

中国期刊方阵双效期刊

北方优秀期刊

辽宁省一级期刊

《中国学术期刊(综合评价数据库)来源期刊》
《中国学术期刊网》、《中文学术期刊(光盘版)》
全文收录期刊

2007年第28卷第9期

(总第294期)

(1980年创刊)

主办单位:

辽宁省农业机械研究所

编辑出版:饲料工业杂志社

地址:沈阳市金沙江街16号6门

邮编:110036

电话:总编室(024)86391923

编辑一室(024)86391926(传真)

编辑二室(024)86391925(传真)

网络发行部(024)86391237

投稿信箱:tl@feedindustry.com.cn

网站:www.feedindustry.com.cn

总编辑:姜春智

副总编辑:沈桂宇

责任编辑:张智

广告承印代理:沈阳同兴广告有限责任公司

总经理:林勇

副总编辑:荣立南 于晓楠

业务内勤:刘占

地址:(110036)沈阳市长江街126号甲

B幢4单元16楼

电话:(024)86276137 86276627

传真:(024)86276127

邮箱:ggbb@feedindustry.com.cn

印刷:辽宁省印刷技术研究所

国内发行:辽宁省报刊发行局

国外发行:中国国际图书贸易

公司(北京399信箱)

出版日期:每月5日、20日出版

国外代号:M4290

国内统一连续出版物号:CN21-1169/S

国际标准连续出版物号:ISSN 1001-991X

邮发代号:8-463

发行范围:国内外发行

广告语:证:辽刊字01-82号

开户行:中信银行沈阳分行皇姑支行

帐号:72214101826000548-49

每份定价:6.00元

如需转载本刊文章及图片,请注明
摘自《饲料工业》杂志,并寄样刊。

饲料

SILIAO GONGYE

(半月刊)

企业标识展示



正昱人才工程
(0519)7309867



通成集团
(028)85188888



江苏中农
(0514)7848811



江苏北方
(0412)3343018
(024)88080922



唐山东阳
(0315)3719406



江苏凡友
(0519)8309888



安迪苏
(021)55830998



德巴特胜利
(029)87035008



武汉泛华
(027)83569722



杭州康德兴
(0571)86433111



上海康普
(021)64197116



新泰友邦机械
(0538)7427566



东亚亚太
(0769)22892600



广州海大
(020)84661699



广州山比克
(0760)3113061

目次

工艺设备

- 1 50%粉剂氯化胆碱干燥工艺的选择 邢召良 李铁 倪春琳等
- 4 在线清筛机构在粉碎机中的运用 高峰 王灵珠

肽营养

- 6 小肠转运蛋白(PepT)的活性调节 李霞 王康宁 贾刚
- 10 改进 Tricine-SDS-PAGE 法分析重组牛乳铁蛋白肽 邢芳芳 黄瑞林 张友明等

营养研究

- 14 日粮配制中能量和蛋白质的关系 蒋茜茜 吴振洲
- 17 产蛋鸡卵母细胞卵黄生成受体(OVR)的研究进展 崔学平 陈代文 张克英

试验研究

- 21 川化学分析法预测大豆蛋白类饲料蛋白质消化能值的模型建立 李珂 张宏福 王子荣
- 26 泔水垃圾发酵生产微生物蛋白饲料工艺条件的研究 陈贵才 戴德慧 黄光荣等
- 31 五指山猪的泌乳性能及泌乳行为 艾琴 杨红军 顾亮红

反刍动物营养

- 35 饲喂含常规大豆蛋白代乳料对犊牛生长性能和血液生化参数的影响 李影球 方运雄 包付银等

- 38 内蒙古双峰驼甲烷产生量的体外估测 李震 金海 薛树耀等

- 41 利用体外法研究尿素素与乙酰胺防酸的合理配比 王虎成 马亚玲

检测技术

- 44 几种重要蛋白原料的掺假与鉴别 刘兴旺 王华刚
- 48 豆粕中尿素酶活性检测方法的应用推广 谭宝玲 冯建文 陈丽

饲养试验

- 50 日粮中添加复方中草药添加剂对产蛋后期蛋用种母鸡繁殖性能和新城疫抗体效价的影响 柏华 牛竹叶 高玉鹏等
- 53 控释尿素对托牛瘤胃氮氨和微生物蛋白质的影响 李林 薛白 韩银仓等

专题论述

- 56 饲料企业库存系统的系统动力学研究 朱亚男 滕小华 李牧

问题探讨

- 60 我国畜牧业发展与粮食安全 孙涛 李胜利

工作研究

- 63 辽宁省“多宝鱼”及“多宝鱼”饲料中药物残留抽检情况分析报告 蒋莲萍 李明玥

50%粉剂氯化胆碱干燥工艺的选择

邢召良 李铁 倪春琳 郝阳 刘涛

氯化胆碱(Choline Chloride)化学名称为2-羟乙基-三甲基胺盐酸盐,分子式是 $C_5H_{14}ClNO$,分子量为139.63。氯化胆碱的结构见图1。

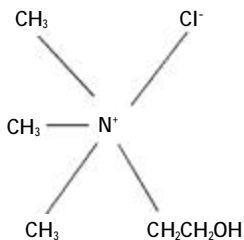


图1 氯化胆碱结构式

氯化胆碱分为液体和粉体两种状态。本文研究的是50%的载体型粉剂氯化胆碱(由70%的胆碱溶液与麸皮、玉米芯、糠皮载体混合干燥后得到的粉状物料)的干燥工艺选择。载体麸皮、玉米芯、糠皮含有淀粉及蛋白质胶体,这类材料在浸渍氯化胆碱水溶液后会使得淀粉粒子发生膨胀,其溶胀物在干燥过程中遇到60~80℃的温度又发生糊化,造成物料粘结成块;而蛋白质胶体因其亲水作用在该温度下会发生胶凝,同样造成物料的粘结。淀粉和蛋白质胶体的协同作用有时会使干燥物料板结成无法粉碎的塑性块体,损坏生产设备,使生产无法进行。如何避免淀粉的糊化和如何避免蛋白质的胶凝或破坏其胶凝,是选择干燥工艺条件的关键。

1 国内粉剂氯化胆碱干燥的生产工艺及其存在的问题

1.1 20世纪80年代,生产厂家一般采用烘箱或烘房干燥,物料经常板结,需粉碎后才能使用,不能保证产品质量;物料易糊化变质,甚至燃烧,给安全生产带来很大的问题。干燥系统单机处理量小,不能满足大规模生产的要求。生产环境较差,工人的劳动强度也大。

1.2 用炒锅烘干粉剂氯化胆碱,能耗高,产量小,工人的劳动条件差,劳动强度高制约着该设备的推广。

1.3 管束干燥机干燥粉剂氯化胆碱,干燥过程中物料容易粘附在换热管外壁上,造成物料变质糊化,产品质量不好。干燥系统单机处理量小不能满足大规模生产的要求。其典型流程如图2所示。

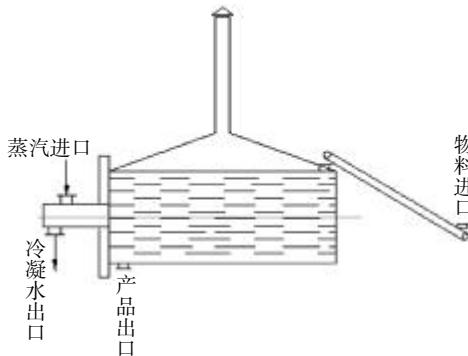


图2 管束干燥机生产流程

1.4 气流干燥机干燥粉剂氯化胆碱,干燥过程气流管中物料易粘壁、着火,造成安全事故。旋风易粘壁阻塞,系统很难较长时间运转,单机处理量小,不能满足大规模生产的要求。其典型流程如图3所示。

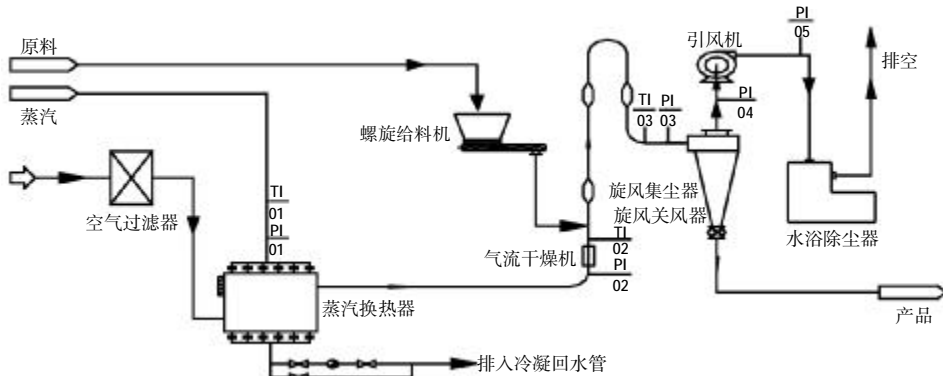


图3 气流干燥机干燥粉剂氯化胆碱工艺流程

邢召良,山东天力干燥设备有限公司,250014,山东省济南市经十路东首科院路19号。

李铁、倪春琳、郝阳、刘涛,单位及通讯地址同第一作者。

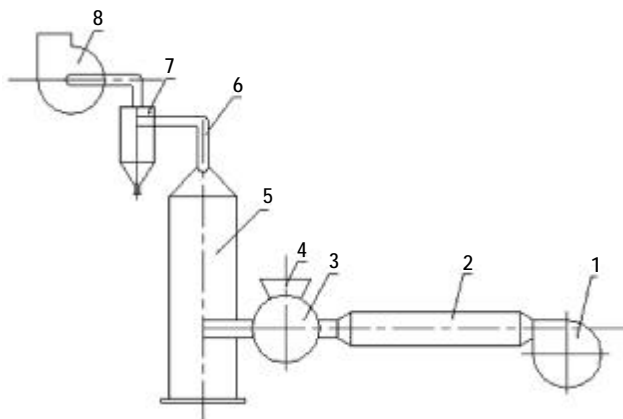
收稿日期:2007-03-12

1.5 粉碎式旋流干燥机干燥粉剂氯化胆碱,干燥过程中气流管中的物料易粘壁、着火,造成安全事故。干燥系统单机处理量小,不能满足大规模生产的要求。旋流干燥机易粘壁阻塞,系统很难较长时间运转。其典

型流程如图 4 所示。

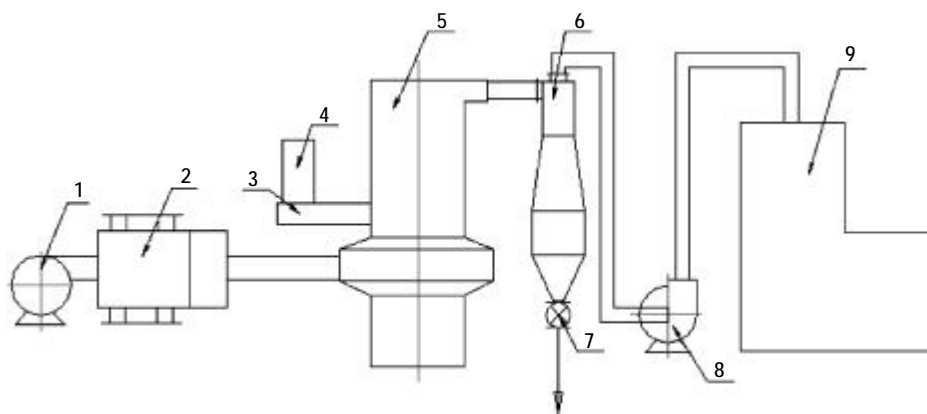
1.6 旋转闪蒸干燥机干燥粉剂氯化胆碱,设备处理量

较小。物料容易粘壁,积聚在闪蒸干燥机的锥体部分,造成设备无法长期正常运转。其典型流程如图 5 所示。



1.鼓风机 2.热风炉 3.破碎机 4.喂料机 5.旋流干燥塔 6.干燥管 7.旋风分离器 8.引风机

图 4 粉碎式旋流干燥机干燥粉剂氯化胆碱工艺流程



1.鼓风机 2.蒸汽换热器 3.喂料机 4.打浆机 5.旋转闪蒸干燥机 6.旋风除尘器 7.关风机 8.引风机 9.水浴除尘器

图 5 旋转闪蒸干燥机干燥粉剂氯化胆碱工艺流程

1.7 耙式干燥机干燥粉剂氯化胆碱,设备处理量较小。物料容易粘壁,积聚在干燥机的顶部,造成物料糊化变质,甚至着火燃烧。其典型流程如图 6 所示。

1.8 流化床干燥机干燥粉剂氯化胆碱,绝大部分单机产量在 500 kg/h 以下可以运行。干燥系统单机处理量小,不能满足大规模生产的要求,且需要定期清理流化床的布风板和清除床体内的颗粒物料。干燥过程中物料容易搓球和结块,干燥后需要进行破碎。其典型流程如图 7 所示。

2 干燥工艺方案的确定

上述的粉剂氯化胆碱干燥工艺过程,普遍存在着处理量较小、可靠性不高、能耗较高的缺点。在对各种干燥方式进行技术经济比较并查阅了大量的文献资料后,确定用二级自清理式回转圆筒干燥机来干燥

50%粉剂氯化胆碱。其典型的工艺流程如图 8 所示。

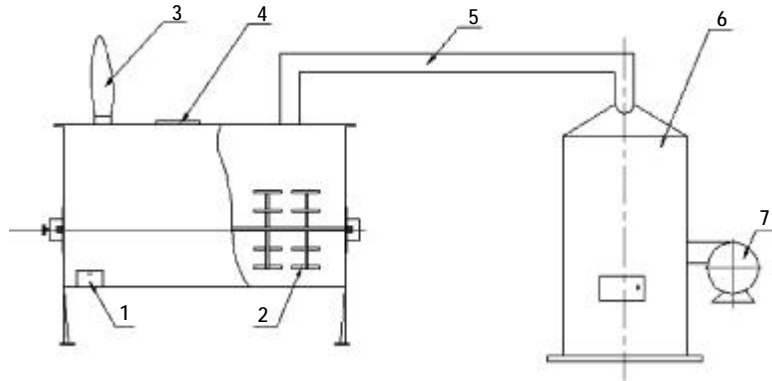
该生产工艺已成功应用在国内几个氯化胆碱干燥工程上。经过长期生产实践得出的各项指标如下: ①产品年产量>1 万吨; ②粉剂氯化胆碱干燥前水分 25%; ③粉剂氯化胆碱干燥后水分 0.97%; ④干燥机筒体的转速 3 r/min; ⑤进风温度 160 ℃; ⑥排风温度 80 ℃; ⑦每吨产品的系统蒸汽能耗≤0.92 t。

3 结论

该氯化胆碱生产工艺有以下优点。

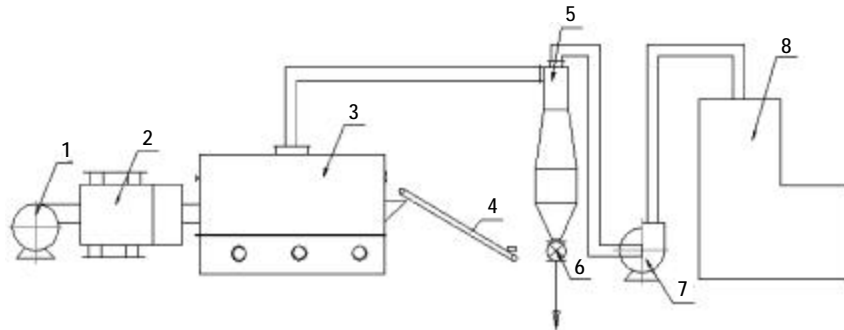
① 解决了干燥过程中氯化胆碱结疤导致的物料变质,甚至着火的问题,系统的安全可靠性得到大大改善。

② 解决了因物料的粘结性而导致的产品质量无法保证的问题,产品的质量达到国际水平。



1.出料口 2.抄板 3.除尘袋 4.进料口 5.热风管 6.热风炉 7.鼓风机

图6 耙式干燥机干燥粉剂氯化胆碱工艺流程



1.鼓风机 2.蒸汽换热器 3.循环流化床干燥机 4.皮带喂料机 5.旋风除尘器 6.关风机 7.引风机 8.水浴除尘器

图7 流化床干燥机干燥粉剂氯化胆碱工艺流程

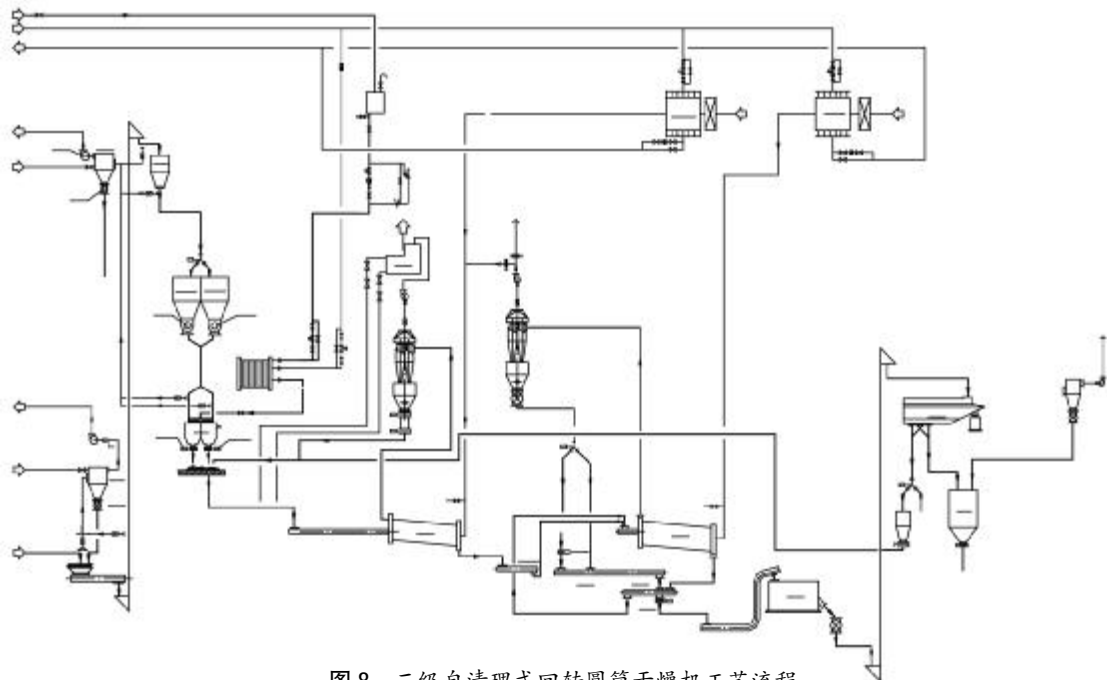


图8 二级自清理式回转圆筒干燥机工艺流程

③ 整个生产过程物料基本在封闭的状态下运行,使臭气味的污染问题大大改善。

④ 系统的能耗大大降低,节约了成本。

(编辑:崔成德, cuiengde@tom.com)

在线清筛机构在粉碎机中的运用

高峰 王灵珠

1 现有粉碎机的运行状态及分析

物料经锤片打击破碎后加速作圆周运动，离心力的作用使物料脱离锤片的打击，并很快在筛片侧形成物料环，粗细物料的质量不同造成物料环的分层，粗料粒层紧靠筛片侧，细料粒层覆在粗料粒层上。如果无法破坏物料的环境层，不但影响大颗粒物料重返粉碎区，而且还影响细物料的过筛，严重的还造成堵筛。目前解决的方法为减小锤筛间隙，片面利用锤片来破坏物料的环境层，从而造成物料重复粉碎，料温升高，能耗加大，对于细粒径的物料粉碎基本上是起不到作用。

我们可避开无序状态，建立一个简单的模式来再次分析：先引入“物流”的概念，以筛片为分界线，将粉碎过程分为三部分，第一部分为筛片以外的合格粒料，第二部分为附于筛片的环境层，第三部分为锤片粉碎区，可以将这三部分分别对应“物流”中的制造、贮运、市场，我们知道好的成功的物流，关键是贮运的网络，分析模式如图 1 所示。

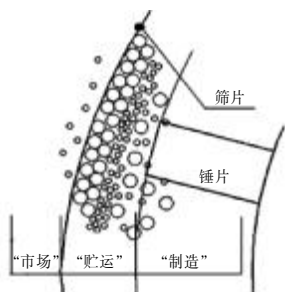


图 1 分析模式

这样我们就不难看出：粉碎的产量和品种关键是粉碎中的“贮运”。减小锤筛间隙相当于用“制造”环节来帮助“贮运”，并没有从“贮运”自身来解决，物流量小还可以，一旦出现大的物流量，就会造成锤片、筛片磨损加快，料温升高，大量的动能被转化为无用功。粉碎机中的“贮运”包括：第一，迅速将粗粒料返回锤片粉碎区；第二，迅速将细粒料送出筛片，避免返回粉碎区。而其瓶颈就是存在“分级物料环境层”，要有序破

坏它，但其自身解决不了，就要采用其它方式。

所以筛片的高通透性是“贮运”成功的关键要素，对于高水分、油性物料的粉碎和超细粉碎尤为重要，只有解决了才能增加粉碎机的粉碎品种。

2 本设计原理

本设计目的就是提高筛片的通透性入手，设计某机构实现筛片的在线清理。

先引入“筛分能力”这个概念。我们知道对于筛分机械，用“筛分效率”来分析机械性能。“筛分效率”是筛下产品重量与给料中细粒级重量的比值。影响筛分效率的因素主要是给料粒度和料中水分含量。对有一定分级功能和产量要求的粉碎机来讲，参考“筛分效率”扩充影响因素，用“筛分能力”来分析。它会让我们整体考虑实现一定功能的设备各设置环节间的关系。“筛分能力”(K)的概念包括：①筛子的有效面积(S)；②物料的穿透能力(W)；③物料到达筛片的时间(T)。可简单表示为 $K=S \times W/T$ ，其中：筛子的有效面积(S)可用物料水分、吸附性、油性来修正；物料的穿透能力(W)可用物料的粒度、物料和筛片的相对运动来修正；物料到达筛片的时间(T)可用初始动能、粒径大小比例、运动轨迹来修正。它是一个综合性能参数，不仅局限于筛子的本身，还要考虑其它相关参数。

利用筛分能力公式 $K=S \times W/T$ 作如下分析：只有 S 和 W 提高，T 下降，筛分能力才会提高。物料环境层会使 S 减小，粗料层的阻挡又增加了 T，粒径减小增加了穿透能力 W，又获得动能减小了 T，筛分能力就会提高。

筛片振动也能提高筛片的通透性，但对于粉碎机的筛片振动来讲，振动打乱了环境层，存在减小物料到达筛片的时间(T)的可能，但由于筛与物料存在相对运动，特别是物料自身具有动能，又存在减小物料穿透能力(W)的可能。

振动筛工作过程中给予物料动能使其按规律运动(物料处于筛子的受控状态)，经过一定的位移或位置的调整而离开筛面，对于自身具有一定动能和方向矢量的物料效果并不突出。因为物料的动能不是振动筛给的，故无法控制其方向矢量，物料的方向矢量对筛孔面不一定为正值，而筛片的振动使筛孔存在另一个方向矢量又为物料穿过筛孔增加了变数，甚至是削弱。我们知道，粉碎腔内的物料是具有各个方向的动能矢量，这样的物料又使环境层中的物料动能矢量各

高峰，江苏牧羊集团研发中心，工程师，225127，江苏省扬州市牧羊路 1 号。

王灵珠，扬州职业大学。

收稿日期：2006-12-18

异。所以用振动筛的筛分能力系数来分析用于粉碎机中的筛片振动没有相应的基础,而且受到振幅及振动方向的制约。物料会在筛面上产生跳动,物料环破坏不彻底,对于细颗粒,因其吸附力加强,振动时随筛片一起移动,因质量小而获得惯性小,很难获得与筛片分离的临界力,所以筛片振动运用有一定的物料和品种的限制。对于高水分、油性物料的粉碎及超细粉碎其作用将会明显减弱。

为直观表述物料过筛过程,可简化说明:①物料以一个方向运动向前穿过往复移动的孔;②物料一边自身向其它方向运动,一边向前去穿过一个往复移动的孔,结果不同。

筛子的有效面积(S)也是至关重要的因素,环流层和堵筛都会大大降低有效面积,所以要提高有一定面积的筛片的有效筛面积必须对其进行清理,保持其高通透性。

3 本设计结构解析

本设计利用空间气压瞬间变化引起气流冲击筛片来实现环流层的破坏,清理筛孔,达到增加筛片的有效面积,利用气囊和弹性板来完成这一过程。

在筛片外侧的一定距离处设一阀板,这一距离要保证出筛物料有一定运行空间和产生气压变化的空间,在操作门上设一气缸,气缸缸体固定在操作门上,气缸推杆和阀板固定。如图2所示。

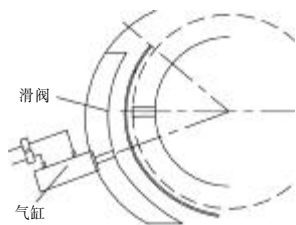


图2 滑阀式清筛机构

由气缸带动阀板进行瞬间往复移动,就使阀板与筛片组成的空间内气体瞬间膨胀和收缩,使气体快速往复移动,对筛片实现来回冲击,从而破坏环流层,使物料返回粉碎区,堵住筛孔的物料在气体的直接作用下脱离筛面,清理堵筛,保证筛片的高通透性,提高筛子的有效面积(S),进而提高筛分能力(K)。

要说明这一清筛机构能否产生作用,必须解决一个疑问:在一个开放空间,这种过程是否能够实现气流的迅速移动。上面所述产生气压变化的空间是相对的,这个空间中的气流始终是处于运动状态的。从流体力学中知道,气体流动中存在动力粘度,是有一定的边界,气体的瞬间压缩和释放对另一个边界中的气体影响是可控的,动力粘度和惯性又会使这种影响存

