌株的酶活力较高,产酶性能较稳定。而且 T5 菌株生长旺盛,产孢子能力强,所以选 T5 菌株进行产酶条件试验。

2.2 碳源对产酶的影响

2.2.1 最适碳源的选择

分别以油菜籽壳、啤酒糟、玉米芯、麸皮作为单一碳源,以油菜籽壳和啤酒糟、油菜籽壳和玉米芯、油菜籽壳和麸皮构成的复合碳源取代基础培养基中的碳源制备培养基,进行发酵培养后测定酶活力,结果见图 1。

表 1 主要产酶菌株的纤维素酶活力及其产酶稳定性的比较

菌株	纤维素酶活(IU/g)			
	一次传代	二次传代	三次传代	平均值
T5	67.675	65.116	41.959	58.25
T6	40.754	45.214	40.040	42.003
T8	46.859	29.449	44.204	40.171
F54-2	50.614	22.437	49.941	40.997
F54-3	48.747	39.803	45.927	44.826
F54-4	52.624	30.826	33.853	39.101
G4	45.212	34.836	29.213	36.420
G5	39.461	50.567	15.698	35.242
N1	42.792	36.871	48.443	42.702
N3	48.537	41.951	51.401	47.296
85.6	44.209	38.384	40.567	41.053

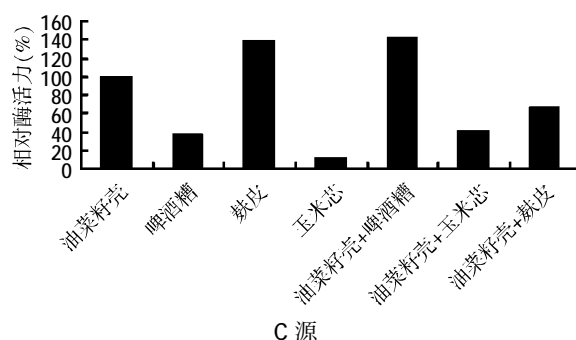


图 1 C 源种类对产酶的影响

由图 1 可见,在油菜籽壳和啤酒糟构成复合碳源制备的培养基中菌株产酶活力最高,麸皮次之。故选油菜籽壳、啤酒糟、麸皮 3 种原料构成复合碳源,进一步对复合碳源的最佳配比进行选择实验。

2.2.2 复合碳源最佳配比的选择(见图 2)

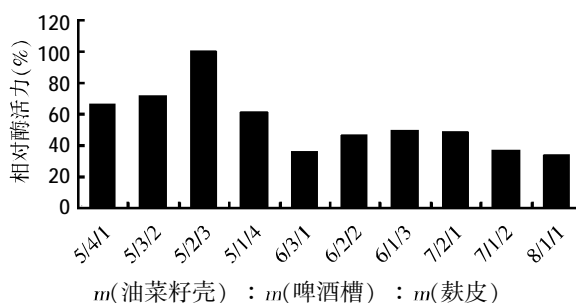


图 2 复合 C 源比对产酶的影响

由图 2 可见:复合碳源的配比为 $m(\text{油菜籽壳}) : m(\text{啤酒糟}) : m(\text{麸皮}) = 5 : 2 : 3$ 时,菌株的产酶活力最高。

2.3 氮源对产酶的影响

2.3.1 最适氮源的选择

分别用不同的无机氮或有机氮取代基础培养基中的 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 作为氮源进行产酶实验,结果见图3。

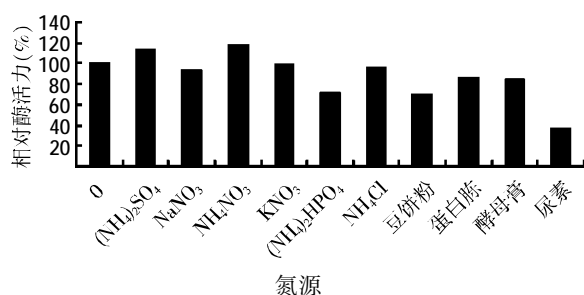


图3 不同氮源对产酶的影响

结果表明:以 NH_4NO_3 、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 作氮源时,菌株的产酶活力较高,这与每种含氮物质中氮元素含量不同有一定关系,总的来看,无机氮较有利于该菌种产酶。本试验最后选择 NH_4NO_3 作氮源。

2.3.2 含氮量对产酶的影响

在研究氮源对菌株产酶影响的基础上,进一步探讨含氮量对菌株产酶的影响,结果见图4。

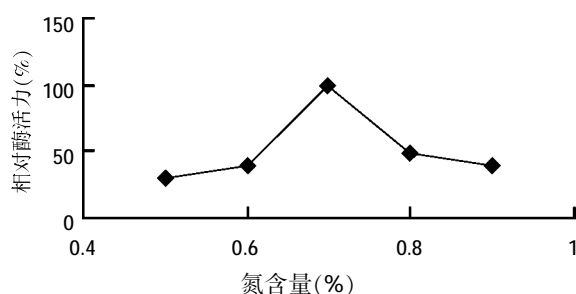


图4 含氮量对产酶的影响

由图可见:当培养基中含氮量为0.7%时,菌株的产酶能力最高。培养基中含氮量过高或者过低都会影响菌株产酶。

2.4 无机盐对产酶的影响

据报道,一定浓度的无机盐对纤维素酶的合成有抑制或激活作用。在培养基中添加一定浓度的不同无机盐溶液,培养后测定纤维素酶的酶活力,结果见图5。

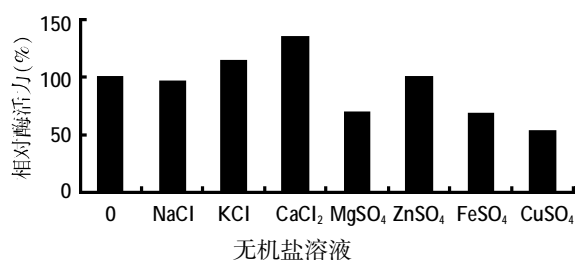


图5 无机盐对产酶的影响

结果表明:发酵基质中添加 CaCl_2 、 KCl 可促进产酶,本试验最后选择用0.1%的 CaCl_2 。

2.5 表面活性剂(Tween80)对产酶的影响

有研究认为,表面活性剂可强化传质传氧,提高细胞膜的通透性,使酶易向胞外分泌。

往培养基中添加一定量的Tween80,进行产酶试验,结果见图6。

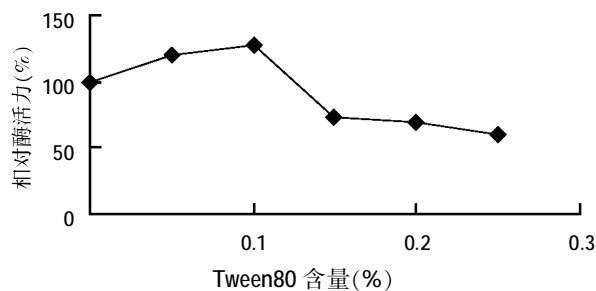


图6 Tween80含量对产酶的影响

由图6可见:培养基中Tween80的含量对菌株产酶有一定的影响。添加0.1%的Tween80可以使产酶量提高26%,Tween80的添加量过高则会抑制产酶。

2.6 加水量对产酶的影响

固态发酵时微生物在没有或几乎没有游离水的固体物上生长,而培养基质的含水量会影响到微生物生长所要求的渗透压和固体颗粒的物理性质,所以在整个发酵过程中培养基的含水量起着关键作用:含水量过高会影响原料颗粒之间的松散性,使原料颗粒成团,影响氧的传递和发酵热的散失,导致酶活力下降;含水量过低会影响营养基质的溶解和传递以及颗粒的润胀等从而影响微生物对营养基质的利用,调节基质的初始含水量是控制培养基含水量的有效措施。

对试验选出的培养基 $[m(\text{油菜籽壳}):m(\text{啤酒糟}):m(\text{麸皮})=5:2:3]$ 进行加水量的选择实验,结果表明,在加水量为120%~140%时产酶活性较高,含水量过多或者过少都会影响产酶,见图7。

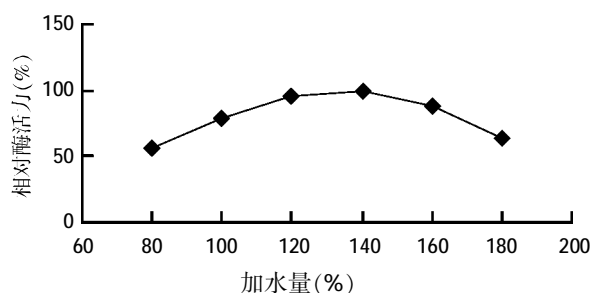


图7 加水量对产酶的影响

2.7 培养基初始pH值对产酶的影响

分别用 10%NaOH 或 0.2mol 冰醋酸调节发酵培养基的 pH 值,研究不同起始 pH 值对菌株产酶的影响。结果(见图 8)表明:当培养基的起始 pH 值为 5.5 (自然 pH 值)时酶活力最高。培养基的起始 pH 值过高或过低都会抑制菌种产酶。

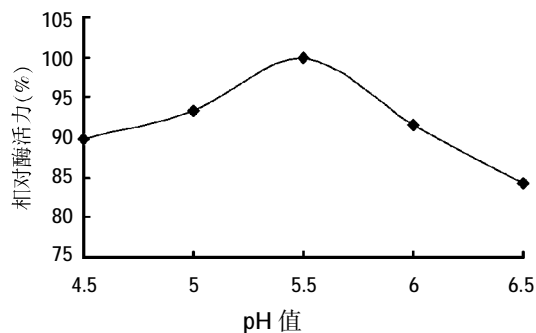


图 8 pH 值对产酶的影响

2.8 通气量对产酶的影响

以 250ml 三角瓶中的装料量(瓶内剩余空间即为通气量)来衡量通气量的大小进行试验,结果见图 9。

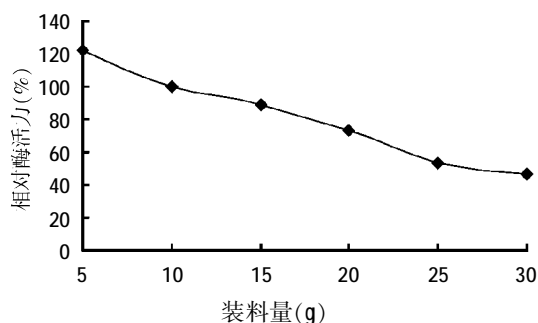


图 9 通气量对产酶的影响

由图 9 可见,通气量越大,酶活力越高。说明此菌种产酶对氧气的需求量较大。

2.9 接种量对产酶的影响

将培养好的斜面菌种用无菌水制成浓度为 $3.0 \sim 5.0 \times 10^6$ 个/ml 的孢子悬液,分别定量接入培养基中,进行发酵培养后测定酶活力,结果见图 10。

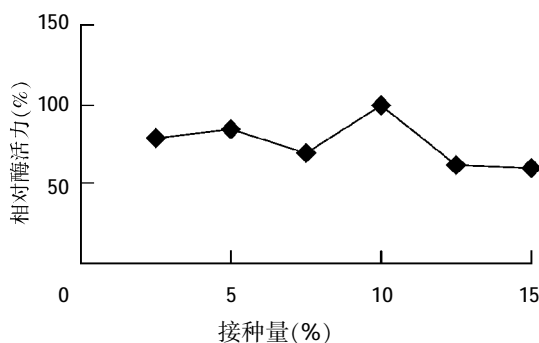


图 10 接种量对产酶的影响

由图 10 可见,接种量对产酶量有一定的影响,在接种量为 10%(ml/v)时酶活力最高,接种量过大或者过小都会影响产酶。

2.10 温度和时间对产酶的影响

将接种后的培养基分别置 30℃、37℃ 下进行培养,定时取样测定酶活力,结果见图 11。

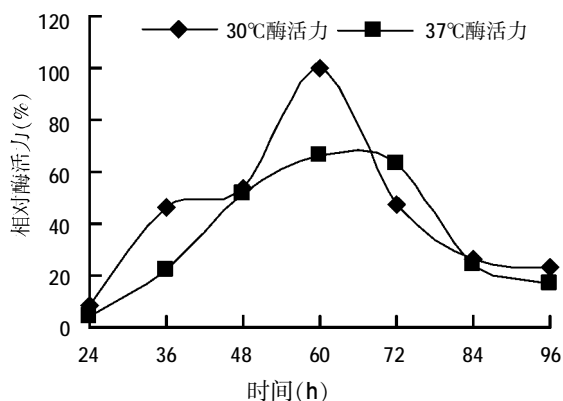


图 11 产酶进程曲线

由图 11 可见,在 30℃ 下菌株产酶活力较高,是菌株产酶的适宜温度。两条产酶曲线都在 60h 达到酶活力的峰值,因此,培养时间应以 60h 为宜。

在适宜的工艺条件下接种木霉 T5 菌株进行培养后,测定酶活力。结果显示,在适宜的工艺条件下木霉 T5 所产纤维素酶活力最高可达 80.116IU/g,比工艺条件优化前的酶活力提高了 37.54%

3 小结

3.1 采用以油菜籽壳为主要原料的培养基进行固态发酵培养,从保藏菌种中筛选得到一株可发酵油菜籽壳高产纤维素酶的菌株——木霉 T5。

3.2 通过试验研究发现,适宜的培养基组分为 m (油菜籽壳) : m (啤酒糟) : m (麸皮) = 5 : 2 : 3、 NH_4NO_3 2%、 CaCl_2 0.1%、Tween80 0.1%,加水 120%~140%,自然 pH 值。

适宜的培养条件是:250ml 三角瓶装料量为 5g,灭菌后以 10%的接种量接入孢子浓度为 $3.0 \times 10^6 \sim 5.0 \times 10^6$ 个/ml 的孢子悬浮液,置 30℃ 下培养 60h。

在适宜的条件下培养木霉 T5,酶活力最高可达 80.116IU/g。

(编辑:孙崎峰, sqf0452@126.com)

饲用纤维素酶热稳定性的研究

冯 毛 王卫国 于海洋

摘 要 对不同热处理参数(温度 70~100℃、时间 30~150s)条件下纤维素酶的活性进行了测定,结果表明:纤维素酶的活性损失率随处理温度的升高和时间的延长而增大。不同处理温度,酶活性损失率差异极显著($P<0.01$);不同处理时间,酶活性损失率差异显著($P<0.05$)。

关键词 纤维素酶;热处理;热稳定性;酶活性

中图分类号 S816.79

纤维素酶是能够水解 β -1,4 葡萄糖苷键,使纤维素变成纤维二糖和葡萄糖的酶。它是一个复合酶系,至少包括 3 类不同性质的酶: C_1 酶、 C_x 酶和 β -葡萄糖苷酶。 C_1 酶能将天然纤维素水解成无定形纤维素; C_x 酶的作用是将无定形纤维素继续水解成纤维寡糖; β -葡萄糖苷酶的作用是将纤维寡糖水解释成葡萄糖。由此可见, C_1 酶和 C_x 酶对纤维素酶系的质量起决定性作用。由于纤维素酶水解纤维素产生的纤维二糖、葡萄糖等还原糖能将碱性条件下的 3,5-二硝基水杨酸(DNS)还原,生成棕红色的氨基化合物,在 540nm 波长处有最大吸光值,在一定范围内还原糖的量与反应液的颜色强度呈一定比例关系,因此,利用比色法测定其还原糖生成的量就可测定纤维素酶的活力。

用于工业化生产纤维素酶的微生物有木霉、黑曲霉、镰刀霉、根霉、青霉、真菌以及反刍动物瘤胃菌丛培养物。纤维素酶的热稳定性因酶的菌种来源不同而差异明显^[1],各种常用纤维素酶的性质见表 1^[2]。

表 1 各种纤维素酶的性质

项目	绿色木霉	黑曲霉	镰刀霉
最适 pH 值	4.0~5.0	3.5~5.5	4.0~6.0
作用 pH 值范围	2.0~8.0	2.0~6.0	3.0~8.0
最适温度(℃)	45~50	45~55	40~50
热稳定性	80℃,15min 失活	70℃,60min 失活	80℃,30min 失活

研究发现,纤维素酶能补充动物内源酶的不足,激活内源酶的分泌,促进养分的消化吸收,减轻或消除饲料中抗营养因子的影响,改善动物健康和肠道形态结构等功效。近年来,纤维素酶在饲料工业上的应用已受到饲料界和生物工程人士的高度重视。由于纤

维素酶的最适温度较低,热稳定性较差,在调质、制粒和挤压膨化过程中温度可达到 60~130℃,而温度的升高将导致酶活力的损失甚至完全失活。本试验的目的就是不同温度和不同处理时间对纤维素酶活力的影响进行研究,了解其活性变化规律,为酶制剂的后喷涂工艺提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要试验材料与仪器

1.1.1 纤维素酶制剂

购自无锡酶制剂厂,最适温度范围 50~60℃,最适 pH 值范围 4.5~5.5。

1.1.2 主要仪器

VIS-732G 分光光度计、恒温水浴锅、万分之一分析天平。

1.1.3 试验试剂

3,5-二硝基水杨酸(DNS)、氢氧化钠、酒石酸钾钠、苯酚、无水亚硫酸钠、柠檬酸、柠檬酸钠、羧甲基纤维素钠、无水葡萄糖。

1.2 试验方法

1.2.1 C_x 酶活力的测定

采用 DNS 法^[3]。

1.2.2 纤维素酶的热处理(湿法)

将一定量的纤维素酶溶解后,使酶液在 60、70、80、90、100℃ 的温度下分别保持 30、60、90、120、150s,然后迅速冷却,测定此时 C_x 酶的活力,计算与常温下的相对活力。

2 实验结果与分析

2.1 DNS 法测定常温下酶活力及热处理后酶液相对活力

酶活力单位(U/g)定义:在 pH 值 5.0、50℃ 的条件下,每小时由底物生成 1 μ mol 葡萄糖所需的酶量。常温下纤维素酶的 C_x 酶活力为 1.44×10^4 U/g。

2.2 热处理后酶液的相对活力(见表 2、图 1)

冯毛,河南工业大学生物工程学院,在读硕士,450052,河南郑州。

王卫国、于海洋,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2006-01-21

一 氧 化 氮 合 酶 与 动 物 生 殖

陈礼强 郑凯迪

一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)在氧气存在下能催化精氨酸分解生成一氧化氮(nitric oxide, NO),同时产生 L-瓜氨酸。NOS 有以下几种形式:神经型 NOS(neuronal NOS, nNOS, 又称 I 型 NOS)、诱导型 NOS(inducible NOS, iNOS, 又称 II 型 NOS)、内皮型 NOS(endothelial NOS, eNOS, 又称 III 型 NOS), 其中 nNOS 和 eNOS 又被称为组成型 NOS (constitutive NOS,

cNOS)。cNOS 为 Ca^{2+} 依赖型, 主要位于内皮细胞(eNOS)及脑(nNOS); iNOS 为非 Ca^{2+} 依赖型, 主要位于巨噬细胞、嗜中性白细胞、内皮细胞及上皮细胞。

NO 是一种重要的多功能因子, 是血小板聚集的强抑制剂, 有强烈的舒张血管作用, 同时 NO 也是一种神经递质, 是巨噬细胞细胞毒作用及细胞凋亡的关键介质。NO 能够对许多生理功能产生巨大的影响, 目前对它的研究主要集中在动物疾病和免疫方面, 而近来有些研究表明, 它对生殖过程也有相当大的影响, 如调节卵泡的发育和排卵、调节分娩、维持妊娠以及对睾丸微循环的调节, 参与睾酮分泌、调节精子活力、促使阴茎勃起以产生性行为等。

陈礼强, 西南农业大学水产学院, 在读硕士, 400716, 重庆。

郑凯迪, 单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期: 2006-03-26

表 2 不同热处理条件下 C_x 酶相对酶活力(%)

项目	70℃	80℃	90℃	100℃
30s	72.1	65.0	51.5	24.3
60s	68.9	50.2	39.7	12.3
90s	65.0	48.2	33.0	5.3
120s	59.2	44.5	27.5	2.94
150s	54.2	41.0	12.3	0.7
显著性检验	处理温度(℃)	**	(P<0.01)	
	处理时间(s)	*	(P<0.05)	

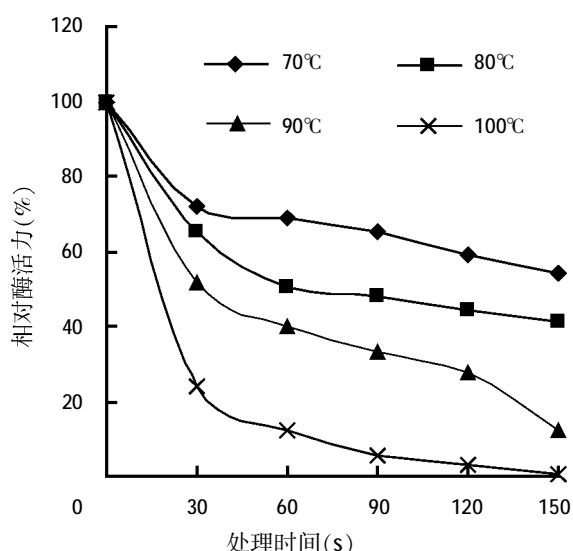


图 1 纤维素酶活力变化

根据表 2 和图 1 可以得到热处理后纤维素酶 C_x 酶活力的变化情况。从中可以看出, 随着温度的升高和热处理时间的延长, C_x 酶活力均呈现下降趋势; 并

且随着温度的升高和时间的延长, 下降的幅度越大。70℃时经 150s 热处理后, 酶活力降低了 45.8%; 而 80℃和 90℃分别降低了 59%和 87.7%; 100℃时处理 90s 以上酶活力几乎降为零。不同处理温度对酶活力的影响极显著 ($P<0.01$), 而处理时间对酶活力也有显著的影响 ($P<0.05$)。可以认为, 在挤压膨化工艺中, 纤维素酶经过 120℃的高压挤压处理是难以保留的。

本试验仅是考察了温度和时间两个因素对纤维素酶活力变化的影响, 而在实际的生产过程即饲料的制粒或膨化时的影响因素更多, 如更高的加工温度、机械作用力、高压蒸气等, 而这些因素综合作用的结果对酶活力的影响可能更为严重。因此, 必须采用有效的方法保证酶制剂的稳定性。目前已采取几种途径来克服这一难题, 最基本的酶活保护方法就是 Pettersson 和 Rasmussen 所建议的方法^[4], 即从耐热性的微生物体中分离生产耐热性的酶类。另一种就是在制粒冷却后在饲料颗粒上喷涂 (常压或真空) 酶制剂, 但这需要额外增加某些加工设备及加工工序。

参考文献

- 付生慧, 张宏福, 何瑞国. 木聚糖酶在制粒工艺中热稳定性的研究. 饲料工业, 2005(17): 43
- 熊家林, 张衍主编. 饲料添加剂. 化学工业出版社, 2001
- 吕淑霞主编. 基础生物化学实验指导. 中国农业出版社, 2001
- D. Pettersson, P. B. Rasmussen. Improved heat stability of xylanases. Proceedings of the Australian Poultry Science Symposium, 1997(9): 119~121

(编辑: 孙崎峰, sqf0452@126.com)

1 NOS 在动物生殖器官中的分布

Burnett 等首次用 NOS 抗血清免疫组织化学法和 NADPH-心肌黄递酶组织化学染色法对雄性大鼠生殖器官组织中的 NOS 进行了定位,证实睾丸内间质细胞(Leydig cell)、支持细胞(Sertoli cell)及睾丸微动脉外膜内的神经元丛中均有 NOS 存在。Lissbrant 等采用免疫组织化学技术发现,大鼠睾丸间质细胞 nNOS 呈阳性,间质内小动脉内皮细胞 eNOS 呈阳性,而未见 iNOS 阳性反应。但 Tatsumi 等在分离大鼠睾丸所得的间质细胞中运用 Northern 杂交和免疫组织化学染色均发现有 iNOS 阳性表达。王世鄂等应用免疫组织化学法研究发现,性成熟大鼠睾丸间质血管壁有 eNOS 分布,间质细胞表达 iNOS 和 nNOS。iNOS 还存在于生精小管内的支持细胞、不成熟精子头部和管周类肌细胞;此外还发现性成熟大鼠中 3 种 NOS 呈强阳性反应,而性未成熟的大鼠中不表达或少量表达 NOS,可能睾丸对 NOS 活性有正向调节作用,性成熟大鼠睾酮合成和分泌增多,促使 NOS 大量表达。

Mabumi 等对大鼠卵巢进行研究发现,卵巢组织中有 iNOS 存在,免疫组化和原位杂交显示在大多数不成熟的卵泡颗粒细胞中有 iNOS mRNA 和蛋白质表达,但在有卵泡腔的成熟卵泡中无 iNOS mRNA。Spencer 等研究表明,大鼠子宫内膜中也有 iNOS 表达,在怀孕第 9d 蜕膜反应最明显时 iNOS 活性最强。有人用免疫组化方法对大鼠胎盘进行观察,发现非孕鼠的子宫肌肉上皮无 iNOS 表达,而孕鼠的子宫肌肉上皮及胎盘组织可见 iNOS 的表达。Schonfelder 等的研究发现,在胎盘和脐带中也有 iNOS 的表达。何东宁等研究发现,在大鼠子宫和阴道内 nNOS 也有分布,但在输卵管内却没有发现。

2 NOS 与 NO 影响动物生殖的作用机理

NO 分子小,具有脂溶性,能通过生物膜快速扩散,发挥自分泌或旁分泌作用。由于 NO 对 Fe^{2+} 具有很高的亲和力,因此它能与含有血红素基团的鸟苷酸环化酶相结合,改变酶的空间结构,使酶活性升高,细胞内第二信使 cGMP 生成增多,进而激活依赖于它的蛋白激酶,并抑制 Ca^{2+} 或钙调节蛋白引导的肌球蛋白氢链的磷酸化。细胞内的 Ca^{2+} 浓度降低,收缩蛋白对 Ca^{2+} 敏感性也减弱,肌细胞膜上 K^+ 通道活性下降,从而导致生殖系统血管内皮细胞及平滑肌细胞血管舒张。

神经系统兴奋性突触前膜释放的兴奋性氨基酸结合到突触后膜的受体上,引起膜的去极化,造成

Ca^{2+} 的内流。 Ca^{2+} 结合钙调节蛋白,激活 NOS,引起 NO 的合成。一氧化氮作为 NOS 辅基-铁血红素复合物的配体,也可能通过负反馈抑制 NOS 的活性。NO 通过简单扩散,作用于邻近的突触前或突触后可溶性的鸟苷酸环化酶,提高 cGMP 的水平而产生生理效应。由于神经细胞是生殖系统的重要组成成分,因此,NO 也可以通过以上机制发挥生理效应。

3 NOS 和 NO 对雌性动物生殖的影响

3.1 NOS 和 NO 参与卵巢发育及排卵

Jablonka-Shariff 等报道,将敲除 eNOS 基因的小鼠与正常小鼠作比较,发现 eNOS 缺陷会导致小鼠发情周期不正常、排卵率下降、卵巢形态异常及类固醇激素合成障碍。eNOS 和 NO 在卵泡发育中起重要作用,卵泡颗粒细胞及卵泡膜细胞中 eNOS 染色阳性,卵泡内及排出的卵母细胞特异表达 eNOS。随着卵泡的发育,亚硝酸盐和硝酸盐(NO 的代谢产物)在循环系统的水平增加,含量与卵泡大小成正相关。这说明 NO 在卵泡及卵母细胞发育过程中起重要作用。

NOS 在大鼠成熟卵泡的破裂中也起一定的作用。NOS 可能通过环氧合酶通路刺激 PGE (前列腺素)及 PGF_2 (前列腺素 F_2) 的表达,进而刺激卵泡破裂。另外, NOS 在大鼠卵泡闭锁中也有重要作用。Matsumi 等发现,大多数不成熟的大鼠卵泡颗粒细胞中存在 iNOS,而所有闭锁卵泡颗粒细胞中未检测到 iNOS 活性。在不成熟的大鼠卵泡颗粒细胞中,iNOS 产生的 NO 可能通过抑制颗粒细胞的凋亡来阻止大鼠卵泡的闭锁。

NO 在排卵中也起重要作用。切除 eNOS 小鼠比正常小鼠的排卵率显著降低,且在卵母细胞减数分裂成熟中表现不正常,卵母细胞的死亡率也增加。由于切除 eNOS 小鼠发情周期延长、发育卵泡数量减少以及卵母细胞排卵数量减少,这说明 NO 能调节神经内分泌——卵巢轴或局部调节卵巢类固醇的合成。在下丘脑区、垂体前部及后部发现 cNOS,NO 可能通过调节 GnRH 的分泌来调节 LH 的分泌,也可能通过这一机制来调节卵巢类固醇的生成。因为 NO 也调节血管的紧张度,所以 NO 可能通过调节脑下垂体门脉血流,间接影响激素的释放。

3.2 NOS 参与哺乳动物胚胎着床

Purcell 等报道了小鼠着床期 NOS 的表达时间与位置的关系,与非着床位点相比,妊娠 5d 着床位点 iNOS 水平显著增加,此种增加持续到 8d。eNOS 与 iNOS 相似,但峰值出现在 5d 和 8d。iNOS 定位于蜕膜处、子宫肌层血管的周围及外胎盘锥内;eNOS 位于邻

近胚胎的初级蜕膜区的血管内;nNOS 主要位于子宫系膜及子宫肌层,在整个着床期无变化。在着床过程中,着床位点 iNOS 及 eNOS 的表达可说明 NOS 可能在着床过程中起重要作用。

3.3 维持妊娠及启动分娩

在妊娠绵羊子宫中 nNOS 主要位于子宫肌层,而 eNOS 主要位于子宫内膜。在分娩前 nNOS mRNA 水平下降,但是 nNOS 酶活性及蛋白量在分娩前并没有下降。由于 nNOS mRNA 水平在分娩前期下降,很可能导致分娩时 nNOS 蛋白水平下降,表明 nNOS 和 NO 对维持妊娠可能是非常重要的。NOS 还可能通过抑制分娩必需的基因表达来维持子宫的静止。

子宫颈成熟是一种炎症反应,伴随有白细胞的浸润及细胞外基质的重组,这一过程的介导者还未完全确定。大鼠足孕期正常的子宫颈成熟过程中局部产生硝酸盐,且 NOS mRNA 表达增加。局部应用 NO 供体可诱导子宫颈成熟。在分娩期,子宫及胎盘中 NO 产量降低使分娩能够发生;相反,妊娠后期子宫颈 NO 产量则增加。

孕酮在维持妊娠期子宫及子宫颈方面起决定性作用,在孕酮的存在下,妊娠期细胞因子诱导的 iNOS 合成 NO。妊娠期子宫 NOS 表达是上调的,而妊娠期子宫颈 iNOS 的表达是下调的。在妊娠期,NO 与孕酮一起抑制子宫收缩,从而维持妊娠;在妊娠晚期,NO 与孕酮一起促进子宫颈的成熟,从而诱导分娩。

