

2006年第27卷第13期 (1980 年刊刊) (总第 274 期)

地址,沈阳市金沙江街 16号6门 辽宁省农牧少机械研究所 电话:总编室(024)86391923 编辑出版:饲料工业杂志社 **勘缩:110036** 

编辑二室(024)86391925(传真) 编辑一室(024)86391926(传真) 投稿邮箱:tg@feedindustry.com.cn 网络发行部(024)86391237 图 站:www.feedindustry.com.cn 副总编辑:沈桂宁 孫广鵬 总 鉛 無表春宵

地址:(110036)沈阳市长江街 126 中 广告全权代理:沈阳同兴广告有限责任公司 第务副总经型:张拉南 林 玥 B 幢 4 单元 16 楼 业务内勤;刘 占

责任编辑:刘敏跃

刷、辽宁省印刷技术研究所 电话:(024)86276137 86276627 国外次行:中国国际图书贸易总 邮箱:ggb@feedindustry.com.en 国内发行:辽宁省报刊发行局 传真;(024)86276127 豆

生物素主动吸收与铁运的研究进展

13 19

营养研究

浅析精胺的研究进展及应用前景 ......王

同际标准连续出版物号:ISSN1001-991X 国内统一连续出版物号;CN21-1169/S 开户行,中信银行沈阳分行皇站支行 出版日期: 每月5日、20日出版 广告许可证,近上南广学 01-82号 发 行 遣 围;同内外发行 国外代号: M4290 邮次代号:8—163

如需转载本刊文章及图片,请注明 專期定价:6.00 元

表 5.72214101826000548-49

摘自《饲料工业》杂志,并寄样刊。

饲养试验



# GONGYE

SILIAO

## (半月半)

## 去皮膨化豆粕在断奶仔猪口粮中的应用 39

反刍动物营养

······· 秦玉昌 杨海锋 吕小文

疯牛病的安全风险评估和监控技术研究动态

专家论坛

次

Ш

卧式固态物料发醉罐的研制与应用

工艺设备

全日粮复合秸秆饲料成型工艺参数研究

植物单宁科反刍动物养分利川的影响 4

承 苹果酸在反刍动物饲料中的应用 47

资源开发

杆格渣在动物生产中的以用研究

宋纪蓉等 磊 徐抗震 鲜苹果渣不同处理方式的成分变化研究 52

王之廢

伟 周安国

茶

.......

酸水解制备饲料小肽的初步研究

10

版 营 养

54

反刍动物甲烷排放机制及其调整 •••••• 安 娟 赵晓川 蕾 张朝晖 57

饲料企业如何建立和完善质量管理体系 ...... 杨

企划纵横

09

杨连玉筝

饲料中添加制对生长猪血液中含铜酶活性的影响

试验研究

23

26

包被铜对西门塔尔牛瘤胃发酵及尿嘌呤衍生物的影响

智等

加强反刍动物饲料监管 有效防范疯牛病的发生 63

哀 ......

米白饲料厂和养殖场生产第一线的若干问答(二十九)

9

编读互动 [美国大豆协会协办]

防暑饲料有哪些 12

——H₂O₂-H₂SO-混合催化剂法 ······ 苗雪原

粗蛋白含量测定中试样的快速分解

检测技术

32 34

矿物质元素硫对绵羊瘤胃纤维物质降解的影响

59

饲料中动物源性成分的检测技术研究进展

如何识别放心肉、劣质肉、病害肉 与兽药有拮抗作用的几种饲料 22

饲料要防六种污染

使用有机酸改善饲料厂的卫生状况

故国琦

锄

■37 不同能量和蛋白质水平对紫琅山鹅生)\*性能的影响

企业标识展示



近泊估方 (0412)3343018 (024)88080922

**©** 

近苏正吕 (0519)7309988

江苏牧学 (0514)7848811

BUHLER (特別) (0519)7966666

**京 女** 江苏良友 (0519)8309988

沃华

新威科<sup>4</sup> (0351)7189888

₩

杭州康德秋 (0571)86433111

登余国科 (0455)7713833

格达机械 (0519)8305886





State @



北京听大洋 (010)68919590



Z miz

刘占宏

₩



(020)61368868

广东哲威



(A/Haid





广州海大 (020)84661699

## 疯牛病的安全风险评估和监控技术研究动态

#### 秦玉昌 杨海锋 吕小文

摘 要 为了确保全球畜产品安全处于较高水平,世界动物卫生组织建议所有成员国,将安全风险评价机制引入疯牛病等动物烈性疾病的安全监控管理体系。文中将重点介绍疯牛病安全风险评估和监控技术方面的最新科研成果,具体包括疯牛病安全风险因子识别以及释放风险、暴露风险、后果风险评估等技术的发展动态。

关键词 疯牛病;风险评估;监控技术

中图分类号 S851.31+3

Risk assessment of the bovine spongiform encephalopathy and surveillance strategy

Qin Yuchang, Yang Haifeng, Lü Xiaowen

Abstract For insuring the high safety level of livestock product, world organization for animal health recommends that all OIE Member Countries determine the status of bovine spongiform encephalopathy (BSE) in their management system. This paper introduces assessment of risk factors related to BSE and surveil—lance strategy. A risk assessment model is brought forward, including: hazard identification, release, exposure and consequence assessments and the risk estimation.

Key words bovine spongiform encephalopathy; risk assessment; surveillance

疯牛病(BSE)是公认的会造成严重经济和公共卫生后果的人畜共患病。由于疯牛病的病原体可通过肉骨粉等动物饲料传播,这些产品的国际贸易造成了疯牛病在全球的大范围传播,因此,各国均有必要对其国内的疯牛病安全风险进行评估,限制致病因子的循环利用和扩散,以降低其对公众健康的危害。我们结合国内反刍动物产业链现状和发展特点,同时针对性借鉴世界动物卫生组织、欧盟食品安全局、美国兽药中心等组织机构评价、监控疯牛病安全风险的成功经验,以提高我国疯牛病安全防控水平。

#### 1 疯牛病的安全风险评估途径

评估一个国家或某个地区流行疯牛病的风险,需调研分析影响这个国家或地区疯牛病的安全风险因子,明确其国内兽医监控程序、畜禽屠宰流程等畜禽流行病防控相关信息。如果上述调研结果存有安全隐患,则需制定疯牛病监控方案,对其疯牛病高感染率风险地区或相关产品进行普查。最后通过权威朊病毒检测机构或实验室对采集的样本进行检测分析,根据

检测结果和前面疯牛病传播影响因素的风险评估,确 定这个国家的疯牛病安全风险状况。

#### 1.1 疯牛病的安全风险因子

疯牛病的安全风险因子是特指能够增加疯牛病 发生概率的各种客观因素,通常是疯牛病成因的一部 分,包括疯牛病传染途径、传播方式、寄主、病原体(朊 病毒)和环境等因素,如反刍动物饲喂肉骨粉或油脂 状况、反刍动物和肉骨粉的进口状况、动物副产物加 工过程等。

#### 1.1.1 反刍动物饲喂肉骨粉或油脂状况

20世纪80年代,对牛饲喂反刍动物源性饲料造成疯牛病在欧洲的大范围传播,如今,肉骨粉和油脂等动物源性饲料是人们公认的朊病毒传播的重要载体,因此,牛饲喂反刍动物源性饲料的可能性是影响疯牛病安全风险的重要因子。

描述和量化这个风险因子时,应准确掌握、分析 牛群饲喂反刍动物源性肉骨粉、油脂的历史数据和相 关资料,包括动物源性饲料生产厂情况、动物源性饲 料立法和安全监管状况、牛羊饲养状况等。在调查、分 析动物源性饲料生产加工厂状况时,应重点分析各种 类型饲料的产量、生产设备的数量、零售商的数量、国 内的分布情况。动物源性饲料立法和安全监管状况的 政府主管部分涉及禁止用哺乳动物蛋白饲喂反刍动 物的立法和措施情况、质量安全监管和抽查的频率

秦玉昌,中国农业科学院饲料研究所,研究员,100081,北京市中关村南大街12号。

杨海锋、吕小文(通迅作者),单位及通迅地址同第一作者。 收稿日期:2006-04-10

<sup>★ 2006</sup>年饲料质量安全监测项目资助

等。分析反刍动物饲养环节饲喂肉骨粉或油脂等动物源性饲料状况时,应重点调查反刍动物饲喂蛋白饲料和其它蛋白质补充料情况,饲料生产者或畜禽生产者的蛋白质补充料的可利用率和单位成本,以及其它畜禽(如猪、家禽、宠物)饲喂蛋白饲料情况,同时分析国内所有蛋白饲料的使用情况。

#### 1.1.2 肉骨粉或油脂等动物源性饲料进口情况

动物源性饲料主要包括血粉、骨粉、不适合人类食用的肉屑和油脂、肉类废弃物、动物饲料预混料和补充料、饲料浓缩料以及牛的全价料。统计分析国内进口上述饲料产品时,需重点分析国内从疯牛病发生国家进口饲料产品的历史数据,同时参考、分析世界动物卫生组织等国际权威组织公布的这些国家的动物源性饲料出口数据,以及对比美国和欧盟等动物源性饲料出口大国和地区的出口统计数据,以确认统计结果的准确性。

#### 1.1.3 反刍动物及其胚胎或卵子的进口情况

存在传染和传播海绵状脑病不仅包括牛、绵羊、山羊、水牛等常见反刍家畜,而且动物园引进的观赏性反刍动物也可传染、传播该流行病,如旋角大羚羊、大羚羊、非洲林羚、阿拉伯羊、长角牛、野牛等动物。在分析这些从疯牛病传播国家进口的反刍动物及其胚胎或卵子进口情况时,需明确它们的去向和用途。

尽管国际胚胎移植学会(IETS)、欧盟的科学指导委员会(SSC)认为牛羊胚胎,特别是已采取实验措施降低了疯牛病传播风险的牛羊胚胎,传播疯牛病的危害很小,但目前各国对疯牛病传播安全风险的监控,仍严格监控进口牛羊胚胎(卵子)的使用情况。

## **1.1.4** 国家或地区内传染性海绵状脑病的整体流行状况

近年来,人们发现传染性海绵状脑病可在多种动物种属中发生,如疯牛病、羊痒病、猫科海绵状脑病、鹿的慢性消耗性疾病等。研究表明,它们发病机理相似,存在交叉感染的可能性。因此,在进行疯牛病安全风险评价时,应同时调查、分析传染性海绵状脑病在其它动物种属中的流行病学特征数据信息,具体包括:①受影响的种类、发生病例数和受影响的畜(禽)群数;②疾病的影响范围,如年龄、品种、性别和分布情况;③如果发生的传染性海绵状脑病病例是进口牲畜,那么要明确其所来源的国家情况和地理分布;④每一例传染性海绵状脑病流行病学的相关信息;⑤实验室确认和诊断数据信息;⑥畜体的处理情况,如焚烧和填埋等;⑦传染性海绵状脑病的监测程序等。

#### 1.1.5 国家或地区牛、绵羊、山羊的群体组成状况

一个国家或地区的牛、绵羊和山羊的群体组成信息包括:畜群数量、群体大小和分布、屠宰数据信息、淘汰率和死亡率、动物来源、饲料类型和来源、饲喂环节、进出口活体动物数量、每头家畜生产性能和产量趋势、养殖场的医疗设施、牲畜交易场所(贸易市场和码头等)情况。

#### 1.1.6 动物副产物加工状况

动物副产物生产加工是饲料工业的重要一环,并且动物副产物加工状况直接决定饲料产品含有疯牛病病原体的情况。详细的动物副产物加工工业数据信息包括加工工艺参数,动物源性饲料加工工业的监管法规和政策,生产加工产品的数量和加工设施的布局,原料种类(死亡动物、不可食碎屑、淘汰畜体、不能走动动物、特定风险物质,如脑和脊骨),质量监控措施,每年不同种类产品的进口总量,动物源性饲料污染情况,国内动物源性饲料生产使用总量和年出口量。

#### 1.2 动物流行疾病预警基础体系建设

#### 1.2.1 疯牛病防控相关的特定工作群体状况

饲料生产经营者、动物饲喂人员、兽医等是与疯牛病传播直接相关的特定工作群体,是疯牛病疫情报告、监测、防控的基础力量,也是最终的决定力量。为了提高疯牛病的防控效率,做到早发现、早预防,应适当对畜禽生产经营者、屠宰人员、动物饲喂人员、兽医诊断人员、加工企业和饲料厂的操作工、兽医从业者、农学和兽医兽药学院的师生、动物园的管理者等进行疯牛病相关知识的培训和教育。培训的主要内容应包括疯牛病临床症状、流行特性、国外疯牛病概况、疯牛病相关的监管立法、国家赔偿程序等。而培训范围、形式、持续时间、频率、特定工作群体受教育程度等方面将是评价分析这些特定工作群体防控疯牛病状况和意识的着手点。

#### 1.2.2 疯牛病强制申报法规措施

由于疯牛病是一种可通过多种途径传播的烈性动物传染疾病,对畜牧业特别是反刍动物加工业的潜在危害极大,因此,对疯牛病病例和疑似病例进行强制申报管理是防控、监控疯牛病的重要手段之一。我国制定有《动物防疫法》、《国家突发重大动物疫情应急预案》,而欧盟、美国、日本和韩国等国家也都在此方面做出了较严格的规定,这些规定通常包括病例和疑似病例的定义、赔偿措施、实施时间以及确诊病例后采取的措施,如对畜体、畜群的处理方案。

#### 1.2.3 疯牛病相关数据信息收集渠道

完善的数据信息收集渠道是及时准确分析、利用 信息和科学决策的基础,各国监管疯牛病的行政主体 各异,数据信息收集、加工渠道也存在一些差异。美国 食品和药品管理局(FDA)下设的兽药中心负责美国 联邦疯牛病安全管理,FDA 在各州设置的科研实验中 心、美国农业部在各州设置的质量安全监测中心、各 州县农业行政主管部门具体负责疯牛病相关数据信 息的收集整理。欧盟食品安全局全面负责包括疯牛病 在内的所有农产品安全风险管理,其与各成员国的食 品安全局组成了较完备的安全信息收集整理网络。我 国各级政府也非常重视疯牛病等动物烈性疾病相关 数据信息报告制度的建设,具体负责报告的责任单位 包括:①县级以上地方人民政府所属动物防疫监督机 构;②动物疫病国家参考实验室和相关科研院校;③ 兽医行政管理部门;④有关动物饲养、经营和动物产 品生产、经营的单位,各类动物诊疗机构等相关单位。 报告责任人包括执行公务的各级动物防疫监督机构 的相关人员、出入境动物隔离场的兽医人员:各类动 物诊疗机构的兽医人员;饲养、经营动物和生产、经营 动物产品的人员。同时,《动物防疫法》和相关预案等 国家有关规定也对报告形式、报告时限和程序、报告 内容进行了详细规定。

#### 1.2.4 疯牛病诊断实验室的建设

配置先进的诊断分析实验室,组建一流的疯牛病流行病学队伍和实验研究体系,这些是防控疯牛病的重要力量。世界动物卫生组织官方网站适时地公布疯牛病样品收集、检测方法、实验室标准、数据加工管理方法等方面的标准和方法。各国疯牛病检测实验室通常遵照世界动物卫生组织公布的方法和标准进行疯牛病的样品检测,而我国目前建有4个疯牛病检测实验室,负责疯牛病防控相关的检测分析和开展基础研究工作。

#### 2 疯牛病安全风险评估模型

世界动物卫生组织推荐的安全风险评估模型由 危害识别、释放评估、后果评估三部分组成,各国在开 展疯牛病安全风险管理方面达成了较广泛的共识,而 且不断交流和共享风险评估方法、管理经验及技巧等 方面的最新科研成果。

#### 2.1 危害识别

疯牛病是一种慢性的、引起神经组织退化的疾病,属于大家熟知的传染性海绵状脑病家族。尽管引起牛海绵状脑病的病原体还没有完全确定,但朊病毒

理论是目前较广泛接受的疯牛病发病理论。朊病毒是一种非正常形态的蛋白,简写为 PrPbse,由宿主基因编码翻译合成,这种 PrP 的变异蛋白比正常蛋白的溶解性小、抵抗蛋白酶降解的能力强,对热、紫外线、电离辐射和普通的消毒剂有很高的抵抗力。疯牛病潜伏期较长,通常会经过 4~6 年时间才表现迷失方向、笨拙等症状。

具有传播风险的牛废弃物组织包括脑、脊椎、背部中枢神经和三叉神经,精子和胚胎(卵子)被认为不是有效的传播载体,BSE 并不表现出垂直传播,但是有些研究表明可能发生极其低的母系传播。1986年,BSE 首先在英国被诊断出来,且仅英国经历了严重的流行期,并于1992年末达到高峰期。自第一例被诊断出来至今,全世界共发生了18万例病例,而从1986至2001年,全世界超过98%报道的病例来源于英国。

#### 2.2 释放评估

释放评估包括描述和量化安全风险物质释放或 将 BSE 风险源引入动物可以接触环境中的潜在概率。 释放评估过程主要包括:①描述疯牛病安全风险因子 的类型、时间和数量以及释放概率等;②描述或量化 人们所采取的一系列行动或事件对疯牛病安全风险 因子特性的影响。

#### 2.3 后果评估

后果评估是由描述和量化暴露于特定风险源和 其引起的经济后果之间的关系所组成。后果评估包括 直接后果和间接后果,前者包括对国内动物健康影响、对公共卫生的影响;而后者包括潜在贸易损失、对 工业的影响以及监测、控制和扑灭成本。根据对动物 和人类健康因素、贸易因素、企业因素和扑灭成本的 分析,以及对比其它爆发国家的例证,可以对一个国 家或地区爆发疯牛病的后果进行评估,并将由动物损 失、产品损失、控制和扑灭成本、监控和监视成本、贸 易禁运和限制损失等方面组成。

#### 3 疯牛病的监控

监控疯牛病的目的包括检测已确定的 BSE 流行情况;监控 BSE 在这个国家,地区或隔离区的演变;联合稽查工作,监控饲料禁令和其它风险缓减措施的实效;支持公开的 BSE 状况,获得或再度获得更高的 BSE 状况。

由于历史客观原因,疯牛病严重威胁着欧洲各国 畜牧业经济发展和居民的食品安全,现在欧盟各成员 国每年都进行疯牛病的监测,也逐步形成了一套除了 对可疑疯牛病特征的牛羊进行强制检测外,还建立了 快速疯牛病或羊痒病的筛选检测的较成熟的疯牛病监控机制。

#### 3.1 牛群的监控

当一个国家或地区监测发现疯牛病病原体时,应 首先将其国内或地区的牛群划分为三组:未接触到病 原体的牛群;暴露在病原体传染范围内,尚未感染的 牛群;受感染的牛。而根据疯牛病的流行病学特性,特 定牛群在传染传播疯牛病时,通常是在确诊发现疯牛 病之前,牛群中大多数牛已经死亡或被屠宰;同时,牛 群会有部分未出现疯牛病临床症状,但检测发现已经 感染病原体的牛;另外,就是少量表现出临床症状的 病牛。

#### 3.1.1 牛群的监控重点

由于疯牛病传染性较强,且潜伏期长,在制定疯牛病监控范围时应考虑诊断的局限性。为了更好地达到监控目的,对 3.1 节各牛群组进一步划分为 4 个亚组牛群,分别为:①超过 30 月龄的,表现出与 BSE 相符的动作或临床症状的牛;②不能走动的、不爱活动的、不靠帮助不能站立或走动的超过 30 月龄的牛,以及被送往紧急屠宰的或屠宰前检查中被检去的超过30 月龄的牛(伤亡、紧急屠宰或精神不振的);③超过30 月龄,死在农场、运输途中或屠宰场的牛;④超过36 月龄的正常屠宰的牛。监测主要集中在①亚组牛群,同时兼顾调查其它亚组牛群,并且至少从上述 4 亚组牛群中各抽样 3 个以上,以便科学评估整个国家、地区和隔离区的疯牛病安全风险状况。

#### 3.1.2 监控记录的组成和管理

疯牛病的监控记录,一方面包括取样方案、取样体积、牛的年龄等在内的监控程序的描述;另一方面包括每年的抽检数量、年龄、地域分布、来源(国内或引进)、品种、类型(肉牛、奶牛)、抽检季节和最后检测结果等。而疯牛病监控记录至少需要保存7年。

#### 3.1.3 疯牛病的动态监测

当一个国家、地区或隔离区确诊有疯牛病发生时,须扩大抽样次数和范围,尽早掌握疯牛病在该地区的流行情况,监控其发展动态。而对于发生过疯牛病的国家或地区,监控目标应重点放在监控此病的发生程度和进展,以及各项监管措施的效果等方面。

#### 3.2 饲料环节的监控

#### 3.2.1 动物副产物的监控

对于畜牧业大国来讲,动物副产物的加工处理是一个不小的产业。由于较低剂量的疯牛病病原体就能导致接触牛的感染,并且现有的加工工艺尚不能破坏

疯牛病病原体的活性。因此,原料质量是动物副产物加工业质量安全监控的重点。另外,目前亟需开发新的动物副产物的加工方法和途径,除将动物副产物加工成饲料和肥料外,可以通过将其开发作为燃料等,以增加其价值。

2002 年, 欧盟议会和欧盟执委会公布《非供人类食用的动物副产品的卫生条例》指令(EC 1774/2002), 严格地将畜产品的加工原料按照来源、组成等个体特征分为三类。不同类别原料具有不同的贮运、处理、加工方法和设备;并且明确规定,只有不威胁人类健康并适合于人类食用的动物原料,即第Ⅲ类动物加工副产物才能用于生产饲料产品。

#### 3.2.2 反刍动物饲料生产的监控

英国政府 1988 年制定的反刍动物饲料条例(a ruminant feed ban)以及 1990 年制定的牛废弃物管理详细条例(a specified bovine offal ban)中规定,禁止来自反刍动物的肉骨粉用于反刍动物饲料。但由于交叉污染问题以及哺乳动物肉骨粉和鸟禽类肉骨粉区分较为困难,同时为了防止屠宰时猪体内和鸟禽肠内存在的来自反刍动物蛋白质进入到反刍动物饲料中,2001年,欧盟严格限制在反刍动物饲料中使用任何肉骨粉等动物源性饲料。

在整个饲料链中必须防止交叉污染,包括从饲料的接收和运输、生产过程、最终饲料运输和贮藏及农场的饲喂整个过程。目前在英国兽医实验室进行研究得出的数据表明,牛只需采食 10mg 有感染性的大脑组织就会受到感染。如果生产反刍动物饲料的饲料厂同时使用哺乳动物肉骨粉生产猪、家禽饲料或宠物食品,将交叉污染控制在 10mg 的水平几乎是不可能的。因此,在饲料生产厂生产设计和注册环节需进行严密审查。

#### 3.3 我国对疯牛病的监控

我国政府非常重视疯牛病的防控工作,特别是农业部制定和采取一系列措施,包括严禁从有疯牛病的国家进口牛、牛胚胎、肉骨粉、牛肉及其产品,以防疯牛病传入我国;同时,农业部还在全国布设了300多个动物疫情测报点,对各地疫情实行全方位动态监测;另外,我国对进境种畜均实行严格管理和长期监控,凡进口牛来源及去向、后裔情况及所在农场等建有详细的档案资料,并可根据档案资料随时调查和追踪到进口牛及其后代的全部情况。

(参考文献 12 篇,刊略,需者可函索) (编辑:崔成德,cuicengde@tom.com)

### 卧式固态物料发酵罐的研制与应用

#### 李建华 余蜀宜 王传槐 余文琳

摘 要 介绍了一种新型卧式固态物料发酵罐的结构特点及工作原理,饲用复合酶生产试验应用,生产中工艺参数的确定。使用该卧式固态物料发酵罐进行多次饲用复合酶的生产试验,结果表明,本卧式固态物料发酵罐实现了在同一发酵设备内既能使固态物料灭菌,又能冷却发酵,通风良好,杜绝杂菌污染;大大减轻了劳动强度,改善了环境卫生,提高了自动化程度、产品的产量和质量。

关键词 卧式固态物料发酵罐;发酵;工艺参数中图分类号 S817.2

固态物料的发酵技术具有悠久的历史,有简单易行、投资少等特点,广泛用于酿酒、制曲、生物饲料、生物农药、生物肥料、酶制剂等领域。但固体发酵也存在着设备占地面积大,劳动强度大,传质、传热困难,参数(如物料 pH 值、物料温度、物料湿度、菌体增殖量、产物生成量)难检测等问题。随着科学技术的进步,固体发酵存在的缺点也逐渐被克服,少数发达国家的固体发酵已实现机械化规模生产。近几年我国固体发酵技术也有所发展,出现了多种形式的固态物料发酵设备。到目前为止,还无法判定何种发酵设备是较理想的固态物料发酵设备,各种形式的固态物料发酵设备都有各自的优缺点,许多问题有待研究解决。

现有的固态发酵设备主要采用大池、浅盘、箱式、转盘等形式,大多将物料的灭菌与发酵过程分开操作,在发酵过程中又大都采用自然通风,往往劳动强度大、效率低,生产能力小(盘式);灭菌环境难以控制,杂菌污染率高。

本试验自行开发设计单批处理量 300kg 的卧式 固态物料发酵罐,并进行了一系列的生产试验研究。

#### 1 研制目的与要求

微生物需在一定温度、湿度、培养基、空气、pH值环境下繁殖,不同的微生物对氧的要求也不一样,按照它们对氧的需求可以分为好氧菌和厌氧菌两大类。多数真菌、藻类和不少细菌都是专性好氧菌,必须供给分子态氧才能正常生长。一个理想的固体物料发酵设备必须满足物料的混合、灭菌、降温、保温、保湿、提供空气,能够动态检测温度、湿度、氧气含量和二氧化碳含

量并加以控制。

本研究的目的是研制一种新型可适用丝状真菌的固态物料发酵罐。

研制的要求:①物料在同一设备里完成混合、灭菌、接种、培养、出料等整个过程;②性价比要高,有推广应用价值。

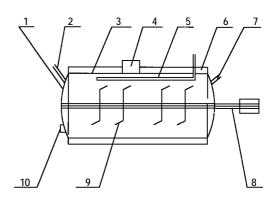
#### 2 发酵设备的结构和工作原理

#### 2.1 主要技术指标

设备总容量为 3.5m³、转速为 2~3r/min、罐内温度 范围为 20~110℃、电机功率为 7.5kW、外形尺寸为 Φ1.5(m)×L2(m)、设备重量约为 2 500kg。

#### 2.2 结构特点

固态物料发酵罐结构见图 1。



 1.封头
 2.排气及温、湿度监测仪
 3.罐体
 4.进料口
 5.接种分配管

 6.夹套
 7.蒸汽及灭菌空气进口
 8.搅拌轴
 9.搅拌叶片
 10.出料口

图1 固态物料发酵罐结构

本固态物料发酵罐为固定卧式罐体,两端封头用 法兰与罐体联接,接有温、湿度监测仪及排气孔,罐体 上接有蒸汽及灭菌空气进口,搅拌叶片呈一定角度排 列装于搅拌轴上,罐体上装有进料口和出料口,罐体 外有夹套,夹套外有保温层。

本设备凡与物料接触部分均采用不锈钢制作,减速机选用双级型摆线针轮减速机,转速为 2~3r/min。

李建华,南京林业大学机电学院,博士,210037,江苏省南京市龙蟠路 159号。

余蜀宜、王传槐、余文琳,南京林业大学化工学院。

收稿日期:2006-03-15

#### 2.3 工作原理

固态物料从进料口进入罐体内,装于搅拌轴上的搅拌叶片带动物料翻动、疏松、混合。蒸汽从蒸汽及灭菌空气进口直接通入罐体内,对物料进行灭菌,之后由夹套通入冷却水,无菌空气直接通入罐体内,对物料进行冷却降温,当物料冷却到发酵温度时,液体菌种从接种分配管喷入,随着搅拌轴的正、反转,在搅拌叶片的作用下,菌种和物料均匀混合。无菌空气直接通入罐体内喷向物料,保证微生物生长所需的足够氧源,夹套内通保温水保证微生物生长所需的温度,根据需要无菌水从接种分配管喷入。微生物生长完毕直接由排料管卸料。

#### 3 实际生产中的应用

#### 3.1 装料量的确定

固态物料发酵罐的装料量必须考虑两方面因素,如果装料过多、料层厚,会影响通风效果,传质、传热困难,造成料层发酵不均匀,影响产品的产量和质量;如果装料过少,影响产品的产量,设备性价比降低。在多次饲用复合酶生产试验的基础上确定了最佳装料量为300kg。

#### 3.2 搅拌轴叶片角度及转速的确定

搅拌轴叶片角度要适当,角度过大,物料向前、向后及出料方便,由于物料前进速度过快,搅拌轴叶片容易变形弯曲而损坏设备;角度过小,物料向前、向后及出料不方便并影响物料混合效果。根据计算及试验,确定搅拌轴叶片角度 5~10 度,经过多次试验,达到设计要求。

搅拌轴转速过快,螺旋轴所受弯矩过大,容易造成设备的损伤,在发酵后期容易搅断菌丝;转速过慢,物料混合不均匀。经过多次试验,确定搅拌轴转速为2-3r/min。

#### 3.3 灭菌蒸汽压及时间的确定

因固态物料传热、传质困难,所以采取夹套内通蒸汽和直接向罐内物料通蒸汽两种形式相结合,从开始通蒸汽到罐内表压达1个大气压只用10min左右,经过多次试验,确定在1个大气压下维持30min左右就可达到生产要求。

#### 3.4 接种方式的确定

接种方式有两种:①从高位种子罐直接放液体种子;②从进料口加固体种子。经过多次试验,两种方法都可行,各有优缺点。方法①:优点是完全避免杂菌感染、菌种分布更均匀、接种量大;缺点是种子罐需提前运行。方法②:优点是种子可在实验室完成;缺点是接种时,进料口暴露在外有杂菌感染的可能。因此,我们

结合实际生产确定在连续生产时采用方法①,在非连续生产时采用方法②。

#### 3.5 其它工艺措施

#### 3.5.1 通风

通风主要有提供无菌氧气和帮助散热两个作用。 在生产过程中,通风过度不但增加能耗,还会造成物 料表层湿度降低;通风过小,提供氧气量不足。通风过 度或过小都不利微生物生长。

为了保证提供无菌空气,在空气进入前先经过空气过滤器进行消毒杀菌,试验证明这种方法是可行的。

#### 3.5.2 翻拌

通过搅拌轴叶片的转动来达到物料的翻拌松散 与均匀,翻拌次数依据物料的升温速度和菌丝长短及 密集情况来确定。

#### 3.5.3 喷淋

根据物料的含水量及湿度大小,通过接种分配管喷入,并伴随适当的翻拌,达到喷淋均匀。

#### 3.5.4 温度

在饲用复合酶培养过程中,温度控制在 33℃左右,因此工作温度主要在警告降温线 35℃与下限温度 29℃之间,由于电控系统的滞后性及微生物自发热的影响,实际温度在 27~38℃之间波动,满足了微生物生长需要,达到设计的要求。

#### 4 结论与讨论

- 4.1 该固态物料发酵罐为固定不动的卧式罐体,接种分配管固定在罐体的上部,搅拌轴安装在偏离罐体中心线的下方,结构紧凑,便于操作。
- **4.2** 该固态物料发酵罐实现了在同一发酵设备内既能使固态物料灭菌,又能冷却发酵,通风良好,杜绝杂菌污染。
- 4.3 该固态物料发酵罐与现有设备相比,有以下优点:①物料直接在罐内灭菌、冷却,从而避免了物料的二次污染;②在灭菌和发酵的过程中,物料通过叶片的正、反转,保证物料的疏松、均匀,提高了发酵的均匀性,缩短了发酵周期,提高了生产率;③由于通入无菌空气,大大降低了杂菌污染率,提高了产品的得率和质量;④可适用于丝状菌体的工业化生产。
- 4.4 该固态物料发酵罐经过饲用酶制剂的批量化试 生产,达到了设计的目的和要求,很好地解决了目前 固体物料发酵设备难以解决的问题,降低了设备造 价,从而大大提高了设备的性价比。因此,该固体物料 发酵设备很有推广应用价值。

(参考文献刊略,需者可函索) (编辑:崔成德,cuicengde@tom.com)

## 金贝粮复合秸秆饲料成型工器参数研念

#### 马文智 姚爱兴 李爱华 庞军宝 郝 峰 田见晖

尽管全日粮型复合秸秆成型饲料饲养技术便于控制日粮的营养水平和提高于物质采食量,可有效的防止消化系统机能紊乱,有利于开发利用当地秸秆等粗饲料资源,但全日粮不利于成型的特点直接影响了饲料产品的质量,限制了其商品化周转。本试验在现有设备基础上,采用物料含水率、粗饲料粒度、喂料速度等因素做了大量成型试验,旨在摸清全日粮复合秸秆饲料成型的最佳工艺参数。

#### 1 试验材料、工艺及测定指标

#### 1.1 主要设备

9Z-9A 型青贮铡草机、9RC-36 型揉草机、正昌

SYKH850环模压块机、牧羊精料加工机组。

#### 1.2 试验物料成分

生化复合处理玉米秸秆、苜蓿干草粗饲料与精料混合为精粗比 4:6 的试验物料(经常规饲料分析法测得饲料 DM 含量为 12%)。粗料组成原料及配比是生化复合处理玉米秸秆 50%、苜蓿干草 50%。精料组成原料及配比是玉米 50%、胡麻饼 18%、棉籽蛋白12%、干啤酒糟 5%、苹果粉 5%、麸皮 2%、脂肪粉 2%、预混料 6%。精料的营养成分:DM 含量为 88%、产奶净能为 7.5MJ/kg、粗蛋白为 20%。

#### 1.3 挤压工艺(见图 1)

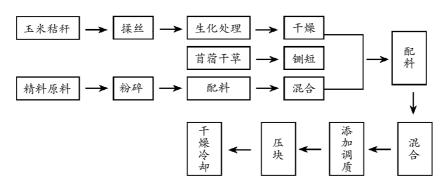


图 1 挤压工艺流程

#### 1.4 测定指标及方法

#### 1.4.1 成型率

单位时间内或单位质量的某样品经一次成型分级,其筛上物与样品总重之比。

#### 1.4.2 容重

将样品从离内径为 38cm、深为 31cm 的圆桶上缘

马文智,中国农业大学动物科技学院,博士,100094,北京 市海淀区圆明园西路2号。

姚爱兴,银川市人民政府。

李爱华,宁夏大学生命科学院。

庞军宝,宁夏隆德县畜牧与科学技术局。

郝峰,宁夏平吉堡奶牛场。

田见晖,单位及通迅地址同第一作者。

收稿日期:2006-04-13

★ 国家科技攻关计划西部专项(2002HA901A31)

51cm 高的上方倒入,为使内容物填充均匀,在水泥地面上,将圆桶从 15cm 高处下落 5次。除去顶缘以上质量大于一半的 TMR 成型块,称出桶内饲料样品重量。再把测得的容重校正到无水容重,其计算式为:

#### $W_0 = Wt \times M\%$

Wt---测定的容重;

M%——颗粒饲料中干物质的百分数。

#### 1.4.3 抗碎性

将预先称重过的样品从 1m 高处坠落至水泥地面上,重复 10 次,再称重,计算其与原样品的重量比。

#### 1.5 数据处理

采用 SPSS 方差分析法。

#### 2 试验结果与分析

2.1 不同含水率对日粮成型效果的影响(见表 1)

含水率(%)		成型率(%)			抗碎性(%)			容重(kg/m³)	容重(kg/m³)		
百小平(元)	I	II	平均值	I	II	平均值	I	II	平均值		
17.48	63.16	62.87	63.02ª	89.60	91.40	90.50 <sup>b</sup>	725.20	717.92	721.56°		
19.48	82.05	81.92	81.99°	92.30	93.40	92.85 <sup>cd</sup>	783.15	768.34	775.75 <sup>d</sup>		
21.48	90.32	90.40	90.36 <sup>f</sup>	95.60	94.80	$95.20^{\text{de}}$	865.00	858.25	861.63 <sup>fg</sup>		
23.48	90.18	90.11	90.15 <sup>f</sup>	94.80	94.50	94.65 <sup>cd</sup>	825.00	847.33	836.17 <sup>ef</sup>		
25.48	83.44	85.21	84.33 <sup>d</sup>	94.10	93.50	93.80 <sup>cd</sup>	814.32	832.32	823.32ef		
27.48	68.56	68.47	68.52 <sup>b</sup>	88.50	89.50	89.00 <sup>b</sup>	455.43	457.12	456.28b		
29.48	63.77	63.56	63.67 <sup>a</sup>	83.70	85.40	84.55ª	356.00	309.72	332.86ª		
31.48		成型率很低									
32.48		基本不成型									

表 1 不同含水率对压块饲料的各指标测定结果

注:多重比较同列相同字母表示差异不显著(P>0.05),不同字母表示差异显著(P<0.05)。

从表 1 中看出, 当含水率为 21.48%时, 成品的成型率、抗碎性、容重分别为90.36%、95.20%、861.63kg/m³均为最佳。当含水率逐渐增大或减小时, 成型率、抗碎性、容重都随之减小。因为较高的入模水分会使物料易于通过模孔, 而不能很好地受到挤压, 从而达到紧

密状态,同时游离在外表的自由水能够传递静水压力,使胶状体的单体"团粒"无法结合;较低的入模水分也会使物料中淀粉糊化时吸水不足,而使内部相互黏结力差。

2.2 不同粗饲料粒度对日粮成型效果的影响(见表2)

表 2 不同粗饲料粒度对压块饲料的各指标测定:	结果	定	た 泖川	.指标	久	料的	饲料	压块	对	度	一粒	饲料	#1	同	不	表り	
-------------------------	----	---	------	-----	---	----	----	----	---	---	----	----	----	---	---	----	--

粒度	· 成型率(%)			抗碎性(%)			容重(kg/m³)		
似反	I	II	平均值	I	II	平均值	I	II	平均值
1	87.65	89.1	88.38ª	81.6	89.4	85.5°	834.20	821.92	828.06ª
2	91.35	91.34	91.35⁵	90.3	90.4	90.35 <sup>a</sup>	881.15	867.34	874.25 <sup>b</sup>
3	88.32	88.4	88.36ª	86.6	86.8	86.7ª	823.00	848.25	835.63ª

注:1.粒度 1——苜蓿干草铡短,玉米秸秆铡短,长度都为 2~4cm;

粒度 2——苜蓿干草铡短,长度为 2~4cm,玉米秸秆同时等量铡短和揉丝,铡短长度为 2~4cm,揉碎玉米秸秆长和宽分别为 8~12cm 和 0.2~0.3cm;

粒度 3——苜蓿干草铡短,长度都为 2~4cm,玉米秸秆揉丝,揉碎玉米秸秆长和宽分别为 8~12cm 和 0.2~0.3cm; 2.多重比较同列相同字母表示差异不显著(P>0.05),不同字母表示差异显著(P<0.05)。

#### 2.2.1 对日粮成型率的影响

从表 2 中看出,精粗比4:6的日粮成型最佳粗饲料粒度是 2,3 次之,1 最差。这是因为压块时小颗粒填充在大颗粒之间的空隙内,大颗粒起到了骨架作用,而当物料粉碎过大或过小时都没有这种嵌合作用。

#### 2.2.2 对日粮抗碎性的影响

从表 2 中看出, 当粗饲料粉碎粒度为 2 时该日粮 抗碎性能最好, 其它两种粒度次之。因为粉碎粒度过 粗,制成颗粒后较易破碎,稳定性较差。

#### 2.2.3 对日粮容重的影响

从表 2 中看出,当粒度为 2 时该日粮容重最大,为 874.25kg/m³。这是因为由粒度 2 配置的日粮其成型率和抗碎性都较好,从而成型日粮中碎片和粉末较少,日粮块的紧实度较高,容重较大。

- 2.3 不同喂料速度对日粮成型效果的影响(见表 3)
- 2.3.1 对日粮成型率的影响

表 3 不同喂料速度对压块饲料的各指标测定结果

Ⅲ 利 净 庄 / <b>+ / b</b> /		成型率(%)			抗碎性(%)			容重(kg/m³)	
喂料速度(t/h)	I	II	平均值	I	II	平均值	I	II	平均值
1.0	92.67	93.03	92.85 <sup>b</sup>	84.32	89.40	86.86 <sup>b</sup>	760.65	747.94	754.30°
2.0	94.15	95.30	94.73 <sup>b</sup>	89.13	90.40	89.77°	753.87	768.24	761.06°
3.0	90.32	93.20	91.76ª	87.00	86.80	86.90 <sup>b</sup>	749.41	758.24	753.83°
4.0	92.18	91.86	92.02ª	91.08	94.50	92.79°	797.26	801.33	799.30 <sup>e</sup>
5.0	93.23	96.61	94.92 <sup>b</sup>	86.34	85.50	85.92 <sup>b</sup>	777.98	782.69	780.34 <sup>d</sup>
6.0	92.11	95.65	93.88b	88.44	89.50	88.97 <sup>b</sup>	723.36	737.72	730.54b
7.0	89.02	89.43	89.23ª	86.30	85.40	85.85 <sup>b</sup>	720.55	725.36	722.96 <sup>b</sup>
8.0	89.58	90.16	89.87ª	75.03	76.43	75.73ª	701.82	697.54	699.68ª

注:多重比较同列相同字母表示差异不显著(P>0.05),不同字母表示差异显著(P<0.05)。

从表3中看出,喂料速度对成型率的影响不明显,只是随着喂料速度的增大,环模进料口堵塞频率增大。在正常工作状态下,进料速度对颗粒耐水性有极大影响。进料速度快,产量大,但原料中淀粉加热糊化时间短,致使黏结力下降,耐水性差;减慢进料速度,延长粉料加热时间,使淀粉充分糊化,颗粒料的耐水性提高,但产量降低,影响生产效率,而在日粮压块过程中这一现象不明显,主要是因为在压制过程中,物料可达到的最大温度一般为50℃,绝大部分淀粉不能被糊化。