在一定的滞后,正因为存在这种滞后,才能保证这些方案的成功实施。

这种提高筛片通透率的方法也可采用类似的气囊弹性板机构完成(见图3)。气囊瞬间充入一定量和一定压力气体,瞬间推动弹性板移动,气囊瞬间释放气体,弹性板靠其弹性恢复位置,阀板的外侧与弹性板间设一气囊。为保证安装的方便和运行的准确,本设计将弹性板、气囊集成于操作门中。

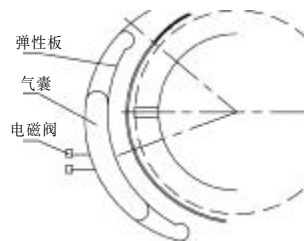


图3 气囊弹性板式清筛机构

气囊由电磁阀控制压缩空气的进出,使气囊体积变化可调到与清筛频率相匹配。另外,也可采用脉冲、超声波完成筛片的清理。

对筛面进行清理,提高筛子的有效面积的另一个意义是提高风量的有效使用,而避免扩大风量。

我们知道,要实现连续粉碎,就要有一定的风量带走合格粒料,但不能认为加大风量就能提高粉碎机的产量。气流中的粒料浓度和风速是衡量的参数。浓度是含物料的多少,只要不超过爆炸极限,应尽量提高浓度。风速是能不能将其带走输送出去的参数。浓度和风速都和风量有关,这就存在有效风量,实际上粉碎机工作过程中风量和风压处于一种自身平衡状态,要保证有效风量必须考虑风压,一个稳定的风压才能保证有效风量的稳定,而粉碎这一系统影响风压波动的是筛片环流层和堵筛,所以要让物料即时过筛和清理筛片是很重要的。如不即时过筛和清理,阻力加大,那么风量就会减小,导致风速减小,那时即使浓度再高也无法将其带出,这就是产量降低的原因。片面加大风量是无意义的,最后还是要处于平衡状态,反而会加大工艺中后面设备的处理困难和增加投资。

4 结束语

本文提出“筛分能力”的概念,从粉碎机各设置环节相互影响的关系分析,以系统解决堵筛问题。实现在线清筛,大大提高筛片的有效面积,从而增强过筛能力,使风压保持稳定,粉碎机运行更加稳定。进一步降低能耗比,同时对粉碎后的粒料品质有更好的保证。对于高水分、油性物料的粉碎及吸附力强的超细粉碎其作用将会明显提高,更具有实际的意义。

(编辑:崔成德, cucengde@tom.com)



小肽营养 全球共享

美国华达(VBC)中国广州技术中心

有奖征文

[本栏目由美国华达(VBC)中国广州技术中心协办]

小肽转运蛋白(PepT1)的活性调节

李 霞 王康宁 贾 刚

摘 要 小肽是蛋白质在动物体内消化的主要产物,而位于小肠刷状缘膜上的小肽转运蛋白(PepT1)在小肽的吸收过程中发挥着重要作用,因此 PepT1 的活性直接影响小肽的吸收。文中主要介绍底物、营养不良、激素、昼夜节律和生长发育对 PepT1 的活性调节。

关键词 小肽转运蛋白(PepT1);活性调节;小肠刷状缘膜

中图分类号 S816.79

Matthews 和 Adibi (1976) 在小肠中小肽吸收的研究中发现二肽和三肽吸收存在一个转运系统,其中起重要作用的是小肠刷状缘膜上的转运蛋白,将其命名为 Peptide Transporter 1(PepT1)。人们对 PepT1 的深入研究始于 20 世纪 90 年代,兔、人、小鼠、羊、鸡和猪小肠中的 PepT1 cDNA 都已被克隆,并将兔、人和羊等的 PepT1 mRNA 注射到体外培养细胞中表达,研究该转运载体的生物学特性和活性调节,探讨影响 PepT1 活性的因素。本文就对影响 PepT1 活性的因素进行综述。

1 底物对 PepT1 的调节

小肽转运蛋白有广泛的底物,包括由日粮蛋白和机体蛋白分解产生的大约 400 种二肽和 8 000 种三肽,还包括一些具有二肽和三肽类似结构的药物,如 β -内酰胺抗生素、增压素转化酶抑制剂等。

对任何转运蛋白功能和表达的调节,其自身的底物很可能就是一个调节因子。那么在 PepT1 上是不是这样呢?有两个研究证明了底物对 PepT1 调节的可能性。M Thamocharan 等(1998)在人小肠肠腺癌细胞系(Caco-2)的培养基中添加二肽(Gly-Sar),培养 24 h 后, [14 C]Gly-[14 C]Gln 吸收的最大反应速度(V_{max})显著增加,米氏常数(Km)没有改变,说明 Gly-Gln 吸收的增加并不是通过改变其与 PepT1 的亲合力,而是通过增加膜上肽转运蛋白丰度来实现的,进一步用 Western 印迹分析发现,Caco-2 中 PepT1 表达量提高了 2 倍。

Gly-Sar 是由人工合成的,因为其比较稳定,不水解,常在研究寡肽转运蛋白的功能性表达中作底物,那自然界中的二肽是否像 Gly-Sar 一样能上调二肽的转运呢?因此,Dianne Walker(1998)在人小肠 Caco-2

细胞系培养液中用 4 mmol/l Gly-Gln 来替代 4 mmol/l Gln,结果显示 [14 C]Gly-[14 C]Sar 的 V_{max} 提高 1.64 倍,Km 值没有显著变化,且 PepT1 蛋白表达量提高了 1.72 倍,PepT1 mRNA 水平提高了 2.7 倍。

在体内研究中,增加日粮蛋白质也有类似的结果。Erickson(1995)在小鼠试验中发现,饲喂 14 d,小鼠小肠中段和远端 PepT1 mRNA 丰度高蛋白(50%)日粮组比低蛋白(4%)日粮组高 1.5~2 倍。Shiraga 等(1999)试验也表明,在小鼠标准日粮中添加二肽(Gly-Phe),饲喂 3 d,能增加 PepT1 基因表达。Hong Chen 等(2005)在鸡试验中配置不同的饲料蛋白水平(CP 含量分别为 12%、18%和 24%),并保证各处理采食量相同,使各处理的蛋白采食有差异,结果显示,随着蛋白采食的增加,小肠中 PepT1 mRNA 丰度增加($P<0.05$),且在不同的组织中也有差异,空肠中 PepT1 mRNA 丰度高于十二指肠和回肠($P<0.05$)。总的说来,高蛋白日粮增加了肠道中二肽、三肽和氨基酸的浓度,这些产物作为 PepT1 基因表达的信号因子,增加小肠刷状缘膜上的肽转运蛋白的水平,而最终使肽转运增加。这是小肠适应高蛋白日粮的一个重要特征。

因此得出,不管是天然的还是化学合成的二肽都能通过调节 PepT1 基因的表达来调节 PepT1 的表达水平。调节 PepT1 mRNA 表达可能有两途径,一是增加 PepT1 mRNA 的转录。Shiraga 等(1999)对日粮调节 PepT1 的机制作了研究,发现日粮中的一些二肽(Gly-Sar、Gly-Phe、Lys-Phe、Asp-Lys)和部分游离氨基酸(Lys、Arg、Phe)与 PepT1 基因启动子上的氨基酸敏感因子作用,提高 PepT1 的转录活性,而游离氨基酸 Gly、Asp、Glu、Val 和 Ala 没有此作用。二是延长 PepT1 mRNA 的半衰期。Dianne Walker(1998)试验得出,添加小肽,PepT1 mRNA 半衰期从 8.9 h 延长到 12.5 h。延长 PepT1 mRNA 半衰期,增加其稳定性原因

李霞,四川农业大学动物营养研究所,625014,四川雅安。

王康宁(通讯作者)、贾刚,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-01-15

可能是降低信号不稳定因子的表达,增强信号稳定因子的表达,改变 PepT1 mRNA 和这些因子间的相互作用。大量的试验报道 mRNA 结合蛋白因子参与调节 mRNA 的稳定性,如 AUF1 蛋白因子和 COLBP 蛋白因子(Zhang 等,1993;Preiss,1995)

2 营养不良对 PepT1 的调节

Thamotharan 等(1999)试验表明:禁食 24 h,小鼠空肠上皮刷状缘膜对 Gly-Gln 的吸收显著增加, V_{\max} 增加 2 倍, K_m 没有显著变化,说明禁食使小肠刷状缘膜上的 PepT1 丰度增加,进一步通过 Western 和 Northern 印迹分析表明,PepT1 和其 mRNA 丰度都有显著提高,提示提高 PepT1 水平可能是通过增加 PepT1 mRNA 丰度来实现的。Takashi Ihara 等(2000)试验也显示:尽管饥饿组(饥饿 4 d)和 TPN 组(全肠外营养 10 d)小鼠小肠绒毛萎缩,但其小肠前段 PepT1 mRNA 丰度分别提高为对照组(自由采食)的 179%和 161%;尽管半饥饿组(饲喂对照组采食量的 50%,10 d)小鼠小肠重量和对照组无差异,但其小肠前段 PepT1 丰度是对照组的 164%。说明在各种营养不良的状态下,小肠粘膜萎缩,但 PepT1 mRNA 的表达增强,二者相抵消也就使在饥饿状态下小肽的吸收没有显著差异,而氨基酸转运蛋白的表达量在饥饿时不增加,也就为在营养不良时添加小肽能有利于氮的吸收提供了依据。

饥饿使 PepT1 表达增加的机制还不是很清楚,可能是机体对饥饿时小肠更能有效地吸收养分的适应性调节。Takashi Ihara 等(2000)也推断,养分不足是引起 PepT1 mRNA 表达升高的原因,因为其试验结果显示半饥饿组和 TNP 组其生长率低于正常采食组,但 PepT1 mRNA 丰度增加。可能小肠粘膜的营养也与 PepT1 和其 mRNA 表达有关,因为在全肠外营养下,小肠近端 PepT1 和其 mRNA 表达上升,而以氨基酸(口服)作为唯一饲料来源时则下降,可推断出小肠粘膜氨基酸营养的满足与否对 PepT1 的表达有影响(Hiroshi, 1999)。也由于饥饿老鼠血清皮质醇水平显著升高,并且试验表明糖皮质激素对消化酶的表达起重要的作用(Scott, 1982),由此推断内源糖皮质激素水平与 PepT1 mRNA 的表达有关,但用氢化可的松处理试验动物 2 d 却对 PepT1 的表达没有显著影响,因此对饥饿引起的激素或生长因子分泌的变化是否会影响小肠转运系统的调节还不是很清楚,需要进一步的研究。

动物采食高蛋白饲料和饥饿,PepT1 mRNA 水平都增加,但机制可能不同,因为限食后补饲,PepT1 mRNA 水平先上升后下降,且比较得出,饥饿主要使小肠近端 PepT1 mRNA 水平升高(Takashi 等,2000)。而底物浓度的增加主要使小肠中段和远端的 PepT1

mRNA 水平升高(Erickso 等 1995),但小肽的吸收部位主要是在小肠近端,具体的原因还不清楚。另外,在 Caco-2 细胞中底物能上调 PepT1 和其 mRNA 的表达,说明底物对其调节是底物直接作用于肠细胞而不是通过神经或激素来间接调节的,而饥饿对 PepT1 和其 mRNA 的调节却有可能通过神经或激素来起作用(Siamake 等,2003)。

3 激素对 PepT1 的调节

研究激素对 PepT1 的调节,目前大多数都是采用体外培养的手段,主要有两种研究方法,一种是短期调节,即激素作用于小肠粘膜细胞 0~1 h;另一种是长期调节,激素作用时间长于 1 h。属于短期调节的激素有胰岛素、瘦素,属于长期调节的激素有甲状腺素 T_3 ,而表皮生长因子则具有两种调节功能。

3.1 胰岛素对 PepT1 的调节

Thamotharan 和 Bawani(1999)试验表明,在 Caco-2 细胞系培养基中添加生理浓度(5 nmol/l)的胰岛素,培养 1 h,能显著增加小肠刷状缘膜上二肽的转运,其作用主要是通过胰岛素与位于小肠基底膜上的受体结合,如果破坏胰岛素与其受体的结合,胰岛素的作用消失。对其动力学参数进行分析,胰岛素对 PepT1 转运二肽(Gly-Gln)的 K_m 值没有显著影响,但 V_{\max} 提高 2 倍,表明胰岛素不能提高 PepT1 对底物的转运活性,但能提高刷状缘膜上 PepT1 的浓度。Nielsen 等(2003)试验也表明,在 Caco-2 细胞系培养基中添加 50 ng/ml 胰岛素,培养 1 h,PepT1 转运 Gly-Sar 的动力学参数也有类似的变化,且胰岛素以剂量方式增加小肠上皮对 Gly-Sar 的吸收。

胰岛素不在肠腔中存在,因此体内研究循环系统中的胰岛素能不能像体外一样通过与其位于小肠基底膜上受体结合来调节小肠粘膜上小肽的转运,并影响 PepT1 的表达,这一问题还不很清楚。A. B. Bikhazi(2004)试验表明,患糖尿病小鼠其空肠吸收 Gly-Sar 的量显著低于正常小鼠,若对患糖尿病小鼠注射胰岛素,Gly-Sar 的吸收上升,并且 PepT1 表达量也增加,结果与体外研究相似。

Thamotharan 和 Bawani(1999)试验表明,当破坏对重新合成 PepT1 转运起重要作用的高尔基体后,胰岛素的作用仍然存在;进一步研究发现,胰岛素处理对肠粘膜上 PepT1 基因水平没有显著影响,说明胰岛素不能提高 PepT1 的合成,但如果破坏了对已合成 PepT1 转运起重要作用的微管,胰岛素的作用则消失。综合考虑得出,胰岛素提高 PepT1 在小肠粘膜上浓度的机制主要是通过增加细胞质中已合成的 PepT1 到小肠膜上的转运,而不是靠从头合成(Siamak, 2003)。

3.2 瘦素(Leptin)对 PepT1 的调节

Sobhani 等(2000)证明胃能分泌 Leptin, Leptin 在消化道中没有完全被蛋白酶水解,在小肠腔中仍存在具有活性的 Leptin,并在小鼠小肠中发现了 Leptin 受体(在空肠中含量最多)。Buyse(2001)在 Caco-2 细胞系培养基中加入 2 nmol/l Leptin,培养 30 min,结果表明,Leptin 能增加刷状缘膜上 Gly-Sar 的转运,对基底膜上二肽的转运没有影响;Leptin 使 PepT1 转运动力学参数 V_{max} 上升, Km 不变,使膜上 PepT1 蛋白水平提高了 60%,细胞质中的水平下降 50%,并且 PepT1 mRNA 丰度没有发生显著变化。可见,Leptin 对 PepT1 的调节机制和胰岛素相同,都是通过增加 PepT1 从细胞质到小肠刷状缘膜的转运,而不是增加其 mRNA 的表达来对膜上 PepT1 水平进行调节。

3.3 甲状腺激素对 PepT1 的调节

甲状腺激素对肠道的发育、结构和功能都有非常重要的作用。Ashida K 等(2002)报道,在 Caco-2 细胞系培养基中加入 100 nmol/l T_3 ,培养 4 d,能显著抑制 Gly-Sar 的吸收,并且这种作用具有特异性,因为对其它养分的吸收没有显著的影响;进一步用 Western 和 Northern 印迹发现细胞膜上的 PepT1 及 PepT1 mRNA 的水平下降。得出甲状腺素对 PepT1 的调节是通过减少其 mRNA 的水平来实现的。

3.4 表皮生长因子(EGF)对 PepT1 的调节

EGF 以两种不同的方式对 PepT1 进行调节,一种是长期作用,一种是短期作用。Carsten Uhd Nielsen 等(2001)在 Caco-2 细胞系培养基中添加 EGF,EGF 以剂量依赖的方式(0~20 ng/ml)抑制 Gly-Sar 跨小肠上皮转运和刷状缘膜对其的吸收;研究单一剂量 EGF(5 ng/ml)对 PepT1 的影响,发现处理 5 d 后出现抑制效应,15 d 以后达到最大抑制效果。虽然在 Caco-2 细胞系刷状缘膜和基底膜上都有 EGF 受体,但 EGF 只能与基底膜上的受体结合来抑制小肽的转运。对其动力学参数进行分析,二肽转运的 V_{max} 下降, Km 不变,表明 EGF 处理使刷状缘膜上 PepT1 数量减少,进一步用 Western 和 Northern 印迹分析的结果表明 PepT1 和 PepT1 mRNA 丰度都减少,可推测 EGF 处理使 PepT1 表达减少是通过抑制 PepT1 mRNA 表达来实现的。

但 Nielsen 等(2003)在 Caco-2 细胞系的培养基中添加 200 ng/ml EGF,培养 5 min,小肠刷状缘膜对 Gly-Sar 的吸收呈 EGF 剂量依赖的方式增加,对其吸收动力学参数进行分析发现 V_{max} 上升, Km 不变,对 PepT1 mRNA 检测发现,EGF 处理不能改变其水平,具体的调节机制还不是很清楚。

总的说来,短期调节激素主要是通过影响 PepT1

在细胞内和膜上的分布来调节膜上 PepT1 的浓度,此作用所需时间短;而长期调节激素主要是通过影响 PepT1 mRNA 水平(影响转录或其半衰期)来影响膜上 PepT1 的表达,此作用所需时间长。

4 昼夜节律对 PepT1 的调节

Pan 等(2002)观察小鼠在正常饲喂、自由采食、每天光照 12 h(08:00~20:00)条件下, PepT1 的表达情况。试验结果显示:小肠对 [14 C]Gly-Sar 的吸收量白天小于夜间;十二指肠上 PepT1 表达水平在 20:00 时达到最大,在 8:00 时最小; PepT1 和 PepT1 mRNA 都是在 16:00~24:00 时,标记的浓度大于其它时间点。Pan 等(2003)在小鼠禁食试验中发现,禁食破坏了 PepT1 在自由采食下的昼夜节律, PepT1 和 PepT1 mRNA 的表达水平在白天和夜间没有显著差异。Pan 等(2004)在对小鼠实行白天饲喂时,发现小肠粘膜中 PepT1 的昼夜变化规律与自由采食完全相反。可见,是采食变化引起 PepT1 的昼夜变化而不是光照的作用。

5 生长发育对 PepT1 的调节

Miyamoto K 等(1996)试验发现,小鼠出生后 10 d 内,小肠上 PepT1 mRNA 水平随日龄的增加显著上升,随后下降,28 日龄时降到成年小鼠的水平。Shen 等(2001)从小鼠出生前 17 d 到出生后 75 d,按一定的时间间隔观察小肠上 PepT1 和 PepT1 mRNA 水平,发现十二指肠、空肠和回肠中 PepT1 mRNA 水平在出生时迅速上升并在出生 3~5 d 达到最大值,然后快速下降,在 24 日龄(大约是断奶日龄)短暂上升。PepT1 的表达也有类似规律。Hussain 等(2001)也发现小鼠出生时回肠上 PepT1 表达水平高于妊娠 18 d、断奶(21 日龄)和成年老鼠回肠上 PepT1 的水平,但与 Shen 试验不同的是,在断奶时没有发现 PepT1 表达水平上升。Hong Chen 等(2005)在鸡试验中也发现,从孵化 16 d 到出壳, PepT1 表达快速增加, PepT1 mRNA 水平提高了 14 倍。Sophie Rome 等(2002)研究了日龄对 PepT1 和 PepT1 mRNA 在小鼠小肠近端和远端分布的影响,结果表明,从 4~50 日龄, PepT1 在小肠中的分布方式没有显著变化。

这些研究说明生长发育引起 PepT1 和 PepT1 mRNA 表达水平的变化,但具体作用机制还不清楚。Shen 等(2001)怀疑出生增加 PepT1 的表达受激素分泌的调节,例如出生动物第一次采食外源营养物质,激活内源激素分泌,增加 PepT1 表达。Ashida K 等(2002)总结得出,出生后 5~15 d 甲状腺激素的分泌增加,而 PepT1 和 PepT1 mRNA 的表达水平在出生后 3~5 d 升高,然后下降,而试验证明甲状腺激素能抑制 PepT1 和 PepT1 mRNA 的表达,可推断甲状腺素调节 PepT1

在生长发育过程中的表达规律。Hong Chen 等(2005)认为,在生长发育过程中 PepT1 和 PepT1 mRNA 表达水平发生变化是动物为了适应采食而做的适应反应,因为试验发现在出生和断奶时增加 PepT1 表达,而这两个点都是采食习性发生变化的时间点。确切的作用机制还需进一步研究。

6 研究 PepT1 的意义和存在的问题

二肽作为蛋白质分解产物吸收的主要形式,对机体具有重要的生物学意义。对小肽转运蛋白的研究有利于进一步了解小肽的吸收机制,对影响小肽转运蛋白活性的因素分析有助于了解影响小肽吸收的因素,从而控制、利用这些因素,促进小肽的吸收。为动物营养学家设计小肽日粮,配制高效的饲料配方提供理论依据。

到目前为止,尚未弄清楚小肽在体内的代谢、利用机制,也不清楚日粮中究竟有多少氮以小肽的形式被吸收;参与小肽吸收利用的调节因素,包括底物、营养不良、激素和生长发育等,对小肽转运蛋白活性影响的作用机制还需进一步研究。如何利用在消化过程产生的肽种类、数量、比例,以及小肽不同于游离氨基酸吸收利用的特点,充分发挥小肽的功能都还需进一步研究。

参考文献

- Ashida K, Katsura T, Motohashi H, et al. Thyroid hormone regulates the activity and expression of the peptide transporter PepT1 in Caco-2 cells [J]. *Am. J. Physiol Gastrointest. Liver Physiol.*, 2002,282: 617-623
- A B Bikhazi, M M Skoury, D S Zwainy, et al. Effect of diabetes mellitus and insulin on the regulation of the PepT1 symporter in rat jejunum[J]. *Mol. Pharm.*,2004,1(4): 300-308
- Buyse M, Berlioz F, Guilmeau S, et al. PepT1-mediated epithelial transport of dipeptides and cephalixin is enhanced by luminal leptin in the small intestine[J]. *J. Clin. Invest.*,2001,108:1 483-1 494
- Carsten Uhd Nielsen, Jan Amstrup, Bente Steffansen, et al. Epidermal growth factor inhibits glycylsarcosine transport and hPepT1 expression in a human intestinal cell line [J]. *Am. J. Physiol. Gastrointest Liver Physiol.*,2001,281:191-199
- Chen H, Pan Y, Wong EA, et al. Molecular cloning and functional expression of a chicken intestinal peptide transporter(cPepT1)in Xenopus oocytes and Chinese hamster ovary cells [J]. *J. Nutr.*, 2002,132: 387-393
- Dianne Walker, David T. Thwaites, Nicholas L. Simmons, et al. Substrate upregulation of the human small intestinal peptide transporter, hPepT1[J]. *Journal of Physiology*,1998,507(3):697-706
- Erickson R. H, Gum J. R Jr, Lindstrom, et al. Regional expression and dietary regulation of rat small intestinal peptide and amino acid transporter mRNAs [J]. *Biochem Biophys Res. Commun.*, 1995,216: 249-257
- Hong Chen, Yuan Xiang Pan, Eric A Wong, et al. Dietary Protein Level and Stage of Development Affect Expression of an Intestinal Peptide Transporter(cPepT1) in Chickens[J]. *The Journal of Nutrition*, 2005,135(2): 193
- Hiroshi Ogihara, Takeshi Suzuki, Yukio Nagamachi, et al. Peptide transporter in the rat small intestine: Ultrastructural localization and the effect of starvation and administration of amino acids[J]. *The Histochemical Journal.*,1999,31:169-174
- Hussain I, Kellett G L, Affleck J, et al. Expression and cellular distribution during development of the peptide transporter (PepT1) in the small intestinal epithelium of the rat [J]. *Cell Tissue Res.*, 2002,307:139-142
- M Thamocharan, S Z Bawani, X Zhou, et al. Mechanism of dipeptide stimulation of its own transport in a human intestinal cell line [J]. *Proc. Assoc. Am. Physicians*, 1998,110(4):361-368
- Miyamoto K, Shiraga T, Morita K, et al. Sequence, tissue distribution and developmental changes in rat intestinal oligopeptide transporter[J]. *Biochim Biophys Acta.*,1996,1 305:34-38
- Matthews DM and Adibi SA. Peptide absorption[J]. *Gastroenterology.*,1976,71:151-161
- Nielsen C U, Amstrup J, Nielsen R, et al. Epidermal growth factor and insulin short term increase hPepT1 mediated glycylsarcosine uptake in Caco2cells[J]. *Acta Physiol Scand.*,2003,178:139-148
- Pan X, Terada T, Irie M, et al. Diurnal rhythm of H+-peptide co-transporter in rat small intestine[J]. *Am. J. Physiol Gastrointest Liver Physiol.*,2002,283:57-64
- Siamak A, Adibi. Regulation of expression of the intestinal oligopeptide transporter (Pept-1) in health and disease [J]. *Am. J. Physiol Gastrointest Liver Physiol.*,2003,285:779-788
- Shiraga T, Miyamoto K I, Tanaka H, et al. Cellular and molecular mechanisms of dietary regulation on rat intestinal H+/peptide transporter PepT1[J]. *Gastroenterology*,1999,116:354-362
- Sobhani I. Leptin secretion and leptin receptor in the human stomach[J]. *Gut.*,2000,47:178-183
- Sophie Rome, Laurence Barbot, Eugenie Windsor, et al. The regional localization of PepT1, NBAT and EAAC1 transporters in the small intestine of Rats are Unchanged from Birth to Adulthood[J]. *The Journal of Nutrition.*,2002,132(5):1 009-1 011
- Thamocharan M, Bawani S Z, Zhou X, et al. Functional and molecular expression of intestinal oligopeptide transporter(Pept-1) after a brief fast[J]. *Metabolism*,1999,48:681-684
- Takashi Ihara, Tomoyuki Tsujikawa, Yoshihide Fujiyama, et al. Regulation of PepT1 Peptide Transporter Expression in the Rat Small Intestine under Malnourished Conditions [J]. *Digestion.*, 2000,61:59-67
- Thamocharan M, Bawani S Z, Zhou X, et al. Regulation of oligopeptide transporter Pept-1 in a human intestinal cell line [J]. *Am. J. Physiol Cell Physiol.*,1999,276:821-826
- Xiaoyue Pan, Tomohiro Terada, Masahiro Okuda, et al. The Diurnal Rhythm of the Intestinal Transporters SGLT1 and PEPT1 Is Regulated by feeding conditions in rats [J]. *The Journal of Nutrition.*, 2004,134(9):2 211-2 215
- Xiaoyue Pan, Tomohiro Terada, Masahiro Okuda. Altered Diurnal Rhythm of Intestinal Peptide Transporter by Fasting and Its Effects on the Pharmacokinetics of Cefitibuten [J]. *The J. of Pharmacology and Experimental*,2003,307:626-632

(编辑:刘敏跃, lm-y@tom.com)

改进 Tricine-SDS-PAGE 法分析重组牛乳铁蛋白肽

邢芳芳 黄瑞林 张友明 李铁军 印遇龙

摘 要 为了有效分离 3.1 kDa 乳铁蛋白肽, 试验调整分离胶中聚丙烯酰胺浓度及凝胶的交联度, 并加入适量甘油, 改进了传统的 Tricine-SDS-PAGE 方法。结果表明, 该方法与常规的 SDS-PAGE 和 Tricine-SDS-PAGE 相比较, 改进的凝胶不仅可以有效分离 3.1 kDa 的肽, 而且对分子量为 212 kDa 的大分子量蛋白也有很好的分离效果, 明显优于常规的 SDS-PAGE 和现有的 Tricine-SDS-PAGE 方法。

关键词 牛乳铁蛋白肽; Tricine-SDS-PAGE; 小分子肽; 大分子量蛋白

中图分类号 S816.79

Analysis of recombined Lactoferricin B by Tricine-SDS-PAGE

Xing Fangfang, Huang Ruilin, Zhang Youming, Li Tiejun, Yin Yulong

Abstract In order to separate 3.1 kDa Lactoferricin B, we improved the traditional method of Tricine-SDS-PAGE. In this improved procedure, we adjusted the acrylamide concentration and the degree of crosslinking on the resolution of proteins and added proper Glycerol to separate the low molecular weight peptides. Compared with the methods of familiar SDS-PAGE and Tricine-SDS-PAGE, the improved gel have better effects not only on separating the 3.1 kDa peptides but also on 212 kDa high molecular weight proteins.