3.4 其它影响

NOS 还可能参与胎盘的形成及黄体的退化。现在还在小鼠胚胎干细胞中发现了 iNOS mRNA,而且它可能在胚胎干细胞中起作用,但其作用机制还不清楚。

4 NOS 和 NO 对雄性动物生殖的影响

4.1 参与睾丸微循环的调节和睾酮的分泌

NO 是一种血管舒张因子,与血管紧张性有关。Lissbrant 等对鼠睾丸进行局部注射 NOS 抑制剂 N-硝基-L-精氨酸后,血流减少、血压升高。说明 NOS 活性受到抑制,血管壁 NO 合成下降,导致血管收缩,血流减少。睾丸微循环在温度升高时血管扩张,温度降低时血管收缩。Sabaregh 等使用 NO 合成抑制剂后,睾丸小动脉舒张频率在较高温度(34~37℃)下失去了温度依赖性,而且血管平均直径明显下降,血管舒张幅度明显增加,失去了正常的应答反应性,说明 NO 具有维持睾丸小动脉紧张性,使其适应不同温度的作用。

Abams 等研究发现,皮下注射 NOS 抑制剂 1~2h,

血清睾酮水平明显升高,而 NO 相关药物可抑制睾酮的分泌,表明高浓度 NO 对睾酮的分泌起抑制作用。Valenti 等以 3 种 NO 供体对鼠进行试验后发现,NO 在低浓度时可以通过 cGMP 引导作用刺激睾酮的分泌;而在高浓度时又可以通过 cGMP 作用抑制睾酮的分泌。

4.2 对精子发育及精子活力的影响

王世鄂等研究发现,性成熟大鼠睾丸生精小管内的未成熟精子头部大量表达 iNOS,而管腔面的精子大量表达 nNOS。表明 NO 在精子变态成熟方面起重要作用,催化该部分 NO 的合成主要是 iNOS,由 nNOS 催化产生的 NO 具有维持精子进一步成熟的作用。推测 iNOS 催化支持细胞分泌的 NO 间接参与精子的发生;由 iNOS 催化类肌细胞产生的 NO 可调节其本身收缩,促使精子向附睾方向输送。

已有研究报道,NO 既有提高精子活动度的正面生理效应,又有抑制精子活动度的不良作用,这种双重作用的表现,主要由精液中 NO 的浓度所决定。Zhang 等研究表明,适量的 NO 有利于正常生育和弱精不育患者的精子存活率和运动能力的维持。

精子的受精过程包括获能及顶体反应等一系列复杂过程。Herrero 等采用免疫荧光技术进行了人和鼠精子 NOS 的定位研究,发现 NOS 主要分布在精子的顶体和尾部,表明 NO 与精子的运动、获能以及顶体反应密切相关。Zini 等认为,在低浓度 NO 递质中,可以明显增强精子的获能。Yeoman 认为,NOS 抑制剂在精子获能后期的超活化或活动亢进阶段,具有明显的抑制作用,提示 NO 在精子获能后期的重要作用。Viggiano 等认为,在精子发生顶体反应中,NOS 具有重要作用,当加入 NOS 抑制剂时,可以对精子自然发生的顶体反应产生抑制作用。

诸多试验表明,NOS 主要分布在动物生殖系统的睾丸、子宫、胎盘和卵巢中,并对雌性动物卵泡的发育、排卵、卵母细胞减数分裂有调节作用,同时还参与胚胎着床、维持妊娠、调节分娩等;而对雄性动物则主要是调节睾丸微循环,参与睾酮分泌,影响精子发生,调节精子活力和受精能力等。由于 NOS 和 NO 对生殖的调节具有双重性,既有正面的生理效应,又有负面的不良影响,所以 NOS 和 NO 对生殖功能的研究工作还相当复杂和艰难,对于动物的生理生化及代谢特征的影响,具有重要的理论研究价值和应用前景。

(编辑:刘敏跃,lm-y@tom.com)

不同添加剂及其组合对大菱鲆生长性能与水环境的影响

李 勇 王优军 王 雷 蒋克勇

摘 要 在基础饲料(A组,对照组)中分别添加 0.04%低聚木糖(B组)、0.13% β -葡聚糖(C组)、0.08%胆汁酸(D组)和同量组合添加(E组),形成 5 个处理组。采用随机区组试验设计,将体重(151.3 ± 15.2)g 的健康大菱鲆鱼 165 尾平均分配到 5 个处理组(A~E)中(每组 3 重复),进行试验和测定。经 72d 试验表明,总体效果以 E 组最优,C 和 B 组接近 E 组,D 组优于 A 组而劣于 C 和 B 组。与 A 组比较,E、C、B 和 D 组鱼的增重率分别提高 15.4%、13.9%、12.4%($P < 0.05$)和 7.4%($P > 0.05$),特定生长率分别提高 12.0%、10.5%、9.3%($P < 0.05$)和 6.7%($P > 0.05$),饲料系数分别降低 6.9%、6.2%和 5.4%($P < 0.05$)和 3.8%($P > 0.05$);水中氨氮含量分别提高 4.0%、3.2%、3.0%和 0.8%($P > 0.05$),COD(化学需氧量)分别提高 2.8%、-2.2%、-3.4%和 0.8%($P > 0.05$)。结果表明:在生长大菱鲆配合饲料中,3 种添加剂组合添加后优势互补,达到最优的促生长效果; β -葡聚糖或低聚木糖单独添加,表现出优良的促生长作用;单独添加胆汁酸也有良好效果。3 种添加剂对水环境因子变化影响较小。

关键词 添加剂;生长性能;水环境;大菱鲆

中图分类号 S963.73

为了人类的健康和养殖业的可持续发展,在污染日益严重、饲料资源日趋紧缺的今天,必须探寻既能提高动物饲料利用率、生产性能和产品质量,又可最大限度的减少环境污染的途径。随着抗生素添加剂在饲料中的限制和禁用,绿色、无公害、环保的非营养性添加剂越来越受到人们的关注。

新型非营养性添加剂大多源自现代生物技术,具有改善水产动物胃肠微生态环境,增强免疫力,促进营养消化吸收,减少营养素排泄,提高生产性能等特殊作用^[1]。已有一些此类添加剂对水产动物效应的研究^[2-4],但有关其对水环境影响的研究甚少,而在海水养殖鲆鲽鱼类方面的研究尚未见报道。本研究选取低聚木糖、胆汁酸、 β -葡聚糖 3 种新型非营养性添加剂,探寻其对大菱鲆幼鱼生长及水环境的影响,为研究其生态营养需要量和无公害饲料提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验用鱼及分组

试验用大菱鲆购自专业水产养殖公司,平均体重(151.3 ± 15.2)g。试鱼经消毒处理,饲养驯化 20d 后,挑

选体质健康、个体大小均匀的幼鱼 165 尾,采用随机区组试验设计,平均分为 5 个试验组(A~E),每组 3 个重复。对 5 组试鱼初始体重进行方差整齐性检验,组间差异不显著($P > 0.05$),然后开始正式试验。

1.2 试验饲料

各处理组使用相同基础日粮,其配方是在前期研究基础上经进一步优化确定的^[5],主要原料为优质鱼粉、鱼油、淀粉、复合矿物质和复合维生素,具体配方见表 1。在基础日粮中添加不同添加剂形成不同试验处理组:A 组(对照组),饲喂基础日粮;B 组(低聚木糖组),基础日粮+0.04%低聚木糖;C 组(β -葡聚糖组),基础日粮+0.13% β -葡聚糖;D 组(胆汁酸组),基础日粮+0.08%胆汁酸;E 组(组合组),基础日粮+0.04%低聚木糖+0.13% β -葡聚糖+0.08%胆汁酸。试验饲料经颗粒机制成直径为 8mm 的半沉性颗粒饲料,饲料中均匀加入 0.5%的 Cr_2O_3 作为指示剂可用于测定鱼的消化率。

表 1 试验大菱鲆鱼基础饲料配方组成及主要营养成分(%)

配方原料	含量	营养成分	
脱脂鱼粉	80	干物质	90.3
精制鱼油	7	粗蛋白质	51.44
小麦淀粉	10	粗脂肪	16.3
粘合剂	1.5	粗纤维	0.9
指示剂(Cr_2O_3)	0.5	粗灰分	9.8
维生素预混剂	0.5	无氮浸出物	11.86
微量元素预混剂	0.5	水分	9.7
合计	100		

注:无氮浸出物为计算值,其余为实测值。

李勇,中国科学院海洋研究所,研究员,博士,266071,青岛。

王优军、王雷、蒋克勇,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2006-03-21

★ 基金项目:山东省科技攻关项目,项目编号 031070120;青岛市科技攻关项目,项目编号 03-3-hh-16

低聚木糖购自江苏康维生物有限公司,有效成分

含量 35%; β -葡聚糖购自专业生产公司,有效成分含量 20%;胆汁酸购自专业生产公司,有效成分含量 15%。

1.3 试验方法

试验于 4 月至 7 月在青岛进行,正式试验期 72d,前期 38d,后期 34d。采用循环海水养殖,试鱼在圆桶中(直径 60cm、高 55cm)养殖,养殖水深 35cm,每个圆桶配备一个气石,循环海水经过砂滤、臭氧等处理系统后进入养殖桶,其流量为 0.8L/min。光照情况为 14h 光和 10h 暗交替进行。试验期间水质情况:温度 12~20℃,盐度为 30~31,pH 值为 7.8~8.4,溶氧值为 6~8mg/l。

每日投饲 2 次,时间为 7:00 和 17:00,每天投饲量为鱼体重的 2%~2.5%,每次投喂过程持续 30 min 至 1h,之后吸取残存饵料,65℃烘干称重且从投饲量中扣除残饲。根据鱼体重量及摄食情况,及时调整投喂量。在试验开始、中间和结束时分别对鱼体称重。

试鱼生长指标按如下公式计算:

增重率(%)=(末重-初重)/初重;日特定增长率(%)

$=(\ln \text{末重} - \ln \text{初重})/\text{养殖天数}$;饲料系数=摄食量/(末重-初重);蛋白质效率=(末重-初重)/(摄食量×蛋白含量)。

1.4 水环境因子测定方法

水质因子测定在生长试验的第 60d 进行,当天早晨饲喂完毕后,吸出残存饵料,将养殖海水全部更换,然后关闭循环水,正常通气。在试鱼排粪高峰期(饲喂后约 8~10h)后,每桶均匀采集水样 300ml,置-20℃冷冻保存,抽滤后使用荷兰 Skalar san^{plus} 全自动水质分析仪分析,24h 内检测样品中氨氮(NH₃-N)、硝氮(NO₃-N)、亚硝氮(NO₂-N)和磷酸盐(PO₄)的浓度;化学需氧量(COD)按国家标准高锰酸钾氧化法测定^[6]。

1.5 统计分析

所有指标均用 SPSS10.0 统计软件中随机区组设计的方差分析进行统计分析,多重比较采用 LSD、Duncan's 法进行。

2 试验结果

2.1 生长试验结果(见表 2)

从表 2 可知,3 种添加剂不同程度提高了大菱鲆

表 2 不同添加剂对大菱鲆生长性能的影响

项目	A 组	B 组	C 组	D 组	E 组
初重(g)	150.4±14.7 ^a	151.6±15.6 ^a	151.5±15.1 ^a	151.5±15.6 ^a	151.4±16.2 ^a
末重(g)	263.7±60.0 ^a	278.4±71.0 ^b	278.9±57.8 ^b	269.7±56.4 ^{ab}	280.6±62.8 ^b
增重率(%)	72.6±19.9 ^a	81.6±26.3 ^b	82.7±18.3 ^b	78.0±18.2 ^{ab}	83.8±19.4 ^b
日特定增长率(%)	0.75±0.16 ^a	0.82±0.20 ^b	0.83±0.14 ^b	0.80±0.14 ^{ab}	0.84±0.15 ^b
饲料系数	1.30±0.12 ^a	1.23±0.14 ^b	1.22±0.08 ^b	1.25±0.13 ^{ab}	1.21±0.09 ^b
蛋白质效率	1.61±0.10 ^a	1.71±0.13 ^{bc}	1.70±0.07 ^{bc}	1.67±0.10 ^{abc}	1.73±0.03 ^c

注:同列数据肩注字母相同表示组间差异不显著(P>0.05),字母相邻表示组间差异显著(P<0.05),字母相间表示组间差异极显著(P<0.01)。

的生长性能。E、C、B 3 组的增重率、日特定增长率、饲料利用率和蛋白质效率比 A 组都显著或极显著提高,其中增重率分别提高 15.4%、13.9%、12.4%(P<0.05),日特定增长率分别提高 12%、10.7%和 9%(P<0.05);饲料系数分别下降 6.9%、6.2%和 5.4%(P<0.05);蛋白质效率分别提高 7.5%(P<0.01)、5.6%和 6.2%(P<

0.05)。D 组各项指标与其它各组差异均不显著(P>0.05),较 A 组有所提高,说明 β -葡聚糖和低聚木糖的促生长和提高饲料利用率的作用比胆汁酸较强,三者组合的效果更显著,且蛋白质效率极显著提高。

2.2 水质因子测定结果(见表 3)

由表 3 可见,不同添加剂及组合对试验鱼所处水

表 3 不同添加剂对生长大菱鲆水环境因子的影响($\mu\text{g/L/D/条}$)

项目	NH ₃ -N	NO ₃ -N	NO ₂ -N	PO ₄ -P	COD
A 组	45.69±1.21 ^a	4.68±0.28 ^a	1.65±0.21 ^a	4.54±0.12 ^a	415.3±35.5 ^a
B 组	47.07±1.97 ^a	4.79±0.18 ^a	1.69±0.28 ^a	4.66±0.29 ^a	401.2±43.2 ^a
C 组	47.13±1.96 ^a	4.83±0.95 ^a	1.70±0.32 ^a	4.68±0.21 ^a	405.8±13.2 ^a
D 组	46.07±1.19 ^a	4.72±0.61 ^a	1.66±0.16 ^a	4.58±0.13 ^a	418.8±21.0 ^a
E 组	47.54±1.67 ^a	4.71±0.32 ^a	1.72±0.22 ^a	4.72±0.09 ^a	427.1±19.2 ^a

环境因子变化有小幅影响,统计差异不显著(P>0.05)。氨氮、亚硝氮和磷酸盐含量变化趋势相同,A、D、B、C、E 组呈现依次增加趋势;E、C、B 和 D 组氨氮

含量比 A 组分别提高 4.0%、3.2%、3.0%和 0.8%,亚硝氮含量比 A 组分别提高 4.2%、3.0%、2.4%和 0.6%,磷酸盐含量比 A 组分别提高 4.0%、3.1%、2.6%和 0.9%。

COD 以 E 和 D 组较高, A 组居中, B 和 C 组较低; E 和 D 组较 A 组分别提高 2.8% 和 0.8%, B 和 C 组较 A 组分别降低 3.4% 和 2.3%。

3 分析与讨论

3.1 不同添加剂对鱼体生长的影响

β -葡聚糖的主要作用是激活动物免疫系统, 增强免疫力, 提高动物的整体健康状况, 使动物体的各项生理功能处于良好状态, 间接改善包括消化酶活力以及胃肠道微生物的功能, 最终促进动物生长, 并提高饲料利用率。国内外已有一些 β -葡聚糖或 β -1,3 葡聚糖对水产动物生长作用的研究, 但研究结果有一定差异。阳会军等^[7]在斑节对虾、陈政强等^[8]在南美白对虾研究中发现, β -葡聚糖对增重、存活率有显著提高, 并显著降低饲料系数。但 Boonyaratplain^[9]报道, 过量投喂含肽 β -1,3 葡聚糖的饵料对斑节对虾的生长和存活率都有副作用。许国焕等^[10]、陈云波等^[11]也有类似报道。可见不同的试验结果差异与添加量、动物种类、试验条件等有关。较多研究表明, 添加较低量 β -葡聚糖的促生长作用显著, 这与本试验结果一致。

关于低聚木糖促进水产动物生长方面的研究报道很少。低聚木糖是最新的寡糖类添加剂, 由 2~8 个木糖以 β -1,4 糖苷键连接而成, 在动物体内不易被消化酶消化分解, 它通过在体内发酵后, 能被几类双歧杆菌和乳酸菌利用^[12,13]。通过对双歧杆菌等有益菌数量的增加而刺激胃肠道上皮细胞的增生, 从而增强了消化酶的活性^[14]。因此其对饲料的消化吸收能力加强, 从而促进了鱼体的生长增重, 降低了饲料系数。张红梅等^[15]饲喂基础日粮酵母甘露寡糖, 结果表明, 鲤鱼增重率显著提高, 饲料系数明显降低。Shiau 和 Yu 对罗非鱼^[16]、Kolman 等^[17]对鲟鱼幼体的研究都得出类似结论。这些结果报道与本试验低聚木糖的效果相似。

胆汁酸在食物的消化过程中, 可以起到辅助脂肪酶的作用, 并能促进有益菌的繁殖, 因而胆汁酸可以促进动物摄食、降低饲料系数、降低饲养成本。林仕梅等^[18]研究表明, 胆汁酸能有效提高异育银鲫的生长速度和饲料转化率。颜志刚等^[9]研究表明, 胆汁酸能有效提高虹鳟鱼的生长速度, 降低饲料系数。本试验添加胆汁酸也显示促生长的正效应, 但降低饲料系数的幅度较小, 可能与试验鱼种类不同有关。

本研究的生长试验结果表明, 3 种添加剂组合后促生长和提高饲料利用率的效果最优, 单独添加 β -葡聚糖或低聚木糖的作用较强, 胆汁酸的效果居第 4

位。肉食鱼类个体生长过程就是物质(主要为蛋白质)在体内的贮留过程, 3 种添加剂组合或单独添加后, 增强了鱼体的抗病力和整体健康水平, 从而提高了蛋白质及其它营养物质的消化和利用率, 最终提高了生长性能和饲料利用率。关于 3 种添加剂组合显著提高大菱鲆生长性能的机理还需进一步深入研究。

3.2 不同添加剂与水环境因子变化的关系

在评价水生态环境的多项指标中, $\text{NH}_3\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、COD、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 等都是很重要的因子。养殖水体富营养化与多种因素有关, 其中与鱼虾对氮、磷等的排泄密切相关^[19]。鱼虾吸收的部分氮不是用于体组织生长, 而是以能量的形式代谢, 通过粪、尿、鳃、体表等排放到水体中, 造成污染^[20]。李勇等^[1]报道, 投喂的饲料中约有 10%~20% 的氮未被鱼摄食直接溶失到水中, 摄入饲料约有 20%~25% 的氮和 25%~40% 的磷用于生长, 其余氮、磷以粪便和代谢物形式排入水环境。养殖水体中排泄物和残饵逐渐累积, 使水环境中物理和化学指标及生物学因子发生改变, 引起水体自净能力下降, 导致水体富营养化或水质恶化。

本试验分析结果表明, 3 种添加剂对水环境因子变化有一定影响, 但与对照组统计差异均不显著($P>0.05$), 各试验组与对照组比较, 水体中“三氮”和磷酸盐含量的增幅基本在 4% 以下, 说明影响水质因子变化的程度较小。从 COD 结果看, 单独添加更有益于水环境稳定。

3 种添加剂组合或单独添加后, 在发挥促消化和促生长作用的同时, 使养殖水体中三氮、磷酸盐和 COD 均有小幅增加或变化。这与项目前期蛋白质生态营养需要量试验研究结果有相似性, 即随生长性能提高, 水中氨氮、磷酸盐浓度增加^[9]。说明促生长、促消化、促采食等效应与水质因子变化密切相关, 一般为负相关。因此, 水质因子(氨氮、磷酸盐、COD 等)作为水产动物营养与饲料研究的主要衡量指标之一, 是科学和必要的。

4 小结

在生长大菱鲆配合饲料中, 3 种添加剂组合添加后优势互补, 达到最优的促生长效果; β -葡聚糖或低聚木糖单独添加, 表现出优良的促生长作用; 单独添加胆汁酸也有良好效果。3 种添加剂对水环境因子变化影响较小。

根据本试验和项目前期研究结果, 应将水质因子(氨氮、磷酸盐、COD 等)作为水产动物营养与饲料研究的主要衡量指标之一。

参考文献

- 李勇,王雷,蒋克勇,等.水产动物营养的生态适宜与环保饲料.海洋科学, 2004, 28(3):76~78
- G. Jeney, D.P. Anderson. Glucan injection or bath exposures given alone or in combination with bacterin enhance the non-specific defense mechanisms in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 1993(116):315~329
- 顾志刚,牛翠娟.可利康对虹鳟生长的影响.饲料研究, 2002(10):22~22,25
- Baulny M O D, Quentel C, Fournier V, et al. Effect of long-term oral administration of β -glucan as an immunostimulant or an adjuvant on some non-specific parameters of the immune response of turbot (*Scophthalmus maximus*). *Dis. Aqua.org.*, 1996(26):139~147
- 蒋克勇,李军,李军,等.大菱鲆幼鱼蛋白质消化特征及其对水环境的影响.海洋科学进展, 2005, 23(3):335~342
- 国家海洋局.海洋监测规范.海洋出版社, 1991.254~257
- 阳会军,谭北平,等.饲料中添加不同水平 β -葡聚糖对斑节对虾生长、存活及其抗病力的影响.饲料工业, 2001, 22(9):18~19
- 陈政强,冯建军,战文斌,等.虾类养殖研究.北京:海洋出版社, 2002
- Boonyaratpalin S M, Boonyaratpalin K, Supamattaya, et al. Effects of peptidoglycan (PG) on growth, survival, immune response and tolerance to stressor in black tiger prawn (*Penaeus monodon*). In: Diseases in Asian Aquaculture II proceeding of the second symposium on Diseases in Asian Aquaculture, 1993, 469~477
- 许国焱,吴月嫦,陶家发.两种多聚糖对彭泽鲫生长影响及免疫促进作用的初步研究.水利渔业, 2002, 22(4):49~51
- 陈云波,周洪琪,华雪铭,等.饲料中添加 β -葡聚糖对南美白对虾的生长、存活及饲料系数的影响.淡水渔业, 2002, 32(5):55~56
- Yasuhiro Kimura, Yasuo Nagata, Carron W, et al. Buddington. Nondigestible Oligosaccharides Do Not Increase Accumulation of Lipid Soluble Environmental Contaminants by Mice. *Nutr.*, 2002 (132):80~87
- Cheng Kuang Hsu, iunn Wang Liao, Yun Chin Chung, et al. Xylooligosaccharides and Fructooligosaccharides Affect the Intestinal Microbiota and Precancerous Colonic Lesion Development in Rats. *Nutr.*, 2004(134):1 523~1 528
- Howard M D, Gordon D T, Garleb K A, et al. Dietary fructooligosaccharide, xylooligosaccharide and gum arabic have variable effects on cecal and colonic microbiota and epithelial cell proliferation in mice and rats. *Nutr.*, 1995(125):2 604~2 609
- 张红梅,姜会民.甘露寡糖对鲤鱼生产性能的影响.饲料研究, 2004 (9):38~40
- Shiau S Y, Yu L P. Dietary supplementation of chitin and ehitosan depresses growth in tilapia, *Oreochromis niloticus* \times *O. aureus*. *Aquaculture*, 1999(179):439~446
- Kolman R, Kolman H, Siwichi A K. The effect of some immunomodulators on the growth rate of sturgeon fry (*acipenseridae*). *Arch. Pol. Fish*, 1998, 6(2):383~390
- 林仕梅,叶元土,罗莉.胆汁酸添加剂对异育银鲫生长的影响.广东饲料, 2002(3):14~15
- G.S. Toor, L.M. Condron, H.. Di, et al. Cameron and B.. Cade-Menun, Characterization of organic phosphorus in leachate from a grassland soil. *Soil Bio. Biochem.*, 2003(35):1 317~1 323
- Dosdat, A, Gaumet F, Chartois H. Marine aquaculture effluent monitoring: methodological approach to the evaluation of nitrogen and phosphorus excretion by fish. *Aquaculture Engineering*, 1995 (14):59~84

(编辑:孙崎峰, sqf0452@126.com)

·信息采撷·

提高猪的免疫能力

在生产条件下,经常有外界不利因素对牲畜产生负面影响,破坏牲畜的新陈代谢,造成器官和机体系统的病变,导致过早淘汰,甚至夭折。

为提高牲畜的免疫力,我们研究了丁二酸及其它维生素矿物质对猪生产指标的影响。我们将体重在 160~180kg 的 2 年龄大白种母猪 10 头平均分成 2 组用于实验(第二组为对照组),母猪按常规饲养方式喂养。

在产仔前的一个月开始对第一组的所有母猪添加油质溶液——醋酸盐松香油(每 10d 1 次,每次 18 000 个国际单位);按每千克体重 0.005mg 的比例一次性添加纯度为 10% 的醋酸盐生育酚;每 20d 一次按每千克体重 0.1~0.2mg 的比例添加纯度为 0.1% 的亚硒酸钠溶液;每天给实验母猪的日粮中补充丁二酸铁 0.3mg/kg,在仔猪出生后到断乳前的这段时间,将丁二酸铁的剂量提高到 0.9mg/kg。

实验结果表明,给怀孕和哺乳母猪使用的制剂对猪的怀孕期和分娩期的整体状况都起到了良好的改善作用。实验母猪的平均产仔数为 13 头,仔猪的平均实际体重(1.265kg)比对照组(0.935kg)高 25.5%,而且仔猪不用接受缺铁性贫血的预防处理;而对照组仔猪需要注射 2 次葡聚糖铁-75,间隔为 10d,每头剂量为 2ml,每头母猪的平均产仔数为 8 头。出生 45d 后,实验组仔猪的平均体重为 18.2kg,对照组为 13.5kg。

综上所述,给受孕和哺乳母猪的日粮中添加醋酸盐松香油和醋酸盐生育酚油质溶液,以及亚硒酸钠和丁二酸铁溶液喂养,可以保证仔猪在母体内以及出生后的正常发育,并能平衡母猪新陈代谢,提高产仔数。

阿里扎杰 卡撒诺夫,金纳基 巴霍莫夫,谢尔盖 斯莫连采夫
中国石油天然气管道局 王慧丽 译

氨基酸微量元素螯合物对异育银鲫生长及其品质的影响

罗莉 梁金权 陈小川 唐显虹 彭传义 李芳远 董杨 杨阳

摘要 试验研究了氨基酸微量元素螯合物对异育银鲫生长及其品质的影响。结果表明,①氨基酸微量元素螯合物替代无机微量元素能显著促进异育银鲫生长,提高饲料利用效率,其中,以65%替代无机微量元素的促生长效果最好,饲料利用效率最高,日特定生长率和饲料利用效率分别增加25.37%和26.32%。②用氨基酸微量元素螯合物替代无机微量元素后,鱼体水分、灰分含量无显著差异,以65%替代无机微量元素后,鱼体蛋白含量提高1.75%;鱼体脂肪含量在35%、50%、65%替代无机微量元素后,均有增加。③氨基酸微量元素螯合物35%、50%、65%替代无机微量元素,对鱼体肥满度没有产生影响,但内脏比均增加。④氨基酸微量元素螯合物以35%、50%、65%替代无机微量元素后,提高了成活率、降低了养殖饲料成本。⑤在氨基酸微量元素螯合物基础上再添加黄霉素,具有更好的促生长效果和更高的饲料利用效率。

关键词 氨基酸微量元素螯合物;异育银鲫;无机微量元素

中图分类号 S963.73*1

Effects of element chelates of amino acids on growth and quality of crucian carp

Luo Li, Liang Jingquan, Chen Xiaochuan, Tang Xianhong, Peng Chuanyi,

Li Fangyuan, Dong Yang, Yang Yang

Abstract The experiment studied the effects of amino acid chelates on growth and quality of crucian carp. The results showed that, ① after element chelates of amino acids replaced 65% of inorganic elements (including iron, zinc, copper and manganese) in diets, it remarkably improved growth and feed utilization of crucian carp than inorganic elements did, and SGR (special growth ratio) and feed efficiency was improved by 25.37%, 26.32%, respectively. ② There were no significance of moisture and ash of fish between experimental groups fed amino-acid chelates and control group fed inorganic element. ③ After element chelates of amino acid replaced dietary 65% of inorganic elements, crude protein of fish was increased by 1.75%; and after it replaced 35%, 50%, 65% of inorganic elements, crude fat and survival ratio of fish were all improved and costs of culture were all decreased. ④ There were better growth and feed efficiency when diets of crucian carp were supplemented flavomycin premix on the base of supplementation of element chelates of amino acids. plant lactobacillus had the resistant to 10 of the 32 kinds antibacterial; and 4 strains sporangium bacilliform bacteria were sensitive to 32 kinds antibacterial except bacitracin. This test results have scientific guidance meaning for developing and application in livestock and poultry production of microbe animal feed additive.