#### 2.3.2 对日粮抗碎性的影响

从表 3 中看出, 喂料速度对抗碎性的影响不明显,因为在物料理化性质一定的情况下,喂料速度的

变化没有改变物料挤出模孔所需克服的最大摩擦力,在不具备淀粉糊化所需外部温度条件的情况下,它也没有产生因喂料速度不同而造成的糊化度在时间上的累加或削减效应。

#### 2.3.3 对日粮容重的影响

从表 3 中看出,喂料速度对日粮容重的影响不明显,因为在物料理化性质一定的情况下,喂料速度的变化没有改变物料挤出模孔所需克服的最大摩擦力,从而使日粮块变得紧实或疏散。

2.4 含水率、粒度、速度 3 因素 3 水平对日粮成型效果的影响(见表 4)

#### 2.4.1 影响成型率的因素

试验号		因素			试验指标	
风驰 5	含水率(%)	粗饲料粒度	喂料速度(t/h)	成型率(%)	抗碎性(%)	容重(kg/m³)
1	21.48	粒度 1	2	93.10	91.86	779.65
2	21.48	粒度 2	5	96.02	95.31	791.34
3	19.48	粒度 1	5	92.54	89.90	614.27
4	19.48	粒度 2	2	93.94	88.16	641.85
成型率						
$K_1$	189.12	185.64	187.04			
$K_2$	186.48	189.96	188.56			
极差R值	2.64	4.32	1.52			
抗碎性						
$\mathbf{K}_1$	187.17	181.76	180.02			
$K_2$	178.06	183.47	185.21			
极差R值	9.11	1.71	5.19			
容重						
$K_1$	1 570.99	1 393.92	1 421.50			
$K_2$	1 256.12	1 433.19	1 405.61			
极差R值	314.87	39.27	15.89			

表 4 含水率、粒度、速度 3 因素 3 水平的压块饲料的测定结果

由表 4 极差 R 值的大小可知,各因素在目前几种水平情况下,两种不同粗饲料粒度对成型率影响最大,其极差为 4.32。粒度 2 有利于饲料成型,因为细粉碎可以破坏玉米秸秆原来较完整的柱状结构,增大了单位质量秸秆的表面积,从而增大了它们之间的吸附性黏结力,在外部压力作用下颗粒之间相互叠嵌在一起。水分对成型率影响次之,而喂料速度对成型率的影响很小。

#### 2.4.2 影响抗碎性的因素

由表 4 极差 R 值的大小可知,各因素在目前几种水平情况下,水分对抗碎性的影响最大,其极差为 9.11。因高水分的物料挤出高温压模时,产生大量的蒸汽,其在压块料离开环模时迅速外溢,导致块料膨胀,从而降低了物料之间的黏结力。而喂料速度对抗碎性的影响次之,粗饲料粒度影响最小。

#### 2.4.3 影响容重的因素

由表 4 极差 R 值的大小可知,各因素在目前几种

水平情况下,含水率对容重影响最大,一般的块料越紧密,容重也越大。粗饲料粒度对容重影响次之,喂料速度对容重基本上没影响。

#### 3 结论

研究表明,全日粮成型最佳水分含量是 21.48%; 喂料速度对成型率影响不明显;成型最佳粗饲料粒度是苜蓿干草铡短,长度为 2~4cm,用量占粗饲料用量的一半,玉米秸秆同时等量铡短和揉丝,铡短长度为 2~4cm,揉碎玉米秸秆长和宽分别为 8~12cm 和 0.2~0.3cm。采用物料含水率、粗饲料粒度、喂料速度等 3 因素 3 水平的正交试验表明,在各因素现有水平的基础上,粒度对成型率的影响最大,水分变化对抗碎性和容重的影响最大。

(参考文献刊略,需者可函索)

(编辑:崔成德,cuicengde@tom.com)



## 有奖征文

(本栏目由上海邦成生物科技有限公司协办)

## 酸水解制备饲料小肽的初步研究

### 邦成生物科技

乔 伟 周安国 王之盛

摘 要 以大豆分离蛋白(SPI)为原料,分别在 70.80.90℃条件下经 6mol/l 的盐酸水解 2~10.12.24.48h,对各水解产物的  $\alpha$ -氨基氮与总氮的比值( $\alpha$ -NH<sub>2</sub>-N/TN)、水解产物分子量分布范围及适宜水解条件下终产物二肽、三肽含量进行了测定。结果表明,酸水解明显受反应温度和时间影响,提高水解温度,可缩短达到平均肽链长度(APL)为 2 所需的时间;适宜水解条件为温度 90℃、反应时间 5h,终产物二肽、三肽含量为 19.38%。

关键词 大豆分离蛋白;盐酸;水解;小肽;制备中图分类号 S816.32

小肽的制备方法,主要有人工合成和蛋白质水解。人工合成的小肽产品成本太高,不适合作饲料添加剂。蛋白质可经酸、碱和酶水解生成小肽。酶作为具有生物活性的特殊蛋白质,对反应条件要求苛刻。温度、环境 pH 值、重金属离子、有机试剂、紫外线、表面活性剂等能引起蛋白质变性,从而使酶失效。因此,酶促反应大都要求在一定的温度范围、反应时间、pH 值下进行,且酶水解效果的好坏与底物浓度、酶用量、预处理、溶液中有无金属离子等因素有关。同时,在水解过程中酶常常会逐渐变性失活,致使酶活力随时间而降低;酶解产物也会对酶起抑制作用,特别是蛋白水解酶会发生自溶(自身水解)现象,导致生产效率下降。因此,酶法水解蛋白质的主要缺点是生产周期长且水解度不高,所得产品以大分子多肽为主。

碱水解时,丝氨酸、苏氨酸、精氨酸等大部分被破坏,且大部分氨基酸都会发生消旋作用,所得为 D 型和 L 型氨基酸的混合物,营养成分损失大。由于机体只能吸收 L 型(左旋)氨基酸(蛋氨酸除外),因此,很少采用此法来制取供人类或动物食用的水解蛋白。其应用主要限于对蛋白质水解改性,借以生产非营养目的的产品,如蛋白灭火剂、发泡剂等。

相对而言,酸水解速度快、反应完全彻底,且不会引起氨基酸的消旋作用。但用酸水解法制备小肽的研究,国内外未见报道,故本研究选用酸水解。

#### 1 材料与方法

#### 1.1 试验材料

#### 1.1.1 试验原料与主要试剂

大豆分离蛋白(SPI,由哈高科大豆蛋白公司提供);盐酸、氢氧化钠、甲醛等均为分析纯,市购;葡聚糖凝胶(Sephadex)G-25。

#### 1.1.2 试验主要仪器设备

恒温烘箱、高效液相色谱仪(Waters 公司)、氨基酸分析仪(HP1100)、PHS-3C型数显酸度仪(上海雷磁)、UV-754型数显紫外分光光度计(上海)、HL-2型恒流泵(上海)、部分收集仪(日本岛津)。

#### 1.2 试验设计

采用两因素  $3\times12$  试验设计,将适量 SPI 溶于 6mol/I 盐酸后,分别在  $70\times80\times90$  条件下各水解  $2\times3\times4\times5\times6\times7\times8\times9\times10\times12\times24\times48$ h(见表 1),以  $\alpha$ -氨基氮占总氮 ( $\alpha$ -NH<sub>2</sub>-N/TN)的比例达 50%左右为判据,并用葡聚糖凝胶 G-25 对水解产物进行层析,确定酸水解的适宜条件;测定水解产物中游离氨基酸(FAA)、总氨基酸(TAA)和 SP(二肽、三肽)的含量。

表 1 酸水解条件的试验设计

温度(℃)					水	解卧	间(	(h)				
70	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	24	48
80	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	24	48
90	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	24	48

#### 1.3 测定指标及方法

 $\alpha$ -氨基氮( $\alpha$ -NH<sub>2</sub>-N)含量用甲醛滴定法测定;总氮(TN)用凯氏定氮法测定(陈钧辉等,2003)<sup>[1]</sup>。

葡聚糖凝胶层析:用 Sephadex G-25 对水解产物进行层析,选用 pH值7.0 的磷酸缓冲液,流速 1ml/min,

乔伟,四川农业大学动物营养研究所,625014,四川雅安。 周安国、王之盛,单位及通迅地址同第一作者。 收稿日期:2006-05-15

<sup>★</sup> 本课题由福建省科技厅资助

4ml/管,洗脱液于 280nm 处比色测定 OD 值。

测定适宜酸水解条件( $\alpha$ -NH<sub>2</sub>-N/TN 为 50%左右时)所得产物中二肽、三肽总含量及 FAA 和 TAA 的组成与含量。二肽、三肽含量由中国科学院成都分院分析测试中心测定(Waters 公司 HPLC);AA 含量由四川农业大学动物营养研究所分析测试中心测定(HP1100)。

计算平均肽链长度(Adler-Nissen,1986;Hyung 等,2000;邓勇等,2001)[2-4],相应公式如下:

平均肽链长度(APL)=
$$\frac{TN}{\alpha-NH_2-N}$$
。

#### 1.4 数据处理

用 Excel XP 对数据进行初步处理,以 SPSS11.0 统计软件对数据进行回归分析,建立不同温度条件下水解时间对  $\alpha$ -NH<sub>2</sub>-N/TN 或 APL 的回归方程。

#### 2 结果与分析

2.1 酸水解 SPI 的时间和温度对  $\alpha$  -NH<sub>2</sub>-N/TN 和 APL 的影响(见表 2)

表 2	温度和时间	对 SPI	酸水	解的	影响
-----	-------	-------	----	----	----

-1. (m n+t)=1 (h-t)	70℃		208		90℃	
水解时间(h)	α-NH <sub>2</sub> -N/TN(%)	APL	α-NH <sub>2</sub> -N/TN(%)	APL	$\alpha$ -NH <sub>2</sub> -N/TN(%)	APL
2	25.29	3.95	31.03	3.22	35.8	2.79
3	28.63	3.49	36.5	2.74	39.65	2.52
4	31.48	3.18	44.15	2.27	49.54	2.02
5	34.82	2.87	48.51	2.06	50.69	1.97
6	37.59	2.66	49.32	2.03	52.21	1.92
7	39.05	2.56	51.69	1.94	56.48	1.77
8	42.05	2.38	52.71	1.90	57.59	1.74
9	42.67	2.34	53.42	1.87	59.81	1.67
10	43.02	2.33	54.13	1.85	60.35	1.66
12	44.52	2.25	56.27	1.78	61.99	1.61
24	46.66	2.14	60.85	1.64	72.13	1.39
48	51	1.96	67.83	1.45	78.64	1.27

对表 2 数据的分析表明, $\alpha$ -NH<sub>2</sub>-N/TN 与水解时间和温度存在极显著正相关 (P<0.01)。反应温度相同, $\alpha$ -NH<sub>2</sub>-N/TN 随水解时间延长增加(图 1),平均肽链长度逐渐降低(图 2)。温度不同,肽键断裂均明显

呈现由快变慢,逐渐趋于平缓的相同水解变化过程。

不同温度条件 SPI 酸水解  $\alpha$ -NH<sub>2</sub>-N/TN(%)与时间的回归方程及按回归方程预测达到 APL 为 2 所需时间见表 3。

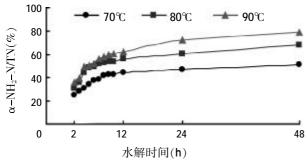


图 1 α-NH<sub>2</sub>-N/TN 随水解时间和温度变化曲线

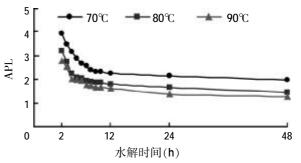


图 2 APL 随水解时间和温度变化曲线

表 3 不同温度条件 SPI 酸水解  $\alpha$ -NH<sub>2</sub>-N/TN(1/APL)随时间的回归方程与预测

温度(℃)	曲线	$R^2$	$b_0$	b <sub>1</sub>	$b_2$	b <sub>3</sub>	达 APL=2 的时间(h)
70	log	0.920**	21.579 2	8.435 1			29.05
70	CUB	0.992**	18.324 1	4.015 9	-0.167 8	0.002 0	50.17
70	S	0.952**	3.903 6	-1.514 7			>100
80	log	0.937**	27.797 4	11.073 7			7.43
80	CUB	0.954**	25.497 2	4.804 8	-0.199 1	0.002 4	6.92
80	S	0.974**	4.173 3	-1.563 8			5.99
90	log	0.978**	28.055 5	13.727 0			4.95
90	CUB	0.973**	29.292 3	4.750 9	-0.172 4	0.002 0	5.32
90	S	0.929**	4.282 7	-1.591 4			4.29

注:1.log—对数曲线方程,  $y=b_0+b_1\times ln(x)$ ; CUB—三次曲线方程,  $y=b_0+b_1\times (x)+b_2\times (x^2)+b_3\times (x^3)$ ; S—S 曲线方程,  $y=e(b_0+b_1/x)$ 。方程中 y表示  $\alpha$ -NH<sub>2</sub>-N/TN(%), x表示水解时间(h)。

<sup>2.\*\*</sup> 表示达 0.01 显著水平。

由表 3 可见,提高水解温度可减少达到 APL 为 2 时所需的时间。因此,在本实验条件下,90℃为适宜水解温度;根据此条件下拟合度最好的对数(log)曲线方程,确定 5h 为达 APL 为 2 的水解时间,并对水解产物分子量范围和小肽含量进行分析。

#### 2.2 水解产物的葡聚糖凝胶 G-25 层析

将可溶性大豆分离蛋白及其水解后 APL 为 2 时的产物经葡聚糖凝胶 G-25 层析,并与相同条件下牛血清白蛋白、麦芽糖和三羟甲基氨基甲烷的层析结果进行对比。牛血清白蛋白、麦芽糖和三羟甲基氨基甲烷层析洗脱液的最大紫外吸收峰分别在第 3 管、第 7 管和第 7 管,而可溶性大豆分离蛋白及其酸水解产物(APL=2)则分别在第 4 管和第 7 管,可见水解产物的分子量以小肽为主。

#### 2.3 HPLC 测定小肽的含量

经中国科学院成都分院分析测试中心测定(Waters 公司高效液相色谱仪),本试验适宜条件下SPI 水解产物(APL=2)中二肽、三肽含量为 19.38%。

#### 3 讨论

本试验结果表明:温度和时间对酸水解程度有较 大影响,其中温度的影响更大。不同温度条件下,SPI 的水解反应主要发生在最初几个小时,此后随时间的 延长水解程度趋于平缓,在低温(70℃)时这一特征更 加明显;而在相对较高的温度下,不仅最初水解速度 快,而且随时间的延长水解程度仍有一定的增加。这 可能是工业上用酸水解生产氨基酸时一般在 100℃以 上的原因。高文宏(2001)与认为水解温度和水解时间 是影响水解率( $\alpha$ -NH<sub>2</sub>-N/TN)的主要因素,且有显著 的交互作用,而盐酸浓度和盐酸摩尔比对其影响不 大。杨继良等(1995)间的研究表明,水解温度低于85℃ 则水解时间相对较长,若水解温度高于 140℃,水解时 间可大大缩短,但氨基酸破坏严重,同时对设备要求 很高,并推荐植物蛋白水解温度以85~95℃为佳。由于 水解温度的升高或水解时间的延长都会增加对氨基 酸的破坏程度, 因此本研究以 90℃为适宜水解温度, 5h 为最适水解时间。

一些侧链基团较大的氨基酸肽键的水解速度较慢,因此,在相同温度条件下,反应后期水解程度随时间的延长趋于平缓,如缬氨酸、异亮氨酸、色氨酸肽键的水解速度比甘氨酸肽键的水解速度要慢。这是因为较大的侧链对肽键起到一定的保护作用,它们的空间阻挡效应降低了肽键邻近空间内水合氢离子浓度。据报道,蛋白质在经过 20h 的水解之后,这类氨基酸的游离量还是较低,需将水解时间延长,才可全部游离。

本试验所得水解产物中含大量因中和反应而产生的盐,若能除去其中的盐并分离游离氨基酸,则小肽含量可提高 3 倍以上。除盐和分离氨基酸的工艺还有待于进一步研究。

#### 4 结论

大豆分离蛋白的盐酸水解明显受反应温度和时间的影响,提高温度能缩短水解达平均肽键长度为 2 所需的时间;适宜的水解条件为反应温度 90℃,反应时间 5h,终产物二肽、三肽含量为 19.38%。

#### 参考文献

- 1 陈钧辉主编.生物化学实验(第三版).北京:科学出版社,2003.57~ 58
- 2 Adler Nissen. J. Enzymic hydrolysis of Food Proteins. Elsevier Applied Science[M]. Publishers NewYork, 1986.13-14
- 3 Hyung J. H., H. B. Song, O. N. Dong. Debittering of corn gluten hydrolysate with active carbon[J]. J. Sci. Food. Agric, 2000, 80:614~ 618
- 4 邓勇,冯学武,大豆多肽分子质量分布与苦味的确定,中国农业大学学报,2001.6(4):98-102
- 5 高文宏.酸水解植物蛋白中氯丙醇的形成机理及其分离的研究[D]. 华南理工大学博士学位论文,2001
- 6 杨继良,项时康.棉子饼粉制取氨基酸水解液的研究[J]. 中国棉花, 1995, 22(4):8~10

(编辑:刘敏跃, Im-y@tom.com)

#### ・信息采撷・



夏季天气炎热,适当增喂一些防暑饲料,有利于防止畜禽中暑。主要的防暑饲料有以下几种。

1.西瓜皮 用新鲜西瓜皮 2kg, 捣烂后加白糖 100g, 搅拌均匀喂猪,隔日 1次;将西瓜皮切碎,每日每只鸡喂50g 左右,分 3次喂给,中午单独喂,早晚拌入饲料中喂,可提高鸡的抗热水平。

2.醋或酸菜汁 猪食用醋或酸菜汁后,在一定时间内能使体温下降,从而达到清凉解暑的目的。饲喂方法:依猪体大小,每天喂服一次,每次250~500ml。

3. 白扁豆 白扁豆有消暑健胃之功效,依猪体重大小,可用 20~50g 煎汁饮汤。

4.绿豆 绿豆是传统的防暑佳品。取绿豆适量,加水 20倍,煮至皮烂,凉后饮汤、吃豆。

5.车前草和淡竹叶 用车前草和淡竹叶加水煎汁,拌料喂服。

## 生物素主动吸收与转运的研究进展

#### 彭焕伟

摘 要 生物素是一种水溶性维生素,在动物体内具有重要的生理功能。动物体存在着生物素主动吸收机制,参与生物素主动吸收与转运的载体为 SMVT (sodium dependent multivitamin transporter)。对 SMVT 的研究已经深入到分子水平,文章就生物素以 SMVT 为载体时的主动吸收与转运的相关研究进行了总结,综述了在这一领域的研究进展。

关键词 生物素; SMVT; 主动吸收; 转运载体 中图分类号 S816.7

生物素(biotin)又称为维生素 H、辅酶 R,是近年来研究最多的一种水溶性维生素。1916 年 Bate man 观察到生蛋清的毒性。而后 Boas 在 1927 年发现采食肝蛋白的大鼠发生了病态症状,而肝中某种因子可以消除这些症状,Boas 将这个因子叫做"保护因子"。Gyorgy 于 1931 年也在肝中发现了这类因子,他将之称为维生素 H。1936 年 Kogl 和 Tonnis 从蛋黄中分离出了晶体状的生物素。1942 年 Du Vigneaud 发表了生物素的结构式。Harrlis 等在 1945 年第一次化学合成生物素。

生物素作为羧化酶的辅酶参与脂肪酸生物合 成、糖异生和多种支链氨基酸、单链脂肪酸的代谢过 程 (Bonjour, 1984; Dakshinam urti 等, 1988; Sweetman 等,1986)。近来的研究发现了生物素在细胞中的一些 新功能,包括对细胞 cGMP 水平的调节 (Krause 等, 1982; Watanabe, 1983; Wolf 等, 1985) 和对基因表达的 调控(Cousins, 1998; Dakshinamurti 和 Litvak, 1970)等。 动物体不能合成生物素,必须从饲粮中获取。生物素 缺乏会导致许多临床症状,如神经紊乱、生长延迟、皮 肤异常等。由于生物素在饲料中广泛存在,而且肠道 微生物又能够合成一定量的生物素,过去人们认为猪 和家禽饲料中不必再添加生物素。但随着现代养殖的 发展,猪和家禽生物素缺乏症的报道越来越多,这引 起了营养学家的重视,并对生物素的吸收机制做了较 为深入的研究。其中最重大的研究成果是生物素转运 载体的发现,表明生物素存在着由特异性载体介导的 主动吸收过程,这使得早期营养学研究认为的生物素 吸收是简单扩散过程的观点受到挑战。后来的研究发 现,该载体除了转运生物素外,还能转运泛酸和硫辛

酸,因此 Prasad 等(1998)将此载体命名为依赖 Na<sup>+</sup>的 多维生素转运载体 (SMVT, sodium dependent multivitamin transporter)。有关生物素吸收的研究已从组织水平发展到细胞水平、膜水平和分子水平。本文就生物素主动吸收与转运的研究情况进行总结,旨在为进一步认识生物素营养的重要性提供参考。

#### 1 生物素吸收的主动方式

#### 1.1 生物素在小肠的主动吸收

动物需要的生物素来自饲粮和消化道微生物合 成。饲粮生物素存在游离态和结合态两种形式。结合态 生物素是多肽通过特定氨基酸序列上的赖氨酸残基与 生物素共价结合形成,不能直接被动物吸收利用,在胃 肠道蛋白酶和肽酶的作用下降解成生物胞素(biocytin)和含生物素的小肽(Wolf 等,1984), 然后进一步 在生物素酶(biotinidase)的作用下释放出游离生物素 (Said 等,1993)。生物素吸收的传统观点认为,游离的 生物素在肠道的吸收与其它水溶性维生素一样是简单 的被动扩散过程。最早在仓鼠上发现生物素吸收存在 着一个载体介导的转运系统 (Berger 等,1972;Spencer 等,1964)。然后,Said 等(1987)发现大鼠的肠道也存在 生物素的转运载体,而且发现生物素在小肠近心端比 远心端的吸收更主动, 成年的人和大鼠生物素在十二 指肠的吸收大于空肠, 而空肠又大于回肠 (Said 和 Redha, 1987; Said 等, 1988)。这种差异是由于生物素吸 收过程中 $V_{max}$ (最大反应速度)的不同,而不是表观Km(米氏常数)的不同(Said 等,1988),提示载体的数量或 活性在小肠前段比后段高。Said 等(1987)第一次详细 描述了肠道主动转运吸收生物素的特点为: ①生物素 的转运会被其结构类似物抑制(脱硫生物素、生物素甲 酯、二胺生物素和生物胞素);②依赖 Na+;③耗能;④依 赖一定温度:⑤在浆膜隔(serosal compartment)内逆浓 度梯度进行。

进一步用纯化的刷状缘膜囊(BBMV)和底侧膜囊

彭焕伟,四川农业大学动物营养研究所,652014,四川 雅安。

(BLMV)研究表明,依赖 Na<sup>+</sup>的载体主动转运过程位于极化的肠细胞的顶膜区域(apical membrane domain),这个过程是由 Na<sup>+</sup>浓度梯度驱使而不是 Na<sup>+</sup>本身与生物素一起逆浓度梯度吸收的 (Said 等,1987;Said 和 Redha,1988;Said 等,1988;Said 和 Derweesh,1991);而生物素跨过底侧膜转出小肠上皮吸收细胞的过程则是不依赖 Na<sup>+</sup>的载体介导的主动转运过程(Said 等,1988;Said,1991)。

随后,在人、大鼠和兔子上也发现生物素在小肠转运吸收存在载体介导的主动吸收形式 (Said 等, 1987;Said 和 Redha,1988;Said 和 Derweesh,1991)。这些研究结果不再支持 Spencer 和 Brody (1964)关于生物素在小肠的转运机制存在种属差异的观点,反而提示了不同动物可能存在相同或相似的生物素转运吸收过程。

#### 1.2 生物素在大肠的主动吸收

在肠道尤其是在大肠中,微生物能合成一定量的 生物素,而且相当一部分生物素是以能够被吸收的游 离形式存在 (Burkholder 和 McVeigh, 1942; Wrong 等, 1981)。在人、大鼠和小种猪上所做的体内试验表明, 结肠能够吸收一定数量生物素(Barth 等,1986;Brown 和 Rosenberg 1987; Sorrell 等, 1971)。然而,长期以来 关于肠道微生物合成生物素的重要性一直是争论的 话题。近年来的许多研究结果普遍认为,微生物来源 的生物素不足以满足动物代谢需要,尽管结肠前段有 大量的微生物合成生物素,然而结肠对生物素的转运 能力却不如空肠。Kopinski 等(1989)在猪的盲肠灌注 抗生物素蛋白(avidin)或抗生素,结果发现大肠微生 物合成生物素的数量和生物利用率都显著降低,但是 血浆中生物素的水平和尿中生物素代谢产物没有受 到影响;在通过饲喂乳糖促进微生物生长后,血浆中 生物素水平依然没有明显改变。这表明大肠微生物合 成生物素对动物的作用不大。

关于生物素在大肠主动吸收的机制是近年来才逐渐开展研究的。Said 等(1997)用人源的未改造过的结肠上皮细胞系 NCM460 作为研究材料,将细胞培养介质中 Na\*用其它一价阳离子或甘露醇替换,发现生物素的吸收显著受到抑制,这表明这些细胞对生物素的吸收在自然条件下是依赖 Na\*的;同时,Said 等还发现 Na\*-K\* ATP 酶抑制剂之一的乌巴因(ouabain)能够显著抑制生物素的吸收,进一步证实生物素的吸收是依赖 Na\*的。Said 等(1997)根据自己的研究对生物素在结肠上皮细胞吸收的特性进行描述:①依赖温度和能量;②依赖 Na\*(偶合比为 1:1);③对浓

度具有饱和性(表观米氏常数 Km 为 19.7μM);④会被生物素结构相似物抑制(这些类似物的戊酸部分具有一个游离羧基);⑤会被泛酸竞争抑制,抑制常数为14.4μM。

大肠载体介导的生物素吸收特点与小肠的十分相似。后来的研究证实,小肠和大肠对生物素的主动吸收机制相同,介导生物素转运吸收的载体都是 SMVT。大肠生物素主动吸收机制的发现具有重要意义,表明人和动物是能够利用大肠微生物合成生物素的。

#### 1.3 生物素在其它组织中的转运机制

生物素在肠道吸收后进入血液循环,然后被运送到相应的组织。关于生物素在血液中的运输,目前存在两种不同的观点:McCormick 和 Olson(1984)指出,生物素在血浆中是以游离的水溶性形式运输的;而White(1985)则认为是生物素与生物素结合蛋白(BBP)结合的方式被转运的。

生物素从血液进入各组织细胞, 也是存在载体 (SMVT)介导的转运途径。因为 SMVT 广泛存在于各 种组织中,用克隆的 SMVT cDNA 作探针进行 Northern 杂交分析,在所测大鼠的肺、骨骼肌、心脏、脑、肾 脏、肝,人的心脏、脑、胎盘、肺、肝、骨骼肌、肾、胰均存 在 SMVT 的 mRNA (Prasad 等,1998; Wang 等,1999)。 但是,这方面的研究还不够深入,许多现象还不能得 到合理的解释。毫无疑问,SMVT作为生物素的转运载 体能够介导生物素从血液循环向各组织细胞的转运 吸收,然而在生理条件下与泛转运酸相比,SMVT不是 转运生物素的有效载体。因为,人血液中生物素浓度 范围为 0.5~2nM(Mock 等,1995),而生物素通过 SMVT 介导的转运过程的 Km 值约为 15μM, 在正常生理条 件下,SMVT从血液转运生物素进入各组织效率十分 低。但 SMVT 对泛酸转运的 Km 大约是 5µM,循环中 的泛酸浓度大约是 0.886~4.59µM, 所以, SMVT 对泛酸 吸收更为有效(Prasad 等,1998)。因此,SMVT 转运生 物素的过程会受到泛酸的强烈竞争抑制。关于肾脏 和肝脏等组织是如何从血液中有效地吸收大量生物 素,吸收过程中的调控机理如何以及是否还存在其它 吸收机制等,这些问题都还需要进一步深入研究。

#### 2 生物素转运载体的生理、生化特性

近年来的研究(Prasad 等,1998;Wang 等,1999)证实,小肠转运生物素的转运载体也是转运泛酸和硫辛酸的载体,并且这三种养分共用一个载体的现象也在其它部位如结肠、血脑屏障、心脏和胎盘细胞中存在,故将该载体命名为依赖 Na+的多维生素转运载体(SMVT)。

Said 等(1998)比较了 SMVT 三个底物——泛酸、 生物素、硫辛酸的三维结构。三者长侧链均含一个氨 基,泛酸的三维结构为β-双氨酸部分的氨基与泛解酸 部分的疏基间通过氢键联结成一个假环结构。通过研 究生物素类似物对转运载体的影响, 认为咪唑环第二 位的酮基是与转运体作用所必需。硫辛酸有还原和氧 化两种状态, 收集 SMVT cDNA 的转运资料, 用非线性 回归分析表明,两者均能抑制泛酸的摄取,但前者的效 果明显低于后者,氧化硫辛酸的 IC50 值 (致泛酸摄取 50%抑制的必需浓度)为(2.7±0.2)µmol/I,还原硫辛酸 为(7.31±0.8) µmol/I; 氧化型的亲和常数为(1.6±0.2)  $\mu$ mol/I,还原型为(4.4±0.5) $\mu$ mol/I。说明有环状结构的 氧化型硫辛酸对 SMVT 亲和力为还原型的 3 倍。以上 结果提示, 环状结构的氨基可能是与转运体结合所需 的结构。在泛酸、生物素、硫辛酸摄取的动力学分析中, 虽然 SMVT 在不同细胞中表达时它们的动力学常数值 不完全相同,但 SMVT 对不同底物的亲和力顺序表现 为泛酸>硫辛酸>生物素(Prasad 等,1998)。

#### 3 生物素主动吸收与转运的调控

生物素主动吸收过程会受到底物水平的调节 (Said 等,1989)。 生物素缺乏将导致吸收显著的上升,相反,小肠吸收就会出现明显的下降。这种调控是通过改变生物素吸收过程的  $V_{max}$  而不是改变表观 Km 实现的,也就是说这是通过改变生物素吸收系统中转运载体数量或活性而非表观亲和力实现的。

生物素主动吸收过程的调控存在特异的细胞内 蛋白激酶 C(PKC)介导的途径。Said 实验室在这个问 题上做了大量的工作,他们用人源培养的小肠上皮细 胞 Caco-2 作为肠细胞的体外模型,因为有研究已经 表明这个细胞系存在一个与天然肠细胞相似的生物 素吸收机制(Ma 等,1994)。将这些细胞在蛋白激酶 C (PKC) 的活化剂佛波醇 12-肉豆蔻酸酯 13-醋酸盐 (PMA)中预处理 1h,结果会导致 Caco-2 细胞吸收生 物素受到抑制,并且这种抑制作用具有明显的浓度效 应。同样,用 PKC 活化剂 1,2-二辛胺-sn-甘油(1,2dioctanoyl-sn-glycerol)预处理这些细胞也会导致对生 物素吸收的显著抑制。相反,用 PKC 的抑制剂 staurosporine 和白屈菜赤碱(chelerythrin)预处理 Caco-2 细胞,会刺激生物素的吸收。通过 PKC 的活化剂 PMA 预处理抑制生物素吸收的机制还不清楚,目前,只知 道这种抑制似乎是通过减少生物素载体的数量或活 性而不是降低其亲和力实现的。因为研究得到的动力 学指标反映出,用PMA 预处理会导致生物素吸收过 程的  $V_{max}$  显著降低,而 Km 几乎不变 [对照组和 PMA 预处理细胞的  $V_{max}$  分别是(255±33.3)、(157.6±15.3) pmol/(mg 蛋白质·3min),表观 Km 分别是(11.7±3.1)、(10.4±1.5) $\mu$ mol/l]。对大肠生物素吸收的研究也得到相同的结果。用蛋白激酶 C(PKC)的活化剂 PMA 和 1,2-二辛胺-sn-甘油预处理 NCM460 细胞,发现生物素的摄取也受到抑制;相反,PKC 的抑制剂 staurosporine和白屈菜赤碱(chelerythrin)会使生物素摄取增加,这说明生物素的吸收存在着 PKC 介导的调控途径。其中,PMA 抑制生物素吸收是通过显著降低吸收的  $V_{max}$ ,微小地增大表观 Km 来实现的。

Ca<sup>2+</sup>与钙调蛋白和蛋白激酶 A(PKA)介导的途径 在生物素主动吸收过程中具有调控作用。Said 实验室 也在这方面进行了研究,他们用 calmidazolium 和三 氟甲哌丙嗪(trifluoroperazin)抑制 Ca2+与钙调蛋白介 导的途径,结果发现生物素吸收受到抑制,这种抑制 作用也具有浓度效应。通过 calmidazolium 抑制生物素 吸收的机制还不清楚,似乎也主要是通过减少载体的 数量或活性实现的,而亲和力改变很少,因为实验发 现 calmidazolium (50μmol/I)降低了生物素吸收过程 的  $V_{max}$ , 而 Km 只有很小的变化[对照组和处理组的 V<sub>max</sub> 分别是 (214.27±15.18)、(94.8±5.4)pmol/(mg 蛋白 质·3min);表观 Km 分别是(12.2±2)、(9.2±1.4)μmol/l]。 同时,他们考查了同时用 PMA(1μmol/I)和 calmidazolium (50μmol/I)预处理 Caco-2 对生物素吸收的影 响。结果表明,这种处理对生物素吸收的抑制有加 性效应,用百分数表示其抑制率为:对照组、PMA 处理组、calmidazolium 处理组和 PMA+calmidazolium 处理组分别是 (100±6.5)%、(72.7±2)%、(59.6±9.9)% 和(28.9±12.3)%。而 PKA(蛋白激酶 A)介导的途径对 生物素转运的调控没有作用,对照组、1mmol/I的 3-异 丁基-1-甲基-黄嘌呤(IBMX)处理组、0.5mmol/I 联丁 酰基 cAMP 处理组、0.1mmol/l 毛喉素(forskolin,来自 毛喉鞘蕊花的一种 cAMP 酶抑制剂)处理组和 1.6μg/ml 霍乱毒素处理组对生物素的吸收率分别是 (100±1.9)%、 (101±5)%、(96.8±3)%、(107.5±6.2)%和 (97.7±6)%。说明 生物素吸收不存在 PKA 介导的途径。在大肠用 PKA 的 调节剂作同样的处理,生物素的吸收也不受影响,说 明大肠也不存在 PKA 介导的调控途径。

生物素主动吸收还受个体发育的调控,但这种调控存在组织差异性。Said 等(1988)研究并比较了不同日龄大鼠的空肠对生物素吸收的动力学特征。结果表明,大鼠在发育成熟过程中,空肠生物素转运载体的数量和转运能力在提高,但与生物素的亲和力却下降。Nabokina 等(2003)的研究也证实了生物素在小肠

的吸收确实存在这种调控机制,但同时在肾脏上的研究却没有发现这一现象。他们从未成年和成年大鼠肾脏皮层分离出 BBMV,并比较了这两种日龄大鼠的BBMV 对生物素的吸收特点。结果表明,生物素吸收过程的 Km 和 V<sub>max</sub>没有明显的年龄差异,SMVT 蛋白和其相应 mRNA 水平也没有差异。这说明肾脏对生物素转运吸收不存在个体发育的差异。

#### 4 生物素转运吸收的分子机制

生物素的吸收与 SMVT 的功能和特性是紧密联系的,对 SMVT 的分子特性进行深入研究,可以进一步阐明生物素吸收、转运机制。直到近几年,关于生物素在不同组织中转运吸收的特点几乎仅限于动力学特征研究和底物特异性分析,而就其分子机制的研究开展得较晚。Prasad 等(1998)从大鼠胎盘克隆出生物

素载体的 cDNA,标志着生物素转运和吸收的研究深入到了分子水平。

#### 4.1 SMVT 的分子特征

目前,还没有关于 SMVT 确切的蛋白结构报道,其结构多是通过克隆的 cDNA 推测而来。表 1 中总结了比较有代表性的研究。从表 1 可以看出,不同动物的组织克隆出的 SMVT 的 cDNA 序列的碱基数差异都不大,而其开放阅读框仅相差三个碱基对,因此,它们所编码的氨基酸的个数仅相差一个,分子量差异也不大。值得指出的是,从人胎盘克隆的 cDNA 所编码的氨基酸序列,在 11 位和 12 位跨膜区域之间有 4 个 N-连接糖基化位点,而其它则只含有 3 个。在各种细胞中表达后,其表达产物都具有 SMVT 的基本功能特征。

#### 4.2 SMVT 基因转录的调控

cDNA 来源	基因特征 -	编	码 AA 的特	<b></b>		:后特征	资料来源
CDNA 未你	<b></b>	AA 个数	分子量	跨膜区域	细胞类型	特征	贝科木你
大鼠胎盘	3 091bp,含 1 905bp 的开放阅读框	634	68.6kDa	12 个(3 个 N-连接糖 基化位点)	Hela 细胞	转运三种维生素;依赖 Na <sup>+</sup>	Prasad 等(1998)
人胎盘	3 162bp,含 1 908bp 的开放阅读框	635	68.7kDa	12 个(4 个 N-连接糖 基化位点)	人视网膜色素细胞	转运三种维生素;依赖 Na*;维生素: Na* 为 1:2; 生物素吸收呈 S 曲线	Wang 等(1999)
兔小肠	3 137bp,含 1 911bp 的开放阅读框	636	68.6kDa	12 个(3 个 N-连接糖 基化位点)	人视网膜色素细胞	转运三种维生素;依赖 Na+;转运过程产电	Prasad 等(1999)

表 1 由 cDNA 推测的 SMVT 的分子特征

关于 SMVT 基因转录的调控,也有初步的研究。Chatterjee 等(1999)从大鼠小肠克隆出了 SMVT 的 cDNA,将其在大鼠小肠中转录表达后发现了 4 种不同的转录产物(Variant II、II、III、IV)。在一般条件下,这 4 种转录产物的表达存在组织特异性,比如: Variant II 是 SMVT 基因在大肠、小肠的表达产物蛋白存在的主要形式,在大脑、肺和胃中没有发现 Variant II,而

其在肾和肝中能完全得以表达;Variant I 主要在胎盘中被发现。由于不同转录 RNA 的发现,提示 SMVT 基因的转录可能是多启动子驱使的。为了验证这个推测,Chatterjee 等(2001)利用染色体徒步法(genome-walking)克隆并研究了 SMVT 基因的 5' 端非编码区,发现三个启动子(P1、P2 和 P3)被四种转录变异体的外显子分隔(见图 1)。

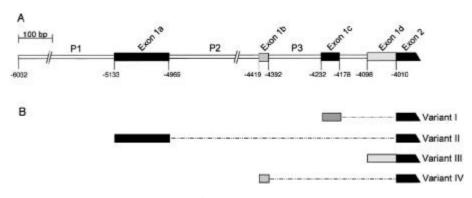


图 1 SMVT 基因的 5' 端非编码区结构

P1 含多个调节区,包括一些重复的富嘌呤区和 2 个 TATA 样成分,如 CATA-1、AP-1、AP-2、C/EBP;P2 与 P3 富含 GC,提示了存在许多与 SP-1 序列一致的调节成分。另外,对这三个启动子的功能活性进行了测定,其顺序为 P1>P2>P3。

人 SMVT 基因的 5' 端非编码区也被克隆出并鉴别出两个启动子(P1和P2),这两个启动子都具有多个调控区(如AP1、AP2、C/EBP、SP1、NF1和GATA)。这些调控区都富含 GC,而 TATA和 CAAT 很少。将其在人源肠上皮 Caco-2细胞中转染,利用萤火虫荧光素酶受体基因分析测定各启动子的活性和其基本活性所必需的最小区段,结果表明,P1基本活性所必需的最小区段是被从-5846到-5313(相对于翻译起始密码子)的一段序列所编码;而P2则是被从-4417到-4244(相对于翻译起始密码子)的一段序列所编码。到目前为止,SMVT基因转录调控中,这些调控区域的潜在作用的研究还未涉及。对于SMVT的分子特性与生物素吸收的分子机制,还有待更多深入细致地研究来进一步阐明。

#### 5 生物素转运载体的新发现

Zempleni 和 Mock(1998)在研究外周血液单核细 胞摄取生物素的特征时,发现一个有别于 SMVT 的生 物素转运体。该转运体的 Km 值约为 2.5nM,这个 Km 很适合血液中生物素的浓度水平,并且这个转运体是 生物素特异的,实验没有发现其介导泛酸和硫辛酸吸 收的能力。Zempleni 和 Mock(1999)指出,外周血液单 核细胞增殖时生物素摄入量会增加 5 倍。Zempleni 和 Mock(2000)研究发现,这个生物素转运体是免疫细胞 在丝裂原诱发的增殖时被诱导产生的,这与细胞增殖 时生物素需要量增高是相适应的。然而,SMVT 也会 在免疫细胞中表达,因此他们认为,在正常情况下当 需要 SMVT 在这些细胞中介导泛酸的摄取时,这个新 发现的载体在生物素摄取过程中占主导地位。 Mardach 等(2002)发现外周血液单核细胞出现生物素 转运缺陷的患者,其 SMVT 的功能未发生明显的缺 陷,这进一步证实在免疫细胞中存在与 SMVT 不同的 转运生物素的特异性转运载体。Grafe 等(2003)在人 的角化细胞上也发现了这个生物素特异性转运载体。 作者指出这个转运载体在细胞摄取生物素过程中可 能起主导作用,因为生物素缺乏症的临床表现首先出 现在皮肤和毛发上,生物素的这个吸收途径是与之相 适应的。同时, Grafe 还认为如果人们使用了加有大量 生物素的皮肤外用药物和化妆品,皮肤可能会通过这 个载体的转运而吸收生物素。但是这还缺乏实验依 据。事实上,仅根据目前研究得到的动力学指标我们还很难判断这个转运体究竟是完全有别于 SMVT,还是 SMVT 基因的又一种转录产物。要搞清这些问题,还需要开展大量深入细致地研究,尤其是在分子水平的研究。