Key words Lactoferricin B; Tricine-SDS-PAGE; low molecular weight peptide; high molecular weight protein

牛乳铁蛋白肽(Lactoferricin B, 简称为 Lfcin B)是从牛乳铁蛋白的 N-端(17~41)被胃蛋白酶水解下来的 25 个氨基酸残基, 其氨基酸顺序为: Phe-Lys-Cys-Arg-Arg-Trp-Gln-Trp-Arg-Met-Lys-Lys-Leu-Gly-Ala-Pro-Ser-Ile-Thr-Cys-Val-Arg-Arg-Ala-Phe, 分子量为 3.1 kDa。

Lfcin B 与牛乳铁蛋白的功能密切相关, 是牛乳铁蛋白的活性中心, 除不能结合铁离子外, Lfcin B 具有抗菌、抗病毒、抗氧化, 调节机体免疫和提高肠道对铁离子吸收等作用。Lfcin B 具有广谱抗菌活性, 对革兰氏阴性和阳性病原菌均有抑制作用, 与牛乳铁蛋白相比, Lfcin B 的抗菌活性提高了 400 多倍。

因为 Lfcin B 来源于动物本身, 不含稀有氨基酸和外源化学成分, 是一种健康、安全的活性物质, 不使细菌产生抗药性, 也不会畜产品中残留, 具有传统抗生素没有的作用效果, 加之其物化性质和生物学活

性独特, 自然引起了研究者的关注。基因工程技术的应用能有效提高 Lfcin B 的产量, 具有广阔的应用前景。国内外学者已经克隆了人、牛和猪的 LF(乳铁蛋白)基因, 并在细菌、曲霉、烟草、酵母和乳腺细胞中表达, 而且正在开展其表达产物在医学和动物营养中的应用研究。本试验通过对重组 Lfcin B 的研究建立一套可同时分离小分子肽与大分子量蛋白的 Tricine-SDS-PAGE 方法。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试剂

Tricine 购自 Merck 公司, 聚丙烯酰胺凝胶电泳试剂及蛋白质分子量标准品(2~212 kDa)均为 New England Biolabs(Beijing) Ltd 产品, 蛋白质分子量标准品(M)含有 212、158、116、97、66、56、43、36、27、20、14、7、2 kDa 共 13 种成分。巯基乙醇(Sigma, USA)、过硫酸铵(APS)(Sigma, USA)、TEMED(Sigma, USA)、丙烯酰胺(Sigma, USA)、甲叉双丙烯酰胺(Sigma USA)、Tris 碱、SDS 等试剂为国产分析纯。

1.1.2 仪器

蛋白质微量电泳仪(Bio-Rad Lab, USA)、Miniprotein II 垂直电泳槽(Bio-rad Lab, USA)、凝胶成像仪(Bio-rad)等。

1.1.3 电泳溶液配制

邢芳芳, 中国科学院亚热带农业生态研究所, 410125, 湖南省长沙市芙蓉区马坡岭。

黄瑞林、张友明、李铁军、印遇龙(通讯作者), 单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期: 2007-03-26

★ 本研究受“中国科学院海外杰出学者基金”项目“基因工程生产富 Lactoferricin B 的功能饲料及食品”(编号 2005-1-7)资助

① 49.5% T 3%C: 丙烯酰胺 (Acrylamide) 48 g, 双丙烯酰胺 (Bis-Acrylamide) 1.5 g, 加 ddH₂O 溶解, 定容到 100 ml。

② 49.5% T 6%C: 丙烯酰胺 (Acrylamide) 46.5 g, 双丙烯酰胺 (Bis-Acrylamide) 3.0 g, 加 ddH₂O 溶解, 定容到 100 ml。

③ 凝胶缓冲液: Tris.HCl/SDS pH 值 8.45, Tris.HCl 182 g, ddH₂O 300 ml, 用 HCl 调 pH 值 8.45, 补足 ddH₂O 到 500 ml, 加 SDS 1.5 g。

④ 阳极缓冲液: Tris.HCl 121.1 g, ddH₂O 400 ml, 用 HCl 调 pH 值 8.9, 补足 ddH₂O 到 500 ml。

⑤ 阴极缓冲液: Tris.HCl 12.11 g, Tricine 17.92 g, SDS 1 g, 加 ddH₂O 溶解, 定容到 1 000 ml。

⑥ 10%过硫酸铵溶液: 称取 1 g 过硫酸铵溶于 10 ml 的双蒸水中。

⑦ 二巯苏糖醇 (DTT) (10 μg/l): 先配制 0.5 mol/l DTT 母液, 4 ℃避光保存, 使用时每 500 ml ddH₂O 中加 10 μl DTT 母液。

⑧ 银染液 (0.1%, w/v): 称取 AgNO₃ 0.5 g 溶于 500 ml ddH₂O。

⑨ 显影液: 先称取 15 g 无水 Na₂CO₃ 溶于 500 ml ddH₂O 中, 临用前加 250 μl 37% (w/v) 甲醛, 制成完全显影液。

1.1.4 样品处理液及样品制备

样品处理液由 4% SDS、12% 甘油 (w/v)、50 mmol/l Tris、2% β- 巯基乙醇 (v/v)、0.01% 溴酚蓝组成, 调

pH=6.8, 室温存放。

转牛乳铁蛋白肽基因的工程菌 (BL21) 由本实验室与德国 Gene Bridges 公司张友明博士合作构建。首先准备 2 支试管, 每支加入 LB (含氯霉素 50 μg/ml) 液体培养基 3 ml, 然后在每支试管中加入从 -70 ℃ 冰箱中取出的工程菌 10 μl, 置于 37 ℃ 恒温培养箱中, 震荡培养过夜。在两个锥形瓶中分别加入 50 ml LB (含氯霉素 50 μg/ml) 液体培养基, 然后接入培养过夜的工程菌 2 ml, 置于 37 ℃ 培养箱震荡培养。1 h 后, 每 20 min 测一次 OD 值, 当 OD 值达到 0.5 左右停止培养。其中一瓶加诱导剂 IPTG (3 mmol/l) 37 ℃ 诱导。诱导后的表达菌液 12 000 r/min 离心 1~2 min, 弃上清液。沉淀中加入 10 ml 蒸馏水悬起, 进行冰浴超声, 超声 3 s/off, 4 s/on, 50 循环, 然后取 100 μl 样品, 加入 50 μl 样品处理液, 沸水浴 5 min, 此为全菌样品。另一瓶未诱导的菌液进行同样处理作对照, 剩余样品于 -20 ℃ 冰冻保存备用。

1.1.5 凝胶的制备

参照 Schagger 等^[7]的方法进行, 凝胶制作采用三层不连续胶系统, 电泳装置为 Mini-protean II 型电泳仪 (Bio-rad 产品), 板胶厚 1.5 mm。分离胶浓度为 20%, 夹层胶浓度为 10%, 浓缩胶浓度为 4%。

先灌下边的致密胶和夹层胶, 然后铺水层, 可以避免断层问题, 待胶凝固后, 除去水层, 灌上面的浓缩胶, 小心插入梳子, 静置。凝胶组成见表 1。

1.2 点样与电泳

表 1 分离胶、夹层胶、浓缩胶组成

项目	分离胶 (4.5 ml)			夹层胶 (2 ml)	浓缩胶 (2 ml)
	20%	16.5%	15.5%	10%	4%
49.5%T 3%C	0	0	0	0.407 ml	0.160 ml
49.5%T 6%C	1.82 ml	1.50 ml	1.395 ml	0	0
凝胶缓冲液	1.50 ml	1.50 ml	1.50 ml	0.667 ml	0.496 ml
甘油	0.48 ml	0.48 ml	0.48 ml	0	0
ddH ₂ O	0.70 ml	1.02 ml	1.125 ml	0.926 ml	1.344 ml
10%APS	40 μl	40 μl	40 μl	20 μl	20 μl
TEMED	5 μl	5 μl	5 μl	3 μl	3 μl

采用不连续缓冲系统, 在内槽加入负极电泳缓冲液, 外槽加入正极电泳缓冲液, 用微量注射器小心吸取 10 μl 处理好的乳铁蛋白肽样品, 加入点样孔。开始时电压为 50 v, 待样品完全到达分离胶与夹层胶界面后, 120 v 恒压电泳至结束。电泳后, 用考马斯亮蓝染色法和银染法处理凝胶。

1.3 牛乳铁蛋白肽表达检测

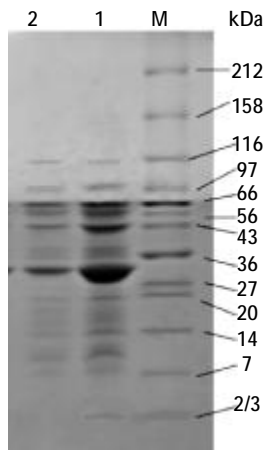
为了进一步证明牛乳铁蛋白肽在工程菌中获得

表达, 利用牛乳铁蛋白肽的抗菌作用进行体外抑菌试验。分别取加 IPTG 诱导表达后的全菌样品与未加诱导剂诱导表达的全菌样品 100 μl, 加到处于接入大肠杆菌 DH5α 的 LB 液体培养基中, 37 ℃ 恒温振荡培养, 5 h 后观察 DH5α 的生长状况。然后通过凝胶进行双波长扫描, 明确目的蛋白的表达量。

2 结果

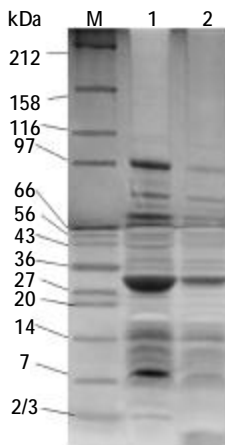
2.1 牛乳铁蛋白肽电泳结果

牛乳铁蛋白肽经 20%Tricine-SDS-PAGE 之后,采用银染方法,显色后可分离出 13 条以上蛋白区带,分子量在 2~212 kDa 之间,若采用考马斯亮蓝染色法进行,由于乳铁蛋白肽分子量较小及其自身结构特点,在染色与脱色过程中极易从凝胶中渗出,显色后的蛋白条带分辨率不高,如图 1 所示,多呈弥散状。因此,经过多次试验,选用灵敏度较高、速度较快的银染法进行染色,结果如图 2 所示。



注:M 为分子量蛋白标准品;1 为诱导表达全菌蛋白;2 为未诱导表达全菌蛋白。

图1 牛乳铁蛋白肽电泳图(考马斯亮蓝染色法)



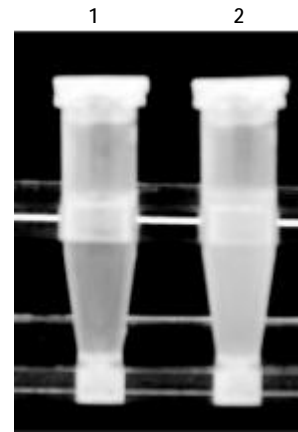
注:M 为分子量蛋白标准品;1 为诱导表达全菌蛋白;2 为未诱导表达全菌蛋白。

图2 牛乳铁蛋白肽电泳图(银染法)

2.2 乳铁蛋白肽表达检测

利用工程菌全菌蛋白进行抗菌活性检测,结果如图 3 所示,加入诱导表达全菌蛋白的菌液相对澄清,说明加入的蛋白混合物中含有抗菌物质;而加入未诱导表达全菌蛋白的菌液相对混浊,细菌长势良好,说明 IPTG 诱导表达产物为乳铁蛋白肽。进而对目

的蛋白进行半定量检测,凝胶双波长扫描结果表明,目的蛋白质质量分数占细菌全菌蛋白约 21%,乳铁蛋白肽基因获得高效表达。



注:1 是加入诱导表达的全菌蛋白;2 是加入未诱导表达的全菌蛋白。

图3 牛乳铁蛋白肽抗菌活性检测结果

3 讨论

聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)是分离蛋白质的常用生化方法,样品的蛋白质分子热变性解聚后与 SDS 结合形成带负电的蛋白质-SDS 复合物,复合物在电泳中的迁移率取决于蛋白质的分子大小。使用均匀浓度的 SDS-PAGE 来分析分子量在 15~200 kDa 的蛋白质时,蛋白质对数分子量和迁移率呈直线关系,因此对于分子量小于 10 kDa 的蛋白质,只能根据标准分子量进行估计,推断其是否落入预测的分子量范围。

在蛋白质的生化分析和基因表达产物的分离纯化中,难免会需要分离某种小分子蛋白。小分子多肽的 SDS-PAGE 在蛋白质酶解产物和一些疾病的分析方面具有重要作用。目前,用于分离小分子多肽的 SDS-PAGE 方法大多数采用梯度凝胶和高浓度的尿素体系,制作较麻烦,而且需要专门的灌胶设备。

Schagger 等报道了一种改进的 Laemmli 法,用 Tricine-SDS-PAGE 方法慢离子电泳来分析小分子肽,改用 Tricine-SDS-PAGE 系统后,对小分子肽的分辨率明显提高。用 Tris-tricine 体系代替 Tris-glycine 体系后可很好地分离分子量在 1~100 kDa 的蛋白质,该方法避免了繁琐地制备梯度胶和使用高浓度尿素,按照“小孔胶+夹层胶+浓缩胶”模式制作不连续的梯度胶,制作方法相对简单,目前已经广泛用于分析小分子量蛋白。但本方法对大分子成分的分离没有明显优势,而且分离的范围较窄,对于检测分子量大小不

一的蛋白混合物来说,存在很大难度。

电泳缓冲系统是影响电泳结果的重要因素,本实验所用的阴阳极缓冲液 pH 值及组成不同,电泳过程中阴阳极缓冲液 pH 值会趋向一致,所以每次电泳最好使用新鲜电泳缓冲液(最多可重复使用一次)。阴极缓冲液所使用的 Tricine 价格昂贵,每次电泳更换阴极缓冲液成本较高,实验过程中,用 Tricine 将使用过的阴极缓冲液调至 pH 值 8.25,阴极缓冲液可以重复使用多次且有较好的重现性。此外,由于超低分子量多肽(分子量 3 000 及 3 000 以下)极易从凝胶上浸出,因此染色及脱色时间不宜太长,脱色后凝胶液不宜在水中浸泡保存过久,否则条带会消失。通过与考马斯亮蓝染色法比较,选用效果较好的银染法,可简单、快速地达到染色效果。

本试验采用改进的 Tricine-SDS-PAGE 方法分析工程菌的表达产物,操作简便,不需要对样品进行纯化、浓缩等处理,可用样品处理液处理后直接加样,样品用量少,分辨率高。试验结果表明,采用改进后的 Tricine-SDS-PAGE 法不仅可以使小分子量的 3.1 kDa 牛乳铁蛋白肽得到较好的分离,而且通过调节凝胶浓度,也使大分子量蛋白得到了很好的分离,分离范围比较宽,大约 2~212 kDa。因此,该方法所用体系对于检测难分离的分子量大小不一的蛋白混合物有显著优势。

随着分子生物学和生物技术的迅速发展,生物活性多肽物质的发现和肽类生物功能的分析研究越来越受到人们的重视,小分子多肽的电泳分析技术变得越来越重要,已成为生物活性物质纯化分析过程中不可缺少的、经常使用的快速鉴定方法之一。此外,由于该电泳系统内没有尿素和甘氨酸,不会影响蛋白质氨基酸序列的测定,因此可广泛用于蛋白分析。

参考文献

- 1 Bellamy W, Takase M, Yamaudhim K, et al. Identification of the bactericidal domain of lactoferrin[J]. *Biophys Acta*, 1992,1 121:130~136
- 2 Strom M B, Haug B E, Rekdal O, et al. Important structural features of 152 residue lactoferricin derivatives and methods for improvements of antimicrobial activity [J]. *Biochem*, 2002,80:65~74
- 3 Hauland H H, Vorland L H. Post 2 antibiotic effect of the antimicrobial peptide lactoferrin on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* [J]. *J. Antimicro Chemothera*, 2001,48:569~571
- 4 Schibili D J, Vogel P M, Hans J. The structure of the antimicrobial active center of lactoferricinB bound to sodium dodecyl sulfate micelles [J]. *FEBS Letters*, 1999,446:213~217
- 5 Branen J, Davidson PM. Activity of hydrolysed lactoferrin against foodborne pathogenic bacteria in growth media: the effect of EDTA [J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2000,30:233~237
- 6 Kim H K, Chun D S, Kim J S, et al. Expression of the cationic antimicrobial peptide lactoferricin fused with the anionic peptide in *Escherichia coli* [J]. *Appl. Microbiol Biotechnol*, 2006,19:1~9
- 7 Schagger H, Von Jagow G. Tricine-sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa[J]. *Anal. Biochem*, 1987,166:368~379
- 8 D.R.马歇克, J.T.门永, R.R.布格斯,等.蛋白质纯化与鉴定实验指南(第2版).北京:科学出版社,2000.256~259
- 9 Jianmin H, Harry R M. Application of sodium dodecyl sulfate-gel electrophoresis to low molecular weight polypeptides [J]. *Anal. Chem.*, 1990,188:114~117
- 10 Fukumi H, Tsuneyoshi H, Miyuku K, et al. An improved method for separation of low-molecular-weight polypeptides by electrophoresis in sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel [J]. *Anal. Biochem*, 1983,129:192~199
- 11 杨联萍,孔祥平,易学瑞. SDS-PAGE 对小分子多肽的分析[J]. *生物技术进展*, 1998, 18(6):49~51

(编辑:张学智, mengzai007@163.com)

· 书 讯 ·

书 名	作 者	定价(元)	书 名	作 者	定价(元)
畜禽十大高效饲料添加剂	李尚波等	22	蛋鸡饲养技术	白修明等	8
饲料非营养调控物质的研究与应用	单安山	41	肥牛饲养技术	雷云国	16
饲料安全与动物营养调控技术研究	单安山	41	肉牛饲养技术大全	韩荣生	15
饲料添加剂	王安	29	实用犬病诊疗图册	赵玉军	29
毛皮动物饲养技术	杨福合等	14	实用猪病防治图册	陈国庆	13

邮局汇款地址:(110036)沈阳市金沙江街16号6门(本社发行部收)

联系电话:(024)86391237

银行汇款单位:辽宁省农牧业机械研究所有限公司

开户行:中信银行沈阳分行皇姑支行

帐号:72214101826000548-49

日粮配剂中能量和蛋白质的关系

蒋蓓蕾 吴振洲

近年来我国的动物营养学者通过各种经典的测定方法对畜禽能量的需要量开展了一系列的研究。而蛋白质的供给水平与代谢能水平密切相关,实践中需要两者达到平衡才能产生较好的效益。日粮配制中蛋白质和能量的关系一直受到研究者的关注。

1 能量和蛋白质的关系

饲料中含有多种营养物质用于满足畜禽的维持和生长需要,其中最主要的是能量和蛋白质,而其它的诸如微量元素和维生素的需要量都很少。能量可以看作是机体的能源,而蛋白质可以看作是构造肌肉组织的原料。机体蛋白的沉积是决定氨基酸需要量的最大的影响因子,对于生长肥育猪蛋白质和脂肪沉积所需要的能量占机体能量总需要量的 2/3(NRC, 1998)。蛋白质相对能量的比例非常重要。动物采食是为了满足能量的需要,而采食量取决于日粮的能量浓度。蛋白质是根据能量浓度进行调整的因素之一。根据 NRC (1998)的推荐量我们可以计算得出,当猪的体重从 7.5 kg 增加到 80 kg 时,每兆焦代谢能(digestible energy, DE)的蛋白质推荐量从 16.75 g 降低到 10.77 g。

氨基酸的主要功能是用于蛋白质的合成。过量吸收的氨基酸将被脱氨基,以尿素的形式排出,而碳架被代谢产生能量,尿素的合成需要能量,并且尿素也含有能量(每克尿素中的能量为 10.53×10^{-3} MJ 或者每克氮中的能量为 22.78×10^{-3} MJ),因此含有过多蛋白质或者氨基酸不平衡的日粮能量利用率低于含有足够蛋白质并且氨基酸平衡的日粮;含有氨基酸平衡但蛋白总量缺乏的日粮会导致脂肪的沉积,这是由相对过多的能量转化来的(Ewan, 2001)。低蛋白日粮能够导致日粮热增耗效应(dietary-induced thermogenesis, DIT)的增加,这种增加可以解释为代谢能中用于维持需要能量部分的增加而用于生长部分能量的急剧减少(Nieto 等, 1997)。在人的研究上已经反复证明了蛋白质的含量是 DIT 的主要决定因素,仅次于能量和酒

精水平(Swennen 等, 2006)。

动物的自由采食量会受到饲料净能多少的影响:当日粮能量浓度较低时,动物会增加采食量;当日粮能量浓度较高时,动物会减少采食量。例如,来航鸡的代谢能增加 163 kJ/kg 将导致采食量减少 1%(Wu 等, 2005)。因此,日粮能量浓度的改变会影响到营养物质的摄入量,包括蛋白质。要想使动物保持一个相对恒定的蛋白质摄入量,就有必要根据饲料的能量浓度对蛋白质的浓度(百分比)进行调整(Lewis, 2001)。有报道表明低蛋白日粮通常也会导致采食量的增加从而增加蛋白的摄入量(Swick 和 Gribskov, 1983; White 等, 1994),但是也有报道认为低蛋白日粮会抑制采食量(Mercer 等, 1994)。

能量和蛋白质之间的互作使得如何有效利用能量和蛋白质问题变的非常复杂。这些潜在的互作包括:蛋白质能够提供部分日粮能量;蛋白质的周转和沉积需要能量;体蛋白是能量沉积的一部分(Zhang, 1983)。

2 能量恒定时蛋白质变化对动物生长性能的影响

Du 等(2000)通过调整玉米淀粉、蔗糖和酪蛋白的比例配制了分别含有 2%、5%、8%、10%、15%、20% 6 个蛋白浓度的等能量日粮,以大鼠为试验对象研究了蛋白水平对采食量、能量平衡和血清瘦素浓度的影响。试验结果表明:在 2%~10%的酪蛋白添加量之间,随着蛋白采食量的增加,胴体蛋白的沉积速度是逐渐增加的,在 15%~20%之间达到最大值。通过外推法计算得到,随着蛋白采食量下降,胴体中蛋白沉积速度开始下降的拐点出现在蛋白采食量为 34.5 g 时,这个估计相当于采食添加 12.5%的酪蛋白日粮,同时这个估计也是大鼠的蛋白需要量。相似的估计是根据血清蛋白浓度和日粮蛋白之间的关系推算出来的,相应的拐点位置出现在相当于采食添加 10%的酪蛋白日粮。胴体蛋白的沉积量在 10%和 20%之间没有变化,而在 5%和 10%之间随着蛋白采食量的减少,蛋白的沉积量是逐渐减少的。这些现象可以由 Otto 等(2003)的试验结果来说明。Otto 等(2003)通过保持玉米和豆粕的比例不变,逐渐减少玉米淀粉的比例而增加玉米和豆粕的比例,研究了蛋白浓度(6%、9%、12%