Key words element chelates of amino acids; crucian carp; inorganic element

本试验以我国重要的经济养殖鱼类异育银鲫为研究对象,研究氨基酸微量元素螯合物对异育银鲫生长、饲料利用率及其品质的影响,旨在对氨基酸微量

元素螯合物在饲料中的适宜添加量的研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验鱼

异育银鲫鱼种,购自北碚歇马鱼场,体长8.5~9.0cm、体重28.0~29.2g,共435尾。

1.1.2 添加剂

氨基酸螯合铁、锌、铜、锰(为复合氨基酸螯合盐)和黄霉素由重庆综艺营养科技有限公司提供。

罗莉,西南大学水产学院,400716,重庆。

梁金权、唐显虹,重庆综艺营养科技有限公司。

陈小川、李芳远、董杨、杨阳,单位及通讯地址同第一作者。

彭传义,重庆永川市教委。

收稿日期:2006-02-27

1.2 试验设计

设计 5 个试验组, 每组设置 3 个重复, 每个重复 29 尾异育银鲫。I 组在饲料中添加无机微量元素; II 组和 IV 组、III 组、V 组分别在饲料中添加氨基酸微量元素螯合物 2、1、3 (即分别以 50%、35%、65% 替代无机微量元素), 除 II 组不添加黄霉素外, 其余各组各添加黄霉素 4mg/kg。采用 SDY-Z4A 多功能一步颗粒饲料机, 将日粮用干法制成直径 1.0mm 颗粒饲料。日粮配方及营养指标见表 1、表 2, 矿物元素添加剂组成见表 3。

表 1 异育银鲫试验饲料配方

项目	试验组				
	I 组	II 组	III 组	IV 组	V 组
国产鱼粉 (%)	16	16	16	16	16
豆粕 (%)	30	30	30	30	30
菜粕 (%)	24	24	24	24	24
次粉 (%)	15.8	15.8	15.8	15.8	15.8
麦麸 (%)	8	8	8	8	8
菜油 (%)	3	3	3	3	3
Ca(H ₂ PO ₄) ₂ (%)	2	2	2	2	2
无机微量元素 (%)	1				
氨基酸微量元素螯合物 1 (%)			1		
氨基酸微量元素螯合物 2 (%)		1		1	
氨基酸微量元素螯合物 3 (%)					1
黄霉素 (mg/kg)	4	0	4	4	4
复合维生素 (%)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2

表 2 异育银鲫试验饲料营养指标 (%)

水分	粗蛋白	粗脂肪	粗灰分	钙	磷
9.38	35.33	6.15	6.23	1.37	1.49

1.3 养殖试验

1.3.1 预备试验

2004 年 5 月 25 日, 将买来的异育银鲫放入 21 个容积为 0.25m³ (直径 60cm、高 80cm) 的循环玻璃钢水族箱中, 每天分 3 次投喂饲料, 驯食 18d, 直到异育银鲫适应环境和饲料吃食正常后开始正式试验。

1.3.2 正式试验

选择驯食正常、体质健康、尾均重基本一致的异育银鲫, 随机分成 5 组。试验期间, 循环水族箱系统每隔 0.5h 循环一次。替换用水由自来水经充分曝气后使用, 每天养殖系统换水量约为 1/5。每天 8:00、12:00、18:00 各投喂饲料一次, 投饲率 1%~2%, 溶解氧保持在 6mg/l 以上, 水温 25~30℃。试验结束当天上午准确称重 (距离最后一次投饲时间为 14h)。正式试验于 2004 年 6 月 12 日~7 月 13 日共 31d。

1.4 饲料营养成分分析方法

采用 105℃ 烘干恒重法测定水分含量; 凯氏定氮法测定粗蛋白 (CP) 含量; 索氏抽提法测定粗脂肪 (EE) 含量; 高温灰化法测定粗灰分 (CA) 含量。

表 3 矿物质添加剂预混料试验设计

	元素	元素总添加量 (mg/kg)	添加形式 1	元素添加量 1 (mg/kg)	添加形式 2	元素添加量 2 (mg/kg)
无机微量元素	Cu	3.2	硫酸铜	3.2	氨基酸铜	0
	Fe	150	硫酸亚铁	150	氨基酸铁	0
	Zn	34	硫酸锌	34	氨基酸锌	0
	Mn	13	硫酸锰	13	氨基酸锰	0
氨基酸微量元素螯合物 1 35% 替代无机微量元素添加量	Cu	3.2	硫酸铜	2.08	氨基酸铜	1.12
	Fe	150	硫酸亚铁	97.5	氨基酸铁	52.5
	Zn	34	硫酸锌	22.1	氨基酸锌	11.9
	Mn	13	硫酸锰	8.45	氨基酸锰	4.55
氨基酸微量元素螯合物 2 50% 替代无机微量元素添加量	Cu	3.2	硫酸铜	1.6	氨基酸铜	1.6
	Fe	150	硫酸亚铁	75	氨基酸铁	75
	Zn	34	硫酸锌	17	氨基酸锌	17
	Mn	13	硫酸锰	6.5	氨基酸锰	6.5
氨基酸微量元素螯合物 3 65% 替代无机微量元素添加量	Cu	3.2	硫酸铜	1.12	氨基酸铜	2.08
	Fe	150	硫酸亚铁	52.5	氨基酸铁	97.5
	Zn	34	硫酸锌	11.9	氨基酸锌	22.1
	Mn	13	硫酸锰	4.55	氨基酸锰	8.45

注: 以上 4 个配方中碘、硒、钴由无机盐供给, 含量相同, 其载体为石粉; 添加量为每千克饲料中的添加量。

1.5 养殖试验指标

日特定增长率 (%) = $(\ln W - \ln W_0) / d$;

饲料系数 = $F / (W - W_0)$;

饲料转化效率 = $(W - W_0) / F$;

肥满度 = $(W / L^3) \times 100$;

内脏比 = 内脏重 / 鱼体重。

式中: W ——试验结束时鱼体尾均重 (g);

W_0 ——试验开始时鱼体尾均重 (g);

d ——养殖试验天数;
 F ——尾均摄食总量(g);
 L ——鱼体长(cm)。

1.6 统计处理

试验结果采用 SPSS12.0 版统计软件中 One-Way

ANOVA 进行方差分析,并进行 Duncan's 多重比较。

2 结果

2.1 氨基酸微量元素螯合物对异育银鲫生长的影响(见表 4)

从表 4 可知,异育银鲫的日特定生长率表现为:

表 4 氨基酸微量元素螯合物的养殖效果

项目	I 组	II 组	III 组	IV 组	V 组
初始尾均重(g)	28.45±0.07	28.73±0.80	28.49±0.59	28.88±0.81	28.51±0.01
结束尾均重(g)	35.02±0.08 ^c	34.39±0.93 ^b	35.50±0.31 ^b	36.10±0.06 ^a	36.99±1.56 ^a
日特定生长率(%)	0.67±0.05 ^c	0.58±0.04 ^d	0.71±0.02 ^b	0.72±0.03 ^b	0.84±0.06 ^a
饲料系数	1.76±0.03 ^b	1.93±0.05 ^a	1.57±0.06 ^c	1.42±0.09 ^d	1.39±0.06 ^c
饲料转化效率	0.57±0.05 ^c	0.52±0.02 ^d	0.64±0.03 ^b	0.71±0.04 ^a	0.72±0.03 ^a

注:试验数据肩注中字母不同者,表示差异显著($P<0.05$)或($P>0.01$);字母相同者,表示差异不显著($P>0.05$),下表同。

V 组>IV 组>III 组>I 组>II 组。V 组、IV 组、III 组的日特定生长率分别比 I 组增加 25.37%、7.46%、5.97%,差异显著 ($P<0.05$)。表明氨基酸微量元素螯合物以 35%、50%、65%替代无机微量元素后,均比无机微量元素更能促进异育银鲫生长;其中 V 组(即氨基酸微量元素螯合物以 65%替代无机微量元素组)的日特定生长率最高。对 II 组与 IV 组比较来看,两组的饲料的相同点是均添加氨基酸微量元素螯合物 2,不同点是 II 组没添加黄霉素,IV 组添加黄霉素 4mg/kg,而 IV 组的日特定生长率明显高于 II 组,差异显著 ($P<$

0.05),表明在氨基酸微量元素螯合物基础上再添加黄霉素,具有更好的促生长效果。

从饲料系数(即料肉比)来看,表现为 V 组<IV 组<III 组<I 组<II 组。从饲料转化效率来看,表现为 V 组>IV 组>III 组>I 组>II 组,V 组、IV 组、III 组分别比 I 组增加 26.32%、24.56%、12.28%,差异显著 ($P<0.05$)。表明氨基酸微量元素螯合物元素以 35%、50%、65%替代无机微量元素含量后,比无机微量元素更能提高异育银鲫对饲料的作用,其中 V 组(即氨基酸微量元素螯合物以 65%替代无机微量元素量组)的饲料

表 5 氨基酸微量元素螯合物对异育银鲫体营养组成的影响 ($\bar{X}\pm SD$)(%)

项目	I 组	II 组	III 组	IV 组	V 组
水分	76.76±0.58 ^a	75.98±0.65 ^{ab}	75.97±0.30 ^{ab}	75.57±0.67 ^b	75.93 ±0.52 ^{ab}
粗蛋白	16.03±0.06 ^b	15.71±0.06 ^c	15.81±0.03 ^c	16.00±0.06 ^b	16.31±0.01 ^a
粗脂肪	4.24±0.15 ^d	4.87±0.15 ^b	4.68±0.25 ^c	4.69±0.15 ^c	5.06±0.09 ^a
粗灰分	3.42±0.07	3.51±0.11	3.44±0.11	3.51±0.02	3.38±0.07

利用效率最高。对 II 组与 IV 组比较来看,IV 组的饲料利用效率高于 II 组,差异显著($P<0.05$),表明在氨基酸微量元素螯合物基础上再添加黄霉素,具有更好的促进饲料利用的效果。

2.2 氨基酸微量元素螯合物对异育银鲫品质的影响(见表 5、表 6)

由表 5 可见,鱼体水分含量差异不显著($P>0.05$),表明饲料中添加氨基酸微量元素螯合物与添加无机微量元素的鱼体水分含量无差异,饲料中添加黄霉素对鱼体水分无影响。

对鱼体营养组成来看,I~V 组之间鱼体粗灰分含量差异不显著($P>0.05$);粗蛋白含量表现为 V 组>I 组>IV > III 组>II 组。结果表明:①氨基酸微量元素螯合

物元素以 65%替代无机矿物盐元素含量后,鱼体蛋白含量比无机微量元素组高,提高 1.75%,差异显著($P<0.05$),而 35%替代组低于无机微量元素组,50%替代组与无机微量元素组差异不显著($P>0.05$);②对 II 组与 IV 组比较来看,IV 组的鱼体蛋白含量高于 II 组,差异显著($P<0.05$),表明在氨基酸微量元素螯合物基础上再添加黄霉素,具有提高鱼体蛋白含量的作用。

表 6 异育银鲫内脏重占体重的百分比和肥满度($\bar{X}\pm SD$)

项目	I 组	II 组	III 组	IV 组	V 组
内脏比	8.90±1.06 ^b	9.81±1.65 ^a	9.19±1.35 ^b	9.86±1.39 ^a	10.45±1.81 ^a
肥满度	2.85±0.17	2.82±0.20	2.84±0.15	2.92±0.15	2.90±0.26

粗脂肪含量表现为 V 组>II 组>IV>III 组>I 组。表明氨基酸微量元素螯合物以 35%、50%、65%替代无

机微量元素后,均比无机微量元素组的鱼体脂肪含量高;从Ⅱ组与Ⅳ组比较来看,Ⅳ组的鱼体脂肪含量明显低于Ⅱ组,差异显著($P<0.05$),表明在氨基酸微量元素螯合物基础上再添加黄霉素,具有降低鱼体脂肪含量的作用。

由表6可见,异育银鲫肥满度在Ⅰ~Ⅴ组之间差异不显著($P>0.05$),表明饲料中添加氨基酸微量元素螯合物与添加无机微量元素相比,对鱼体肥满度没有产生影响,饲料在添加氨基酸微量元素螯合物基础上再添加黄霉素,对鱼体肥满度也不产生影响。从内脏比指标看,表现为:Ⅴ组>Ⅳ组>Ⅱ>Ⅲ组>Ⅰ组,表明饲料中添加氨基酸微量元素螯合物后以35%、50%、65%替代无机微量元素后,均比无机微量元素组的鱼体内脏比高,而且Ⅳ组的鱼体内脏与Ⅱ组差异不显著($P>0.05$),表明在氨基酸微量元素螯合物基础上再添加黄霉素,对鱼体内脏比不产生影响。

2.3 氨基酸微量元素螯合物对异育银鲫成活率的影响

试验组测得各组异育银鲫的成活率为(96.55±0.19)%、(96.55±0.19)%、(100.00±0.00)%、(100.00±0.00)%、(100.00±0.00)%,即:Ⅲ组、Ⅳ组、Ⅴ组高于Ⅰ组,说明饲料中添加氨基酸微量元素螯合物后以35%、50%、65%替代无机微量元素后,提高了成活率;而Ⅳ组高于Ⅱ组,表明氨基酸微量元素螯合物基础上再添加黄霉素后,其成活率高于不添加黄霉素组。

2.4 氨基酸微量元素螯合物对异育银鲫养殖饲料成本分析(见表7)

表7 养殖饲料成本

项目	Ⅰ组	Ⅱ组	Ⅲ组	Ⅳ组	Ⅴ组
I. 饲料添加铁锌铜锰成本(元/t)	0.956	6.915	4.840	6.915	8.989
II. 饲料其它原料成本(元/kg)	3.011	3.006	3.011	3.011	3.011
III. 饲料成本(=I/1 000+II)(元/kg)	3.012	3.013	3.016	3.018	3.020
料肉比	1.76	1.93	1.57	1.42	1.39
每千克鱼的养殖饲料成本(元)	5.302	5.940	4.734	4.286	4.198

从表7可知,异育银鲫养殖饲料成本为:Ⅴ组<Ⅳ组<Ⅲ组<Ⅰ组<Ⅱ组,Ⅴ组、Ⅳ组、Ⅲ组的养殖饲料成本分别比Ⅰ组降低20.82%、19.16%、10.71%,表明氨基酸微量元素螯合物以35%、50%、65%替代无机微量元素后,养殖饲料成本均比无机微量元素组低(Ⅱ组除外);其中Ⅴ组(即氨基酸微量元素螯合物以65%替代无机微量元素组)的养殖饲料成本最低。对Ⅱ组与Ⅳ组比较来看,Ⅳ组的养殖饲料成本明显低于Ⅱ组,成本下降26.28%,表明在氨基酸微量元素螯合物基础上再添加黄霉素,具有显著的降低养殖饲料成本的效果。

在异育银鲫饲料中氨基酸微量元素螯合物替代无机微量元素,同时添加黄霉素能显著促进其生长,提高饲料利用率和成活率,降低养殖成本,其中以65%的替代效果最佳。鱼体的水分灰分含量及肥满度差异不显著,但鱼体蛋白含量脂肪含量随替代量的提高有增加趋势。在氨基酸微量元素螯合物基础上再添加黄霉素,具有更好的促生长效果和更高的饲料利用效率。黄霉素添加后,对鱼体水分、灰分、肥满度、内脏比无影响;提高鱼体蛋白含量,降低鱼体脂肪;提高鱼体成活率;能显著降低养殖饲料成本。

(编辑:孙崎峰, sqf0452@126.com)

·信息采撷·

2020年我国奶类产量将列世界第三

“预测2020年前,我国奶类人均占有量渴望达到目前亚洲的平均水平,也就是每人每年40kg,到那时我国奶类总产量居世界第3位,次于印度、美国,步入奶业大国的行业”。中国奶业协会理事长刘成果4月18日在广西南宁举行的第五届亚洲水牛大会上说。

近年来我国奶业实现了快速增长,据统计,2004年,全国奶牛存栏1100多万头,比1998年增长了149%,年均增长16.4%,其中母牛存栏600多万头,奶类总产量2368万吨,比1998年增长了217%,年均增长21.2%。2004年全国液态奶产量807万吨,比1998年增长了5倍,年销售收入500万元以上规模乳制品加工企业销售额620亿元,比1998年增长了4.3倍,奶牛饲养成为畜牧业中发展最快的产业,乳品加工成为食品工业中发展最快的行业。

我国受人口总数影响,2004年我国人均奶类占有量仅为18.4kg,是世界平均水平的1/5,亚洲平均水平的1/2,奶类占有量在世界上排名百名以后。刘成果说,据预测,2020年前,我国奶类人均占有量渴望达到目前亚洲的平均水平,奶类总产量将超过5000万吨。

中国奶业协会2005年6月发表的中国奶业发展战略研究成果表明,中国人均牛奶占有量增长速度与人均GDP增长速度呈正相关,相关系数达到0.93,乳制品是城镇居民收入需求弹性最大的动物性消费品,需求弹性系数达到了0.674,也就是说,收入增长1%,乳制品消费增长0.674%。

鲫鱼肠道对四种蛋白质饲料的体外消化与其酶解液中氨基酸吸收效率的研究

白燕 叶元土

摘要 采用离体消化方法测定了鲫鱼肠道对鱼粉、花生粕、菜粕、棉籽粕的体外消化率和氨基酸的生成效率。同时采用同位素示踪法和肠道离体灌流模型分别测定了鲫鱼离体肠道对4种蛋白质饲料体外酶解液中氨基酸的吸收速度。结果表明:鲫鱼肠道对鱼粉、花生粕、菜粕、棉籽粕的体外消化率分别为48.51%、85.52%、60.64%、67.22%,其中以花生粕最高,鱼粉最低,消化率彼此之间的差异均显著($P<0.05$)。在酶解过程中氨基酸的生成量逐渐增加,以生成的氨基酸量占饲料量的百分比表示氨基酸的生成效率,在酶解7h时以鱼粉最高为12.23%,其次是花生粕为12.14%、棉籽粕为11.23%、菜粕为6.78%。鲫鱼肠道(每克)对4种蛋白质饲料酶解液中氨基酸的吸收转运速度,以鱼粉最高,在灌流40min时,速度为1.058mg/min,其次为花生粕0.782mg/min、棉籽粕0.679mg/min、最低为菜粕0.451mg/min,差异显著($P<0.05$)。如果以单位时间内肠道对氨基酸的吸收转运量占流过肠道的氨基酸总量的比例表示肠道对氨基酸的吸收效率,结果为鲫鱼肠道对4种蛋白质饲料酶解液氨基酸的吸收转运效率间无显著性差异($P>0.05$),所以肠道对氨基酸的吸收效率可能并不受饲料种类的影响。

关键词 鲫鱼;离体肠道;体外消化;氨基酸生成效率;吸收速度;鱼粉;蛋白质饲料

中图分类号 S963.73¹

由于不同的饲料原料具有不同的化学结构和组成,不同种类鱼的消化功能不同,所以鱼类对各种饲料原料有不同的消化力。叶元土等利用鱼类离体肠道测定草鱼对不同饲料蛋白质的消化率和氨基酸的吸收效率,结果表明,草鱼肠道对饲料蛋白质的消化效率有较大差异,但对蛋白质水解产物——氨基酸的吸收效率并无显著性差异,从而可以认为肠道对氨基酸的吸收效率可能不受饲料种类的影响。

离体消化率的测定是对饲料原料的可利用性的生物评价方法之一,具有快速、简便的优点。肠道离体灌注也是研究肠道对营养物质吸收规律的有效手段和方法。本文的主要目的在于通过蛋白质饲料的离体酶解反应和肠道的离体灌注试验,定量地分析比较鲫鱼对不同蛋白质饲料的氨基酸生成效率和肠道对氨基酸的吸收效率,探讨鲫鱼对不同蛋白质饲料消化效率、吸收效率的差异,并以此为实际水生动物配合饲料的合理配制提供参考。

1 材料和方法

1.1 饲料原料

选择国产鱼粉、花生粕、菜粕、棉籽粕共4种常规蛋白质饲料原料,经过粉碎机粉碎后全部通过80目标准筛。

1.2 离体消化率的测定方法

1.2.1 消化酶制备

取在循环养殖系统中经过配合饲料养殖2周的鲫鱼20尾,平均体重126g,常规解剖得到肠道,滤纸吸干后称重,按照肠道10倍的重量加入pH值7.4、0.2mol/l的磷酸缓冲液,玻璃匀浆器匀浆,冷冻、离心(-4℃、10 000r/min、20min),取上清液于冰箱中冷冻保存备用。

1.2.2 饲料样品的酶解方法

精确称取饲料样品5.000g放于250ml带塞三角瓶中,加入pH值7.4、0.2mol/l的磷酸缓冲液95ml和肠道酶提取液30ml(保持消化液体积为饲料样品质量的25倍左右)。为防止微生物的干扰加入双抗(青霉素、链霉素合剂)300mg,在30~32℃水浴锅中保温酶解7h。每个试验样品设置3个平行,每个试验至少重复2次。

1.2.3 离体消化率计算

按照1.2.2的方法分别对饲料样品酶解7h后用定量滤纸过滤,滤渣用30℃温水洗涤2次。将消化前的饲料样品和滤渣在70℃烘至恒重,精确称量滤渣质

白燕,锦州医学院畜牧兽医学院,讲师,121001,锦州。

叶元土,苏州大学农业科技学院。

收稿日期:2006-02-27

量。采用凯氏定氮法对烘干的饲料样品和消化滤渣进行粗蛋白质含量测定,按照公式计算饲料样品的离体消化率:

蛋白质离体消化率(%)=(消化前饲料重量×饲料粗蛋白质含量-消化后滤渣质量×滤渣粗蛋白质含量)/(消化前饲料质量×饲料粗蛋白质含量)。

1.3 酶解液氨基酸总量测定及计算方法

按照 1.2.2 的方法分别对饲料样品进行酶解,于 0、1、3、5、7h 分别取酶解液 0.2ml (同时补充等体积的磷酸缓冲液),加入 10%的三氯醋酸 0.2ml,待蛋白质沉淀后以 6 000r/min 离心 20min 后,取上清液 0.1ml 采用茚三酮法测定 OD₅₇₀ 值,用亮氨酸作标准曲线计算酶溶液氨基酸的总量,再按照酶解的氨基酸总量(扣除饲料酶解前的游离氨基酸含量)占饲料量的百分比计算氨基酸的消化生成效率。

1.4 用于肠道灌注的酶解液制备方法

按照 1.2.2 的方法对鱼粉、花生粕、菜粕、棉籽粕进行酶解 7h 后,取酶解液以 10 000r/min 离心 25min,收集上清液为酶解液,于冰箱冷冻保存备用。定量取此酶解液 0.2ml 加入 10%三氯醋酸 0.2ml,待蛋白质沉淀后以 6 000r/min 离心 20min,采用茚三酮法定量测定酶解液氨基酸浓度。

1.5 灌注试验方法

采用叶元土等利用的肠道灌注系统进行蛋白质饲料酶解液的灌注试验。整个灌注系统置于生化培养箱中,控制环境温度在 28℃,恒流泵控制灌注液的流量在 2.00ml/min,由氧气瓶从灌注开始前 5min 就向培养液中充入医用氧气以保持肠道组织活性。

1.6 离体肠道的制备

将鲫鱼捣毁脊髓处死,立即解剖取出肠道,在生理盐溶液浸渍下剔除肠道外壁上的脂肪、血污等,在灌流系统中用生理盐溶液冲洗干净肠道内容物,置于生理盐溶液中待用。每次灌注试验用一尾鲫鱼的肠道,每次试验至少重复 3 遍。用于解剖获取肠道的鲫鱼平均体重为 126g,试验前养殖于室内循环养殖系统中,养殖环境温度为 25℃左右,投喂粗蛋白质为 30%的颗粒配合饲料 2 周以上。

1.7 肠道对氨基酸平均转运速度计算方法

在灌注液中加入放射性酪氨酸 (L-[4,5-³H]-tyr,放射性浓度为 0.5 毫居里/毫升),从灌注开始(0min)每 10min 取肠道外培养液 0.1ml,持续 40min,并取开始时肠道外培养液样品。每次取样品液 100μl,取 3 个平行样品,并补充同样体积的生理盐溶液以保持肠道

外培养液总体积恒定。取肠道内灌流液 100μl 于闪烁瓶内,设 3 个平行样品,样品液均置于闪烁瓶内,加入闪烁液 5ml 放置半小时后,在 SN-6930 液体闪烁计数器中计数(cpm 值)。因灌流液的氨基酸浓度是已测知的,所以根据灌流液 cpm 值和肠道外培养液 cpm 值,就可计算出肠道外培养液的氨基酸浓度,再根据培养液体积(40ml)计算经过肠道转运到培养液中的氨基酸总量,最后根据吸收转运的时间计算单位质量肠道对氨基酸的平均转运速度。

1.8 数据的表示与处理

由于鱼体大小差异使肠道长度和质量有一定的差异,为减小试验误差,统一比较标准,我们把鲫鱼肠道对试验氨基酸的跨壁运输量表示为单位肠道组织重量(g)对试验氨基酸的跨壁运输量,并以此为基础计算氨基酸吸收转运速度,计算公式如下:

转运到肠道外培养液中氨基酸的浓度=灌流液氨基酸浓度×(肠道外培养液 cpm 值-空白培养液 cpm 值)/灌流液 cpm 值;

跨壁运输量=(培养液 cpm 值-空白培养液 cpm 值)×灌流试验氨基酸浓度×培养液体积/(灌流液 cpm 值×肠道质量);

氨基酸平均转运速度=(培养液 cpm 值-前 10min 时培养液 cpm 值)×灌流试验氨基酸浓度×培养液体积/(灌流液 cpm 值×肠道质量×10)。

在肠道灌注系统中用恒流泵控制肠道酶解液的流过速度为 2.00ml/min,通过酶解液中氨基酸的浓度计算单位时间(min)流过肠道的氨基酸量。

肠道对氨基酸的吸收转运效率(%)=每分钟氨基酸的平均吸收转运量/每分钟流过肠道内的氨基酸量。

数据采用 Microsoft-Excel2003 作统计处理,采用多重比较的最小显著极差法(LSR 法)进行差异显著性分析。

2 试验结果

2.1 离体消化率

鱼粉、花生粕、菜粕、棉籽粕 4 种蛋白质饲料在消化前的粗蛋白质含量分别为 69.13%、55.06%、44.25%、50.58%。在离体条件下,通过肠道消化酶水解 7h,得到鲫鱼对鱼粉、花生粕、菜粕、棉籽粕蛋白质的离体消化率分别为 48.51%、85.52%、60.64%、67.22%,花生粕消化率最高,鱼粉最低,消化率彼此之间的差异均显著(P<0.05)。

2.2 酶解蛋白质饲料氨基酸生成效率

分别于 0、1、3、5、7h 取酶解液测定生成的氨基酸总量(以 0h 量为零),以生成的氨基酸总量占饲料量的百分比表示蛋白质饲料酶解氨基酸生成效率,结果见图 1。

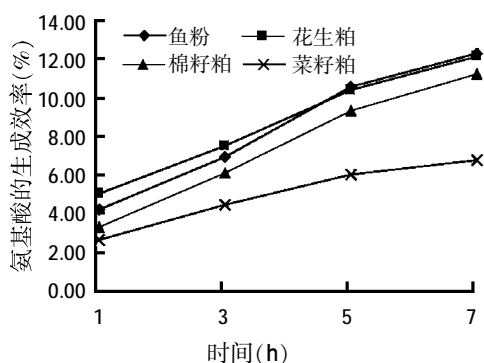


图 1 氨基酸生成量占饲料总量的百分比(即氨基酸生成效率)

如果以 7h 时鱼粉酶解氨基酸生成效率(12.23%)为 100%,则花生粕(12.14%)为鱼粉的 99.26%、棉籽粕(11.23%)为鱼粉的 91.82%、菜粕(6.78%)为鱼粉的 55.44%。在离体条件下,鲫鱼肠道对鱼粉和花生粕酶解氨基酸的生成效率非常接近,但鱼粉、花生粕与棉籽粕、菜粕之间以及棉籽粕和菜粕之间均有显著性差异($P < 0.05$)。

2.3 肠道对氨基酸的跨壁转运量

每 10min 测定肠道外培养液中氨基酸的量,结果见图 2。

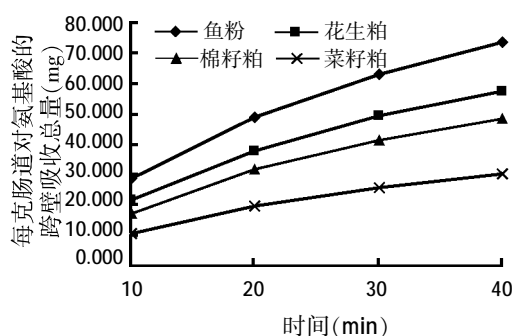


图 2 肠道对氨基酸的跨壁转运总量

随着时间的推移,肠道外培养液中积累的氨基酸逐渐增加,表现为一定的线性关系;肠道对 4 种蛋白质饲料酶解液中氨基酸跨壁转运的量有显著的差异($P < 0.05$),以对鱼粉酶解液氨基酸跨壁转运的量最大,其次为花生粕、棉粕和菜粕。如果以 40min 时每克肠道对鱼粉水解液氨基酸的跨壁转运量 (73.319mg) 为 100%,则对花生的跨壁转运量 (57.247mg) 为鱼粉的

78.08%、棉粕(48256mg)为鱼粉的 65.81%、菜粕 (30.388mg) 为鱼粉的 41.45%。

如果以每分钟对氨基酸的平均转运速度进行分析,结果见图 3。10min 内的平均转运速度最高,随后转运速度逐渐下降。4 种蛋白质饲料酶解液中氨基酸的转运速度也以鱼粉最高,40min 时,鱼粉的转运速度为 1.058mg/min,其次为花生粕 0.782mg/min、棉粕为 0.679mg/min,最低为菜粕 0.451mg/min,彼此间差异显著($P < 0.05$)。

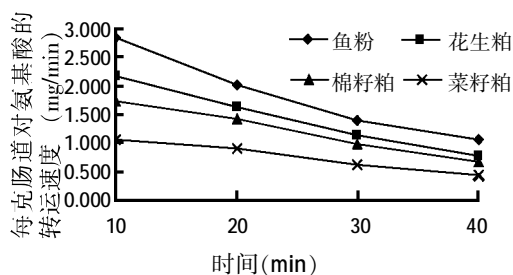


图 3 肠道对氨基酸的平均转运速度

2.4 肠道对氨基酸的吸收效率

以单位时间鲫鱼肠道对氨基酸的吸收转运量与单位时间内流过肠道的氨基酸量的比值作为肠道对氨基酸吸收转运效率,结果见图 4。转运效率以 10min 以前最高,40min 时最低,随时间延长,吸收转运效率总体表现为下降趋势。从图 4 可见鲫鱼肠道对 4 种蛋白质饲料酶解液中氨基酸的吸收转运效率没有显著性差异($P > 0.05$)。

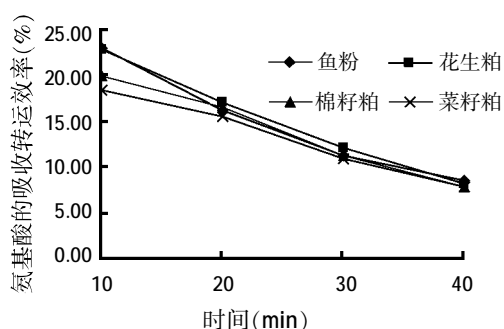


图 4 单位时间肠道对氨基酸的吸收转运效率

3 讨论

在离体消化条件下,鲫鱼肠道组织的消化酶对 4 种蛋白质饲料具有不同的蛋白质消化率和氨基酸生成效率,表明鲫鱼对不同的饲料蛋白质具有不同的消化能力。出现这种差异的主要原因是不同的饲料原料具有不同的化学组成和组织结构。鱼粉、花生粕、棉籽粕、菜粕的氨基酸组成不同,在相同的水解酶类作用

下,消化酶对蛋白质水解位点的位置和数量就会有很大差异,从而导致相同的消化酶系统对不同的饲料蛋白质的水解效率的差异,产生不同的消化率和氨基酸生产效率。另外,不同的饲料原料具有不同的组织结构,使得不同的饲料蛋白质溶解于水中的速度和溶解度大小也有很大的差异,这种差异同样可以使得不同的饲料原料具有不同的可消化性。在本试验中,鲫鱼对鱼粉的离体消化率明显低于其它3种蛋白质饲料,这似乎与其高蛋白含量相矛盾,但在试验中我们发现,鱼粉在酶解之前其游离氨基酸含量远远高于其它蛋白质饲料,在离体条件下,高游离氨基酸含量可能对肠道内酶的水解作用起了抑制作用,从而可能导致鱼粉的消化率下降。