目前,还没有关于在其它组织细胞中发现与 SMVT不同的生物素转运体的报道,但这并不能说明 其它组织细胞生物素的吸收只存在 SMVT 介导的转 运途径。随着研究的深入,可能还会发现生物素吸收 的其它机制。

#### 6 结语

生物素是动物机体正常代谢所必需的一种水溶 性维生素,在动物肠道被载体 SMVT 转运吸收进入血 液循环。生物素从血液中进入许多组织细胞可能也 是通过 SMVT 转运的,因为在许多组织都发现 SMVT 的存在。对 SMVT 从分子水平进行深入细致地研究, 可以帮助人们考虑从分子水平调控生物素的吸收, 对预防生物素缺乏有重要现实意义。例如,有人报道 一些需生物素的多羧化酶缺陷病例就被怀疑是生物 素转运的缺陷 (Baumgartner 等, 1982; Thoene 等, 1983), 但还不清楚是基因还是染色体位置问题, SMVT 在这些病人中很可能缺乏,对此尚需作深入研 究。Ramanathan 等(2001)利用 SMVT 对底物吸收的特 异性,将肽分子R、I、-K-Tat9的结构改变为R、I、-K (生物素)-Tat9 后,能明显提高肠道对这种肽的吸收。 然而,SMVT作为生物素、泛酸和硫辛酸的共同转运载 体,在生理条件下对生物素的转运能力远远不如对泛 酸和硫辛酸 (SMVT 对这三种维生素的亲和力为泛 酸>硫辛酸>生物素),而后来在血液单核细胞和角化 细胞上又发现了不同于 SMVT 的生物素特异性载体。 这些都提示了人们机体还存在生物素转运吸收的其 它机制,生物素吸收与调控的机制还有待进一步深入 细致地研究。

#### 参考文献

- Barth CA, Frigg M,Hogemeister H.Biotin absorption from the hindgut of the pig. J. Anim. Physiol.Anim.Nutr.,1986,55:128~134
- 2 Baumgartner R, Suormala T, Wick H, Geisert J, LehnertW. Infantile multiple carboxylase deficiency:evidence for normal intestinal absorption but renal loss of biotin. Helv. Paediatr. Acta, 1982, 37:49~ 502
- 3 Beinlich CJ, Naumovitz RD, Song WO, Neely JR. Myocardial metabolism of pantothenic acid in chronically diabetic rats. J. Mol. Cell. Cardiol., 1990,22:32~332
- 4 Berger EE, Long, G. Semenza. The sodium activation of biotin absorption in hamster small intestine in vitro. Biochim. Biophys. Acta, 1972,225:887
- 5 Bonjour JP.Biotin. In: Handbook of Vitamins; Nutritional Biochemical

- and Clinical Aspects, edited by L. J. Machlin. New York: Dekker,  $1984,400\sim435$
- 6 Brown BB, Rosenberg J.H.Biotin absorption by distal rat intestine. J. Nutr, 1987,117:2 121~2 126
- 7 Burkholder PR, McVeigh I. Synthesis of vitamins by intestinal bacteria. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A, 1942, 28:285~289
- 8 Chatterjee NS, Kumar CK, Ortiz A, Rubin SA, Said HM. Molecular mechanism of the intestinal biotin transport process. Am. J. Physiol. Cell Physiol, 1999, 277:605~613
- 9 Chatterjee NS, Rubin SA, Said HM.Molecular characterization of the 5' regulatory region of rat sodiumdependent multivitamin transporter gene. Am. J. Physiol. Cell Physiol, 2001, 280:548~555
- 10 Cousins RJ. A role of zinc in the regulation of gene expression. Proc. Nutr.Soc., 1998, 57:307~311
- 11 Dakshinamurti K,J Chauhan.Regulation of biotin enzymes. Annu. Rev. Nutr., 1988, 8:211~233
- 12 Dakshinamurti K, Litvak S. Biotin and protein synthesis in rat liver. J. Biol.Chem, 1970, 245:5 600~5 605
- 13 Grafe F,Wohlrab W, et al.Transport of biotin in human keratinocytes. Journal of Investigative Dermatology,2003,120:428~433
- 14 Grassl SM.Human placental brush -border membrane NaC -pantothenate cotransport. J. Biol.Chem., 1992, 267:22 902-22 906
- Krause KH, P Berlit, JP Bonjour. Impaired biotin status in anticonvulsant therapy. Ann. Neurol., 1982,12:485-486
- 16 Kopinski JS, Leibholz J, Love RJ. Biotin studies in pigs. 5. The post-ileal absorption biotin. Br. J. Nutr., 1989, 62:781–789
- Mardach R, Zempleni J, Wolf B, CannonMJ, Jennings ML, et al. Biotin dependency due to a defect in biotin transport. J. Clin. Invest.2002, 109:1 617~1 623
- 18 McCormick DB, Olson RE.Biotin. Olson RE.eds.Present Knowledge in Nutrition 5th ed Chap. The Nutrition Foundation Washington, D.C. 1984.25:365~376
- 19 Mock DM, Lankford GL, Mock NI. Biotin accounts for only half of the totalavidin-binding substances in human serum. J.Nutr, 1995, 125:941-946
- 20 Nabokina SM, Subramaniam VS, Said HM.Comparative analysis of ontogenic changes in renal and intestinal biotin transport in the rat.Am.J.Physiol.Renal Physiol, 2003, 284:737~742
- 21 Prasad PD, Wang H,Kekuda R,Fujita T,Fei YJ,et al.Cloning and functional expression of a cDNA encoding a mammalian sodium dependent vitamin transporter mediating the uptake of pantothenate, biotin, and lipoate. J.Biol. Chem, 1998, 273:7 501~7 506
- 22 Prasad PD, Wang H, Huang W, Fei Y, Leibach FH, et al. Cloning and functional characterization of the intestinal Na + -dependent multivitamin transporter.Arch.Biochem.Biophys, 1999, 366: 95~106
- 23 Ramanathan S,Pooyan S,Stein S,et al.Targeting the sodiumdependant multivitamin transporter (SMVT)for improve the oral absorption properties of a retro-inverso Tat nonapeptide. Pharm Res, 2001, 18:950~956
- 24 Said HM, Redha R. A carrier -mediated system for transport of biotin in rat intestine in vitro. Am. J. Physiol., 1987, 252:52~55
- 25 Said HM, Redha R., Nylander W.A carrier-mediated, Na<sup>+</sup> gradient dependent transport for biotin in human intestinal brush border membrane vesicles. Am. J. Physiol, 1987, 253:631~636
- 26 Said HM, Redha R., Nylander W. Biotin transport in basolateral membrane vesicles of human intestine. Gastroente - rology, 1988. 94:1 157~1 163
- 27 Said HM, Derweesh I.Carrier -mediated mechanism for biotin transport in rabbit intestine -studies with brush -border membrane

- vesicles. Am. J. Physiol, 1991, 261:94~97
- 28 Said HM.Movement of biotin across the rat intestinal basolateral membranestudies with membrane vesicles. Biochemistry, 1991, 279: 671~674
- 29 Said HM,Dyer DL,McCloud E,Ortiz A,Moyer MP.A Na\*-dependent, carrier -mediated system for the uptake of the water -soluble vitamin biotin by human normal colonic epithelial cell line, NCM 460. Gastroenterology,1997,112:903
- 30 Said HM, Ortiz A, McCloud E, Dyer D,Moyer MP, Rubin S. Biotin uptake by human colonic epithelial NCM460 cells: a carrier – mediated process shared with pantothenic acid. Am. J. Physiol, 1998,275:1 365~1 371
- 31 Said HM.Cellular uptake of biotin:mechanisms and regul ation. J. Nutr, 1999, 129:490~493
- 32 Sorrell M.F.,Frank O.,Thomson A.D.,Aquino H.,Baker H.Absorption of vitamins from the large intestine in vivo. Nutr. Rep. Int, 1971, 3: 143~148
- 33 Said HM, Mock DM, Collins JC.Regulation of biotin intestinal transport in the rateffect of biotin deficiency and supplementation. Am. J. Physiol, 1989, 256:306~311
- 34 Said HM, Redha R.Biotin transport in rat intestinal brush border membrane vesicles. Biochim. Biophys. Acta, 1988, 945:195-201
- 35 Spector R, Mock D. Biotin transport through the blood brain barrier. J.Neurochem, 1987, 48:400~404
- 36 Spencer RP, Brody K .Biotin transport by small intestine of rat, hamster, and other species. Am.J. Physiol, 1964, 206:653-657
- 37 Sweetman L, Nyhan WL.Inheritable biotin-treatable disorders and associatedphenomena. Annu. Rev. Nutr, 1986, 6: 314-343
- 38 Thoene J, Wolf B. Biotinidase deficiency in juvenile multiple carboxylase deficiency [letter]. Lancet, 1983, 2:398
- 39 Wang H,Huang W,Fei YJ,et al.Human placental Na \*-dep en de nt multivitamin transporter.Cloning, functional expression, gene structure, and chromosomal localization. J Biol Chem, 1999. 274 (21):14 875~14 883
- 40 Watanabe, T. Teratogenic effect of biotin deficiency in mice. J. Nutr., 1983, 113:574–581
- 41 White HB.Biotin-binding proteins and biotin transport to oocytes. Ann N Y Acad Sci., 1985, 447:202-211
- Wolf B, Heard GS, Jefferson LG, Proud VK, Nance WI, eta. Clinical findings in fourchildren with biotinidase deficiency detected through a statewideneonatal screening program. N. Engl. J. Med.1985,313:16~19
- 43 Wolf B,Heard G, McVoy JRS, Raetz HM.. Biotinidase deficiencythe possible role of biotinidase in the processing of dietary protein bound biotin. J. Inherit.Metab. Dis, 1984,7(2):121-122
- 44 Wrong OM,Edmonds CJ, Chadwick VS.Vitamins.In: The LargeIntestine: Its Role in Mammalian Nutrition and Homeostasis. Wiley and Sons, New York, NY. 1981.157~166
- 45 Zempleni J,Mock DM. Uptake and metabolism of biotin by human peripheral blood mononuclear cells. Am. J. Physiol,1998,275: 382~388
- 46 Zempleni J, Mock DM. Human peripheral blood mononuclear cells: inhibition of biotin transport by reversible competition with pantothenic acid is quantitatively minor. J. Nutr. Biochem, 1999, 10:427-432
- Zempleni J, Mock DM. Mitogen -induced proliferation increases biotin uptake into human peripheral blood mononuclear cells. Am. J. Physiol, 1999, 276:1 079~1 084

(编辑:王 芳,xfang2005@163.com)

## 浅折精胺的研究进展及应用前景

王 猛

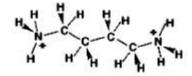
摘 要 对精胺的代谢调节、生物学功能以及对消化道的调节作用等各方面的研究进展作了综述,浅析了精胺在动物营养上的应用前景,并对精胺今后的研究方向以及存在的问题作了探讨。精胺对消化道黏膜上皮细胞正常生长发育以及在对损伤的适应与修复过程中起重要作用,精胺的发现与应用为促进仔猪小肠细胞增殖和胃肠道发育的研究提供了一个新的思路。

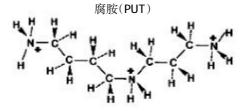
关键词 精胺;仔猪;肠黏膜上皮细胞;断奶综合症中图分类号 S816.15

精胺(spermine, SPM)是多胺(polyamine)的一种, 是生物代谢过程中产生的具有生物活性的低分子量 脂肪族含氮碱。精胺在生物体内含量不高,却是微生 物、动物及人体合成核酸和蛋白质所必需的一种调控 物质。凡生长旺盛的组织,如胎肝、幼仔胃肠道及癌肿 中,都伴有精胺合成和分泌的明显增加,并且先于 DNA、RNA 及蛋白质的合成。精胺的大部分生物功能 是建立在与 DNA、RNA、蛋白质及带负电的膜成分之 间静电反应的基础上的。近年来,许多试验研究表明, 精胺对动物肠道细胞的增殖和损伤的修复有重要作 用,适宜剂量的精胺能促进幼仔动物胃肠道生理生化 指标达到成年动物水平。仔猪断奶前期,肠道仍处于 发育阶段,各项生理、生化指标尚不完善,而断奶过程 中所遭受到的各方面应激恶化了这种内在的生理状 态。通过在仔猪日粮中添加或口服精胺,有望解决生 产中所面临的"仔猪断奶综合症(early weanling syndrome, EWS)"问题。

#### 1 精胺的合成与代谢

精胺化学名为[N,N-双-3 丙氨基]-1,4-双胺,分子式 H<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH<sub>2</sub>,分子量 202.3。生物体内包括精胺在内的多胺都以多价正离子形式存在(见图 1)。多胺来自以下几个途径:①母乳和日粮(母乳中含有多胺;植物组织中,特别是豆科类植物中精胺含量较其它植物种类高);②胃肠道的分泌;③组织中脱落的细胞;④肠道内微生物的合成。外源性多胺和内源性多胺共同发挥体内多胺的生物学功能。





精脒(SPD)

精胺(SPM)

图1 多胺的正离子形式

生物体内存在着一套完整的机制以调节多胺的浓度并维持多胺池的动态平衡,包括多胺的从头合成、逆向互变、吸收、降解、排泄等环节。

#### 1.1 精胺的代谢途径

多胺的代谢可分为两个主要途径: 互变途径 (polyamine interconversion) 和终末代谢途径(terminal degradation of polyamines)。

#### 1.1.1 精胺的互变途径(见图 2)

精胺的前体是 L-鸟氨酸(L-ornithine)和 L-蛋氨酸(L-methionine)。L-鸟氨酸在鸟氨酸脱羧酶(ornithine decarboxylase,ODC) 催化下脱羧生成腐胺,腐胺在精胀合成酶的作用下经过一次丙胺基转移反应生成精胀,精胀在精胺合成酶的作用下再经过一次丙胺基转移反应生成精胺。L-蛋氨酸经 L-蛋氨酸腺苷转移酶

王猛,武汉工业学院饲料科学系,430023,湖北省武汉市 汉口常青花园。

收稿日期:2006-03-21

催化生成 S-腺苷蛋氨酸(SAM),后者再经 S-腺苷蛋氨酸脱羧酶(S-adenosylmethionine Decarboxylase SAMDC) 生成脱羧的 S-腺苷蛋氨酸(dcSAM),为精脒和精胺的合成提供丙胺基(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>)。

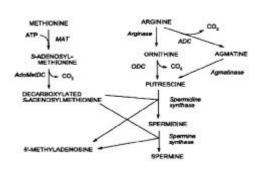


图 2 精胺的互变途径

#### 1.1.2 终末代谢途径

精胺经精胺乙酰转移酶、精脒乙酰转移酶 (spermine、spermidine Acetyltransferase, SSAT) 和多胺氧化酶(Polyamine Oxidase, PAO)及其它胺氧化酶,逆向互变逐步降解为精脒、腐胺,而腐胺由氧化酶生成氨基丁酸,最后生成胺离子和二氧化碳排出体外。

#### 1.2 精胺代谢的调节

体内多胺水平受各种代谢酶及其抑制物的调控,在多胺合成途径中共有 4 个酶参与,即 2 个脱羧酶(ODC 和 SAMDC)和 2 个丙胺基转移酶(精脒合成酶和精胺合成酶)。两种脱羧酶在动物细胞内含量较低,半衰期很短,且极易诱导,是多胺合成的关键酶,丙胺基转移酶在细胞内的含量相对高得多。ODC 是多胺合成的限速酶,其活性依赖于磷酸吡哆醛,半衰期在 10~30min。许多刺激细胞生长和分裂的激素和药物(如谷氨酰胺,Gln)刺激细胞后,其酶活性可增大 1 000 倍,停止刺激后又可迅速降低至正常水平。其中,Gln 刺激 ODC 活性上升还需要表皮生长因子(EGF)的辅助,提示谷氨酰胺和表皮生长因子可增强精胺的生物学功能。

#### 2 精胺促进细胞增殖的机理

精胺被许多学者认为是细胞的启动剂,与细胞的增殖、分化和凋亡有关,并能强烈影响细胞 DNA、RNA 和蛋白质的代谢。体外试验表明,精胺与细胞周期(见图 3)关系密切,细胞从 G<sub>1</sub> 期进入 S 期时,需要一定浓度的精胺。细胞受促有丝分裂剂刺激后,精胺浓度先于 DNA、RNA 和蛋白质合成增加而增高,从细胞 G<sub>1</sub> 期到有丝分裂期间,细胞内腐胺、精脒和精胺的含量都逐步增加。

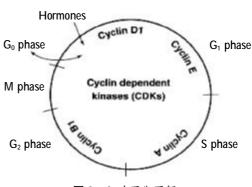


图 3 细胞周期图解

精胺特有的结构决定了其在促进细胞增殖和分化中的作用。由精胺的分子式可见,在生理 pH下,精胺裸露的 4 个氮原子空轨道具有强烈的亲和电子作用,所以精胺带有高密度的正四价阳离子。带阳离子的 N 原子可以与多价阴离子的生物大分子(DNA、RNA等带有负电荷的磷酸基团)以次丙基部分把相同链上相邻的磷酸基团连接起来,连接核酸分子双螺旋链之间的小沟,形成稳定的双螺旋结构,这称之为"ion-bridging"模型作用。精胺通过"ion-bridging"可以对 DNA 起浓缩作用,形成圆柱形超螺旋结构,可以使 DNA 抵抗 DNA 酶(Dnase)的作用,增加 DNA 合成的起始效率和合成过程的专一性。

包括精胺在内的多胺都具有促进细胞增殖的作用,只是由于3种多胺的阳离子效价不同,而作用程度不同。有学者通过体外 DNA 融解曲线证明,精胺更适合与 DNA、RNA 的磷酸基团结合,使遗传大分子的空间结构更加稳定。

#### 3 精胺对小肠的调节作用

对幼龄动物而言,肠道处于发育成熟的初期,肠上皮细胞快速增殖,周转代谢率高,细胞代谢机能亢奋。小肠上皮细胞内精胺含量较高,且随细胞的生长和分化,其含量逐渐增高。小肠隐窝细胞是具有增殖潜能的未分化肠上皮干细胞,是成熟上皮细胞的前身。隐窝细胞增殖、分化、迁移,是小肠黏膜正常自我更新或黏膜损伤后进行修复的主要的生理、病理学基础。鸟氨酸脱羧酶和精胺在这一过程中起着十分重要的作用。有试验证明,口服适量(3~8µmol/d)精胺能促进 9~14 日龄的幼龄动物小肠生理生化指标达到 21~36 日龄的水平。

#### 3.1 小肠细胞的增殖、分化与迁移

哺乳动物的各器官中小肠黏膜上皮细胞更新最快,它属于单层柱状上皮细胞,表面有许多细小的肠绒毛(intestinal villus)。绒毛根部的上皮下隐至固有层

形成管状的小肠腺(small intestinal gland),又称肠隐窝(intestinal crypt)。绒毛部上皮由吸收细胞、杯状细胞和少量内分泌细胞组成,小肠腺上皮除上述细胞外,还有潘氏细胞和未分化细胞。绒毛表面的吸收细胞游离面在光镜下可见明显的纹状缘,电镜观察表明它是由密集而规则排列的微绒毛构成。微绒毛表面上有一层厚 0.1~0.5μm 的细胞衣,它是吸收细胞产生的糖蛋白,内有参与消化碳水化合物和蛋白质的双糖酶和肽酶,并吸附有胰蛋白酶、胰淀粉酶等,细胞衣是消化吸收的重要部位。

小肠黏膜基底隐窝是细胞增殖的能量库,小肠黏膜的所有上皮细胞被认为来自位于隐窝底部的干细胞。小肠干细胞是一种未分化细胞,能够自我稳定和分化成几种不同的子细胞系。干细胞是自我复制还是分化成为功能细胞取决于所在的微环境和干细胞本身的状况。所谓的微环境包括干细胞与周围细胞,干细胞与细胞外基质以及干细胞与各种可溶性因子的相互作用;而干细胞本身的因素包括了调节细胞周期的各种周期素(cyclin)和周期素依赖激酶(cyclindependent kinase),基因转录因子以及影响细胞不对称分裂的细胞质因子和细胞器官等。精胺的生物合成可能在调节周期素和周期素依赖激酶以及基因转录因子方面具有重要作用。

隐窝内细胞的分化能力与位置有关,越往上细胞 增殖能力越小, 反之越向底部细胞分化增生能力越 强。隐窝上部的细胞寿命大约 2~3d,可通过细胞 S 期 标记计算隐窝内细胞迁移率和细胞位置的变化,推算 出小肠隐窝内细胞迁移的起源在第4个位置(从底部 起).为小肠干细胞锚着点。小肠干细胞增殖分化以不 对称分裂和对称分裂两种方式进行,而采取何种方式 则取决于组织内部微环境增殖后的暂短扩增细胞 (TAC), 干细胞将迅速分化为5种不同表型的细胞: 即潘氏细胞、杯状细胞、内分泌细胞、M细胞和肠吸 收细胞。除潘氏细胞向下迁移至隐窝底部外,其它细 胞均以排挤的方式沿隐窝-绒毛轴向绒毛端迁移。随 着这些细胞向绒毛端迁移,它们失去了进入细胞周期 的 DNA 合成期(S期)的能力,不再增殖。细胞迁移出 隐窝后便逐渐分化,开始表达成熟细胞的功能性基因 产物,如碱性磷酸酶、蔗糖酶、乳糖酶等。已经分化的 或正在分化的肠上皮细胞继续沿绒毛表面迁移,最后 达到绒毛顶端, 然后发生凋亡或被排挤出进入肠腔。 肠上皮的更新通过细胞的增殖—迁移—分化—凋亡 这一连续的生物学过程得以实现,从而维持肠上皮细 胞结构和功能的完整性。

#### 3.2 精胺促进幼龄动物小肠成熟的效果研究

对精胺促进小肠成熟的主要指标有以下几个方面:①小肠的重量和单位长度的肠黏膜重量。②小肠各项生理生化指标,包括肠道 pH 值、渗透性、二糖酶活性、肽酶活性、蛋白质总量、DNA 和 RNA 含量、mRNA 表达等指标。③肠道组织学检验,包括小肠各部位的显微检验和小肠远端的透射电镜检验。④小肠免疫功能发育。通过测定小肠免疫细胞的发育,揭示精胺对小肠发育的影响。⑤血浆激素水平检验。测定各激素的水平,寻找精胺可能通过促进激素的释放而促进小肠成熟的非直接途径。

Dufour 等(1998)在出生后第 12d 的大鼠上试验,通过每天两次口服精胺(6μmol/d),连续 3d,到第 15d 宰杀大鼠。测定肠道生理生化指标,数据显示:口服精胺使大鼠第 15d 的小肠发育指标、蛋白浓度、DNA 浓度、二糖酶水平和 3 种多胺浓度与正常发育到第 36d 的大鼠相似,表明精胺促进了肠道的提前成熟,且这种效果比口服 6μmol/d 的精脒更好。这与 Hou 等(2001)体外试验显示的精胺效果优于精脒和腐胺的一致。

But 等(1993) 在出生后第 10d 的哺乳大鼠上试 验,分别口服精胺 0.2、0.5、1.0、2.5 和 5.0 \( \mu \text{mol/d} \),连续 口服 4d 后,第 14d 宰杀大鼠,测定肠道生理、生化指 标发现:口服 5.0µmol/d 精胺比口服生理盐水的对照 组十二指肠单位长度的肠黏膜重量提高 12%~57% (P<0.05);麦芽糖酶活性提高了 177%(P<0.01);氨基 肽酶活性提高了 54%(P<0.01);蔗糖酶活性提高了 66 倍(P<0.01): 乳糖酶降低了 57%(P<0.02): 肠道酶活性 指标达到第 20d 正常哺乳大鼠的水平;肠绒毛和隐窝 的分泌型免疫细胞(SC-IgG)的数量分别提高 19 倍和 3.6 倍。血浆激素水平检验显示,对照组检验不出肾上 腺皮质激素,而口服 5.0µmol/d 精胺组检出了高含量 的肾上腺皮质激素,证明精胺诱导了肾上腺皮质激 素的释放,提示精胺可能通过促进肾上腺皮质激素的 提早释放途径,促进肠道成熟。试验组间各项生理生 化指标比较显示, 当精胺剂量高于 2.5μmol/d 时, 这种 肠道提前成熟更显著,表明精胺的作用效果有剂量依 赖性。

#### 4 精胺在动物营养上的研究

多胺的研究主要集中在医学研究领域,特别是在临床医学和癌症学上的研究已经趋于成熟。相对而言,在动物营养上的研究,无论从数量上还是研究的

深度和广度上都还十分滞后,在仔猪上的研究更是少之又少。

到目前为止,精胺在动物营养上使用的研究,只有一篇在肉鸡上的饲养试验报道(Sousadias等,1995)。试验结果显示,在120周龄的成年公鸡日粮中分别添加0.2%、0.4%、0.6%、0.8%和1.0%的高浓度精胺,饲养14d,0.6%、0.8%和1.0%试验组死亡率分别为25%、50%和60%。在同样试验条件下,添加0.0375%、0.075%和0.100%的精胺,除0.0375%试验组饲料转化效率有所改善外,其它试验组的各项生长指标与对照组相比无显著差异。本试验提示,高浓度精胺对成年鸡有严重的毒害作用,适宜浓度的精胺才能发挥其在动物体内的正常生物学功能。寻找精胺在日粮中适宜的添加量是其应用中需解决的首要问题。美国一家营养和食品研究机构以大鼠为研究对象,测定了精胺的急性和亚急性中毒剂量,得出结论,未产生不利影响的精胺水平为每天每千克体重19mg。

精胺对消化道黏膜上皮细胞正常生长发育以及在对损伤的适应与修复过程中有重要作用,精胺的发现与应用为促进仔猪小肠细胞增殖和肠道发育的研究提供一个新的思路。但精胺在仔猪上的应用还属于一个新的技术,要想取得良好的效果,必须解决好以下几个问题:①精胺在肠道和内脏组织中的代谢;②外源性精胺对体组织内多胺代谢的影响;③精胺使用的最佳添加时间和最佳延续时间;④精胺在仔猪日粮中的最佳添加水平;⑤精胺与其它活性物质(Gln和EGF)协同作用效果和机制的研究。总之,精胺的研究与开发将为我国仔猪生产开辟一条新的途径,为养猪业带来一个新的突破。

#### 参考文献

- 1 Pegg A.E., McCann P.P. Polyamine metabolism and fun ction. Am. J.Physiol.1982
- 2 Pegg A.E. Polyamine metabolism and its importance in neo- plastic growth and a target for chemotherapy. Cancer Res, 1998
- 3 Seiler N.,Delcros J.G. and Moulinox J. P. Polyamine transport in mammalian cells. An update.Int.J.Biochem.Cell Biol,1996
- 4 Dufour C,Dandrifosse G,Forget P, et al. Spermine,Spermidine induce intestinal maturation in the rat. Gastroenterology,1988
- 5 Kaouass M, Sulon J, Deloyer P, et al. Spermine induced preocious intestinal maturation in suckling rats:Possible involvement of glucocorticoids. J Endocrinol, 1994
- 6 Peulen O, Prilet C,Klimek M, et al.Comparison between the natural postnatal maturation and the spermine-induced maturation of the rat intestine. Arch Physiol Biochem, 1998
- 7 Romain N,Gesell M S,Leroy O,et al.Effect of Seprmine administration on pan-creatic maturation in unweaned rats. Comp Biochem Physiol A,1998
- 8 Cera K R, Mahan K C, Gross R F, et al. Effect of age, weaning and postweaning diet on small intestinal growth and jejunal morphology in young swine. J Anim Sci., 1998
- 9 Pluske J R Factor influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig:a review .Liv prod sci., 1997
- Miller B G Effect of weaning on the capacity of pig intestinal villi to digest and absorb nutrients. J Agric Sci., 1986
- 11 Thomas T and Thomas T.J. Polyamines in cell growth and cell death:molecular mechanisms and therapeutic applications. CMLS. Cell.Mol.Life Sci., 2001
- 12 顾宪红.断奶日龄对仔猪肠黏膜形态的影响.畜牧兽医学报,2001
- 13 侯永清,周毓平.仔猪断奶后生理机能紊乱和代谢调控, 1997
- 14 程忠刚.多胺的研究进展.饲料研究,1998
- 15 程志斌,李德发,等.浅析仔猪早期断奶综合症与精胺在仔猪生产中的应用前景.粮食与饲料工业,2005

(编辑:刘敏跃,Im-y@tom.com)

#### ・信息采撷・

## 如何识别放心肉、劣质肉、病害肉

1. 放心肉 放心肉是指经当地政府确定的定点屠宰厂(场)宰杀,并经过宰前检疫、宰后检验,确认健康无病的畜禽肉。鲜猪肉皮肤呈乳白色,脂肪洁白且有光泽。肌肉呈均匀红色,表面微干或稍湿,但不粘手,弹性好,指压凹陷立即复原,具有猪肉固有的鲜、香气味。正常冻肉呈坚实感,解冻后肌肉色泽、气味、含水量等均正常无异味。

2.劣质肉 饲料所致的劣质肉有废水或药等气味;病理所致的有油脂、粪臭、腐败、怪甜等气味。种用公母猪肉肌肉较红,结缔组织多,韧性大,不易煮烂或炒熟,口感差。注水肉呈灰白色或淡灰色、淡绿色,肉表面有水浸出,手指触摸肉表面不粘手。冻猪肉解冻后有大量淡红色血水流出。

3.病害肉 病害肉包括染有传染性疾病、普通病和寄生虫病的猪肉。传染性病害肉胴体皮肤分别有不同形状的疹块、斑点,呈红色、淡白色、灰白色;肌肉暗红,脂肪带血,脏器有不同肿胀、出血点等。寄生虫病肉如囊虫肉,在肌肉、脏器甚至脂肪有大米粒至豆粒大小半透明囊泡,内有乳白色米粒大小的头节。死猪肉,胴体皮肤淤血呈紫红色,脂肪灰红,血管有黑色凝块,因死亡时间长短不同,臭味也不同。

## 饲料中添加铜对生长猪血液中含铜酶活性的影响

#### 郑 鑫 王玉琳 杨连玉 李家奎 刘国文 付本懂 王 哲

摘 要 通过饲料中添加铜的饲养试验,检测铜对血液中含铜酶——铜蓝蛋白和铜锌超氧化物歧化酶(CuZn-SOD)的影响,探索铜在促生长过程中发挥抑制氧化还原作用的内在机理。试验结果表明:在饲料中添加一定浓度的铜,能够显著提高血液中铜蓝蛋白的活性;不同铜源和浓度,对 CuZn-SOD 活性影响不明显;适宜浓度的铜可能通过上调血液中铜蓝蛋白的活性来发挥其增加机体抗氧化能力的生理作用,为机体提供稳定的内在环境。

关键词 猪;铜蓝蛋白;铜锌超氧化物歧化酶中图分类号 S816.32

铜是人类和动物机体必需的微量元素之一,不仅参与动物体内蛋白质、脂肪、碳水化合物和维生素等营养物质的代谢,而且也是体内多种酶的组成成分,对维护动物正常生理机能至关重要。已知动物体内的含铜酶有十几种,其中比较重要的含铜酶有铜蓝蛋白和铜锌超氧化物歧化酶等<sup>11</sup>。

铜蓝蛋白(ceruloplasmin)是一种存在于所有脊椎 动物血清中携带 95%以上铜的 α<sub>2</sub>-糖蛋白唾液酸酶,分子量大约 132kD,属于多核铜蓝氧化酶家族。铜蓝蛋白还是一种具有抗氧化性,能强有力地抑制脂类自身氧化、清除体内自由基的蛋白,是细胞外液中重要的抗氧化剂<sup>[2]</sup>。铜蓝蛋白主要由肝细胞合成并分泌进入血液,被输送到全身组织发挥各种生理功能。

铜锌超氧化物歧化酶(Cuprozinc-Superoxide Dismutase CuZn-SOD)是需氧生物体内数千种酶中,唯一以氧自由基为底物的酶。CuZn-SOD 是动物体内一种重要的氧自由基清除剂,对机体的氧化与抗氧化平衡起着至关重要的作用,它们能清除超氧阴离子,保护细胞免受损伤,抑制氧化还原副产物及过氧化物离子,使机体免受损害。铜是 CuZn-SOD 的辅助因子和调节因子[3.4]。

为了明确含铜酶与铜促生长作用关系,通过生长 猪饲养试验观测了高铜日粮对血液中含铜酶活性的

郑鑫,吉林大学农学部畜牧兽医学院,博士,130026,吉林 长春。

王玉琳,辽宁禾丰牧业股份有限公司。

杨连玉、刘国文,吉林农业大学动物科技学院。

李家奎,华中农业大学动物科技学院。

付本懂、王哲(通迅作者),单位及通迅地址同第一作者。 收稿日期:2006-04-10

★ 国家自然基金资助项目(30170713)

影响,为进一步阐明铜的促生长的机理提供参考。

#### 1 材料与方法

#### 1.1 试验材料

#### 1.1.1 试验动物

选择体况良好、体重相近的 60 日龄"军牧 1 号" 断奶仔猪 75 头,全部为雄性,来源于同一猪场。进行常规免疫、驱虫后,进入预试期,饲喂基础日粮。基础日粮参照美国 NRC(2001)仔猪营养需要配制,并制成颗粒饲料。基础日粮组成及其营养水平见表 1。

表1 基础日粮组成及营养水平

日粮组成 <sup>①</sup>	含量(%)	营养水平	
玉米	64.5	消化能(MJ/kg)	13.67
豆粕	22.0	粗蛋白(%)	17.05
麸皮	11.0	赖氨酸(%)	0.85
食盐	0.4	蛋氨酸+胱氨酸(%)	0.38
石粉	0.4	钙(%)	0.64
骨粉	1.0	磷(%)	0.65
微量元素预混料②	0.5	铜(mg/kg)	4.6
赖氨酸	0.2		

注: ①每千克基础日粮含维生素A 4 400IU、维生素 D<sub>3</sub> 440IU、 维生素 E 11IU、核黄素 4.4mg、泛酸 22mg、烟酸 22mg、 维生素 B<sub>12</sub> 0.22mg、维生素 K<sub>3</sub> 0.5mg、生物素 0.44mg; ②微量元素预混料向每千克基础日粮中提供Se (NaSeO<sub>3</sub>· H<sub>2</sub>O) 0.3mg、Zn 120mg、Fe 100mg、Mn 30mg(Zn、Mn、 Fe 均以硫酸盐形式添加) I(KI) 0.15mg。

#### 1.1.2 药品和试剂

硫酸铜(饲料级,CuSO₄·5HO₂≥98.5%,Cu≥25.0%), 市售。蛋氨酸铜(Cu≥25.0%)购自哈尔滨某饲料有限 公司。铜蓝蛋白、铜锌超氧化物歧化酶和丙二醛测定 试剂盒由南京建成生物工程公司生产。

#### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 试验分组及处理

试验采用完全随机方法分5组,每组15头猪,其

中 A 为对照组,B、C、D、E 为试验组。B、C 为添加硫酸铜组,添加量分别为 125、250mg/kg;D、E 为添加蛋氨酸铜组,添加量分别为 125、250mg/kg。根据添加的蛋氨酸铜的水平调整各组蛋氨酸水平无差异。试验的预试期为 10d,正式期为 45d。每天饲喂 3 次,自由采食和饮水。

#### 1.2.2 测定指标及测定方法

#### 1.2.2.1 生长性能的测定

每天准确记录每组猪采食量,分别于试验的第1d和第45d早饲前空腹称重。试验结束时根据记录的采食量、体重等数据,计算平均日增重。

#### 1.2.2.2 血液样品的采集

在试验的第 45d 的早饲前,每组随机抽取 5 头猪,前腔静脉采血,分离收集血清;同时,另取 3ml 血液加入含有抑肽酶和 EDTA 的试管中,分离血浆,分装到 Eppendorf 管中,均于-20℃条件下冻存待检。

#### 1.2.2.3 铜蓝蛋白的测定

采用邻联大茴香胺法。其测定原理是:铜蓝蛋白催化邻联大茴香胺转变成淡黄棕色产物,加终止剂后形成紫红色溶液,在 540nm 处测定吸光度,根据产物的吸光系数可计算酶的活力。测试过程按试剂盒说明进行操作。

#### 1.2.2.4 超氧化物歧化酶(CuZn-SOD)的测定

采用黄嘌呤氧化酶法。其测定原理是:通过黄嘌呤及黄嘌呤氧化酶系统产生超氧阴离子自由基,后者氧化羟胺形成亚硝酸盐,在显色剂的作用下呈紫红色,用可见光分光光度计测其吸光度。当被测样品中含有 CuZn-SOD 时,则对超氧阴离子自由基有专一性的抑制作用,使形成的亚硝酸盐减少,比色时测定管的吸光度值低于对照管的吸光度值,通过公式计算可求出被测样品中的 CuZn-SOD 的活性。测试过程按试剂盒说明进行。

#### 1.3 统计分析

数据均以平均值±标准差表示,数据进行两因素方差分析及多重比较,采用 SPSS10.0 软件中ANOVA过程进行分析。

#### 2 结果分析

#### 2.1 铜对猪生长性能的影响

添加铜对猪增重的影响效果见表 2 及图 1,结果显示添加铜能够显著提高猪的日增重,试验组均显著高于对照组(P<0.05);试验组中B、D组(铜的添加量为125mg/kg)显著高于 E 组,C 组与各试验组间差异不显著。这表明铜的添加量为125mg/kg 时增重效果比

较理想,无机铜与有机铜的增重效果相似。

表 2 添加铜对猪的增重及血液中含铜酶的影响

组别	平均日增重(kg)	铜蓝蛋白(U/I)	CuZn-SOD(U/mI)
Α	0.56±0.09°	157.07±8.68 <sup>b</sup>	394.06±9.07 <sup>a</sup>
В	$0.74\pm0.04^{a}$	158.27±5.17 <sup>b</sup>	371.93±11.48 <sup>b</sup>
С	$0.70 \pm 0.05^{ab}$	171.17± 6.97°	$380.90 \pm 12.95^{ab}$
D	$0.73\pm0.04^{a}$	167.58±5.32 <sup>a</sup>	384.30±6.87 <sup>a</sup>
E	0.68±0.03b	167.14±7.82°	388.10±8.09 <sup>a</sup>

注:同列字母相同者表示差异不显著(P>0.05);字母不同者表示差异显著(P<0.05)。

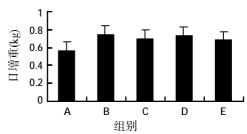


图 1 添加铜对猪平均日增重的影响

#### 2.2 铜对血液中含铜酶活性的影响

#### 2.2.1 铜对血液中铜蓝蛋白活性的影响(见表 2 和图 2)

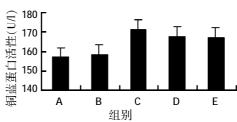


图 2 添加铜对铜蓝蛋白活性的影响

由试验结果可见,试验组均提高了血液铜蓝蛋白酶活性,其中 C、D、E 组显著高于对照组(P<0.05),但B 组与对照组无显著性差异。

## 2.2.2 铜对血液铜锌超氧化物歧化酶(CuZn-SOD)活性的影响(见表 2 和图 3)

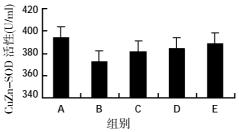


图 3 添加铜对铜锌超氧化物歧化酶活性的影响

由试验结果可见,不同来源、不同添加量的铜对血液 CuZn-SOD 活性影响不明显,除 B组 CuZn-SOD 活性影响不明显,除 B组 CuZn-SOD 活性显著低于对照组(P<0.05)之外,其余各试验组与

对照组差异不显著。

#### 3 结论

铜蓝蛋白和 CuZn-SOD 是体内主要的含铜酶,有抗氧化、抗应激的作用,对于维持生物膜完整、提高机体免疫能力、维持动物生长发育具有非常重要的意义。

前人研究证实,铜蓝蛋白可作为超氧阴离子的清除剂,但血浆铜蓝蛋白对超氧阴离子的清除作用比 CuZn-SOD 弱。血浆铜蓝蛋白在正常浓度时,能抑制通过黄嘌呤氧化酶调节的亚铁细胞色素 C 的还原作用,以减少由此过程诱发的超氧阴离子的生成,因而血浆铜蓝蛋白具有类似超氧化物歧化酶的作用<sup>[3]</sup>。本试验结果显示,铜不但能够促进猪的生长,提高日增重,同时还能够引起生长猪血液铜蓝蛋白活性变化,并随采食高铜日粮时间延长而增加,表明铜的添加增强机体抗氧化能力,为猪快速生长发育提供了相对恒定的内环境。

CuZn-SOD 是体内主要的抗氧化酶,是机体内源性最主要的氧自由基清除剂,能清除氧自由基,保护细胞免受损伤,它的活性在一定程度上反映机体的抗氧化能力。铜作为铜锌超氧化物歧化酶的金属辅酶,是 CuZn-SOD 的活性中心,是 CuZn-SOD 的重要辅助因子和调节因子,在维护其结构和功能方面发挥着重要作用。 CuZn-SOD 对铜的专一性很强,已发现培养细胞对铜及其它调节 CuZn-SOD 活性的因子有反应,虽然铜不是调节该酶的唯一因子,但在培养基中加入少量铜时,可提高酵母细胞 CuZn-SOD 的活性<sup>[6]</sup>。