蒋蓓蕾,淮安生物工程高等职业学校动物工程系,223200,江苏省淮安市楚州区湖心寺路 18 号。

吴振洲,北京肉多多生物科技有限公司。

收稿日期:2007-01-15

和 15%)对于生长猪的氮平衡和回肠氨基酸消化率的影响,结果表明,把蛋白水平从 15%降低到 12%没有减少氮的沉积而是显著减少了氮的损失,是通过氮的利用率的提高和相应尿氮损失减少来实现的。进一步降低蛋白的水平,减少氮的损失主要是通过回肠氨基酸消化率的提高和相应粪氮的减少来实现的,但是氮的沉积还是减少了。因此,当蛋白水平低于 12%时,蛋白中必需氨基酸和非必需氨基酸的消化率是增加的。

随着日粮蛋白的降低,体脂趋于增加(Du 等,2000; Fancher 和 Jensen,1989; Deschepper 和 Groote,1995)。当体组成表示为胴体的百分比时,体蛋白在各个处理间都是趋于正常的,而脂肪的百分比比脂肪的绝对量更能表现低蛋白对脂肪的影响。比如,5%的酪蛋白组比 20%的酪蛋白组的脂肪绝对量高 38%,而脂肪百分比高 68%。尽管 2%酪蛋白组的脂肪绝对量比 20%酪蛋白组低,但是体蛋白的百分比却显著高于 20%的酪蛋白组。饲喂 5%、8%和 10%酪蛋白的大鼠腹脂量显著高于 20%的酪蛋白组和对照组。腹脂量下降的程度对于 2%和 20%酪蛋白组相当。

值得注意的是,各个蛋白水平累积的采食量变化趋势与蛋白的生成效率 (efficiency of protein accretion,蛋白的生成效率=来源于蛋白增加的胴体积累的能量/来源于采食蛋白部分能量)是一致的,也就是说,在累积采食量最大时最大比例的氨基酸用于蛋白质的合成,而最小比例的氨基酸用于转氨基和脱氨基(Du 等,2000)。当日粮蛋白的水平超出这点时就会导致更多的氨基酸用于氨基酸转氨基和脱氨基,这点可以由饲喂 10%和 20%酪蛋白组的血清尿素氮的增加来说明,而降低日粮蛋白水平超出这一点,内源的体蛋白就会降解,为更加重要的体蛋白来提供限制性氨基酸。降解的体蛋白不仅会提供限制性氨基酸,而且会提供相对过多的非限制性氨基酸,从而也会导致氨基酸代谢的增加,最终同样会导致血清尿素氮的浓度增加。这也是饲喂 2%~8%酪蛋白日粮的老鼠的血清尿素氮水平相对稳定的原因。

3 蛋白恒定时能量变化对动物生长性能的影响

Leeson 等(1996)使用四种能量水平(11.286、12.122、12.958 和 13.376 MJ/kg)而蛋白(21%)一致的日粮用来研究肉鸡对日粮能量的反应,试验中采用了自由采食(ad libitum)、限饲(restriction feeding)和选择采食(choice feeding)的饲喂方法。

在自由采食的情况下,由于采食量随着能量浓度

的减少而线性增加,因此本质上来讲各个处理组的能量采食量是相同的,而蛋白的采食量实际上是逐渐增加的。可以看出,尽管我们很容易配制几种蛋白恒定而能量变化的日粮,但是由于动物具有一种根据日粮浓度调节采食量的能力,结果使得本来蛋白恒定而能量变化的日粮对于动物来说变成了能量不变蛋白变化的日粮。我们可以通过限饲来实现真正意义上的蛋白采食量一致而使得采食的能量发生变化。

Leeson 等(1996)的试验结果为:在能量采食量恒定的条件下(即自由采食的条件下),随着蛋白采食量的增加,饲料转化效率、腹脂的质量、腹脂占胴体的比例是逐渐减少的,体重、日增重、胴体重和胸肌重的差异不显著;在蛋白采食量恒定的条件下(即限制采食的条件下),随着能量采食量的增加,体重、日增重、胴体重、腹脂重和腹脂占胴体的比例是逐渐增加的,但胸肌重和胸肌占胴体比重的差异不显著。可以看出,腹脂受到了蛋白和能量水平的影响,但是能量水平是决定性的因素(Lesson 等,1996)。

4 能量蛋白比例不变、浓度变化时对动物生长性能的影响

现代的肉鸡由于遗传上不断选择的结果已经能够达到一个采食的极限水平,因此最近很多研究都一致表明,如果必要的日粮营养物质与能量保持一致,日增重和饲料转化效率会随着日粮能量水平的提高而逐渐得到改善(Waldroup,1981;Leeson 等,1996)。一方面,高能量水平能够使动物在较短的时间内生产出较多的肉,因此建筑、设备和劳动力的资金成本能够减少;另一方面,高能原料和高能饲料的生产成本可能会抵消生产性能改善所带来的效益(Waldroup,1981)。影响高能饲料的主要原因在于玉米、豆粕和脂肪之间价格的相对差别,因此使用高能量浓度的饲料相对有利之处和不利之处在于同一时间内这些饲料原料的价格。

Saleh 等(2004a)通过调整玉米、豆粕和脂肪的比例和部分营养物质的添加量设置了 10 个肉鸡的营养浓度。0~21 日龄,能量范围为 12.51~13.97 MJ/kg、粗蛋白范围为 20.70%~23.10%、赖氨酸范围为 1.15%~1.29%;21~42 日龄,能量范围为 12.68~14.15 MJ/kg、粗蛋白范围为 19.17%~21.38%、赖氨酸范围为 1.01%~1.15%;42~63 日龄,能量范围为 12.89~14.40 MJ/kg、粗蛋白范围为 17.14%~19.14%、赖氨酸范围为 0.83%~1.00%。

表 1 各项指标的最大值与相对的能量水平(0-49 d)

项目	能量水平(MJ/kg)									
	12.64	12.83	12.996	13.16	13.33	13.49	13.66	13.81	13.98	14.14
体重					√		√	√		
饲料转化效率									√	√
采食量	√	√	√	√	√	√	√	√		
能量/增重						√	√	√	√	√
胴体重				√	√	√	√	√		
屠宰率	√	√	√	√	√					
胸肌				√	√	√	√			
腹脂	√	√		√	√	√	√	√		√

在表 1 中我们总结了在 Saleh 等(2004a)的试验中各项生长性能指标达到最大值时的相应能量水平,能量水平为三阶段的平均值。

一般来讲,能量蛋白比保持恒定时脂肪沉积是不变的(Saleh 等,2004a、b)。

Waldroup(1981)曾经指出影响脂肪沉积的四个因素是:缩小能蛋比一般可以阻止过多的脂肪沉积;氨基酸不平衡可能会引起脂肪的沉积;日粮脂肪对胴体组成的特殊作用;日粮能量水平对脂肪沉积的作用。在 Saleh 等(2004a、b)的研究中,由于所有日粮的能量蛋白比保持一致,因此脂肪的沉积程度也基本上是保持恒定的。

5 小结

综上所述,日粮配制中的能量和蛋白质比例及浓度变化在很大程度上影响动物的生长性能,适宜的能量蛋白比能够降低饲料成本,提高瘦肉率,从而提高饲养的经济效益,为了发挥畜禽生长潜力,生产者应注意日粮中蛋白质和能量比例的平衡。

参考文献

- Ewan R C. Energy utilization in swine nutrition. In: J. L. Austin, and L.Lee Southern (ed.). Swine Nutrition. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press,2001.85-92
- Deschepper K, G. D. Groote. Effect of dietary protein, essential and non-essential amino acids on the performance and carcass composition of male broiler chickens. Br. Poult. Sci., 1995, 36:229-245
- Du F, D. A. Higginbotham, B. D. White. Food intake, energy balance and serum leptin concentrations in rats fed low-protein diets. J. Nutr., 2000, 130:514-521
- Fancher B I, L. S. Jensen. Dietary protein level and essential amino acid content: influence upon female broiler performance during the grower period. Poult. Sci., 1989, 68:897-908
- Leeson S, L. Caston, J. D. Summers. Broiler response to diet energy. Poult. Sci., 1996, 75:529-535
- Lewis A J. Amino acids in swine nutrition. In: J. L. Austin, and L. Lee Southern(ed.). Swine Nutrition. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press, 2001.85-92
- Mercer L P, D. S. Kellery, L. L. Humphries, et al. Manipulation of central nervous system histamine or histaminergic receptors(H1) affects food intake in rats. J. Nutr., 1994, 124:1 029-1 036
- National Research Council. Nutrient Requirements of Swine. 9th ed. National Academy Press, Washington DC.1988
- National Research Council. Nutrient Requirements of Swine. 9th ed. National Academy Press, Washington DC.1998
- Nieto R, J. F. Aguilera, I. Fernández-Fígares, et al. Effect of a low protein diet on the energy metabolism of growing chickens. Arch. Anim. Nutr., 1997, 50:105-119
- Saleh E A, S. E. Watkins, A. L. Waldroup, et al. Effects of dietary nutrient density on performance and carcass quality of male broilers grown for futher processing. Int. J. Poult. Sci., 2004a, 3(1):1-10
- Saleh E A, S. E. Watkins, A. L. Waldroup, et al. Consideration for dietary nutrient density and energy feeding programs for growing large male broiler chickens for further processing. Int. J. Poult. Sci., 2004b, 3(1):11-16
- Swennen Q, G. P. J. Janssens, A. Collin, et al. Diet-induced thermogenesis and glucose oxidation in broiler chickens: influence of genotype and diet composition. Poult. Sci., 2006, 85:731-742
- Swich R W, C. L. Gribskov. The effect of dietary protein levels on diet-induced thermogenesis in the rat. J. Nutr., 1983, 113: 2 289-2 294
- White B D, B. He, R. G. Dean, et al. Low protein diets increase neuropeptide Y expression in the basomedial hypothalamus of rats. J. Nutr., 1994, 124:1 152-1 160
- Wu G, M. M. Bryant, R. A. Voittle, et al. Effect of dietary energy on performance and egg composition of bovans white and dekalb white hens during phase 1, Poult. Sci., 2005, 84:1 610-1 615
- Zhang Y. The nutrition of pigs weaned at three weeks of age, with particular reference to amino acid requirements and the relationship between dietary protein and energy: PhD. Dissertation. Reading: University of reading.1983

(编辑:刘敏跃, lm-y@tom.com)

产蛋鸡卵母细胞卵黄生成受体(OVR)的研究进展

崔学平 陈代文 张克英

摘要 OVR 介导大量的血浆蛋白被产蛋鸡吸收到生长的卵母细胞中,是卵黄前体进入卵母细胞的瓶颈。到目前为止发现它不仅与最丰富、最重要的卵黄前体极低密度脂蛋白(VLDL)、卵黄蛋白原(VTG)结合,还结合丛生蛋白、 α_2 -巨球蛋白(α_2 -M)、受体相关蛋白(RAP)、乳铁蛋白、核黄素结合蛋白(ribBP)等,这些成分占蛋黄干物质的绝大部分。OVR 发生突变的蛋鸡,不能繁殖,并且具有严重的高脂血症。它所内吞的 VLDL 的数量是蛋黄胆固醇含量的决定因素,因此期望通过调控 OVR 来控制蛋黄胆固醇的含量。

关键词 产蛋鸡;卵母细胞卵黄生成受体(OVR);胆固醇;脂蛋白

中图分类号 S852.21

Advance in oocyte vitellogenesis receptor of the laying hen

Cui Xueping, Chen Daiwen, Zhang Keying

Abstract Oocyte vitellogenesis receptors (OVR) mediates the uptake of plasma proteins into growing oocytes of laying hen, a choke point of yolk precursors into oocytes. Quantitatively important yolk precursors are very low density lipoproteins and vitellogenin. Up to now, OVR is not only the receptor for both of these ligands, but also for clusterin, α_2 -Macroglobulin, Receptor-associated Protein (RAP), lactoferrin, Riboflavin binding protein (ribBP) and so on. They are major constituents of yolk solids form. Mutant strain hens lacking functional OVR are sterile and display severe hyperlipidemia. The content of egg yolk cholesterol depends on the amount of VLDL transported into oocyte. It is hopeful to control the content of egg cholesterol by modifying OVR.

Key words laying hen; oocyte vitellogenesis receptor; cholesterol; lipoprotein

产蛋鸡的卵母细胞有很快的生长速度,在排卵前 7~10 d 卵泡的直径从 7 mm 增加到 35 mm,重量从 0.2 g 增加到 17 g 左右,每天大约吸收 1.5~2 g 蛋白。这些蛋白主要为极低密度脂蛋白(VLDL)、卵黄脂磷蛋白(LV)、卵黄高磷蛋白及少量的免疫球蛋白、白蛋白、维生素结合蛋白等。同时肝脏产出的脂质丰富的颗粒(VLDL 和 vitellogenin, VTG),如果不从血液排到卵母细胞,也会产生有害作用;用雌激素处理的公鸡,会快速形成大动脉小半鞘翅,证明了这一点。

有研究发现这些卵黄前体都通过生长的卵母细

胞,以受体介导的内吞方式被特异的吸收。此受体因最先发现结合 VTG 或 VLDL,曾叫 VgR、VLDLR 或 VLDL/VTG receptor,后来发现其具有多种功能,并给它取了一个意义较为广泛的名字:卵母细胞卵黄生成受体(oocyte vitellogenesis receptor, OVR)。

OVR 是卵黄前体进入卵母细胞的瓶颈。本文总结了 OVR 的主要研究进展,并提出了其可能参与胆固醇代谢的假设及研究前景。

1 OVR 的生化特点

OVR 的分子量为 95 kDa,是一种糖蛋白,属于 LDLR 家族的成员。其所运输的脂蛋白占卵黄干重的 95%。

1.1 OVR 的存在部位

OVR 在卵母细胞外周清晰可见,主要与内陷小窝和小囊泡相连,并只在卵母细胞上表达,在颗粒细胞内外都未检测到。Dwayne^[1]研究认为 OVR 在直径

崔学平,四川农业大学动物营养研究所,625014,四川雅安。

陈代文(通讯作者)、张克英,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-01-23

3~15 mm 的卵泡中含量最高。Shen^[2]表明,OVR 在休眠的卵母细胞中已经存在,集中在细胞的中心部位;在卵母细胞的快速生长期,OVR 重新分布到外周区,发挥它的内吞功能。Recheis^[3]研究表明,在卵母细胞成熟以前已含有丰富的 OVR 的 mRNA 和蛋白,但只是选择性地让一些卵母细胞吸收卵黄前体,OVR 就结合、内化、沉积那些卵黄物质。由此可见,OVR 的发生发展可能还需要进一步研究,尤其在营养或生理状态发生变化的时候。

1.2 OVR 的结构特点

OVR 的结构由 4 个部分组成,从 N 端开始依次为:①配体结合区,具有 8 个富含半胱氨酸的重复簇组成,介导受体与配体的相互作用;②表皮生长因子(EGF)前体同源区,大约 400 个氨基酸构成,通过基因敲除的方法证明它可能参与 OVR 的解离及再循环利用;③跨膜区,由 22~25 个疏水性氨基酸组成,参与锚定受体、信号转导、离子通道的形成;④胞质尾区,含有 50 个氨基酸残基,介导 OVR 的细胞内吞作用,内化序列是保守的肽(Phe-Asp-Asn-Pro-Val-Tyr),同时也可能参与信号转导^[4]。Bujo 等^[5]比较 OVR 与哺乳动物的 LDLR 的氨基酸顺序时发现二者有极大的同源性,如在 N 端的配体结合区存在 84% 的同源性,其下游的表皮生长因子同源区的同源性为 85%。即使是在 LDLR 家族中保守性最差的跨膜区也有 64% 的同源性。OVR 与 LDLR 家族成员之间最突出的差异在于配体结合区富含半胱氨酸的重复序列的数目,LDLR 只有 7 个,而 OVR 含 8 个;并且 OVR 不含有氧连接的糖区,链长较短,因此从结构上 OVR 又叫 LR8-。

1.3 OVR 的理化性质

到目前为止,对 OVR 的提取所用的提取试剂有 octyl glucoside、CHAPS、Nonidet P-40 和 Triton X-100,它们对 OVR 的溶解性没有什么不同。

苏拉明(suramin)可抑制 OVR 与其配体的结合。VLDL 在 24 °C 与 OVR 结合,在 40 min 内达到完全结合,在 4 h 没有检测到解离情况,然而加入苏拉明,结合的 VLDL 很快从受体中释放出来,增加苏拉明的量可完全抑制 VLDL 与 OVR 结合。OVR 也对链霉蛋白酶非常敏感,存在巯基化合物时,抗 OVR 抗体与鸡 OVR 反应减弱,因为 OVR 的链内二硫键(主要位于配体结合区)被打开。另外,40 mmol/l EDTA 也可抑制配体与受体的相互作用。OVR 在 -70 °C 储存 2 月,还能

完全保持与 VLDL 和 LDL 的结合活性;但在 90 °C 加热 5 min 就可破坏其结合活性。

2 OVR 的配体

产蛋鸡卵母细胞生长需要两步调节:第一是在雌激素的控制下由肝脏合成卵黄前体;第二是 OVR 介导卵黄前体进入卵母细胞。通过此模型进入卵母细胞的有 VTG、VLDL、转铁蛋白、视黄醇结合蛋白、硫酸素结合蛋白。近年来还发现了一些 OVR 的新配体。

2.1 VLDL 与 VTG

OVR 的主要生理功能是介导产蛋鸡的卵细胞从血浆中吸收卵黄蛋白的前体物质,如 VLDL 和 VTG。VTG 是一种磷脂糖蛋白,是蛋黄中卵黄脂磷蛋白(Lipovitellin-VTG 的氨基端部分)和卵黄高磷蛋白(Phosvitin-VTG 的 C 端多肽)的前体。VLDL 是以甘油三酯和胆固醇酯为核心,外面包被磷脂、游离胆固醇和载脂蛋白所构成的。VLDL 是蛋黄中甘油三酯和胆固醇的主要来源,VTG 是蛋黄蛋白的主要来源。

OVR 既与 VLDL 结合又与 VTG 结合^[6]。当 OVR 分别与 VTG 和 VLDL 进行配体印迹反应时,具有一样的迁移率。若加入兔抗 OVR,会抑制 VTG 和 VLDL 与 OVR 的结合。VLDL 与 VTG 竞争结合 OVR,VTG 在 OVR 上的结合位点可能是 VLDL 识别位点的基础,VTG 可能减少 OVR 对 VLDL 的亲水性,但反过来不成立^[6]。可见,OVR 可能是单链聚肽,具有双重结合空间。总之,VLDL 和 VTG 占卵黄的大部分,它们都通过 OVR 吸收入卵母细胞,充分显示了物种进化的经济性。

2.2 OVR 的其它配体

鸡丛生蛋白(clusterin)在颗粒细胞中合成,与卵泡的发展相关,是卵泡闭锁和再吸收的标记,在卵黄生成伊始、闭锁卵泡、排卵卵泡以及排卵后的卵泡中有较高的转录水平。Michelle^[7]认为它作为 OVR 内吞的载体而与 OVR 结合。

α_2 -巨球蛋白(α_2 -M)属于鸡卵黄的成分之一,它的作用可能是在胚胎发生早期使卵黄中的组织蛋白酶 D(cathepsin D)失活。就母鸡每天产生 2~5 g 卵黄的吸收效率来讲, α_2 -M 可能是卵黄其它成分的 piggyback 机制。Linda^[8]表明人 α_2 -M 和鸡 α_2 -M 都与 OVR 结合。将 OVR 转染到 COS-7 细胞, α_2 -M 被 COS-7 细胞内吞入卵母细胞。

受体相关蛋白(RAP)是 39 kDa 细胞内蛋白,原

本认为只在哺乳动物中表达,它的功能是作为低密度脂肪蛋白受体(LDLR)家族的分子伴侣。现发现鸡也表达,它的功能还不完全清楚,可能也是 OVR 的分子伴侣;鸡乳铁蛋白可能是鸡最原始的免疫屏障。Thomas^[9]表明,鸡 RAP 和乳铁蛋白与 OVR 结合,在转染了 OVR 的 COS-7 细胞内,RAP 被纳入细胞。

核黄素结合蛋白(ribBP)是鸡卵黄的必需成分,它供给卵黄足够的维生素 B,以维持胚胎发展。血清中 ribBP 与 VTG 结合,被 OVR 内吞,此相互作用需要 Ca^{2+} 和 PO_4^{3-} 的参与。

补体因子 3(C3)不仅是体液补体系统的关键成分,也是鸡卵黄的成分。Recheis^[9]研究认为 C3 是被 OVR 内吞而进入卵母细胞的。

2.3 OVR 与配体的亲和性比较

将 OVR 提取物与配体孵化,经 Scatchard 分析的结果见表 1。配体与 OVR 的亲合力大小为 VTG>人 apoE>鸡 apoB>人 apoB。OVR 对 VTG 亲和性比 apoB 高,与哺乳动物 LDLR 对 apoE 的亲亲和性比 apoB 高类似,所以 VTG 可能是哺乳动物 apoE 的相似物,是物种进化的产物。Thomas^[9]研究表明,鸡 RAP 和乳铁蛋白与 OVR 结合的亲和性大于 VLDL、VTG 和鸡 α_2 -M。

表 1 脂蛋白与鸡 OVR 结合的参数

受体	配体	亲和常数 Kd(μ g/ml)	资料来源
OVR	β -VLDL	1.6	Dwayne ^[11]
	VLDL	3.4	
	VTG	2.8	

2.4 OVR 的解离

卵母细胞的快速生长需要高速的吞噬作用以吸收蛋黄物质,通过原生质膜的 OVR 的循环才能保证卵母细胞的正常发育生长。在蛋黄前体混合物进入卵母细胞不久,OVR 在蛋黄中相对低的 pH 值下被解离,重返原生质膜。一旦 VLDL 被 OVR 吸收,其载脂蛋白 apoB 被鸡所特有的 cathepsin-D 蛋白水解切割,但这些降解片段不抑制 VLDL 与 OVR 结合^[10]。

3 OVR 与蛋鸡健康和生产

综上所述,OVR 有非常重要和广泛的生物学功能,如果 OVR 不能正常工作,将严重威胁蛋鸡的健康和生产。OVR 基因位于禽性染色体上,该基因缺损的母鸡[如限制性排卵(RO)品系]不能繁殖,并呈现内源性高脂血症和动脉粥样硬化。将正常产蛋鸡与 R/O 品系鸡的 OVR 进行序列分析发现,单个核苷酸置换

(G→C)造成 OVR 缺陷,这一点突变导致 OVR 上的半胱氨酸-682(二硫键形成的供体)残基变成了丝氨酸残基^[9]。由于该半胱氨酸残基位于 OVR 上的一个重要区域,导致 OVR 功能下降,卵细胞中不能累积正常量的蛋白前体,因而抑制卵细胞发育而影响产蛋;同时又不能抑制肝脏的脂蛋白合成与分泌,使血浆中累积大量的脂肪而产生高血脂症和动脉粥样硬化。

Elkin^[11]研究表明,公鸡中也存在 LR8-,若其中一个等位基因突变,将导致子代母鸡的生殖和孵化能力降低。Elkin^[12]进一步发现 RO 母鸡能够产蛋,但数量少,并且很小(<42 g),蛋黄颜色深,卵黄结构被破坏。这暗示可能存在非 OVR 介导的卵黄生成机制。候选基因低密度受体相关蛋白(LRP, 380 kDa),它存在于突变和野生型中,它可能和 OVR 互补,介导卵黄生成,使 RO 母鸡可以排卵,少量产蛋,但不能维持正常水平。Robert^[13]给 RO 鸡和正常鸡 0.06% atorvastatin(AT),AT 使 RO 鸡血浆胆固醇和甘油三酯分别降低了 60.3%和 70.1%;使正常鸡的血浆胆固醇和甘油三酯分别降低 45.1%和 34.3%;与正常鸡相比,RO 鸡参与 VLDL 组装的几个关键基因的 mRNA 的表达受抑制,但不受 AT 的影响。这暗示 OVR 可能还参与胆固醇合成的调控。

4 OVR 与蛋黄胆固醇转运的可能关系

鸡蛋胆固醇含量已引起国内外学者的高度关注,通过遗传选择、调整饲料或应用降血脂药物等方法,对降低鸡蛋胆固醇含量作了不少探索,可效果不甚理想。蛋黄胆固醇主要来源于肝脏合成的蛋黄前体 VLDL 和 VTG,而又主要取决于 VLDL 进入卵母细胞的数量。

蛋黄胆固醇难以降低有它客观的原因。首先,血浆中的脂蛋白是完整地转移到蛋黄中的;蛋黄中的脂类组成是由血浆脂蛋白的脂类组成所决定的,而遗传选择或抑制胆固醇合成的研究表明,也许能改变血浆脂蛋白的浓度,但不能改变脂蛋白的组成成分。其次,蛋鸡肝脏中合成的脂蛋白十分微细,并且大小一致,这样它们才能顺利通过卵泡壁的基底膜,但如此细微的脂蛋白,其表面积与体积比例的变异机会是有限的,即胆固醇含量的变异是有限的,因为胆固醇是脂蛋白的表面成分。最后,卵母细胞质膜上的 OVR 具有很强的亲和力,这意味着卵黄脂蛋白前体从血浆中的吸收率以及它们在蛋黄中的浓度与血浆中的脂蛋白