由于在活体条件下动物对饲料蛋白质的消化和吸收是同步进行的,很难分别测定和计算消化效率和吸收转运效率,而离体消化和吸收试验则可以有效解决这个问题。在本文的离体试验结果中,鲫鱼肠道对鱼粉、花生粕、棉籽粕、菜粕的酶解液氨基酸的跨壁吸收转运速度有显著的差异。但是,如果以单位时间内肠道对氨基酸的吸收转运量与肠道内流过的氨基酸量的比值作为肠道对氨基酸吸收转运效率,则这4种蛋白质饲料无显著性差异。叶元土等在试验中已经发现草鱼粪便中虽然有一定量的水溶蛋白质存在,但游离氨基酸含量为零,表明在活体条件下草鱼肠道对氨基酸的吸收是完全的,并且,叶元土等测定草鱼对鱼粉、豆粕、菜粕、棉籽粕的离体消化吸收的试验,结果还表明,草鱼对4种蛋白质饲料的消化产物——氨基酸的吸收转运效率无显著性差异。本试验结果与前人试验结果一致,这一结果表明,鱼类肠道对蛋白质的消化产物的吸收是完全的,其吸收转运效率在不同蛋

白质饲料之间没有显著性的差异。这样,对于一种饲料蛋白质而言,其营养作用的完全发挥在消化产物的吸收环节并不会成为主要的限制性环节,而产生饲料蛋白质营养价值和营养作用发挥具有种类特异性的生理环节主要在消化过程中和消化产物进入肠外组织以后。

4 结论

鲫鱼离体肠道对4种蛋白质饲料的消化率以花生粕为最高,并且花生粕的氨基酸生成效率也较高,与鱼粉相差甚微,所以鲫鱼配合饲料中在保证氨基酸平衡的前提下可适当提高花生粕在饲料中的比例。鱼类肠道对蛋白质的消化产物的吸收是完全的,其吸收转运效率在不同蛋白质饲料之间没有显著性的差异,所以,要提高饲料氨基酸的利用效率,就要提高饲料的可消化性和氨基酸的平衡程度。

参考文献

- 1 叶元土,蔡春芳,林仕梅,等.鱼类肠道离体灌流试验系统[J].中国畜牧兽医,2002,29(6):26~27
- 2 叶元土,林仕梅,罗莉,等.草鱼肠道对10种必需氨基酸的吸收[J].中国水产科学,2003,10(4):311~317
- 3 叶元土,林仕梅,罗莉.茚三酮法测定蛋白质饲料中水溶蛋白质成分[J].饲料工业,1993,14(9):18~21
- 4 曾端,叶元土,林仕梅,等.草鱼肠道对氨基酸吸收的离体培养方法的研究[J].动物营养学报,2000,46(1):1~8
- 5 吴冠芸,潘华珍,吴翠.生物化学与分子生物学实验常用数据手册[M].北京:科学出版社,2002.112~113
- 6 王雪梅,许丽.同位素示踪技术在动物营养研究中的应用[J].中国饲料,2002(8):31~32
- 7 李建武,萧能度,余瑞元,等.生物化学实验原理和方法[M].北京:北京大学出版社,1994.60~182

(编辑:孙崎峰,sqf0452@126.com)

·信息采撷·

在肉牛的饲养过程中,除了喂足玉米、高粱、瓜干、豆饼等淀粉和蛋白质饲料以及优质饲草外,最好再制作些含糖

量高和含维生素丰富的补充饲料进行饲喂,其育肥效果会更好。现将适宜肉牛“两种补充饲料”的制作技术介绍如下:

1 糖化饲料 是利用谷类籽实中的淀粉酶,把部分淀粉转化为麦芽糖,提高谷类饲料的适口性。制作方法:在磨碎的籽实中加2.5倍的热开水,搅拌均匀,置于50~55℃的温度下,使淀粉酶发生作用,6h后,饲料含糖量可增加至10%左右。如果每100kg籽实中加入2kg麦芽,其糖化作用会更好更快。糖化饲料按10%的比例添加到肉牛的日粮里,肉牛特别喜欢采食,而且育肥效果显著。

2 发芽饲料 谷物饲料经发芽后,可为肉牛补充维生素。1cm内的发芽饲料含有丰富的维生素E,7cm左右的发芽饲料含有较多的胡萝卜素和维生素B₂、维生素C。制作方法:把籽实用18~22℃的温水浸泡15h后,摊放在木盘和细筛内,厚5cm左右,上盖麻袋或草席等物,经常喷洒清水,使其保持湿润,室内温度保持在25℃左右,经7d左右时间即可发芽。发芽饲料不但是肉牛的优质补充饲料,而且也是种公牛和其它畜禽的优质补充饲料。

肉牛两种补充饲料的制作技术

饲粮中植酸酶、钙、磷不同水平组合对肉仔鸡生长和屠宰性能的影响

花 薇 魏时来 孟 婕 郝正里 孙玉国

摘 要 利用正交实验 $[L_9(3^4)]$ 把 270 只艾维茵肉仔鸡随机分为 9 组,研究植酸酶、非植酸磷和钙水平的不同组合对艾维茵肉仔鸡生长性能、死淘率、屠宰性能及肉品质的影响。结果表明,添加非植酸磷 0.18%+钙 0.8%组肉仔鸡生长最差,全部发生腿病,并于试验中期死亡或被淘汰;在非植酸磷 0.18%+钙 0.65%组的饲粮中添加植酸酶 600FTU/kg,一定程度上改善了肉仔鸡的生长发育,但日增重仍较差,且死淘率较高;而添加植酸酶 1 200 FTU/kg+非植酸磷 0.18%+钙 1.00% 的组合显著降低了肉仔鸡的食欲与生长发育速度,腿病发生率和死淘率仍较高。饲粮中添加非植酸磷 0.28%+不添加植酸酶+钙 1.00% 组肉仔鸡生长很差、死淘率较高;添加植酸酶 600 FTU/kg+非植酸磷 0.28%+钙 0.80%的组生长效果良好,而非植酸磷 0.28%+钙 0.65%+植酸酶 1 200FTU/kg 组并未进一步提高生长效果。饲粮非植酸磷为 0.38%时的 3 个组合都表现出较佳的日增重,说明非植酸磷 0.38%能满足仔鸡需要。试验处理对仔鸡屠宰性能与肉品质未产生明显影响。饲粮中添加非植酸磷 0.28%+钙 0.80%+植酸酶 600FTU/kg 时,肉仔鸡的综合效益较佳。

关键词 植酸酶;总磷;非植酸磷;钙;肉仔鸡;生长性能;死淘率;屠宰性能;肉品质

中图分类号 S831.5

植酸的化学名称为肌醇六磷酸(Myoinositolhexakisdi-hydrogen phosphate),其盐类是谷物中磷的主要存在形式(40%~70%),是动物难以利用的磷源。植酸又是饲料中的抗营养因子,它对钙、镁、铁、锌等金属离子及蛋白质有很强的螯合作用,导致动物对这些营养物质的利用率降低,也因此造成粪便排泄的磷和氮元素等对环境的污染(张梅申、李宗民,1997;瞿明仁,1997)。

植酸酶(phytase)即肌醇六磷酸水解酶,可将植酸与其盐类水解为无机磷和肌醇五磷酸盐及肌醇单磷酸盐。在饲粮中添加植酸酶,不但可以降低植酸的抗营养作用,还可以提高植酸磷、蛋白质和矿物质元素的利用率,同时节省无机磷源,降低饲料成本,减少对环境的影响。

本试验旨在以生长性能、料肉比、死淘率、屠宰性能及肉品质等为主要指标,探讨肉仔鸡饲粮中植酸酶添加量与非植酸磷、钙水平的适宜组合。

1 材料与方法

花薇,甘肃农业大学动物科学技术学院,730070,甘肃兰州。

魏时来、孟婕、郝正里,单位及通讯地址同第一作。

孙玉国,帝斯曼(中国)有限公司。

收稿日期:2006-03-27

1.1 植酸酶

帝斯曼(中国)有限公司提供,活性为 6 800FTU/g。

1.2 试验时间及地点

于 2005 年 4 月 1 日到 5 月 13 日在甘肃农业大学动物科技学院动物试验场进行。

1.3 试验设计与试鸡

从兰州华陇种鸡场购入试鸡,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验设计,将体重相近的 270 只一日龄艾维茵肉仔鸡(鉴别母雏)随机分为 9 组(每组 30 只,设 3 个重复,每重复 10 只),即组成 9 个试验处理(3 因子、3 水平),试验因子、水平和处理情况见表 1。因试验前期试验 4 组鸡全部出现腿病等疾患而退出试验,故按单因子试验设计进行数据统计分析。

表 1 试验因子及水平设计

项目	饲粮中的添加量		
	植酸酶(FTU/kg)	非植酸磷(%)	钙(%)
1	600	0.18	0.65
2	600	0.28	0.80
3	600	0.38	1.00
4	0	0.18	0.80
5	0	0.28	1.00
6	0	0.38	0.65
7	1 200	0.18	1.00
8	1 200	0.28	0.65
9	1 200	0.38	0.80

1.4 饲粮配制

按表 1 各因子水平并参照艾维茵商品肉仔鸡饲养标准(除钙、磷外)配制饲料,各试验组饲料组成和营养水平见表 2、表 3。配料时饲料原料中粗蛋白质、钙、磷的含量为实测值,其它为表列值(中国饲料数据

库 2003 年 14 版中国饲料成分及营养价值表)。试验料按配方以人工混合方式配成(粉状)。

1.5 饲养管理

试验期共 42d,分为前期(0~21 日龄)、后期(22~

表 2 0~3 周饲料组成和营养水平

项目	组别								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
饲料组成									
玉米(%)	54.06	54.19	53.44	53.77	53.66	53.75	53.86	53.86	53.98
小麦麸(%)	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
菜籽油(%)	3.30	3.30	3.30	3.30	3.30	3.30	3.30	3.30	3.30
鱼粉(CP 62.51%)(%)	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
大豆粕(CP 44.38%)(%)	33.74	33.00	33.02	33.63	33.01	33.64	33.00	33.74	33.01
蛋氨酸(%)	0.19	0.20	0.20	0.19	0.20	0.19	0.20	0.19	0.20
磷酸氢钙(%)	0.00	0.55	1.12	0.00	0.55	1.12	0.00	0.55	1.12
食盐(%)	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24
石灰石粉(%)	1.17	1.22	1.38	1.57	1.74	0.46	2.10	0.82	0.85
预混料(%)	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
营养水平									
代谢能(MJ/kg)	12.55	12.49	12.39	12.50	12.42	12.50	12.45	12.52	12.47
粗蛋白质(%)	23.17	22.86	22.80	23.10	22.81	23.10	22.83	23.15	22.84
粗脂肪(%)	5.83	5.83	5.80	5.82	5.81	5.82	5.82	5.82	5.82
蛋氨酸+胱氨酸(%)	0.96	0.96	0.96	0.96	0.96	0.96	0.96	0.96	0.96
赖氨酸(%)	1.29	1.28	1.28	1.29	1.28	1.30	1.28	1.30	1.28
钙(%)	0.65	0.80	1.00	0.80	1.00	0.65	1.00	0.65	0.80
非植酸磷(%)	0.18	0.28	0.38	0.18	0.28	0.38	0.18	0.28	0.38
总磷(%)	0.43	0.53	0.63	0.43	0.53	0.63	0.43	0.53	0.63

注:预混料中微量元素含量为(每千克饲料中): Fe 40mg、Zn 70mg、Cu 6mg、Mn 100mg、I 0.5mg、Se 0.3mg、多维 0.35g;氯化胆碱 1.5g。下表同。

表 3 4~6 周饲料组成和营养水平

项目	组别								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
饲料原料									
玉米(%)	57.74	57.34	57.00	57.55	57.00	57.53	57.00	57.61	57.13
小麦麸(%)	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
菜籽油(%)	4.60	4.60	4.60	4.60	4.60	4.60	4.60	4.60	4.60
鱼粉(CP 62.51%)(%)	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
大豆粕(CP 44.38%)(%)	30.65	30.45	30.04	30.45	30.25	30.45	30.45	30.58	30.45
蛋氨酸(%)	0.05	0.05	0.06	0.05	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05
磷酸氢钙(%)	0.13	0.70	1.27	0.13	0.70	1.27	0.16	0.70	1.27
食盐(%)	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29
石灰石粉(%)	1.24	1.27	1.44	1.63	1.80	0.51	2.15	0.87	0.91
预混料(%)	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
营养水平									
代谢能(MJ/kg)	12.96	12.88	12.80	12.91	12.82	12.91	12.84	12.93	12.86
粗蛋白质(%)	20.76	20.63	20.42	20.65	20.51	20.65	20.60	20.71	20.61
粗脂肪(%)	7.11	7.09	7.08	7.10	7.08	7.10	7.08	7.10	7.08
蛋氨酸+胱氨酸(%)	0.76	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75
赖氨酸(%)	1.12	1.12	1.10	1.12	1.11	1.12	1.12	1.12	1.12
钙(%)	0.65	0.80	1.00	0.80	1.00	0.65	1.00	0.65	0.80
非植酸磷(%)	0.18	0.28	0.38	0.18	0.28	0.38	0.18	0.28	0.38
总磷(%)	0.43	0.53	0.63	0.43	0.53	0.63	0.43	0.53	0.63

42 日龄)。鸡舍为有窗、半开放式。采用 3 层重叠式笼养,笼的每一层为一个重复,各组鸡的排列考虑了位

置效应,饲养密度为 13 只/m²。人工光照(鸡舍有漏光),在两排鸡笼间的通道上、离地面 2m 高的位置设

置白炽灯,1~10日龄光照强度是33.3 Lx;11~31日龄20.5 Lx;32~42日龄12.3 Lx。2日龄内光照24h,从3日龄起实施间歇光照,每日增加黑暗1h,14日龄时黑暗时间达12h。以煤炉供暖,第1周内保持舍温在32~34℃,此后每周下降2~3℃,直到31日龄结束供暖。鸡舍内相对湿度始终保持在50%~60%。本试验采用的通风设备是三台通风量为0.164m³/s的换气扇。雏鸡1周龄内每日饲喂6次,7日龄后减为5次,14日龄到出栏日喂4次。鸡只自由饮水,参考艾维茵肉仔鸡营养标准以及鸡只前1d的采食情况确定每日的投料量;为保证所采食饲料的全价性,于第2d第一次喂时投喂前一日剩料,并计入第2d的投料量。

进鸡前,将所有用具清洗干净并放入鸡舍,以高锰酸钾和福尔马林进行熏蒸消毒;饲养期间1周两次带鸡消毒,并进行一次鸡舍外的环境消毒(3%的工业用烧碱);对饮水器、料槽等设备每日进行消毒。每2d清理一次粪板,按肉鸡的正常免疫程序结合当地疫情分别进行了新城疫、肾型传染性支气管炎、传染性支气管炎和法氏囊免疫。

1.6 测定指标与方法

1.6.1 生产性能指标

将试验鸡于0、21、42日龄时各称重一次(空腹),

计算平均体重、日增重、投料量、剩料与耗料量(日耗料量=投料量-剩料量+前日剩料量)及计算料肉比。称量均采用感量为0.1g的电子天平。

1.6.2 记录死淘鸡数情况

记录每日死亡、淘汰鸡只数及死亡时间、体(尸)重、感官及尸检结果;同时记录腿病鸡只数与淘汰数(部分轻度腿病鸡仍继续存活至42日龄)。

1.6.3 屠宰性能、肉品质指标

将被屠宰的鸡褪毛后逐级分离,测定屠体重、全净膛重、半净膛重、腹脂重、肌胃重、心脏重、肝及肾重、胸肌重。并取胸肌试样,按照孙玉民等编著的《畜禽肉品学》中介绍的方法,分别测定嫩度、pH值、失水率、熟肉率。

1.7 数据统计处理

使用SPSS11.0软件对所有数据进行统计分析,差异显著时采用Tukey法作多重比较。

2 结果与分析

2.1 生长性能与饲料转化效率

将各组(除试验4组)试鸡前、后期及全期的生长性能、耗料量及料肉比列于表4。

从表4可以看出,试验开始时各组体重基本一致(P>0.05)。试验6组、试验9组、试验3组与试验8

表4 植酸酶与非植酸磷、钙水平的不同组合对肉仔鸡生长性能和料肉比的影响

项目	组别									P 值
	1	2	3	5	6	7	8	9		
0~3 周										
初生重(g)	37.0±1.2 ^a	36.5±0.2 ^a	36.7±1.0 ^a	36.5±0.12 ^a	36.1±0.3 ^a	36.8±0.6 ^a	36.4±0.3 ^a	37.2±1.1 ^a	0.602	
日增重(g)	18.1±1.8 ^{ab}	19.8±1.0 ^a	20.9±1.3 ^a	18.1±1.4 ^{ab}	21.4±0.3 ^a	15.9±1.7 ^b	20.8±0.6 ^a	21.3±1.0 ^a	0.000	
日耗料量(g)	26.8±0.9 ^{ab}	29.4±0.4 ^{ab}	29.1±1.3 ^{ab}	27.0±1.8 ^{ab}	30.9±0.8 ^a	23.7±1.2 ^b	26.1±5.4 ^{ab}	30.1±2.2 ^{ab}	0.022	
料肉比	1.49±0.10 ^a	1.49±0.10 ^a	1.39±0.02 ^a	1.49±0.06 ^a	1.44±0.06 ^a	1.50±0.12 ^a	1.27±0.30 ^a	1.41±0.09 ^a	0.408	
4~6 周										
21 日龄体重(g)	415.7±36.0 ^{ab}	451.6±20.5 ^a	475.8±26.0 ^a	416.4±29.7 ^{ab}	486.4±5.4 ^a	369.8±37.2 ^b	472.2±12.7 ^a	484.6±21.4 ^a	0.000	
42 日龄体重(g)	1 425.7±66.0 ^{ab}	1 575.3±64.0 ^a	1 612.1±38.6 ^a	1 408.5±177.9 ^{ab}	1 558.8±145.4 ^a	1 239.2±135.0 ^b	1 559.0±141.4 ^a	1 627.9±28.4 ^a	0.009	
日增重(g)	47.6±2.9 ^a	52.3±2.7 ^a	53.8±1.2 ^a	47.4±5.8 ^a	51.1±7.2 ^a	40.6±5.2 ^b	51.9±7.3 ^a	54.4±2.4 ^a	0.052	
日耗料量(g)	84.6±2.4 ^a	95.2±13.3 ^a	93.0±7.8 ^a	89.9±10.0 ^a	99.7±5.2 ^a	76.9±9.2 ^a	79.5±34.4 ^a	99.9±6.9 ^a	0.412	
料肉比	1.78±0.07 ^a	1.82±0.22 ^a	1.73±0.17 ^a	1.90±0.10 ^a	1.97±0.20 ^a	1.90±0.21 ^a	1.49±0.49 ^a	1.84±0.19 ^a	0.363	
0~6 周										
日增重(g)	33.1±1.6 ^{ab}	36.6±1.5 ^a	37.6±0.9 ^a	33.0±3.7 ^{ab}	36.2±3.4 ^a	28.6±3.2 ^b	36.2±3.3 ^a	37.9±0.7 ^a	0.006	
日耗料量(g)	55.7±1.3 ^a	62.3±6.4 ^a	61.1±4.4 ^a	58.4±4.8 ^a	65.3±3.0 ^a	50.3±4.8 ^a	52.8±19.9 ^a	65.0±4.5 ^a	0.277	
料肉比	1.68±0.04 ^a	1.70±0.18 ^a	1.63±0.13 ^a	1.78±0.10 ^a	1.81±0.11 ^a	1.76±0.12 ^a	1.43±0.44 ^a	1.72±0.14 ^a	0.397	

注:同行数据肩注字母不同者表示差异显著(P<0.05),有相同字母者表示差异不显著(P>0.05),下表同。

组21日龄体重和0~3周日增重均较高;试验7组21日龄体重显著低于试验2组、试验3组、试验6组、试验8组、试验9组(P<0.05),试验7组0~3周日增重亦显著低于试验2、3、6、8、9组(P<0.05);其它各组间差异不显著(P>0.05)。试验6组0~3周日耗料量显著

高于7组(P<0.05);其余各组间差异不显著(P>0.05)。各组间料肉比差异不显著(P>0.05)。

试验7组42日龄体重显著低于试验2、3、6、8、9组(P<0.05),其4~6周日增重显著低于其它各组;各组日耗料量和料肉比间差异均不显著(P>0.05)。

就饲养全程看, 试验 7 组 0~6 周日增重显著低于第 2、3、6、8、9 组($P<0.05$); 其余各组间的差异不显著($P>0.05$); 0~6 周各组之间的耗料量无显著差异($P>0.05$), 但显示出试验 2、3、6、9 组有较高的趋势。0~6 周各组之

间的料肉比虽无显著差异($P>0.05$), 但 8 组较低。从全饲养期生长效果看, 可选的组合是试验 2 组。

2.2 死淘及腿病情况
结果见表 5。

表 5 试鸡死淘率、腿病发生率

项目	试鸡数	腿病发生		总死淘		死淘原因							
						腹水症		心包炎		鸡白痢		其它疾病	
		只数	(%)	只数	(%)	只数	(%)	只数	(%)	只数	(%)	只数	(%)
1	30	4	13.3	9	30	2	22.2	1	11.1	5	55.6	1	11.1
2	30	2	6.7	6	20	0	0	2	33.3	1	16.7	3	50
3	30	0	0	5	16.7	0	0	0	0	2	40	3	60
4	30	30	100	30	100	-	-	-	-	-	-	-	-
5	30	1	3.3	12	40	0	0	2	16.7	5	41.7	5	41.7
6	30	1	3.3	3	10	0	0	0	0	2	66.7	1	33.3
7	30	5	16.7	16	53.3	2	12.5	3	18.8	7	43.8	4	25
8	30	0	0	9	30	1	11.1	2	22.2	4	44.4	2	22.2
9	30	1	3.3	5	16.7	0	0	0	0	4	80	1	20

注: 腿病发生率为占试鸡总只数百分率, 其它为占死淘鸡百分率。患有腿病死淘的鸡均并发别的疾病, 按并发病归类。

从表 5 可以看出, 试验 4 组全部死淘, 其它组中试验 7、5 组死淘率最高, 试验 1、8 组较高, 最低的是试验 6 组, 试验 2、3、9 组较低; 腿病发生率以试验 4 组最高(100%, 第一周内大量发生腿病, 3 周末累计死亡 23 只, 所存活 7 只腿病严重、不能正常采食而被淘汰), 试验 1、7 组较高, 试验 3、8 组为 0%。引起试鸡死淘的主要原因是鸡白痢、腹水和心包炎, 还有支气管

炎、发育不良及一些垂直传播的疾病(如 8 组大部分死淘伴有卵黄吸收不全、脏器发育不良等症状, 均列入其它疾病中)。试验 1、5、7、8 组腿病以外的疾病的发生率高, 可能也与钙、非植酸磷水平与植酸酶添加量不匹配, 导致代谢失调和免疫力下降有关。

2.3 屠宰性能
屠宰性能结果见表 6、表 7。

表 6 植酸酶与非植酸磷、钙水平的不同组合对肉仔鸡屠宰性能的影响(%)

项目	组别								
	1	2	3	5	6	7	8	9	P 值
屠宰率	91.9±1.2 ^a	92.7±1.4 ^a	90.8±2.6 ^a	91.1±2.1 ^a	91.9±3.0 ^a	90.1±1.74 ^a	91.2±0.7 ^a	91.8±1.4 ^a	0.398
半净膛率	84.3±0.9 ^a	85.1±1.1 ^a	84.0±2.3 ^a	83.6±2.1 ^a	73.0±30.5 ^a	82.0±1.1 ^a	88.8±1.7 ^a	84.1±1.1 ^a	0.616
全净膛率	71.2±2.0 ^{ab}	72.0±1.6 ^{ab}	71.3±2.1 ^{ab}	71.7±2.7 ^{ab}	72.7±1.2 ^a	68.7±1.9 ^b	70.2±1.6 ^{ab}	71.9±0.7 ^{ab}	0.018
胸肌率	30.2±3.1 ^a	29.5±1.5 ^a	28.8±1.7 ^a	30.9±3.4 ^a	29.1±1.5 ^a	30.2±0.9 ^a	28.8±1.6 ^a	30.1±1.2 ^a	0.549
腹脂率	2.2±0.8 ^{ab}	2.4±0.6 ^{ab}	1.5±0.8 ^{ab}	1.2±0.3 ^b	2.5±0.7 ^a	1.3±0.4 ^{ab}	2.2±1.0 ^{ab}	1.9±0.4 ^{ab}	0.006

表 7 植酸酶与非植酸磷、钙水平的不同组合对肉仔鸡脏器发育的影响

项目	组别								
	1	2	3	5	6	7	8	9	P 值
肌胃重(g)	20.6±2.1 ^{bc}	26.2±2.3 ^a	24.6±3.1 ^{ab}	18.3±3.2 ^c	25.6±2.5 ^a	18.5±2.0 ^c	24.2±2.2 ^{ab}	22.1±3.4 ^{abc}	0.000
肌胃百分率(%)	1.3±0.2 ^a	1.6±0.2 ^a	1.5±0.2 ^a	1.3±0.4 ^a	1.5±0.2 ^a	1.5±0.3 ^a	1.5±0.3 ^a	1.4±0.2 ^a	0.489
心脏重(%)	9.8±1.8 ^a	8.4±1.4 ^a	8.4±1.4 ^a	9.7±1.6 ^a	9.1±1.0 ^a	10.8±1.3 ^a	8.5±2.1 ^a	8.4±2.0 ^a	0.069
心脏百分率(%)	0.6±0.2 ^{ab}	0.5±0.1 ^b	0.5±0.1 ^b	0.7±0.2 ^{ab}	0.5±0.1 ^b	0.8±0.2 ^a	0.5±0.1 ^b	0.5±0.1 ^b	0.000
肝脏重(%)	37.9±5.4 ^a	40.6±7.6 ^a	38.4±5.5 ^a	33.8±5.4 ^a	37.5±3.5 ^a	35.0±2.8 ^a	36.4±7.4 ^a	35.0±2.8 ^a	0.428
肚脏百分率(%)	2.4±0.5 ^a	2.4±0.4 ^a	2.4±0.3 ^a	2.4±0.3 ^a	2.2±0.1 ^a	2.8±0.4 ^a	2.3±0.3 ^a	2.2±0.2 ^a	0.130
肾脏重(g)	6.7±3.1 ^a	6.9±2.7 ^a	7.3±2.3 ^a	7.3±2.7 ^a	7.5±0.6 ^a	7.9±2.6 ^a	7.5±1.3 ^a	7.8±1.6 ^a	0.985
肾脏百分率(%)	0.4±0.2 ^a	0.4±0.2 ^a	0.4±0.1 ^a	0.5±0.2 ^a	0.4±0.0 ^a	0.6±0.2 ^a	0.5±0.1 ^a	0.5±0.1 ^a	0.432

注: 各脏器百分率(占活重的相对值)(%)=脏器重(g)/屠宰前活重(g)。

表 6 显示,各组间的屠宰率、半净膛率、胸肌率差异不显著 ($P>0.05$)。试验 7 组的全净膛率显著低于试验 6 组 ($P<0.05$),其它各组之间差异不显著 ($P>0.05$)。试验 5 组腹脂率显著低于 6 组 ($P<0.05$),其它各组之间差异也不显著 ($P>0.05$)。

从表 7 可以看出,试验 7、5 组的肌胃重显著低于试验 2、3、6、8 组 ($P<0.05$),试验 1 组显著低于试验 2、6 组 ($P<0.05$),其它各组之间差异不显著 ($P>0.05$);但

各组肌胃占活重的相对值间均无显著差异 ($P>0.05$)。7 组心脏占活体重的相对值 (%) 显著高于试验 2、3、6、8、9 组 ($P<0.05$),而其它各组之间差异不显著 ($P>0.05$)。肝、肾的绝对重与相对重在各组间均无显著差异 ($P>0.05$)。

2.4 肉品质指标

测定结果见表 8。由表 8 可看出,各组间全部肉品质指标均无显著差异 ($P>0.05$),但 2 组仔鸡肉的失

表 8 植酸酶与非植酸磷、钙水平的不同组合对肉仔鸡肉品质的影响

项目	组别								P 值
	1	2	3	5	6	7	8	9	
嫩度(N)	14.32±1.67 ^a	14.79±1.82 ^a	14.59±1.89 ^a	15.72±1.07 ^a	14.84±2.27 ^a	12.40±5.49 ^a	13.59±2.31 ^a	15.08±2.19 ^a	0.530
pH _{1h}	6.14±0.42 ^a	6.08±0.56 ^a	6.10±0.33 ^a	5.75±0.51 ^a	5.94±0.46 ^a	5.90±0.51 ^a	5.80±0.40 ^a	5.89±0.26 ^a	0.721
pH _{24h}	5.76±0.33 ^a	5.88±0.28 ^a	5.80±0.32 ^a	5.88±0.29 ^a	5.58±0.44 ^a	5.97±0.17 ^a	5.50±0.55 ^a	5.74±0.35 ^a	0.317
失水率(%)	33.34±6.14 ^a	29.84±7.12 ^a	32.98±5.41 ^a	32.61±5.31 ^a	39.04±5.53 ^a	38.76±5.74 ^a	37.59±8.72 ^a	32.96±5.79 ^a	0.135
熟肉率(%)	73.90±6.83 ^a	76.20±6.22 ^a	75.68±6.21 ^a	75.24±4.77 ^a	71.75±5.97 ^a	72.85±5.28 ^a	73.15±1.69 ^a	76.38±5.56 ^a	0.766

水率呈现较低的趋势 ($P=0.135$)。

3 讨论

3.1 不同磷、钙、植酸酶含量对生产性能的影响

从本试验结果可以看出,在非植酸磷为 0.38% (总磷 0.63%,为正常磷水平)时,即使不添加植酸酶、钙水平降低到 0.65%,仔鸡仍能正常生长。当非植酸磷为 0.18% (总磷 0.43%)时,采用低钙水平 (0.65%) 并添加植酸酶 600FTU/kg 的试验 1 组生长也较好,但耗料量与日增重仍偏低;而钙为 1.00%时,植酸酶添加量提高到 1 200FTU/kg (试验 7 组),显著影响了肉仔鸡的食欲和生长发育;而不添加植酸酶、钙水平为 0.80%的试验 4 组仔鸡在生长早期腿部即受到严重损害,全部死亡或被淘汰 (见表 5)。非植酸磷 0.28% (总磷 0.53%) 各组的上述指标间虽无显著差异,但以植酸酶 0 FTU/kg+钙 1.00%的试验 5 组较差,试验 2、8 组均较好;可认为非植酸磷为 0.28%时,不添加植酸酶影响生长 (特别是钙高时),但与添加植酸酶 600FTU/kg (试验 2 组)相比,添加 1 200FTU/kg (试验 8 组)并未进一步提高仔鸡生长性能。