Fridowich 等 (1986)研究证明:血清中 CuZn-SOD 的浓度比组织及细胞中低,且血清中 CuZn-SOD 的活

■・光 盘 推 荐・

猪的养殖

性受机体吸收铜的铜水平影响显著,试验中观察到 Cu 缺乏时大鼠血清中的 CuZn-SOD 的活性同对照组比较降低了 3 倍。但本试验结果显示,添加不同来源、不同浓度的铜对血液 CuZn-SOD 活性没有带来显著变化,说明添加铜的浓度是在动物机体的抗氧化能力所能够接受、调整的适当范围内,因此对 CuZn-SOD 活性没有明显的影响,但随着采食高铜日粮时间的延长 CuZn-SOD 活性有呈现下降(与对照组相比)的趋势,这也许是长期摄入高铜的积累所带来的毒性效应,有待进一步深入研究。

#### 参考文献

- 1 Louro Mo, Cocho JA, Yutor JC. Specific oxidase activity of cord serum ceruloplasmin in the newborn. Clin Chem Lab Med,2000, 38 (12):1 289~1 292
- 2 Brown DH,Dunlop J. Total serum copper and ceruloplasmin levels following administration of copper aspirinate to rats and guinea-pigs. Agents Actions, 1980, 10(5):465~470
- 3 Grassmann E, Mader H. Cu and Fe metabolism of baby pigs with different copper supply following injections of Cu -sulfate, ceruloplasmin and Fe-citrateZ.Tierphysiol Tierernahr Futtermittelkd, 1981.46(3):132~138
- 4 Smith JW 2nd, Tokach MD, Goodband RD, et al.Effects of the interrelationship between zinc oxide and copper sulfate on growth performance of early-weaned pigs, 2000, 59(2):238~246
- 5 Louro Mo, Cocho JA, Yutor JC. Assessment of copper status in pregnancy by means of determining the specific oxidase activity of ceruloplasmin. Clin Chim Acta, 2001, 312(1~2):123~127
- 6 Cerveza PJ, Mehrbod F, Cotton SJ, et al. Milk ceruloplasmin and its expression by mammary gland and liver in pigs. Arch Biochem Biophys, 2000, 373(2):451~456

(编辑:刘敏跃,Im-y@tom.com)

50

品 名	定价(元)	品 名	定价(元)	品 名	定价(元)
中国牧业企事业单位名录	100	肉鸡饲养管理与屠宰	25	海狸鼠养殖技术	25
畜牧业经济与规模化养殖场经营管理	125	养鸡生产	125	麝鼠 果子狸养殖技术	25
高致病性禽流感预防与控制	25	鸡的饲养	50	兰狐养殖	25
家畜生理学	325	雏鸡和蛋鸡的饲养与管理	25	养鹿	25
兽医微生物学	250	农村养鸡	25	中国对虾的养殖	25
兽医药物学	200	良种肉鸭大棚饲养技术	25	罗氏沼虾 大口鲶鱼的养殖	25
兽医学	375	鸭鹅养殖技术	25	海参人工养殖秘诀	25
瘦肉型猪的繁殖与饲养	25	= 鸭病防治	25	珍珠的养殖	25

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

河蟹的养殖

25

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

养鹅 蛋鸭的放牧饲养管理

## 包被铜对西门塔尔牛瘤胃发酵及 尿嘌呤衍生物的影响

刘 强 黄应祥 王 聪 董宽虎 裴 华 刘 曦

摘 要 选用 4 头体重 420kg、2.5 岁、体况良好、装有永久性瘤胃瘘管的中国西门塔尔阉牛,采用 4×4 拉丁方设计,研究包被铜(0、8、16 和 24mg/kg)对瘤胃发酵和尿嘌呤衍生物的影响。结果表明:包被铜对瘤胃 pH 值、NH<sub>3</sub>、VFA 及玉米秸秆和豆粕营养物质瘤胃有效降解率影响均不显著(P>0.05);对尿嘌呤衍生物含量、微生物氮和微生物蛋白质合成量差异不显著(P>0.05)。根据试验结果推断包被铜可安全通过瘤胃,避免了铜对瘤胃微生物的影响。

关键词 中国西门塔尔牛;包被铜;瘤胃发酵;尿嘌呤衍生物中图分类号 S816.79

铜对反刍动物的营养作用不只是在吸收以后,在吸收以前,铜与微生物相互作用,对瘤胃微生物和瘤胃代谢有一定影响。18mg/kg的硫酸铜对瘤胃 pH 值、NH<sub>3</sub>、VFA(挥发性脂肪酸)产量无显著影响,可显著提高稻草纤维物质的降解,但对淀粉降解有抑制作用<sup>[1]</sup>。而 Evans (1966)和 Martinez (1970)用体外法研究表明铜不能提高纤维降解<sup>[2,3]</sup>。为探讨避免铜对瘤胃微生物的毒害作用之后牛对铜的真正需要量,课题组研制了包被铜。本试验以玉米秸秆为日粮,研究包被铜对西门塔尔阉牛瘤胃发酵和尿嘌呤衍生物的影响,探讨包被铜的过瘤胃性能。

#### 1 材料与方法

#### 1.1 试验动物和饲养管理

选用 4 头装有永久性瘤胃瘘管、年龄 2.5 岁、体况良好、体重 420kg 的中国西门塔尔阉牛。试验牛单槽饲养,每日 7:00、15:00 和 23:00 饲喂,自由饮水。

#### 1.2 试验日粮及试验设计

饲粮的精粗比为 40:60,以玉米秸秆为粗料,基础日粮组成和营养水平见表 1。本试验所用包被铜是由课题组自行研制的过瘤胃铜,含铜 7.10%,将其均匀混入精料饲喂。试验采用 4×4 拉丁方设计,对照组饲喂基础日粮;处理 1 组饲喂基础日粮+包被铜8mg/kg;处

刘强,山西农业大学动物科技学院,副教授,030801,山西 太谷。

黄应祥、王聪、董宽虎、裴华、刘曦,单位及通迅地址同第 一作者。

收稿日期:2006-04-17

★ 山西农业大学青年基金项目(200108)资助

理 2 组饲喂基础日粮+包被铜 16mg/kg;处理 3 组饲喂基础日粮+包被铜 24mg/kg。试验分 4 个阶段,每个阶段预试期 10d,正试期 10d。

表1 试验基础日粮组成和营养水平

	含量(%)
玉米秸秆	60
玉米	20.8
麸皮	4.0
豆粕	6.6
棉粕	4.8
菜粕	2.0
石粉	0.5
食盐	0.4
磷酸氢钙	0.35
添加剂 <sup>①</sup>	0.55
营养水平	
粗蛋白(%)	10.11
中性洗涤纤维(%)	56.51
酸性洗涤纤维(%)	35.59
钙(%)	1.56
磷(%)	0.82
铜(mg/kg)	3.25
综合净能 <sup>②</sup> (MJ/kg)	6.30

注:①预混料添加剂含 Co 42mg/kg、Cu 3 500mg/kg、Fe 20 000mg/kg、Mn 12 000mg/kg、Zn 12 000mg/kg、I 1 200mg/kg、VA 3 000IU/g、VD 500IU/g、VE 15IU/g;

② NEmf 根据中国肉牛营养需要标准计算<sup>[4]</sup>。

#### 1.3 样品采集与分析测定

#### 1.3.1 瘤胃液的采集与分析测定

每阶段的第 8、9、10d, 分别在 7:00、9:00、11:00、13:00 采集瘤胃液 200ml, 用四层纱布过滤, 立即用 Startorius Basic pH Meter PB-20 型酸度计测定 pH 值;氨态氮采用氧化镁直接蒸馏法测定<sup>®</sup>;VFA 采用 GC102AF 气相色谱仪测定。

#### 1.3.2 瘤胃降解率测定

准确称取 3.0~4.0g 样品装人尼龙袋,于晨饲前 2h 投入瘤胃腹囊 50cm 处<sup>60</sup>,分别于 4、8、12、24、36、48、72h 取出两个袋(豆粕 48h 结束),用水冲洗至水液完全澄清为止,在 65℃烘至恒重,测定降解前后样品 DM、OM、NDF、ADF 和 CP含量<sup>60</sup>,以铬标记饲料,测定瘤胃外流速度<sup>60</sup>。

#### 1.3.3 尿样采集与尿嘌呤衍生物测定

于试验最后 5d 收集并记录每天的尿量,按总尿量的 1%采集尿样,收集到装有 10%H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 的 800ml 磨口玻璃瓶中,使尿的 pH 值小于 3,混匀 5d 采集的尿样,移取 20ml 并稀释至 100ml 制成次级尿样,装入塑

料瓶内-40℃贮存,采用比色法测定尿嘌呤衍生物含量,计算微生物蛋白含量<sup>n</sup>。

#### 1.4 数据处理及统计分析

应用 Orskov 和 McDonald (1979) 数学指数模型 dp=a+b(1-e-d)确定降解常数(a、b 和 c),有效降解率 由公式:P=a+[bc/(c+k)]计算<sup>[8]</sup>,k 为瘤胃流通速度,玉 米秸秆数值实测为 0.025/h, 豆粕为 0.057 9/h。应用 SPSS10.0 统计分析软件的 One-way-ANOVA 进行方差 分析和 LSD 多重比较,结果以平均数±标准误表示。

#### 2 结果与分析

2.1 包被铜对瘤胃液 pH 值、挥发性脂肪酸(VFA)、 氨态氮(以 NH<sub>3</sub> 计)等指标的影响(见表 2)

æ	- L 2 (L )	包被铜添加量(mg/kg)			
项目	时间(h)	0	8	16	24
	0	6.53±0.02 <sup>a</sup>	$6.47 \pm 0.02^a$	6.49±0.03 <sup>a</sup>	6.49±0.02a
叫坊	2	6.42±0.03 <sup>a</sup>	$6.39 \pm 0.05^a$	6.46±0.02°	6.43±0.03 <sup>a</sup>
pH 值	4	6.32±0.08 <sup>a</sup>	$6.27 \pm 0.02^a$	6.29±0.03°	6.32±0.02 <sup>a</sup>
	6	6.38±0.02 <sup>a</sup>	6.38±0.04°	6.33±0.05 <sup>a</sup>	6.39±0.02 <sup>a</sup>
	0	5.83±0.63ª	7.62±0.71 <sup>a</sup>	7.82±0.63 <sup>a</sup>	8.43±1.03 <sup>a</sup>
氨态氮	2	9.01±1.02a	$9.41 \pm 0.86^{a}$	10.64±0.95 <sup>a</sup>	10.81±0.74
(mg/100ml)	4	5.86±0.77 <sup>a</sup>	$6.67 \pm 0.73^a$	7.43±0.76 <sup>a</sup>	8.14±1.31 <sup>a</sup>
	6	6.54±0.72°	6.96±0.75 <sup>a</sup>	7.95±0.72°	8.65±1.12 <sup>a</sup>
	0	$48.03 \pm 2.64^{a}$	48.14±2.57 <sup>a</sup>	49.68±1.68 <sup>a</sup>	49.59±0.53
乙酸	2	$49.76 \pm 3.04^a$	49.91±1.53°	49.76±2.80°	50.00±3.04
$(\boldsymbol{mmol/I})$	4	52.04±5.49 <sup>a</sup>	51.57±2.45 <sup>a</sup>	52.25±2.51 <sup>a</sup>	52.56±1.80
	6	49.53±3.28 <sup>a</sup>	49.98±1.96 <sup>a</sup>	50.35±1.98 <sup>a</sup>	50.81±0.81
	0	15.03±1.33 <sup>a</sup>	15.89±0.41ª	16.39±0.63 <sup>a</sup>	16.10±0.43
丙酸	2	15.51±0.75 <sup>a</sup>	16.12±0.69 <sup>a</sup>	16.69±1.33 <sup>a</sup>	16.52±0.43
(mmol/I)	4	16.23±2.06 <sup>a</sup>	16.84±0.88 <sup>a</sup>	17.07±0.60 <sup>a</sup>	16.95±0.90
	6	15.47±1.45 <sup>a</sup>	16.07±0.81 <sup>a</sup>	16.92±0.56 <sup>a</sup>	16.20±0.73
	0	5.03±0.68 <sup>a</sup>	5.19±0.29 <sup>a</sup>	5.26±0.15 <sup>a</sup>	4.99±0.08 <sup>a</sup>
丁酸	2	5.24±0.34°	5.70±0.15 <sup>a</sup>	5.65±0.28 <sup>a</sup>	5.06±0.12a
(mmol/I)	4	5.95±0.84ª	6.15±0.24 <sup>a</sup>	$5.66 \pm 0.16^a$	5.41±0.11a
	6	4.89±0.49a	5.34±0.22°	5.38±0.16 <sup>a</sup>	5.09±0.11 <sup>a</sup>
	0	3.20±0.13 <sup>a</sup>	3.03±0.12 <sup>a</sup>	$3.03\pm0.09^{a}$	3.08±0.07 <sup>a</sup>
乙酸与丙酸	2	3.21±0.16 <sup>a</sup>	3.10±0.18 <sup>a</sup>	2.98±0.11 <sup>a</sup>	3.03±0.14a
比值	4	3.21±0.09 <sup>a</sup>	$3.06\pm0.13^{a}$	$3.06\pm0.14^{a}$	3.10±0.13 <sup>a</sup>
	6	3.20±0.13 <sup>a</sup>	$3.11 \pm 0.10^a$	$2.98 \pm 0.12^a$	3.14±0.10 <sup>a</sup>
	0	68.09±5.16 <sup>a</sup>	69.22±3.33ª	71.33±2.26 <sup>a</sup>	70.68±1.76
总酸(VFA)	2	70.51±4.26 <sup>a</sup>	71.73±2.22 <sup>a</sup>	72.10±3.90 <sup>a</sup>	71.58±3.26
(mmol/l)	4	74.22±8.88 <sup>a</sup>	74.56±3.51 <sup>a</sup>	74.98±2.95 <sup>a</sup>	74.92±2.87
	6	69.89±5.45 <sup>a</sup>	71.39±2.98 <sup>a</sup>	72.65±2.44 <sup>a</sup>	72.10±1.54

表 2 包被铜对瘤胃液 pH 值、VFA、氨态氮和乙酸与丙酸比值等指标的影响

注:同行肩标字母相同者表示差异不显著(P>0.05),肩标字母不同者表示差异显著(P<0.05),下表同。

由表 2 可见,添加包被铜对瘤胃 pH 值和 NH<sub>3</sub> 浓度影响均不显著(P>0.05);瘤胃乙酸、丙酸、丁酸、总挥发性脂肪酸水平和乙酸与丙酸比值差异

均不显著(P>0.05)。

2.2 包被铜对营养物质瘤胃有效降解率的影响 (见表 3)

表 3 包被铜对瘤胃中玉米秸秆和豆粕有效降解率的影响(%)

项目	包被铜添加量(mg/kg)				
-7.6	0	8	16	24	
玉米秸秆					
干物质	47.31±0.67 <sup>a</sup>	44.81±0.83 <sup>a</sup>	44.97±1.36 <sup>a</sup>	44.77±2.72a	
有机物	47.25±0.78 <sup>a</sup>	44.63±0.81 <sup>a</sup>	45.04±0.90 <sup>a</sup>	44.63±2.67 <sup>a</sup>	
中性洗涤纤维	40.13±1.14 <sup>a</sup>	38.07±1.03 <sup>a</sup>	36.63±1.21 <sup>a</sup>	36.95±3.33ª	
酸性洗涤纤维	$38.65 \pm 0.64^a$	$38.16 \pm 0.76^a$	36.54±1.57 <sup>a</sup>	36.65±3.19 <sup>a</sup>	
豆粕					
干物质	62.31±1.11 <sup>a</sup>	61.97±1.65 <sup>a</sup>	60.24±1.41 <sup>a</sup>	59.99±2.99 <sup>a</sup>	
有机物	60.34±1.24 <sup>a</sup>	60.23±1.35 <sup>a</sup>	59.64±1.32 <sup>a</sup>	58.56±3.87 <sup>a</sup>	
粗蛋白	56.18±1.38 <sup>a</sup>	55.31±2.92°	55.89± 2.05 <sup>a</sup>	55.70±2.94 <sup>a</sup>	

由表 3 可见,日粮添加包被铜后,玉米秸秆干物质(DM)、有机物(OM)、中性洗涤纤维(NDF)和酸性洗涤纤维(ADF)瘤胃有效降解率与对照组差异均不显著(P>0.05);豆粕干物质(DM)、有机物(OM)和粗蛋白质(CP)瘤胃有效降解率与对照组差异均不显著(P>0.05)。

**2.3** 包被铜对尿嘌呤衍生物含量等指标的影响(见表 4)

表 4 包被铜对尿嘌呤衍生物和微生物 蛋白质产量等指标的影响

项目	包被铜添加量(mg/kg)					
	0	8	16	24		
尿囊素 (mmol/d)	54.20±2.81°	52.95±1.12°	51.98±6.23ª	50.69±9.59ª		
尿酸 (mmol/d)	5.61±0.66ª	5.11±0.19 <sup>a</sup>	5.81±0.28 <sup>a</sup>	5.77±0.51ª		
尿嘌呤衍生物 (mmol/d)	59.81±2.75 <sup>a</sup>	58.06±1.07°	57.79±5.94°	56.46±6.02ª		
微生物氮 (g/d)	20.61±1.32a	19.11±1.23°	18.88±1.16ª	17.74±1.26 <sup>a</sup>		
微生物蛋白质 (g/d)	128.78±5.34°	119.43±6.02ª	117.98±5.47°	110.87±4.87°		

由表 4 可见, 日粮中添加包被铜对尿酸、尿囊素和尿嘌呤衍生物(PD)含量均无显著影响(P>0.05)。微生物氮和微生物蛋白质合成量与对照组差异不显著(P>0.05)。

#### 3 讨论

包被铜对瘤胃 pH 值无显著影响,均在 6.2 以上,适宜纤维分解菌的活动<sup>[9]</sup>。NH<sub>3</sub> 反映瘤胃蛋白质降解与合成之间所达到的平衡状况,随着包被铜添加水平的增加有提高瘤胃 NH<sub>3</sub> 浓度的趋势。这是由于日粮中添加的包被铜安全通过瘤胃,对微生物不会产生毒性作用,不影响瘤胃微生物的数量和活力。这与本试验豆粕粗蛋白质有效降解率、尿嘌呤衍生物排出量无显著变化的结果相一致。瘤胃乙酸、丁酸、丙酸、总挥发性脂肪酸和乙酸与丙酸比值差异均不显著,瘤胃发酵

类型没有发生变化<sup>nol</sup>。包被铜对玉米秸秆纤维物质瘤胃有效降解率没有显著影响,是由于铜过瘤胃,对纤维分解菌没有产生毒性作用,对纤维分解菌的数量或纤维分解菌的活力没有显著影响,从而使玉米秸秆纤维性物质的含量没有变化。本研究豆粕 DM、OM 和CP的瘤胃有效降解率没有显著变化,是由于包被铜对蛋白分解菌的活力没有显著影响,从而使豆粕的降解率不受影响。尿嘌呤衍生物含量与牛瘤胃微生物蛋白含量高度相关<sup>nd</sup>,随着添加水平增加,尿嘌呤衍生物的排出量无显著变化,说明日粮添加包被铜不会影响微生物蛋白质的合成。

#### 4 结论

日粮添加包被铜对瘤胃 pH 值、NH3、乙酸、丁酸、 丙酸、总挥发性脂肪酸和乙酸与丙酸比值无显著影响;玉米秸秆干物质、有机物质、中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维瘤胃有效降解率没有显著变化;豆粕干物质、有机物和粗蛋白质瘤胃有效降解率无显著变化;尿囊素、尿嘌呤衍生物含量、微生物氮和微生物蛋白质合成量无显著变化;瘤胃发酵类型和瘤胃微生物蛋白质的合成均没有受到影响。根据试验结果推断包被铜可安全通过瘤胃,避免了铜对瘤胃微生物的影响。

#### 参考文献

- 1 高登宏.不同剂量的铜对瘤胃微生物发酵的影响[D].山西农业大学硕士学位论文,2000
- 2 Evans J. L.. Influence of sufur, molybdenum, phosphorus and copper interrelationship in cattle upon cellulose in vitro and in vivo [J]. Anim. Sci, 1966, 25:1 014
- 3 Martinez Andres, D.C. Church. Effect of various mineral elements on in vitro rumen cellulose digestion. Journal of Animal Science, 1970, 31:982~990
- 4 冯仰廉.肉牛营养需要和营养标准[M]. 北京:中国农业大学出版社, 2000.19~26
- 5 杨胜.饲料分析及饲料质量检测技术[M].北京:北京农业大学出版 社,1996.171~172
- 6 冯仰廉. 反刍动物营养学[M]. 北京: 科学出版社,2004.575~576
- 7 Chen X.B.,Mayuszewski W., Kowalczyk J. Determination of allantoin in biological cosmetic and pharmaceutical samples [J]. J. AOAC International, 1996,79:628~635
- 8 Orskov E R., McDonald. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage [J]. J. Anim. Sci, 1970,92:499~503
- 9 冀一伦. 实用养牛科学[M]. 北京: 中国农业出版社,2001.156~159
- 10 Williams A.G., Coleman G.S. The rumen protozoa [M]. Springerverlag New York Inc, 1991

(编辑:刘敏跃,Im-y@tom.com)

## 矿物质元素硫对绵羊瘤胃纤维物质降解的影响

#### 蒋 涛 贾喜涵 敖长金 孙玉江

摘 要 试验选择 6 只健康的、体重相近且安装永久瘤胃瘘管的内蒙古半细毛羯羊为试验动物,采用半体内法研究不同硫源对绵羊纤维物质瘤胃降解率。结果表明,添加不同硫源后,与对照组基础日粮 DM、NDF、ADF 的有效降解率 P值相比,其瘤胃降解模型参数 a、b、c 和 P值发生了显著变化; DM 有效降解率 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 组最大为 64.11%,差异极显著高于对照组(42.27%)(P<0.01),Na<sub>2</sub>S 组(48.29%)和对照组(42.27%)以及 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 组和 Na<sub>2</sub>S 组 DM 的有效降解率差异显著(P<0.05); NDF 的有效降解率 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 组为 52.69%,Na<sub>2</sub>S 组为 50.94%,两组差异不显著(P>0.05),但都显著高于对照组(42.01%)(P<0.05);ADF 有效降解率 Na<sub>2</sub>S 组最大,为 73.45%,Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 组为 70.36%,两组差异不显著(P>0.05),但都极显著高于对照组(54.12%)(P<0.01)。

关键词 瘤胃;尼龙袋法;纤维物质;降解率 中图分类号 S816.72

随着瘤胃营养生理研究的深入,饲料营养物质在瘤胃内的动态降解率已成为现代反刍动物营养体系的一项重要指标<sup>[1,2]</sup>。本试验以 6 只瘘管羊为试验动物,采用瘤胃尼龙袋法研究不同硫源对玉米秸杆在瘤胃中降解的影响<sup>[2-5]</sup>。

#### 1 材料与方法

#### 1.1 试验动物与饲养管理

选择体况良好、体重 35kg 的安装永久性瘤胃瘘管的内蒙古半细毛羯羊 6 只。试验羊单笼饲养, 统一驱虫。每天早晨7:30 和晚上7:30 两次饲喂,自由饮水<sup>[6,7]</sup>。 1.2 试验日粮

试验日粮按照中国美利奴育成公羊的饲养标准配制(见表 1),精粗比为 2:8。

表1 试验基础日粮配方及营养水平(以风干样为基础)

日粮组成	含量(%)	营养水平	
秸秆	82.0	DE(MJ/kg)	13.29
玉米	9.55	CP(%)	10.86
麸皮	7.07	Ca(%)	0.35
豆粕	2.05	P(%)	0.18
胡麻饼	2.51	N(%)	1.62
尿素	0.64	<b>S</b> (%)	0.12
添加剂	0.27	N : S	13.5 : 1
食盐	0.38		
磷酸氢钙	0.27		

蒋涛,新疆塔里木大学动物科学院,讲师,843300,阿 拉尔。

贾喜涵、裁长金,内蒙古农业大学动物科学与医学院。 孙玉江,山东省东营市农业科学研究所。

收稿日期:2006-04-10

#### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 试验设计

本试验采用完全随机分组设计,试验动物分 3 组,每组 2 只,试验进行 13d,预饲期 8d,正式期  $5d^{\Pi}$ 。试验设计见表 2。

表 2 试验设计

对照组	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 组	Na <sub>2</sub> S 组
基础日粮(0.12%)	基础日粮+Na2SO4(0.18%)	基础日粮+Na2S(0.18%)
注:括号中数字为	S 占日粮干物质的百分含	<b>注量</b> 。

#### 1.3.2 试验样品的制备

分别准确称取 3.000 0g 左右的风干样品、装入 标号且已恒重的尼龙袋中。尼龙袋的大小为 8cm× 12cm, 孔径为 300 目。将 2 个装有平行样的尼龙袋用 工程线和橡皮筋缠紧,穿过长约 18cm 的塑料管,工 程线的另一头固定在瘤胃瘘管上,按照"依次加入, 同时取出"的原则进行操作。每次放入4根管,共分 2次完成。第1次即在喂后 2h 开始的 9:30、13:30、 17:30、19:30 分别投入一根管, 在 21:30 同时取出; 第 2次即在第 1d 的 9:30, 第 2d 的 9:30、21:30 和第 3d 的 9:30 分别投入一根管, 在第 4d 的 9:30 一起取 出(以上所做的便是每只羊在 2、4、8、12、24、36、48、 72h 的降解时间)。取出尼龙袋后,立即用自来水冲洗 干净, 然后加上对照 0h 的尼龙袋在冷水中浸泡 45min,再用自来水冲洗干净,并将尼龙袋放入 65℃烘 箱中烘干恒重。样品 4℃条件下保存以备分析,尼龙 袋残渣通过 1mm 筛粉碎进行分析[6,8,10]。

#### 1.3.3 测定指标与样品分析

饲料样品及尼龙袋降解残渣中的 DM、ADF 和 NDF,按实验室常规方法进行分析。

#### 1.3.4 计算公式[6,9,10]

1.3.4.1 待测饲料在瘤胃中不同时间点降解率的计算  $A(\%) = 100 \times (B-C)/B$ 

式中: A——待测饲料营养物质的瘤胃降解率(%);

B——样品中待测饲料营养物质的质量(g);

C——残渣中待测饲料营养物质的质量(g)。

1.3.4.2 待测饲料 DM、ADF、NDF 有效降解率(P)的计算 根据 Orskov 和 McDonald (1979) 提出的公式,计 算有效降解率公式如下:

 $dp = a + b(1 - e^{-kd \times t})$ 

 $P = a + (b \times kd) / (kd + kp)$ 

式中:dp——t时间营养物质的消失率(%);

a——快速降解部分(%);

b——慢速降解部分(%);

kd ——b 的降解速率;

t——待测饲料在瘤胃中的滞留时间(h);

P——待测饲料营养物质的有效降解率(%);

kp ——待测饲料的瘤胃流通速率,这里的 kp = 0.03/h(Tamminga, 等 1994)。

#### 2 结果与讨论

2.1 不同的硫源对玉米秸杆瘤胃 DM、NDF、ADF 降解率的影响

试验结果见表 3、表 4、表 5, 动态变化趋势见图 1、图 2 和图 3。

表 3 不同的硫源对玉米秸杆瘤胃 DM 降解率的影响(%)

取样时间(h)	对照组	Na₂SO₄组	Na₂S 组
0	10.99±1.04	11.31±1.18	11.31±1.18
2	14.96±2.58	15.78±0.77	15.51±0.72
4	15.86±2.01	15.87±0.41	15.96±2.06
8	17.95±2.81	18.04±1.41	18.33±0.88
12	22.12±1.19	22.57±1.96	23.58±1.96
24	26.44±1.07	32.25±2.2	32.99±1.61
36	30.51±1.36	34.72±1.28	35.28±0.89
48	33.53±0.98	41.92±0.95	38.12±1.33
72	38.81±1.07	50.06±2.17	45.44±2.11
指数曲线的拟合值			
<b>a</b> ( <b>S</b> )	12.48±0.26	12.45±0.55	12.05±1.11
b(D)	30.12±2.08	52.51±2.70	36.61±0.97
c(%/h)	2.69±0.33	1.82±0.21	2.99±1.34
kp(%/h)	3	3	3
P(%)	42.27±1.02 <sup>a</sup>	64.11±0.81°	48.29±0.76 <sup>b</sup>

注:1.a 为快速降解部分,b 为慢速降解部分,c 为 b 的降解速率; 2.表中同行肩标相同字母表示差异不显著(P>0.05),相 邻字母表示差异显著(P<0.05),相间字母表示差异极显著 (P<0.01),下表同。 根据尼龙袋内样品在各时间点的消失率,数据经SAS处理,按照 Orskov 和 McDonald (1979)提出的公式进行编程,根据最小二乘法求出拟合曲线,并计算出相应的瘤胃降解参数。

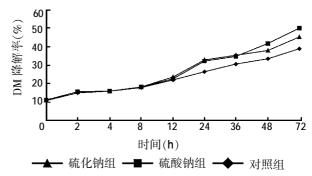


图 1 不同的硫源对玉米秸杆瘤胃 DM 降解率的影响

由表 3 可以看出,  $Na_2SO_4$  组的 DM 有效降解率最大(64.11%), 极显著高于对照组(42.27%)(P<0.01),  $Na_2S$  组(48.29%) DM 的有效降解率显著高于对照组(42.27%)(P<0.05);  $Na_2SO_4$  组和  $Na_2S$  组 DM 的有效降解率差异显著(P<0.05)。从图 1 可以看出,在 12h 之后DM 的降解率明显增大,且  $Na_2SO_4$  组和  $Na_2S$  组均高于对照组。

表 4 不同的硫源对玉米秸杆瘤胃 NDF 降解率的影响(%)

取样时间(h)	对照组	Na₂SO₄组	Na₂S 组
0	9.18±0.09	9.87±1.21	9.87±1.21
2	17.85±2.84	18.13±1.09	18.85±0.76
4	19.99±2.37	20.57±2.34	21.03±1.46
8	21.08±2.03	22.99±2.18	23.46±2.08
12	26.61±0.92	29.01±2.77	29.73±0.99
24	34.54±1.24	38.66±1.23	36.69±1.97
36	38.24±0.68	45.72±0.97	44.68±0.38
48	39.98±1.89	49.36±2.11	47.98±1.95
72	42.01±2.61	50.73±1.81	49.44±1.08
指数曲线的拟合值			
a(S)	11.86±0.48	12.09±0.67	12.75±0.83
b(D)	30.30±0.91	40.86±1.28	38.43±1.52
c(%/h)	5.71±1.33	4.60±0.61	4.73±0.49
kp(%/h)	3	3	3
P(%)	42.01±0.70 <sup>a</sup>	52.69±0.13b	50.94±0.56 <sup>b</sup>

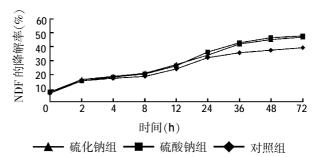


图 2 不同的硫源对玉米秸秆瘤胃 NDF 降解率的影响

由表 4 可以看出, NDF 有效降解率  $Na_2SO_4$  组为 52.69%、 $Na_2S$  组为 50.94%, 两组间差异不显著(P> 0.05),但都显著高于对照组(42.01%)(P<0.05), $Na_2SO_4$  组和对照组相差 10.68%。从图 2 可以看出, 在 8h 之后 NDF 的降解率增大明显,且  $Na_2SO_4$  组和  $Na_2S$  组均高于对照组。

表 5 不同的硫源对玉米秸杆瘤胃 ADF 降解率的影响(%)

取样时间(h)	对照组	Na₂SO₄组	Na₂S 组
0	3.15±1.07	3.56±1.82	3.56±1.82
2	5.83±1.62	6.77±0.88	6.39±1.01
4	6.31±0.68	7.96±1.31	7.4±0.67
8	8.09±0.09	9.84±0.94	9.31±1.38
12	10.01±0.97	11.57±1.32	11.63±2.24
24	18.83±1.01	20.02±0.91	20.15±0.94
36	25.54±1.63	34.55±2.37	32.42±1.87
48	32.68±1.22	40.82±1.05	39.96±1.68
72	37.05±1.28	46.11±0.99	45.89±0.54
指数曲线的拟合值			
<b>a</b> ( <b>S</b> )	2.88±1.76	3.10±1.13	3.03±1.20
b(D)	52.21±0.84	68.62±0.58	72.00±0.83
c(%/h)	1.58±0.45	1.48±0.31	1.34±0.26
kp(%/h)	3	3	3
P(%)	54.12±1.01 <sup>a</sup>	70.36±0.21°	73.45±0.34°

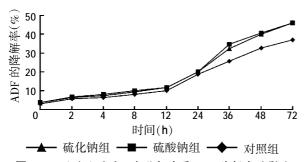


图 3 不同的硫源对玉米秸杆瘤胃 ADF 降解率的影响

由表 5 可以看出,ADF 有效降解率 Na<sub>2</sub>S 组最大,为 73.45%,Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>组为 70.36%,两组差异不显著(P>0.05),

但都极显著高于对照组(54.12%)(P<0.01)。从图 3 可以看出,在 12h之后 ADF 的降解率显著增加,且  $Na_2SO_4$ 组和  $Na_2S$  组均高于对照组, $Na_2SO_4$ 组和  $Na_2S$  组差别不明显。

#### 2.2 讨论

综上所述,不同硫源对绵羊纤维物质降解影响的研究,都只停留在某一时间点 DM、NDF 和 ADF 的降解率比较上,而没有系统地从消化动力学来研究其动态降解过程。在操作规范化的基础上,尼龙袋法除用于评定饲料蛋白的降解率外,也能较好地用于评定饲料DM、NDF、ADF 的有效降解率。在以 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 和 Na<sub>2</sub>S 作为硫源补充试验剂量的前提下,Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 和 Na<sub>2</sub>S 对提高绵羊的 NDF 和 ADF 降解率差异不显著(P>0.05),但都显著高于对照组,且随着时间的延长都能提高其降解率;但 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 组的 DM 和 NDF 有效降解率高于 Na<sub>2</sub>S 组,而且从适口性来看添加 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>更好一些。

#### 参考文献

- 1 李有业.国外畜牧科技,1983(6):29~30
- 2 卢忠民,陈杰,韩正康.日粮添加硫、磷提高水牛瘤胃纤维素消化率的研究.动物营养学报,1998(10):10~13
- 3 罗海玲, 窦晓利.羊硫营养研究进展.国外畜牧科技,1999(26):2~4
- 4 田玮, 苏兰丽,赵改名.蛋白质和氨基酸对羊毛生长的影响.中国饲料.2001(19):23
- 5 王娜, 贾志海, 卢德勋, 等. 内蒙古白绒山羊日粮适宜氮硫比的综合 评定研究. 中国饲料, 1999(6):14~17
- 6 霍鲜鲜.内蒙古农业大学博士论文,2003,6
- 7 李秋玫,李杰,王立群,等.生物处理秸杆对绵羊瘤胃消化代谢的影响.黑龙江畜牧兽医,2000(5):23
- 8 卢德勋.反刍动物营养调空理论及其应用.内蒙古畜牧科学特刊, 1993
- 9 杨凤.动物营养学.中国农业出版社,1999
- 10 冯仰廉.动物营养研究进展.中国农业科技出版社,1996

(编辑:张学智,mengzai007@163.com)

#### ・信 息 采 撷

### 与鲁药有括抗作用的几种饲料

许多饲料及饲料添加剂与防治疾病的某些药物有拮抗作用,用药防治畜禽疾病时,须避免饲喂与之有拮抗作用的饲料。 1.大京·大京中会有较多的钙,镁等元素,它们与四环素族药物如四环素、土霉素等可结合成不溶干水的络合物,使抗生素药

1.大豆:大豆中含有较多的钙、镁等元素,它们与四环素族药物如四环素、土霉素等可结合成不溶于水的络合物,使抗生素药效降低。

2. 麸皮: 麸皮为高磷低钙饲料, 在治疗因缺钙引起的软骨病或佝偻病时, 应停喂麸皮。另外, 磷过多影响铁的吸收, 治疗缺铁性贫血时也应停喂麸皮。

- 3.棉籽饼:它影响维生素 A 的吸收,治疗维生素 A 缺乏时不能饲喂。
- 4.高粱:高粱中含有较多的鞣酸,可使含铁制剂变性,治疗缺铁性贫血时不能喂。
- 5.菠菜:菠菜中含有较多的草酸,它可与消化道中的钙结合成不溶性草酸钙,喂贝壳粉、骨粉、蛋壳粉等钙质饲料时应停喂。
- 6.食盐:食盐可降低链霉素的疗效,盐中的钠离子可使水在畜禽体内潴留,引起水肿。在治疗肾炎和使用链霉素时应限喂或停喂食盐。

## 粗、蛋、白、含、量、测、定、中、试、样、的、快、速、分、解

## ──H₂O₂-H₂SO₄-混合催化剂法

苗雪原

《饲料中粗蛋白测定方法》(GB/T6432) 采用 ISO5932 中传统的 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-混合催化剂法分解试样,费时费力,分解时间规定为至少 2h,实际操作需 2~3.5h。而采用 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-混合催化剂法,试样 35min 以内即可完全分解,极大提高了检验效率,且检验结果准确度及精密度均优于国标要求。该法操作方便,对设备、试剂无特殊要求,在饲料、肥料、食品等领域有推广、应用价值。

#### 1 试验材料与方法

#### 1.1 设备与试剂

设备:消煮炉或电炉 (1 500W)、圆底消化烧瓶 (250ml)、小漏斗。

试剂:过氧化氢溶液(30%)、硫酸(96%)、混合催化剂(硫酸钾与五水硫酸铜按质量比15:1充分混合)。

#### 1.2 试样消化步骤

称取试样 0.5~1g, 精确至 0.000 2g, 放入消化瓶中,加入混合催化剂 3.5g、硫酸 10ml,过氧化氢用量按每 0.1g 试样 1.5ml 比例缓慢加入(加入时如产生泡沫过多,可转动烧瓶,加入完毕静置 1~2min)。烧瓶口放置小漏斗,于 1 500W 电炉或 360~410℃热源上加热(如泡沫仍较多,可取下烧瓶,再次加入过氧化氢使样液重新呈绿色),至样液基本澄清(呈较透明的蓝绿色),再继续加热 10~15min。

#### 2 结果和讨论

#### 2.1 原法存在的问题

原法规定,试样加入催化剂、硫酸后,消化时开始小火,待样品焦化,再加强火力,直至呈透明的蓝绿色,然后再继续加热至少2h。实际操作仅焦化时间即需30~90min。而如直接高温加热,则试样常生成大量泡沫,消化过程十分缓慢,且易炭化。

#### 2.2 解决办法

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-混合催化剂法消化有力,但由于消泡问题 未得到解决,无法实现快速分解。食品检验中经常加

苗雪原,连云港市东海质量技术监督局,工程师,222300, 江苏连云港。

收稿日期:2006-04-10

人  $H_2O_2$ (1ml 或几滴)消泡,在大量检验实践中进一步注意到: $H_2O_2$ 在适当加大用量的情况下能够明显促进试样分解,与浓  $H_2SO_4$ 共同作用 10s 内即可将有机试样中部分易起泡物质破坏、分解。而《有机-无机复混肥料中总氮含量的测定》(GB/T17767.1) 中提供的 $H_2SO_4$ - $H_2O_2$ 法虽然消泡快速,消煮时分解速度相对较快(规定为 0.5h),但不足之处是,为求消煮前试样尽可能分解完全,该法规定试样加入  $H_2SO_4$  和  $H_2O_2$ 后必须放置过夜,时间为 15h。 $H_2O_2$ - $H_2SO_4$ -混合催化剂法综合了上述方法的优点,而巧妙地避免了其不足。

本法设计思路是:利用  $H_2O_2$  加热前显著的消泡作用,大幅度减少试样加热后产生的泡沫量,从而为  $H_2SO_4$ -催化剂充分发挥分解能力创造条件。实验表明,试样加入  $H_2O_2$  后很快由黑色变成绿色,初步消泡完成;加热 5min 左右,低沸点的  $H_2O_2$  大部分蒸发,此后样液由  $H_2SO_4$ -混合催化剂进行深度分解,继续加热 10min 左右即基本澄清。试样加热至 12~20min 即基本分解,22~35min 完全澄清,分解完全。

#### 2.3 操作要点

#### 2.3.1 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的加入

①加入量: 试样量 1.5g 以下,  $H_2O_2$  以每 0.1g 试样 1.5ml 的比例加入,即可实现一次性消泡。肉粉、骨粉、羽毛粉等动物源性饲料取样量 1.5g 以下,  $H_2O_2$  按每 0.1g 试样 1ml 比例加入也能很好地消泡。

②加入操作: $H_2O_2$ 消泡时与 $H_2SO_4$ 大量放热,操作要点见实验部分1.2。

个别高脂试样在加热时如泡沫较多影响消化,可再次加入  $H_2O_2$  使样液再次呈绿色。实际操作中,按上述比例加入  $H_2O_2$  后,一般不需二次消泡。由于消泡效果显著,本法也不需小火焦化,可直接高温操作。

#### 2.3.2 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>与催化剂的加入量

本法加热前期因加入 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 使硫酸浓度较稀,此时通过 K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 提高 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 沸点以加速分解的作用有限;而当 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 基本蒸发完时,试样已部分分解,由 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-混合催化剂承担的分解任务已大为减轻。试验表明,混合催化剂取用量由原法 6.5g 减少至 3.5g,H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 由 12ml 减少至 10ml,仍能取得快速分解的效果。