浓度基本无关^[4]。

通过 OVR 调控鸡蛋胆固醇的研究还未见报道,但这蕴藏着巨大的价值。当肝脏合成或血清中卵黄前体减少时,OVR 可能不会上调。因为 OVR 在不成熟的卵母细胞中已存在,可能不会从头合成。这时卵母细胞的能量被用作质膜合成,细胞内局部构像的建立和维持,以及卵黄的形成和排卵^[2]。在注入放射标记的卵黄前体到直径 10~15 mm 的鸡卵母细胞中未产生 OVR 的免疫沉淀物。然而 OVR 可能循环利用增加,内吞能力可能提高以保证有足够的卵黄前体进入卵母细胞,保证卵生物种的胚胎发育需要。

但也有假设认为,当肝脏合成或血清中卵黄前体减少时,OVR 的表达可能会上调。这主要基于哺乳动物上的 LDL 和 LDLR 的关系而联想到的。

Brown 与 Goldstein 在受体水平阐明了胆固醇代谢的负反馈调节过程,他们因此而获得诺贝尔生物学奖。他们认为,(1)细胞内胆固醇的合成与摄入受到 LDLR 的控制。(2)当细胞内胆固醇水平低时,细胞膜的 LDLR 大量增加,与血循环中富含胆固醇的 LDL (或 IDL) 结合后,经过内吞作用进入细胞。(3)LDL-LDLR 复合物在细胞内经溶酶体作用释放出胆固醇,引起以下效应:①抑制 HMGCR(胆固醇生物合成限速酶)活性,因此细胞内胆固醇合成减少;②促进酰基 CoA、胆固醇酰基转移酶(ACAT)活性,使胆固醇酯化增加;③抑制 LDLR 的合成,以减少细胞继续摄入胆固醇。Susanna^[15]对公鸡给予雌激素,刺激 VLDL 产生,增加肝脏 LDLR 表达。鸡胚成纤维细胞与 statin 孵化,LDL 表达增加,在孵化前,加抗 OVR 抗体来阻断 LDL 内吞,这在产蛋鸡上还需要进一步研究。

可能由于产蛋鸡的胆固醇代谢缓慢,过程冗长复杂,研究方法还有待完善,所以 OVR 对其的调控尚未弄清楚,还有待进一步研究。但总的来说,OVR 所内吞的 VLDL 的数量是蛋黄胆固醇含量的决定因素,因此期望通过调控 OVR 来控制蛋黄胆固醇的含量。

参考文献

- 1 Dwayne L. The Receptor for Yolk Lipoprotein Deposition in the Chicken Oocyte [J]. Journal of Biological Chemistry, 1991, 266(28): 18 761~18 770
- 2 Shen X, Steyrer E, Retzek H, et al. Chicken oocyte growth: receptor-mediated yolk deposition [J]. Cell Tissue Res., 1993, 272(3): 459~471
- 3 Recheis B, Rumpler H, Schneiderand WJ, et al. Receptor-mediated transport and deposition of complement component C3 into developing chicken oocytes [J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 2005, 62(16): 1 871~1 880
- 4 Nimpf J. From cholesterol transport to signal transduction: low density lipoprotein receptor, very low density lipoprotein receptor, and apolipoprotein E receptor -2 [J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2000, 1 529: 287~298
- 5 Bujo H. Mutant oocytic low density lipoprotein receptor gene family member causes atherosclerosis and female sterility Proc [J]. Natl. Acad. Sci. USA, 1995, 92: 9 905~9 909
- 6 Stefano S. A single chicken oocyte plasma membrane protein mediates uptake of very low density lipoprotein and vitellogenin [J]. Cell Biology, 1990, 87: 1 955~1 959
- 7 Michelle GM, Ken A. Lindstedt, et al. Multiple Involvement of Clusterin in Chicken Ovarian Follicle Development [J]. J. Biol. Chem., 1999, 274(7): 4 036~4 044
- 8 Linda J. The Chicken Oocyte Receptor for Lipoprotein Deposition Recognizes α_2 -Macroglobulin [J]. Biochemistry and Molecular Biology, 1995, 270(12): 6 468~6 475
- 9 Thomas H. The Chicken Oocyte Receptor for Yolk Precursors as a Model for Studying the Action of Receptor-associated Protein and Lactoferrin [J]. Biochemistry and Molecular Biology, 1995, 270(31): 18 219~18 226
- 10 Marcela H, Michelle GM, Ken A. Lindstedt, et al. Lipoprotein Receptors in Extraembryonic Tissues of the Chicken [J]. J. Biol. Chem., 2000, 275(22): 16 837~16 844
- 11 Elkin R G, Zhong Y. Assessment of Reproductive Function in Mutant Restricted Ovulator Carrier Roosters [J]. Poult Sci., 2002, 81: 1 280~1 282
- 12 Elkin R G, Zhong Y, Porter R E Jr, et al. Validation of a modified PCR-based method for identifying mutant restricted ovulator chickens: substantiation of genotypic classification by phenotypic traits [J]. Poult Sci., 2003, 82(4): 517~525
- 13 Robert G E, Zhong Y, Shawn S, et al. Effects of atorvastatin on lipid metabolism in normolipidemic and hereditary hyperlipidemic, non-laying hens [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 2006, 143(3): 319~329
- 14 Griffin H.D. Egg cholesterol resists change [J]. Poultry International, 1990(8): 20~22
- 15 Susanna H. Molecular characterization of the first avian LDL receptor: role in sterol metabolism of ovarian follicular cells [J]. Journal of Lipid Research, 2003(44): 1 633~1 642

(编辑:张学智, mengzai007@163.com)

用化学分析法预测大豆蛋白类饲料猪消化能值的模型建立

李珂 张宏福 王子荣

摘要 试验探讨用化学分析法预测大豆蛋白类饲料猪消化能值。选取体重(35±2) kg、遗传基础相似的健康杜×长×大三元杂交阉公猪 8 头,采用 2 个 4×4 拉丁方设计,运用套算法测定豆饼、豆粕、干法膨化全脂大豆等 8 种大豆蛋白类饲料的表观消化能(DE),分析并计算出各种饲料的常规成分。结果表明:(1)在大豆蛋白类饲料猪消化能值回归预测中,ADF 是最佳预测因子。(2)最佳预测方程为①DE (MJ/kg, DM 基础)=16.407-85.982ADF+0.328GE(R²=0.88, RSD=0.264%, P<0.01);②DE(MJ/kg, DM 基础)=30.319-89.999 ADF+9.659SCHO-184.115Ash(R²=0.95, RSD=0.189%, P<0.01);③DE(MJ/kg, DM 基础)=23.882-84.418ADF-7.877NFE+19.71CF(R²=0.95, RSD=0.281%, P<0.01),上述最佳方程经检验适用于与本试验类似的饲料。

关键词 化学分析法;大豆蛋白类饲料;猪;消化能

中图分类号 S816.32

Estimation of the digestible energy values of soybean protein supplement with feedstuff composition in pig

Li Ke, Zhang Hongfu, Wang Zirong

Abstract Two latin-square-designed trials were taken on 8 castrate male pigs (Durac×landrace×large white)to determine the Apparent Digestible Energy (DE) of protein supplement by difference method. Using same amount of these test feeds (35%), diets with certain gradient of ADF,NDF and CF contents were formulated. After analyzing all the content in the diets and test foods, the regression equations were establish between DE and these parameters by software SAS. The applying effects and limits of the regression equations were discussed as well. It was concluded that:1)All the parameters in estimating the DE of protein supplement with pigs, the ADF was the best one.2)The most effective regression equations were①DE (MJ/kg DM)=16.407-85.982ADF+0.328GE (R²=0.88, RSD=0.264%, P<0.01);②DE(MJ/kg DM)=30.319-89.999ADF+9.659SCHO-184.115Ash(R²=0.95, RSD=0.189%, P<0.01);③DE(MJ/kg DM)=23.882-84.418ADF-7.877NFE+19.71CF(R²=0.95, RSD=0.281%, P<0.01),The regression equations listed above can also be used to estimate all the feedstuff like this experiment.

Key words chemical analysis;soybean protein supplement;pig;digestible energy

消化能(DE)是饲料主要营养指标之一,猪饲料消化能是编制猪饲料营养价值表、制定猪饲养标准的重要指标。通过消化实验实测 DE 值,不但工作量大,影响因素很多,而且很难测得可靠的、有代表性的数据。化学成分法预测猪饲料消化能值的方法已较为成熟,然而多数预测模型是建立在所有饲料的基础上

(Morgan 等,1987;Noblet 和 J. M. Perez,1993)。不同种类的饲料在营养成分组成上各具特点,若把不同类型的饲料放在一起建立预测模型则不太合理(Wiseman 等,1985)。Morgan 等(1975)、左绍群(1983)、张子仪(1981)的大量研究表明,对饲料分类建立预测模型有利于提高预测准确性。

本试验通过实测 8 种我国常用的大豆蛋白类饲料的 DE(消化能)及其 CF(粗纤维)、CP(粗蛋白)、GE(总能)、ADF(酸性洗涤纤维)等成分,分析 DE 与大豆蛋白类饲料及各成分之间相关回归关系,比较各化学成分相互结合评定大豆蛋白类饲料的 DE 效果的优劣,寻求预测 DE 的最佳因子,并建立专一性强、准确

李珂,新疆农业大学,830052,新疆乌鲁木齐。

张宏福,中国农业科学院畜牧所。

王子荣(通讯作者),单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2006-12-26

★ 基金项目:国家公益性研究项目(2004DIB4J152)资助

性高、使用简便的预测大豆蛋白类饲料的回归模型。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选取 8 种具有代表性的大豆蛋白类饲料,湿法膨化全脂大豆(CP 38%;产地:北京)、豆饼(CP 46%;产地:黑龙江)、干法膨化全脂大豆(CP 44%;产地:北京)、豆粕 1(CP 50%;产地:辽宁)、豆粕 2(CP 48%;产地:辽宁)、豆粕 3(CP 55%;产地:辽宁)、大豆浓缩蛋白(CP 70%;产地:辽宁)、大豆分离蛋白(CP 90%;产地:河南)。

1.2 试验设计与试验动物

选择体重接近(35±2) kg 的健康杜×长×大三元杂交阉公猪 8 头,放入代谢笼中单笼饲喂,采用 2 个 4×4 拉丁方设计,全收粪套算法测定 8 种大豆蛋白类饲料的表观消化能值。在试验开始后第 2 期与第 3 期之间测定基础日粮的表观消化能。

1.3 试验日粮

基础日粮配制参照 NRC(1998)标准,配制玉米-豆粕型日粮。被测饲料均按 35%替代比例配制成试验日粮。基础日粮组成及营养成分见表 1。

表 1 基础日粮组成及营养成分

成分	含量(%)	营养水平	
玉米	72.68	消化能(MJ/kg)	14.00
小麦麸	5.20	粗蛋白(%)	15.01
豆粕	18.00	赖氨酸(%)	0.79
大豆油	1.80	蛋氨酸(%)	0.24
赖氨酸盐	0.10	总磷(%)	0.47
蛋氨酸	0.10	钙(%)	0.59
磷酸氢钙	0.70		
石粉	1.00		
食盐	0.30		
复合多维	0.02		
复合微量	0.20		
合计	100.10		

注:每千克预混料提供 VA 1 000 IU、VD 135 IU、VE 11 mg、VB₁₂ 2.0 μg、核黄素 2.0 mg、D-泛酸 7.4 mg、烟酸 7.0 mg、胆碱 0.3 g、锰 2.0 mg、锌 50.0 mg、铜 3.50 mg、碘 0.14 mg、硒 0.15 mg。

1.4 消化试验及饲养管理

试验开始前对试验猪进行防疫、驱虫。当体重达(35±2) kg 时开始试验。每轮预试期 3 d,正试期 4 d。预

试期确定采食量,自由饮水。正试期 24 h 值班,随时收集粪样,放入相应的自封袋中,准确称重,每 100 g 粪样加入 10%盐酸 10 ml,立即置冰箱低温(-20 ℃)保存。每天将每头猪的所有粪样混匀,按 20%的比例取样,样品密封于塑料袋中,置冰箱低温(-20 ℃)保存待测。

1.5 样品制备与分析

1.5.1 样品制备

试验饲料粉碎至 40 目,密封保存。把每期试验所收集的粪样混匀后按 10%取样,(60±5) ℃烘箱中烘 12 h,室温下回潮 24 h 后称重,测得初水分含量,然后将样品粉碎至 40 目,准备实验室分析用。

1.5.2 测定指标

测定饲料、粪样中的 GE、DM 和试验饲料及饲料中的 CF、NDF、ADF、CP、EE、Ash,并计算 SCHO(可溶性碳水化合物)、NFE(无氮浸出物)。

测定方法参考 AOAC(2003)方法和《饲料分析及饲料质量检测技术》(第二版,张丽英主编)。

饲料 DE(MJ/kg)=(试验猪每期食入的总能-每期排粪总能)/试验猪每期采食量

饲料 DE(MJ/kg)=[每期试验猪饲料消化总能-每期试验猪基础日粮消化总能×(1-替代比例)]/(饲料替代基础日粮比例×每期试验猪采食干物质量)

1.5.3 样品的测定

样品的常规分析均在中国农业科学院畜牧研究所重点实验室进行。能量的测定(氧弹测热仪 PARR 1281)在中国农业科学院畜牧研究样品分析中心进行。

1.6 统计分析

以 DE 对所测大豆蛋白类饲料的 CF、NDF、ADF、CP、EE、NFE、Ash、SCHO、GE 用 SAS 软件包进行回归分析。

2 结果与分析

2.1 饲料常规成分及范氏纤维指标实测值

8 种大豆蛋白类饲料的实测 DM、GE、CF、NDF、ADF、CP、EE、NFE、Ash、SCHO 分别列于表 2,饲料营养成分见表 3。

表 2 饲料营养成分实测值

项目	DM(%)	CP(%)	EE(%)	CF(%)	Ash(%)	NDF(%)	ADF(%)	NFE(%)	SCHO(%)	GE(MJ/kg)
干法膨化全脂大豆	89.05	43.85	14.26	4.09	5.26	14.85	7.66	24.41	21.80	20.82
豆粕 1	89.17	48.55	0.68	5.27	5.50	15.35	8.54	29.47	29.92	17.93
湿法膨化全脂大豆	89.38	38.39	17.12	4.21	4.81	12.00	6.70	15.01	27.68	21.81
豆粕 2	88.60	51.23	0.38	2.16	5.20	10.05	7.85	26.78	33.13	18.19
豆饼	89.64	45.63	5.63	4.94	5.97	23.50	8.97	32.86	27.43	18.23
大豆浓缩蛋白	89.23	72.44	0.35	2.65	4.86	12.40	6.39	22.77	14.65	19.51
豆粕 3	89.20	53.47	0.70	2.07	5.66	13.20	5.11	29.51	26.97	18.43
大豆分离蛋白	88.81	85.39	0.10	0.09	4.43	5.20	3.82	5.47	11.90	20.51

表3 饲料营养成分

项目	DM(%)	CP(%)	EE(%)	CF(%)	GE(MJ/kg)
干法膨化全脂大豆饲料	89.33	24.14	6.81	2.42	17.69
豆粕饲料 1	88.35	25.64	2.03	2.81	16.68
湿法膨化全脂大豆饲料	89.14	21.96	7.78	2.45	18.04
豆粕饲料 2	86.79	25.95	1.89	1.69	16.77
豆饼饲料	87.92	24.52	3.73	2.68	16.78
大豆浓缩蛋白饲料	88.64	33.57	1.92	1.89	17.23
豆粕饲料 3	88.23	26.96	2.03	1.69	16.85
大豆分离蛋白饲料	89.10	38.40	1.84	1.02	17.58
基础饲料	87.99	15.01	3.12	1.70	16.34

2.2 一元及多元的回归分析

本试验套算测得 DE 值与 CF、NDF、ADF、CP、EE、NFE、SCHO、Ash、GE 回归方程见表 4、5、6。

表4 一元线性回归方程

编号	回归方程	R ²	RSD(%)	P 值
1	DE=23.533-96.866ADF	0.81	0.304	<0.01
2	DE=20.921-17.402NFE	0.70	0.391	<0.01
3	DE=20.856-29.942NDF	0.69	0.399	<0.05

表5 二元线性回归方程

编号	回归方程	R ²	RSD(%)	P 值
4	DE=23.348-7.962NFE-67.228ADF	0.88	0.264	<0.01
5	DE=16.407-85.982ADF+0.328GE	0.88	0.264	<0.01
6	DE=28.654-129.698Ash-73.05ADF	0.88	0.266	<0.01
7	DE=23.611-102.027ADF+5.651EE	0.85	0.289	<0.01
8	DE=0.154+1.196NFE-0.423NDF	0.85	0.291	<0.05
9	DE=21.078-36.11CF-13.138NFE	0.77	0.376	<0.05
10	DE=7.084-70.017CF+0.618GE	0.74	0.394	<0.05
11	DE=25.15-21.379NDF-104.275Ash	0.71	0.422	<0.05

表6 三元及三元以上线性回归方程

编号	回归方程	R ²	RSD(%)	P 值
12	DE=30.319-89.999ADF+9.659SCHO-184.115Ash	0.95	0.189	<0.01
13	DE=23.882-84.418ADF-7.877NFE+19.71CF	0.95	0.281	<0.01
14	DE=29.789-96.262ADF-138.58Ash+29.029CF	0.90	0.266	<0.01
15	DE=37.46-125.004ADF-360.958Ash+16.188SCHO+21.816NDF	0.99	0.071	<0.01
16	DE=31.77-118.672ADF-197.857Ash+10.218SCHO+34.631CF	0.98	0.138	<0.01
17	DE=24.425-91.793ADF-143.34Ash+9.957SCHO+0.197GE	0.97	0.182	<0.01
18	DE=37.428-126.142ADF-373.644Ash+17.327SCHO+0.515CP+23.418NDF	0.99	0.086	<0.01
19	DE=36.52-128.876ADF-328.951Ash+15.027SCHO+13.621CF+17.201NDF	0.99	0.059	<0.01
20	DE=31.256-117.843ADF-194.177Ash+10.222SCHO+33.459CF+0.016GE	0.98	0.167	<0.01

2.3 逐步回归及相关系数分析结果

将饲料的 DE 作为因变量,CF、NDF、ADF、CP、EE、NFE、SCHO、Ash、GE 作为自变量,采用 SAS9.0 软件逐步回归分析,结果表明,最先引入模型的自变量是 ADF,

其次是 NFE 和 CF。

逐步回归分析结果:DE(MJ/kg,DM 基础)=23.882-84.418ADF-7.877NFE+19.71CF (R²=0.95, P<0.01), DE 与 GE 及饲料各成分之间的相关系数见表 7。

表7 饲料的化学成分与总能、各化学成分之间相关系数分析结果

项目	DE	ADF	Ash	NFE	SCHO	CP	NDF	EE	CF	GE
DE										
ADF	-0.903**									
Ash	-0.781*	0.643								
NFE	-0.834**	0.723*	0.926**							
SCHO	-0.477	0.646	0.641	0.652*						
CP	0.504	-0.7	-0.591	-0.569	-0.812**					
NDF	-0.604	0.484	0.546	0.467	-0.012	-0.100				
EE	-0.010	0.240	-0.066	-0.146	0.134	-0.636	-0.030			
CF	-0.718*	0.860**	0.6	0.608	0.545	-0.784*	0.433	0.471		
GE	0.572*	-0.388	-0.689	-0.745*	-0.461	0.029	-0.326	0.729*	-0.140	

注:**表示 P<0.01;*表示 P<0.05。

3 讨论

3.1 预测因子对 DE 预测的贡献

3.1.1 最佳指标的选择(ADF、NDF 对 DE 的贡献)

从逐步回归分析结果看出,ADF 首先进入模型;表 7 中各因子相关系数分析可见,消化能(DE)与 ADF 呈极显著负相关,与 NDF 相关性较低,相关系数:ADF R²=-0.903(P<0.01),NDF R²=-0.604(P>0.05)。在一元

回归方程中(见表 4),以 ADF 为主测因子建立的方程相关系数(方程 1)较高,在各多元回归方程中(见表 5、6),以 ADF 结合其它因子建立的方程在各类方程中最佳。

饲料中半纤维素、纤维素和木质素组成比例不同,来源不同,它们对能量消化率的负影响也不同(Keys 等,1974)。因此,预测饲料有效能值的最佳纤维

因子就会不同。刘彩霞、王康宁(2000)的研究表明,在以统糠、麦麸等饲料建立的预测 DE 的回归方程中, NDF 为最佳纤维预测因子,通过统计比较发现,它们的 NDF 与 ADF 的比值大于 2,最大比值接近 4,说明饲料中半纤维素(NDF 减 ADF)的含量高, NDF 对 DE 的影响最大。NRC(1998)植物性蛋白饲料的全面统计,其 NDF 与 ADF 的实测值的比值都小于 2 而逼近于 1,说明这类饲料纤维组成中半纤维素含量相对较低, ADF 对 DE 的影响比 NDF 大, ADF 应为最佳预测纤维因子。通过对本试验中表 2 的 NDF 与 ADF 实测值的统计可以看出,两者的比值(NDF : ADF)小于 2,说明本试验所选取的大豆蛋白类饲料纤维组成中半纤维素含量相对较低, ADF 对 DE 的影响比 NDF 大, ADF 应为本试验最佳预测因子,结果与 Noblet 和 Perez(1993)、李明元等(2000)研究一致。

3.1.2 NFE、Ash 及 GE 对 DE 预测的贡献

从饲料的化学成分与消化能之间相关关系分析结果(见表 7)中可以看出, NFE 一般是排在 ADF 后的第二预测因子, NFE 同 DE 呈极显著的负相关($R^2=-0.834, P<0.01$)。在最佳二元线性方程(见表 5)中,当 ADF 为预测的主效因子时, NFE 贡献最大,其次是 GE。但由于 GE 测定方便、快捷,故本试验选择 GE 为第二预测因子,因此本试验所推荐的最佳二元线性方程(方程 5),是建立在纤维指标(ADF)和总能(GE)上。Morgan 等(1975)列出的 10 个最优的二元线性方程,9 个是建立在纤维和总能上。

本试验中, Ash 与 DE 相关性显著($R^2=-0.781, P<0.05$), Noblet 等(1992、1993、1994)、Ewan 等(1989)认为 Ash 作为能量的“稀释剂”与 DE 呈明显负相关。Noblet 和 Perez(1993)报道,日粮中矿物质的存在会增加内源性脂肪的排出,使脂肪皂化,降低了脂肪的消化率而影响 DE 值,当 ADF 与 NFE 结合后,第三因子如果再用 Ash,可靠性和准确性并未提高,且增加检测 Ash 的时间和费用。所以尽管 Ash 同 DE 之间呈显著相关,但在选用 NFE 时已经将 Ash 的影响也间接考虑了,这是由于 $NFE=DM\%-(CP\%+EE\%+Ash\%+CF\%)$ (田少彬, 2002)。

3.1.3 CF、CP 和 EE 对 DE 预测的贡献

从逐步回归分析结果看出, ADF 首先进入模型,其次是 NFE,最后是 CF。这与 NRC(1998)推荐的第三个公式相吻合。通过表 7 中各因子相关系数分析可见,消化能(DE)与 CF 呈显著负相关($R^2=-0.718, P<0.05$)。

通过对 CP 与 DE 之间的相关分析(见表 7)得出:

两者呈正相关,相关性不显著($R^2=0.504$),又因在三元、四元线性方程中(见表 6), CP 并未出现,可见,在预测大豆蛋白类饲料 DE 时, CP 因不显著而被剔除,但是因为 NFE 作为第二最佳因子引入方程,所以方程中也考虑到了 CP 的影响。

EE 是一种重要的供能物质,是饲料中单位能值最高的成分,如果以供能因子预测饲料 DE 值, EE 理应是重要的预测因子。Morgan 等(1987)、Noblet 和 Perez(1993)研究表明,由于 GE 和 EE 高度相关,在预测 DE 时,选定 GE 因子后, EE 的系数往往因不显著而被剔除。本试验相关分析表明(见表 7), EE 同 DE 的相关性较低($R^2=0.01$),但 EE 同 GE 的相关性达显著水平($R^2=0.729, P<0.05$),同时 NFE 或 SCHO 也已考虑了其影响,故在本试验中将 EE 因子剔除。

3.2 最佳预测方程的选择及应用比较

3.2.1 最佳方程的选择

选择最佳预测方程的原则一般为:预测精确度高和因子数少及因子化学分析简便,工作量低。重视前者且兼顾后者。根据统计学原理,方程相关指数 R^2 越大、剩余标准差(RSD)值越小,方程的精确度越高。线性回归方程中,随自变量数目的增加,预测可靠度会有所提高,但到一定程度,可靠程度提高的幅度减小。从回归方程(见表 4、5、6)中看二元线性方程较一元线性方程精确度提高,三元线性方程较之二元线性方程有较大提高,四元、五元线性方程比三元线性方程精确度也有适当提高,但不及三元线性方程较二元线性方程提高的幅度大;其次,五元线性方程中各预测因子的显著性较三、四元线性方程降低,并且通过逐步回归分析得出的方程是三元线性方程。综合各种因素考虑,本试验推荐选用三元线性方程来预测大豆蛋白类饲料消化能值,结果同 NRC(1998)推荐使用方程因子个数吻合。同时,根据不同需要,也可参考二元预测方程。本试验推荐方程为:

$$(5) DE(\text{MJ/kg, DM 基础}) = 16.407 - 85.982ADF + 0.328GE \quad (R^2=0.88, RSD=0.264\%, P<0.01)$$

$$(12) DE(\text{MJ/kg, DM 基础}) = 30.319 - 89.999ADF + 9.659SCHO - 184.115Ash \quad (R^2=0.95, RSD=0.189\%, P<0.01)$$

$$(13) DE(\text{MJ/kg, DM 基础}) = 23.882 - 84.418ADF - 7.877NFE + 19.71CF \quad (R^2=0.95, RSD=0.281\%, P<0.01)$$