本试验最好的植酸酶、非植酸磷、钙组合 (试验 2 组)与多数研究结果一致。Sebastian 等(1996)在含磷 0.5%的玉米-豆粕型日粮中添加植酸酶 600FTU/kg,经 3 周试验表明,添加植酸酶提高了肉仔鸡的体重,使其生产性能达到正常磷 (0.7%) 组的水平。Jongbloed 等(1992)、Qian 等(1996)、Simons 等(1990)、Perney 等(1991)的试验也得到同样结论。本试验中试验 1 组的生长性能未达到较高的水平,是其饲料磷水平太低

(非植酸磷 0.18%、总磷 0.43%)之故,添加植酸酶释放植酸磷的作用有一定限度,不能完全满足仔鸡生长对磷的需要。贺建华(2005)指出,在饲料中添加植酸酶超过 1 000FTU/kg 几乎无法继续提高磷的消化率,添加再多的酶都很难使饲料中的磷消化率超过 70%。

本试验结果还表明,添加植酸酶提高生长性能的效果与饲料钙磷比关系密切,在相同酶添加量和磷水平条件下,钙水平较低时的效果较优。彭玉麟(2002)研究表明:钙与总磷的比值在 1.1~1.4 之间是植酸酶和 VD₃ 最佳作用范围;而 0~3 周龄肉仔鸡最佳增重的钙与非植酸磷的比值为 2.2 : 1。本试验生长性能较好的试验 2、8 组的钙与非植酸磷比值为 2.86 : 1 和 2.32 : 1,效果尚好的试验 1 组为 3.61 : 1;试验 7 组磷水平同试验 1 组,但钙与植酸磷比值高达 5.55 : 1,虽植酸酶添加量为 1 200FTU/kg,耗料量与生长效果均最差。即使本试验较好的组合,钙与非植酸磷比仍偏离上述报道的最佳比例。在本试验条件下,若对此比例做调整是否能进一步改善生长效果还有待探讨。

由以上分析可见,虽然植酸酶能提高植酸磷的利用率,但饲料中非植酸磷的水平仍旧需要达到一定的量,且钙磷比例恰当,才能表现出良好的生长性能。

3.2 不同钙、磷、植酸酶水平对死淘率和腿病的影响

彭玉麟(2002)研究表明,饲料非植酸磷水平对采食量影响很大,饲料非植酸磷水平不足、植酸盐含量高时,可能出现异食癖、厌食、体重降低、增重下降和腿病等症状,本试验结果与此一致。饲料非植酸磷很低 (0.18%)、钙与非植酸磷比值不适宜 (4.44 : 1)、未添

加植酸酶的试验4组,在生长早期即大量发生腿病,不能正常采食,以致3周末死亡23只并退出试验。耗料和生长性能最差的试验5组(非植酸磷0.28%、钙1.00%、植酸酶0 FTU/kg)、试验7组(非植酸磷0.18%、钙1.00%、植酸酶1 200 FTU/kg)死淘率也较高;试验1组虽生长发育尚可,但发病率较高;试验1、7组腿病发生率也较高,可以说非植酸磷太低时会影响骨骼的正常生长发育。由此可见,较低的非植酸磷不仅影响采食量、增重,也降低了鸡只的抗病力。死淘率较高的试验8组与偏高的试验2组,死淘的主要原因是腿病以外的疾病,是否饲料中非植酸磷为0.28%时添加植酸酶仍不能满足良好抗病力的需要,有待进一步研究探讨。本试验白痢、腹水等疾病发生率高,可能与饲养管理有关,试验中以煤炉供暖,加之试验前期天气几度骤变,导致舍温有忽高忽低现象,使许多试鸡因患白痢和腹水症而死亡;后期鸡舍通风不良也有一定影响。另外鸡苗质量也存在问题,种鸡净化差而带菌是发病的根源。

3.3 不同饲料磷、钙、植酸酶水平对屠宰性能的影响

王彦文(1995)报道,肉鸡活体质量直接影响屠体肉量和品质。在本试验中,由于处理不同,导致各组供屠宰的试鸡个体差异较大。增重较差、采食量较低的试验7组,屠宰率和全净膛率低于其它各组。各组的肉品质指标在嫩度、pH_{24h}、失水率方面存在一定差异,但规律性不强。

心、肝、肾属于机体代谢旺盛的器官,其重量占活体重的比例反映了这些脏器的相对发育程度。本试验中,试验7组试鸡心、肝、肾重量相对较大,可能是由于磷的不足引起了机体代谢障碍,使得这些器官出现代偿性增大。

4 小结

4.1 饲料含非植酸磷0.18%(总磷0.43%)远不能满足肉仔鸡需要,其生长发育严重受阻,腿病发生率及死淘率高。在此非植酸磷水平饲料中添加600 FTU/kg植酸酶,可显著地降低死淘率和腿病发生率,但释放的无机磷仍不能满足肉仔鸡生长发育的需要,故日增重比较低;添加植酸酶1 200 FTU/kg也未进一步提高仔鸡的生长性能。

4.2 综合日增重、料肉比、屠宰性能等指标,肉鸡饲料中添加植酸酶600 FTU/kg、非植酸磷0.28%(总磷0.53%)、钙0.80%是比较理想的组合。饲料中含非植酸磷0.28%时,不添加植酸酶严重影响肉仔鸡生长发育及健康状况;但添加1 200 FTU/kg植酸酶并未较添

加600 FTU/kg的获得进一步改善,所以本试验选取试验2组的组合为最佳。

4.3 饲料中含非植酸磷0.38%各组合肉仔鸡生长发育均良好,3个钙水平及植酸酶添加量无明显影响。

4.4 饲料中非植酸磷及钙含量与添加植酸酶量对肉仔鸡肉的品质无显著影响。

4.5 植酸酶的添加和饲料钙、磷的比例有密切的关系。饲料中高钙可能影响植酸酶的活性或降低磷的利用率,有必要进一步探讨。

参考文献

- 1 张梅申.植酸酶的研究进展[J].食品科学,1997,18(5):3~4
- 2 李宗民.植酸酶的应用研究现状[J].四川畜牧,1997(11):11~13
- 3 瞿明仁.植酸的抗营养作用与植酸酶的应用.饲料毒物与抗营养因子研究进展.西安:西北大学出版社,1997.103~107
- 4 孙玉民,罗明主编.畜禽肉品学[M].山东科学技术出版社,1993
- 5 徐奇友.植酸酶对肉仔鸡生产性能及钙、磷利用率影响的研究[J].动物营养学报,2000,12(1):26~31
- 6 楼洪兴.植酸酶在肉仔鸡日粮中的应用[J].中国饲料,1995(19):19~20
- 7 楼洪兴.植酸酶提高肉鸡生产性能和磷利用率的研究[J].饲料工业,1997(8):83~86
- 8 苏基双.添加植酸酶对肉鸡钙、磷利用的研究[J].中国饲料,1997(17):5~6
- 9 彭玉麟,于明.非淀粉多糖酶和植酸酶对肉仔鸡生长性能和养分利用性的影响[J].中国畜牧杂志,2002,38(6):3~5
- 10 贺建华.植酸酶和植酸酶研究进展[J].动物营养学报,2005,17(1):1~6
- 11 丁奕.黑曲霉植酸酶对肉仔鸡生长和磷利用率影响的研究[J].山东家禽,2003(9):17~18
- 12 王彦文,史兆国. β -兴奋剂对肉用仔鸡屠宰性能和肉品质的影响[J].中国饲料,1995(14):17~18
- 13 王彦文,宋志琪.不同日粮配方对肉用仔鸡生产性能和胴体品质的影响[J].中国饲料,1995(8):11~14
- 14 Jongbloed. Effect of *Aspergillus niger* phytase in diets for pigs on concentration and apparent digestibility of dry mater, total phosphorus and inositol phosphates in different section of the alimentary tract [R]. Report no. 221. Research Institute for Livestock Feeding and Nutrition, Lelystad, The Netherlands. 1992
- 15 Nelson. Phytase in nutrition and waste management. Poultry Digest, 1993(8):10~15
- 16 H Qian. Phosphorus equivalence of microbial phytase in turkey diets as influenced by calcium to phosphorus ratios and phosphorus levels[J]. Poultry Science, 1996(75):618~626
- 17 Simons. Phytase in feed reduce phosphorus excretion. Poultry, 1990(7):15~17
- 18 Perney. The effect of dietary phytase on growth performance and phosphorus utilization of broiler chickens[J]. Poultry Science, 1993(72): 2 106~2 114

(编辑:高雁, snowyan78@tom.com)

有机铬对热应激蛋鸡生产性能和血液生化指标的影响

常娟 林东康

摘要 试验选用 91 周龄新罗曼商品蛋鸡 480 只,按 2×2 双因子试验设计随机分为 5 组,对照组饲喂不添加铬的玉米-豆粕型基础日粮,4 个试验组饲喂在基础日粮中分别添加了以吡啶羧酸铬或酵母铬来源的 0.2mg/kg 或 0.4mg/kg 的日粮,试验 30d,以研究有机铬对热应激蛋鸡生产性能和血液生化指标的影响。试验结果显示:①有机铬能在一定程度上促进热应激蛋鸡的蛋白质利用,提高热应激蛋鸡的生产性能;②铬水平对血清尿素氮有极显著的影响($P<0.01$),添加 0.4mg/kg 铬组均极显著地低于对照组($P<0.01$),说明了补铬能够抑制由高温引起的蛋白质分解过程,从而起到缓解高温应激的作用;③吡啶羧酸铬和酵母铬在作用效果上无显著的差异;从经济效益方面考虑,0.4 mg/kg 铬水平的酵母铬和吡啶羧酸铬经济效益较高。

关键词 热应激;蛋鸡;吡啶羧酸铬;酵母铬

中图分类号 S831.5

Effects of the diet supplemented with organic chromium on production performance and serum biochemical traits of laying hens

Chang Juan, Lin Dongkang

Abstract A total of 480 91-week old Roman commercial layers were randomly allotted to one of five treatments according to a 2×2 factorial arrangement, and fed a basal corn-soybean meal diet (control) and the basal diets supplemented with 0.2 or 0.4mg/kg chromium either as yeast or picolinate respectively under heat temperature. The experiment last 30 days to study the effect of organic chromium on egg production performance and serum biochemical traits. The result showed: ①Both picolinate chromium and chromium yeast chromium can improve the production performance to some extent on heat stress. ②Cr level influenced the serum uric ($P<0.01$), Layers fed the diets supplemented with 0.4mg/kg Cr had lower serum uric than those fed the control diet and 0.4mg/kg Cr. It indicate organic chromium can prevent the process of protein conversation caused by heat stress. ③There were no differences in reducing the negative effects of heat stress and improving the quality of eggs between yeast chromium and picolinate chromium. 0.4mg/kg Cr is superior to 0.2mg/kg Cr in economic effect.

Key words heat stress; laying hen; picolinate chromium; yeast chromium

1 材料与方法

1.1 试验动物及试验设计

1.1.1 试验动物的选择和分组

试验选用体重、产蛋率、产蛋重相近的 91 周龄健康商品代新罗曼蛋鸡 480 只,随机分成 5 个处理,每个处理 6 个重复,分别饲养于相对的上、中、下 3 层笼中,每个重复 4 个笼,每笼 4 只鸡。

1.1.2 试验设计

试验采用 2×2 双因子设计,铬来源于吡啶羧酸铬(意大利威尼达公司提供,铬浓度标示值为 1 000mg/kg)

和酵母铬(美国奥特奇公司提供,铬浓度标示值为 1 000mg/kg),其中两个添加水平分别为 0.2mg/kg 和 0.4mg/kg,两种铬源共用一个对照组,共 5 个处理。

1.2 试验日粮

试验采用郑州市荥阳县贾峪镇邢村新兴牧业公司配制的同种玉米-豆粕型饲粮为基础日粮,基础日粮配方见表 1。按照因子试验安排分别配制 5 种试验饲粮。

1.3 试验时间和饲养管理

试验为夏季高温阶段,正试期为 1 个月,于 2003 年 8 月 1 日开始至 8 月 30 日结束。试验按《新罗曼商品代鸡饲养管理手册》进行日常饲养管理,舍内采用自然通风加风机纵向抽气通风,自由采食与饮水。在试验期内每天 6:30、11:00 和 17:00 各喂料一次,喂

常娟,河南农业大学,450002,河南郑州。

林东康,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2006-03-06

料时根据上次喂料后鸡的采食情况,适当增减给料量,使鸡保持自由采食状态。每天 16:00 拣蛋。试验过程中每天 10:30 和 14:30 分别记录鸡舍内的温度。

表 1 基础日粮组成及营养水平

日粮配方	含量(%)	营养水平	
玉米	64	代谢能(MJ/kg)	11.20
豆粕	16.5	粗蛋白(%)	16.51
棉粕	4.78	粗脂肪(%)	2.53
菜粕	1.5	钙(%)	3.5
酵母粉	1.5	有效磷(%)	0.34
芝麻粕	0.5	赖氨酸(%)	0.73
L-赖氨酸盐酸盐	0.05	蛋氨酸(%)	0.36
蛋氨酸	0.1		
食盐	0.37		
石粉	8.5		
磷酸氢钙	1.2		
预混料	1.0		
合计	100		

注:每千克饲料添加维生素 A 12 000IU,d-泛酸钙 10mg,维生素 E 30mg,维生素 K₃ 3mg,维生素 B₁ 2mg,维生素 B₂ 6mg,维生素 B₆ 3.5mg,维生素 B₁₂ 0.02mg,烟酸 30mg,叶酸 0.5mg,50%氯化胆碱 1 000mg,生物素 0.025mg,Fe 50mg,Cu 8mg,Mn 100mg,Zn 50mg,Se 0.2mg,I 1.0mg,Co 0.1mg,蛋氨酸盐酸盐 1.2g,L-lys 盐酸盐 0.6g。

1.4 样品采集与处理

在试验的第 30d,每个重复随机取 4 只体重接近的鸡在清晨采食前进行翅静脉采血,血样在离心机(3 000r/min)上离心 10min 后,分离出血清,立即用于测定血清葡萄糖(GLB)、甘油三酯(TG)、胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、尿素氮(BUN)、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、球蛋白(GLOB)的含量。

1.5 检测指标与方法

记录每天每个重复组的总产蛋数、总蛋重、破蛋个数、死淘情况。

基础日粮中营养成分的测定参照饲料常规成分

分析法测定^[1];血液生化指标均采用试剂盒检测(购于南京建成生物工程研究所)。

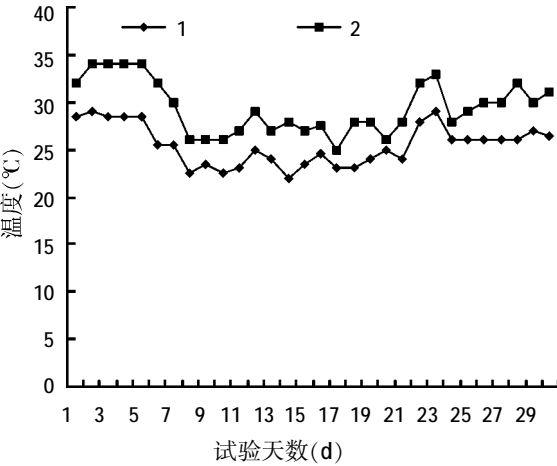
1.6 统计方法

所有数据均采用 SAS 软件中 GLM 法,按 2×2 因子安排的完全随机设计对各项数据进行 F 值方差分析,方差分析差异显著者用 LSD 法进行平均数间的差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 试验期间的温度情况

试验期间鸡舍上下午的平均温度为 28.7℃,对蛋鸡来说属于热应激阶段,试验温度变化情况如图 1。



注:1.表示 10:30 的温度;2.表示 14:30 的温度。

图 1 试验期间鸡舍温度变化情况

2.2 日粮中添加不同铬源和铬水平的有机铬对夏季高温条件下蛋鸡生产性能的影响(见表 2)

由表 2 可知,两个铬水平组的平均日采食量比对照组均有所提高,但无显著差异(P>0.05);铬源对夏季高温蛋鸡的采食量也无显著影响(P>0.05)。

随着日粮铬水平的提高产蛋率呈线性增加,

表 2 饲料铬对夏季高温条件下产蛋鸡生产性能的影响

铬源	添加铬水平(mg/kg)	日采食量(g)	产蛋率(%)	平均蛋重(g)	料蛋比
吡啶羧酸铬	0.2	100.87±2.18	83.07±0.18	58.31±1.85	2.34±0.05
	0.4	97.40±5.32	83.60±0.03	58.48±1.03	2.24±0.01
酵母铬	0.2	98.61±3.31	82.85±0.07	58.57±0.96	2.29±0.03
	0.4	98.62±1.96	84.56±0.13	58.16±1.02	2.25±0.02
吡啶羧酸铬 酵母铬		98.32±4.98	82.85±0.12	58.18±1.69	2.28±0.03
		97.98±3.21	83.10±0.01	58.17±1.50	2.27±0.01
日粮铬水平	0	96.70±3.12	81.89±0.09	57.76±1.31	2.27±0.02
	0.2	99.74±4.31	82.96±0.15	58.44±1.69	2.32±0.01
	0.4	98.01±2.43	84.08±0.03	58.33±0.33	2.25±0.02
铬源 p 值		0.251 1	0.300 1	0.979 7	0.696 5
铬水平 p 值		0.766 2	0.828 9	0.391 4	0.090 0
互作		0.912 0	0.900 6	0.874 2	0.821 0

0.2mg/kg 铬组和 0.4mg/kg 铬组产蛋率分别比对照组提高 1.31%和 2.67%,未达到显著水平($P>0.05$);不同铬源之间无显著差异($P>0.05$)。

各试验组平均蛋重均高于对照组,0.2mg/kg 铬组和 0.4mg/kg 铬组蛋重分别比对照组提高 1.18%和 0.99%,但差异不显著($P>0.05$)。

0.2mg/kg 铬水平组料蛋比和对照组相比有所上升,随着铬水平提高,0.4mg/kg 铬水平组有所下降,但各水平之间差异不显著($P>0.05$)。铬源对料蛋比也无显著影响($P>0.05$)。

2.3 日粮中添加不同铬源和铬水平的有机铬对夏季高温条件下蛋鸡死亡率的影响

本次试验期间对照组鸡的死亡数为 4 只,0.2mg/kg 和 0.4mg/kg 吡啶羧酸铬组死亡数分别为 5 只和 3 只,0.2mg/kg 和 0.4mg/kg 酵母铬组死亡数分别为 4 只和 2 只,各组间无显著差异($P>0.05$)。

2.4 有机铬对热应激蛋鸡血液生化指标的影响 (见表 3)

由表 3 可知,饲料中的铬对热应激蛋鸡血清甘油三酯、血清总胆固醇、血清高密度脂蛋白胆固醇及血

表 3 饲料铬对热应激蛋鸡血液生化指标的影响

铬源	添加铬水平 (mg/kg)	甘油三酯 (mmol/l)	血清总胆 固醇(mmol/l)	高密度脂蛋白胆 固醇(mmol/l)	葡萄糖 (mmol/l)	尿素氮 (mmol/l)	总蛋白 (g/l)	白蛋白 (g/l)	球蛋白 (g/l)
吡啶羧酸铬	0.2	18.64±1.30	3.89±0.82	0.720 0±0.085 3	8.21±1.52	0.666 7±0.000 1 ^a	58.57±4.33	19.40±1.39	39.17±1.65
	0.4	22.69±2.29	4.46±0.22	0.783 3±0.017 0	7.62±0.18	0.503 3±0.000 4 ^b	55.33±3.41	19.86±1.16	35.47±1.38
酵母铬	0.2	19.53±2.14	3.78±0.65	0.606 7±0.011 4	8.99±0.81	0.666 7±0.030 2 ^a	57.13±1.57	20.06±2.13	37.07±1.68
	0.4	20.87±1.51	4.15±0.34	0.710 0±0.061 3	9.3±0.62	0.666 7±0.020 1 ^a	54.27±1.37	18.80±1.39	35.87±1.86
吡啶羧酸铬 酵母铬		20.99±2.08	4.15±0.62	0.716 7±0.032 0	7.68±0.72	0.683 3±0.017 4	56.39±2.12	19.55±1.34	36.84±1.48
		20.67±2.09	4.01±0.47	0.654 4±0.027 1	8.5±0.65	0.737 8±0.024 5	55.55±1.48	19.42±1.48	36.27±1.54
日粮铬水平	0	21.63±1.71	4.09±0.15	0.646 7±0.009 1	7.2±0.71	0.880 0±0.001 7 ^b	55.27±1.87	19.40±0.34	35.87±1.15
	0.2	19.09±1.87	3.89±0.71	0.720 0±0.049 0	8.6±0.97	0.666 7±0.012 1 ^b	57.85±1.86	19.73±1.57	38.12±1.67
	0.4	21.78±1.97	4.46±0.26	0.783 3±0.033 0	8.46±0.88	0.585 0±0.016 2 ^a	54.80±1.84	19.33±1.36	35.67±1.42
铬源 p 值		0.861 2	0.728 4	0.498 1	0.298 1	0.251 5	0.6510	0.827 6	0.751 6
铬水平 p 值		0.391 6	0.621 2	0.628 8	0.290 0	0.000 5	0.3594	0.844 4	0.470 0
互作		0.812 0	0.946 8	0.871 8	0.670 9	0.272 5	0.9446	0.506 9	0.825 2

清葡萄糖均未产生显著的影响($P>0.05$)。铬水平对血清尿素氮有极显著的影响($P<0.01$), 0.4mg/kg 铬水平组血清尿素氮极显著地低于对照组和 0.2mg/kg 铬水平组($P<0.01$), 0.4mg/kg 铬水平吡啶酸铬组显著低于其余各组($P<0.05$)。铬源对血清尿素氮的含量无显著影响($P>0.05$)。0.2mg/kg 铬水平组的血清总蛋白、白蛋白和球蛋白含量低于 0.4mg/kg 铬水平和对照组,但铬

水平和铬源对血清总蛋白的影响均未达到显著水平($P>0.05$)。

2.5 饲料中添加有机铬的经济效益分析

按照鸡蛋市价为 3.6 元/kg 计算所得经济效益见表 4。

由表 4 可知,在本次试验中,除 0.2mg/kg 铬水平的吡啶羧酸铬日粮组经济效益低于对照组外,其余各

表 4 正常生产情况下饲料中添加有机铬经济效益分析

铬源	铬水平 (mg/kg)	饲料情况			产蛋情况			毛盈利[元/(d·只)]
		单价(元/kg)	耗料量(g)	金额(元)	产蛋率(%)	蛋重(g)	金额(元)	
对照组	0	1.01	96.70	0.097 7	81.89	57.76	0.170 3	0.072 6
吡啶羧酸铬	0.2	1.02	100.87	0.102 9	83.07	58.31	0.174 4	0.071 5
	0.4	1.03	97.40	0.100 3	83.60	58.48	0.176 0	0.075 7
酵母铬	0.2	1.02	98.61	0.100 6	82.85	58.57	0.174 7	0.074 1
	0.4	1.04	98.62	0.102 6	84.56	58.16	0.177 0	0.074 4

组的经济效益均高于对照组。0.4mg/kg 酵母铬和 0.4mg/kg 吡啶羧酸铬组分别比对照组高出 2.48%和 4.27%。

3 讨论

3.1 日粮中添加不同铬源和铬水平的有机铬对蛋鸡生产性能的影响

Sahin 等(2002)研究了热应激情况下,在蛋鸡日粮中分别添加 0、0.2、0.4、0.8 和 1.2mg/kg 铬水平的吡啶羧酸铬对蛋鸡生产性能的影响,结果表明,随着日粮铬水平的提高,采食量逐步提高^[2]。罗绪刚(1999)试验表明,铬水平对热应激蛋鸡的采食量也有一定的影响,但铬源对采食量无显著影响^[3]。本试验结果表明,

在热应激情况下,随着日粮铬水平的提高采食量逐步提高,这与前人的报道基本一致,未达到显著水平可能与应激程度及试验具体条件有关。

铬源和铬水平对产蛋率的影响目前无一致的结论。Sahin等(2002)的试验表明,在日粮中添加0.4mg/kg的铬(吡啶羧酸铬),产蛋量显著高于对照组($P<0.05$)^[2]。罗绪刚(1999)的试验表明,加铬对产蛋率无显著影响^[3]。本试验中,有机铬对产蛋率无显著的影响。

Sahin等(2002)的研究表明,饲料中吡啶羧酸铬添加水平为0.4mg/kg时,明显提高了饲料的转化效率^[2]。罗绪刚(1999)报道,热应激蛋鸡饲料中添加2.0mg/kg和4.0mg/kg的吡啶羧酸铬和三氯化铬,铬水平对料蛋比有显著影响($P<0.01$)^[3]。

本试验中0.4mg/kg铬水平组料蛋比最小,0.2mg/kg铬组料蛋比稍高于对照组,可能是铬的添加量较小,对饲料转化效率没有作用,或与加铬组鸡的料损有关,确切原因尚待进一步研究。

3.2 日粮中添加不同铬源和铬水平的有机铬对蛋鸡死亡率的影响

Kim等(1997)对37周龄谢弗褐壳蛋鸡进行补铬(吡啶羧酸铬)试验,结果显示并未影响试验期(6周)的产蛋量,但却明显减少了产蛋期鸡的死亡率^[4]。本试验中各组鸡的死亡率无显著的差异,这与饲养管理及应激程度都有一定的关系。

关于不同有机铬源对家禽生产性能影响的研究目前较少,本研究中吡啶羧酸铬和酵母铬在改善蛋鸡生产性能方面效力相当,这于Nam(1996)等报道的吡啶羧酸铬或烟酸铬在改善热应激肉仔鸡生长性能上效果相同的结果基本一致^[5]。

3.3 日粮中添加不同铬源和铬水平的有机铬对热应激蛋鸡血清生化指标的影响

3.3.1 日粮中添加不同铬源和铬水平的有机铬对热应激蛋鸡糖类的影响

Amoikon等(1995)试验表明,吡啶羧酸铬日粮可以降低猪血液中胰岛素水平,加速葡萄糖在血液中的清除,降低葡萄糖的半衰期^[6]。张敏红(1998)的试验表明,给饲养于高温环境的肉仔鸡补充不同水平的吡啶羧酸铬不影响其血清葡萄糖水平^[7]。本试验结果也表明,有机铬对血清葡萄糖水平无显著的影响,加铬组葡萄糖水平反而比对照组有所提高,原因可能在于铬的作用是维护正常的血糖水平和正常的糖耐受能力,铬不仅能使血糖降低,也能使血糖有一定的升高。

3.3.2 日粮中添加不同铬源和铬水平的有机铬对热应激蛋鸡脂类的影响

大多数的试验都表明,三价铬可促进HDL-C的合成,降低TG、TC的含量。Lien等(1996)研究表明,补铬降低了甘油三酯的含量,升高了高密度脂蛋白胆固醇水平^[8];Page等(1992)的试验降低了血清中的胆固醇,却升高了甘油三酯^[9];王丹莉(2000)对肉鸡的试验中也发现了补吡啶羧酸铬降低了高密度脂蛋白胆固醇的含量^[10]。其它的一些试验表明补铬对血清特性未产生显著影响。

本试验结果中有机铬对血脂的各项指标均无显著的影响。许多试验更进一步证明,只有在缺铬、患高血脂症或动脉粥样硬化的动物中补铬对脂类代谢指标才有显著影响。Mertz等(1969)指出,补铬对缺铬的动物才有效应^[11],可见有机铬可能有调节血脂水平的作用。本试验中添加有机铬对蛋鸡血脂水平无显著影响,可能是因为动物本身的血脂处于正常的水平范围内。

3.3.3 日粮中添加不同铬源和铬水平的有机铬对热应激蛋鸡蛋白质代谢的影响

血清尿酸和血清蛋白常作为反映禽类机体蛋白质代谢水平和免疫机能的指标。血清尿酸直接反映机体蛋白质分解代谢水平,饲料转化率越高,尿酸含量越低。血清总蛋白及其中的白蛋白是反映动物营养状况的指标之一,良好的营养状况可使血清蛋白维持在一个较高的水平。血清球蛋白则与体液免疫有关。

Amoikon(1995)认为,补加有机铬可增强蛋白质合成代谢,尿酸被利用作为氨基酸、蛋白质合成的氮源,从而降低血清尿酸水平,提高血清总蛋白含量^[6]。张敏红(2000)发现,日粮补加吡啶羧酸铬使处于高温环境的肉鸡的血液总蛋白水平升高,尿酸水平下降。李海峰(1999)和林祥霖(1998)证实,在热应激蛋鸡日粮中补加有机铬,并未对血清总蛋白和尿酸水平产生影响^[12]。

本试验与前人的研究结果基本一致,补充铬水平为0.2mg/kg和0.4mg/kg的试验组蛋鸡血清尿酸水平极显著低于对照组,说明了补铬能够抑制由高温引起的蛋白质分解过程,从而起到缓解高温应激的作用。试验中铬水平为0.2mg/kg组蛋鸡的血清总蛋白、白蛋白和球蛋白的平均含量均低于铬水平为0.4mg/kg组和对对照组,白蛋白相对升高,说明补铬有助于蛋白质在组织中的沉积。球蛋白浓度升高与机体的免疫功能有关,据报道,球蛋白的下降是炎热季节鸡的发病率和死亡率增加的原因。本试验中铬水平为0.4mg/kg组的血清球蛋白含量比对照组有所增加,补充有机铬在一定程度上提高了机体的免疫能力。

4 小结

4.1 有机铬能在一定程度上促进热应激蛋鸡的蛋白质利用,提高热应激蛋鸡的生产性能。

4.2 铬水平对血清尿素氮有极显著的影响($P<0.01$),补铬能够抑制由高温引起的蛋白质分解过程,从而起到缓解高温应激的作用。

4.3 吡啶羧酸铬和酵母铬在作用效果上无显著的差异。从经济效益方面考虑,铬水平为 0.4mg/kg 的酵母铬和吡啶羧酸铬经济效益较高。

4.4 试验中随着饲料铬水平的提高,蛋鸡的平均产蛋率和总产蛋量有提高的趋势,但如果继续增加铬的用量会对蛋鸡的各项性能指标有怎样的影响,究竟多大剂量才能满足蛋鸡热应激下的营养需要,有待进一步研究。