#### 2.3.3 试样完全分解的时间

试样澄清透明后的继续加热时间,有关资料表述 不一,同样是 $H_2SO_4$ -混合催化剂法,食品标准(GB/ T5009.5-2003)规定为 0.5~1h, 饲料标准为至少 2h, 有 机肥料则规定消化总时间为 75min 以上; $H_2SO_4-H_2O_2$ 法消化总时间为 0.5h。鉴于此,有必要准确掌握有机 试样完全分解的时间及其标志性特征。为此选取配合 饲料、预混料、浓缩料、各种饲料原料等不同类别的样 品进行了批次试验。试验表明,试样呈较透明蓝绿色 后继续加热 10min,即可完全澄清;检验结果表明,样 液澄清时即氮转化完全时,之后不需再加热。有关情 况以鱼用配合饲料为例,样品为江苏省质量技术监督 局 2005 年度考核样,粗蛋白质含量为 30.4%(可视为 总体均数),国标规定相对误差不大于 1%(绝对值为± 0.3%)。试验结果见表 1。经 t 检验,两组检验结果 (10min 与 15min) 与总体均数均无显著性差异(t= 1.291,0.20<P<0.50)。考虑到电炉供热变化对澄清变 色时间可能存在的影响,又进行以下试验:试样基本 澄清后,立即置于已预热的 1 000W 电炉上加热,分两 组测试,分别加热 10min 与 15min。试验表明,供热效 率即使降至 1 000W, 肉眼在继续加热的 10min 内仍能

敏锐地观察到样液完全澄清的全过程;两组粗蛋白质含量检验结果经 t 检验,与总体均数无显著性差异。

表 1 本法中试样分解时间控制试验

基本澄清后继续 加热时间(min)		检	验结果		均值±标准差	变异系数
5	26.5	28.7	24.0 29.2	27.5	27.2±2.1	7.7
	30.4	30.6	30.5 30.7	30.6		
10	30.7	30.4	30.3 30.6	30.5	30.5±0.2	0.66
	30.6	30.2	30.5 30.7	30.4		
	30.2	30.6	30.2 30.5	30.6		
15	30.2	30.2	30.7 30.4	30.5	30.4±0.2	0.66
	30.5	30.5	30.3 30.2	30.2		

#### 2.4 检验准确度与精密度

试样经本法分解后,检验结果与原法高度一致, 从表 1 可见,其准确度与精密度优于国标要求,分解 效果令人满意。

#### 2.5 资源与环境影响评价

本法经济上极为可取,各经耗指标降低幅度为:消化时间 75%、电能 65%、催化剂用量 40%、硫酸 15%。新增  $H_2O_2$ ,价格不高,不影响使用。 $H_2O_2$  及分解产物均无环保问题。 $H_2O_2$  与硫酸产生刺激气味,但加热 5~10min 即消失,通风橱中操作即可。

(编辑:崔成德,cuicengde@tom.com)



## 饲料中动物源性成分的检测技术研究进展

李 林 刘青涛 邹艳丽 王志亮

痒病和牛海绵状脑病(疯牛病)都属于传染性海绵状脑病,其病原是蛋白质侵染颗粒——朊毒体(Prion)。痒病是羊的一种比较古老的疾病,而疯牛病是最早在英国出现的一种新病,1987年 Weels 等正式报道,然后迅速传播到欧洲多个国家和地区,给英国和欧洲的养牛业造成了巨大损失,并影响到相关产业。

目前认为疯牛病主要是通过饲喂污染了痒病因子的肉骨粉(MBM)而传播的,特别是随着疯牛病的流行,由同一致病因子引起人的新型变异型克雅氏症(nvCJD)的出现,导致了全世界对疯牛病的恐慌,已给人类和动物健康及国际贸易等领域带来了全球性影响。为此世界上许多国家和地区都先后颁布了法律、法规以控制动物源性成分的使用,如1994年的欧盟和1997年的美国都制定了法规禁止在反刍动物的饲料中添加反刍动物源性蛋白;1996年世界卫生组织建议所有的国家禁止在反刍动物的饲料中添加反刍动物源性蛋白;2000年欧盟将这项禁令扩大到禁止向用于食用的动物饲喂加工过的哺乳动物、鸟类和鱼类蛋白成分。我国新颁布的《动物源性饲料产品安全卫生管理办法》中规定,禁止在反刍动物饲料中使用动物源性饲料产品,但乳及乳制品除外。

饲料中动物源性成分特别是牛、羊源性成分的检测对于防范疯牛病的发生是非常重要的,而这些法规的有效实施都需要有一系列的检测技术作为基础。目前检测动物源性成分的主要方法有以检测骨头为基础的显微镜方法,以检测蛋白质为基础的免疫学方法和以检测 DNA 为基础的方法,其它方法还包括近红外检测方法(NIRS)等。

#### 1 显微镜方法

检测动物源性成分唯一的官方方法是被欧盟

收稿日期:2006-04-17

(EU)认可的显微镜检测方法。该方法一般是检测饲料中的骨头碎片,能够区分陆生动物与鱼类来源的成分。骨头是最常出现的成分,即使经过 133℃、300kPa、20min 的处理(欧盟的标准)也能被检测出来,依靠试验员的经验,在理想条件下能够区分禽类与哺乳动物的骨头碎片并进行品质的鉴定。在大多数情况下磷酸二钙以及脱脂骨、矿物质都能检测出其来源,但添加到肉骨粉中的蹄角、明胶、血浆很难检测出来。目前肉粉、骨粉、肉骨粉、血粉、禽肉粉、鱼粉、羽毛粉都能检测,但并不是在所有情况下都能鉴别出动物的种类。

低倍镜下沉淀物的一般结构和颜色是鉴别肉骨 粉来源的第一信号。哺乳动物的骨碎片呈白色或淡黄 色,禽类骨碎片的颜色发暗,这些骨碎片都是不透明 的,而鱼类骨碎片要比哺乳动物和禽类的透明。高倍 镜下可以看到哺乳动物的骨碎片呈椭圆形近似圆形, 根据骨碎片的品质与透明度的不同,用导管有时也能 看到,有时环行骨板的方向也能看到。与哺乳动物相 比,禽类的骨碎片更加尖锐,腺窝更圆,用导管看不 到。鱼类的骨呈扁平状,其陷窝为拉长的梭形,连成网 状,而且根据鱼的种类不同也呈现一定的多样性。这 些特征是最一般的特征, 在实际的检验中变化较大。 肉骨粉中会出现平滑肌或骨骼肌,不管是哺乳动物、 禽类还是鱼类, 肌肉组织一般都被破坏成短的纤维, 其宽度依据处理的方法和动物的营养状况而不同。动 物肌纤维一般没有各自的明显特征,肌纤维的出现与 否是判定饲料中是否出现动物源性成分的重要依据。 饲料中毛发、羽毛、蛋壳、鱼刺、鱼鳃的检出可以进一 步确定饲料中是否出现动物源性成分。欧盟已尝试通 过饲料显微镜学方法来进行定量测定。

饲料显微镜学方法具有样品制备量少、设备便 宜、简单易行的优点,但该方法费时、费力,对技术人 员的要求高,结果与试验员的经验相关性很大。不同 样品中所含有动物源性成分的来源多样,低倍镜下颜 色的重叠比较大,高倍镜下骨陷窝的重叠性比较大。 这要求显微镜分析师达到较高的专业水平。因此,迫

李林,国家外来动物疫病诊断中心农业部动物检疫所, 266032,山东青岛市南京路 369 号。

刘青涛,扬州大学兽医学院。

邹艳丽、王志亮,单位及通迅地址同第一作者。

切需要建立一套新的、合适的鉴定标准。欧盟已经计划改善和提高显微镜检测技术。最近欧盟委员会通过了禁止在种内循环使用同种的动物源性成分的法令,要求在脊椎动物水平上并且在分类学水平上对动物组织进行可靠的鉴定,计划的一个目标就是建立新的鉴定标准。除了骨头碎片,其它的碎片(例如骨骼肌)或许会提供更多的信息。

#### 2 免疫学方法

免疫学方法用于物种的鉴定已有很长的历史,早在 20 世纪初,建立在特异性抗体-抗原反应之上的免疫学方法就已经被应用于肉的种类鉴别。现在已有多种试剂盒被研发出来,用于饲料中动物源性成分的检测。其主要原理是应用抗原与抗体的特异性结合,即用一个物种的特异性抗原制作特异性抗体,然后用此抗体检测样品中有无特异性的抗原,进而用于检测样品中有无此物种的成分存在。目前应用较多的免疫学方法主要有 ELISA (酶联免疫吸附突验)方法和试纸条方法,其中 ELISA 方法中的夹心 ELISA 具有较高的应用价值。

然而,肉骨粉一般都要经过高温、高压处理,在这个过程中许多蛋白质都发生了变性,失去了抗原性和水溶性,这就给检测带来了困难。为了使用免疫学方法鉴定动物成分的种类,必须选择合适的动物成分作为抗原,其中肌肉组织的蛋白质具有较高的价值。目前已发现几种热稳定的蛋白质可以作为检测的目的蛋白,其中包括肌钙蛋白。

多克隆抗体和单克隆抗体都曾经应用在各种ELISA 检测中。最近一些针对热处理稳定的动物蛋白单抗被研制出来,由于单抗具有多抗不可比拟的优点,并且可以长期稳定的大量制备,已经逐步取代多抗。应用针对肌肉组织特异性蛋白的单克隆抗体建立的免疫检测方法能够检测肌肉组织,而不会与血液和包括牛奶、蛋清、蛋黄等在内的食品蛋白发生交叉反应。国外已成功地研制了针对几种不同动物肌钙蛋白的特异性单克隆抗体,运用这些单抗建立了鉴定反刍动物和单胃动物(猪、鸡)的 ELISA 方法,可以检测出经过 132℃、2h 处理的肌肉而不降低效果。

夹心 ELISA 适合于样品的检测,应用广泛,已经有多种商品试剂盒被开发出来,可以对肉骨粉、饲料,烹饪过的肉和生肉中的反刍动物成分和猪肉成分进行检测。进行快速检测的免疫试剂条试剂盒(lateral

flow strip test kit)也被开发出来,可以对饲料或肉骨粉中的反刍动物成分进行检测,并且能在十几分钟内得到结果。

免疫测定速度快、操作简单,不需要对工作人员进行特殊的培训;并且特异性高,能特异性地检测动物肌肉,而不与其它动物成分发生反应。ELISA 方法由于具有特异性和灵敏度高的优点,被广泛应用于食品和饲料中的肉类品种鉴别;并且 ELISA 不需要大型的科学设备,容易操作,可以进行大规模的检测。然而检测的成功首先建立在有可靠的捕获抗原的检测抗体之上,下一步研究的重点是进一步开发更有效的抗体和从饲料中提取蛋白的方法。总之,若敏感性和特异性都能达到要求,免疫学方法可以作为筛选方法,然而需要其它更精确的方法来确定被检样品结果的有效性。

#### 3 以检测 DNA 为基础的方法

以检测 DNA 为基础的方法主要有:核酸探针杂交、DNA 指纹分析、PCR-RFLP 分析、PCR 特异扩增(常规 PCR 方法和 Real-time PCR 方法)。其主要原理都是对各物种内特异的核酸序列进行提取、鉴定,从而判定饲料内有无该物种的成分,只是结果判别的信号条件不同。

核酸探针杂交方法的原理是碱基配对,即一条 DNA 链能与它的特异互补链配对形成双链 DNA。因此,用以一个荧光或放射性物质标记的单链核苷酸探针能够很快地从许多其它 DNA 分子的混合物中检测出它的互补单链。由于杂交探针需要用荧光或放射性物质进行标记,所以该法在实际检测中很少应用。

动物基因组中存在大量的分散重复序列(Interspersed Repeat Sequence, IRS),并且是种间高度特异的,DNA 指纹分析就是通过用哺乳动物中广泛存在的分散重复序列的特异引物进行 PCR 扩增。目前已建立了从牛到鸵鸟的 30 多种哺乳动物的 DNA 指纹图谱,来对饲料中的动物源性成分的 DNA 进行鉴定。由于 DNA 指纹比较有一定难度,所以该法在实际检测中也较少应用。

PCR-RFLP(限制性内切酶多态性分析)方法是用引物进行扩增,然后对扩增片段用限制性内切酶进行酶切,利用限制性内切酶的多态性进行检测。由于使用的限制性内切酶对 PCR 产物进行酶切分析不方便,所以该法在实际检测中应用较少。

PCR 特异扩增方法由于其简单、快速、特异性强,

成为目前最广泛应用的方法,特别是荧光 PCR(或称为 Real-time PCR)的应用使得检测的特异性和敏感性更高。Tartaglia 第一次设计了 PCR 试验,将其用于肉骨粉以及饲料中的反刍动物源性成分的检测。他所选的目标片段是线粒体 DNA 中编码 tRNAlys 和 ATP合成酶 8 亚基和 6 亚基的片段,高等植物中未发现其同源序列。我国的出入境检验检疫系统根据该方法制定了检测肉骨粉中牛、羊源性成分的行业标准。

但是,随后对 PCR 方法的验证让人们发现这一方法有缺陷,因为加工过程中的热处理使得大量 DNA 被严重降解,分解成小片段。有数据表明,当肉被加热到 100℃时,其中的 DNA 就被降解到 1 100bp至 300bp 左右。若设计的目的片段太长则可能无法扩增出,这在许多人的报道中被证实。因此,需要设计比较小的目的片段,同时要选择细胞内含量比较多的目标片段。目前所建立的 PCR 方法中以线粒体 DNA 中的细胞色素 b与 tRNAlys、ATP 合成酶亚基 8 和亚基 6 的片段为目标区域的较多,线粒体基因的其它部分如 D-loop 区域,还有其它核酸序列如卫星 DNA、actin基因、生长素基因、SINEs 和 LINEs 序列等也被作为检测的目的基因。

线粒体编码的长度为 60~70bp 的片段已经被作 为一些物种的目标片段进行检测,由于这些片段比较 小,用琼脂糖电泳检测非常不方便,但用荧光 PCR 检 测可以避免这些问题。Real-time PCR 中使用的 Taq-Man 技术是在引物的基础上又添加了一条探针,只有 在探针与扩增出的目标片段结合时, 才发出荧光信 号,可以根据发出的荧光对反应进行实时检测,比经 典的 PCR 方法特异性高,因为有引物和探针对目标 进行双重筛选。有资料表明,用这项技术对几种动物 成分进行检测,在所有样品中动物的成分都可清楚的 检测到。这一结果说明,肉骨粉经过加工后,即使温度 达到 141℃, 也有足够的 DNA 可通过 Real-time PCR 技术检测到,而当目标片段设计为 275bp 或 350bp 时,所有的样品都检测不到。同时,对于目前的定性检 测,利用不同的探针和染料可以做到一个反应内检测 多个动物品种。

PCR 方法可以检测大多数生产条件下生产的饲料,但生产过程的多样性导致了基因物质的不同降解水平。因此,不同的生产条件会对检测结果产生影响, 扩增的片断大小也会对检测的灵敏度产生影响。PCR 的缺点还表现在必须时刻防止交叉污染,并且这个方法无法检测动物 DNA 的来源,因为肉骨粉的出现与阳性信号的出现并无直接关系,乳汁、血液、脂肪都有可能是 DNA 的来源。PCR 方法相对来说是一种比较昂贵的方法,不仅试剂贵而且也需要比较昂贵的仪器,特别是荧光 PCR 仪。

#### 4 近红外光谱方法

近红外光谱分析技术(Near infrared reflectance spectroscopy, NIRS)是饲料界最广泛应用的技术之一,可以用于饲料中动物源性成分的检测。NIRS 的原理是饲料中的分子物质可以吸收不同波长的光线。其优点是检测快速、不用有害的试剂、所需样品量少、非破坏性检测、经济重复性好以及具有可以开发为商业化仪器的潜力;主要缺点是这项技术是间接的检测,因此需要大量样品的参考值来形成一个校正和参考模型。

#### 5 小结

目前,世界上许多国家特别是欧盟为了防止疯牛病已制定了各种法律来确保饲料的生物安全,主要是控制动物源性成分在饲料中的应用。禁止在反刍动物的饲料中添加肉骨粉和禁止动物源性成分的种内循环是防止疯牛病的主要措施,而这些法律、法规的有效实施需要有能够对饲料中动物源性成分进行鉴别的有效方法做后盾。

对肉骨粉种类鉴别的理想分析方法应当是特异、灵敏、快速、可被接受和高通量的。由于材料的来源不同,文中任何一种单一技术方法都无法满足上述要求,方法的选择依赖于许多因素,如检测的目的、样品的性质、样品的大小和数量、特异性和敏感性要求、时间周期、花费、可以接受的设施和设备等,应当根据被检测样品的具体情况选择某种或几种技术作为检测方法。通过对各种方法优缺点的评估,可以看出各种方法之间的关系是互补的而不是排斥的。例如近红外光谱和免疫学方法做为筛选方法,而显微镜学方法和PCR方法具有很高的法定价值,此外,近红外光谱法不受热处理的影响,可以与PCR方法以及免疫学方法互补。目前各种方法的持续改进,最终会使参考实验室制订出一个合适的方法用于具体的目的分析,这将是由一系列不同方法组成的方法系统。

(参考文献作者略,需者可函索) (编辑:崔成德,cuicengde@tom.com)

### 不同能量和蛋白质水平对 紫琅山鹅生产性能的影响

贾 青 吴 敏 赵国琦

摘 要 采用紫琅山雏鹅 90 只,公母各半,随机分成 I、II、II 3 个组,于不同生长阶段分别饲喂高水平能量、高水平蛋白,中等水平能量、中等水平蛋白,低水平能量、低水平蛋白的 3 种日粮,测定其生长性能、饲料利用情况和屠宰性能指标。结果表明,① 各组鹅只平均体重,0~4 周龄的 I 组、II 组、III 组分别为 1.18、1.34、1.37kg;5~8 周龄分别为 2.73、3.02、3.10kg;9~10 周龄分别为 3.77、4.35、4.35kg。随着组别的增加各生长阶段的体重都显著增加,其中 0~4 周龄 II 组、III 组的增重幅度分别较 I 组高 14.8%和 17.6%;5~8 周龄 II 组、III 组的增重幅度分别较 I 组高 8.4%和 11.6%;9~10 周龄 II 组、III 组的增重幅度分别较 I 组高 37.7%和 36.1%。②试验全期各组料重比以 II 组为最优,其次为 III 组、II 组。 ③ 各组间屠宰性能指标差异均不显著。 ④本试验的紫琅山鹅 0~4 周龄、5~8 周龄、9~10 周龄的适宜代谢能水平分别为 10.91、10.7、11MJ/kq;适宜蛋白质水平分别为 18%、15%、14%。

关键词 紫琅山鹅;能量;蛋白质;屠宰性能中图分类号 S835

近年来,养鹅业得到了迅速发展,特别是一些地方特色的品种受到青睐。但由于地方品种的规模小,饲养方式落后,主要以放牧为主,补饲为辅,并且尚没有饲养标准(王瑞晓,1999;严兆正,2002)。补饲主要以粮食原料及其副产品为主,使用配合饲料的数量较少,质量也不高。应用全价配合饲料,进行规模化、集约化、全舍饲的饲养方式可以扩大养殖规模,减轻放牧的劳动强度,提高饲养效率(高妍等,2004;Jamroz等,2001)。本试验旨在研究不同的能量、蛋白水平对地方品种紫琅山鹅的生产性能影响。

#### 1 试验材料及设计

#### 1.1 试验动物与饲养管理

紫琅山初生雏鹅 90 只,随机分成 3 组,每组 30 只,公母各半。饲养管理采用半敞开式舍饲,日粮为全价配合饲料,自由采食。每日早、晚各给料 1 次,自由饮水。

#### 1.2 试验日粮

试验日粮原料:玉米、豆粕、麸皮、鱼粉、草粉、添加剂。I组为高水平能量、高水平蛋白组;Ⅱ组为中等水平能量、中等水平蛋白组;Ⅲ组为低水平能量、低水

朗德鹅饲养标准、法国鹅饲养标准、前苏联鹅的饲养标准进行设计,即Ⅰ组接近朗德鹅饲养标准,但高于法国、前苏联鹅的饲养标准,Ⅱ组接近前苏联鹅的饲养标准、Ⅲ组接近法国鹅饲养标准。各试验组日粮营养水平见表 1。

平蛋白组。本试验的日粮代谢能、粗蛋白质水平参考

表1 各试验组日粮的营养水平

营养水平		0~4周		!	5~8 周		9	~10 焊	1
吕乔小干	I	II	$\overline{\parallel}$	I	II	Ш	I	II	$\blacksquare$
ME(MJ/kg)	12.12	11.52	10.91	12.2	11.5	10.7	12.6	11.8	11.0
CP(%)	20.0	19.0	18.0	17.0	16.0	15.0	16.0	15.0	14.0
Ca(%)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
P(%)	0.62	0.62	0.62	0.62	0.62	0.62	0.62	0.62	0.62
Met(%)	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40
Lys(%)	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70

#### 1.3 试验设计与方法

试验分育雏期(0~4 周)、生长期(5~8 周)、肥育期(9~10 周)3期进行,每期分别饲喂3种饲料。定期称重,计算耗料量。试验结束时在各组取鹅6只,公母各半,测定屠宰率、半净膛率、全净膛率、胸肌率、腿肌率等屠宰性能指标。

# 1.4 数据处理与分析 采用 SPSS 软件进行数据分析处理。

#### 2 结果与分析

2.1 增重、耗料量(见表 2)

2.1.1 0~4 周龄鹅只增重、耗料量

贾青,扬州大学动物科学与技术学院,225009,江苏扬州。 吴敏、赵国琦(通迅作者),单位及通迅地址同第一作者。 收稿日期:2006-04-05

项目		0~4 周			5~8周			9~10 周	
- 次日	I	П	Ш	I	II	Ш	I	II	Ш
平均体重(kg)	1.18±0.29 <sup>a</sup>	1.34±0.28 <sup>b</sup>	1.37±0.28 <sup>b</sup>	2.73±0.69 <sup>a</sup>	$3.02\pm0.60^{b}$	3.10±0.47 <sup>b</sup>	3.77±0.40 <sup>a</sup>	4.35±0.34 <sup>b</sup>	4.35±0.25 <sup>b</sup>
平均增重(kg)	1.08±0.22a	1.24±0.26 <sup>b</sup>	1.27±0.21 <sup>b</sup>	1.55±0.54 <sup>a</sup>	1.68±0.44ab	1.73±0.48 <sup>b</sup>	0.61±0.12a	0.84±0.21b	$0.83 \pm 0.18^{b}$
料重比	2.38±0.21 <sup>a</sup>	2.31±0.16 <sup>a</sup>	2.36±0.11ª	4.93±0.39 <sup>a</sup>	4.71±0.41 <sup>a</sup>	4.73±0.39 <sup>a</sup>	5.46±0.51ab	4.91±0.37 <sup>a</sup>	5.57±0.48b

表 2 试验期鹅只的体重、增重及料重比

注:表中同行肩标字母相同者表示差异不显著(P>0.05),字母不同者表示差异显著(P<0.05)。

由表 2 可见,4 周龄时 I、II、II 组鹅平均体重分为 1.18、1.34、1.37kg, II、III 组显著高于 I 组;各组的平均增重分别为 1.08、1.24、1.27kg, II、III 组显著高于 I 组,其中以Ⅲ组的增重最高;各组的料重比差异不显著,但以Ⅱ、III 组耗料较低。从体重的增加情况看,以Ⅲ组为最佳,Ⅲ组高于 II 组、II 组高于 I 组,但 II 组、III 组间差异不显著,I 组显著低于其它组,说明紫琅山鹅作为地方品种,饲养水平不宜过高,以接近法国鹅的饲养标准比较适宜。

#### 2.1.2 5~8 周龄鹅只增重、耗料量

由表 2 可见,8 周龄时试验鹅平均体重为 I 组 2.73kg、II 组 3.02kg、II 组 3.10kg, II、III 组平均体重相 近,差异不显著,但分别显著高于 I 组 10.6%、13.6%;平均增重 I 组 1.55kg、II 组 1.68kg、II 组 1.73kg, I 组 和 III 组间、II 组和 III 组间差异不显著,但 I 组和 III 组间差异显著,II 组、III 组分别比 I 组高 8.4%、11.6%;料重比 II 组、III 组分别低于 I 组 4%。该阶段日粮代谢能和粗蛋白质参照法国鹅和国内昌图豁鹅的饲养标

准设定,生长效果仍然是Ⅲ组高于Ⅱ组、Ⅱ组高于Ⅰ组。与国内的其它一些地方品种相比,紫琅山鹅增重和饲料消耗具有一定的优越性(苏秀霞等,1997;高妍等,2004)。这说明紫琅山鹅在5~8周龄能量和蛋白质水平也不宜过高,以Ⅲ组为最佳。

#### 2.1.3 9~10 周龄鹅只增重、耗料量

由表 2 可知,8 周龄的生长鹅经两周育肥,10 周龄后体重 I 组为 3.77kg、II 组为 4.35kg、III 组为 4.35kg、III 组为 4.35kg、III 组为 4.35kg,II 组 间差异不显著,但都显著高于 I 组 15.4%;体增重 I 组 0.61kg、II 组 0.84kg、III 组 0.83kg,II 组、III 组分别显著高于 I 组 37.7%、36.1%;料重比 I 组、III 组接近,II 组最低,且 II 组、III 组间差异显著。该阶段的代谢能和粗蛋白质水平以 III 组最佳,接近法 国鹅的饲养标准,说明在 9~10 周的育肥阶段营养水平也不宜过高(杨凌等,1998)。

#### 2.2 屠宰指标测定

10 周龄后测体重, 停料 24h, 空腹称体重后屠宰, 测定结果见表 3。

屠体 半净膛 胸肌 腿肌 半净膛重 半净膛率 全净膛重 全净膛率 项目 体重 屠体重 (%) (kg) (kg) (kg) (%) (kg)  $86.3 \pm 2.21 \quad 2.95 \pm 0.12 \quad 83.2 \pm 2.36 \quad 2.70 \pm 0.21 \quad 76.5 \pm 2.76 \quad 0.22 \pm 0.05 \quad 7.91 \pm 0.41 \quad 0.36 \pm 0.03 \quad 13.4 \pm 0.94 \quad 0.36 \pm 0.03 \quad 13.4 \pm 0.94 \quad 0.36 \pm 0.03 \quad 13.4 \pm 0.94 \quad 0.36 \pm 0.03 \quad$ I 3.55±0.13 3.06±0.11 3.97±0.19 3.41±0.09  $85.8 \pm 1.85$   $3.27 \pm 0.27$   $82.3 \pm 1.98$   $3.01 \pm 0.16$   $75.5 \pm 2.09$   $0.24 \pm 0.10$   $8.01 \pm 0.32$   $0.41 \pm 0.11$   $13.6 \pm 0.73$  $86.3\pm1.10$   $3.35\pm0.09$   $82.9\pm1.37$   $3.11\pm0.12$   $76.7\pm2.01$   $0.31\pm0.06$   $9.71\pm0.16$   $0.43\pm0.01$   $13.7\pm0.33$ 4.04±0.24 3.49±0.11

表3 紫琅山鹅屠宰指标测定结果

由表 3 可知,各组各项屠宰性能指标差异均不显著。胸肌率以 III 组最高, II 组次之,但各组间差异不显著;腿肌率各组变化幅度不大, III 组最高, II 组次之,且各组间差异不显著(Hsu JC等,1996;Kirsten DJ等,2002)。不同的代谢能和粗蛋白质水平没有显著地影响各项屠宰指标,且各组所获得的增重依次是 III 组最高,II 组次之,I 组最低;从节约饲料成本的角度,III 组次之,I 组最低;从节约饲料成本的角度,III 组的成本最低,营养水平相对比较合适。本次试验由于条件所限,没有能够对肉品质进行测定,这是不足之处,有待进一步研究。

#### 3 结论

0~4 周龄、5~8 周龄、9~10 周龄的体重、增重随着组别的增加而显著增加;试验全期各组料重比以Ⅱ组为最优,其次为Ⅲ组、Ⅰ组;试验各组间各项屠宰性能指标差异均不显著。紫琅山鹅不同生长阶段代谢能和粗蛋白水平以Ⅲ组最佳,0~4 周龄、5~8 周龄、9~10 周龄的适宜代谢能量水平分别为 10.91、10.7、11MJ/kg;0~4 周龄、5~8 周龄、9~10 周龄的蛋白质适宜水平分别为 18%、15%、14%。 (参考文献刊略,需者可函索)

(编辑:王 芳,xfang2005@163.com)

### 去皮膨化豆粕在断奶仔猎目粮中的应用

#### 孙培鑫 陈代文 余 冰 程宗佳

摘 要 试验采用 2×3 因子设计,在以普通豆粕为主的日粮 I 和以去皮膨化豆粕为主的日粮 II 中分别添加进口鱼粉 0%、2.5%和 5%,试验共 6 个处理组,各处理组日粮营养水平相同。将 150 头 31 日龄的断奶 PIC 仔猪(平均体重为 6.09-6.31kg)按体重相近的原则随机分为 6 个处理组,每处理组 5 个重复,每个重复 5 头仔猪,考察去皮膨化豆粕对仔猪生产性能和养分消化率的影响。结果表明,与普通豆粕相比,去皮膨化豆粕能改善仔猪的采食量(P=0.061),提高日增重 5.1%,降低腹泻指数 31.6%,改善对营养物质的消化率。鱼粉也影响仔猪的生产性能、营养物质消化率和腹泻指数 31.6%,改善对营养物质的消化率。鱼粉也影响仔猪的生产性能、营养物质消化率和腹泻指数,但与豆粕类型间存在显著的互作效应(P<0.05),普通豆粕日粮中添加鱼粉,仔猪的生产性能、营养物质消化率和腹泻程度均有改善,添加 5%鱼粉组效果最好;而去皮膨化豆粕中添加鱼粉除能降低仔猪料肉比外,对仔猪采食量、日增重、营养物质消化率及腹泻指数均无改善作用。试验表明,利用去皮膨化豆粕配制断奶仔猪日粮完全可以不添加鱼粉,但结合生长性能和经济效益考虑,以去皮膨化豆粕日粮中添加 2.5%进口鱼粉最好。

关键词 去皮膨化豆粕;进口鱼粉;断奶仔猪;生长性能中图分类号 S816.15

普通豆粕由于抗营养因子的存在限制了其在仔猪配合日粮中的使用量,同时还必须添加足量的动物性蛋白原料,如鱼粉等;去皮膨化豆粕是豆油被浸出后剩下的一种高蛋白饲料原料,豆粕经过去皮膨化后抗营养因子含量减少,活性降低,养分消化率提高。为此,本试验在仔猪配合日粮中用去皮膨化豆粕部分或全部代替进口鱼粉,从仔猪生产性能、腹泻指数和养分消化率及经济效益等指标分析,比较去皮膨化豆粕与普通豆粕加鱼粉用于配制断奶仔猪日粮的效果和经济效益,为去皮膨化豆粕的开发应用和降低饲料成本提供参考。

#### 1 试验方法与材料

#### 1.1 试验设计

按 2×3 因子试验设计,即在以普通豆粕为主的日粮 II 和以去皮膨化豆粕为主的日粮 II 中,分别添加 0%、2.5%和 5%的进口鱼粉,试验设计见表 1。

表1 试验设计

项目	0%鱼粉水平	2.5%鱼粉水平	5%鱼粉水平
普通豆粕	处理1组	处理2组	处理3组
去皮膨化豆粕	处理4组	处理5组	处理6组
注:去皮膨化豆	粕购自江苏东海	粮油有限公司。	

#### 1.2 试验动物及饲养管理

孙培鑫,四川农业大学动物营养研究所,625014,四川雅安。 陈代文、余冰,单位及通迅地址同第一作者。

程宗佳,美国大豆协会北京办事处。

收稿日期:2006-04-10

选择 30 窝 150 头健康 PIC 仔猪,分为 6 个处理,每个处理 5 个重复,于 24 日龄开始用相应日粮预饲一周,31 日龄时从每窝中选取体重相近的仔猪 5 头作为一个重复(平均体重为 6.09~6.31kg),开始正式试验,正式试验期 4 周。仔猪 28 日龄断奶,试验期间自由采食和饮水,按正常程序进行驱虫、免疫、消毒,其它按常规饲养进行。

#### 1.3 试验日粮

日粮配制参照 NRC(1998)《猪的营养需要》5~10kg 仔猪营养需要,营养水平做适当调整,各处理组日粮营养水平基本保持一致(见表 2)。所有日粮于正式试验前一次配齐,制粒、密封包装,于干燥凉爽处保存。

#### 1.4 测定指标及方法

#### 1.4.1 生产性能

日增重:试验正式开始第 0、7、14、21、28d 早上8:00 空腹称重,计算各阶段的平均日增重。采食量:准确称量和记录每个重复的日供料量、余料量、损失量,计算日采食量,并计算各阶段的平均日采食量。料肉比:根据各阶段的平均日采食量与平均日增重之比计算各阶段的料肉比。

#### 1.4.2 腹泻指数

每天分 3 次记录各个重复仔猪的腹泻评分,评分标准参照 Kelly(1990),以平均分为当天的腹泻指数,统计腹泻指数。

#### 1.4.3 养分消化率

于试验第 11~14d、第 25~28d,进行消化试验(内

项目	处理1组	处理2组	处理3组	处理4组	处理5组	处理6组
原料组成(%)						
玉米	53.315	55.692	57.882	57.02	58.705	60.475
普通豆粕(CP 43%)	33.05	29.14	25.255	0	0	0
去皮膨化豆粕(CP 46%)	0	0	0	30.2	26.65	23.09
进口鱼粉(CP 62.5%)	0	2.5	5	0	2.5	5
小麦麸	2	2	2	2	2	2
乳清粉	5	5	5	5	5	5
大豆油	2.95	2.65	2.3	2	1.85	1.65
胆碱	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12
赖氨酸	0.28	0.23	0.18	0.21	0.17	0.13
蛋氨酸	0.050	0.040	0.025	0.06	0.045	0.035
苏氨酸	0	0	0	0.145	0.13	0.105
碳酸钙	0.3546	0.3546	0.3046	0.3846	0.3346	0.2846
磷酸氢钙	1.53	1.15	0.84	1.5	1.2	0.86
食盐	0.3	0.25	0.2	0.3	0.25	0.2
防霉剂	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
预混料	1	1	1	1	1	1
合计	100	100	100	100	100	100
营养水平						
能量(MJ/kg)	14.03	14.03	14.03	14.03	14.03	14.03
CP(%)	19. 72	19. 72	19. 72	19. 72	19. 72	19. 72
Lys(%)	1.22	1.22	1.22	1.22	1.22	1.22
Met+Cys(%)	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68
Trp(%)	0.23	0.23	0.23	0.24	0.24	0.24
Thr(%)	0.83	0.83	0.84	0.83	0.83	0.83
Ca(%)	0.89	0.89	0.89	0.89	0.89	0.89
<b>P(AP)</b> (%)	0.66(0.42)	0.66(0.43)	0.66(0.45)	0.66(0.41)	0.66(0.43)	0.66(0.45)
Na(%)	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
粗纤维(%)	2.67	2.52	2.37	2.42	2.3	2.18
粗脂肪(%)	5.55	5.31	5.14	4.49	4.45	4.36
TAA(%)	9.60	9.63	9.64	9.57	9.61	9.64
价格(元/t)	2 410	2 457	2 506	2 417	2 466	2 510

表 2 仔猪试验日粮组成及营养水平

注:每千克饲粮中含 Fe 150mg、Cu 200mg、Zn 150mg、Mn 40mg、I 0.3mg、Se 0.3mg、VA 13 500IU、VD 3 000IU、VE 36IU、VK 33mg、VB<sub>1</sub> 3mg、VB<sub>2</sub> 7.5mg、VB<sub>6</sub> 6mg、VB<sub>12</sub> 0.03mg、生物素 0.15mg、叶酸 1.5mg、烟酸 34.5mg、泛酸钙 15mg。

源指示剂法:盐酸不容灰分),测定粗蛋白和干物质的消化率(杨胜,1993)。

#### 1.4.4 经济效益分析

根据全期耗料量、饲料价格和料肉比计算每个重复仔猪的每千克增重成本,进行经济效益比较。

#### 1.5 数据处理

试验数据用平均数±标准误(X±SE)表示,用 SPSS

(11.0)软件进行方差分析和多重比较。

#### 2 结果与分析

2.1 不同处理对仔猪生产性能的影响(见表 3、表 4)

表 3 豆粕类型和鱼粉添加量对仔猪生产性能的影响

167日	豆 豆	泊类型		鱼粉添加量	
项目	普通豆粕	去皮膨化豆粕	0%	2.5%	5%
1~2 周					
日采食量(kg)	0.191±0.003	0.198±0.003	$0.201 \pm 0.004^{b}$	0.187±0.003 <sup>a</sup>	$0.195 \pm 0.003^{ab}$
日增重(kg)	0.141±0.004	0.148±0.004	0.145±0.004	0.140±0.006	0.148±0.005
料肉比	1.369±0.03	1.344±0.03	1.392±0.02	1.354±0.05	1.324±0.04
3~4 周					
日采食量(kg)	0.534±0.008	0.552±0.008	0.557±0.012	0.534±0.008	0.538±0.011
日增重(kg)	0.414±0.01	0.433±0.01	0.423±0.01	0.423±0.01	0.424±0.01
料肉比	1.29±0.02	1.28±0.01	1.32±0.02 <sup>b</sup>	1.26±0.01 <sup>a</sup>	1.27±0.01 <sup>a</sup>
1~4 周					
日采食量(kg)	0.362±0.005	0.375±0.005	0.379±0.008	0.361±0.005	0.366±0.006
日增重(kg)	0.277±0.005	0.291±0.005	0.284±0.01	0.282±0.01	0.286±0.005
料肉比	1.310±0.02	1.292±0.01	1.336±0.01 <sup>b</sup>	1.284±0.02 <sup>a</sup>	1.282±0.01 <sup>a</sup>

注:同一行内肩标小写字母不同表示差异显著(P<0.05)。

項目			ş	<b></b>			豆粕	鱼粉	交互
项目	1	2	3	4	5	6		P值	
1~2 周									
日采食量(kg)	$0.193 \pm 0.005^{\text{AaB}}$	$0.183 \pm 0.003^{Aa}$	$0.195 \pm 0.003^{\text{AaBb}}$	$0.208\pm0.004^{Bb}$	$0.191 {\pm} 0.003^{\text{AaB}}$	$0.193\pm0.004^{AaB}$	0.059	0.020	0.152
日增重(kg)	$0.137 \pm 0.005^{ab}$	$0.130 \pm 0.008^a$	0.154±0.007 <sup>b</sup>	$0.152 \pm 0.005^{b}$	$0.150 \pm 0.007^{ab}$	$0.142 \pm 0.008^{ab}$	0.182	0.493	0.059
料肉比	1.410±0.02	1.423±0.07	1.274±0.03	1.374±0.02	1.286±0.05	1.373±0.06	0.532	0.370	0.062
3~4 周									
日采食量(kg)	$0.527 \pm 0.014^{Aa}$	$0.535{\pm}0.008^{\text{AaB}}$	$0.540 \pm 0.021^{\text{AaB}}$	$0.586 \pm 0.004^{Bb}$	$0.533{\pm}0.014^{\text{AaB}}$	$0.537 \pm 0.009^{\text{AaB}}$	0.031	0.997	0.003
日增重(kg)	0.391±0.01 <sup>Aa</sup>	$0.422 \pm 0.01^{\text{AaBb}}$	$0.429 \pm 0.01^{\text{AaBb}}$	$0.456 \pm 0.01^{Bb}$	$0.425{\pm}0.03^{\text{AaBb}}$	$0.419 \pm 0.02^{\text{AaBb}}$	0.102	0.202	0.038
料肉比	$1.35 \pm 0.03^{Bb}$	$1.27 \pm 0.02^{Aa}$	$1.257\pm0.02^{Aa}$	$1.287 \pm 0.01^{AaB}$	$1.257 \pm 0.02^{Aa}$	1.282±0.01 <sup>AaB</sup>	0.248	0.009	0.059
1~4 周									
日采食量(kg)	$0.360 {\pm} 0.008^{\text{Aa}}$	$0.359 \pm 0.005^{Aa}$	$0.368 \pm 0.012^{AaB}$	$0.398 \pm 0.004^{Bb}$	$0.362 \pm 0.009^{Aa}$	$0.365 \pm 0.005^{Aa}$	0.061	0.084	0.036
日增重(kg)	$0.264 \pm 0.005^{Aa}$	$0.276{\pm}0.008^{\text{Aab}}$	$0.292{\pm}0.007^{\text{ABbc}}$	$0.304\pm0.004^{Bc}$	$0.287 {\pm} 0.01^{\text{ABbc}}$	$0.280 \pm 0.007^{\text{AaBb}}$	0.028	0.828	0.005
料肉比	1.365±0.01 <sup>Bb</sup>	1.304±0.02 <sup>AaBb</sup>	$1.26\pm0.02^{Aa}$	1.308±0.01 <sup>AaBb</sup>	1.264±0.03 <sup>Aa</sup>	1.303±0.02ab	0.275	0.016	0.038

表 4 不同处理对仔猪生产性能的影响

注:同一行内肩标不同小写字母表示差异显著(P<0.05),肩标不同大写字母表示差异极显著(P<0.01)。

由表 3 可知,不同豆粕类型对仔猪生产性能的影响有差异,与普通豆粕相比,去皮膨化豆粕有提高仔猪日采食量和日增重,降低料肉比的趋势。从全期来看,与普通豆粕组相比,去皮膨化豆粕使仔猪日采食量提高 3.6%,日增重提高 5.1%,但差异不显著。