3.2.2 线性回归方程的应用比较

从表 8 中可见, NRC(1998)所推荐公式比本试验提供的方程的 R^2 小、RSD 值高,说明本试验新建公式

表 8 NRC(1998)推荐公式和本试验提供的最佳方程

公式来源	回归方程	R ²	RSD(%)
NRC(1998)(kcal/kg)	DE=-174+0.848GE+2SCHO-16ADF	0.87	-
	DE=949+0.789GE-43Ash-41NDF	0.91	66
	DE=4151-122Ash+23CP+38EE-64CF	0.89	83
本试验推荐(MJ/kg)	DE=16.407-85.982ADF+0.328GE	0.88	0.264
	DE=30.319-89.999ADF+9.659SCHO-184.115Ash	0.95	0.189
	DE=23.882-84.418ADF-7.877NFE+19.71CF	0.95	0.281

表 9 新建公式和 NRC(1998)推荐公式预测本实验大豆蛋白类饲料 DE(MJ/kg)

项目	试验测得 DE 值	DE 预测值			
		NRC1998(2)	NRC1998(3)	新建公式 1(12)	新建公式 2(13)
干法膨化全脂大豆	15.53	4.00	17.39	15.86	16.30
豆粕 1	15.37	3.99	17.37	15.39	15.38
湿法膨化全脂大豆	18.83	4.01	17.40	18.10	17.87
豆饼 2	16.29	4.00	17.39	16.88	15.57
豆粕	14.16	3.98	17.38	13.90	14.69
大豆浓缩蛋白	17.16	4.00	17.41	17.04	17.22
豆粕 3	17.92	4.00	17.39	17.90	17.65
大豆分离蛋白	19.70	4.02	17.43	19.87	20.24

注: NRC1998 推荐公式 2, DE(kcal/kg)=949+0.789GE-43Ash-41NDF;

NRC1998 推荐公式 3, DE(kcal/kg)=4151-122Ash+23CP+38EE-64CF;

新建公式 1 为方程(12) DE(MJ/kg)=30.319-89.999ADF+9.659SCHO-184.115Ash;

新建公式 2 为方程(13) DE(MJ/kg)=23.882-84.418ADF-7.877NFE+19.71CF。

较 NRC(1998)所推荐的精确度略高。另外通过对本试验饲料的 DE 预测时(见表 9), NRC(1998)推荐公式所得 DE 预测值与实测值误差较大, 新建公式 DE 预测值与实测值较吻合。NRC(1998)推荐使用范围是所有配合饲料及原料, 因此, 预测大豆蛋白类饲料时针对性不强, 准确性也不一致; 比不上来源于试验饲料资料的新建预测公式。这说明, 饲料分类建立预测公式, 尽管适用范围相对较窄, 但更专一, 准确性也更高。

4 结论

4.1 在建立大豆蛋白类饲料猪消化能值(DE)的预测方程时, ADF 为最佳预测因子。

4.2 综合考虑各种因素(见本文 3.2.1), 本试验推荐使用的方程为:

$$\textcircled{1} \text{ DE (MJ/kg, DM 基础)} = 16.407 - 85.982\text{ADF} + 0.328\text{GE} \quad (R^2=0.88, \text{RSD}=0.264\%, P<0.01)$$

$$\textcircled{2} \text{ DE (MJ/kg, DM 基础)} = 30.319 - 89.999\text{ADF} + 9.659\text{SCHO} - 184.115\text{Ash} \quad (R^2=0.95, \text{RSD}=0.189\%, P<0.01)$$

$$\textcircled{3} \text{ DE (MJ/kg, DM 基础)} = 23.882 - 84.418\text{ADF} - 7.877\text{NFE} + 19.71\text{CF} \quad (R^2=0.95, \text{RSD}=0.281\%, P<0.01)$$

上述推荐方程经检验适用于与本试验类似的饲料。

(参考文献 25 篇, 刊略, 需者可函索)

(编辑: 刘敏跃, lm-y@tom.com)

征订启事

欢迎订阅 2007 年《饲料工业》

饲料添加剂:重点报道抗生素替代物的研发和应用, 倡导安全、绿色饲养;

企划纵横:重点报道企业文化的升级, 解析产业链的打造; 相关产业的运作模式、发展趋势以及企业风险规避;

酶制剂:关注生物技术在酶制剂实际生产中的应用, 使酶制剂的生产更合理、更安全;

水产养殖:拓宽报道深度, 加强水产养殖环境的控制及名特优水产品的研发;

工作研究:打造行业管理、政策法规、信息技术的交流平台。

本刊为半月刊, 大 16 开本, 每期正文 64 页, 公开发行, 各地邮局均可订阅, 也可直接向本刊发行部订购。国际标准连续出版物号 ISSN 1001-991X, 国内统一连续出版物号 CN21-1169/S, 邮发代号: 8-163。每期定价 6 元, 全年 24 期共 144 元。

地址: 沈阳市金沙江街 16 号 6 门 邮编: 110036 发行部电话: 024-86391237

泔水垃圾发酵生产微生态蛋白饲料工艺条件的研究

陈贵才 戴德慧 黄光荣 王丽 胡伟莲

摘要 对产朊假丝酵母 *Candida tropicalis* C01、啤酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae* S01、植物乳杆菌 *Lactobacillus plantarum* L01 混合菌种发酵泔水生产微生态蛋白饲料的条件及干制工艺进行了研究。其最佳工艺条件:原料配比选择是泔水:麸皮:木薯酒糟=6:2:2;菌种配比(产朊假丝酵母:啤酒酵母:植物乳杆菌)为6:3:1;添加0.5%尿素、2%的硫酸铵,30℃发酵24h,发酵后基质在70℃通风干制280min得到成品。成品含水量约10%,粗蛋白含量为20.01%,真蛋白含量为13.85%,植物乳杆菌及酵母菌活菌含量分别在 3.1×10^9 个/g和 8.5×10^8 个/g之上,产品色泽黄褐,轻微酸味,有明显曲香,无泔水异味。

关键词 泔水;微生态;蛋白饲料;发酵条件

中图分类号 S816.4

Optimization of condition for micro-ecology protein feed from waste food

Chen Guicai, Dai Dehui, Huang Guangrong, Wang Li, Hu Weilian

Abstract The fermentation conditions and dry technique of producing Micro-ecology protein feed from waste food were studied. Results showed that the optimal fermentation condition were: 60% waste food, 20% wheat bran, 20% cassava distilled grains as fermentation medium; the proportion of the *Candida tropicalis* C01: *Saccharomyces cerevisiae* S01: *Lactobacillus plantarum* L01 6:3:1, with addition of 2% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ and 0.5% urea, and the inoculum size was 3%. Under the optimal conditions, final products were obtained after 24h-fermentation at 30℃ and dried for 280 min at 70℃. The crude protein (CP) and true protein (TP) of final product were 20.01% and 13.85% respectively, alive yeasts and *Lactobacillus plantarum* were over 3.1×10^9 and 8.5×10^8 /g.

Key words waste food; micro-ecology; protein feed; fermentation conditions

随着社会经济的发展和人民生活水平的不断提高,生活垃圾尤其泔水垃圾的排放量越来越大,由于泔水垃圾属于特殊垃圾,含有大量的营养物质,所以很容易滋生各种病菌,成为多种人畜共患烈性传染病的媒介,污染环境后会造成严重的社会问题^[1-3]。但是如果处理得当,泔水垃圾将成为一种极有利用价值的资源^[4]。本试验利用多菌种混合发酵,研究了原料组成、菌种配比、接种量对发酵微生态蛋白饲料品质的影响。通过对产品感观性状的评定,主要营养成分、益生菌数量的测定,初步确定了混合菌种发酵泔水垃圾生产微生物菌体蛋白饲料的条件及干制工艺,为餐厨垃圾的资

源化利用提供理论和实践基础。

1 试验材料

1.1 菌种

产朊假丝酵母 *Candida tropicalis* C01、啤酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae* S01、植物乳杆菌 *Lactobacillus plantarum* L01 均为本实验室保藏。

1.2 主要培养基

1.2.1 斜面培养基

1.2.1.1 麦芽汁培养基(培养产朊假丝酵母、啤酒酵母用)
麦芽汁 6-7 B₆,琼脂 2%。

1.2.1.2 MRS 培养基(培养植物乳杆菌用)

蛋白胨 10.0 g、牛肉膏 10.0 g、酵母膏 5.0 g、柠檬酸氢二铵 2.0 g、葡萄糖 20.0 g、吐温-80 1.0 ml、乙酸钠 5.0 g、磷酸氢二钾 2.0 g、硫酸镁 0.58 g、硫酸锰 0.25 g、琼脂 18.0 g、蒸馏水 1 000 ml, pH 值 6.2~6.6。

1.2.2 液体种子培养基

1.2.2.1 YEPD 种子培养基(产朊假丝酵母、啤酒酵母扩大培养用)

陈贵才,杭州汇能生物技术有限公司,博士,教授,310013,杭州市西溪路525号浙大科技园。

戴德慧、黄光荣、胡伟莲(通讯作者),浙江科技学院生化学院。

王丽,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-02-12

★ 基金项目:浙江省科技计划资助项目(2004C32034)

酵母粉 10 g、蛋白胨 20 g、葡萄糖 20 g、蒸馏水 1 000 ml, pH 值 6.0。

1.2.2.2 MRS 种子培养基(植物乳杆菌扩大培养用)

蛋白胨 10.0 g、牛肉膏 10.0 g、酵母膏 5.0 g、柠檬酸氢二铵 2.0 g、葡萄糖 20.0 g、吐温-80 1.0 ml、乙酸钠 5.0 g、磷酸氢二钾 2.0 g、硫酸镁 0.58 g、硫酸锰 0.25 g、蒸馏水 1 000 ml, pH 值 6.2~6.6。

1.2.3 平板计数培养基

麦芽汁培养基(成分同 1.2.1.1)、MRS 培养基(成分同 1.2.1.2)。

1.2.4 发酵培养基

泔水挑除杂物后打浆,加入一定比例的辅料作为配料。

2 测定方法

2.1 真蛋白的测定及真蛋白增加率计算方法

2.1.1 非蛋白氮的测定

准确称取样品 1 g,置于 750 ml 凯氏烧瓶中,加水约 50 ml,再加入几粒玻璃珠和 1~2 滴硅酮消泡剂。将混合物徐徐煮沸,消化 0.5 h,趁消化液尚热时加入 2 ml 硫酸铝钾(100 g/l),摇匀后过滤,用 50 ml 冷水洗涤烧瓶及沉淀,将滤液转入另一清洁的凯氏烧瓶中,用凯氏定氮法测定其中的非蛋白氮^[9]。

2.1.2 真蛋白及真蛋白增加率的计算

真蛋白=粗蛋白-非蛋白氮

真蛋白增加率=[(发酵后真蛋白含量-发酵前真蛋白含量)/发酵前真蛋白含量]×100%

2.2 理化性质测定方法

水分的测定参照 GB/T6436—1992;粗脂肪的测定参照 GB/T6433—2006;总糖的测定方法参照 GB/T3865—1983;粗灰分的测定参照 GB/T6438—1992;粗蛋白测定参照 GB/T6432—1994;总酸测定参照 GB/T12456—1990。

2.3 微生物指标测定方法

取样品 1 g 置于 9 ml 无菌水中,充分混匀后,取 1 ml 进行梯度稀释,选取合适的稀释液分别涂布麦芽汁培养基平板与 MRS 培养基平板,麦芽汁培养基平板置于 28 ℃ 培养, MRS 培养基平板置于 37 ℃ 培养 30 h,分别计数平板中的菌落数^[9]。

3 试验设计及结果分析

3.1 不同的原料配比对泔水垃圾发酵的影响

以泔水为基本原料,添加一定数量、种类的辅料(麸皮和木薯酒糟)。设计 6 个不同配方,即泔水、麸皮和木薯酒糟以不同比例混合作发酵培养基(见表 1,发酵前各培养基中粗蛋白含量在 14.7%~17.1%之间)。接种 3% 的混合菌种(产朊假丝酵母:啤酒酵母:植物乳杆菌=5:4:1)后 30 ℃ 下发酵 24 h,发酵后 50 ℃ 鼓风干燥,控制水分在 10% 左右。对干制后成品进行感官评定及蛋白质含量和非蛋白氮含量测定(见表 2)。

表 1 发酵培养基的原料组成及配比

项目	A 组	B 组	C 组	D 组	E 组	F 组
泔水	7	7	6	6	5	5
麸皮	1	2	2	3	3	4
木薯酒糟	2	1	2	1	2	1

表 2 发酵前后各组粗蛋白和真蛋白含量及发酵后真蛋白增加率

项目	发酵前(%)		发酵后(%)		真蛋白增加率(%)	发酵后产品的感官性状
	粗蛋白	真蛋白	粗蛋白	真蛋白		
A 组	15.72	8.08	15.83	9.77	20.92	色泽深褐,轻微酸味,无明显曲香,略有泔水异味
B 组	17.08	8.75	17.12	10.60	21.14	色泽黄褐,轻微酸味,无明显曲香,略有泔水异味
C 组	15.19	7.71	15.20	9.51	23.35	色泽黄褐,轻微酸味,有明显曲香,无泔水异味
D 组	16.63	8.46	16.59	10.52	24.35	色泽黄褐,轻微酸味,有明显曲香,无泔水异味
E 组	14.73	7.41	14.62	8.94	20.65	色泽黄褐,轻微酸味,有明显曲香,无泔水异味
F 组	16.10	8.09	16.02	9.77	20.77	色泽棕黄,轻微酸味,有明显曲香,无泔水异味

因发酵培养基原料配比不同,发酵前培养基中粗蛋白含量、非蛋白氮含量以及真蛋白含量有较大的差异,故不能单纯地采用发酵后的粗蛋白含量、非蛋白氮含量以及真蛋白含量作为结果来分析。而真蛋白增加率则能够较好地反映发酵前后真蛋白的变化情况,故本研究中均采用真蛋白含量及真蛋白增加率作为指标来分析不同的原料配比对泔水垃圾发酵的影响。

由表 2 可见,C、D 组的真蛋白增加率略高于其它组,其它各组没有显著差异。从发酵后微生物蛋白饲

料的感官性状分析,发酵后 C、D、E、F 各组感官性状良好,有明显的酸香,无明显泔水异味。但是由于 C、D 组的发酵培养基中的泔水用量为 60%,而 E、F 组中的泔水用量为 50%,从泔水的利用率考虑,选择 C、D 组发酵培养基较好。

对以上结果综合分析后认为,C、D 组发酵效果好,但由于 D 组添加了 30% 的麸皮和 10% 的木薯酒糟,而 C 组发酵培养基中的麸皮和木薯酒糟用量均为 20%,由于麸皮价格远高于木薯酒糟,从节约成本考

考虑,采用C组作为最佳发酵培养基。

3.2 不同接种量对泔水垃圾发酵的影响

根据3.1的试验结果,确定发酵培养基采用泔水:麸皮:木薯酒糟=6:2:2,研究不同接种量(1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%)对泔水发酵的影响。发酵24h后,50℃鼓风干燥,控制水分在10%左右。对于制后成品进行感官评定及蛋白质含量和非蛋白氮含量测定。发酵后成品的真蛋白含量及真蛋白增加率见图1。

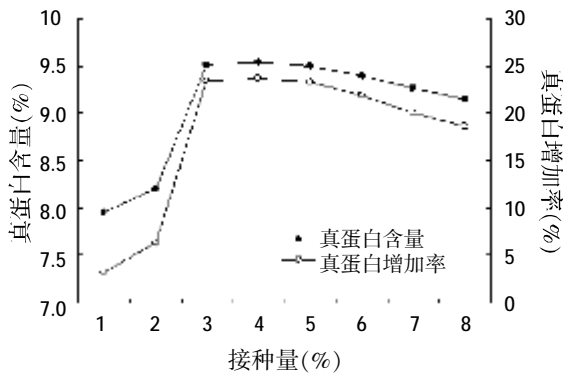


图1 接种量对发酵后真蛋白含量及真蛋白增加率的影响

由图1可知,不同的接种量对发酵基质中真蛋白的提高幅度有一定影响,在3%的接种量范围内,随着接种量的增加,发酵后真蛋白增加率大幅度上升,但超过3%的接种量后真蛋白的增幅无显著差异,且有降低趋势。从发酵后微生态蛋白饲料的感观性状分析,接种量太少(接种量3%以下),发酵基质中菌体细胞总体代谢能力较弱,产酸、产香能力低,泔水异味明显;但接种量太大(5%以上),菌体过度繁殖,尤其植物乳杆菌的大量繁殖,致使乳酸及双乙酰等物质过量积累,使终产品有明显酸馊味,影响产品的感官品质。对以上结果综合分析后认为,在接种量3%~5%的范围内,发酵后真蛋白增加率及产品的感官品质均优于其它接种量。但在发酵结果相近的条件下,减少接种量有利于简化工艺及降低成本,因此选择最适接种量为3%。

3.3 不同菌种配比对泔水垃圾的影响

根据以上两个试验结果,发酵培养基采用泔水:麸皮:木薯酒糟=6:2:2,接种量3%,研究不同菌种配比对产品真蛋白含量影响,设计了6个不同菌种配比方案(见表3)。发酵24h后,50℃鼓风干燥,控制水分在10%左右。对于制后成品进行感官评定及蛋白质含量和非蛋白氮含量测定。发酵24h后成品的真蛋白含量及真蛋白增加率见图2。

表3 菌种配比设计方案

项目	A组	B组	C组	D组	E组	F组
产朊假丝酵母 C01	3	4	5	6	7	8
啤酒酵母 S01	6	5	4	3	2	1
植物乳杆菌 L01	1	1	1	1	1	1

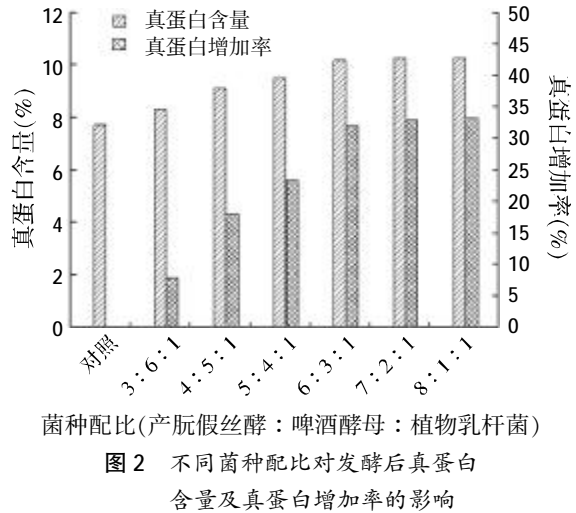


图2 不同菌种比对发酵后真蛋白含量及真蛋白增加率的影响

目前微生物发酵生产蛋白饲料的发酵方式已从单一菌种的发酵趋向于复合菌株的协同发酵,并注重不同微生物之间的协同性、互补性,总体上发挥出正组合效应^[7-10]。本研究采用的产朊假丝酵母 C01(*Candida tropicalis* C01)具有较高的单细胞蛋白转化能力,啤酒酵母 S01(*Saccharomyces cerevisiae* S01)具有良好的产香能力,而植物乳杆菌 L01(*Lactobacillus plantarum* L01)是常用的益生菌之一,能产少量的乳酸,可增加产品的适口性及改善牲畜的胃肠道功能。因此,选择适当的菌种配比,有可能得到品质较优的单细胞蛋白微生态饲料。

从图2可以看出,在添加一定量(占总菌种的10%)的植物乳杆菌 L01 的基础上改变产朊假丝酵母 C01 与啤酒酵母 S01 的配比,能明显改变产品的真蛋白含量及感官品质,随着产朊假丝酵母 C01 配比增加,发酵后真蛋白的含量及增加率也随之增加,但因啤酒酵母 S01 的配比减少,发酵后产品会带有明显的泔水气味,感官品质下降。为了提高发酵后产品的真蛋白含量及感官品质,综合以上分析,菌种配比选择产朊假丝酵母 C01:啤酒酵母 S01:植物乳杆菌 L01 的配比为 6:3:1。

3.4 添加非蛋白氮源对泔水垃圾发酵的影响

在上述试验结果基础上,研究在原料中添加不同比例的非蛋白氮源(尿素、硫酸铵)对发酵产生的影响。发酵培养基所添加的尿素、硫酸铵的量见表4。发

酵后干燥,控制水分在 10%左右。对干制后成品进行感官评定及蛋白质含量和非蛋白氮含量测定。发酵 24 h 后成品的真蛋白含量及真蛋白增加率见图 3。

表 4 尿素及硫酸铵添加量

项目	1组	2组	3组	4组	5组	6组	7组
硫酸铵(%)	0	1	2	3	1	2	3
尿素(%)	0	0.5	0.5	0.5	1	1	1

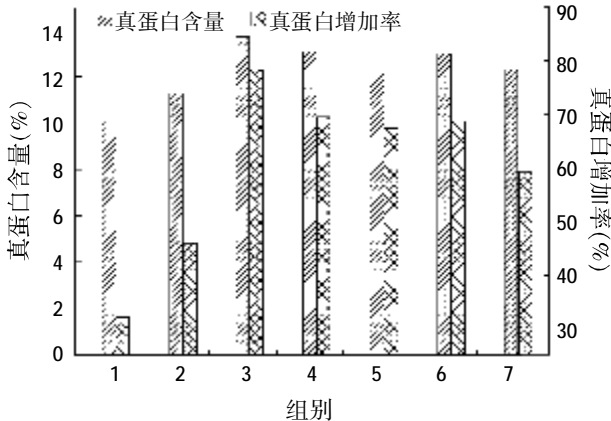


图 3 添加不同比例非蛋白氮源发酵后对真蛋白含量及真蛋白增加率的影响

氮是蛋白质合成的基本元素,充足的氮源是微生物合成菌体蛋白的重要前提,发酵基质(泔水:麸皮:木薯酒糟比例为 6:2:2)中的非蛋白氮源仅含有 7.5%左右,即使非蛋白氮转化率为 100%,发酵后

基质中的总蛋白也仅为 15.2%,因此,要提高成品中的蛋白质含量,就必须补充氮源。

由图 3 可知,增加一定量的非蛋白氮源,能明显增加产品中的真蛋白含量,提高真蛋白增加率,这主要因为发酵所采用的菌种能利用尿素及硫酸铵作用为氮的前体合成菌体蛋白,但随着添加的非蛋白氮源增加,尤其尿素含量过高时,真蛋白增加率会明显降低,成品感官品质下降,曲香减少。因此,非蛋白氮源的添加选择为硫酸铵 2%、尿素 0.5%,添加的非蛋白氮总量为 4.02%,发酵后真蛋白为 13.75%,真蛋白增加率为 78.34%,与未加非蛋白氮源对照组(1组)相比,真蛋白增加了 2.89%。

3.5 干制温度对微生态蛋白饲料品质的影响

综合上述试验得出的最佳发酵条件,即原料配比为泔水:麸皮:木薯酒糟=6:2:2,产朊假丝酵母 C01:啤酒酵母 S01:植物乳杆菌 L01 的配比为 6:3:1,添加 0.5%尿素、2%的硫酸铵,30℃发酵 24 h 后,在制备成品过程中,以 50、60、70、80、90、100℃分别烘干,测定在不同干制温度下,含水量 10%左右的样品中的酵母菌与乳酸菌的活菌数及干制时间,并进行感官评定。发酵后,在干制过程中,采用不同的温度烘干,记录达到干制终点(约 10%的水分含量)所需时间和成品的感官,并测定终产品中乳酸菌及酵母菌的菌落总数,结果见表 5。

表 5 不同干制温度下的终产品的菌落数

温度(℃)	50	60	70	80	90	100
乳酸菌(个/g)	$\geq 2.7 \times 10^{11}$	$\geq 3.0 \times 10^{10}$	$\geq 3.1 \times 10^9$	$\geq 4.1 \times 10^8$	$\geq 5.5 \times 10^7$	$\geq 2.3 \times 10^5$
酵母菌(个/g)	$\geq 7.5 \times 10^{11}$	$\geq 6.3 \times 10^9$	$\geq 8.5 \times 10^8$	$\geq 5.9 \times 10^7$	$\geq 8.1 \times 10^6$	$\geq 5.0 \times 10^3$
干制时间(min)	480	340	280	240	210	190
成品感官	色泽黄褐,轻微酸味,有明显曲香,无泔水异味	色泽黄褐,轻微酸味,有明显曲香,无泔水异味	色泽黄褐,轻微酸味,有明显曲香,无泔水异味	色泽浅褐,轻微酸味,有曲香,无泔水异味	色泽浅褐,轻微酸味,无明显曲香,无泔水异味	色泽深褐,轻微酸味,无明显曲香,无泔水异味

干制温度是工业化发酵泔水生产微生态蛋白饲料工艺中重要参数之一,随着干制温度升高,达到干制终点所需要的时间缩短,干制效率提高,设备周转快。但干制温度高,成品品质损害大,成品中的乳酸菌及酵母的活菌数会因温度升高而减少,且基质中非酶促褐变(主要是美拉德反应)也随着温度升高而加剧,成品的颜色也不断加深。

适宜的干制温度应在保持产品品质基础上,尽可能提高干制效率。干制温度在 70℃时,成品中能保持较高的活菌数目,乳酸菌及酵母菌含量分别在 3.1×10^9 个/g 和 8.5×10^8 个/g 以上,产品感官品质良好,同时又能保持较高的干制效率,干制时间 280 min。因