参考文献

- 1 杨胜主编.饲料分析及饲料质量检测技术(第1版)[M].北京:北京农业大学出版社,1996
- 2 Sahin K,Ozbey M,Onderci M. Chromium Supplementation Can Alleviate Negative Effects of Heat Stress on Egg Production ,Egg Quality and Some Serum Metabolites of Laying Japanese Quail. The Journal of Nutrition,2002,132(2):1 265~1 268
- 3 罗绪刚,郭艳丽,刘彬,等.饲料铬对 0~3 周龄肉鸡生长,血清生化特性和免疫功能的影响[J].畜牧兽医学报,1999,30(6):481~489
- 4 Kim J D.Effects of dietary chromium picolinate on performance,egg quality, serum traits and mortality rate of brown layers [J].Asian-Australasian Journal of Animal Science,1997,10(1):1~7
- 5 Nam K T,H.Y. Lee,C. W. Kang, et al. The effect of dietary chromium on broiler chicks under heat stress.Proc.World's Poult.Sci.,New Delhi. 1996(1):1~2
- 6 Amoikon E K.Effect of Chromium Tripicolinate on Growth,Growth Hormone in Pigs[J].J. Anim. Sci., 1995(73):1 123~1 130
- 7 张敏红,张卫红,张应龙,等.持续日变高温对猪的铬代谢及血液生化指标的影响[J].畜牧兽医学报,1998(29):112~120
- 8 Lien T F,Wu C P,Wang B J, et al. Effects of supplemental levels of chromium picolinate on the growth performance,serum traits,carcass characteristics and lipid metabolism of growing-finishing pigs [J]. J. Anim. Sci., 2001,72(2):289~296
- 9 Page T G. Effect of chromium picolinate on growth and serum and carcass traits of growing-finishing pigs [J].J. Anim. Sci.,1993 (71): 656~662
- 10 王丹丽,张敏红,杜荣,等.日粮铬水平对肉鸡生长性能免疫技能及胴体脂肪含量的影响[J].动物营养学报,1999,11(2):19~23
- 11 Mertz W. Chromium occurrence and function in biological system, Physiol. Rev., 1969(49):163~239
- 12 林祥霖.微量元素铬在动物营养上的作用及作用机制[J].福建畜牧兽医,1996(3):13~18

(编辑:高 雁,snowyan78@tom.com)

· 广 告 ·

江苏省微生物研究所有限公司

——快速检测试剂盒系列产品

江苏省微生物研究所有限责任公司是一家专门从事食品、饲料安全快速检测试剂盒研制开发的转制民营高新技术企业,曾经承担过多项国家重大课题研究,由科技部转化资金资助的食品、饲料安全因子快速检测试剂盒的生产线建设已全面通过验收,并通过 ISO9001:2000 国际质量体系认证。

测试盒种类	适用范围	分析时间	检出限	型号
黄曲霉毒素 B ₁	各种饲料及原料中 AFB ₁ 的快速分析	< 1.5 小时	0.1 μg/kg	12 孔, 24 孔, 48 孔
呕吐毒素 (DON)	各种谷物、饲料中 DON 的快速分析	< 2 小时	10 μg/kg	24 孔, 48 孔
盐酸克伦特罗	动物组织、尿样、血液及饲料中克伦特罗的快速分析	< 1.5 小时	0.1 μg/kg	24 孔, 48 孔, 96 孔
莱克多巴胺	动物组织、尿样、血液及饲料中克伦特罗的快速分析	< 1.5 小时	10 μg/kg	24 孔, 48 孔, 96 孔
磺胺二甲基嘧啶	乳品、蜂蜜、动物组织及饲料中磺胺二甲基嘧啶的快速分析	< 1.5 小时	0.1 μg/kg	24 孔, 48 孔, 96 孔

此外,我公司测试盒系列产品还包括黄曲霉毒素 M₁ 快速检测试剂盒、罂粟碱快速检测试剂盒等,正在研制的玉米赤霉烯酮检测试剂盒也即将面世,欢迎来电垂询,详细信息请登陆本公司网站。

地 址:无锡市钱荣路 7 号

电 话:0510-85514690 85522291

联系人:蔡建荣 赵春城

邮 编:214063

传 真:0510-85500928

网 址:www.aflatoxin.cn

11 株益生菌对 32 种抗菌药物的敏感性试验

曹国文 戴荣国 周淑兰 付利芝 陈春林 徐登峰 郑 华 张邑帆 杨松全

摘 要 以 6 株猪源乳杆菌、1 株植物乳杆菌和 4 株芽孢杆菌对 32 种抗菌药物进行了敏感性试验。结果表明:猪源乳杆菌对 32 种抗菌药物的耐受性达 53.1%~71.9%,而植物乳杆菌对 12 种药物有耐受性;4 株芽孢杆菌几乎对所有参试的抗菌药物(杆菌肽除外)均具有敏感性。试验结果对微生物饲料添加剂的研制及其在畜禽生产中的应用具有指导意义。

关键词 乳酸杆菌;芽孢杆菌;抗菌药;敏感性

中图分类号 S482.28

The sensitivity test of eleven helpful living bacteria strains about 32 kinds antibacterial

Cao Guowen, Dai Rongguo, Zhou Shulan, Fu Lizhi, Chen Chunlin, Xu Dengfeng,

Zheng Hua, Zhang Yifan, Yang Songquan

Abstract 6 strains porcine lactobacillus, 1 strain plant lactobacillus and 4 strains sporangium bacilliform bacteria were detected the sensitivity to 32 kinds antibacterial in this test. The results showed that 6 strains porcine lactobacillus had the resistant to 53.1%~71.9% antibacterial of 32 kinds antibacterial; 1 strain plant lactobacillus had the resistant to 12 of the 32 kinds antibacterial; and 4 strains sporangium bacilliform bacteria were sensitive to 32 kinds antibacterial except Bacitracin. This test results have scientific guidance meaning for developing and application in livestock and poultry production of microbe animal feed additive.

Key words lactobacillus; sporangium bacilliform bacteria; antibacterial; sensitivity

如今,以乳酸菌、无毒芽孢杆菌为基础的微生态制剂因其无毒、无害、无残留等优点,正不断被更多的人所关注。但由于目前微生态制剂还不能完全替代抗生素和化学药物,它的作用往往受到很多因素的影响,所以,研究益生菌对多种抗菌药物的敏感性,对研究微生态制剂及其在生产中合理应用很有意义。本试验通过药物敏感性研究,测定了不同来源乳酸菌、芽孢杆菌等益生菌对抗生素的敏感性,为筛选益生菌菌株,研制微生态制剂及其在抗生素存在的环境中的合理应用提供了参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验菌株

猪源乳杆菌(由本中心从仔猪肠道内分离鉴定保存,编号为 RS-1、RS-2、RS-3、RS-4、RS-5 和 RS-6)、

植物乳杆菌(购自中国农业微生物菌种保藏中心,自编号 RS-7)、芽孢杆菌(包括地衣芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌、蜡样芽孢杆菌、凝结芽孢杆菌,均购自中国农业科学院农业微生物菌种保藏中心,自编号 Y1、Y2、Y3、Y4)。

1.2 抗菌药物纸片

环丙沙星、左氟沙星、氨苄青霉素、阿莫西林、先锋 V、壮观霉素、青霉素、庆大霉素、痢特灵、头孢噻肟、复方新诺明、呋喃妥因、复达欣、头孢他啶与克拉维酸复合剂等 32 种药敏纸片,均购自重庆迈克科技公司,由杭州天和微生物试剂公司生产(均在有效期内)。其抗菌药纸片种类、含药量及判定标准见表 1。

1.3 培养基

普通营养琼脂平板培养基,按常规制作。

1.4 药敏试验

按纸片扩散法进行,37℃培养 16h,观察测量抑菌环直径,并记录结果。

2 结果与讨论

2.1 药物敏感性试验结果(见表 2)

从本实验结果可以看出,32 种抗菌药中唯有杆菌肽对所有参试菌株均无抑制作用,是药敏纸片失效还是耐药原因有待进一步研究。

曹国文,重庆市畜牧科学研究院,高级兽医师,402460,荣昌。

戴荣国、周淑兰、付利芝、陈春林、徐登峰、郑华、张邑帆、杨松全,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2006-02-06

★ 重庆市科委攻关项目“畜禽微生物饲料添加剂的研究”(编号:2002-20)

表1 抗菌药纸片种类、含药量及判定标准

抗菌药	纸片含药量(mg/片)	判定标准(抑菌环直径,mm)		
		耐药	中度敏感	敏感
环丙沙星	10	≤12	13~16	≥17
氨苄西林	10	≤12	13~16	≥17
复达欣	30	≤14	15~17	≥18
左氟沙星	10	≤12	13~16	≥17
头孢他啶	30	≤14	15~17	≥18
呋喃妥因	300	≤14	15~16	≥17
氨苄青霉素	10	≤11	12~13	≥14
阿莫西林	30	≤14	15~17	≥18
头孢氨苄	30	≤14	15~17	≥18
克林霉素	30	≤13	14~17	≥18
苯唑青霉素	1	≤10	11~12	≥13
利福平	5	≤16	17~19	≥20
万古霉素	30	≤9	10~11	≥12
妥布霉素	10	≤12	13~14	≥15
红霉素	15	≤13	14~17	≥18
羧苄青霉素	100	≤17	18~22	≥23
氟派酸	10	≤12	13~16	≥17
先锋必	75	≤15	16~20	≥21
丁胺卡拉	30	≤14	15~16	≥17
复方新诺明	23.75/1.25	≤10	11~15	≥16
痢特灵	300	≤14	15~16	≥17
头孢噻肟	30	≤14	15~17	≥18
菌必治	30	≤13	14~20	≥21
新生霉素	30	≤17	18~21	≥22
庆大霉素	10	≤12	13~14	≥15
氯霉素	30	≤12	13~17	≥18
壮观霉素	30	≤15	16~18	≥19
青霉素	10IU	≤19	20~22	≥28
先锋V	30	≤14	15~17	≥18
氟喹酸	5	≤12	13~16	≥17
四环素	30	≤14	15~18	≥19
杆菌肽	10IU	≤8	9~12	≥13

2.2 试验结果的讨论

2.2.1 6株猪源乳杆菌(R1-6)对头孢氨苄、复达欣、头孢他啶(克拉维酸)、苯唑青霉素、复方新诺明、痢特灵、头孢噻肟、青霉素均具有耐药性。而植物源乳杆菌(R7)除环丙沙星外,对左氟沙星、氨苄青霉素、阿莫西林、先锋V、壮观霉素、青霉素、庆大霉素、痢特灵、头孢噻肟、复方新诺明、呋喃妥因、复达欣、头孢他啶(克拉维酸)等表现出高度敏感性;对四环素、氯霉素、红霉素、氟哌酸、环丙沙星、万古霉素、利福平、克林霉素、苯唑青霉素具有耐药性。利福平、氟派酸、氯霉素、四环素对猪源RS-(1-6)株具有抑制作用;而对植物源乳杆菌RS-7株却不敏感。由此可以看出,猪源乳杆菌与植物源乳杆菌在对药物的敏感性上有较大的差异。从各菌株来看,对抗菌药的耐药程度各不相同,RS-1株对所测32种抗生素中的19种不敏感,RS-2株对所测32种抗生素中的23种有耐药性,RS-3株对所测32种抗生素中的17种有耐药性,RS-4株对所测32种抗生素中的22种有耐药性,RS-5株对所

测32种抗生素中的19种有耐药性,RS-6株对所测32种抗生素中的18种有耐药性,RS-7株对所测32种抗生素中的12种有耐药性。表明当前动物与植物均不同程度受到抗生素与化学药物的污染,从而导致微生物耐药性增加。

表2 11株益生菌药敏试验结果

抗菌药	试验结果-抑菌圈直径(mm)										
	Y1	Y2	Y3	Y4	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7
环丙沙星	28	21	26	27	16	18	18	17	18	15	9
氨苄西林	36	26	25	29	13	12	18	0	15	17	19
复达欣	25	14	20	18	0	0	0	0	0	0	24
左氟沙星	24	22	26	29	16	16	17	16	25	17	33
头孢他啶	24	14	12	20	0	0	0	0	0	0	20
呋喃妥因	24	18	20	20	22	0	0	19	15	20	25
氨苄青霉素	30	16	17	19	20	12	12	15	11	15	24
阿莫西林	28	15	20	26	20	16	17	19	21	17	28
头孢氨苄	36	24	24	32	0	0	0	0	0	0	0
克林霉素	29	20	25	24	10	18	19	0	24	20	0
苯唑青霉素	16	14	11	10	0	0	0	0	0	0	8
利福平	26	19	21	21	15	25	23	21	16	24	0
万古霉素	24	17	28	8	19	0	19	16	18	18	0
妥布霉素	28	29	22	24	0	10	11	9	7	11	18
红霉素	26	24	29	26	0	12	0	14	15	13	0
羧苄青霉素	29	20	17	16	9	0	0	7	7	0	22
氟派酸	22	18	20	20	15	18	16	11	14	13	0
先锋必	32	26	24	35	19	15	17	0	20	17	14
丁胺卡拉	30	21	22	23	10	12	12	0	0	11	15
复方新诺明	28	24	16	17	0	0	0	0	0	0	30
痢特灵	30	18	25	25	0	0	0	0	0	0	27
头孢噻肟	20	20	23	24	0	0	0	0	0	0	30
菌必治	28	26	26	30	0	0	10	11	7	12	14
新生霉素	26	18	21	20	23	0	16	9	15	16	26
庆大霉素	30	20	20	22	12	12	14	0	6	12	25
氯霉素	30	24	26	24	18	20	21	15	24	21	0
壮观霉素	26	16	18	19	13	0	16	0	10	14	28
青霉素	21	15	0	19	0	0	0	0	0	0	24
先锋V	34	30	31	35	7	7	9	7	9	8	18
氟喹酸	32	23	24	27	17	0	16	15	15	18	15
四环素	31	16	19	16	20	22	21	0	20	21	0
杆菌肽	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

2.2.2 微生态制剂在治疗幼畜下痢和胃肠道疾病等方面效果明显,但作为饲料添加用于促进动物生长,提高生产性能方面,单一的菌株仍无法取代抗生素促长剂,所以抗生素和有益菌的联合或配合应用成为饲料添加剂研究的热点。本试验结果证实,所用7株乳杆菌对目前国内外使用的抗菌药物均有不同程度的耐受性,可考虑有选择性的与其不敏感的抗生素进行联合运用以达作用互补。益生菌与抗生素联用的优点在于,抗菌药物能有效杀灭病原菌而对有益菌无害,使机体形成以有益菌为优势菌群的微生态环境。

2.2.3 微生态制剂的作用机制是运用有益的活菌制剂来调节机体的微生态平衡,活菌的数量直接影响益生

菌剂的使用效果。本试验结果发现,从国家菌种中心购回的4株芽孢杆菌几乎对所有抗菌药(杆菌肽除外)具有敏感性;而乳杆菌大部分菌株对当前常用的环丙沙星、左氟沙星、氨苄青霉素、阿莫西林、先锋V、左氟沙星、四环素、氟派酸、氯霉素等抗菌药都敏感,这表明,当用上述药物敏感菌株研制的微生物饲料添加剂时,在生产和使用过程中应避免与这些抗菌药物的接触,以免杀死活菌使制剂丧失生物活性而失去效用。

3 结论

本试验以4株芽孢杆菌、6株猪源乳杆菌与1株植物乳杆菌对32种抗菌药进行了药物敏感性试验。

试验结果表明,芽孢杆菌对参试药品几乎都具有敏感性,而猪源乳杆菌对抗菌药物的耐受性达53.1%~71.9%。所有猪源乳杆菌对复达欣、头孢他啶、头孢氨苄、苯唑青霉素、复方新诺明、痢特灵、头孢噻唑、青霉素、杆菌肽头孢噻唑等不敏感。而植物乳杆菌对12种药物有耐受性,对多数抗菌药表现极敏感,与猪源乳杆菌间存在明显差异。本试验通过药物敏感性测定,了解当今常用益生菌株芽孢杆菌、猪源和植物源乳杆菌对抗生素药物的敏感性,对微生物饲料添加剂的研制及其在畜禽生产中的应用具有科学指导意义。

(编辑:高雁, snowyan78@tom.com)

敬请关注 积极参与

由饲料工业杂志社主办,美国大豆协会协办的《编读互动》栏目,在广大热心读者的积极参与下已经走过了两个春秋。两年来,我们在大量的读者来信中选出生产实践中有代表性的问题,请有关专家给予充分的解答,并用一定的版面刊出;由于版面所限,一些个性化问题通过电话、邮件和书信方式,将解答内容及时传递给提问者。这两种方式互动取得了良好的效果,深受读者的好评。

读者积极的参与,使我们合作双方倍感欣慰,同时也坚定了我们办好这个栏目的信心。为了满足广大读者的要求,我们在2006年继续办好《编读互动》这个栏目。我们会一如既往地履行“有问必答”的承诺;坚持“服务为民”的宗旨;追求“尽善尽美”的原则。在饲料加工工艺、营养调控、畜禽和水产养殖、疫病防治、原料评定等多方面,会同行业学识渊博、经验丰富的专家和学者给予及时解答,把一个技术水平高、指导性强的解决方案奉献给广大读者。我们期待您的热情参与!

我们承诺:有问必答;我们宗旨:服务为民;我们追求:尽善尽美。

1 您希望或推荐哪些专家来回答哪一方面的问题?

2 您所要咨询的问题?

(1)

(2)

3 个人资料

姓 名		职务(职称)	
单 位			
地 址			

地址/沈阳市金沙江街16号6门饲料工业杂志社 邮编/110036

热线电话/(024)86391926 86391925

E-mail:tg@feedindustry.com.cn 或 xfang2005@163.com

水产品药物残留的检测监控

刘明生 甘辉群

药物残留是对用于食品加工的动物用药后,动物产品的任何食用部分中的原型药物或(和)其它代谢产物,包括与药物有关的杂质的残留。现在,药物残留已逐渐成为人们普遍关注的一个社会热点问题,有关药物残留引起各种急、慢性中毒和影响水产品出口贸易的报道越来越多。药物残留不仅可以直接对人体产生各种急、慢性毒性作用,引起细菌耐药性的增加,还可以通过环境和食物链的作用间接对人体健康造成潜在危害,并影响我国养殖业自身的发展。因此,我们必须建立一套简便、快速、灵敏的水产品中药物残留的检测方法,同时采取有效的监控措施,减少和控制药物残留的发生。

1 药物残留的检测技术

药物残留分析从20世纪50年代就开始应用,至今经历了气相色谱法、高效液相色谱法、高效薄层色谱法、超临界流体色谱法、毛细管区域电泳法和免疫分析法。药物残留分析是复杂的混合物中痕量组分的分析技术,既需要精细的微量操作手段,又需要高灵敏度的痕量检测技术,难度大、仪器化程度和分析成本高,为药物残留分析带来一定难度。因此,研究各种检测方法的利弊,寻找简单、快速和便携化多残留分析技术和高效、高灵敏的联用技术是目前急需解决的问题。

1.1 气相色谱法(GC)

气相色谱法具有高分离效能、高选择性、高灵敏度等特点,还可用于制备高纯物质。它可以对分配系数相差很近的组分进行分离,从而分离出极为复杂的混合物,检出限低。气相色谱检测法中最为灵敏的方法是由 Jacobson(1974)等人提出的,该方法以乙酸乙酯为提取物,用含4% NaCl的正己烷去除脂类物质,通过硅藻土色谱柱提纯净化,加入四甲基硅烷(TMS)

衍生化,最后进样检测。

王建华等(2001)报道了测定鱼肉中氯霉素和甲砒霉素残留量的毛细管气相色谱法:样品中待测物用乙酸乙酯提取,浓缩至干,溶于水,用正己烷脱脂,水层过 Sep-C18 小柱净化并用甲醇洗脱后,用 BSTFA-TMCS 衍生,加入甲苯并用水灭活衍生过程,用带有⁶³Ni 电子捕获检测器的气相色谱仪检测,外标法定量。当添加水平为 5~20 μ g/kg 时,回收率为 80%~108%,相对标准偏差为 4.5%~11%,线性相关系数 $r>0.997$ 。

费志良等(2004)报道了青虾、草鱼肌肉中五氯苯酚及其钠盐残留总量的气相色谱检测方法:五氯苯酚及其钠盐在酸性介质中用正己烷萃取,再用碳酸钾溶液反萃取,萃取物以乙酸酐衍生,衍生物再用正己烷萃取,用气相色谱(配备微池电子捕获检测器)测定。在 0~500 μ g/l 范围内线性关系良好,相关系数 $r=0.9999$ 。本方法最低检测限为 0.5 μ g/kg,在加标水平为 1.0、3.0、5.0、50.0、250.0 μ g/kg 时,回收率为 77%~98%。

1.2 高效液相色谱法(HPLC)

高效液相色谱技术是用高压输液泵将具有不同极性的单一溶剂或不同比例的混合溶剂、缓冲液等流动相泵入装有固定相的色谱柱中,经进样阀注入供试品,由流动相带入柱内,在柱内的各成分被分离后,依次进入检测器,色谱信号由记录仪或积分仪记录。HPLC 是一种灵敏度较高、可靠性较强的检测方法,此法重复性好、速度快,可使许多极难分离的待测物得以分析,目前大多数水产品药物残留分析都采用 HPLC 法。

赵芸等(2004)报道了一种以氯霉素为内标物,用高效液相色谱法测定水产品中氟甲砒霉素残留的方法:鱼肉样品中的氟甲砒霉素经乙酸乙酯提取、氮气吹干浓缩、液-液分配净化,经反相高效液相色谱法测定氟甲砒霉素残留量。结果表明,使用该方法测定水产品中氟甲砒霉素最低检出浓度为 0.05mg/kg,相对标准偏差 $<5\%$ ($n=5$)。

张心会等(2004)采用乙腈做提取剂,经过提取、净化、过滤、浓缩,进样分析,当取样量为 10.0g 时,该法的最低检测限量为 1.0 μ g/ml,已达到欧盟对我国出口

刘明生,江苏畜牧兽医职业技术学院,讲师,225300,江苏泰州江苏畜牧兽医职业技术学院树仁楼 411 办公室。

甘辉群,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2006-03-06

水产品检测限量的要求。郭德华等(2003)将样品用二氯甲烷提取后,除去溶剂,用稀盐酸和正己烷处理,去除残渣中的脂肪,再用二氯甲烷萃取,浓缩至干后用甲醇定容,以 0.002mol/l 磷酸溶液-乙腈-四氢呋喃(体积比为 65:20:15)为流动相,在 ODS 色谱柱上分离后,用荧光检测器测定,外标法定量,该方法的线性范围为 5~5 000ng/ml,检出限为 1 μ g/kg,回收率为 93.0%~96.0%,相对标准偏差为 3.7%~6.2%。于慧娟等(2004)建立了水产品中喹乙醇残留量的 HPLC 测定方法,主要研究样品的预处理方法,提出了以水为提取剂,以硼砂-硫酸锌为高效蛋白去除剂的样品处理方法,该方法灵敏、准确,适合于水产品中微量喹乙醇残留量的测定,检出限为 40 μ g/kg。

1.3 酶联免疫吸附试验(ELISA)

酶联免疫吸附试验是药物残留分析中常用的检测方法,是基于抗原-抗体反应的一种检测技术。该技术将酶分子与抗体分子联接成一个酶标分子,当它与固相免疫吸附中相应抗体复合物相遇时,形成酶-抗原-抗体结合物,加入酶底物,发生酶催化反应,生成有色物质,根据颜色的深浅肉眼判断或用酶标仪定量,从而确定待测物浓度或活性。该法取样量小,前处理简单、容量大,仪器化程度低,检测极限与 GC/MS 或 GC/ECD 相当。目前已建立或试图建立对几乎所有重要的水产品药物残留的 ELISA 检测法,如氯霉素、四环素、链霉素、己烯雌酚等。

沈美芳等(2003)建立了用酶联免疫法测定水产品中氯霉素的残留量,氯霉素浓度在 0.05~4.05 μ g/kg 范围内呈线性,向样品中分别添加 0.45、1.35、4.05 μ g/kg 3 个浓度水平的氯霉素,平均回收率分别为 84.5%、88.4% 和 79.9%,最低检测限为 90ng/kg,批内变异系数为 6.0%~8.5%,批间变异系数为 5.8%~14.3%。张晓辉等(2005)用 ELISA 法快速检测了水产品中氯霉素的残留量,其检测限为 1.0ng/ml,结果表明该方法灵敏度高,重复性好,适合水产品中氯霉素残留筛选检测。

1.4 联用技术

联用技术是现代药物残留分析乃至整个分析化学方法上的发展趋势,联用技术可扬长避短,一般兼分离、定量和定性(分子结构信息)于一体,因而特别适用于确证性分析。常用的联用技术有 GC-MS、LC-MS、TLC-MS、CZE-MS 等。GC-MS 已相当成熟,LC-MS 已进入实用阶段,其灵敏度可达 ng/kg 级。Tomoko Nagata 和 Hisao Oka(1996)用 GC-MS 法检测了黄尾

鱼肌肉中的氯霉素、甲砒霉素和氟甲砒霉素的残留,最低检测限为 5 μ g/kg。但由于联用技术需要的仪器设备昂贵,目前普及率不高。

1.5 其它方法

在水产品药物残留的检测中,微生物法、放射免疫法、高效毛细管电泳法等也有应用。

1.5.1 微生物法

利用抗生素对某些微生物生长过程的特殊抑制作用而实现对抗生素残留的测定,该类方法价格较低廉,但操作较繁琐。焦彦朝(2000)用杯碟法研究了鲤鱼体内氯霉素残留:向均匀切碎的鱼肉中加入适量氯霉素标准溶液(不含土霉素),37℃培养基平衡 1h,加入乙酸乙酯,匀浆后离心,取上清液,70℃减压浓缩,浓缩物中加入含土霉素的磷酸缓冲液,涡旋振荡后,45℃水浴放置 30min 后,过滤,滤液备用。研究表明,此法检出限为 0.25 μ g/kg,氯霉素浓度在 0.25~1.00 μ g/kg 时回收率范围在 66%~69.2%之间,平均回收率为 67.5%。

1.5.2 放射免疫法

将用放射性元素标记的化合物与抗原-抗体结合物作用,通过测定结合物的放射性而实现对特定物质含量测定。Arnold 等用此法测定了蛋、肉、奶中氯霉素残留量,检出限约为 0.2 μ g/kg。放射免疫法因具有同位素半衰期短、存在放射性污染及需要仪器设备复杂等缺点,应用范围受到限制。

1.5.3 高效毛细管电泳法(HPCE)

以高压电场为驱动力,以毛细管为分离通道,依据样品中各组分在电场中的迁移速度的差异而实现分离的一类液相分离技术,其分离效果与 HPLC 相当或比 HPLC 更好。

1.6 新技术展望

综上所述,水产品中药物残留的检测方法中,仪器联用技术和多残留分析技术体现了仪器分析方面的一个主要趋势,但所有的这些方法都需要有精密的大型仪器,只能适合于中心实验室或作为确证。而在水产品生产第一线,高敏感性的快速检测方法和试剂盒则成为保障无残留的最重要的手段。因此,在生产中趋向研究更为灵敏、准确、简便、快速的检测方法,如微生物抑制法检测试剂盒、ELISA 检测试剂盒等。随着科技的发展,更多的新技术和方法也将应用于生产实践,如生物传感器方法、荧光免疫法,以及纳米科技、远红外和中红外也将应用于水产品药物残留

的检测中。

2 药物残留的监控

2.1 建立水产品药物残留检测体系

药物残留的检测技术非常重要,需要不断提高检测人员的技术水平、整体素质和检测机构的管理水平,如加大科研投入力度,研究检测方法;装备先进设备,培训检测人员等。另外,现行的水产品安全检验标准也相对落后于国际贸易的发展水平,检测方法,尤其是检测限没能达到国际现行标准。我们应积极引进国际上已有的先进检测方法或相关检测技术,并进行相关的试验论证。

2.2 制定水产品药物残留相关法规

尽快制定对水产品安全使用和违法使用处罚的法规,制定国家水产品食用安全的法规以及一系列可操作的配套管理法规,把水产品药物残留监控纳入法制管理的轨道,使其有法可依,有章可循。同时加大处罚力度,推动和促进水产品药物残留监控工作的开展。如监督企业依法生产、经营和使用渔药,禁止不明成分及与所标示成分不符的渔药进入市场,加大对违禁药物的查处力度,一旦发现,严厉打击,严格规定和遵守渔药的使用对象、使用期限、使用剂量和休药期等。

2.3 健全水产品质量标准体系

鉴于目前我国水产品的质量标准体系与国际标准相比有很大差距,因此,我们要加快研究和借鉴发达国家的有关标准,制定既与国际接轨、又符合我国国情的相关质量标准,建立健全我国的水产品质量标准体系。针对水产品养殖管理薄弱现状,农业部先后出台了《水产养殖质量安全管理规定》、《无公害食品海水养殖用水水质》(NY5052—2001)、《无公害食品淡水养殖用水水质》(NY5051—2001)、《无公害食品饲料安全限量》(NY5072—2002)等法规和规定;同时禁止使用无产品质量标准、无质量检验合格证的渔药;必须遵循休药期;禁止使用假、劣兽药及其它生物制剂。这些法规和规定,对于水产品药物残留起到防患于未然的作用。

2.4 加大水产品药物残留的监控力度

开展综合防治和健康养殖,建立水产品残留监测体系,对渔药、饲料、添加剂、水产品安全进行统一监控。经常性地对养殖场、市场水产品进行抽样检测,对使用违禁药物或产品超标的应依相关规定进行处罚。

2.5 拓宽我国与国际间的交流与合作

在药物残留的监控方面,除了要做好以上4项工作外,我们还应积极扩大国际间交流与合作,借鉴国外先进的管理模式和经验,结合我国的情况,严格管理,树立我国水产品在国际贸易中的良好卫生形象。我国已是WTO和FAO的成员国,应积极参与其组织的各项活动,尤其是国际性法律法规的制定工作,同时必须完善我国渔药残留的检测方法,特别是快速筛选和确认的方法,加大筛选水产品药物残留试剂盒的研究和开发力度,参与国际实验室间的学习和交流,提高检测技术水平。

参考文献

- 1 费志良,葛家春,吴军,等.气相色谱测定青虾、草鱼肌肉中五氯苯酚及其钠盐残留总量的方法.南京师大学报(自然科学版),2004,27(3):70~73
- 2 张心会,冯玉明,蔡根法,等. HPLC法测定动物源性食品中呋喃唑酮残留的研究.中国卫生检验杂志,2004,14(3):310~311
- 3 赵芸,余玲雁,余霞奎,等.水产品中氟甲砜霉素的残留分析方法研究.浙江农业学报,2004,16(4):218~220
- 4 王建华,张艺兵,林黎明,等.毛细管气相色谱法同时测定水产品中的多氯联苯和有机氯农药残留量.化学分析计量,2003,12(2):13~15
- 5 于慧娟,毕士川,黄冬梅,等.高效液相色谱法测定水产品中噻乙醇的残留量.分析科学学报,2004,20(3):281~283
- 6 郭德华,王敏,李芳,等.高效液相色谱法测定水产品中的恶喹酸.化学分析计量,2003,12(1):24~25
- 7 李晓川,孔轶群,冷凯良,等.水产品中氯霉素残留测定方法的分析研究.海洋水产研究,2002,23(4):76~81
- 8 王建华,陈世山.同时测定鱼肉中氯霉素和甲砜霉素残留量的毛细管气相色谱法.分析测试学报,2001,20(3):89~91
- 9 沈美芳,赵文亚,费志良,等.用酶联免疫法测定水产品中氯霉素的残留量.南京师范大学学报(工程技术版),2003,3(2):1~4
- 10 张晓辉,李余动,孔蕾,等.ELISA和GICA快速检测水产品中氯霉素残留的比较.浙江农业学报,2005,17(4):216~218
- 11 Degroodt J M, W y h o w s k i d e B u k a n s k i B. C A P and nitrofurans residue analysis by HPLC and photodiode array detection in meat and fish. Liq. Chromatogr, 1992, 15 (13):2 355~2 371
- 12 Jong - hwan Lim , Beom - su Jang , Rae - kyung Lee , et al. Determination of roxithromycin residues in the flounder muscle with electrospray liquid chromatography - mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography B, 2000(746): 219~225
- 13 Tamoko Nagaka , Hisao Oka. Detection of Residual Chloramphenicol , Florfenicol , and Thiamphenicol in Yellowtail Fish-Muscles by Capillary Gas Chromatography - Mass Spectrometry[J]. J. Agric. Food Chem., 1996, 44 (5):1 280~1 284