同时,由表 3 可见,鱼粉的添加量影响仔猪的生产性能。在试验的 1~2 周,添加鱼粉组仔猪日采食量降低,其中添加 2.5%鱼粉组采食量降低达显著水平(P<0.05),但添加鱼粉有改善饲料利用率即降低料肉比的趋势。从试验的 3~4 周和全期来看,添加鱼粉有降低仔猪采食量的趋势,对日增重无显著影响,但显著降低料肉比(与不添加组相比)(P<0.05),添加 2.5%和 5%鱼粉组间差异不显著。

由表 4 可见,鱼粉与豆粕类型对仔猪生产性能的影响具有互作效应。1~2 周时,普通豆粕中添加 5%的 鱼粉,仔猪的日采食量、日增重及饲料利用率均最好;而去皮膨化豆粕中添加鱼粉有降低仔猪日采食量和日增重的趋势,但添加 2.5%鱼粉组,仔猪料肉比最低,分别比不添加和添加 5%组降低 6.4%和 6.3%。从试验的 3~4 周和试验全期来看,鱼粉与豆粕类型互作对仔猪生产性能的影响显著(P<0.05),影响规律同试验的 1~2 周,即普通豆粕中添加 5%鱼粉时仔猪的生产性能显著提高(P<0.05);而去皮膨化豆粕中添加鱼粉降低仔猪日采食量和日增重,但添加 2.5%鱼粉组仔猪的料肉比最低即饲料利用率最高。

2.2 不同处理对仔猪腹泻指数的影响(见表 5、表 6)

				•	
项目	豆*	1类型		鱼粉添加量	
	普通豆粕	去皮膨化豆粕	0%	2.5%	5%
1~2 周	0.583±0.08	0.437±0.04	0.624±0.09	$0.505 \pm 0.07$	0.4±0.05
3~4 周	0.24±0.05b	$0.14\pm0.02^{a}$	0.238±0.06	0.167±0.04	0.161±0.02
1~4 周	0.487+0.07	0.333+0.03	0.504+0.08	0.392±0.07	0.335±0.04

表 5 豆粕类型和鱼粉添加量对仔猪腹泻指数的影响

注:同一行内肩标不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。

表 6 豆粕和鱼粉的交互作用对仔猪腹泻指数的影响

项目				处理组			豆粕	鱼粉	交互
	1	2	3	4	5	6		P值	
1~2周	$0.852 \pm 0.1^{Bb}$	$0.533 \pm 0.13^{\text{AaB}}$	$0.362{\pm}0.06^{\text{Aa}}$	$0.395 \!\pm\! 0.02^{Aa}$	$0.476 \pm 0.05^{\text{AaB}}$	$0.438 {\pm} 0.06^{\text{Aa}}$	0.054	0.058	0.016
3~4周	$0.368 \pm 0.08^{Bb}$	$0.197 {\pm} 0.08^{\text{AaB}}$	$0.154 \pm 0.04^{ab}$	$0.109 \pm 0.137^{Aa}$	$0.137 \pm 0.03^{\text{AaB}}$	$0.169 \pm 0.02^{\text{AaB}}$	0.034	0.321	0.056
1~4 周	0.719±0.1 <sup>Bb</sup>	0.431±0.13 <sup>AaB</sup>	$0.310 \pm 0.05^{Aa}$	0.288±0.02 <sup>Aa</sup>	0.352±0.07 <sup>Aa</sup>	0.360±0.06 <sup>Aa</sup>	0.025	0.113	0.015

注:同一行内肩标不同小写字母表示差异显著(P<0.05),肩标不同大写字母表示差异极显著(P<0.01)。

由表 5 可见,与普通豆粕相比,去皮膨化豆粕有降低断奶仔猪腹泻指数的趋势,在后期达到显著水平(P<0.05),全期降低腹泻指数 31.6%(P=0.052)。同时,添加鱼粉对仔猪腹泻指数也有影响,但与豆粕类

型间存在显著的互作效应(P<0.05)。由表 6 可见,试验各阶段普通豆粕无鱼粉组仔猪腹泻指数显著高于其它各处理组(P<0.05),添加鱼粉后仔猪腹泻指数显著降低(P<0.05),且随鱼粉添加量的增加,腹泻指

数降低的幅度越大;而去皮膨化豆粕无鱼粉组仔猪的腹泻指数在试验各阶段均为最低,显著低于普通豆粕无鱼粉组(P<0.05),在去皮膨化豆粕中添加鱼

粉,仔猪的腹泻程度增加,且添加量越高腹泻指数越高。

2.3 不同处理对养分消化率的影响(见表 7、表 8)

表 7 豆粕类型和鱼粉添加量对仔猪粗蛋白和干物质消化率的影响	表 7	豆粕峚刑和	<b>鱼粉添加量对</b>	字	质消化率的影响
--------------------------------	-----	-------	---------------	---	---------

项目		拍类型		鱼粉添加量	
火日	普通豆粕	膨化去皮豆粕	0%	2.5%	5%
前期(1~2 周)					
粗蛋白消化率(%)	83.205±0.571	83.790±0.420	83.624±0.853	83.422±0.430	83.448±0.534
干物质消化率(%)	86.827±0.415	87.14±0.268	86.623±0.618	86.920±0.252	87.407±0.313
后期(3~4周)					
粗蛋白消化率(%)	80.158±0.842	80.276±0.586	79.855±1.129	80.365±0.573	80.432±0.911
干物质消化率(%)	85.189±0.404	84.997±0.332	84.819±0.488	84.952±0.287	85.508±0.539

表8 豆粕类型和鱼粉的交互作用对仔猪粗蛋白和干物质消化率的影响

项目			处理	<b>理组</b>			豆粕	鱼粉	交互
	1	2	3	4	5	6		P值	
前期(1~2 周)									
粗蛋白消化率(%)	82.188±1.27 <sup>a</sup>	83.673±0.83ab	83.755±0.86 <sup>ab</sup>	85.059±0.796 <sup>b</sup>	83.170±0.331ab	83.140±0.71ab	NS	NS	NS
干物质消化率(%)	$85.248{\pm}0.631^{aA}$	87.381±0.39 <sup>bcB</sup>	$87.851 \pm 0.545^{bBc}$	87.998±0.611 <sup>Bc</sup>	86.46±0.169 <sup>aAbB</sup>	$86.962{\pm}0.215^{\text{AbBc}}$	NS	NS	P<0.01
后期(3~4周)									
粗蛋白消化率(%)	78.403±1.75	80.292±1.527	81.781±0.703	81.307±0.928	80.438±1.273	79.084±0.785	NS	NS	NS
干物质消化率(%)	$83.851 \pm 0.515^{aA}$	85.096±0.308 <sup>AbBc</sup>	86.621±0.624 <sup>BC</sup>	85.788±0.581 <sup>AbBc</sup>	84.808±0.516 <sup>aAbB</sup>	$84.395 \pm 0.546^{aAbB}$	NS	NS	P<0.01

注:同一行内肩标不同小写字母表示差异显著(P<0.05),肩标不同大写字母表示差异极显著(P<0.01)。

由表 7 可见,与普通豆粕相比,去皮膨化豆粕有提高断奶仔猪对粗蛋白质消化率的趋势,添加鱼粉对营养物质消化率也有影响,在后期有提高粗蛋白质和干物质消化率的趋势。由表 8 可见,豆粕类型和鱼粉对营养物质消化率影响存在交互作用,对干物质消化率的影响达到极显著水平(P<0.01)。 在试验各阶段,去皮膨化豆粕无鱼粉组的粗蛋白质和干物质消化率都显著或极显著高于普通豆粕无鱼粉组;普通豆粕组中营养物质消化率随鱼粉的添加而提高,而去皮膨化豆粕组中营养物质消化率则随鱼粉的添加量增加而降低。

#### 3 经济效益分析(见表 9)

表 9 每千克增重成本(元/kg)

处理	处理 1	处理2	处理3	处理4	处理5	处理6
增重成本	3.29	3.20	3.16	3.16	3.12	3.26

由表 9 可见,每千克增重成本最高为普通豆粕无 鱼粉组(处理 1 组),最低是去皮膨化豆粕+2.5%鱼粉 组(处理 5 组),而去皮膨化豆粕无鱼粉组(处理 4 组) 和普通豆粕+5%鱼粉组(处理 3 组)相当。

#### 4 讨论

由于早期断奶仔猪消化机能和免疫机能都不成熟,普通豆粕中的大豆抗原引起的过敏反应导致肠道

损伤,产生腹泻(谯仕彦等,1994;1995)。陈代文 (1994)认为,仔猪断奶后腹泻的直接原因是养分消化 率的下降,而根本原因是机体对日粮抗原发生的过敏 反应,从而降低了仔猪的生产性能。本试验发现,去皮 膨化豆粕提高了仔猪日采食量、日增重和营养物质的 消化率,降低了料肉比。从全期来看,与普通豆粕相 比,去皮膨化豆粕使仔猪日采食量提高 3.6%,日增重 提高 5.1%(P=0.054)。豆皮的主要成分是植物纤维,不能 或很难被单胃动物利用(熊易强,2000),豆粕去皮后, 抗营养因子部分失活和去除,对仔猪肠道的损伤降 低, 使仔猪的采食量和营养物质的消化率得到提高 (康玉凡,2003; Rudoloph,1983)。胡文琴等(2004)、陈 昌明等(2004)、余林等(2005)研究表明,膨化加工的 大豆产品能加快仔猪的生长,提高采食量和改善饲料 转化率,主要原因在于膨化加工的高温、高压可以使 大豆中的脲酶和抗胰蛋白酶失活,增加适口性,从而 提高采食量。同时膨化加工的物理作用使细胞壁破 裂,细胞内的脂肪和蛋白质等养分释放出来,更容易 被动物消化吸收。

试验表明,与普通豆粕相比,去皮膨化豆粕有降低断奶仔猪腹泻指数的趋势,在试验后期达到显著水平(P<0.05),全期降低腹泻指数 31.6%(P=0.052)。原因可能在于,豆粕膨化后抗营养因子如胰蛋白酶抑制

因子、尿素酶活性受到破坏或抑制,降低了其毒副作用(佘明伟,1991;谯仕彦,1997),从而降低了仔猪的腹泻程度;同时,膨化之后能降低仔猪血清抗 Glycinin和 β-conglycinin的 lgH 的效价,并能减轻仔猪对大豆蛋白引起的过敏反应程度(Li等,1990;1991;Friesen,1993)。

此外,豆粕类型和鱼粉添加量对仔猪的日采食量、日增重、料肉比、腹泻指数和营养物质消化率均有显著或极显著的交互作用。在普通豆粕日粮中添加鱼粉,仔猪的生产性能和腹泻程度及营养物质消化率均有改善,而去皮膨化豆粕中添加鱼粉除能降低仔猪料肉比外,对仔猪采食量、日增重和腹泻指数及营养物质消化率均无明显改善作用,具体机理有待进一步的研究。

#### 5 结论

本试验发现,去皮膨化豆粕提高了断奶仔猪的生长性能和养分消化率,降低了仔猪的腹泻指数。利用去皮膨化豆粕配制断奶仔猪日粮完全可以不添加鱼粉,但结合生长性能和经济效益考虑,以去皮膨化豆粕日粮中添加 2.5%进口鱼粉最好。

#### 参考文献

- 1 陈昌明,袁绍庆,程宗佳.去皮膨化豆粕取代进口鱼粉对仔猪生产性能的影响.饲料广角,2004,17:18~19
- 2 陈代文.应用通经分析法讨论仔猪断奶后腹泻的原因[博士学位论文].四川:四川农业大学,1994
- 3 胡文琴,孟庆利,程宗佳.膨化大豆对猪生产性能的影响.饲料广 角.2004(19):23~24
- 4 康玉凡,李德发,刑建军,等.生长猪对去皮豆粕中氮和能量利用

- 效率的研究.中国畜牧杂志,2003(2):24~26
- 5 谯仕彦,李德发,杨胜.不同加工处理的大豆蛋白日粮对仔猪断奶 后腹泻影响的研究.动物营养学报,1995,7(4):1~6
- 6 谯仕彦,李德发.膨化加工对全脂大豆养分含量和抗营养因子的作用.中国畜牧杂志,1997,33(6):11-13
- 7 旗仕房. 不同加工处理的大豆产品对早期断奶仔猪过敏反应、腹泻和粪中大肠杆菌含量的影响[硕士学位论文].北京:中国农业大学,1994
- 8 佘明伟.膨化加工大豆并对仔猪肠道内膜形态、消化吸收能力及 生产性能的影响[硕士学位论文].云南:云南农业大学,1991
- 9 熊易强.去皮豆粕及其在饲料配方中的价值.饲料技术讲座(1998~1999),美国大豆协会(北京).2000.28~34
- 10 杨胜主编.饲料分析及饲料质量检测技术.北京:中国农业大学出版社,1999
- 11 余林,梁海英,程宗佳.膨化豆粕部分或全部取代进口鱼粉对断奶仔猪生产性能的影响.饲料广角,2005(1):29~30
- 12 Friesen K GNelssen J LGoodband R D,et al.The Effect of Moist Extrusion of Soy Products on Growth Performance and Nutrient Utilization in the Early-Weaned Pig. J. Anim.Sci, 199,71:3 299-3 307
- 13 KellyD., SmythJA, McCracken. Effect of creep feeding on the incidence ,duration and severity of post-weaning diarrhea in pigs. Research Veterinary Science,1990, 48:223~228
- 14 LiD. F.,J.L.Nelssen,P.G.Reddy,et al.Measuring suitability of soybean products for early-weaned pigs with immunological criteria. J.Anim.Sci.,1991,69(8):3 299~3 307
- 15 LiD.F.,J.L.Nelssen, P.G.Reddy, et al. Klemm.Transient hypersensitivity to soybean meal in the early-weal weaned pig .J. Anim.Sci., 1990,68(6):1790~1799
- 16 RudolphB.C.,L.S.Boggs, D.A.Knabe, et al. Ande rson. Digestibility of nitrogen and amino acid in soybean products for pigs. J .Anim Sci,1983,57(2):373~386

(编辑:王 芳,xfang2005@163.com)

#### ・信 息 采 撷・

饲质

在畜禽养殖时,来自饲料方面的种种污染,往往是导致养殖损失和失败的主要因素。因此,在使用饲料时,要严防以下六种污染。

料

虫害、鼠害污染。虫害可造成饲料营养损失,或在饲料中留下毒素。在温度适宜、湿度较大的情况下,螨类对饲料 危害较大。鼠害不仅会造成饲料损失,还会造成饲料污染,传播疾病。

要

微生物类污染。饲料滋生黄曲霉菌、青霉菌、赤霉菌和镰刀霉菌等有害微生物,会产生黄曲霉毒素、赤霉毒素、赤霉烯酮等对畜禽有害的毒素,其中黄曲霉毒素的毒性最强。

防

抗营养因子污染。饲料中的抗营养因子主要有蛋白酶抑制因子、碳水化合物抑制因子、矿物元素生物有效性抑制因子、拮抗维生素作用因子、刺激动物免疫系统作用因子等。它们的存在会干扰畜禽对饲料养分的消化、吸收和利用。有害化学物质污染。主要包括农药污染、工业"三废"污染、营养性矿物质添加剂污染等三类有害化学物质。

种

非营养性添加剂污染。抗生素、激素、抗氧化剂、防霉剂和镇静剂的作用,对预防疾病、提高饲料利用率和生长速度有很大作用,但若不严格遵守使用原则和控制使用对象、安全用量及停药时间,药物及其代谢产物会在肉、蛋、奶中残留,并通过畜禽排泄物污染环境。

污

加工过程中产生的毒物交叉污染。加工工艺控制不当,饲料中成分复杂的添加剂在粉碎、输送、混合、制粒、膨化等加工过程中会发生降解反应、氧化还原反应,生成一些复杂的化合物。

此外,饲料生产过程中的混杂污染也是影响饲料卫生和质量的一个重要因素。因此,在饲料生产过程中要注意清扫设备,避免饲料在输送及混合过程中残留和污染。

# 植物单宁对反刍动物养分利用的影响

#### 张晓庆 郝正里 李发弟

单宁是抗营养因子,能与蛋白质结合形成不溶性 复合物,并能结合消化道中的消化酶与之形成无活性 复合物,影响动物对饲料蛋白质、碳水化合物的消化, 还可损伤小肠黏膜,干扰矿物质元素的生物有效性。 单胃动物对单宁的不良影响尤为敏感,当饲料中单宁 含量达 0.2%~0.5%时就明显抑制雏鸡生长[1]。然而对 于反刍动物,饲粮中合理搭配含单宁的牧草可起到保 护蛋白质的作用。近年来,新西兰等国家在传统的苜 蓿或三叶草草地中混播一定比例含单宁较高的牧草 种,如红豆草(Onobrychis viciifolia L)和百脉根(Lotus. corniculatus L),大大提高了草地的生产力,降低了臌 胀病的发病率。国外现代牧草育种中也把适宜的单宁 含量作为育种的目标四。但饲粮中单宁含量过多会对 反刍动物营养、健康产生不利影响。为此,笔者结合 2005年的试验研究[3],就单宁对反刍动物的营养和抗 营养作用作一综述。

#### 1 单宁的结构和性质

植物单宁(Vegetable Tannin)又称植物多酚(Plant Polyphenol),是广泛存在于植物体内的一类多元酚化合物,是植物进化过程中由碳水化合物代谢衍生出来的一种自身保护性物质,是植物与环境相互作用的产物<sup>[4,5]</sup>。在自然界中,单宁主要分布在双子叶植物的细胞壁或茎杆、树皮、花和种子的胞液内。在热带、亚热带乔木及灌木中含量非常高;豆科植物(如红豆草、百脉根、小冠花和大多数热带豆科植物)、油菜籽及高梁中单宁含量较高;小麦、白苜蓿、黄苜蓿含量较低。不同植物中单宁的含量随其生长环境不同而改变。

K. Frendenkerg 于 1920 年根据单宁的结构特征 将其分为水解单宁(HT)和缩合单宁(CT)两大类(见 图 1)。单宁相对分子量一般在 500~3 000 之间,红豆草中单宁分子量高达 28 000。水解单宁分子量相对 较小,由酚酸与单糖通过酯键结合而成,属 C<sub>3</sub>·C<sub>6</sub>结构,酯键不稳定,易被酸、碱和酶作用而水解;缩合单宁相对分子量较大,由类黄酮单位聚合而成,具有较

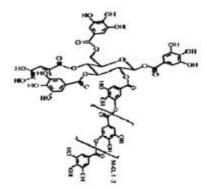
张晓庆,中国农业科学院草原研究所,010010,内蒙古呼和浩特市乌兰察布东路 120 号。

郝正里、李发弟,甘肃农业大学。

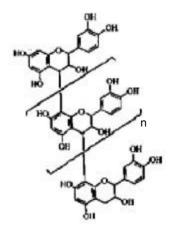
收稿日期:2006-04-10

★ 农业部农业产业结构调整重大技术研究专项(05-07-05B)

稳定的 C<sub>6</sub>·C<sub>3</sub>·C<sub>6</sub>结构,不易水解,在强酸性条件下缩合成不溶于水的物质。单宁分子中具有酚羟基、醇羟基及羧基等基团,可以发生酚类反应(包括酚羟基和苯环上的反应),也可以与醇、酸发生反应。单宁能与蛋白质、纤维素和金属离子、多种生物碱及淀粉等结合,也可以和消化酶结合。与水解单宁不同,缩合单宁在小肠中的降解产物对反刍动物几乎没有毒性<sup>[6]</sup>。



(a)水解单宁(Hydrolysable Tannin)



(b)缩合单宁(Condensed Tannin) 图 1 单宁的分子结构

#### 2 单宁的抗营养作用

#### 2.1 影响家畜的随意采食量

Feeny 早在 1968 年就发现,含单宁的燕麦具有阻食作用。高含量的单宁可与唾液黏蛋白结合并沉淀,引起粗糙皱褶的收敛感和干燥感,产生涩味,使组织产生收敛性,引起一系列不适反应。放牧家畜一般会有选择地采食一些适口性较好的牧草,而当富含单宁的牧草分布比较广泛时,家畜的进食性受到制约,从

而降低采食量。对草食动物,牧草中的缩合单宁含量超过 **3%**时就会降低采食量<sup>n</sup>。

#### 2.2 降低家畜对养分的消化率

单宁对反刍动物消化过程的影响是复杂的,过量单宁与饲料中蛋白质和碳水化合物结合后,非但不会被瘤胃微生物降解,而且可以抑制瘤胃微生物酶的活性。研究已证实,反刍家畜采食单宁含量高的饲草时,会降低蛋白质、碳水化合物等养分的消化率<sup>[8-10]</sup>。当单宁含量大于 5%时,会抑制瘤胃微生物的活动,甚至毒害家畜<sup>[11]</sup>。

狄莹(1999)的研究表明<sup>[12]</sup>,Ca<sup>2+</sup>不同于其它碱族金属离子,它在溶液中形成羟基络合物 Ca(OH)+,然后与单宁络合,反应产物沉淀于含钙矿物表面,阻碍机体对 Ca<sup>2+</sup>的吸收。张晓庆 2005 年进行的体内试验结果显示<sup>[3]</sup>,每千克饲粮干物质中含 3.40g 的红豆草单宁时,Ca 的消化率有低于不含单宁饲粮的趋势(P=0.095),但对磷的消化率无显著影响(P>0.05)。

#### 2.3 毒性作用

单宁本身对动物的毒性很低,动物采食单宁后的毒性来自单宁在体内被水解为多种小分子酚类化合物产生的毒性,因此,水解单宁的毒性大于缩合单宁。中国有关动物单宁中毒的报道,绝大多数是关于放牧家畜对栎树叶的中毒。中毒症状表现为食欲减退或废绝、停止反刍、便秘、粪便呈黑色、体温降低、水肿、出现蛋白尿和糖尿<sup>[11]</sup>。通过瘘管向瘤胃内容物中直接投入单宁,引起牛中毒的临界浓度为 3%~5%;山羊为8%~10%;绵羊饲料中按每千克体重加入 0.9g 水解单宁时,经 15d 饲喂后,绵羊即出现中毒现象<sup>[12]</sup>。

#### 3 单宁的营养作用

单宁是单胃动物的主要抗营养因子之一。对于单胃动物,必须采取适当方法降低或消除饲料(尤其是高粱和蚕豆)中的单宁。与单胃动物不同,单宁对反刍家畜则有积极的一面。

#### 3.1 过瘤胃蛋白保护作用

单宁能与植物性饲料中的蛋白质结合,降低该蛋白质在瘤胃中的溶解度和表面活性,避免被瘤胃微生物迅速降解,增加过瘤胃蛋白数量,从而提高蛋白质利用效率,并且还能降低瘤胃中泡沫的稳定性,防止臌胀病的发生[13,14]。单宁-蛋白质复合物在 pH 值 3.5~7.5 时不溶于水,可稳定存在,低于或高于此值时,即解离释放出蛋白质。反刍家畜瘤胃发酵过程中,pH 值在 6~7之间,与单宁结合的蛋白质比较稳定,不易被微生物降解;当此复合物流经真胃(pH 值 2.5)和小肠(pH 值 8~9)时,蛋白质与单宁立即分离,经胃蛋白酶

和胰蛋白酶分解,形成畜体容易吸收的小分子物质,在某种程度上起到了过瘤胃蛋白保护的作用。大量试验数据表明<sup>151</sup>,适当提高反刍动物饲料中的单宁含量,对采食量几乎不产生影响,但可提高过瘤胃食糜中非氨氮的比例,促进瘤胃尿素氮的循环,提高主要必需氨基酸的利用效率,虽然蛋白质的表观消化率有可能降低,但总的氮沉积率得到提高。

张晓庆<sup>18</sup>用尼龙袋法测定了经 6 个浓度(0%、5%、10%、15%、25%、35%)单宁酸水溶液处理的高蛋白豆粕(含 CP 45.46%)和 3 组含不同红豆草单宁(单宁量分别为每千克日粮干物质0、1.70、3.40g)饲粮在绵羊瘤胃中的蛋白质降解率。测定结果分别为(63.96±6.09)%、(54.24±2.74)%、(36.53±10.56)%、(28.67±8.89)%、(23.38±11.48)%、(19.53±8.15)%(P=0.010)和 33.56%、23.88%、20.59%。显然,随着单宁含量的增加,蛋白质的降解率逐渐降低。此结果与石碧(2000)<sup>161</sup>和周明等(1996)<sup>171</sup>的试验结果一致。同时,体内消化代谢试验显示,每千克日粮干物质含 3.40g单宁的饲粮处理,氮的存留率(40.69±3.33)%极显著(P<0.01)高于每千克日粮干物质含 1.70g单宁和不含单宁处理的氮的存留率(22.21±4.20)%和(21.13±3.66)%,而且此水平的单宁对氮的消化率和瘤胃细菌蛋白质合成无负面影响<sup>18</sup>。

反刍动物饲料中最佳单宁含量取决于其促进氮消化和抑制碳水化合物消化二者的平衡,一般建议为每千克日粮干物质含单宁 30~40q<sup>[15]</sup>。

#### 3.2 生产方面的作用

羊毛中的蛋白质主要由半胱氨酸构成,而半胱氨酸也是羊毛生长的第一限制性氨基酸。提高饲粮中含硫氨基酸的量能够提高羊毛生长速度。已证实给绵羊饲喂百脉根属牧草,其中的缩合单宁可以提高旁流半胱氨酸的量<sup>18</sup>。Min 等(1999)<sup>19</sup>认为,饲喂百脉根的绵羊产毛率增加 11%,可能与含硫氨基酸与必需氨基酸的吸收增加有关。另据报道<sup>20</sup>,在百脉根草地上放牧的羊与在黑麦草-白三叶草草地上放牧相比,其排卵率提高 14%。百脉根中的缩合单宁可减少瘤胃微生物对蛋白质的降解率,并提高小肠的吸收率,这一点可解释单宁提高生殖率的原因。

#### 3.3 抗寄生虫作用

单宁还具有抗寄生虫作用。研究显示,苜蓿在 1.25%~4.0%的单宁酸溶液中浸泡后,对苜蓿象甲虫 具有毒性和排趋性<sup>[21]</sup>。饲料中的单宁可降低肠道中线 虫类及其幼虫对畜主的不良影响<sup>[22]</sup>。

#### 参考文献

1 汪儆.饲料毒物与抗营养因子研究进展[M].西北大学出版社,1997.

114~117

- 2 Smith A K, Frank M, et al. Reducing post-harvest losses of forage protein[M].IGER. INNOVATONS.,2004.30~33
- 3 张晓庆.红豆草中单宁对饲粮蛋白质保护的效果[D].兰州:甘肃农业大学,2005
- 4 Birbal Singh, Tejk Bhat, Bhupinder Singh. Potential therapeutic applications of some anti-nutriti onal plant secondary metabolites [J].
  J. Agric. Food Chem., 2003, 51:5 579-5 597
- 5 Haslam E. Plant polyphenols and chemical defense a reappraisal [J]. J. Chem. Ecol., 1988, 14(10):1 789~1 805
- 6 汪海峰,缩合单宁对反刍动物的营养作用[J],中国饲料,2004(3): 26~28
- 7 Provenza F D. Post-ingestive feedback as an elementary determinant of food preference and intake in ruminants [J]. J. Range. Manage., 1995.48:2~17
- 8 Butler L G, Riedle D L, Lebryk D G, et al. Interaction of proteins with sorghum tannin: mechanism, specificity and significance [J]. J. Am. Oil Chem. Soc.,1984,61:916~920
- 9 Reddy N R, Pierson M D, Sathe S K, et al. Dry bean tannins: a review of nutritional implications [J]. J. Am. Oil. Chem. Soc., 1985, 62:541~549
- 10 Van-Soest P J,Mcdowell R E.Predicting the digestibility of tropical browse[J]. J. Anim. Sci., 1987, 65:339
- 11 史志诚.单宁生物活化理论及其应用[J].西北农业大学学报,1989 (1).27~32
- 12 Kumar R, Vaithiya A N. Nutritional significance and effect on

- animal productivity of tannins in treaves [J]. J. Anim. Sci. Technol, 1990, 30:21~38
- 13 Rumbaugh M D. Breeding bloat -safe cultivars of bloat causing legumes[J]. Proceedings of the Trilateral Workshop, 1985,238~245
- 14 刘志鹏,杨青川,胡天明.抗臌胀病紫花苜蓿研究进展[J].四川草原,2003(5):7
- 15 张子仪.中国饲料[M].北京:中国农业出版社,2000
- 16 石碧,狄莹.植物多酚[M].科学出版社,2000
- 17 周明.单宁对动物营养代谢的影响[J].中国饲料,1996(11):23~24
- 18 McNabb W C, Waghorn G C. The effect of condensed tannins in Lotus pedunculants on the digestion and metabolism of mothionine, cysteine and inorganic sulphur in sheep[J]. J. British. Nutri., 1993, 70:647~661
- Min B R, McNabb W C. The effect of condensed tannins in Lotus: Corniculatus upon reproductive efficiency and wool production in sheep during late summerand autumn [J]. J. Agric. Sci., 1999,132: 323~334
- 20 Bennett S E. Tanninc acid as a repellent and toxicant to alfalfa weevil larvae [J]. J. Econ. Ent., 1965(58):372-373
- 21 Loque A, Barry T N. The effect of grazing Lotus corniculatus during late summer -autumn on reproductive efficiency and wool production in ewes [J]. J. Agric. Res, 2000, 51:385-391
- 22 Barry T N,McNabb W C.The implication of condensed tannins on the nutritive value of temperate forages fed to ruminants[J]. Brit. J. Nutr., 1999, 81(4):263-272

(编辑:张学智,mengzai007@163.com)

# 小肽营养 全球共享

#### 2006中美小肽专家技术交流暨华达小肽专家委员会成立

乘"庆祝全国动物生理生化学分会成立20周年暨第九次学术交流大会"(2006-8-21-25)召开之东风、由美国华达公司(VBC) 倡导、广东省饲料工业协会、中国农机学会机械化养猪协会主办、在国内外多家大专院校专家参与、行业机构及媒体的支持下、 "2006中美小肽专家技术交流暨华达小肽专家委员会成立"大会将于2006年8月26日在广州华南农业大学降重召开。

本届大会云集了院士、博导、教授专家等各路名角,可谓精彩纷呈。更令人振奋的是,世界权威肽生理专家书伯教授首次莅 临中国传教、国内著名小肽营养的资深专家与会、中美"小肽专家"首次齐聚一堂、再度为您深层次地剖析"肽"的奥秘!

### 国际著名权威小肽专家韦伯博士首次莅临中国技术讲座

- ■第一场: 2006-8-22 上午于广州华南农大图书馆报告厅
- 第二场: 2006-8-26 上午于广州华南农大 (暫定)

科尼. 韦伯博士(Kenny Webb Jr., PhD)简介:



科尼. 韦伯博士 (Kenny Webb Jr., PhD), 任教于美国维珍尼亚理工大学动物科学院30多年,现任美国维真尼亚理工大学动物科学院院长兼博导。历任美国营养科学协会动物营养研究委员会秘书长和主席等职;任动物科学杂志,奶牛科学杂志,营养科学,美国生理科学等著名杂志的编辑、评审员;美国小肽协会成员。

韦伯博士为美国动物营养科学界里最具权威的蛋白-肽营养研究专家之一,成功地克隆动物小肽运转载体1和2; 在1997年获得维珍尼亚大学最高荣誉教授奖,2006年美国营养协会最高荣誉Milton E. Sunde奖得主。历年获美国农业部研究资金高额赞助经费及多项外来研究资金,曾在国际著名科学杂志如美国动物科学杂志、美国奶牛科学杂志、美国营养科学杂志等发表有关小肽和动物营养生理的研究文章106篇,他所发表的文章在小肽营养研究领域影响深远,他的文章被其他的研究文章引用400多次;曾应邀到全球各大学、机关、企业发表动物营养(含小肽营养)生理专题演讲超过100次。

参与技术交流的著名小肚专家还有: Thomas Shieh 薛晓生、Herman John Kuhl 约翰·库尔、江青艳、张永亮 、傅伟龙、计成、乐国伟、张石蕊(女)王碧莲(女)、周围等。

如果您想一睹本届会议中美各路豪杰的风采,如果您想更多了解全球顶级"肽势",百忙之中您别忘抽出一点时间赶来华南论"肽"。零 距离的接触,面对面的交流,这样的机遇您岂容错过?!

#### 历史性地聚首,跨越颠峰论剑,世界"肽"坛盛事,即将上演!

参会注册正在火爆登记中,详情请致电: 020-38465988 027-87878556 13995563035 13507185069 或登陆www.chinafeed.org.cn(中国饲料工业信息网)查询。

# 

#### 杨 威 刁其玉 李 辉

瘤胃酸中毒是反刍动物养殖中发生率比较高的一 种代谢疾病,特别是高产奶牛,很容易发生;瘤胃酸中 毒是由于奶牛进食过多的精饲料或饲料中精粗饲料搭 配不合理引起的,对动物的生产性能发挥和机体健康 有很大的影响。通常人们用莫能菌素作为瘤胃调控剂 预防瘤胃酸中毒, 而莫能菌素作为一种抗生素, 早在 2002年5月25日已经被欧盟国家列为禁用的饲料添 加剂,如何解决生产实际中的瘤胃酸中毒是反刍动物 养殖者非常关注的事情。苹果酸在反刍动物中可以起 到与莫能菌素类似的作用: ①它可以提高反刍兽新月 单胞菌对乳酸的利用,预防 pH 值下降引起的酸中毒; ②减少甲烷造成的能量损失,还可以缓冲瘤胃 pH 值, 对提高饲料利用率和动物生产性能有积极的作用。与 抗生素相反,苹果酸减少慢性酸中毒的发生是通过促 进而不是抑制瘤胃微生物的生长实现的;同时苹果酸 是某些生化代谢途径的中间产物,可被微生物或其它 生化反应所代谢利用,在畜产品中无残留,对人体安 全,不存在微生物耐药性选择、病原体抗药性转移等问 题。因此,苹果酸在调控瘤胃乳酸发酵和抑制瘤胃酸中 毒上的作用引起了国内外学者的极大关注。

#### 1 苹果酸降低瘤胃酸中毒的作用机制

DL-苹果酸是白色结晶体或结晶状粉末,有较强酸味,其化学名称为 DL-羟基丁二酸,分子式为  $C_4H_6O_5$ ,分子量为 134.09。苹果酸是瘤胃琥珀酸-丙酸途径的重要中间产物,它对瘤胃发酵的作用与莫能菌素类似,但其作用方式与离子载体抗菌剂不同。苹果酸可通过反刍兽新月单胞菌 (selenomonas ruminantium)促进琥珀酸和丙酸的产生,从而降低甲烷产生菌对  $H_2$ 的利用。大量的体外研究表明,苹果酸可以促进乳酸的利用,降低瘤胃酸中毒发生的机率,增加丙酸和 VFA 的产量,降低甲烷造成的能量损失,提高干物质、有机物、NDF 及半纤维素的消化率。

反刍动物采食大量碳水化合物后,瘤胃微生物消化释放出大量葡萄糖,使几乎所有微生物生长速度加快,尤其是仅靠葡萄糖生存的产乳酸菌——牛链球菌

的数量显著增加,瘤胃微生物群落发生变化,产生的大量乳酸使瘤胃 pH 值下降。而乳酸利用菌——反刍兽新月单胞菌由于不耐酸而增殖速度相对较慢,使得乳酸不能及时被吸收利用,致使瘤胃乳酸大量积累,造成酸中毒。但当瘤胃葡萄糖被消耗完以后,反刍兽新月单胞菌就可以利用乳酸作为能量和碳的来源。

添加苹果酸会促进反刍兽新月单胞菌的生长,提 高对乳酸的利用,缓解酸中毒。反刍兽新月单胞菌利用 逆柠檬酸循环的琥珀酸-丙酸途径,可以把乳酸转化为 琥珀酸和丙酸,作为能量合成的前体,苹果酸则是反刍 兽新月单胞菌利用这一途径代谢的关键中间体。苹果 酸促进反刍兽新月单胞菌对乳酸的利用路线: 乳酸→丙酮酸→草酰乙酸 Н₂→苹果酸→延胡索酸 → 琥珀酸 → 丙酸。苹果酸可以结合反刍动物瘤胃产 生的 H<sub>2</sub>, 因为如果 H<sub>2</sub>在中间产物中累积, 乳酸脱氢酶 就不能把乳酸转化成丙酮酸, 反刍兽新月单胞菌也就 不能利用乳酸。另一方面,反刍兽新月单胞菌利用乳酸 作为碳和能量的来源进行发酵,在此过程中,细胞内的 糖类含量下降,而补充的苹果酸可以转化为草酰乙酸, 补充因糖异生造成的草酰乙酸的不足, 使细胞的糖类 含量升高,细胞内的草酰乙酸增加,导致此发酵过程的 终产物乙酸、丙酸、琥珀酸的产量提高。

#### 2 苹果酸对反刍动物的作用

#### 2.1 对瘤胃 pH 值的影响

Nisbet 和 Martin(1990)证实,在相同条件下,苹果 酸存在时反刍兽新月单胞菌对乳酸的利用更有效(与 对照组相比,苹果酸增加了10倍,延胡索酸增加了4 倍)。Evans 和 Martin(1997)验证了细胞外 pH 值、乳酸 浓度及添加苹果酸对反刍兽新月单胞菌生长的影响。 结果表明,添加苹果酸可以增加乳酸的利用及细胞内 反刍兽新月单胞菌合成的糖类和蛋白质的含量。在苹 果酸存在时,乳酸的利用率为77%~80%,而没有苹果 酸时仅为 40%~70%。并且苹果酸提高了(pH 值为 5.5 条件下)细胞外反刍兽新月单胞菌对高浓度可溶性淀 粉和去壳谷物中乳酸的利用,降低了乳酸浓度,提高 了瘤胃内 pH 值。Martin (1999)用分别含有 0、27、54、 80g DL-苹果酸的 500ml 磷酸盐缓冲液对饲喂含粉碎 谷物日粮的肉牛进行瘤胃灌注,结果发现,随苹果酸 浓度的增加,瘤胃 pH 值呈线性上升,且总 VFA 含量 及乙酸浓度线性增加。

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

刁其玉(通迅作者)、李辉,单位及通迅地址同第一作者。 收稿日期:2006-04-10

此外,CO<sub>2</sub>是反刍兽新月单胞菌利用琥珀酸-丙酸途径把乳酸发酵为丙酸的终产物。Martin(1998)也证实,补充苹果酸在利用琥珀酸-丙酸途径增加乳酸利用的同时,也增加了CO<sub>2</sub>的产量,缓冲了瘤胃pH值。也有人认为苹果酸可以作为唾液促进剂缓解瘤胃pH值,预防酸中毒。

#### 2.2 对能量的影响

瘤胃甲烷的产生不仅意味着饲料能量的浪费、动物能量利用的损失,而且对大气环境也造成一定的污染,对大气臭氧层具有破坏作用。反刍动物的甲烷产量约为全球动物和人类甲烷释放总量的 95%。瘤胃甲烷产生菌合成甲烷遵循方程 4H<sub>2</sub>+CO<sub>2</sub>=CH<sub>4</sub>+2H<sub>2</sub>O,而苹果酸可以作为电子的受体,与甲烷产生菌竞争 H<sub>2</sub>,使甲烷生成量下降。因此,苹果酸对甲烷的作用来自对 H<sub>2</sub>的抑制而不是抑制甲烷产生菌。

添加苹果酸可增加 VFA 的总量。在去壳谷物中添加 8 或 12mM DL-苹果酸可使瘤胃发酵总 VFA 增加,最终的 pH 值上升,乙酸、丙酸比值及甲烷含量下降(Matin 和 Streeter,1995)。Matin(2000)发现,混合瘤胃液的粉碎玉米日粮中添加糖和苹果酸(浓度分别为2.25、3.25g/I)时,乙酸、丙酸及总 VFA 量增加,pH 值升高。

#### 2.3 对碳水化合物的影响

在反刍动物瘤胃中添加 DL-苹果酸盐可引起可溶性淀粉和脱皮玉米微生物发酵的最终 pH 值、甲烷及 VFA 发生变化,这与离子载体的作用类似。Nisbet Martin (1994)发现,在反刍动物饲喂高浓度快速发酵碳水化合物日粮中添加苹果酸,可以提高反刍兽新月单胞菌(pH 值为 6 时)对乳酸的利用。苹果酸可有效提高饲喂高浓度谷物日粮后 1~2h 的 pH 值,因此,在日粮中补充苹果酸是降低瘤胃酸中毒的有效手段。

不同种类谷物对瘤胃酸中毒的影响不同,反刍动物若大量采食小麦、大麦或加工玉米,会极大地增加酸中毒发生的危险度,而采食燕麦和高粱的危险度则相对较低。但这些谷物经粉碎、脱皮处理后,在增加瘤胃对其淀粉的消化的同时,也加大了酸中毒发生的几率。Crespo等(2002)观察了在玉米、大麦、小麦、高粱4种谷物日粮中添加苹果酸盐(4、7、10mM)对瘤胃发酵的影响效果。结果表明,随苹果酸添加量的增加,每种日粮中最终pH值提高。苹果酸还可增加日粮的CO2产量,降低CH4产量,尤其是大麦和小麦日粮。并且所有组的L-乳酸的含量下降,VFA的产量增加。另有试验表明,在肥育牛的高浓度谷物日粮中添加苹果酸80g/(头·d)使瘤胃的pH值提高,而微生物的生长和淀粉、纤维及蛋白的消化没有受到不良影响。上述结

论表明,苹果酸可促进高浓度谷物日粮的发酵,减少酸中毒的发生。

#### 2.4 对反刍动物生产性能的影响

理论上,反刍动物饲喂苹果酸可以提高饲料的转 化率,提高动物的生产性能,因为苹果酸是能量代谢 途径的关键物质,对动物生产性能的提高具有非常重 要的作用。1982年 Kung 等发现,以玉米青贮为基础 日粮的产奶早期及中期的荷斯坦牛补充苹果酸, 140g/(头·d)组较 0、70、105g/(头·d)组产奶期延长,总 VFA 量增加,而在苹果酸各处理组之间,干物质采食 量、奶产量及奶成分无显著差异。Stallcup(1979)给饲 喂高丹草和玉米型日粮的荷斯坦奶牛分别补充苹果 酸 28、70g/(头·d),结果表明,补充 70g/(头·d)组的产 奶量较对照组高。Devant 和 Bach(2004)发现,在产奶 早期饲喂奶牛 84g/(头·d)苹果酸与对照组相比,增加 了产奶高峰期的产奶量。2006 年 Niffen 等研究发现, 补充 50、100g/(头·d)苹果酸的奶牛,其微生物氮产量 及用于微生物氮合成的有机物和碳水化合物的利用 率增加,奶产量增加而奶成分不受影响。

对肉牛的相关研究相对较少。Sanson 和 Stallcup (1984)发现,给荷斯坦公牛饲喂苹果酸提高了日增重和饲料效率,但对血清成分的影响不明显。Martin等(1999)采用 33 头阉公牛进行舍饲试验,添加 40~80g/(头·d)的苹果酸,试验结果表明,饲料效率提高8.1%,日增重随苹果酸的增加呈线性增加。但也有试验证实肥育牛饲喂苹果酸后生产性能并未提高,DMI(干物质采食量)、日增重、胴体特性所受影响也不大,这说明苹果酸的添加效果受牛肥育阶段及多种因素影响。

#### 3 小结

瘤胃酸中毒对养牛场造成相当大的经济损失,但高能日粮又是高产奶牛和育肥牛所必须的。大量体外试验表明了苹果酸对瘤胃微生物调控的有益影响,及对预防酸中毒的作用。但苹果酸价格较贵,生产中使用会大大增加饲养成本,人们开始尝试用富含苹果酸的苜蓿青草调节日粮组成来补充苹果酸,节约成本,这在理论上是可行的,但苹果酸效果的发挥受日粮类型、精粗比等多种因素影响,所以实践中的效果并不理想。但不管怎样,苹果酸的作用是不可否认的,在现代畜牧生产中,苹果酸将成为继抗生素后与益生素、酶制剂等并列的重要添加剂。另外,影响苹果酸使用效果的原因尚未全面探明,苹果酸的最佳使用剂量、补充的最适时间等问题都需要进一步研究。

(参考文献 15 篇, 刊略, 需者可函索) (编辑: 张学智, mengzai007@163.com)

## 描播渣在动物生产中的应用研究

胡海波 张石蕊 易学武 杨 强

摘 要 柑橘渣是柑橘加工业的主要副产物,约占鲜重的 45%-60%,是优良的反刍动物饲料,在单胃动物的营养和免疫方面也具有开发价值。文章主要从 3 个方面综述了国内外关于柑橘渣作为饲料资源开发的研究进展:①柑橘渣的不同加工处理方法对营养成分的影响;②柑橘渣在牛、羊、猪、家禽生产方面,特别是在反刍动物饲料中的应用;③柑桔渣作为添加剂在饲料加工业中的研究和应用。

关键词 柑橘渣;日粮;动物生产中图分类号 S816.35

Application of citrus pulp in animal production Hu Haibo, Zhang Shirui, Yi Xuewu, Yang Qiang

Abstrac When orange or grapefruit are processed for juice or section,45% ~60% percent of weight remains, it is citrus pulp. Citrus pulp is palatable to cattle and mature cows will. Three items will be discussed in this paper: ①different kinds of procession (fresh citrus pulp,silage citrus pulp, dried citrus pulp, and citrus pulp in pellet)and its affection in its nutrition values; ②citrus pulp are used in animal feed especially in ruminant; ③citrus pulp values in feed industry.