此,干制温度选择为 70℃,所得到的产品兼具微生态制剂与蛋白饲料双重特性。

3.6 成品理化性质指标

对成品的主要理化性质进行分析,其结果见表 6。

表 6 成品理化性质指标

检测项目	结果(%)
粗蛋白	20.01
粗脂肪	18.59
粗灰分	7.85
还原糖	5.57
总酸	1.84
水分	9.22
真蛋白	13.85

以泔水为基本原料,通过多菌种混合发酵制得的微生态蛋白饲料,其粗蛋白含量为 20.01%,真蛋白为 13.85%,真蛋白占粗蛋白的 69.2%,其中 50%以上真蛋白为发酵转化的菌体蛋白,菌体蛋白含有动物机体所必需的各种氨基酸,特别是植物饲料中缺乏的赖氨酸、蛋氨酸和色氨酸含量较高,生物学价值大大优于植物蛋白饲料,能促进机体对养分的吸收利用,提高畜禽生产率。

4 小结

利用微生物的大量繁殖和代谢来生产和调制的微生物蛋白饲料,具有蛋白消化吸收率高、适口性好等优点,因此利用微生物发酵泔水是开辟蛋白质饲料资源的一条重要途径。本研究通过对发酵后真蛋白增加率与感官评定分析初步确定了以泔水为基本原料生产微生态蛋白饲料的固体发酵条件及干制温度。发酵的适宜工艺条件:原料配比选择为泔水:麸皮:木薯酒糟=6:2:2,菌种配比为 6:3:1,添加 0.5% 尿素、2% 的硫酸铵,发酵后基质在 70℃ 通风干制 280 min 得到成品。成品含水量约 10%,粗蛋白含量为 20.01%,真蛋白含量为 13.85%,乳酸菌及酵母菌活菌含量分别在 3.1×10^9 个/g 和 8.5×10^8 个/g 之上,产品色泽黄褐,轻微酸味,有明显曲香,无泔水异味。

参考文献

- 1 Han Qi, Cao Zike, Luo Jianzhon. Experimentation on centrifugal de-watering of municipal catering swills[J]. Environmental Engineering, 2006,24 (3):68-70
- 2 Shu-Hsien Tsai, Ching-Piao Liu, Shang-Shyng Yang. Microbial conversion of food wastes for biofertilizer production with thermophilic lipolytic microbes [J]. Renewable Energy, 2007,32(6):904-915
- 3 Paolo Battistonia, Francesco Fatoneb, Daniele Passacantandoa. Application of food waste disposers and alternate cycles process in small-decentralized towns: A case study [J]. Water Research, 2007,41 (4):893-903
- 4 Mustafa Canakci. The potential of restaurant waste lipids as biodiesel feedstocks[J]. Bioresource Technology, 2007,98(1):183-190
- 5 侯曼玲. 食品分析[M]. 北京:化学工业出版社,2004.129-131
- 6 沈萍. 微生物学实验[M]. 北京:高教出版社,1999.92-95
- 7 Zhang Hong-lian, Guo Ai-lian, HE Jun. A study on utilizing stage process and the multi-strains solid state fermentation for corn straw [J]. Journal of Northwest University, 2004,34(6):691-694
- 8 Wu Suhuan, Song Xingfu, Liu Gousheng. Solid-state Fermentation of Waste Food to Produce Feeding-protein by Mixed Fungal Strains [J]. Food and Fermentation Industries, 2004, 30(5):63-68
- 9 Zhao Fengmin, Li Shujun, Fang Xianfa. Study on Solid Substrate Fermentation Technology in Producing Protein Feeds with Potato Residues [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Machinery, 2006,37(8):49-51
- 10 Chen Xi, Zhao Jian-guo. Production of protein feed from a mixture of lees fermented by multi-strains [J]. China Brewing, 2006(5): 30-33 (编辑:刘敏跃,lm-y@tom.com)

“小肽营养,全球共享”有奖征文

肽作为动物消化道蛋白质的主要酶解产物,是迅速吸收的氨基酸供体,并且能够调节机体的生命活动。活性肽在调节动物消化系统、神经系统、内分泌、免疫机能的活性作用等方面有着重要的作用。近年活性短肽在动物蛋白质营养中的作用越来越受到关注,对生物活性肽功能的认识及其生产日益广泛。开发利用这些生物分子作为饲料添加剂,调控动物的营养生理代谢机制,提高畜禽生产性能和效益,在新世纪将成为新的研究热点,具有广阔的前景。

2007 年美国华达(VBC)广州技术中心与饲料工业杂志社共同发起“小肽营养,全球共享”有奖征文活动。旨在报道小肽类产品的研究和应用状况,推动小肽领域向更高层次发展。本栏目将重点介绍国内外小肽领域的最新研究进展(包括小肽最新定量与定性检测方法的研究,小肽类产品的最新实际应用试验及新的生产制备工艺等相关知识)。并结合饲养试验报告,探讨动物在最佳生产性能状况下小肽和游离氨基酸的比例、小肽优化饲料配方设计技术,进一步探讨小肽吸收代谢及其作用形式,研究小肽对动物生长和免疫调节的作用机理,为蛋白质营养研究开辟一条新途径,以充分利用蛋白质资源提高生产效益和维护生态文明。

“小肽营养,全球共享”有奖征文,于 2007 年 1~12 月共刊发 12 期,为鼓励大家积极参与,回报作者的辛勤付出,凡投稿本栏目者均可获得华达生化科技饲料(湖北)有限公司设立的纪念奖一份;通过三审后刊登的稿件除《饲料工业》杂志社给予相应稿酬外均可获得华达公司提供的鼓励奖(500 元人民币/篇),同时刊登的稿件可参与年度优秀稿件的评选活动。主办方本着公平、公正的原则评奖,评委由《饲料工业》杂志社、美国 VBC 小肽专家委员会专家组担任,评选结果将在《饲料工业》第 24 期公布,获奖者将获取奖金并颁发荣誉证书。奖项金额如下:

**一等奖(1名)奖金 5000 元;二等奖(3名)奖金各 1000 元;
鼓励奖(12名)奖金各 500 元;纪念奖(若干名)纪念品一份。**

热诚欢迎业内仁人志士踊跃赐稿! 来稿请发至 tg@feedindustry.com.cn(请注明有奖征文)

联系电话:(024)86391926

五指山猪的泌乳性能及泌乳行为

艾琴 杨红军 顾宪红

摘要 为了研究五指山小型猪的泌乳性能及泌乳行为, 试验测定了8头初产五指山母猪初乳(≤ 3 d)常规成分含量、泌乳行为及第3、13、24和35 d的泌乳量。结果表明:①五指山猪初乳(≤ 3 d)中的脂肪、蛋白、乳糖和总固形物的含量分别为 $(6.64 \pm 0.56)\%$ 、 $(15.25 \pm 1.27)\%$ 、 $(1.99 \pm 0.15)\%$ 、 $(27.46 \pm 1.25)\%$ 。②随产后日龄的增加, 母猪泌乳次数和泌乳持续时间逐渐减少, 表现为泌乳次数第35日龄比第3和13日龄均少5.14次/d($P < 0.05$), 且下午(12:00~20:00)比晚上(20:00~04:00)多1.46次($P < 0.05$); 泌乳持续时间第24日龄显著短于第3日龄($P < 0.05$); 日龄与日泌乳时段对泌乳次数和泌乳持续时间无显著交互作用($P > 0.05$)。③母猪分娩后0~35 d的全期泌乳量和日平均泌乳量分别为31 528.59 g和900.82 g, 且第35日龄泌乳量显著高于第3和第24日龄泌乳量($P < 0.05$); 日龄与日泌乳时段对泌乳量无显著交互作用($P > 0.05$); 35 d哺乳期内每窝仔猪每克初生体重日耗乳量0.94 g, 若以普通肉用型猪每窝每克初生体重日耗乳量0.50~0.99 g为参考值, 则说明五指山母猪泌乳量充足。本试验结果表明, 五指山母猪分泌的初乳干物质含量高、乳糖含量低, 分娩后(35 d泌乳期内)泌乳量能充分满足仔猪的维持和生长需要。

关键词 五指山猪; 初乳; 泌乳行为; 泌乳量

中图分类号 S814.7

The colostrum composition suckling behaviour and milk yield of Wuzhi Shan sows

Ai Qin, Yang Hongjun, Gu Xianhong

Abstract This study was conducted to investigate the colostrum composition, suckling behaviour and milk yield of Chinese Wuzhi Shan (WZS) sow. Eight WZS primiparous sows were used to determine colostrum composition (≤ 3 d), suckling behaviour and milk yield on day 3, 13, 24 and 35 after parturition. The result indicated as follow: ①fat, protein, lactose, and total solids content were $(6.64 \pm 0.56)\%$, $(15.25 \pm 1.27)\%$, $(1.99 \pm 0.15)\%$ and $(27.46 \pm 1.25)\%$ respectively. ②With the increase in post-natal days the daily suckling times and suckling duration reduced gradually. There was 5.14 fewer suckling times on the day of 35 than those on the day of 3 and 13 ($P < 0.05$), and there was 1.46 fewer at night than at noon, (20:00~04:00vs.12:00~20:00, $P < 0.05$); Suckling duration on 24 day was significantly lower than that on the 3 day. And there were no interaction between day and daily suckling period to suckling times and suckling duration($P > 0.05$). ③The whole milk yield from day 0 to day 35 after parturition and the average milk yield per day were 31 528.59 g and 900.82 g. And the milk yield on the day of 35 was significantly higher than those on the day of 3 and 24($P < 0.05$). There are no interaction between days and daily suckling period to milk yield ($P > 0.05$); During the lactation of 35 days, milk consumption of per gram firstborn piglet weight was 0.94 g, which is near to the milk consumption of 0.50~0.99 g for commercial piglet, indicated that the milk yield of WZS sows was abundance for piglets compared to that of the commercial sows lactated. It was concluded that the colostrums of WZS sows has higher total solids content and lower lactose content and it can afford abundance nutrition to piglets.

Key words WZS pig; colostrums; suckling behaviour; milk yield

艾琴, 中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 100094, 北京市海淀区圆明园西路2号。

杨红军、顾宪红(通讯作者), 单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期: 2007-12-25

母乳是初生幼畜所需营养及能量的主要来源, 是影响仔猪从出生到断奶阶段的成活率以及断奶时体重和断奶后生长情况的重要因素, 因此研究母乳成分及产量具有重要意义。

猪乳中常规成分含量的研究开始于1865年。文

章总结了 1865~1992 年间报道的猪乳常规成分含量,综合资料可知,初乳到常乳其常规成分含量变化的一般趋势为干物质和乳蛋白含量逐渐降低,而乳脂和乳糖含量则逐渐升高。泌乳量的研究主要集中在影响泌乳量的因素,如带仔数、仔猪体重、仔猪吮乳间隔以及日常管理和营养水平等。而本试验主要根据五指山猪泌乳期的泌乳量计算仔猪的日平均采食量,从而决定人工饲喂条件下的供给量,并通过泌乳行为的观察推断母猪的泌乳量是否充足,为我国小型猪的人工饲养提供帮助。

1 材料与方法

1.1 试验动物与饲养条件

选取 8 头系谱记录清楚,分娩时间相近,体形较好,体质健康,有效乳头 10~12 个的初产五指山母猪为试验动物。普通圈中常规饲养,分娩时转入笼养。

1.2 试验设计与样品采集

本试验采用双因子多水平设计,因子一为日龄,设 4 个水平(3、13、24、35 d);因子二为日泌乳时段,设 3 个水平(20:00~04:00、04:00~12:00、12:00~20:00)。

于分娩后 0~3 d 用手挤的方法分别从前、中、后三个部位的乳头采集乳样,置于聚丙烯塑料瓶中,每头猪每次采 20~30 ml。3 个部位采集到的乳样混合均匀、分装,于 4 ℃ 携运,并尽快置于 -20 ℃ 冰箱中保存待测。全部样品采集完毕后,乳样室温解冻,用 Heidolph MR3001 型磁力搅拌器混合均匀,用 Foss Milk Scan Minor78110 型乳成分自动分析仪测定脂肪(Fat)、蛋白(Protein)、乳糖(Lactose)和总固形物(TS)含量。

从母猪分娩后 0~35 d 中选 4 个测定日(第 3、13、24、35 d),并将每个测定日一昼夜分为 A(20:00~04:00)、B(04:00~12:00)、C(12:00~20:00)3 个泌乳时段,采用 Weight-Suckle-Weight 法于 22:00、6:00、14:00 时分 3 次进行哺乳前、后仔猪全窝重的测定,以此来计算单次泌乳量。用多通道监控设备观察并记录母猪泌乳行为,其中,泌乳间隔定义为本次泌乳开始到下次泌乳开始的时间间隔;泌乳持续时间定义为从仔猪开始拱乳头到脱离乳头的的时间间隔。

1.3 数据统计分析及计算

用 Excel 进行数据的前处理,然后用 SPSS11.5 软件对乳成分数据进行基本统计量分析;用 GLM 对泌乳行为和泌乳量进行双因子方差分析;差异显著时采用 Duncan's 多重比较,以 $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 乳成分分析(见表 1)

表 1 五指山母猪分娩后 0~3 d 的混合乳成分(%)

猪号	脂肪	蛋白	乳糖	总固形物
362	6.93±0.01	13.41±0.01	2.41±0.00	26.03±0.01
316	9.40±0.01	11.99±0.00	2.68±0.01	27.00±0.01
314	7.77±0.01	16.05±0.01	1.95±0.01	29.52±0.02
346	5.90±0.01	8.98±0.01	1.93±0.01	19.33±0.01
260	6.08±0.01	15.58±0.02	2.27±0.01	27.61±0.03
330	5.79±0.05	19.03±0.12	1.59±0.01	30.61±0.19
398	3.84±0.02	20.33±0.08	1.60±0.01	30.05±0.12
382	7.45±0.02	16.63±0.04	1.47±0.01	29.53±0.07
均值	6.64±0.56	15.25±1.27	1.99±0.15	27.46±1.25

注:数值表示为平均值(Mean)±标准误(SEM)。

五指山母猪初乳(≤ 3 d)中脂肪、蛋白、乳糖和总固形物的含量分别为(6.64±0.56)%、(15.25±1.27)%、(1.99±0.15)%和(27.46±1.25)%。

2.2 泌乳行为

日龄和日泌乳时段对泌乳次数、泌乳间隔和泌乳持续时间的影响见表 2。

由表 2 可知,随着日龄的增长,泌乳次数逐渐减少、泌乳间隔逐渐增加、泌乳持续时间逐渐缩短。多重比较显示,泌乳次数第 35 日龄比第 3 和 13 日龄均低 5.14 次/d($P < 0.05$);泌乳间隔时间第 24 和 35 日龄比第 3 和 13 日龄分别延长 344.03、376.66 s 和 422.06、454.69 s ($P < 0.05$);而泌乳持续时间第 24 日龄显著低于第 3 日龄($P < 0.05$),但与第 13 和 35 日龄无显著差异。各泌乳时段比较,泌乳持续时间不受影响,而泌乳次数下午(12:00~20:00)比夜间(20:00~04:00)多 1.46 次($P < 0.05$),泌乳间隔时间下午(12:00~20:00)比夜间(20:00~04:00)缩短 372.64 s($P < 0.05$)。日龄与日泌乳时段对泌乳次数、泌乳间隔、泌乳持续时间均无显著交互作用($P > 0.05$)。

2.3 泌乳量

日龄和日泌乳时段对单次泌乳量、日泌乳时段内泌乳量的影响见表 3。

由表 3 可知,单次泌乳量和日泌乳时段内泌乳量在第 3、13、24 日龄时无显著变化($P > 0.05$),而到第 35 日龄时分别升高到(52.69±9.33) g 和(432.85±82.51) g($P < 0.05$)。日泌乳时段对泌乳量无显著影响($P > 0.05$)。日龄与日泌乳时段对单次泌乳量和日泌乳时段内泌乳量均无显著交互作用($P > 0.05$)。由日泌乳时段计算得出第 3、13、24、35 日龄的全天泌乳量分别为(593.84±196.94) g、(854.29±175.51) g、(614.57±170.05) g、(1 366.09±355.01) g,多重比较显示:第 3、13、24 日龄之间无显著差异($P >$

表2 五指山母猪4个测定日的泌乳行为(n=7)

日龄(d)	日泌乳时段	泌乳次数	泌乳间隔(s)	泌乳持续时间(s)
3	A	9.43±0.92	3 057.47±205.47	413.22±66.64
	B	9.57±0.90	3 083.10±143.26	409.97±55.46
	C	10.57±0.84	3 095.03±253.79	291.51±27.84
13	A	8.86±0.51	3 334.24±121.46	411.07±70.89
	B	9.86±0.59	3 027.99±115.37	265.98±21.11
	C	10.86±0.88	2 775.48±149.57	311.29±37.09
24	A	7.43±0.53	3 751.92±200.56	233.85±47.48
	B	9.14±0.70	3 427.26±227.65	237.75±27.03
	C	9.86±0.74	3 088.49±212.25	273.11±61.77
35	A	8.00±0.31	3 611.89±273.22	322.23±45.42
	B	8.14±0.40	3 583.94±219.28	299.64±51.99
	C	8.29±0.42	3 305.94±190.85	262.96±36.77
主效应				
日龄(d)	3	29.57±1.85 ^a	3 078.53±112.82 ^a	371.56±31.46 ^a
	13	29.57±1.62 ^a	3 045.90±87.48 ^a	329.45±29.47 ^{ab}
	24	26.43±1.77 ^{ab}	3 422.56±131.83 ^b	248.24±26.38 ^b
	35	24.43±0.92 ^b	3 500.59±129.88 ^b	294.94±25.33 ^{ab}
日泌乳时段	A	8.43±0.32 ^a	3 438.88±110.36 ^a	345.09±31.12
	B	9.18±0.34 ^{ab}	3 280.58±97.13 ^{ab}	303.33±23.34
	C	9.89±0.37 ^b	3 066.24±103.32 ^b	284.72±20.47
P 值				
日龄(d)		0.005	0.009	0.020
日泌乳时段		0.012	0.034	0.202
日龄×日泌乳时段		0.732	0.687	0.359

注:①数值表示为平均值(Mean)±标准误(SEM);

②日泌乳时段 A 是 20:00-04:00, B 是 04:00-12:00, C 是 12:00-20:00;

③同一列同一处理因子内标有不同字母表示差异显著(P<0.05);以下所有表注相同。

表3 五指山母猪4个测定日的单次泌乳量与日泌乳时段内泌乳量

日龄(d)	日泌乳时段	样本量	单次泌乳量(g)	日泌乳时段内泌乳量(g)
3	A	5	26.12±11.69	223.36±94.20
	B	6	11.67±4.35	104.83±33.85
	C	6	25.87±9.46	281.13±97.24
13	A	6	26.67±4.91	255.83±74.73
	B	7	29.29±7.90	301.43±95.64
	C	7	27.14±5.44	290.00±90.02
24	A	6	23.00±6.06	181.50±65.70
	B	6	24.83±5.86	226.83±49.56
	C	7	26.64±7.25	251.71±74.19
35	A	4	43.75±8.98	355.00±84.21
	B	5	72.06±21.99	594.54±203.23
	C	6	42.50±12.70	350.00±103.64
主效应				
日龄(d)	3		20.93±4.99 ^a	201.92±46.65 ^a
	13		27.75±3.69 ^a	283.75±42.10 ^a
	24		24.92±3.58 ^a	221.68±36.30 ^a
	35		52.69±9.33 ^b	432.85±82.51 ^b
日泌乳时段	A		28.74±4.15	245.75±38.89
	B		32.68±6.70	294.69±60.37
	C		22.04±4.32	291.49±38.91
P 值				
日龄(d)			0.001	0.020
日泌乳时段			0.765	0.713
日龄×日泌乳时段			0.364	0.429

0.05),而第35 d 显著高于第 3 d 和第 24 d(P<0.05)。本试验根据显著性分析和重复数用以下公式计算 0~35 d

的全期泌乳量:全期泌乳量=24×(第 3 d 的泌乳量+第 13 d 的泌乳量+第 24 d 的泌乳量)/3+11×第 35 d 的泌

乳量,结果为 31 528.59 g。

3 讨论

3.1 猪品种对猪乳成分的影响

猪品种影响猪乳(特别是初乳)中常规成分的含量。例如:梅山猪初乳乳脂率高于长白猪和杂交猪;而康沃尔猪(地方猪种)初乳蛋白含量明显高于匈牙利大白猪。本试验中研究的五指山猪是我国珍稀地方猪种之一,原产于五指山山区,因其体型小、灵活、头尖长、体形似鼠,俗称“老鼠猪”,已被列为我国纯种保护猪。因此研究五指山猪的初乳常规成分可为人工饲喂超早期断奶或 SPF 仔猪提供帮助。

3.2 泌乳行为

本试验研究发现,初生仔猪对乳的需求量较大,表现为母猪较高的泌乳次数和较短的泌乳间隔(仔猪初生时平均每 49 min 泌乳 1 次)及较长的泌乳持续时间(最长达 6 min)。并且观察发现,泌乳前期母猪占主导地位,通过其规律性哼叫声诱导仔猪开始采乳,而到后期则是仔猪占主导地位,通过哼叫、拱动母猪腹部等行为促进母猪泌乳。并且在泌乳时分为三个行为阶段:①开始时的急速拱腹期,促进母猪泌乳;②较安静的吮乳期,此时母猪乳房泌乳;③对母猪腹部的后按摩期,此时泌乳已近结束。一次泌乳期内前两种行为会重复出现,直到仔猪吃饱或者母猪乳房无乳汁分泌。如果仔猪已经吃饱,则其发生第 3 个行为的时间较短;如果仔猪未吃饱,但母猪已停止分泌乳汁,则仔猪会用较长时间按摩母猪腹部。我们可以根据仔猪采乳时 3 个行为发生时间的长短判断母猪的泌乳量是否充足。本试验中,在第 13~24 日龄阶段,仔猪出现高频率的后按摩行为,有的仔猪甚至出现吊乳行为(含着乳头不放),说明该阶段母猪泌乳量可能不足,因此生产中可以考虑在泌乳中期适当提高母猪的营养水平,以提高其泌乳量。

3.3 泌乳量

本试验中五指山母猪 0~35 d 泌乳量 31 528.59 g,日平均泌乳量 900.82 g,仔猪平均日增重 322.28 g/窝(带仔数 2.9 头)。而据报道带仔数平均为 9 头(6~12 头)的普通肉用型母猪日泌乳量达 6 330~12 530 g/d,仔猪平均日增重 2 000 g/窝,明显高于五指山猪。那么五指山猪的低泌乳量是否成为仔猪生长的限制性因素?由于五指山猪野性较强,窝产活仔数较低,导致带仔数少,因此本试验中我们以单位初生体重为基础计算其耗乳量。

五指山仔猪初生重 330 g/头,平均初生窝重 957 g(带仔数 2.9 头),在 35 d 泌乳期内,每窝仔猪每克初生体重的日耗乳量为 0.94 g。而初生重 1 400 g/头(1 200~1 600 g/头)、平均初生窝重 12 600 g(带仔数 9 头)的普通肉用型仔猪的每窝每克初生体重日耗乳量为 0.50~0.99 g。可以看出,以每克初生体重计,在满足仔猪维持和生长需要方面,五指山猪的泌乳量与普通肉用型猪的泌乳量相当,二者间并无明显差异。

以上比较说明,五指山猪泌乳量低是与其初生重低、体型小相适应的,是在长期的自然及人工选择过程中形成的适应性表现。

4 结论

①五指山猪初乳(≤ 3 d)中的脂肪、蛋白、乳糖和总固形物的含量分别为(6.64 \pm 0.56)%、(15.25 \pm 1.27)%、(1.99 \pm 0.15)%和(27.46 \pm 1.25)%。②五指山母猪随产后日龄增加,泌乳次数减少,泌乳持续时间缩短。仔猪平均日采乳 27.5 次;采乳次数下午(12:00~20:00)比晚上(20:00~04:00)多 1.46 次($P < 0.05$),且仔猪在第 13~24 日龄时出现对母猪乳房高频率的后按摩行为,因此生产中可以考虑在泌乳中期适当提高母猪的营养水平,以提高其泌乳量。③五指山母猪产后 0~35 d 的泌乳量为 31 528.59 g,日泌乳量 900.82 g,且主要受日龄的影响;比较两猪种每窝仔猪每克初生体重的日耗乳量(0.94, 0.50~0.99 g)可知,五指山猪的泌乳量能充分满足仔猪的维持和生长需要。

参考文献

- Gallagher D, Daniel P, Patrick F, Daniel M Mulrihill. Porcine milk proteins: A Review[J]. Dairy Journal, 1996(7):99-118
- Csapo J, Martin T G, Csapo-kiss. Protein, fat, vitamin and mineral concentration in porcine colostrums and milk from parturition to 60 days[J]. International Dairy Journal, 1996(6):881-902
- King R H, Mullan B P, Dunshea F R, et al. The influence of piglet body weight on milk production of sows [J]. Journal of Livestock Production Science, 1997, 47:169-174
- Auld D E, Carlson D, Morrish L, et al. The influence of suckling interval on milk production of sows [J]. Journal of Animal Science, 2000,78:2 026-2 031
- Renaudeau D, Noblet J. Effects of exposure to high ambient temperature and dietary protein level on sow milk production and performance of piglets[J]. Journal of Animal Science, 2001,79:1 540-1 548
- 鹿坤, 韩立强. 杜洛克母猪乳中常规成分含量测定[J]. 养猪, 2004(5):17-18
- 闻爱友, 许正宽, 吕俊权, 等. 大约克夏、长白、杜洛克母猪泌乳力的比较[J]. 安徽农业科学, 2001,29(4):544-552
- 冯书堂, 陈幼春. 五指山猪生物学特性、易地繁育及遗传多样性研究[J]. 生物多样性, 1998,6(3):172-179