(编辑:孙崎峰, sqf0452@126.com)

植酸酶的相关介绍及活性检测方法的探讨

阮 静 刘晓玥

1968 年 Shien 等从 68 个土样中对 2 000 个菌株进行考察发现,在所得到的 22 株黑曲霉中有 21 株能产生植酸酶,确定第一个被分离纯化的植酸酶来源于土曲霉。从此以后,陆续从十几种微生物中分离得到植酸酶,其中来源于 *Aspergillus ficuum* NRRL3135 (*Aspergillus niger* var *awamori*)的植酸酶 *phyA* 具有较好的耐热性,在酸性环境下有较高酶活性。1995 年 Van Gorcomd 等将酸性植酸酶基因 *phyA* 重组到黑曲霉中,使植酸酶在重组菌株中得到高效表达,表达量达到了 280IU/ml,这是目前国外报道的植酸酶最高表达水平,此菌株也是国外目前植酸酶工业生产所采用的菌株。这一菌株的构建成功,使植酸酶首次得以大规模生产并得以在饲料中实际应用,目前国外生产植酸酶的巴斯夫公司(德国)、诺和诺德公司(丹麦)均采用这一技术。

1998 中国农科院饲料研究所采用受体-毕赤酵母作为生物反应器高效表达了来源于 *A.niger* 963 的植酸酶基因 *phyA*,这是我国第一个商品化的植酸酶。

Cheng 等(1999)分别在大肠杆菌和毕赤酵母中表达了瘤胃微生物植酸酶基因,都占魁等(2001)对瘤胃微生物植酸酶基因进行了密码子优化并实现了在毕赤酵母中的表达。中国农科院饲料研究所利用来源于大肠杆菌 *Escherichia coli* 的植酸酶的编码基因 *appA*,按照酵母密码子的偏爱性进行了改造,在毕赤酵母得到高效表达,目前国内生产企业普遍采用这一技术。

1 植酸酶的酶学性质

植酸酶(*phytase*)属于磷酸单酯水解酶,是一类特殊的酸性磷酸酶,能催化植酸及植酸盐水解成肌醇与磷酸(磷酸盐)。

1.1 植酸酶分类

植酸酶分为 3-植酸酶(肌醇六磷酸 3-磷酸水解酶)、6-植酸酶(肌醇六磷酸 6-磷酸水解酶)2 种类型。来源于植物的植酸酶均为 6-植酸酶。

1.2 植酸酶与底物作用机理

3-植酸酶作用于植酸时,首先从第 3 碳位点开始水解酯键而释放出无机磷,然后再依次释放出其它碳位点的无机磷,最终酯解整个植酸分子。这种植酸酶存在于真菌、细菌和植物中,且需要二价镁离子参与催化过程。

6-植酸酶作用于植酸时,从植酸的 6 碳位点催化水解而释放出无机磷,这种植酸酶主要存在于植物种子和细菌中。

1.3 产物区别

微生物来源的植酸酶分解植酸盐的终产物主要是单磷酸肌醇和无机正磷酸。某些植物来源的植酸酶可将植酸盐分解为肌醇和正磷酸。

1.4 来源不同植酸酶的化学结构

来源于 *Aspergillus ficuum* NRRL3135 (*Aspergillus niger* var *awamori*)的植酸酶 *phyA* 是糖基化蛋白,来源于隔孢伏革菌、瘤胃微生物和大肠杆菌的植酸酶,属于组氨酸酸性磷酸酶家族。

2 植酸酶活性检测方法探讨

目前在植酸酶活性的检测工作中,常使用紫外分光光度法对酶反应产物——正磷酸进行检测,并根据植酸酶活性单位的定义,由磷标准曲线计算出待检植酸酶的活性。如有条件可使用全自动酶活性检测仪对酶活性进行检测。

2.1 植酸酶活性单位的定义

目前,植酸酶活性单位大多用 FTU (Fytase Unit)表示。植酸活性单位的定义为:在温度 37℃,pH 值 5.5 的条件下,每分钟从浓度为 0.005 1mol/l 的植酸钠溶液中释放 1 μ mol 无机磷所需要的酶量。1994 年该定义及文字缩写被 AOAC (美国公定化学分析)在推荐方法中直接引用,作为统一的标准使用。国家标准 GB/T 18634—2002 也采纳同样的定义(植酸酶样品在植酸钠浓度为 5.0mmol/l,温度 37℃,pH 值 5.5 的条件下,每分钟从植酸钠中释放 1 μ mol 无机磷,即为一个植酸活性单位)。

2.2 植酸酶的测定

2.2.1 测定植酸酶活性的方法

2.2.1.1 偏钒酸铵法

植酸酶在一定温度和 pH 值条件下,水解底物植酸钠,生成正磷酸和肌醇衍生物,在酸性环境中,用钒钼

阮静,天津正大饲料科技有限公司,工程师,300457,天津经济技术开发区洞庭路第七大街 17 号。

刘晓玥,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2006-04-20

酸铵处理会生成黄色的 $[(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4\text{NH}_4 \cdot \text{VO}_3 \cdot 16\text{MoO}_3]$ 复合物,在波长 415nm 下进行比色测定。

2.2.1.2 钼蓝法

植酸酶在一定温度和 pH 值条件下,水解底物植酸钠,生成正磷酸和肌醇衍生物,在酸性环境中与钼酸铵显色生成蓝色的 $(\text{Mo}_2\text{O}_3 \cdot \text{MoO}_3)$ 复合物,在波长 700nm 下进行比色测定。

2.2.2 两种方法标准磷溶液曲线比较(见表 1、图 1、表 2、图 2)

表 1 偏钒酸铵法

项目	磷标准溶液浓度(mg/kg)	吸光值
1	5	0.182
2	10	0.387
3	15	0.541
4	20	0.732

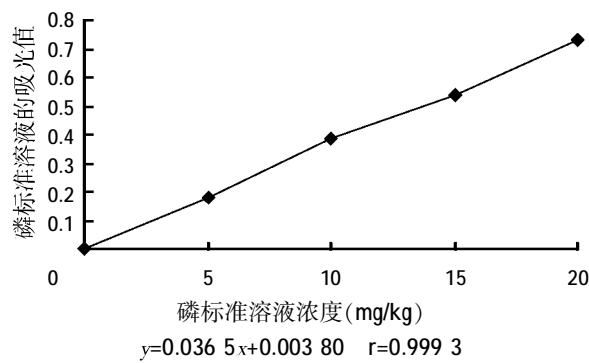


图 1 偏钒酸铵法标准磷的吸光度曲线

表 2 钼蓝法

序号	磷标准溶液浓度(mg/kg)	吸光值
1	2	0.106
2	4	0.264
3	6	0.410
4	8	0.505

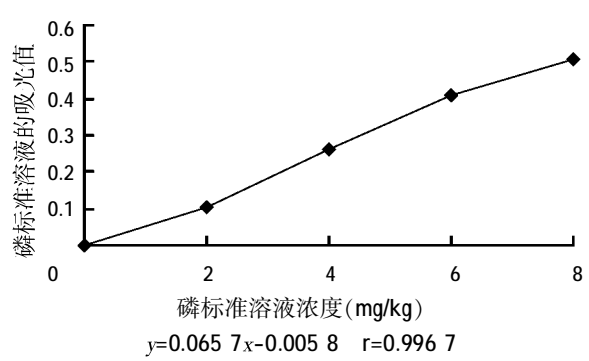


图 2 钼蓝法标准磷的吸光度曲线

由表 1、表 2、图 1、图 2 可以看出,两种方法在标准磷的测定时,磷含量与吸光度均具有良好的相关

性,其相关系数分别为 $r=0.9993$ 和 $r=0.9967$,说明这两种方法对微量无机磷的测定都是可行的。通过实验室试验表明,虽两种显色反应产物不同,但反应灵敏度、特异性没有明显的差异。

2.3 反应时间和反应温度对酶活性测定的影响

在不同反应时间和温度条件下,用钼蓝法和偏钒酸铵法测定由毕赤酵母发酵产生的植酸酶的活性结果,反应时间和温度显著影响钼蓝法的结果,偏钒酸铵法基本上不受时间和温度的影响。钼蓝法酶反应需要 TAC 加以终止,且颜色反应需要较严格的反应温度和时间控制;偏钒酸铵法无需添加酶反应的终止物,且对反应时间和温度不敏感,偏钒酸铵法在实际应用中具有可操作性。

2.4 反应 pH 值条件的影响

酶反应介质的 pH 值可影响酶分子,特别是活性中心上必需基因的解离程度和催化集团中质子供体或质子受体所需的离子化状态,影响酶与底物的结合。测量酶活性浓度时一定要选择在最适 pH 值处,不仅因为此处酶反应速度最大、测定灵敏度最高,还因为此处酶活性变化的斜率最小、对测量结果影响最小。

经过一段时间对植酸酶活性试验分析,发现由于产酶来源的不同,植酸酶活性(或酶与底物反应速度)随 pH 值不同有明显不同,换言之,酶反应的最适 pH 值不同。这样就出现了在同样条件下检测不同产酶来源植酸酶,其检测结果有所偏离。

按国标 GB/T 18634—2002 方法检测,只将 pH 值进行调整比较,结果见表 3。

表 3 不同菌种和 pH 值所产植酸酶活性情况

项目	植酸酶活性(FTU)	
	pH 值 5.5	pH 值 5.0
曲霉类菌种	5 653.00	6 216.81
毕赤酵母	3 949.29	5 082.98

由此可见,国家标准只适用于以曲霉类菌种为来源的植酸酶活性检测。国家标准完全采用 AOAC(美国公定化学分析)中 2000.12 中试验条件的规定,目前国内生产植酸酶的厂商多采用提取毕赤酵母中有效基因片断在大肠杆菌中得到表达,并用于批量生产。对于使用者来讲,无法按照国标方法对其进行检测,为此,我们需要做大量工作,希望能在短时间内将检测方法进行统一。

(编辑:孙崎峰, sqf0452@126.com)

L-肉碱在水产动物中的应用

李海军 邵庆均 聂月美

肉碱学名 γ -三甲胺- β -羟丁酸,它的结构与甜菜碱以及胆碱相似,是一种类维生素营养素。肉碱是长链脂肪酸进入线粒体进行 β -氧化所必需的,它的分子量为 162,分为左旋和右旋两种异构体。由于肉碱乙酰转移酶和肉碱脂酰转移酶的相互竞争性抑制了 D-肉碱乙酰转移酶的活性,因此,D-肉碱不具有生理活性,实际发挥作用的只有 L-肉碱。L-肉碱主要存在于水产动物骨骼肌和心肌中,且成年水产动物的肝、肾和脑可利用赖氨酸、蛋氨酸、烟酸、维生素 B₆、维生素 C 以及二价铁离子合成肉碱。因此,一般情况下,成年水产动物很少出现肉碱缺乏,但在幼体时期,由于生长速度过快,水产动物需要的肉碱量远大于机体自身的合成量,因此,此时其饲料中必须添加一定量的肉碱。L-肉碱是一种水溶性氨基酸,性能稳定,能耐 200℃以上的高温,因此,在配制饲料时,我们可以忽略因饲料加工而造成的肉碱损失。同时,肉碱基本无毒,它的毒性与氨基酸接近,各种试验表明,L-肉碱的半致死量可达 6 000mg/kg 以上。因此,肉碱是一种安全的绿色添加剂。

1 L-肉碱的生物学功能

1.1 参与长链脂肪酸的转运和 β -氧化,调节能量代谢

脂肪酸的 β -氧化是在肝脏和其它组织的线粒体 β -氧化区内进行的。长链脂肪酸不能直接进入线粒体内膜,它必须先经脂酰 CoA 活化为长链脂酰 CoA,长链脂酰 CoA 再以肉碱为载体才能进入线粒体的 β -氧化区,从而使脂肪酸氧化得以进行。因此,当在饲料中添加肉碱时,机体内的游离肉碱量提高,可以促进线粒体内的 β -氧化,提高组织对脂肪酸的利用。

1.2 节约赖氨酸和蛋氨酸,降低体蛋白分解

L-肉碱主要是以蛋氨酸和三甲基赖氨酸为原料合成的,因此,饲料中添加 L-肉碱能减少内源性 L-肉碱的合成,节约部分赖氨酸和蛋氨酸,降低体蛋白的分解,增加体内蛋白质的含量。

1.3 防止机体代谢性中毒

Harpey 等(1990)认为,当肌肉运动时,破坏肌肉细胞膜的短链酰基 CoA 化合物在肌肉细胞中积累,酰基肉碱可移去这些化合物并将它们从尿液中排出或作为能量利用,防止体内酰基过量而产生毒性,从而

起到保护细胞膜的作用。

1.4 提高饲料利用率

L-肉碱能够调节胃肠功能,促进胃液、肠液的分泌,提高消化酶的活力,从而提高饲料的利用率。L-肉碱能提高肥育猪的消化活力和蛋白质的消化率,显著提高仔猪对干物质、粗蛋白和粗脂肪的消化率。

2 L-肉碱在水产动物养殖中的作用

2.1 提高水产动物的生长速度

Burtle G.J (1987) 在 12g 的鲢鱼鱼苗饲料中添加 0.1% 的 L-肉碱,在 28℃ 水温下养殖 12 周,试验组鱼苗日增重为 0.74g,比对照组的 0.69g 高 7.25%。Becker 以初始重为 23g 的杂种罗非鱼为试验对象,研究了在饲料中分别添加 0、150、300mg/kg 的 L-肉碱对其生长性能的影响。经过 144d 的饲养后,试验结果表明,处理组的罗非鱼生长速度明显高于对照组,其中添加 150mg/kg 肉碱组的鱼生长速度最快,比对照组高 18%;添加 300mg/kg 肉碱组的鱼的生长速度比对照组高 12%。许民强和王为民在日本鳗鲡和美洲鳗鲡的饲料中分别添加 200mg/kg 的 L-肉碱,经过 32d 和 70d 的饲养后,其绝对增重较对照组分别提高了 28% 和 23.06%。吴遵霖 (1997) 发现在中华鳖饲料中添加 100mg/kg 的 L-肉碱可使鳖增重提高 8%;当添加量提高到 200mg/kg 时,增重提高到 28%。Jayaprakes 在 30~120g 体重阶段的鲢鱼饲料中添加 200、400、600mg/kg 的 L-肉碱,结果表明,添加 400、600mg/kg 的 L-肉碱时,鲢鱼的生长速度加快,能量利用率显著提高。

2.2 可提高饲料中脂肪的利用率,节约蛋白质

与畜禽相比,水产动物需要的蛋白质水平较高,但并不是所有的蛋白质都参与生长,其中有一部分蛋白质用来提供能量。由于蛋白质的价格较高,人们一直寻求降低水产动物饲料中蛋白质用量的方法。在有些肉食性鱼类饲料中,高能量饲料已经开始使用,有些饲料中脂肪含量甚至达到了 35%,这样做的目的主要是为了减少蛋白质的使用量。与蛋白质相比,脂肪氧化能提供更高的能量产出,而 L-肉碱与脂肪代谢紧密相关(Burtle 和 liu,1994)。当饲料中添加 L-肉碱时,可刺激脂肪酸氧化,调节脂解作用,从而实现用脂肪代替部分蛋白的目的。同时,水产饲料中赖氨酸和蛋氨酸比较缺乏,而赖氨酸和蛋氨酸是合成 L-肉碱的前体物质,当动物体内 L-肉碱的含量过低时,机体就会利用饲料中的赖氨酸和蛋氨酸来合成 L-肉碱,使饲

李海军,浙江大学动物科学学院,310029,杭州。

邵庆均、聂月美,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2006-03-06

料中各种氨基酸的比例失调,进而降低机体对氨基酸的吸收,从而造成氨基酸的浪费,增加水中氨氮含量,恶化养殖环境。因此,在饲料中添加 L-肉碱能部分节省蛋白质,提高脂肪的利用率。

2.3 减轻氨、药物、杀虫剂等毒性物质对鱼类的毒害作用

氨中毒是鱼类养殖中最普通的应激,而 L-肉碱可增强鱼类对氨的抵抗力。Tremblay 和 Bradley(1992)以大鳞大麻哈鱼苗为研究对象,每条鱼体中注射 16mmol/kg 的 L-肉碱和 10.75mmol/kg 的醋酸铵。结果未注射 L-肉碱的鱼 98%表现出中毒症状,试验组仅有 33%表现出中毒症状;对照组的死亡率为 69%,而试验组的死亡率仅为 3%。Li 等(1992)的研究表明,食物中的 L-肉碱主要通过主动运输方式被吸收,而肌肉注射的 L-肉碱主要通过被动运输的方式被吸收。因此,在鱼体内注入一定剂量的 L-肉碱比在日粮中添加同剂量的 L-肉碱的效果要差得多,考虑到这一点,如果 Tremblay 和 Bradley 改用饲喂 L-肉碱的方法作上述试验,效果会更好。Schlechtriem(2004)在散养于池塘中的杂种罗非鱼饲料中添加 150mg/kg 的 L-肉碱,试验过程中池塘中曾出现严重富营养化,氧浓度急剧下降、氨浓度快速上升,但由于 L-肉碱的保护作用并未造成罗非鱼的大量死亡。

2.4 减轻水温变化造成的应激,提高鱼类对水温变化的适应性

水温对鱼类的生长有很大的影响,它可以改变鱼体组织各成分的含量,改变鱼的新陈代谢。许多研究表明,当水温变化时,水产动物会改变自身的生理和生化特点来适应水温变化,由于 L-肉碱参与脂肪酸代谢,L-肉碱在减轻水温变化造成的应激方面也有重要的作用。Rodnick 和 Sidell(1994)研究了温度变化对棕榈酸转移酶活动的影响,结果表明,当温度降低时,柠檬酸合成酶的量变为原来的 1.6 倍,肌肉中的棕榈酸转移酶的量变为原来的 2 倍,游离的肉碱量增加了 62%。也就是说,当温度降低时,脂肪酸的 β -氧化能力增强,而长链脂肪酸的 β -氧化离不开肉碱的参与。因此,当温度降低时,机体对肉碱的需要量也会相应的增加,许多试验也证明了这一点。Harpaz(1999)在热带淡水观赏鱼幼鱼饲料中分别添加 0、500、1 000、2 000mg/kg 的 L-肉碱,结果表明,当温度骤降时,添加 L-肉碱的观赏鱼的成活率远高于对照组。Schlechtriem(2004)用鸡做类似的试验时也得到了相似的结果。

2.5 降低鱼体脂肪,提高鱼肉品质

L-肉碱可促进脂肪酸氧化,调控脂解作用,避免鱼体脂肪沉积。许多鱼类在饲喂添加 L-肉碱的饲料后表现出自身脂肪降低的特点。Ji 等(1996)研究了 L-

肉碱对大西洋鲑脂肪代谢的影响,结果表明,当饲喂添加 L-肉碱的饲料时,鲑鱼脂肪代谢的中间产物发生变化,肝脏中的棕榈酸氧化物水平提高,整体蛋白含量提高,而整体脂肪含量降低。Becker 以初始重为 23g 的杂种罗非鱼为试验对象,研究了分别添加 0、150、300mg/kg 的 L-肉碱对其生长性能的影响,经过 144d 的饲养,结果表明:罗非鱼的脂肪含量下降,对照组的脂肪占干物质总重的 28.3%,而添加 L-肉碱的两个试验组的脂肪含量分别为 27.3%和 26.7%;同时,与对照组相比,试验组罗非鱼体内蛋白质的含量明显提高。钱国英等(2000)在中华鳖幼鳖饲料中分别添加 0、0.01%、0.03%、0.05%的 L-肉碱,饲喂 60d 后,结果发现,试验组幼鳖的肝脏和腹部的脂肪含量均显著低于对照组。北京水产研究所在网养种鲤鱼和成鱼饲料中添加 L-肉碱,结果鲤鱼肌肉中粗蛋白质含量提高了 3.02%;含脂量下降了 5.42%;可食部分比例提高了 4.7%;且必需氨基酸的比例、必需脂肪酸指数及蛋白价分别提高了 2.8%、6.8%和 5.6%。说明 L-肉碱不但具有促生长的作用,也能改善鱼体营养价值和鱼肉品质。

2.6 提高繁殖力

Jayaprakes(1996)在初始重为 2.2g 的罗非鱼苗饲料中分别添加 0、300、500、700、900mg/kg 的 L-肉碱,研究 L-肉碱对罗非鱼的生长和繁殖的影响。饲喂试验饲料 252d 后,试验结果表明,L-肉碱对鱼的生长和繁殖均有影响,其中试验效果最好的是添加 900mg/kg 的试验组,净增重(91.83 ± 3.91)g,而对照组的净增重仅为(75.83 ± 2.31)g;同时,L-肉碱对罗非鱼的繁殖也有较大的影响,L-肉碱能显著增加睾丸的重量和精子的浓度,添加 900mg/kg 的 L-肉碱的试验组的睾丸均重 0.45g,而对照组的睾丸均重仅为 0.1g;添加 900mg/kg 的肉碱的试验组的精子浓度为 39.66×10^9 个/ml,而对照组的精子浓度为 24.4×10^9 个/ml。

3 影响 L-肉碱对鱼类促生长作用的因素

3.1 蛋氨酸和赖氨酸对试验结果的影响

L-肉碱的作用效果与饲料中赖氨酸及蛋氨酸的用量有很大关系。Schukmacher 和 Gropp(1998)研究了在不同的赖氨酸和蛋氨酸水平的虹鳟饲料中添加 450mg/kg 的 L-肉碱对虹鳟生长的影响,试验结果表明,当鱼类饲料中赖氨酸和蛋氨酸部分缺乏时,添加 L-肉碱可使饲料利用率提高 8%,但对体增重和采食量影响不大。Chatzifotis 在赖氨酸含量分别为 10g/kg 和 14g/kg 的黑鲷幼鱼饲料中添加 2 000mg/kg 的 L-肉碱,结果表明,当饲料中赖氨酸水平为 14g/kg 时,L-肉碱能提高鱼的生长速度,而当赖氨酸水平为 10g/kg 时,L-肉碱没有表现出促生长效果。所以说,L-肉碱的作用效果与饲料中赖氨酸及蛋氨酸的含量有很大关系。

3.2 L-肉碱的用量对试验结果的影响

对于有些鱼类,只有在一定的用量范围内,L-肉碱才能表现出促生长作用。王立新等以 200 尾均重 25.1g 的高背鲫为试验对象,研究在其饲料中分别添加 0、50、100、150mg/kg 的 L-肉碱对其生长速度的影响,结果表明:饲料中添加 100mg/kg 的 L-肉碱对鲫鱼的促生长效果最好,继续增加 L-肉碱的用量反而会降低鲫鱼的生长速度。Chatzifotis 在鲤鱼幼鱼饲料中分别添加 75、545、1 087、2 088、4 162mg/kg 的 L-肉碱饲喂 9.6g 的鲤鱼,结果表明,只有当 L-肉碱的添加量为 1 087 和 2 088mg/kg 时才表现出较好的促生长效果。Twibell 和 Brown 研究了 L-肉碱对初始重为 13.5g 的鲈鱼生长的影响,在含粗蛋白和脂肪分别为 34.6% 和 6% 的饲料中添加 2.1、41.0、212、369.7mg/kg 的 L-肉碱,试验结果表明,饲喂添加 369.7mg/kg L-肉碱饲料的试验组增重效果明显,而其它 3 组增重效果不明显。因此,只有加入适量的 L-肉碱才能表现出促生长的作用,加入过多或过少的 L-肉碱都不利于鱼的生长。

3.3 鱼的初始重对试验结果的影响

鱼的初始重对 L-肉碱的作用效果也有很大的影响。许多关于 L-肉碱能提高生长速度的试验是以幼鱼为试验对象,试验鱼的初始重越小,L-肉碱的促生长效果越明显。而当试验鱼的初始重过大时,L-肉碱的促生长效果不明显,甚至不能表现出促生长的效果。Torreele(1993)的试验也证明了在饲料中添加 L-肉碱饲喂初始重为 5g 的非洲鲶鱼,结果明显表现出促生长效果。而用 23g 的非洲鲶鱼做同样的试验时,却没有表现出促生长效果。

4 前景和展望

总之,L-肉碱是一种功能比较全面的饲料添加剂。它在促生长、抗应激、提高成活率、促进脂肪代谢、提高受精率等方面都有重要的作用。水产饲料中 L-肉碱的添加量不但与水产动物的生长阶段有关,还与饲料中脂肪、赖氨酸的含量密切相关。但是,肉碱的价格昂贵,工业合成技术还不完善,因而,如何降低肉碱的生产成本已成为制约肉碱在水产动物中应用的关键。

参考文献

- 钟艳玲,王振来.L-肉碱的研究进展及应用[J].中国饲料,1997(19):22-23
- Bonomi, A. Use of L-carnitine in the feeding of pigs during weaning, experimental contribution J. Nutrition abstracts and reviews (b), 1996(66):316-323
- Cho W T. Effect of L-carnitine with different lysine levels on growth and nutrient digestibility in pigs weaned at 21 days of age [J]. Asian-australasian J. of Anim. sci.,1999(12):799-805
- 朱建津,孙微.新型饲料添加剂——L-肉碱[J].中国饲料,1996(22):21-22
- Becker K, Schreiber S, Angoni C, Blum R. Growth performance and feed utilization response of *Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus* hybrids to L-carnitine measured over a full fattening cycle under commercial conditions. *Aquaculture*, 1999(174):313-322
- 许民强.L-肉碱对日本鳗鲡生长性能的影响 [J]. 水产科技情报, 1997, 24(6): 221-225
- 张为民.L-肉碱对美洲鳗生长性能的影响[J].广东饲料,1998(3):18-20
- 吴道霖.几种饲料添加剂对中华鳖的饲养试验[J].水产科技情报, 1997, 24(1):20-22
- Jayaprakes V, Sambhu C, Sunil Kumar S. Effect of dietary L-carnitine on growth and reproductive performance of male *Oreochromis mossambicus*. *Fish Technol.*, 1996(33):84-90
- Burtle GJ, Liu Q. Dietary carnitine and lysine affect channel catfish lipid and protein composition. *J. World Aquac. Soc.*, 1994(25):169-174
- Tremblay G C, Bradley T M. L-Carnitine protects fish against acute ammonia toxicity. *comp. Biochem. physiol.*, 1994(101):349-351
- Li BUK, Lloyd ML, Gudjonsson H, et al. The effect of enteral carnitine administration in humans. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1992(55):838-845
- Schlechtriem C, Bresler k, Fishelson L, et al. Protective effects of short-term carnitine treatment on nucleic acids and protein metabolism in sea bass fry. *Aquaculture*, 2004(87):85-89
- Rodnick K J, Sidell BD. Structural and biochemical analyses of cardiac ventricular enlargement in cold-acclimated striped bass. *Am. J. Physiol.*, 1997(273):252-258
- Harpaz S, Becker k, Blum, R. The effect of dietary L-carnitine supplementation on cold tolerance and growth of ornamental cichlid fish. *J. Chem. Ecol.*, 1999(13):1 957-1 966
- Schlechtriem C, Bresler V, Fishelson L, et al. Protective effects of dietary L-carnitine on tilapia hybrid reared under intensive pond-culture conditions. *Aquac. Nutr.*, 2004(10):55-63
- Ji H, Bradley GC. Atlantic salmon fed L-carnitine exhibit altered intermediary metabolism and reduced tissue lipid, but no change in growth rate[J]. *Nutr.*, 1996(126):1 937-1 950
- 钱国英. 肉碱对幼鳖生长和胴体组成的影响[J]. 饲料研究, 2000 (1):7-10
- 刘万涵,陈菊芳,等.肉毒碱与鱼虾增重关系的研究[J].中国饲料, 1998(6):20-21
- 黄春林,李德昌,邹红.肉毒碱盐酸盐在水产饲料上的应用[J].广东饲料,1999(2):33-35
- Jayaprakes V, Sambhu C, Sunil Kumar S. Effect of dietary L-carnitine on growth and reproductive performance of male *Oreochromis mossambicus*. *Fish Technol.*, 1996(33):84-90
- Schnhmacher A, Gropp JM. Carnitin-a vitamin for rainbow trout? [J]. *Appl. Ichthyol.*, 1998(14):87-90
- Chatzifotis S, Takeuchi T, Seikai, T. The effect of dietary carnitine supplementation on growth of red sea bream fingerlings at two levels of dietary lysine. *Aquaculture*, 1996(147):235-248
- 王立新,周继术,王辉,等.L-肉碱对鲫鱼生长和代谢的影响[J].西北农林大学科技学报,2004(10):64-65
- Chatzifotis S, Takeuchi T. The effect of dietary L-carnitine on growth performance and lipid composition in red bream fingerlings. *Fish. Sci.*, 1997(61):1 004-1 008
- Twibell RG, Brown P B. Effects of dietary carnitine on growth rates and body composition of hybrid striped bass. *Aquaculture*, 2000 (187):153-161
- Torreele E, Van Der Sluiszen A, Verreth J. The effect of dietary L-carnitine on the growth performance in fingerlings of the African catfish in relation to dietary lipid. *Br. J. Nutr.*, 1993(69):289-299

(编辑:高雁, snowyan78@tom.com)

鲈鱼的营养研究进展

邓锦锋 王安利 周初霞 刘金庆

鲈鱼为脂科(Serranidae) 鲈属, 又名鲁鱼、花鲈、鲈板、花寨、鲈子、大板、中板, 分布于太平洋西部, 我国沿海均产, 以黄海、渤海较多, 渔期为春、秋两季, 每年的10~11月份为盛渔期。鲈鱼体长而侧扁, 一般体长30~40cm, 体重400~1 000g, 其肉质细嫩、肉味鲜美, 营养价值高, 且具有药用价值, 已成为名贵经济鱼类之一, 也是发展海水养殖的品种。鲈鱼因体表肤色的差异而分白鲈和黑鲈, 黑鲈的黑色斑点不明显, 除腹部灰白色外, 背侧为古铜色或暗棕色; 白鲈鱼体色较白, 两侧有不规则的黑点。