Key words citrus pulp; feed; animal production

我国的柑橘栽种面积居世界首位,柑橘产量达到 1 014 余万吨,占世界总产量的 11.79%,仅次于巴西(23.7%)和美国(15.9%),位居世界第三<sup>[1]</sup>。随着我国柑橘产业的日益增大,所产生的加工副产物也越来越多,这些副产物含有丰富的碳水化合物、维生素和矿物质以及粗脂肪、粗蛋白。在美国、巴西等柑橘加工业发达的国家,柑橘渣已经被广泛地用于反刍动物饲料,而在我国,除了少量的用于提取果胶,做中草药(陈皮)以及少量被用作饲料外,大部分都被抛弃或填埋,不仅造成了饲料资源大量浪费,而且造成了严重的环境污染<sup>[2]</sup>。如何科学、合理地解决柑橘渣的处理问题,已成为相关学科研究人员亟待解决的问题。

#### 1 柑橘渣的处理方法以及营养成分分析

#### 1.1 鲜柑橘渣

胡海波,湖南农业大学动物营养研究所,410128,湖南长沙。

张石蕊、易学武、杨强,单位及通迅地址同第一作者。 收稿日期:2006-05-15 鲜柑橘渣是柑橘加工业的主要副产物,主要由柑橘皮(60%~65%)、丝穰和粹屑(30%~35%)、种子(0~10%)所组成,其常规营养成分见表 1。由于柑橘渣含水量高(约为 70%),鲜渣很容易腐烂变质,而且不适合长途运输,从经济角度来看,一般只适合于加工厂附近的养殖场。

表 1 柑橘渣的常规营养成分(%)

产地	干物质	粗蛋白	粗纤维	粗灰分	脂肪	无氮浸出物	钙	磷
中国国	88.80	8.17	9.02	3.31	2.60	65.70	0.60	0.07
以色列 <sup>[4]</sup>	83.90	6.80	6.20	3.70	1.90	81.40	1.30	0.12

#### 1.2 青贮柑橘渣

由于我国收获柑橘具有很强的季节性,柑橘渣生产也有很强的季节性,柑橘渣的大量生产主要在冬季。张石蕊和周红丽<sup>[4]</sup>(2003)、吴厚玖和焦必林等<sup>[5]</sup>(1997)就我国的柑橘渣青贮做了不少研究,这些研究表明,柑橘渣特别适合青贮,经过长时间青贮仍然能很好的保持新鲜柑橘渣营养成分,青贮柑橘渣营养成分含量为:干物质87.76%、粗蛋白7.85%、粗纤维11.9%、粗灰分2.86%、脂肪3.00%、无氮浸出物62.15%、钙0.73%、磷0.21%。青贮是快速、大量处理鲜渣的经济、

有效的方法,值得推广。国外研究表明:柑橘渣青贮的第 2~4d 产生大量的乳酸,青贮的 pH 值迅速下降。Ashbell 和 Donahaye<sup>ld</sup>研究表明:青贮时的损失可以达到(33.7±1.98)%,其中 9.8%为渗出液,23.9%为其它损失。为了减少青贮时的营养物质损失,Ashbell 等<sup>[7,8]</sup>采用先热烫和碱处理,然后再青贮的方法,但是效果不显著。Weinberg 等<sup>[9]</sup>采用尿素氨化、添加山梨酸、脱水等方法处理,结果表明,山梨酸能有效减少青贮时营养物质的损失,氨化处理能提高柑橘渣的氮含量,可以弥补氮不足的缺陷。

#### 1.3 干燥柑橘渣

干燥柑橘渣是间接或直接将柑橘渣中的水分含量降低到12%左右。据Gohl<sup>41</sup>报道,采用两步法干燥处理柑橘渣,第一步用石灰对柑橘渣进行处理,固定柑橘渣中的果胶。第二步有两种方法:①采用挤压的方法挤出其中所含有的汁液,挤出的汁用来做柑橘蜜(含水量约30%~40%,也是一种好的动物饲料);②用旋转式干燥机进行干燥,这种方法的成本比较高。干燥的柑橘渣具有很强的吸潮性,应该存放在干燥的地方,可以保存几年而其营养不损失。这种方法适合工业化处理,但是能量消耗大,干燥成本高。

#### 1.4 柑橘渣颗粒

柑橘渣颗粒是指直径 0.2~0.6cm 的柑橘渣, 其含水量低于 12%,粗蛋白含量高于 5.0%,粗纤维含量低于 14.0%。这种处理方法在美国佛罗里达、巴西等柑橘加工业发达的地区和国家被广泛采用,仅巴西每年出口欧盟的柑橘渣颗粒就上百万吨,美国每年也有约70万吨的柑橘渣颗粒用于反刍动物饲料。柑橘渣颗粒是一种很好的反刍动物饲料,被广泛用做肉牛和奶牛的饲料,一般用量不超过其干物质采食量的 30%。由于干燥的柑橘渣颗粒极易吸收水分,储存过程中应防止吸潮变质。

#### 2 柑橘渣在动物饲料中的应用研究

#### 2.1 柑橘渣在反刍动物营养中的应用

吴厚玖等<sup>18</sup>采用发酵柑橘渣饲喂奶牛发现,饲喂第 2d 开始,奶牛产奶量增加,结束饲喂后,仍然能持续一个星期的高产,且奶牛皮毛变亮,免疫力得到不同程度的增强。国外学者就柑橘渣代替奶牛日粮中的能量饲料的比例,代替全混合日粮的比例等各方面做了大量的研究。 Miron 等<sup>101</sup>用占日粮 11%的柑橘渣代替等量的玉米,采用全混合日粮饲喂,结果表明,用柑橘渣代替玉米能提高饲料转化成牛奶的效率。Anderson<sup>111</sup>等用柑橘渣分别代替 0%、33%、67%、100%的

玉米,采用全混合日粮饲喂的方法,结果表明,用柑橘渣代替日粮中100%的玉米,不影响产奶性能(见表2)。但是,全混合日粮中每增加1%的柑橘渣,粗脂肪的摄入量就下降0.42q。

表 2 柑橘渣不同的添加水平对奶牛产奶性能的影响[11]

<del></del>	7	平均			
	0	33	67	100	十均
产奶量(kg/d)	20.2	20.7	20.6	20.5	20.5
校正奶量(kg/d)	21.9	22.2	22.4	22.5	22.3
粗脂肪(%)	4.55	4.49	4.57	4.63	4.56
粗蛋白(%)	3.52	3.51	3.52	3.52	3.52
干物质(%)	13.86	13.91	13.68	13.92	13.84
脱脂干物质(%)	9.31	9.42	9.32	9.28	9.33

Rossi<sup>172</sup>报道,柑橘渣含有大量的可消化粗纤维,能为肉牛生长提供大量的能量,能降低酸中毒和胀气发生的概率,小牛饲养中柑橘渣的添加量以不超过40%为宜,水牛饲喂柑橘渣,则需额外添加蛋白质饲料,而旱牛则不需要额外添加,只需要干草中粗蛋白含量不低于8%。Fentress等<sup>173</sup>研究表明,用柑橘渣代替玉米,加以适量的高蛋白原料,育肥效果没有明显的差异。由于柑橘渣的钙、磷不平衡,当柑橘渣的添加量较大时,还要注意日粮的钙、磷平衡。

Broderick等<sup>[14]</sup>采用意大利当地山羊做了柑橘渣的动物试验,结果表明,在添加量小于30%(柑橘渣和青贮小麦秸混合物)的情况下,采食量、胴体品质和肉质都没有显著差异。Rihani等<sup>[15]</sup>试验表明,用柑橘渣代替日粮中10%的能量饲料,脂肪、蛋白质、总能和无氮浸出物的消化率没有显著差异,而粗纤维的消化率明显升高。Zervas和 Fegeros<sup>[16]</sup>试验表明,用柑橘渣代替10%的日粮干物质,对山羊的乳脂率、蛋白和乳糖含量没有显著影响。

#### 2.2 柑橘渣在猪饲料中的应用研究

Yang 和 Chung<sup>[17]</sup>在生长肥育猪饲料中添加 10%的柑橘皮粉,有利于提高猪的生长性能,改善胴体品质,降低背膘厚度。

#### 2.3 柑橘渣在家禽生产中的应用研究

韩国科学家 Yang 和 Chung<sup>18</sup>用火鸡做了柑橘渣的动物试验,结果表明,随着柑橘渣添加量的增多,采食量下降,日增重下降,但是只代替 5%的日粮,对肉鸡的生长影响不大。Yang 和 Chung<sup>19</sup>用产蛋鸡又做了一个类似的试验,结果表明,柑橘渣的添加量在 5%-10%时,产蛋性能、体重和采食量没有明显的改变,但是当添加量达到 15%时则生产性能大幅下降。

#### 3 柑橘渣添加剂在饲料工业中的应用

#### 3.1 作为天然抗氧化剂

柑橘皮中含有大量的类黄酮化合物,目前已经鉴定出 60 余种,最常见的有柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、柚皮素香苷等二氢黄酮类。塔娜等<sup>201</sup>采用橘子皮做了植物油和猪油的抗氧化性试验,结果表明,对植物油来说,添加橘皮粉 0.02%、0.1%时,抗氧化效果最好;对猪油来说,添加量为 0.3%时抗氧化效果最好。

#### 3.2 作为饲料防霉剂

目前,我国饲料工业中的防霉剂绝大部分都是化学合成的。日本采用柑橘皮为原料提取出了天然的防霉剂,在饲料中添加 1%~3%,就能延长饲料的保存期。

#### 3.3 作为营养性添加剂

张石蕊等[21] 报道,风干柑橘渣含有丰富的铁(49.7mg/kg)、锰(8.75mg/kg)、锌(1.62mg/kg)以及维生素。邢廷铣[22]报道,将柑橘的皮、丝瓤和果核晒干,碾成粉末,按一定量掺入饲料中饲养畜禽,如用 1%~2%的柑橘渣加入鸭饲料,2%~3%加入鸡饲料,1%~5%加入猪饲料、牛饲料中,均取得了较好的效果。

#### 参考文献

- 1 王文娟,汪水平.柑橘渣的综合利用[J].中国饲料,2004,14:30~33
- 2 李兆龙,俞福惠.柑橘综合利用[M].上海科学技术文献出版社, 1997.18~25
- 3 张石蕊,陈铁壁,金宏.柑橘加工副产品中饲料营养物质的测定 [J].饲料研究,2004,1:28~29
- 4 Citrus by products for animal feed. Gohl. B. I. http:// www. fao. org/ DOCREP/004/X6512E/X6512E 08.htm#ch8
- 5 吴厚玖,焦必林.柑橘渣发酵饲料中试验研究[J].中国饲料,1997, 17:37-39
- 6 Ashbell. G., E.Donahaye.Laboratory Trials on Conservation of Orange Peel Silage[J]. Agric.Wastes, 1986, 15:133~137
- 7 AshbellG., G.Pahlow., B.Dinter.Dynamics of Orange Peel Fermentation During Ensilage[J].J.Appl.Bact., 1987, 63: 275~279
- 8 Ashbell. G., Z. G. Weinberg. Orange Peels: The Effect of Blanching and Calcium Hydroxide Addition on Ensiling Losses [J]. Biological Wastes, 1988, 23:73-77
- 9 Weinberg. Z. G., R.E. Muck. The effect of treatment with urea, sorbic acid or dehydration on orange peel silage [J]. Anim. Feed Sci. Tech, 1996, 20:335~342
- Miron. J., E. Yosef, D.Ben Ghedalia. Digestibility by Dairy Cows of Monosaccharide Constituents in Total Mixed Rations Containing Citrus Pulp[J]. J. Dairy Sci, 2002, 85:89-94
- Anderson Jorge de Assis, José Maurício de Souza Campos, Sebastiao de Campos Valadares Filho.Citrus Pulp in Diets for Milking Cows. 1. Intake of Nutrients, Milk Production and Composition R [J]. Bras.

- Zootec., 2004, 33(1): .242~250
- 12 Rossi. J. Using Citrus Pulp in Beef Cattle Diets [J]. Livestock newsletter, 2004(6~8):2~13
- 13 Comparative Feeding Value of Dried Citrus Pulp, CornFeed Meal and Ground Snapped Corn for Fattening Steers in Drylot. Fentress M.P.,W.G.Kirk.http//:edis.ifas.ufl.edu/
- 14 Broderick, G. A., D. R Mertens., R.Simons.Efficacy of carbohydrate sources for milk production by cows fed diets based on alfalfa silage[J]. J. Dairy Sci., 1985:1 767~1 776
- 15 Rihani.N., W.N.Garrett., R.A.Zinnf. Effect of source of supplemental nitrogen on the utilization of citrus pulp-based diets by sheep[J]. J. Anim.Sci.,1993,71:2 310~2 321
- 16 Fegeros. K., G. Zervas. Nutritive value of dried citrus pulp and its effect on milk yield and milk composition of lactating ewes [J] J. Dairy Sci,1995,78:1 116~1 121
- 17 Yang S. J., C. C. Chung. Studies on the utilization of citrus by-products as livestock feeds. VI. Feeding value of dried citrus by-products for growing -fattening pigs. Korean Journal of Animal Science 1987, 29:258-266
- 18 Yang S. J., C. C. Chung. Studies on the utilization of citrus by-products as livestock feeds. II. A study on the feeding value of the citrus by-products for broiler chicks. Korean Journal of Animal Science 1984, 26:244~250
- 19 Yang S. J.,C. C. Chung. Studies on the utilization of citrus byproducts as livestock feeds. IV.. Korean Journal of Animal Science, 1985, 27: 239~245
- 21 张石蕊,周红丽.鲜柑橘渣青贮方式及青贮皮渣饲料的质量评定 [J].动物科学与动物医学,2003,20(11):28-29
- 22 刑廷铣.柑橘皮做畜禽饲料添加剂[J].农村养殖技术,2002,8:29 (编辑:高 雁,snowyan78@tom.com)

#### ・信息采撷・

# 使用有机酸改善 饲料厂的卫牛状况

为防止已处理的饲料不再受到污染,可在饲料生产过程中使用较高比例的有机酸。在粉状饲料中添加 1%的有机酸,会产生明显的抗污染作用,且随酸类的不同而异。最有效的是蚁酸和含蚁酸高的混合物。此外,丙酸混合物的添加比例若提高到 5%,则其抗污染效果得到改善。在颗粒饲料中添加 1%和 3%的有机酸,只有一般的保藏作用,而无明显的抗污染效果。在污染的设备中喷洒含 3%有机酸的溶液,可有效地减少病菌的生长。因潮湿而污染的储藏物和粘附物只能通过喷洒 5%的有机酸,才能有效控制细菌的生长,其中效果最好的是蚁酸。

### 鲜苹果渣不同处理方式的成分变化研究

吕 磊 徐抗震 宋纪蓉 任莹辉

摘 要 通过对 4 种不同处理方式所得干苹果渣的组成进行测定分析,比较其成分特别是营养成分的变化,为其作为动物喂养饲料,选择更适合的处理方式提供参考依据。

关键词 苹果渣;干燥;饲料;成分;测定中图分类号 S816.9

我国是世界上最大的苹果产地,总产量已达 2 200 多万吨,超过世界总产量的 1/3。随着人们生活水平的提高和消费观念的改变,已有 20%左右的苹果作为果汁消费。从 20 世纪 90 年代以来,我国先后引进瑞士、美国、意大利、日本等国的浓缩果汁生产线,伴随榨汁等深加工,每年排放苹果废渣几百万吨,仅陕西省每年排放苹果湿渣 130 多万吨。除少量直接利用外,绝大部分因为水分含量高(80%左右),蛋白含量低,没有营养价值,不易保存而被遗弃。特别是水果加工旺季,渣皮堆积如山,经微生物分解,酸臭难闻,严重污染环境,苹果渣的处理问题长期以来一直成为困扰企业发展的重要问题之一<sup>[1,2]</sup>。

近几年来,许多科研工作者开始转向这一严峻现实问题的研究[2-8]。利用苹果渣丰富的纤维素、半纤维素和较高含量的还原糖,制备果胶、膳食纤维,引入生物技术发酵生产柠檬酸、单细胞蛋白、食用酒精等。但这些研究开发目前还都处于实验室阶段,且均是以处理后的干果渣为原料,所以对于鲜苹果渣的处理问题亟待解决。当前所采用的处理方法主要有4种——自然干燥、人工干燥、青贮+自然干燥和青贮+发酵+人工干燥。但是上述不同方式处理之后的果渣成分发生较大变化,本文通过测定其成分,分析营养成分变化,为其作为最有应用前景的蛋白饲料开发提供参考。

#### 1 材料与方法

#### 1.1 原料及处理方法

- ①自然风干苹果渣:8~11 月份榨汁期间,将鲜果渣晾晒于水泥地上,自然风干得到的干果渣。
- ②人工干燥苹果渣:取鲜果渣放置于通风干燥箱 内,65℃左右干燥所获得的干果渣。
- ③青贮+自然干燥所得果渣:在生产季节按照青贮技术要求进行青贮,第二年4~8份开启青贮窖,进行自然晾晒所得干果渣或者随时用随时晾晒所获得的干果渣。具有很大的灵活性,不受自然条件的影响。
- ④青贮+发酵+人工干燥所得果渣:将青贮的果渣与麸皮及无机盐等配料后,接入酵母菌、霉菌等发酵,再利用热风干燥线干燥所得加工干果渣,一年四季均可生产。

#### 1.2 测定指标及方法

①粗蛋白、粗脂肪、粗纤维、灰分均采用国标法测定;②真蛋白采用改进的 Kjeldahl 法,即样品在 72℃下干燥 10h,然后用 5%的三氯乙酸及去离子水各洗涤 3次,取滤饼用微量凯氏定氮法测定;③还原糖:沸煮 20min,过滤,重复 3次,合并滤液定容,用费林法对溶液测定;④有机酸:沸煮 20min,过滤,重复 3次,合并滤液定容,用标准 NaOH 溶液滴定;⑤微量元素:由西北大学分析测试中心用美国 ICP 直读等离子体发射光谱仪测定;⑥氨基酸:由西北农林科技大学分析测试中心用美国贝克曼氨基酸分析仪测定。

#### 2 结果与讨论

测定结果如表 1、表 2 和表 3 所示[3,10,11]。

表 1 主要成分含量

项目	粗蛋白(%)	真蛋白(%)	粗脂肪(%)	还原糖(%)	有机酸以 H <sup>+</sup> 计(mol/kg)	粗纤维(%)	灰分(%)
自然风干果渣	6.21	4.86	6.59	12.69	0.281	19.65	2.09
人工干燥果渣	6.18	4.87	7.12	14.03	0.109	18.87	2.07
青贮+自然干燥果渣	5.95	4.81	6.21	5.33	0.052	20.16	2.14
青贮+发酵+人工干燥果渣	26.37	23.75	13.34	5.10	0.038	11.09	6.48

吕磊,延安大学化学化工学院,博士,716000,陕西延安。 徐抗震、宋纪蓉、任莹辉,西北大学食品科学与工程系。 收稿日期:2006-03-27

★ 科技部国家级星火计划项目(2005EA850040) 陕西省教育厅产业化培育项目(02JC04) 由表 1、表 2、表 3 测定结果可知,①前三种处理方式所得的干果渣在蛋白质、粗脂肪、粗纤维及氨基酸等的含量几乎没有太大变化,但还原糖、有机酸和微量元素的含量均发生较大变化。其原因应是:在青贮过程中,有大量的乳酸菌、醋酸菌发酵,生成一定量

表	2	微	册	亓	麦	今	册
10	_	7/12	ᆂ	/ 🖰	n:	TÎ.	ᆂ

项目	Ca(%)	Mg(%)	Fe(mg/kg)	Zn(mg/kg)	Mn(mg/kg)	Cu(mg/kg)	Se(mg/kg)	Pb(mg/kg)	Cd(mg/kg)	As(mg/kg)
自然风干果渣	0.113	0.061	169.2	14.6	13.1	9.8	0.18	0.60	0.02	0.17
人工干燥果渣	0.128	0.083	181.7	16.8	14.5	10.6	0.23	0.48	0.05	0.27
青贮+自然干燥果渣	0.095	0.057	143.6	13.1	13.0	9.4	0.19	0.55	0.02	0.18
青贮+发酵+人工干燥果渣	0.493	0.204	276.8	31.3	20.8	16.7	0.29	1.6	0.68	0.59

表3 氨基酸含量(%)

项目	自然风干果渣	人工干燥果渣	青贮+自然干燥果渣	青贮+发酵+人工干燥果渣
天冬氨酸	0.488 7	0.547 3	0.476 8	1.695 0
苏氨酸	0.198 7	0.172 2	0.195 6	0.753 3
丝氨酸	0.177 9	0.200 4	0.173 6	0.839 5
谷氨酸	0.805 5	0.927 3	0.810 5	2.406 0
脯氨酸	0.278 2	0.246 4	0.253 6	0.850 0
甘氨酸	0.234 7	0.260 2	0.246 8	0.828 9
丙氨酸	0.201 4	0.301 0	0.196 2	0.959 5
半胱氨酸	0.060 7	0.063 5	0.061 0	0.105 0
缬氨酸	0.313 6	0.368 7	0.296 8	0.976 7
蛋氨酸	0.059 4	0.056 3	0.058 6	0.184 6
异亮氨酸	0.226 1	0.356 4	0.265 1	0.854 5
亮氨酸	0.438 2	0.405 2	0.415 6	1.212 0
酪氨酸	0.195 8	0.173 6	0.187 5	0.599 6
苯丙氨酸	0.270 0	0.225 1	0.231 4	0.826 9
赖氨酸	0.184 6	0.237 9	0.189 6	1.001 0
组氨酸	0.071 1	0.087 43	0.068 5	0.393 5
精氨酸	0.247 7	0.318 6	0.265 0	0.872 9
总量	4.452 3	4.947 53	4.392 2	15.358 9

注:1.样品均是65℃烘干至恒重后所测结果;

2.不同时期和地区的果渣成分各异,但处理方式对成分的影响规律不变。

的有机酸并随着水分流失,从而损失大量的还原糖和 微量元素。而在有机酸含量方面,自然干燥和人工干燥所得到的果渣远高于另外两种方法所得到的干果 渣,对于直接用作动物喂养饲料,较高的有机酸含量 是一个很不利的因素,影响动物的适口性,甚至引起 动物拒食。

②鲜苹果渣经青贮+发酵+人工干燥处理后,蛋白质、粗脂肪、各种微量元素及 17 种氨基酸的含量与上述三种处理相比显著升高,营养价值增加,更有利于作为动物喂养饲料。由部分重金属含量测定结果可知,有益元素含量丰富,而重金属元素符合同类饲料基料国家饲料卫生标准的要求<sup>[12]</sup>。

③由不同处理方式所获果渣的成分测定分析结果及处理方式对果渣实际品质的影响,并综合考虑其各自处理的经济效益<sup>[11]</sup>,发现直接自然干燥效果最差,不仅受时间、天气等条件限制,且酸度较高,容易腐败变质,作为动物饲料质量也较差;人工干燥次之,但处理量受限制,设备投资较大,成本较高;而青贮+发酵+人工干燥为最佳处理方式,所得果渣营养价值高,氨基酸丰富、组成合理,并有利于工业化规模处理,能够从根本上解决苹果渣处理这一严峻问题,减少环境污染,变废为宝,具有良好的社会效益和经济效益。

#### 参考文献

- 1 王征兵.中国苹果生产现状及对策[J].世界农业,2001,12:18
- 2 徐抗震,宋纪蓉,黄洁,等.激光选育混合菌发酵苹果渣生成饲料蛋白[J]. 粮食与饲料工业,2002,12:17~19
- 3 Shojaosadati S A, Babaeipour V. Citric Acid Production from Apple Pomace in Multi -layer Packed Bed Solid State Bioreactor [J]. Process Biochem., 2002,37:909~914
- 4 籍保平,尤希凤,张博润.苹果渣发酵生产饲料蛋白的工艺条件[J]. 生物工程进展,1999,19(5):30~33
- 5 Sandhu D.K., Joshi V.K., Solid-state fermentation of apple pomace for concomitant production of ethanol and animal feed [J]. J. Sci. Ind. Res.,1997,56(2):86~90
- 6 侯红萍, 庞全海. 苹果渣固态酒精发酵的研究[J]. 酿酒, 1998,128 (5):43~44
- 7 李文哲,宋纪蓉,张小里,等.苹果渣酶解制备柠檬酸[J].应用化学, 2000.17(5):547~549
- 8 宋纪蓉,徐抗震,黄洁,等.利用苹果渣制备膳食纤维的工艺研究[J]. 食品科学,2003,24(2):69-72
- 9 杨福有,祁周约,李彩风,等.鲜果渣处理方法选择与效益分析[J]. 饲料博览,2000,11:38~39
- 10 张明歧,张翔宇,杨守庆.苹果渣青贮及饲喂奶牛效果观察[J].农牧产品开发,2001,3:23-24
- 11 杨福有,祁周约,李彩风,等.苹果渣营养成分分析及饲用价值评估 [J]. 甘肃农业大学学报, 2000,35(3):340~343
- 12 GB/T13078-2001 [S].饲料卫生标准

(编辑:王 芳,xfang2005@163.com)

# 肽 聚 糖 在 天 然 免 疫 中 的 作 用 研 究

#### 江 蕾 张朝晖 王 圆

摘 要 肽聚糖是细菌等原核生物细胞壁的特有成分,但它在天然免疫系统中的作用长期被低估。近年来的研究资料表明,肽聚糖识别蛋白是一类与肽聚糖结合的模式识别受体,可识别入侵细菌,激活相应的免疫反应,在免疫应答中发挥重要作用。随着对免疫机制研究的进一步深入,肽聚糖在医学、畜牧和生物工程等领域中的应用将会有更广阔的前景。

关键词 肽聚糖;天然免疫;肽聚糖识别蛋白中图分类号 Q539

肽聚糖(peptidoglycan,PGN)是细菌等原核生物细胞壁的特有成分,这种刚性结构大分子可以保护细胞免受渗透压的损伤<sup>[1]</sup>,对提高细胞壁的机械强度和维持细胞形状起着重要作用<sup>[2]</sup>。真核细胞中不含 PGN,因此,PGN 成了真核生物免疫系统识别的理想靶位。目前的研究已表明,高等真核生物体中含有若干 PGN识别分子,包括肽聚糖识别蛋白家族(PGRPs)、CD14、Toll 受体 2(TLR2)、Nod1 和 Nod2 等<sup>[3]</sup>,这些活性分子通过不同的信号传导途径诱导释放免疫调控物质,从而刺激免疫系统发挥免疫功能。

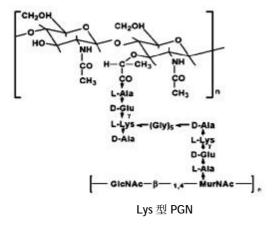
#### 1 PGN 及其作用

#### 1.1 PGN 的化学组成与结构

PGN 是由若干肽聚糖单体组成的一种网络状杂 多糖。每个 PGN 单体由肽和聚糖两部分组成,其中的

肽包括四肽链和肽间桥两部分,而聚糖是由 N-乙酰 葡糖胺(G)和 N-乙酰胞壁酸(M)两种单糖通过 β-1.4糖苷键相互间隔连接成的长链。

对于不同种类的细菌,PGN的含量和结构均有较大差别,G+细菌 PGN含量较高,占细胞干重的30%~95%;G-细菌 PGN含量较低,占细胞干重的5%~20%。结构的差异主要在于四肽链上氨基酸的组成及肽链间交联方式的不同,肽链上的四个氨基酸分子按L型和D型交替连接。研究证实,所有G和G+杆菌中PGN的结构基本无差别;G+球菌中,肽链的氨基酸组成和长度的变化却很大<sup>[4]</sup>。根据肽链中第三位氨基酸的不同组成,可将PGN粗分为两大类——L-赖氨酸型(Lys型)和二氨基庚二酸型(Dap型)(见图1),前者主要存在于G+细菌中,后者在G-细菌中。



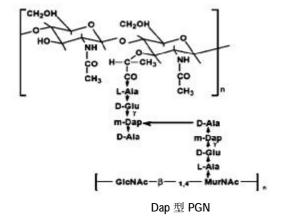


图 1 Lys型和 Dap型 PGN 结构[3]

# 工蕾,浙江工业大学生物与环境工程学院,310014,浙江工业大学研 541 信箱。

张朝晖、王圆,单位及通迅地址同第一作者。

收稿日期:2006-03-06

#### 1.2 PGN 结构的可变性<sup>[1]</sup>

对于某种特定细菌的 PGN,在不同环境(如生长条件、变异等)影响下,其结构可发生显著变化,如在 Dap 型突变株中,内消旋 Dap 的部分结构已被不同的结构类似物(羊毛硫氨酸、光硫醚、LL-Dap)所取代。

对 PGN 结构进行修饰,也可抵制标靶 PGN 类抗生素的作用。例如,万古霉素是糖肽类抗生素,它可与肽链上的 D-丙氨酰-D-丙氨酸末端紧密结合,从而抑制 PGN 的合成。然而在 PGN 前提物的合成阶段中,用与 PGN 粘附力相对弱的 D-乳酸或 D-丝氨酸取代五肽中的 D-丙氨酸,由此生成的 PGN 对万古霉素具有抗性作用。在 G+细菌中,由变异作用引起肽间桥或与 L,D-转肽作用相关的 PBPs (青霉素结合蛋白)的结构改变,也大大降低了其对 β-内酰胺类抗生素的易受性<sup>[5]</sup>。另外,对胞壁胺的 O-乙酰化作用或葡糖胺的 N-脱乙酰化作用也会提高致病菌对溶解酵素的抵抗性<sup>[12]</sup>。因此,对病原菌的 PGN 结构加以适当修饰,就会增加宿主感染病菌的机率。

#### 1.3 PGN 的免疫作用机制

PGN 是人类免疫系统的激活剂<sup>16</sup>,宿主可以通过识别 PGN 结构,对入侵细菌作出相应的免疫应答<sup>17</sup>。 天然免疫系统中存有一系列模式识别受体(PRR),可以识别入侵细菌的 PGN 等病原体相关分子模式(PAMPs)<sup>17</sup>,通过不同的信号传导途径释放相同的免疫调控物质,如白介素(IL)、TNF-α等多种细胞素,在抵抗入侵病原体中发挥免疫功能<sup>18</sup>。

近十年来,人们对诱导抗菌肽感染的信号途径研究颇为关注。目前已发现有两种调控抗菌肽基因表达的信号转导途径(Toll 途径)和免疫缺陷途径(Imd 途径),其中 Toll 途径主要激活抗真菌多肽基因(如 Drosomycin),对真菌和 G+球菌感染发挥作用;Imd 途径主要激活抗细菌多肽基因(如 Diptericin),对 G-细菌和 G+细菌作出反应。研究发现,免疫作用的可能机制是当不同类病原体(如 G-细菌、G+细菌或真菌)侵入宿主时,可被不同的模式识别受体识别,激活相应的信号转导途径,诱导各种免疫反应。

#### 2 肽聚糖识别蛋白(PGRP)及其作用

#### 2.1 PGRP 的发现

PGRP 是近年来发现的一类重要模式识别分子, 可识别并区分不同种类的细菌病原体,在天然免疫中 起着关键性作用。

Ashida 等人于 1996 年在家蚕(Bombyx mori)的血细胞中分离得到 PGRP<sup>[4]</sup>,后来在许多昆虫和哺乳类动物中也发现有 PGRP<sup>[6]</sup>。大量资料已证实,PGRP 是进化中的蛋白质,从昆虫到人类均高度保守。它与 PGN 有高度粘附性,可识别 PGN 和含 PGN 的细菌,进而激活 Toll 或 Imd 信号途径,在免疫应答中发挥重要的识别和调节功能。

#### 2.2 PGRP 的结构及其表达

根据 PGRP 分子大小不同,可大致分为 3 类<sup>[10]</sup>:① 短型 PGRP(即 PGRP-S),分子量为 20~25kD;②中型 PGRP(即 PGRP-I),分子量为 40~45kD;③长型 PGRP (即 PGRP-L),分子量高于 90kD。目前已发现果蝇中有 13 个高度多样性的 PGRP 基因,可翻译成至少 17 种 PGRP 蛋白质,其中 7 个为短型 PGRP(SA、SB1、SB2、SC1a、SC1b、SC2 和 SD),只有一个信号肽,无跨膜域,为分泌型蛋白<sup>[3]</sup>;另外 10 个为长型 PGRP(LAa、Lab、LCa、LCx、LCy、LD 和 LF等),不含信号肽和跨膜域,很可能是可溶性胞内蛋白或分泌蛋白。在人的基因序列中至今共发现 4 个 PGRP,除 PGRP-S 正源外,还有 3 个 PGRP 同源物,分别为 PGRP-L、PGRP-I 为跨膜蛋白,具有细胞表面受体的功能。

至今所有已克隆的哺乳动物和昆虫的 PGRP 分子大小从 135 到 576 个残基不等,有 1 个、2 个或无跨膜域,C 末端有 3 个 PGRP 域( I、II 和 III ),且从昆虫到人类均高度保守。人 PGRP 的 N 端也有信号肽,所以人的 PGRP-L、PGRP-I $\alpha$  和 PGRP-I $\beta$  有额外的跨膜域IV,位于 N 端一半区域。并且每个分子跨膜域的位置不同,预示其有不同的分子结构。另外,人的PGRP 家族(除 PGRP-S 外)与其它任何已知基因家族无同源性,这就预示人 PGRP 可能具有独特的功能。

昆虫 PGRP 多表达于免疫器官,如血细胞、脂肪体、内脏和上皮细胞,且注射 PGN 可上调其表达。哺乳动物 PGRP 主要表达于骨髓细胞、肝细胞和嗜中性粒细胞,而在脾细胞、胸腺细胞和淋巴细胞中几乎不表达。人的 PGRP 表达最广泛,在各种器官和组织中均有表达,其中 PGRP-L在肝中高表达,胎肝中次之,在横结肠、淋巴结、心脏、胸腺、胰、降结肠、胃和睾丸也有低表达<sup>13</sup>。 PGRP-Iα 和 PGRP-Iβ 在食道高表达,在扁桃腺和胸腺有低表达。另外,还发现 PGRP-Iα 在脑中也有极低表达。PGRP 在这些器官和组织中表达,可能就参与这些细胞对病原体或 PGN 的识别,发挥不同的生物学作用<sup>111</sup>。

#### 2.3 PGRP 的特性及功能

目前已报道的所有 PGRP 均可结合 PGN 和细菌,但其粘附性并非相同。昆虫中 PGRP-S、PGRP-SA可优先识别 Lys 型 PGN,PGRP-LC、PGRP-LE 可优先识别 Dap 型 PGN。鼠 PGRP-S 和人 PGRP-L对 PGN有强粘附性,比对其它细胞壁成分,如脂多糖(LPS)、脂磷壁酸的结合力高 1 000 倍,而且 PGRP-S 对 G+细

菌的结合力比对 G<sup>-</sup>细菌的高。PGRP-Iβ 的结合力则 非常弱,可能是因为 PGRP-Iβ 结合其它未明配体或 可能需其它分子的辅助才能以高亲和力结合配体<sup>II</sup>。

PGRP的各家族成员,在免疫系统中发挥着不同的功能。昆虫 PGRP-S 具有酰胺酶活性,识别 PGN 和G+细菌后诱发酚氧化酶原级联反应,产生抗微生物产物黑色素来包裹病原体<sup>13.7</sup>,将 PGN 转化为无活性片段,下调其表达。另有资料表明,哺乳动物的某些PGRP-L 可能也存在酰胺酶活性。

另外,对于不同的 PGRP,其结合 PGN 激活信号转导途径的机制也各异。PGRP-SA 优先识别 G+细菌中 Lys 型 PGN,活化 Toll 信号途径。PGRP-LC 行使表面受体的功能,通过激活 Imd 信号途径活化抗菌肽基因的表达,是识别 Dap 型 PGN 的关键分子。最新研究发现,PGRP-LE 也可激活 Imd 信号途径,并可诱发酚氧化酶原级联反应<sup>[4]</sup>。

目前,对人 PGRP 的功能了解甚少,PGRP-Iα 和 PGRP-Iβ 的功能仍然不明。人 PGRP 在不同器官选择性表达且在 PGRP 域外几乎没有同源性,和细菌或 PGN 的多样性结合,预示其可能产生不同的生物效应。

#### 3 展望

在天然免疫系统中,PGN是一个重要的病原体相关分子模式,宿主细胞利用各种机制可识别不同 PGN 结构的入侵细菌。因此,PGN可用作饲料中的添加剂,效果显著。许国焕等<sup>®</sup>在彭泽鲫鱼的基础饲料中添加0.2g/kg 自提 PGN,饲养 60d 后,发现其能提高血清溶菌酶的活性,并可在短时间内提高血清凝集抗体效价,明显增强了彭泽鲫鱼的特异性免疫功能。

但是,目前对 PGRP 分子的研究还不够彻底,有些功能仍然不明,它们在天然免疫中的作用还需进一步证实。近来已有研究发现,哺乳动物中的 Nod 蛋白也能与 PGN 相互作用,可通过激活转录因子 NF-kB诱导宿主免疫应答,对抗菌作用产生一定影响<sup>12</sup>。另外,将 PGN 的结构进行适当修饰,可能会干扰宿主的防御系统,使得病原体能顺利入侵。因此,与 PGN 相关的免疫识别是个极其复杂的过程,它在免疫系统中的作用有待于更深入地探索研究。

#### 参考文献

- 1 Dominique Mengin Lecreulx, Bruno Lemaitre. Structure and met abolism of peptidoglycan and molecular requirements allowing its detection by the Drosophila innate immune system [J]. J. Endotoxin. Res, 2005, 11(2):105-111
- 2 Christoph Thiemermann. Interactions between lipoteichoic acid and