1 仔鱼的开口饵料

鲈鱼仔鱼的开口饵料通常是轮虫和微藻, 而微藻又是轮虫的主要食物来源, 它将基本的营养物质传递给轮虫, 丰富和改善了轮虫中相关脂肪酸的组成。例如用金藻强化轮虫, 可以使22: 6n-3(DHA) 的含量升高及20: 5n-3 (EPA) 的含量降低, 保证了恒定的脂类水平, 同时提高了轮虫的孵化率和生物量^[1]。另外微藻的加入增加了仔鱼的食欲, 提高了仔鱼的生长率和存活率, 同时, 微藻被仔鱼摄食后开启了它的消化过程, 建立了一个早期消化道菌群的微环境, 有利于仔鱼的存活和生长^[2]。

2 蛋白质的研究

蛋白质是鱼类生长和维持生命所必需的营养成分, 它不仅参与体内组织的构成, 也对酶和激素的组成起着重要的作用, 同时也是饲料成本中花费最大的部分。研究发现, 鲈鱼达到最大生长速度所需的蛋白质含量, 与其它鱼类的基本一致, 是典型的肉食性鱼类, 饲料蛋白质需求量为40%~45%。林利民等得出鲈鱼蛋白质最适需求量为42.72%~43.04%^[3]。李军等对渤海鲈鱼食物组成与摄食习性进行了研究, 通过对渤海的鲈鱼胃含物样品的分析发现, 鲈鱼成鱼的食物包括单壳类、双壳类、头足类、甲壳类和鱼类。而鱼类和甲壳类占其胃含物总量的63% (包括虾蛄、鲢鱼、凤鲚和黄鲫); 单壳类、双壳类和头足类等底栖动物占胃含物总重量的36%; 浮游动物占0.1%。幼鲈主要摄食小型鱼类、甲壳类。幼鲈与成鲈的食物相似组成程度很小^[4],

这种肉食行为影响了它对蛋白质的需求量。

鱼类从饲料中获得的蛋白质, 最终被消化成肽、氨基酸等小分子化合物才能被吸收转化为鱼体本身的蛋白质。Chang Qing 等对鲈鱼不同饲料中各营养元素的消化系数进行的研究发现, 在脂肪和蛋白质的表观消化率中, 鱼粉的最高, 达到83.96%; 棉籽粉最低为16.99%。而其中的16种氨基酸表现了与蛋白质相同的表观消化率, 证明了氨基酸的利用价值。除组氨酸、蛋氨酸、缬氨酸外, 肉骨粉中其它各氨基酸表观消化率低; 含油种子中含硫氨基酸的利用价值比其它的氨基酸低; 组氨酸利用价值在鱼粉中最低, 苏氨酸在肉骨粉中的利用价值最低^[5]。

3 脂肪酸的研究

脂肪在鱼类生命代谢过程中具有多种生理功能, 是鱼类所必需的营养物质。脂肪的主要功能有: ①是鱼类组成细胞的成分之一; ②为鱼类提供能量; ③有助于脂溶性维生素的吸收和在体内的运输; ④提供鱼类必需的脂肪酸; ⑤可以作为某些激素和维生素的合成材料; ⑥节省蛋白质、提高饵料蛋白利用率等, 是维持正常生长和发育的重要能量和脂肪酸来源。Sargent^[6]等指出, 由于海水鱼类在多不饱和脂肪酸(PUFA) 的新陈代谢中存在竞争性相互作用, 因此要总体考虑其身体组织对3种基本脂肪酸(22: 6n-3、20: 5n-3、20: 4n-6) 之间的比例。高淳仁等对鲈鱼幼鱼人工配合饲料中蛋白质、脂肪适宜含量的研究, 探讨了人工饲料中蛋白质和脂肪含量分别为39.85%~45%和5.4%~15.4%较为适宜。当幼鱼饲料中蛋白质含量在40%左右或45%左右时, 幼鱼的生长无显著性的差异, 但当幼鱼饲料中蛋白质降至35%左右时, 幼鱼生长受到明显影响。当饲料中加入碳水化合物高于30%时, 幼鱼生长速度明显下降。脂肪的添加可以适当降低碳水化合物的含量, 但不能使幼鱼获得快速生长, 所以蛋白质与脂肪等诸因素的平衡才能获得好的饲料利用率。当蛋白质在40%以上时, 饲料系数随脂肪的添加而降低; 而当蛋白质小于35%时, 饲料系数随脂肪的添加而提高^[7]。

洪惠馨等在饲料中蛋白质水平(43.62%)相同的条件下, 研究了不同脂肪酸含量对鱼体生长、饲料系数、成活率和饲料消化率的影响, 结果表明, 脂肪含量在9.79%以下时, 鱼体的相对增重率和体长相对增长

邓锦锋, 华南师范大学生命科学学院, 510631, 广州。

王安利、周初霞、刘金庆, 单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期: 2006-04-06

率与脂肪含量呈正相关; 脂肪含量为 7.53% 和 9.79% 的试验组饵料系数最低, 为 1.73。脂肪含量低, 鲈鱼能量供应不足, 鱼体成活率偏低, 但蛋白质消化率不受脂肪含量的影响, 因此, 鲈鱼配合饵料中适宜的脂肪含量为 7.53%~9.79%, 且以蛋白质 43.62% 和脂肪 9.79% 的搭配为最佳, 可达到节约蛋白质的效应。脂肪作为主要能源, 在配合饵料中起着重要作用, 也是脂溶性维生素不可缺少的溶剂, 开展鲈鱼配合饵料脂肪需求量的研究, 对节约蛋白质含量, 降低饵料成本具有实际意义。有研究表明, 配合饵料中蛋白质含量 38.58% 和脂肪含量 11.65% 的试验组鱼体相对增重率和饵料系数优于蛋白质含量 43.62% 和脂肪含量 11.95% 的试验组, 但仍然差于蛋白质含量 43.62% 和脂肪含量 9.79% 的最佳搭配组。在脂肪过剩(11.95%)的情况下, 降低部分蛋白质, 会提高鱼体生长率, 减少饵料耗费; 在降低蛋白质含量下, 适当地增加脂肪含量可以代替被作为能源消耗的部分蛋白质, 弥补配合饵料中蛋白质的不足, 达到提高饵料效率, 减少饵料费用的目的^[9]。

Ai Qinghui 等对鲈鱼幼鱼蛋能比(P/E)进行研究, 在平均体重为(6.26±0.10)g 幼鱼日粮中分别添加 3 个水平蛋白质(36%、41%、46%)和脂肪(8%、12%、16%)的 3 个水平, 能蛋比在 19.8~28.6mg/kJ, 在水温 26~32℃, 盐度 32~36, 溶氧 7mg/l 的条件下, 结果显示生长率明显受能蛋比的影响。在 46% 蛋白质水平下 12% 和 16% 脂肪含量组有高的生长率(SGR), 其为 4.2%; 但在 41% 蛋白质水平和 12% 脂肪水平也有 4.20% 的增长率和高的蛋白质效率(PER); 在存活率上各组没有差别, 41% 的蛋白质含量和 12% 的脂肪含量在 25.9mg/kJ 的蛋能比最合适^[9]。

4 维生素的需求

维生素是维持动物健康、促进动物生长发育所必需的一类低分子有机化合物, 这类物质在体内合成很少, 必须从饲料中摄入。实际上鲈鱼和其它动物一样, 对维生素需求量受发育阶段、饲料组成和品质、环境因素以及营养素间的相互关系等的影响, 较难确定。目前, 对鲈鱼维生素的需求量还没有十分完整的研究, 表 1 是仲维仁^[10]得出的鲈鱼不同生长阶段对维生素的需求量, 可供配制鲈鱼饲料时参考。

Ai Qinghui 研究了维生素 C 对生长和免疫的影响。他在平均体重为 6.26g 幼鱼的每千克饲料中添加 0.0、12.2、23.8、47.6、89.7、188.5 和 489.0mg 的 L-维生素多磷酸盐, 结果表明, 添加量要多于 47.6mg/kg 时才能达到最适宜生长要求, 且随着添加量的提高, 维生素在鲈鱼血液、肝脏、肌肉中的含量增加^[11]。

表 1 鲈鱼不同生长阶段对维生素的需求量

维生素	一龄鱼	二龄鱼
VA(IU)	4 000~7 000	4 000
VE(mg)	150	200
VB(mg)	25	220
VC(mg)	1 000	1 000~1 500
肌醇(mg)	500	500
生物素(mg)	1~3	1
氯化胆碱(mg)	1 000~2 000	2 000

5 结语

鲈鱼肉质爽滑甘美, 营养价值高, 是理想的保健和美容食品, 在国内外市场上深受消费者欢迎, 具有良好的发展潜力。目前对鲈鱼营养方面的研究多偏重于脂类的需求, 而对其它方面的研究较少, 因此, 应在维生素和微量元素对鲈鱼生长及免疫的影响方面作进一步的研究, 这对研究饲料的进一步开发是必须的, 同时各种营养素间的相互作用也需要探讨, 也要对鲈鱼必需氨基酸以及糖类的需求量进行系统研究, 为鲈鱼健康养殖提供营养全面的配合饲料。

参考文献

- Munro P D, Mclean H A, Barbour A, et al. Stimulation or inhibition of growth of the unicellular alga pavlova lutheri by bacteria isolated from larval turbot culture systems [J]. Journal of Applied Bacteriology, 1995, 79(5):519~524
- Reitan Kjell Inge, Tose R.Rainezzo, Gunvor Oie, et al. A review of the nutritional effects of algae in marine fish larvae [J]. Aquaculture, 1997, 155(1~4): 207~221
- 林利民, 胡家财, 洪惠馨. 鲈鱼人工配合饲料中蛋白质最适含量的研究[J]. 厦门水产学院学报, 1994(1):6~10
- 李军. 渤海鲈鱼食物组成与摄食习性的研究 [J]. 海洋科学, 1994(3):39~44
- Chang Qing. Apparent digestibility coefficients of various feed ingredients for Japanese sea bass (Lateolabrax japonicus) [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2005, 29(2):172~176
- John Sargent, Gordon Bell, Lesley McEvoy, et al. Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish [J]. Aquaculture, 1999, 177(1~4):191~199
- 高淳仁. 鲈鱼幼鱼人工配合饲料中蛋白质、脂肪适宜含量的研究 [J]. 海洋水产研究, 1998, 19(1):80~85
- 洪惠馨, 林利民, 陈学豪, 等. 鲈鱼人工配合饵料中脂肪的适宜含量研究[J]. 集美大学学报(自然科学版), 1999, 4(2):41~45
- Ai Qinghui. Effects of dietary vitamin C on growth and immune response of Japanese seabass, Lateolabrax japonicus [J]. Aquaculture, 2004, 242 (1~4): 489~500
- 仲维仁. 鲈鱼不同生长阶段对维生素需求的研究[J]. 浙江海洋学院学报, 2001(20):100~105
- Ai Qinghui. Effects of dietary protein to energy ratios on growth and body composition of juvenile Japanese seabass, Lateolabrax japonicus [J]. Aquaculture, 2004, 230 (1~4): 507~516

(编辑: 孙崎峰, sqf0452@126.com)

抗 菌 素 在 养 殖 环 节 中 的 使 用

顾君华

近年来,在畜禽养殖生产过程中应用抗菌素治疗动物疾病、使用促生长剂(AGPs)预防动物疾病而导致动物机体的药物残留和耐药性,这一结果对食品安全和人类健康是否构成威胁一直是个饱受争议的话题,引起了世界各国政府及科学家们的极大地关注。畜禽养殖生产过程中使用抗菌素是否给动物源性食品和人类健康带来危害或存有潜在的危害?其危害程度究竟有多大?通过何种途径消除或减少危害?是否有替代品?这些问题在学术界展开了广泛的讨论。专家学者试图从对抗生素的利与弊的研究中寻找一个准确的答案,本文从正、反两个方面对抗生素的使用加以论述。

1 抗菌素的无害论点

1.1 抗菌素有害的结论尚不充分

认为抗菌素没有危害或危害甚微的正方通过大量的风险评估认为,动物使用抗生素对人类病原体的耐药性影响微乎其微。不能过分地把人类医学中其它能引起抗菌素耐药性问题的因素归罪于动物处方用药和 AGPs,应该把上述两者区分开来,现在下结论尚早。已知的由动物引起的人类耐药性问题占不足全部人类耐药性总数字 4%。没有证据表明动物使用抗生素是威胁人类健康的主要因素,耐药性传递的流行病学研究对动物耐药性实施的监控数据还不够翔实,有可能是人类自身使用药物造成了人类耐药性,与动物不存在直接的关联。

1.2 风险评估认为,动物使用抗菌素对人类病原体的耐药性影响微乎其微

和进化理论一样,一些强势生物从出现、发展到逐步衰退,被替代的过程,体现了优势菌株的循环轮回扩散效应,任何生物都逃脱不了丧失活性并被其它优势菌株所替代的命运,自然界只有保留这种竞争,生物平衡才不会被打破。它们只和流行病学有关,菌株流行与使用抗生素无关。以维吉尼亚霉素(Virginiamycin)为例,1999年以前欧洲国家一直在使用,现今美国仍然在使用。在经过维吉尼亚霉素治疗的动

物中发现,粪肠球菌对维吉尼亚霉素有耐药性,该耐药性可能通过耐药菌株克隆或基因转移从动物传播给人类,与 AGPs 无关。在美国使用 AGPs 的比例很小,仅占全部动物用药的 6%。这么小的使用比例可以推论,动物使用抗生素对人类病原体的耐药性影响微乎其微。对从英国的零售鸡中分离的沙门氏菌监测,结果耐药菌株为 27%;从对美国的零售鸡中分离的沙门氏菌进行监测,结果耐药菌株为 19%,其中部分原因来源于疾病治疗。所以很难区分 AGPs 用途和治疗用途对菌株的选择压力。还有研究报道,在玻利维亚偏远地区,任何动物没有接触过抗菌素,也发现了其体内大肠杆菌对四环素的耐药性,且比例高达 67%。

1.3 欧盟禁用抗菌素后要承担报道的风险

欧盟从 2006 年起停用将对动物健康和福利产生严重负面影响的最后 4 种药物(AGPs)的使用。目前尚没有数据表明,禁止使用 AGPs 对人类健康有好处,相反的数据则表明禁止使用 AGPs 后动物临床发病率上升,治疗用抗菌素急剧增加。北欧是最先实施 AGPs 禁令的地区,早在 1986 年瑞典发布 AGPs 使用禁令以来,动物发病率大幅度攀升,猪爆发了回肠炎、禽类动物发生肠坏死性肠炎,导致治疗用药量和诊疗费用直线上升,养殖成本加大,动物产品价格居高不下。2002 年丹麦、英国和荷兰都存在同样的现象。

动物生产过程中使用抗菌素对人类健康的影响难以认定,虽然有可能减少动物对抗菌素的耐药性,但有专家认为欧盟禁止最后 4 种抗菌素作为 AGPs 使用的后果隐含着更大的养殖风险,不能达到预期的目的。在中国,现阶段养殖环境取消 AGPs 将可能引起灾难性的后果。理智的做法是继续使用 AGPs,逐步寻找抗菌素替代品,防止滥用抗菌素。采取定性、定量的风险评估来分析每一种药物的危害程度。

1.4 抗菌素是动物养殖的保护神

在我国,无论农家散养还是规模养殖,使用 AGPs 的比例都很高。抗菌素对于控制疾病、促进动物生长、预防潜在的疾病发挥了重要作用。对于规模化养殖生产,如家禽和猪,单独进行药物治疗在现实生产活动中很难操作。无论是疾病爆发时的治疗,还是通过饲料饲喂添加药物的做法,AGPs 功不可没,使用 AGPs 使畜牧业集约化生产成为可能,从这个角度来看,抗

顾君华,国家饲料质量监督检验中心(北京),总工程师,100081,北京市海淀区中关村南大街 12 号。

收稿日期:2006-03-21

菌素是动物养殖的保护神。

2 抗菌素的有害论

2.1 长期使用抗菌素和滥用抗菌素导致药物残留及耐药性

认为抗菌素有危害的一方则认为,养殖环节使用抗菌素导致耐药性一直是个严重的问题。对人类健康构成最大威胁的是来源于长期使用抗菌素或滥用抗菌素所引发的耐药菌的生长和抗药基因的转移。有关学者普遍认为,长期使用抗菌素(包括滥用药物)和耐药性是一对孪生兄弟,耐药性不但主要源于治疗人类疾病时大量使用抗菌素,而且在动物生产过程中普遍使用的 AGPs 使耐药性问题雪上加霜,安全隐患日趋突出。世界卫生组织(WHO)表示:全球各国耐抗菌素感染发病率的上升使一度可以治疗的疾病难以治愈。在我国台湾省约有 66%至 83%的肺炎链球菌对青霉素产生抗药性;83%至 93%的肺炎链球菌对红霉素产生抗药性;3%的肠球菌对万古霉素产生抗药性。在我国,抗生素滥用导致细菌耐药发生率迅速增高,形势极为严峻。真正对人类健康构成最大威胁的来源与养殖环节长期使用 AGPs 有关,会引发耐药菌的生长和抗药基因的转移。国外被普遍认可的这一科学结论,迄今尚未被国内大部分药物使用者接受。

2.2 抗菌素的“功”掩盖了它的“过”

自 20 世纪 40 年代抗生素问世以来,抗菌素在养殖业中的推广使用给畜牧业带来了一场革命。在近 20 年间使动物产品的生产成本下降了几倍。但是,任何事物都具有双重性,抗菌素的不良影响和对人类的伤害相当严重。抗菌素能控制感染,并不能彻底消灭病原菌。微生态理论认为,在人和动物的肠道内,寄生着多种微生物菌群,菌群之间相互制约和维持着生态平衡的共生状态。这种平衡和制约使各类菌群无法占领优势,使其不能无限制的大量繁殖。但长期大量使用广谱抗菌素会导致肠道微生物菌群被抑制,一些“耐药菌群”因为失去了对手、缺少了制约而大量繁殖,这是“耐药菌群”引起了“二重感染”的真正原因。该“耐药菌”往往是一些细菌和霉菌,这种细菌和霉菌感染如不及时使用抗菌药物治疗,使体内“耐药菌”的数量和品种达到了很高的水准,加之现今的药物对此无法扑灭,最终将会导致病人或动物的死亡。

由于人们对使用抗生素导致环境和人体内耐药细菌数量增加引起的一系列严重后果认识的不足,使抗药性基因扩散及抗药细菌数量飚升。世界各国的科学家大量的科学实验证明,AGPs 对人类的潜在危害

并非初见端倪,已经成为事实,它的危害性远远超过“瘦肉精”(盐酸克仑特罗)等违禁药物,必须引起我们高度的重视。

2.3 欧盟禁令背后的“信号”

欧盟禁令背后蕴涵着的“信号”体现了现阶段欧盟和美国采取了不同的政策,欧盟比美国实施了更为严格的限制措施。欧盟从 2006 年起停用最后 4 种药物饲料添加剂(见表 1)表明,预防和消除危害刻不容缓。据荷兰官方统计,在 1996 年用于人类治疗方面的万古霉素总量仅为 1 500kg,而用做饲料药物添加剂的同类抗生素达到 80 000kg,是人类用药量的 53 倍;从 1992 年到 1996 年间,澳大利亚平均每年人用万古霉素的治疗用量为 528kg,作为饲料药物添加剂的用量达到 62 000kg,是人类治疗用量的 119 倍;在丹麦,每年供人类治疗用的万古霉素只有 24kg,而养殖业却消耗了 24 000kg 万古霉素及其类似药物。我国抗菌素用量至少一半用在养殖行业,这样大剂量在养殖业中的使用,必会使人类病原体产生对抗生素的耐药性,这是一个不争的事实。早在 1997 年,WHO 已经提出,动物养殖生产环节应逐步停止 AGPs 的使用,寻找替代物的可能性,或改选用其它药物。

表 1 促生长剂用抗菌素品种在美国和欧盟使用情况

药物名称	美国	欧盟
杆菌肽锌	允许使用	1999 年停止使用
维吉尼霉素	允许使用	1999 年停止使用
螺旋霉素	不允许使用	1999 年停止使用
泰乐菌素	允许使用	1999 年停止使用
黄霉素	允许使用	2006 年停止使用
莫能霉素	允许使用	2006 年停止使用
盐霉素	允许使用	2006 年停止使用
阿维拉菌素	不允许使用	2006 年停止使用
阿伏霉素	未获得许可	1997 年停止使用

2.4 我国养殖业依赖 AGPs 的原因

畜禽的快速生长和更高的饲料转化率是养殖业不懈追求的目标。为了实现这个目标,在畜禽育种过程中,育种专家一贯把体重高、生长快、抗应激能力强等要素作为育种筛选的首要目标。但是,近几年来来的试验已经证明,动物免疫系统的发育复杂程度和动物的生长速度成反比关系,即一个活跃的免疫系统制约着动物体重的增加。我们选育长速快、体型大动物的同时,意味着我们可能也选择了免疫水平低下的品种。免疫水平的下降必然会导致动物对细菌和病毒的侵染更加敏感。只有通过大量使用抗菌素来控制疾病的蔓延,这无疑是养殖业依赖 AGPs 的主要原因。

类似大肠杆菌、沙门氏菌、弯曲杆菌等病原菌可以通过基因突变产生抗性基因,再通过细菌之间的遗传物质交换使得抗性基因在细菌之间扩散,从而导致耐药细菌的种类和数量的增加。如果动物接受大剂量(治疗剂量)的抗菌素,所有的病原菌在短时间内全部被杀灭,理论上讲可以避免耐药细菌的大量繁殖;反之,如果抗菌素以亚治疗剂量长期、连续不断地通过 AGPs 饲喂动物,只有对抗菌素产生抗药性的突变菌株才能在这种新环境下生存下来,其它大部分细菌由于对抗菌素敏感而无法繁殖,其结果是在使用一段时间的抗菌素之后,肠道中的大部分病原菌在 AGPs 的饲料作用下不断筛选携带抗性基因,临床表现为抗菌素效果逐渐减弱,直至消失。为了维持抗菌素的效果,只能加大使用剂量或改换新的品种。但新剂量使用一段时间后,细菌又会产生抗药性,迫使养殖户主再次提高剂量,进入了一个恶性循环,使之无法摆脱对 AGPs 的依赖性。

3 建议与讨论

围绕养殖环节使用抗菌素的药物残留和耐药性话题引发的争论,主要是在国际背景层面展开的,目前没有权威的、公认的结论。国内这方面的科学研究和认知还处于初、中级阶段,但是已经引起有关学者专家的极大关注。针对进口国设置高技术壁垒和苛刻的附加限制性条款,制约着我国畜禽产品出口,我国的养殖业承受着国内、国际两个市场的双重压力,面临着一个全新的挑战。面对着不可逆转的市场需求,必须摒弃追求产品数量型和以降低成本为目标的经营模式,要求产品返璞归真、回归自然、风味原始,努力提高产品质量和保护生态环境,走可持续发展道路。按照国际惯例,采用风险评估模式,在“谨慎性原则”下开展风险评估,为国家宏观决策提供依据。

3.1 管理松懈是抗菌素滥用的重要原因

以人为本,全面落实科学发展观,大力发展循环经济,推行无公害食品计划,消除安全隐患,严格控制肉制品中的违禁药物和药物的残留是“十一五规划”的重要工作目标之一。为了确保饲料和动物源性食品安全,农业部出台了一系列政策法规,指导各级主管部门落实饲料安全监管计划,每年投入巨资加大养殖环节的监管力度。由于我国传统的千家万户分散的养殖模式,管理方面存在很多弊端,滥用抗菌素的情况比较严重,为了提高动物的存活率,常常在没病的情况下给动物用药,获得药物的途径几乎没有限制。在美国等发达国家“买药比买枪难”,而我国对抗菌素管

理过于松懈,随处可以买到抗菌素,防疫和饲料药物添加剂滥用等问题积重难返。

3.2 我国养殖面临跨国公司的挑战

3.2.1 麦当劳一石激起千层浪

2003 年《纽约时报》以“麦当劳要求它的肉类供应商减少使用抗生素”为题,报道了麦当劳公司的声明,声明指出,麦当劳公司要求它在全球的肉类供应商减少对抗生素使用的依赖,逐步停止使用 AGPs,同时减少使用其它一些典型用于保护动物免于疾病的抗菌素。声明还指出,动物的生长证据表明,使用抗菌素在动物及细菌中产生了药物残留,从而对人体健康产生负面影响。报道透露了麦当劳公司对于牲畜(禽类)使用抗菌素问题的全球性“抗生素在食用动物上使用指导”的计划,该计划要求麦当劳全球肉类供货商停止使用 AGPs,抗菌素只可适用于医治用途,疗程完毕后必须停止使用,以确保肉产品不含药物残留。公司要求全球“直接供货商”(指专为麦当劳提供肉类货源,并可决定在饲养牲畜时使用抗生素的供货商)在 2004 年前分阶段实行这一规定,并在 2004 年之后根据麦当劳“抗生素使用指导原则”,全面停止对牲畜使用以单纯 AGPs 的抗菌素。对于“间接供货商”则鼓励他们采取“有关措施”,根据时间表实行有关政策。

业内人士认为,麦当劳作为全球最大的餐饮连锁企业以及最大的肉类采购商之一,它的这项决定将有助于改变动物的饲养方法,其它一些餐饮连锁企业和食品企业肯定会步其后尘。麦当劳在中国市场的食品货源已有 90%以上在中国本地生产供应,逐步减少以至停止使用抗生素以保证畜产品安全,必将成为养殖生产企业的必要准则。这些举措意味着在日益强调食品安全的大潮流下,我国养殖业将认真面对抗菌素残留这一个严酷的问题,积极开展应对动物源性食品安全生产的试点工作。

3.2.2 肯德基公司推行食品安全计划

麦当劳要求其供应商在 2004 年后全面停止 AGPs 引发的连锁反应。2005 年“苏丹红事件”发生后,肯德基公司承诺,将选择取得“绿色产品”和“无公害”产品认证企业生产的畜禽肉、蛋、奶产品作为货源专供定点厂家。肯德基公司要求各定点厂家从饲养到加工每一个环节都严格把关,落实 HACCP 管理,通过国际认证,要求生产全程受控,产品无任何抗菌素、激素残留,否则取消供应商资格。

3.3 着力推广新型饲料添加剂

在 AGPs 尚没有科学定论的前提下,新型饲料添

加剂研发受到饲料和养殖业的广泛关注,努力寻找抗菌素替代品的可能性成为人们关注的焦点,在世界范围内,寻找具有抗菌素一样疗效和功能的物质或替代品的研究工作正在展开。新型饲料添加剂是否安全、

绿色、环保,同时又有着和 AGPs 相同的功效?表 2 中介绍较了目前开发研制的新型饲料添加剂的功效以及促生长作用的效果。

3.4 加强养殖环节的安全监管

表 2 新型饲料添加剂的功效以及与 AGPs 功效的比较

类型	名称	功能	安全性评估	和 AGPs 功效比较(%)	其它
酶制剂	植酸酶、蛋白酶、纤维素酶、淀粉酶、木质素酶等	有助于促进饲料中部分营养组分的消化,从而更易被动物体吸收	对环境无污染,对动物及人体安全。对基因工程菌株需进行严格评估	60	具有协同作用
植物(中草药)提取物		含有多种已知和未知的活性物质,抑制病原菌生长,提高动物机体免疫能力	有效组分结构复杂,对动物及人体是否安全,需做长期评估		对照产品来源、制定产品质量标准比较困难
益生菌	乳杆菌、酵母菌、肠球菌、芽孢杆菌等	增加肠道中有益菌数量	对环境无污染,对动物及人体安全,但应禁止使用基因工程菌株	40~50	需控制杂菌数
寡糖类(益生元)	低聚甘露糖、低聚果糖类等	干扰病原菌在肠壁表面细胞上定植,提高动物机体免疫活性	对环境无污染,对动物及人体安全	40~60	
有机酸	甲酸、乙酸、丙酸、戊酸、柠檬酸、乳酸或混合酸等	降低胃肠道酸碱度,促进幼畜生长,	对环境无污染,对动物及人体安全	20	添加在饲料中作为防霉剂或调节剂

与美国相比,在我国使用 AGPs 的比例很大,预混料中普遍使用 AGPs。所以我们应当树立一种新的认识,以此来达到绿色、安全、环保的最终目标。改变陈旧的养殖方式,深入了解动物生长发育过程中各个生理阶段的变化及需求,减少处方药和 AGPs。加强养殖过程中疫情控制的生物安全系统工程建设,从养殖过程中的每个环节严加管理。以蛋鸡生产为例,要从种鸡的饲养及疾病防治,雏鸡的选育,严格免疫程序,控制饲料安全,鸡舍的合理布局以及严格的卫生消毒等各个方面着手,进行有效的监督管理。只有保证种

鸡肠道内不存在沙门氏菌,才能保证鸡蛋中不含有沙门氏菌,雏鸡感染沙门氏菌的机会才能趋近于零。

欧洲的经验告诉我们,加强养殖过程各个环节的管理,改进卫生条件,减少生长过程中每一个环节上动物感染病原微生物的可能性,配合使用新型饲料添加剂,有可能减少或者放弃使用抗菌素。现阶段,我们要加大综合治理、监督力度来严格遵守用药制度,努力提高科技水平,加强对替代抗菌素产品基础理论的研究和开发,力争有突破性进展。

(编辑:高 雁, snowyan78@tom.com)

·信息采撷·

澳洲牛肉觊觎我高端市场 最大竞争者来自中国本土

澳大利亚是世界上最大的牛肉出口国,近几年逐步将目光瞄准中国市场。来自澳洲肉类及畜牧业协会(MLA)的统计数据显

示,2005年澳洲牛肉出口中国总量达到1 012t,比2004年增长了近30%。面对中国这个庞大的消费市场,澳洲牛肉在中国先期主攻高端市场。MLA中国区总经理李泰利表示,主攻区域包括上海、北京、天津、江苏等。目前中国有大约250家酒店和餐厅出售澳洲牛肉,其中包括主要的国际五星级酒店,比如香格里拉、君悦、喜来登等。另外,在上海和北京有很多一流的国际饭店和高档中餐厅也采用来自澳洲的牛肉。

零售市场方面,澳洲牛肉目前只选择了家乐福、山姆、沃尔玛、大都会、PINES等城市超市和詹尼路等部分零售商。澳洲牛肉的零售额目前占到中国总销售额的5%~10%。

李泰利认为,中国加入WTO给进口和分销的渠道带来变化,中国市场的开放给中国和澳大利亚贸易增长带来了更多的机会。中国肉类产品的需求大部分由国内的产品所提供,一部分不足的产品选择进口。现在澳大利亚每年向中国提供20 000t肉类,在高端市场的发展机会很大。他同时表示,澳洲牛肉最大的竞争者其实是中国牛肉,因为中国牛肉的产量非常大。有数据显示,中国牛只总数达1.07亿头,澳大利亚只有0.27亿头;从产量来看,中国的牛肉达630万吨,澳洲牛肉是200万吨。