- peptidoglycan from Staphylococcus aureus:a structural and functional analysis[J]. Microbes. Infect, 2002,4:927~935
- 3 Roman Dziarski.Peptidoglycan recognition proteins (PGRPs)[J].Mol. Immunol, 2004,40:877~886
- 4 R. Dziarski. Review: Recognition of bacterial peptidoglycan by the innate immune system[J]. Cell. Mol. Life. Sci, 2003,60:1 793~1 804
- 5 Heijenoort J, Gutmann L. Correlation between the structure of the bacterial pepetidoglycan monomer unit, the specificity of transpeptidation, and susceptibility to  $\beta$ -lactams [J]. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2000, 97:5 028-5 030
- 6 Lutz Hamann, Volker EL-Samalouti, Artur J. Ulmer, et al. Components of gut bacteria as immunomodulators[J]. Int. J. Food. Microbol, 1998 41:141–154
- 7 吕成伟, 陈政良. 肽聚糖识别蛋白[J]. 免疫学杂志, 2002,18(3):88~90
- 8 王静华, 赵洪涛, 汪以真. 细菌细胞壁肽聚糖的研究进展[J]. 中国 普药杂志, 2004, 38(1):38~40
- 9 Takashi Kaneko, Neal Silverman. Microreview: Bacterial recognition and signalling by the Drosophila IMD pathway [J]. Cell. Microbiol, 2005,7(4):461~469
- 10 Rongjin Guan, Qian Wang, Eric J. Sundberg, et al. Crystal Structure of Human Peptidoglycan Recognition Protein S (PGRP-S) at 1.70 A° Resolution[J]. J. Mol. Biol, 2005, 347:683~691
- 11 Liu C , Xu Z, Gupta D , et al. Peptidoglycan recognition proteins: a novel family of four human innate immunity pattern recognition molecules [J]. J. Biol. Chem, 2001, 276(37):34 686~34 694
- 12 Vollmer W, tomasz A. Peptidoglycan N-acetylglucosamine deacety– lase, a putative virulence factor in Streptococcus pneumoniae[J]. In– fect. immune, 2002,70:7 176~7 178

(编辑:张学智, mengzai007@163.com)

#### ・厂音・

### 争做稳定性 VC 系列优秀供应商-

富阳市优级特 生物技术有阻公司

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:sale@fyupdate.com



安 娟 赵晓川

甲烷主要是由数种甲烷菌通过 CO<sub>2</sub> 和 H<sub>2</sub>进行还原反应产生的,化学性质非常稳定,一旦生成后就很难被代谢掉。科学研究已证明甲烷会产生地球温室效应,而且甲烷温室效应的影响作用远高于 CO<sub>2</sub>,平均每分子甲烷气体的温室效果为 CO<sub>2</sub> 的 10 倍以上,对气候变暖的影响率可达 15%~20%。大气中动物甲烷的排放量为 8.0×10<sup>7</sup>t,反刍动物占的比例较大,约为全球总量的 15%,其中牛每年甲烷产生量为家畜总产量的 73%。据报道,随着肉牛和奶牛产业的发展,大气中的甲烷含量每年以 1%~1.3% 的速度递增(孙维斌,1999)。中国是反刍动物拥有量最大的国家,动物废弃甲烷排放量可达到 6.3×10<sup>6</sup>t,其中反刍动物的排放量占 80%以上。因此,对来自反刍动物瘤胃内甲烷的生成量及其调控已经越来越受到广大科研人员的关注。

#### 1 瘤胃甲烷生成的生物学机制

目前,从瘤胃中分离出的甲烷生成菌包括反刍兽甲烷短杆菌(Methanobacterium ruminantium)、巴氏甲烷八叠球菌(Methanosarchina)、万氏甲烷八叠球菌(Methanosarchina)、产甲酸甲烷杆菌(Methanobacterium,formicicum)和运动甲烷微菌等 5 种菌类。甲烷生成菌在瘤胃中的数目可以达到 1×10<sup>5</sup> 个/ml(孙维斌,1999)。饲料中的淀粉、细胞壁和蛋白质在瘤胃微生物的作用下分解产生乙酸、丙酸、丁酸、氢气和二氧化碳等,产生的二氧化碳、甲酸、乙酸、甲胺和次甲胺等在甲烷生成菌的作用下生成甲烷。瘤胃八叠球菌是唯一可利用甲胺、甲醇或乙酸的微生物。除了甲烷合成菌以外,纤毛原虫、纤维分解菌和真菌对甲烷的生成也具有较强的作用。

反刍动物排放甲烷与其特有的消化特点有关。 饲料在被动物吞食后首先在瘤胃内进行厌氧发酵, 瘤胃内的微生物把碳水化合物和其它植物纤维发酵

赵晓川,黑龙江省农业科学院畜牧研究中心。 收稿日期:2006-03-06 分解成挥发性脂肪酸(VFA)等代谢产物,同时产生甲烷。其产生途径主要有三种: ①在  $CO_2$ – $H_2$ 还原途径,甲烷是在一系列的酶和辅酶的作用下,由氢和甲酸还原生成的,瘤胃中的反刍兽甲烷杆菌在体内主要就是通过此途径产生甲烷的;②由甲酸、乙酸和丁酸等挥发性脂肪酸为来源形成的,反应式为: $HCOOH+H_2O\to CH_4+HCO_3$ 、 $CH_3COOH\to 2H_2O+CO_2\to CH_4+4CHCOOH$ ;③由甲醇、乙醇等果胶发酵产物分解而来, $4CH_3OH\to 3CH_4+HCO_3$ 、 $2CH_2CH_2CH_2CH_2OH+CO_2\to 3CH_3COOH+CH_4$ 。

#### 2 影响甲烷产生的因素

反刍动物排放的甲烷是动物摄入食物中的有机物在瘤胃内厌氧发酵而产生的,其生成过程由特定的生物学机制调控。研究表明,日粮组成、采食水平、环境温度、瘤胃内环境和食糜流动速度是影响反刍动物甲烷排放量的主要因素。

#### 2.1 日粮因素

研究表明,在日粮相似的条件下,不同动物的甲烷产生量也相似,因此可以说反刍动物甲烷排放量主要受日粮因素的影响。瘤胃发酵类型的变化造成瘤胃pH值和瘤胃微生物区系发生改变,最终使甲烷生成量改变。当动物采食易发酵碳水化合物时,瘤胃丙酸的生成量较高,此时甲烷产生量降低。这主要是由于采食易发酵碳水化合物后,瘤胃的pH值会显著降低,低pH值能抑制甲烷产生菌的活性。高粗纤维日粮能促进甲烷生成菌的数量,从而提高甲烷的产生量(孙维斌,1999)。

另外,甲烷的产生量受牧草的加工以及生长期的影响。成熟期长的牧草产生的甲烷量也多;干制的牧草比青贮牧草能产生更多的甲烷;粗切的牧草比细碎的牧草能产生更多的甲烷(Lassey,1997)。这其中的原因被认为是动物食糜动力学变化造成的,在瘤胃滞留时间长的一般会增加甲烷的产生量。

日粮中的蛋白和脂肪因素能有效的调节瘤胃发酵,从而影响甲烷生成量,因此通过对反刍动物日粮的调配可有效调节瘤胃甲烷的产生量。一般的方法是

安娟,新疆医科大学试验动物中心,硕士,830054,新疆乌鲁木齐。

在日粮中添加能量饲料和蛋白饲料,提高饲料利用率,降低瘤胃内饲料养分的降解率,抑制瘤胃发酵,提高肠道对饲料养分的消化吸收等(孙维斌,1999)。

在日粮中添加抗生素和微生物添加剂也能影响甲烷的生成。抗生素和微生物添加剂的作用是通过对微生物区系的调控实现的。添加莫能菌素可以减少日采食量 5%~6%,降低乙酸与丙酸比例,减少甲烷生成(孙维斌,1999)。但添加抗生素的效果并不一致,可能与抗生素对动物微生物区系的调控作用有很大的关系。在饲料中添加脂肪也可以使甲烷的产生量降低 10%~15%。脂肪的添加可以通过不饱和脂肪酸氢化作用,增加丙酸生成量而抑制原虫数量,影响甲烷的生成。现已证实不饱和脂肪酸对甲烷生成菌具有很强的抑制作用。反刍兽甲烷杆菌活性能被长链脂肪酸有效抑制。也有人认为饲喂脂肪抑制甲烷的产生与脂肪改变瘤胃发酵类型有关。在日粮中添加脂肪,瘤胃的发酵类型向丙酸发酵类型转变,而钙盐形式的脂肪酸不影响瘤胃的发酵类型,也没有发现会影响甲烷的产生量。

在饲料中添加甲烷的抑制剂卤族化合物,也能有效降低甲烷的生成量和排出量。卤族化合物作用的机理是直接抑制甲烷菌,通过增加丙酸生成的比例来改善发酵效率。

#### 2.2 环境温度

反刍动物瘤胃甲烷产量随着环境温度的降低而降低。在寒冷的条件下,绵羊瘤胃甲烷的产量会降低30%。研究认为,这是由于随着温度的降低,瘤胃发酵更趋于丙酸发酵,引起甲烷产量的降低;但也有人认为,随着温度的降低甲烷产量降低是由于采食量降低的结果造成的;另外温度的降低也可能会提高动物食糜的后送速度,导致甲烷产量的降低。

#### 2.3 瘤胃 VFA 对甲烷产生量的影响

瘤胃内挥发性脂肪酸与甲烷产生量有一定关系。 韩继福等研究表明,丙酸产量与甲烷产量呈较高的负相关,乙酸产量和乙酸与丙酸比例同甲烷产生量呈较 高的正相关。这在另一方面也反映了不同日粮对甲烷 产量的影响。低质粗料由于乙酸含量高,会导致甲烷 产生量高;增加日粮精料比例,丙酸含量提高,因此甲 烷产生量降低。

此外,瘤胃原虫的数量对甲烷生成也有很大的影响,在研究中发现,对动物经去原虫处理,甲烷生成量下降 20%~45%。其它的研究表明,染料、蒽醌类和一

氧化碳对甲烷的生成都具有抑制作用。

#### 3 甲烷排放量的估算方法

动物营养学家最先注意到反刍动物的甲烷排放量问题,因此,最先出现的测定方法也是根据能量代谢原理设计的呼吸代谢箱测定法。后来又产生了一些根据动物干物质采食量的模型推算法。另外,同位素示踪技术、人工瘤胃技术、质量平衡技术等也被应用到甲烷排放量的测定中。目前,最常用的是模型推算法、呼吸箱测定法和六氟化硫示踪法。

#### 3.1 模型推算法

根据分析测定的试验数据,摸索出反刍动物甲烷的排放规律。基于饲料组成的经验模型,国外对反刍动物甲烷排放量预测的研究发现,牛的甲烷排放量与干物质采食量之间存在着一定的关系: $CH_4$ (g/d)=18+22.5×DMI( $R^2$ =0.94)(Baldwin,1988)或  $CH_4$ (g/d)=-37.47+47.71×DMI-1.90× $DMI^2$ ( $R^2$ =0.78)(Blaxter,1965)。用模型推算的甲烷产量的准确度不高,一般不能用于试验。

经过呼吸代谢箱测定牛的甲烷排放量,建立奶牛的甲烷排放量与各种营养成分动物采食量间的回归模型为 CH<sub>4</sub>(g/d)=61.74+9.25×中性洗涤可溶物+31.48×半纤维素+48.01×纤维素(R²=0.67)(Benchaar,1998);奶牛的甲烷排放量与动物各种营养成分消化量间的回归模型为 CH<sub>4</sub>(g/d)=33.30+20.71×中性洗涤可溶物+38.83×半纤维素+105.66×纤维素(R²=0.73)(Hironaka,1996)。在实际的应用中发现采食量与甲烷的生成量之间回归模型的可行性更强。日本研究者对6头荷斯坦奶牛、10头去势雄性绵羊和 11头去势雄性山羊的研究发现:CH<sub>4</sub>(g/d)=21.87DMI-3.18(R²=0.98)(Pelchen,1998)。

#### 3.2 呼吸代谢箱测定法

目前,测定反刍动物甲烷排放量均采用"家畜能量代谢箱"。呼吸箱主要用于"间接测热法"测定动物的能量代谢情况。其原理为将动物密闭在特制的箱体内,通过测定动物在一定周期内的二氧化碳和氧气成分的变化,根据呼吸商即可计算出动物的能量代谢情况<sup>[4,7]</sup>。也可以通过 <sup>3</sup>H 和 <sup>14</sup>C 标记法测定甲烷的产量(Denmead,1999)。

#### 3.3 六氟化硫示踪法

六氟化硫示踪法测定动物的甲烷排放量不仅费用较低,而且可以应用到大规模的试验动物中。六氟化硫的物理特征与甲烷类似,可以随着反刍动物的呼吸和嗳气过程随甲烷气体—起排出。由于可以测定六

氟化硫的排放速度和六氟化硫与甲烷的浓度,因此可以计算出甲烷的排放量(Lassey,2001;Ulyatt,1999)。

#### 4 控制瘤胃内甲烷的措施

#### 4.1 调整饲养水平及饲喂方式

饲养水平由于能改变食糜的流通速率和过瘤胃的营养物质的量,从而在一定程度上可以改变甲烷的生成及排放量。当日粮中的精料含量较高时,可以增加瘤胃中丙酸的产生量,并降低乙酸和丙酸的比例,而研究发现丙酸与甲烷的生成之间呈现负相关关系。对饲喂方式而言,先饲喂粗料后精料,可以使更多的能量通过瘤胃,从而减少甲烷的排放量。少量多次的饲喂方式可以通过增加粗料和水的摄入量提高瘤胃内食糜的后送速度,从而增加过瘤胃物质的数量,减少甲烷的产生。

#### 4.2 进行饲料加工

饲料的颗粒大小可以影响饲料的消化利用率,并 改变食糜在胃肠道的流通速度。加工后的饲料利用率 提高,同时瘤胃乙酸和丙酸比例发生改变。粉碎或加 工成颗粒的饲料通过瘤胃的速度较快,发酵产生的乙 酸量降低,减少了甲烷的产生。

#### 4.3 日粮中添加脂肪

研究发现日粮中添加动植物脂肪和高级脂肪酸也可以抑制甲烷的产生。研究发现,在日粮中添加脂肪后,甲烷生成量减少10%~15%。而在日粮中添加不饱和脂肪酸对甲烷生成的抑制作用更加明显,这主要是由于不饱和脂肪酸能竞争生成甲烷所需的氢原子。据报道,在日粮中添加不饱和长链脂肪酸可以降低乙酸和丙酸的比例约50%~60%。

#### 4.4 日粮中添加缓冲物质

瘤胃 pH 值对瘤胃内的微生物区系及瘤胃发酵有较大的影响。通过在日粮中添加缓冲物质能有效地调节瘤胃 pH 值,并改变瘤胃发酵产物。当瘤胃 pH 值显著降低时,瘤胃内的绝大多数微生物的活性也随之降低,但淀粉利用菌的活性反而提高,因此,乙酸与丙酸的比值也降低。瘤胃发酵模式的变化,也直接的导致瘤胃甲烷生成量的增加或降低。

#### 4.5 日粮中添加药品

在日粮中添加化学药品可以明显改变瘤胃微生物的生长代谢,因此也可以造成甲烷生成量的改变。常见的添加药品为卤代化合物、除莠剂和呋喃坦啶等。卤代化合物是最有效的甲烷抑制剂,其抑制作用

为长链脂肪酸的 1 000 倍。化学药品改变甲烷生成量的主要途径为改变了瘤胃内环境和发酵模式,从而能抑制甲烷的产生。

#### 5 小结

牛羊嗳气中的甲烷不仅是损失能量而且会加剧温室效应,促进气候变暖。而且甲烷是瘤胃碳水化合物发酵不可避免的产物。随着对瘤胃甲烷生成机制的认识,已经找到了一些行之有效的甲烷生成量的调控方法。中国对反刍动物甲烷排放量的研究是从 1987年正式开始的,相对国外的研究而言,中国的研究现状较原始。建议在已有的研究基础上完善甲烷测定方法,对瘤胃产生甲烷的微生物学机制及调控技术等方面进一步研究,在保证营养平衡的条件下,针对主要的反刍动物类型,分别测定甲烷的排放量,建立动物甲烷排放量的数据库,从而研究分析出最佳饲料配方及相关的减排措施。

#### 参考文献

- 1 孙维斌,胡建红.反刍动物瘤胃甲烷的产生及调控研究进展[J].黄牛杂志,1999,25(6):37~39
- 2 Baldwin RLee, John H,et al.Metabolism of the lactating cow. Digestive elements of a mechanistic model [J]. Journal of dairy research, 1987,54(2):107~131
- 3 BlaxterK. L, J.L.Clapperton.prediction of the amount of methane produced by ruminants[J].Br.J.Nutr.,1965,19:511~522
- 4 Benchaar C, Rivest J, Pomar. C, et al. Prediction of methane production from dairy cows using existing mechanistic models and regression e– quations [J]. Journal of Animal Science, 1998, 76(2):617-627
- 5 L.A, Denmead.O.T, Freney J R, et al.Direct measurements of methane emissions from grazing and feedlot cattle [J].Journal of Animal Science, 1999,77(6):1 392~1 401
- 6 Hironaka R,Mathison G W,Kerrigan B K,et al. The effect of pelleting of alfalfa hay on methane production and digestibility by steer[J].Sci Tot Environ,1996,18:221~225
- 7 Lassey K.R,Ulyatt.M.J, Martin R.J, et al.Methane emission measured directly from grazing in New Zealand [J].Atmospheric Environment, 1997,31(18):2 905~2 914
- 8 Lassey K.R, Walker.C.F, McMillan.A.M.S, et al.On the performance of SF6 permission tunes used in determining methane emission from grazing livesstock [J].Chemosphere:Global change Biology,2001,4 (18):1~15
- 9 Pelchen, Arthur, Kurt J. Peters, et al. Prediction of methane emissions from lactating dairy cows[J]. Archiv fur tierzucht, 1998, 141(6):553~563
- 10 Ulyatt. M.J, Baker. S.K, McCrabb. G.J, et al. Accuracy of SF6 tracer technology and alternatives for field measurments [J]. Australian Journal of Agricultural Research, 1999, 50(8):1 329-1 334

(编辑:王 芳,xfang2005@163.com)

### 饲料企业如何建立和完善质量管理体系

杨辉

对许多饲料生产企业而言,ISO9000 标准已经不陌生,它在全世界已经带来了翻天覆地的质量革命浪潮,毫无疑问将冲击我们旧有的生产管理模式,赋予其崭新的意义。可以肯定地说,在饲料管理工作中引入 ISO9000 标准将使我们的饲料管理更科学化、系统化、文件化、制度化,全面提升管理水平。

#### 1 引入 ISO9000 标准的必要性和迫切性

#### 1.1 饲料企业引入 ISO9000 标准的必要性

就目前看,我国饲料产业的整体素质和实力水平相对较低。主要表现在虽然饲料企业的数量众多,但大多数的企业是中小企业,生产规模小;我国区域经济发展的不平衡导致饲料厂质量管理水平高低相差悬殊,经济效益不高,饲料产品质量一般。如何提升饲料企业整体素质和水平,这是每一个饲料企业面临的实际问题。饲料企业在改善工艺设备,提高技术水平的基础上引入 ISO9000 标准,提高管理的科学水平,是我国饲料生产企业的必由之路。

我国大多数中小型饲料企业凭借机制灵活、适应 性强、成本低等优势,在市场经济条件下获得了较大 的发展。但是,还有一些中小型企业由于自身存在的 弱点,面临着以下困难或问题:①管理水平、服务水平 落后,一些中小型企业管理基础薄弱,管理者的思想 观念落后,没有以顾客为中心的观念,与先进的管理 理念相差甚远,制约了企业的发展;②人员素质较低, 由于一些企业技术含量较低,企业招聘的员工文化素 质不高,缺乏质量管理的技能和经验,影响了企业的 长远发展:③资源短缺,由于资金缺乏,不能配置充分 的资源,人才短缺、设备陈旧、工艺落后、场地简陋,难 以达到控制各项质量管理活动的要求;④习惯于落后 的传统做法,企业管理者常常以言代"法",现场指挥, 随意性大,习惯于落后的传统做法,难以形成不断进 行质量改进的机制; ⑤产业和产品的科技含量低,企 业运行效率低,消耗较大,产品缺乏竞争力。

长期以来,由于企业在管理上的落后,极大地制约了产品质量的提高和产品成本的下降,如果不进行

杨辉,河南省信阳质量技术监督局,464000,河南省信阳市京深路 273 号。

收稿日期:2006-04-20

结构性的调整,不引进新的质量管理理念,不引进人才,势必将被市场所淘汰。

#### 1.2 贯彻 ISO9000 标准的迫切性

目前我国饲料工业伴随着经济繁荣呈快速发展 趋势, 在促进国民经济发展中发挥了积极的作用,并 且占有十分重要的地位,饲料产业已成为增长速度最 快的产业之一。企业管理者应认清形势,抓住机遇,尽 快转变观念,引入先进的管理理念和管理方法,提高 产品质量,才能具有抵御外部风险的能力。中国企业 与外国企业竞争取胜的关键是要提高自身管理,提高 自己产品的竞争力。企业的厂长、经理们应确定本企 业的产品结构,对风险大的产品要认真分析是保留还 是放弃,该淘汰的产品要下决心淘汰,不要让其成为 企业的包袱。入世后低价竞销已成为落后的竞争方 式,且往往招来众多反倾销。因此,企业要综合考虑本 企业产品价格和非价格竞争优势,找出企业产品存在 的差距。首先,以产品价值链评估本企业的竞争优势, 从本企业产品在国内外市场上的市场占有率和市场 增长率分析本企业产品的竞争能力,检查影响竞争力 的原因。从企业设计、生产、营销、交货和服务的所有 过程中找出影响价值形成的环节,用 ISO9000 标准规 范企业自身,用新的管理理念武装头脑、更新观念、培 养和提高竞争力。实行规范的现代化管理,加快企业 制度改革,使企业成为竞争的主体,所以贯彻 ISO9000 标准是企业抵御风险的必由之路。

#### 2 贯彻 ISO9000 标准的现实意义

ISO9000 标准是国际标准化组织(ISO)制定和发布的一个管理类标准,它总结、提炼了世界各国质量管理理论及实践经验的精华,是一套先进的质量管理标准。ISO9000 标准是以标准为中心的质量管理方法,它在形成过程中吸取了全面质量管理的优点,并且具有标准独有的科学性、系统性、严密性以及具有统一评价尺度、内外监督机制和便于贯彻实施等优点。又由于ISO9000 标准的世界通用性,有利于打破国际贸易壁垒,与国际经济接轨,创造外向型经济环境。因此,ISO9000 标准在加强企业质量工作中显得更加有效和实用。

针对当前质量管理中普遍存在的弊端,贯彻 ISO9000标准并以标准的要求建立、实施和保持适宜 有效的质量体系,将会给企业带来以下的好处。

#### 2.1 有利于企业提高产品质量,保护消费者的利益

现代科学技术的发展,使产品向高科技、多功能、精细化和复杂化方向发展。但是,消费者在采购或使用这些产品时,一般都很难在技术上对产品加以鉴别。即使产品是按照技术规范、标准生产的,但当技术规范和标准本身不完善或组织质量管理体系不健全时,就无法保证持续提供满足要求的产品。按 ISO9000标准建立质量管理体系,通过体系的有效应用,促进企业持续改进产品和过程,实现产品质量的稳定和提高,无疑是对消费者利益的一种最有效的保护,也增加了消费者选购合格供应商产品的可信程度。

#### 2.2 为提高企业的持续改进能力提供了有效的方法

ISO9000 标准鼓励企业在制定、实施质量管理体系时采用过程方法,通过识别和管理众多相互关联的活动,以及对这些活动进行系统的管理和连续的监视、控制,以实现顾客能接受的产品。此外,质量管理体系提供了持续改进的框架,增加顾客和其它相关方满意的程度。因此,ISO9000 标准为提高企业的持续改进能力提供了有效的方法。

#### 2.3 有利于企业持续满足顾客的需求和期望

顾客要求产品具有满足其需求和期望的特性,这 些需求和期望在产品的技术要求和规范中表述。因为 顾客的要求和期望是不断变化的,这就促使企业持续 改进产品和过程。而质量管理体系要求恰恰为组织改 进其产品和过程提供了一条有效的途径。

#### 3 建立和实施质量管理体系步骤

#### 3.1 质量体系建立的组织策划

在管理者或受益者的推动下,企业有建立和实施 质量体系的想法,质量体系建立前期的工作包括:① 领导决策,统一思想,形成共识;②组织落实,成立领 导小组和精干的工作班子;③拟定贯标工作计划;④ 进行质量意识和标准的培训。

以上工作中,企业管理层的认识与投入是质量体系建立与实施的关键,组织和计划是保证,教育和培训是基础。确定推行组织,这是成败的关键所在。任何一项需要大面积开展的工作,都需要有专人负责组织开展,推行 5S 也绝不例外。

#### 3.2 质量体系的总体设计

这一阶段的工作包括:①质量体系现状的调查与评价;②质量保证模式选择;③确定质量方针和质量目标;④确定管理者代表;⑤确定组织结构,明确与质量有关人员的职责、权限和相互关系;⑥配备资源;⑦

确定质量体系结构和选择质量体系要素。

质量体系由组织结构、程序、过程和资源构成。在质量体系总体设计过程中,选择和确定质量保证模式和质量体系要素,制定适合本身特点的方针和目标,构建适合自身实际情况的体系结构,是保证质量体系有效运行的必要条件。在质量体系的设计过程中,组织结构的设计是本阶段工作的重点和难点。很多企业在认证后仍然出现权责不清、多头管理、效率低下的现象,皆与企业组织结构维持原状,设计不科学、不合理有关。组织结构的设置应坚持精简、高效的原则,职能完备且各部门之间无重叠、重复或抵触现象存在。

#### 3.3 质量体系文件的编制

编制适合企业自身特点并具有可操作性的质量体系文件是质量体系建立过程中的中心任务。这项工作包括:①质量体系文件结构的策划;②体系文件编写培训;③体系文件(包括质量手册、程序文件、质量计划、作业指导书、质量记录等)的编制;④文件审核、批准和发放。

质量手册是描述质量体系的纲领性文件,其编写要求可参照 ISO10013《质量手册编制指南》;程序文件是描述为实施质量体系要素所涉及的各职能部门的活动,是质量体系有效运行的主要依据。程序文件应具有系统性、先进性、可行性以及协调性;质量计划是针对特定产品或项目所规定的措施和活动顺序的文件;作业指导书、质量记录属详细的作业文件,企业可根据需要增加或减少。质量手册、程序文件的编制顺序可依企业情况而定。文件发放前,要由授权人审批,发放时应做好记录,以便修改、收回。

#### 3.4 质量体系的实施、运行和保持

质量体系文件是否可行、有效,要在运行中检查,这一阶段的工作包括:①质量体系实施的教育培训;②质量体系的实施运行;③内审计划的编制与审批;④内部质量体系审核;⑤纠正措施跟踪;⑥管理评审。

评价质量体系,首先看文件化的质量体系是否建立,然后看是否按文件要求贯彻实施,并且在提供预期的结果方面是否有效,以上三个问题的回答,决定了对质量体系的评价结果。内审与管理评审是企业内部对质量体系评审、检查、评价的方法,在体系文件中,对开展此项工作的目的、要求、时间间隔等均应有所规定。在质量体系实施、运行过程中,企业应逐步建立起一种长期有效的信息反馈系统,对审核中发现的

问题,应及时采取纠正措施,建立起一种自我改进和完善的机制。

#### 3.5 质量体系的合格评定

在以上工作全部完成后,企业可根据需要申请第三方认证,这项工作包括:①选择认证机构;②提出认证申请;③认证日程表确定;④认证时的准备;⑤认证后纠正措施的跟踪。选择合适的认证机构对企业进入市场、提高信誉非常重要。很多企业过于迷信国外的认证机构,他们不了解认证机构无等级之分,只有信誉之别。认证机构的选择同样要以市场为导向、以顾客需求为导向。

#### 4 企业在获得质量认证后的质量管理方法

随着越来越多的企业加入到 ISO9000 标准质量 认证热潮中来,质量认证有效性日益成为一个严肃的 问题。

#### 4.1 营造企业质量文化

质量文化实际上是企业在长期质量管理中形成的具有本企业特色的管理思想和理念;同时也是企业员工为实现质量方针和目标自觉遵循的一条共同价值观和信念。营造具有特色的企业文化和质量文化对推动企业的发展非常重要,更有利于领导发挥作用,使企业更有效地贯彻质量管理原则、实施质量管理体系。

#### 4.2 塑造企业质量形象

在社会和公众中塑造出良好的企业形象是提高企业竞争力的重要手段,是企业一种极为重要的资源。企业应通过与社会公众和客户沟通对自身企业形象调查、评估、定位、宣传,从领导到员工,从点滴做起,坚持不懈地努力塑造好企业形象。

#### 4.3 实施质量意识与质量第一的策略

质量是企业的生命,质量意识是企业的灵魂。建立质量经营管理要从思想上以顾客的需求为目标,动员各部门和全体员工,在全过程中实施质量、成本、交付、服务等系统的管理,从降低质量成本、优化成本控制入手,提高质量效益。

#### 4.4 内部顾客满意方法

重视集体的作用,开展全员质量经营活动,提倡上道工序把下道工序视为客户、中层管理人员把基层员工视为客户、企业领导把全体员工视为客户的思想,加强各工序间、部门间、领导与员工间的交流与合作。企业应做到尊重员工、体贴和关怀员工,与员工利益共享,加强企业内部沟通,改善内部管理,做到让外部顾客满意的同时使"内部顾客"也满意。质量经营战

略是一种集各种质量理论与实践精华的全新的管理 方式,将带动和促进整个企业素质的提高,实现企业 产品质量和经济效益的长期、稳定的发展。

**4.5** 大力开展以质量价值观为主的质量文化培训工作,保证三个标准的要求都得到满足

开展好质量文化建设,必须加大力度,开展认同 培训,使员工形成共同的质量价值观。①针对 ISO9000 标准知识的培训枯燥、乏味的问题,采取多种形式,如 放幻灯讲大课、小范围讨论式、专题答疑、多媒体放映 等方法,激发员工学习的自觉性,加深对标准知识的 理解和掌握。②根据各类人员在综合管理体系中的作 用不同而设计不同的课程分批培训,分别设定内审 员、推进员、处级以上人员、最高管理层培训和全员培 训课程,有的放矢,针对性强、效果好。③除课堂教授 认识集团价值观外,还应对员工进行岗位行为规范培 训使他们明白自己应当怎样做,不该怎样做,使其具 有初步的规范。④精心进行管理体系策划,运用 ISO9000 的管理原理控制综合管理体系的设计质量, 从而保证管理体系建立和维护的质量。⑤科学设计体 系框架并严格控制体系文件质量。设计体系框架采取 从企业的职能定位,分解过程和流程,确定主控程序 和支持程序文件,分解程序的控制范围,按流程的思 路进行文件编写。⑥实现全面质量管理,通过对所有 部门和所有过程的统一控制,实现企业运行的连续 性,提高效率,从而带动效益的增加。⑦运用现代化管 理手段,全面使用计算机管理,运用办公自动化系统 运作综合管理体系。⑧加强质量管理的评审工作,给 体系的改进注入动力。

**4.6** 对质量管理体系持续改进,预防不合格,使客户满意

2000 版 ISO9000 坚持和突出了不断进行质量改进的思想,强调"质量管理体系"旨在通过建立这种体系,对体系进行持续改进以及预防不合格来满足顾客要求,从而使顾客满意。提出"过程改进",借用PDCA 循环模式提出"从确定、测量和分析现状入手直至更改纳入文件"共7个步骤。该标准充分体现了当今世界上质量界普遍接受和认同的质量管理八项基本原则,体现了 ISO9000 族标准的发展,体现了从"符合要求"发展到"追求成效",从"预防为主的质量保证"向"主动进攻的质量经营"的"质"的飞跃。这是一个质量管理的创举,质量标准的创新,也是质量文化的创新。

(编辑:崔成德,cuicengde@tom.com)

### 加强反刍动物饲料监管 有效防范疯牛病的发生

刘 全 刘占宏

反刍动物饲料由于其自身具有的特殊性,在饲料行业中占有重要位置。近几年来,食品安全问题引起了国民的高度关注,各级政府的饲料主管部门均加大了对反刍动物饲料的监管力度,其目的是有效防范疯牛病等疾病的发生,保障人民身体健康。

# 1 疯牛病产生原因及加强反刍动物饲料监管工作的必要性

"疯牛病"、"克雅氏症"以及"疯羊症"等均属不同形式的海绵状脑病,主要症状是大脑逐渐坏死,造成患者或病畜死亡。疯牛病对人类危害十分严重,该病一般有几年至几十年的潜伏期。一旦发病,患者视力、听力、行动能力以及思维能力急剧下降,短期内就会死亡。现已查明,在反刍动物饲料中添加含有牛羊源性成分的动物源性饲料是传播这一疾病的主要途径。目前全球共有 11 个国家和地区发现了疯牛病,中国虽未发生过疯牛病,但不可对此掉以轻心。

随着我国畜牧产业政策的调整和饲养方式的转变,大量的反刍动物(主要是牛、羊)饲养已由散养逐步过渡到圈养、规模饲养,由原来以食草为主转变为以食用配合饲料为主。在反刍动物饲料生产过程中,为使营养物质配比均衡,除了加入植物性蛋白、钙、磷等物质外,也添加动物源性饲料来提供动物性蛋白与钙、磷等物质。

动物源性饲料是指以动物或动物副产品为原料,经工业化加工、制作,用于生产浓缩饲料或配合饲料的物质,主要包括肉粉、肉骨粉、鱼粉、血粉、血浆粉、血清粉、羽毛粉、水解羽毛粉、水解毛发蛋白粉、皮革蛋白粉、骨粉、动物油渣等。鉴于反刍动物饲料、动物源性饲料产品卫生安全与"疯牛病"的发生密不可分,我国政府十分重视对反刍动物饲料、动物源性饲料的监管工作,明令禁止在反刍饲料加工过程中添加含有动物源性成分的饲料原料,农业部每年都组织部级饲料监督检验测试中心和省级药检所,加大对反刍动物饲料和动物源性饲料产品的监督检验,收到较好的效果。

收稿日期:2006-06-06

#### 2 当前我省反刍动物饲料生产与质量状况

近年来,辽宁省反刍动物饲养数量增加较快,反 刍动物饲料生产数量与前5年比明显增加。在近二年 农业部和省组织的反刍动物饲料、动物源性饲料质量 监督检验中, 辽宁省这两类饲料产品的常规指标、卫 生指标合格率均处于较高水平,但每年都有个别饲料 生产企业生产的反刍动物配合饲料或动物源性饲料 中检出牛源性成分。2005年辽宁省反刍动物饲料中 牛、羊源性成分例行监测结果是合格率为98.76%,不 合格产品来自2家企业的4批次商品牛饲料和1批 次动物源性饲料;2006年上半年合格率为99.5%,不 合格产品来自一家饲料生产企业的一批次商品牛饲 料,不合格项目均为检出牛源性成分。现场检查也存 在生产条件相对落后、卫生条件差、人员素质低下等 问题。这表明辽宁省反刍动物饲料、动物源性饲料生 产存在一定的安全隐患,从有效防范疯牛病的发生、 切实维护人民身体健康角度出发,需要进一步加大对 饲料生产企业的监管力度。

#### 3 监管工作应采取的主要措施

- 3.1 加强宣传工作,增强安全意识。结合当前工作实际,应着重加强《饲料和饲料添加剂管理条例》、《动物源性饲料产品安全卫生管理办法》等法律、法规和防范疯牛病相关知识的宣传,让广大群众了解疯牛病与反刍动物饲料的关系,让饲料生产企业清楚加强产品质量控制是对社会应尽的职责和义务,增强全社会的质量安全意识。
- 3.2 做好新建动物源性饲料生产企业审查工作。包括申报材料审查、设备管理与生产管理、质量管理、人员技术支持、厂房与设施等软硬件审查,把好市场准入关,不具备条件的坚决不予发证,确保新建企业具有先进的生产工艺和较高的质量控制能力。
- 3.3 加强对反刍动物饲料与动物源性饲料生产企业的日常监管。饲料主管部门对企业的日常监管是整个监管工作中最重要的一环,监管要做到不定期行政检查与定期的质量监督相结合,做到检查投料记录与品控报告相结合,做到生产管理与质量管理有效衔接,鼓励合法生产,打击违法生产,通过依法行政有效防范疯牛病的发生,最大程度降低安全隐患。

(编辑:刘敏跃,Im-y@tom.com)

刘全,辽宁省兽药饲料监察所。

刘占宏,单位及通迅地址同第一作者。

#### ·本栏目由美国大豆协会协办·



# 来自饲料厂和养殖场生产第一线的若干问答(二十九)

美国大豆协会北京办事处饲料技术主任 程宗佳 博 士成 都 枫 澜 科 技 有 限 公 司 苏纯阳 教 授国家粮食储备局无锡科学研究设计院 邓小春 高级工程师

#### 1 夏季饲料水分调控应注意哪些问题?

答:夏天气温高,水分蒸发快;蒸汽管道热损失小,蒸汽饱和度高且吸附水含量低;原料本身温度高等因素均不利于颗粒饲料在生产过程中的保水及吸纳水分。所以,在炎热干燥的季节,颗粒饲料成品的水分一般都在9%~11%左右,低于国家(企业)标准。颗粒饲料成品水分低,使饲料生产的投入产出率偏低,给饲料厂家造成了一定的效益损失。颗粒饲料成品水分低还会导致淀粉糊化度降低,饲料的适口性下降、粉末增加,从而降低动物的采食量、增加饲料的浪费,影响动物的生产性能,降低饲料报酬。因此,一些厂家在夏季采取一些措施给颗粒饲料增加水分。

由于夏季给颗粒饲料增水有诸多好处,是提高产品质量 又降低成本的好方法,对厂家很有诱惑。一些参与该工作的同 志往往对所在公司的现状及相应的条件认识不足,在实际操 作中可能会出现诸多问题,而一旦饲料出现问题,往往从添加 剂或原料上找原因,对这种增水工艺的反思不够,对这种结果 造成的潜在影响估计不足。国内外颗粒饲料增水动物实验基 本都是将生产出的增水饲料直接用于饲喂,饲料使用时间很 短,不存在饲料霉变问题,以上优点很明显,而在我国颗粒饲料 从生产到用户,一般要1个月左右,长的可达2个月,需经过原 料选购、加工、储存、运输、销售、使用等6个环节,每个环节都 有可能使饲料发霉氧化或营养成分损失(肉眼未能察觉),稍一 不慎,就可能出问题。

存在于饲料中的水分有游离水和结合水之分,微生物能够利用的是游离水。一般来说,含水分多的饲料,微生物容易生长,含水分少的饲料,微生物不容易生长。目前,夏季增水方法多是调质前喷水,增加的主要是游离水,很容易被微生物所利用,如加的水不清洁或不均,更加大了污染的可能性。另一种方法是给冷却颗粒料的空气喷雾水,令冷却空气含水量增加,从而使颗粒饲料内的水分不易散失,水分增加,这种方法存在4个问题:①颗粒料的降温不但靠空气的热传导,更重要是靠内部水分的散失而带走热量,这种方法会影响颗粒料内部散热,形成"热料";②由于冷却空气中的水分增加,在热交换过程中会增加颗粒料表面的水分和杂菌数量,增大发霉的风险;③由于该设备的某些部位(如水池、除尘、纱布层)在高温、高湿、高尘情况下,不但不能隔绝微生物,反而成为微生物(特别是霉菌孢子)生长的载体,成为污染源;④因为

是制粒后增水,对淀粉糊化度基本无改善作用。

目前水分活度(Water Activity)已成为关于饲料防霉和防止霉菌产毒的安全指标,是饲料质量控制体制中的一个重要指标,它可以影响饲料中微生物的繁殖、代谢、抗性和生存。仅用饲料中的含水量,不能准确地反映饲料中能够被微生物利用的实际含水量,也不能评价微生物对饲料发霉的影响。饲料的水分活度不但与水分含量有关,还与环境的温度及湿度有关,环境的温度及湿度越高,水分活度就越高,微生物就越容易生长繁殖。微生物在生长过程中还会产生代谢水(是其氧化分解饲料中碳水化合物而额外产生的水分),这种代谢水可以使生长环境的水分活度值进一步增加,促使霉菌生长繁殖。研究表明(M. Jimenez 等 1996; Kristian Fog Nielsen, 2003),在水分活度低的情况下,产毒霉菌可能不产或较少产毒素;但在活度高的情况下,毒素产生会显著增加。这在当今饲料原料霉菌及其毒素污染趋于严重的情况下,夏季增水工艺更应慎重对待。

营养成分损失的风险增大,水分对蛋白溶解度的影响极显著(P<0.01)。尤其是在高温、高水条件下,贮藏2个月后,蛋白质溶解度日下降值达53.1%,这是因为高水分可增加热效应,加快美拉德反应和氧化破坏;而在低水分条件下,蛋白溶解度值日下降范围在9.7%~26.8%内。研究表明,水分对有效赖氨酸的影响显著(P<0.05)。这也是发生美拉德反应和氧化作用的结果,高水分会加快反应的速度,导致氨基酸发生化学反应而受损,氧化变质风险增大。

总之,夏季饲料调控水分是值得研究的一个课题,每种工艺、每个环节都需认真评估,严格把关,决不能急功近利,不顾设备条件、工人素质、管理水平地盲目去操作,否则可能会对质量造成负面效果。

- 2 提升机跑偏是由什么原因引起?如何解决?(吉林读者 王强)答:提升机畚斗带跑偏的原因是:①提升机的头轮和底轮安装有偏差,或整个提升机安装不垂直,应进行调整;②提升机的畚斗带安装有偏差。解决方法通常是在提升机的底轮处进行调节涨紧螺栓,直到畚斗带运行正常为止。
- 3 对于料仓结拱问题,除了震动和人工敲击外目前有无更新的方法? (江苏读者 李建颉)

答:①改变料仓结构;②控制原料水分;③控制料仓的储存时间,对于易结拱的原料尽量不在料仓内储藏时间过长,满足生产要求即可。