(编辑:刘敏跃, lm-y@tom.com)

饲喂含常规大豆蛋白代乳料对 犊牛生长性能和血液生化参数的影响

李影球 方运雄 包付银 黄艳娜 邹隆树 夏中生

摘要 选择 18 头刚出生的荷斯坦奶犊牛,分为 A、B、C 组,每组 6 头,公母各半。研究去皮豆粕(DSM)和全脂大豆(FFS)替代 50%乳源蛋白对犊牛血液生化指标和犊牛生产性能的影响。结果表明,36 d 时犊牛血清总胆红素、直接胆红素、间接胆红素含量以及 γ -谷氨酰转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶活性趋势为 DSM 替代组(A 组)>FFS 替代组(B 组)>全乳组(C 组)($P>0.05$);与 C 组比较,A、B 组血清白蛋白含量极显著降低($P<0.01$),A 组碱性磷酸酶活性显著升高($P<0.05$);同期 A 组和 B 组犊牛的体重分别比 C 组低 8.08%和 5.33%,C 组犊牛的胸围、体高、体斜长均大于 A、B 组,可见 DSM 和 FFS 对 36 d 犊牛的肝脏功能和生长性能有一定的不良影响。96 d 时,各组犊牛血液生化指标无显著差异。365 d 时,A、B 组犊牛的各项生长指标与 C 组相近,犊牛的补偿生长作用足可弥补 DSM 和 FFS 对犊牛早期生长造成的影响,哺乳期用含 DSM、FFS 的代乳料可低成本培育犊牛。

关键词 犊牛;代乳料;生长性能;血液生化参数

中图分类号 S816.42

营养全面、易于消化吸收的优质代乳料(milk replacer, MR)是犊牛早期断奶的技术保障,犊牛代乳料的应用可显著减少犊牛的培育成本,为母犊牛今后的高产奠定良好基础^[1],还能使低成本饲养乳用公犊牛以生产具有广阔市场前景的高档小白牛肉成为可能。一般 MR 粗蛋白质含量为 20%~24%,随着人类对乳制品需求的逐步增长,作为 MR 主要蛋白质来源的乳制品供应日趋紧张^[2]。在国外,商品 MR 常用价格较为昂贵的大豆浓缩蛋白、大豆分离蛋白作为乳制品的主要替代品,人们对这两种大豆蛋白的应用也作了较为深入的研究,但鲜见用去皮豆粕(Dehulled Soybean Meal, DSM)和全脂大豆(Full Fat Soybean, FFS)替代部分乳蛋白配制的 MR 对犊牛血液生化参数和生长性能影响的报道。本次试验以 DSM、FFS 各取代 50%的乳源蛋白,分析比较了 DSM、FFS 对犊牛血液生化参数及生产性能的影响,为研究 DSM、FFS 影响犊牛生长机理提供参考。

1 材料和方法

1.1 试验设计及动物饲养管理

采用单因素随机分组设计,将 18 头刚出生的荷斯坦奶犊牛按体重、出生日期相近的原则交替分配于

试验 A、B 组和对照 C 组,每组 6 头,公母各半。饲喂 7 d 初乳,经检验组间体重差异不显著($P>0.05$)后进行试验。7 d 后 A 组犊牛饲喂含 DSM 的 MR, B 组犊牛饲喂含 FFS 的 MR, C 组犊牛按常规饲喂全乳,三组犊牛的干物质采食量保持一致。MR 用温开水(水温不高于 75 °C)调制浓度为 12.5%的液体形式,温度为 37~38 °C,放在敞口的奶盆内饲喂,做到定时、定量、定温,自由饮水。7~9 d 为过渡期;10~36 d 试验组只喂代乳料,对照组只喂常乳,而不喂粗饲料和精料;37~96 d 各组犊牛同时供应粗饲料和犊牛精料,精料的供给按日龄逐渐增加,各组犊牛精料的日供给量相同,粗饲料自由采食;96 d 后 A、B 组犊牛停止饲喂 MR, C 组犊牛断奶,97~365 d 按常规方法饲养犊牛。试验于 2004 年 5 月 10 日至 2005 年 5 月 10 日在广西农垦金光乳业有限公司奶牛场进行。

1.2 代乳料的配方及制作

本试验参照了 NRC 标准和相关文献^[3-6],从生产实际出发,以粗蛋白、能量、钙和磷等营养成分为相同水平的原则配制代乳料,两种 MR 中 DSM、FFS 替代乳蛋白的比例均为 50%,其营养成分见表 1,试验 MR 不含抗生素。

1.3 测定指标

1.3.1 犊牛的生长性能

分别于 7、36、96、186、365 d 对各组犊牛的体重、体高、体斜长、胸围、管围进行准确测量,测量于晨饲前进行。

1.3.2 血液生化参数

血样的采集:分别于 36、96 d 早饲前从每组选择

李影球,广西工商职业技术学院,530003,广西南宁。

方运雄、包付银、邹隆树、夏中生(通讯作者),广西大学动物科学技术学院。

黄艳娜,广西分析测试研究中心。

收稿日期:2007-01-15

2头公犊牛采血 20 ml,其中 10 ml 加肝素抗凝剂制备成全血样,另外 10 ml 制备血清,立即送到广西中医学院第一附属医院进行分析。

表 1 代乳料的营养成分

营养成分	去皮豆粕代乳料	全脂大豆代乳料
干物质(%)	94.02	93.28
粗蛋白(%)	24.23	24.10
粗脂肪(%)	15.38	19.65
粗纤维(%)	1.08	1.63
无氮浸出物(%)	45.0	40.10
钙(%)	0.98	0.99
磷(%)	0.69	0.67
粗灰分(%)	6.12	5.51
赖氨酸(%)	1.80	1.84
蛋氨酸(%)	0.55	0.57
消化能(MJ/kg)	17.49	17.50
大豆蛋白占总蛋白比例(%)	50.22	50.09
钙:磷	1.42:1	1.47:1

注:每千克 MR(以干物质计)含 VA 66 056 IU、VD 23 064 IU、VE 220 mg、VK 2.02 mg、VC 500 mg、VB₁ 15.7 mg、VB₂ 22.3 mg、VB₃ 13.5 mg、VB₄ 1 445 mg、VB₅ 46 mg、VB₆ 6.4 mg、VB₇ 0.3 mg、VB₁₁ 0.5 mg、VB₁₂ 60.2 μg;Fe 100 mg、Cu 10 mg、Mn 40 mg、Zn 40 mg、Co 0.11 mg、I 0.5 mg、Se 0.3 mg。

血红蛋白(Hb)含量和红细胞(RBC)计数用 Sysmex-Kx-21 血细胞分析仪进行测定。

碱性磷酸酶(ALP)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)均用国际临床化学联合会推荐方法测定;γ-谷氨酰转移酶(γ-GT)用硝基甲酸

显色法,总胆红素(T-BIL)、直接胆红素(D-BIL)均用重氮法,T-BIL 减去 D-BIL 的值为间接胆红素(I-BIL),总蛋白(TP)用双缩脲法,白蛋白(ALB)用溴甲酚绿法,球蛋白(GLO)由 TP 减去 ALB 计算而得,用东芝 TBA-120FR 全自动生化仪分析^{7,8}。

1.4 数据统计

试验数据用 Excel 软件和 SAS 软件按单因素方差分析(One-way Anova),用 Duncan's 法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 犊牛的生长性能

不同日龄试验犊牛体重和体尺的测定结果反映了不同生长阶段犊牛的生长情况(见表 2)。从数值上看,犊牛 36 d 时,A 组的体重最低,C 组(对照组)的体重最高,A 组和 B 组的体重分别比 C 组低 8.08% 和 5.33%,C 组犊牛的体高极显著高于 A、B 两组犊牛(P<0.01),C 组犊牛的胸围比 A、B 组分别高 6.14%、3.46%,试验组犊牛的管围、体斜长相差不大;96 d 时,C 组犊牛的体重和体尺仍最高,但试验 A 组犊牛的体重比 B 组高 5.18%,A 组犊牛的胸围、管围、体高均大于 B 组犊牛;186 d 时,C 组的体重仍高于 A、B 组,B 组犊牛的管围、体高、体斜长已基本与 C 组犊牛持平;365 d 三组试验犊牛的体重基本持平,A、B 两组甚至稍高于 C 组,A、B 组犊牛的胸围均大于 C 组。

表 2 不同日龄试验犊牛体重和体尺的变化

日龄	组别	体重(kg)	胸围(cm)	管围(cm)	体高(cm)	体斜长(cm)
7 d	A	44.70±1.06	84.50±1.05	11.92±0.49	78.25±2.93	72.50±0.55
	B	44.08±1.66	82.67±0.82	12.00±0.00	77.67±1.37	73.00±3.03
	C	44.25±4.47	83.17±1.72	11.58±0.49	78.33±2.34	72.50±2.26
36 d	A	49.15±2.41	86.75±1.57	12.33±0.52	83.17±2.14 ^B	79.00±2.61
	B	50.62±3.74	89.00±2.19	12.08±0.20	83.08±1.50 ^B	79.92±1.63
	C	53.47±6.67	92.08±2.58	12.25±0.42	87.42±2.15 ^A	80.67±4.13
96 d	A	83.68±5.11	104.60±3.13	12.60±0.42	90.60±2.77 ^{ab}	88.80±1.64
	B	79.56±9.93	101.90±4.72	12.30±0.27	89.20±2.95 ^b	91.00±3.08
	C	90.20±2.57	108.80±3.83	12.76±0.53	93.70±1.10 ^a	92.70±1.64
186 d	A	137.40±9.69	124.33±4.93	13.70±0.75	100.67±1.53	106.33±2.89
	B	140.53±4.63	122.33±0.58	13.77±0.25	102.67±2.08	110.00±1.00
	C	148.60±4.80	128.50±2.78	13.67±0.58	102.67±2.08	110.50±0.50
365 d	A	301.56±5.97	157.00±3.00	16.00±1.00	120.33±0.58	124.00±3.46
	B	307.70±26.22	155.33±4.73	16.33±0.58	119.67±1.15	129.00±3.61
	C	300.79±15.63	154.67±2.52	16.00±0.00	122.33±4.16	127.33±3.51

注: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)。下表同。

2.2 犊牛的血液生化参数(见表 3)

由 36 d 和 96 d 时犊牛的血液生化参数测定结果可见,36 d 时,各组犊牛的 ALB 存在极显著差异(P<0.01),其变化趋势为 C 组>B 组>A 组;A 组犊牛的 ALP 显著高于 C 组(P<0.05),其余参数经统计差异不显著;A、B 两组犊牛的 Hb 和 RBC 均比 C 组高;T-

BIL、D-BIL、I-BIL、ALP、γ-GT、AST 的高低可反映犊牛的肝脏机能,从表 3 可看出,36 d 时上述参数的变化为 A 组>B 组>C 组;TP 含量基本接近;白蛋白/球蛋白比值(A/G)为 C 组>B 组>A 组。96 d 时 A、B 组犊牛的 T-BIL 和 D-BIL 仍高于 C 组,但其余参数均与 C 组相近。

表3 不同日龄试验犊牛的血液生化参数

项目	36 d			96 d		
	A	B	C	A	B	C
T-BIL($\mu\text{mol/l}$)	3.55±1.48	2.85±0.35	2.00±0.14	2.75±1.06	2.15±0.21	1.85±0.49
D-BIL($\mu\text{mol/l}$)	1.65±0.78	1.35±0.21	0.95±0.07	1.15±0.49	1.05±0.07	0.80±0.00
I-BIL($\mu\text{mol/l}$)	1.90±0.71	1.50±0.14	1.05±0.07	1.60±0.57	1.10±0.14	1.05±0.49
TP(g/l)	57.65±4.17	54.75±2.62	57.10±7.35	55.40±0.28	59.15±0.78	58.25±2.47
ALB(g/l)	20.25±0.21 ^c	22.05±0.35 ^b	23.65±0.49 ^a	31.25±0.64	30.85±1.91	32.85±0.92
GLO(g/l)	34.50±2.83	35.60±4.53	33.45±6.86	24.15±0.92	28.30±2.69	25.40±1.56
A/G RATIO	0.59±0.06	0.63±0.09	0.72±0.13	1.30±0.08	1.10±0.17	1.30±0.05
ALP(U/l)	173.00±7.07 ^a	122.50±20.51 ^{ab}	63.00±33.94 ^b	165.50±26.16	98.50±21.92	154.00±1.41
γ -GT(U/l)	30.00±4.24	24.00±1.41	17.00±4.24	13.00±2.83	16.00±2.83	16.00±4.24
ALT(U/l)	11.50±4.95	15.00±5.66	13.00±5.66	33.00±14.14	19.50±4.95	20.00±1.41
AST(U/l)	82.50±0.71	72.50±6.36	59.00±7.07	120.00±38.18	80.00±21.21	81.50±19.09
AST/ALT 比值	7.93±3.47	5.12±1.51	5.15±2.78	3.73±0.44	4.10±0.05	4.05±0.66
Hb(g/l)	94.5±10.61	90.50±0.71	84.50±9.19	86.75±3.18	85.50±4.95	80.50±14.85
RBC(10^{12} 个/l)	7.67±1.01	7.03±0.14	6.21±1.03	8.40±0.71	7.05±1.63	8.25±1.90

3 讨论

血液生化参数的改变是组织细胞通透性发生改变和机体新陈代谢机能发生改变的反映。血清胆红素含量的检验,对判断有无黄疸及鉴别黄疸的类型有重要价值,如 T-BIL、D-BIL、I-BIL 均增高,则表明肝细胞性黄疸;ALP 在体内参与许多生化代谢途径,主要来自于骨骼和肠黏膜,正常时 ALP 通过肝细胞的活动,经胆管随胆汁排入肠道,当胆道阻塞或患肝病时,血清中 ALP 的活性大大增高;血清 γ -GT 主要来自肝脏,牛、马、羊患急性肝坏死时,血清 γ -GT 活性升高^[9]。动物生长迅速、代谢增强时,血液中就需相对较多的带极性基团的白蛋白运输合成体组织的原料和代谢废物。患肝炎、慢性胃肠道疾病等时,由于 ALB 合成不足引起其血清含量下降。ALB 含量和 A/G 下降^[10],是提示动物肝功能受损的重要指标。本试验中 36 d 各组犊牛的 T-BIL、D-BIL、I-BIL、ALP、 γ -GT 变化规律均为 A 组>B 组>C 组,ALB 和 A/G 则为 C>B>A,这表明饲喂 DSM 和 FFS 对 36 d 犊牛的肝脏造成了一定的损害。ALT 主要存在于狗、猫、灵长目动物的肝细胞浆中,是这些动物最敏感的肝功能检测指标之一,ALT 测定对其它动物的肝脏疾病没有诊断价值。AST 在肝细胞、心肌和骨骼肌中含量较高,可用于探查体内广泛组织的损害,牛和绵羊的 AST 增高见于各种原因引起的肝坏死等症^[10]。本试验的 AST 为 A 组>B 组>C 组,这也说明饲喂 DSM 和 FFS 对 36 d 犊牛的肝脏有一定的不良影响,且 DSM 对犊牛肝脏的伤害要大于 FFS,其原因有待进一步研究探讨。犊牛的肝脏受损影响了犊牛的生长性能,本试验中,36 d 时 C 组犊牛的体重、胸围、体高、体斜长均明显高于试验组犊牛,A 组犊牛的体重、胸围、体斜长要小于 B 组,但管围、体高要高于 B 组,因为一般犊牛最重要的

生长指标为体重和胸围,所以 36 d 时仍可认为 B 组犊牛的生长较 A 组好。这些表明 DMS、FFS 不宜用作 36 d 犊牛代乳料的蛋白质来源,这与一些学者的研究结果相类似^[11-14]。

36 d 时 A、B 组犊牛的 Hb 和 RBC 均高于 C 组,虽然三组犊牛的 Hb 和 RBC 在统计上差异不显著($P>0.05$),但从数值上看,A、B 组犊牛的 Hb 和 RBC 均高于 C 组。鲜牛乳中铁的含量为 0.12 mg/kg^[15],不足以满足犊牛对铁的需求,长期只食入牛乳易造成犊牛缺铁性贫血,而两种 MR 经稀释后,铁的含量为 12.5 mg/kg,较鲜牛乳提高了 100 多倍,此外,MR 的铜、锰、锌等均比牛乳高,较好地满足了犊牛对这些微量元素的需求,因而试验组犊牛的 Hb 和 RBC 较对照组高。

96 d 试验组犊牛的血液生化参数除 T-BIL 和 D-BIL 仍高于对照组外,其余参数均与对照组相近,表明 DSM 和 FFS 对犊牛肝脏的影响随犊牛日龄的增加而变小。186 d,虽仍为 C 组犊牛的生长最快,但试验组犊牛的管围、体高、体斜长这些指标已经接近甚至超过 C 组;365 d 试验组犊牛的生长指标已与对照组基本持平,有些指标超过对照组,这与多位学者的研究结果一致^[16-18]。由此可见,96~365 日龄这段时间犊牛的补偿生长强烈,虽然试验组犊牛早期生长不如对照组,但由于后期的补偿生长作用使得试验组犊牛的生长赶上了对照组,而 A 组和 B 组每头犊牛的饲养成本分别是 562.00 元和 574.83 元,分别比 C 组降低了 48.38% 和 47.22%,经济效益非常可观,表明 DSM 和 FFS 可用于 36 d 后的犊牛 MR。张扬等(1995)在利用代乳料对犊牛进行早期断奶及后期培育的研究中发现,犊牛的补偿生长作用使饲喂代乳料的试验犊牛体重在 6 月龄时赶上常乳对照组犊牛的体重^[19]。本试验中饲喂 MR 的犊牛的体重在 12 月龄时

内蒙古双峰驼甲烷产生量的体外估测

李霞 金海 薛树媛 永西修

摘要 采集荒漠地区双峰驼采食的 7 种牧草,即梭梭、霸王、驼绒藜、白刺、沙鞭、沙葱、猪毛菜,和已经用 SF₆ 法测定了甲烷产生量的 5 种标准牧草一同进行体外培养,测定其体外甲烷产生量。结果显示:5 种标准牧草的体内和体外甲烷产生量存在显著的相关关系, $y=53.572x+12.311$ ($R^2=0.99, P<0.01$)。体外法测得 7 种牧草的甲烷产生量分别为 0.41、0.36、0.39、0.26、0.41、0.68 和 0.29 g/kg(DM 基础),通过回归公式计算得到 7 种牧草体内的甲烷产生量分别为 34.2、31.7、32.9、26.1、34.2、48.6 和 27.8 g/kg(DM 基础)。利用 7 种牧草的采食概率及其甲烷产生量估测出内蒙古双峰驼的甲烷产生量为 104.38~244.45 kg/(年·峰),以甲烷形式损失的能量占采食总能的范围为 7%~15%。

关键词 甲烷产生量;双峰驼;牧草;体外

中图分类号 S824

在反刍动物瘤胃发酵过程中产生的甲烷是瘤胃能

李霞, 内蒙古农业大学动物科学与医学学院, 010018, 内蒙古呼和浩特市鄂尔多斯西路内蒙古畜牧科学院动物营养所。
金海(通讯作者), 薛树媛, 内蒙古农牧业科学院畜牧研究所。
永西修, 日本国畜产草地研究所。
收稿日期: 2006-09-25

量损失的主要原因, 大约有 6%~15% 的饲料能量以甲烷的形式被损失掉(Leng, 1991; Johnson 等, 1994)。同时甲烷又是温室效应气体, 甲烷的大量排放会促使全球气候变暖, 因此, 对瘤胃甲烷产生量进行估测和调控对提高饲料能量效率及保护环境具有双重作用。当前对牛、羊等反刍动物甲烷产生量的研究较多而对骆驼

才赶上对照组犊牛的体重,其原因与 MR 的成分、犊牛的饲喂方式、饲养环境、饲养管理水平不同有关。

4 结论

① DMS 和 FFS 作为 MR 蛋白质替代源对 36 d 前犊牛的肝脏造成一定的损害,从而影响了犊牛早期的生长发育,因此,不宜用作 36 d 前犊牛 MR 的蛋白质来源。

② 从本试验可见,虽然饲喂含 DMS 或 FFS 的 MR 对犊牛的早期生长造成了一定的影响,但在后期的生长发育中可得到补偿,强烈的补偿生长足可弥补犊牛生长前期造成的生长差距,使用含 DSM、FFS 的 MR 对低成本培育犊牛具有明显的经济优势。

参考文献

- 程伶. 乳用犊牛的代用乳及其饲用[J]. 饲料工业, 1994, 15(2): 17-18
- 任慧波, 张永根. 大豆蛋白在犊牛代乳料中的应用研究进展[J]. 中国饲料, 2003(14): 26-27
- 刁其玉, 张乃峰, 屠焰, 等. 犊牛代乳粉的研究进展[J]. 饲料工业, 2003, 24(8): 6-8
- 任慧波. 植物蛋白代替乳蛋白在犊牛代乳料中的应用研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2004
- 程伶. 犊牛的代用乳营养及管理[J]. 中国饲料, 1996(11): 21-22
- 但堂胜. 大豆蛋白在犊牛代乳料中的应用[J]. 中国饲料, 2001(20): 31-32
- 王继贵主编. 临床生化检验(第二版)[M]. 长江: 湖南科学技术出版社, 1997. 374-522
- 邓卫东, 毛华明, 刘万洪, 等. 添加补充料对犊牛生长性能和生理效

应的研究[J]. 云南畜牧兽医, 2000(4): 2-3

- 9 东北农业大学主编. 兽医临床诊断学(第三版)[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001. 165-197
- 10 雷秋霞, 李福昌. 不同蛋白水平对生长肉兔生产性能及血液生化指标的影响[J]. 中国养兔杂志, 2003(2): 21-23
- 11 T. L. Terosky, A. J. Heinrichs, L. L. Wilson. A comparison of milk protein in diets of calves up to eight week of age [J]. Dairy Sci., 1997, 80: 2 977-2 983
- 12 R M Blome, J K Drackley, F K Mckeith, et al. Growth, nutrient utilization, and body composition of dairy calves fed milk replacers containing different amounts of protein [J]. Journal of Animal Science, 2003, 81(6): 1641
- 13 Kilshaw P J, W. Sissons. Gastrointestinal allergy to soybean protein in preruminant calves. Allergenic constituents of soybean Products Res. Vet. Sci., 1979, 27: 366-371
- 14 Sissons J W, R. H. Smith. The effect of different diets, including those containing soybean products, on digesta movement and water and nitrogen absorption in the small intestine of the preruminant calf. br. J. Nutr., 1976, 36: 421
- 15 刁其玉. 羔羊代乳料的研究与使用[J]. 饲料博览, 2001(9): 10-12
- 16 高占峰, 王红云, 王丽英, 等. 代乳粉对犊牛生产性能的影响[J]. 畜禽养殖, 2003(20): 32-34
- 17 周建民. 奥耐尔犊牛代乳粉代替全乳饲喂中国荷斯坦奶公犊的试验报告[J]. 中国奶牛, 1997(6): 13-14
- 18 那仁巴图, 贡德玛, 敖长金, 等. 犊牛人工乳哺育试验[J]. 饲料广角, 2002(23): 29-30
- 19 张扬, 王强, 古丽·巴哈, 等. 利用人工乳对犊牛进行早期断奶及后期培育的研究[J]. 草食家畜, 1995(9): 31-34

(编辑: 张学智, mengzai007@163.com)

的甲烷产生量的报道较少。中国双峰驼占全世界双峰驼的四分之一,主要分布在西北、华北的荒漠和半荒漠地带。这些地区干旱少雨,植被稀疏,不利于其它家畜的饲养,而骆驼却能适应这种环境,并且可以提供大量毛、绒、肉、乳及使役,经济意义重大。本研究采集了荒漠类草原地区的优势建群植物中夏季双峰驼选择性采食的7种牧草样品,并将通过SF₆示踪法在体内测定后获得一定甲烷产生量的5种牧草样品一同进行体外培养,测定了甲烷产生量。通过已知体内甲烷产生量的标准样建立了体内和体外甲烷产生量之间的回归关系,并根据在放牧条件下双峰驼对以上牧草的采食概率及采食量推算出双峰驼夏季放牧条件下的甲烷产生量。

1 材料与方法

1.1 体内标准样的甲烷产生量的测定

由5头干乳期奶牛分别采食5种标准牧草,然后采用SF₆示踪法测定其甲烷产生量。

1.2 内蒙古双峰驼采食量及其采食概率的测定

岳东贵(1999)通过人工模拟双峰驼采食方式测定得出:中国成年双峰驼夏季的采食量为(12.50±5.02)kg/(d·峰);双峰驼夏季主要采食牧草为梭梭、霸王、驼绒藜、白刺、沙鞭、沙葱、猪毛菜,其采食概率分别为11.12%、13.08%、27.39%、1.54%、33.28%、13.49%和0.29%。

1.3 牧草样本的制作及测定

以1.2节所列出的7种牧草为样本,样本均采自内蒙古西部荒漠地区,用粉碎机粉碎后过1mm筛。牧草中的干物质(DM)、粗蛋白质(CP)、中性洗涤纤维(NDF)、酸性洗涤纤维(ADF)、木质素(ADL)、灰分(Ash)、粗脂肪(EE)和NFE(无氮浸出物)的分析依据《饲料分析及饲料质量检测技术》(杨胜,1999)的方法进行。

1.4 体外甲烷产生量的测定

体外甲烷产生量的测定依照体外发酵产气法进行(Menke, 1979)。五种标准牧草和采集的牧草一同进行体外培养,每种底物设3个重复。于晨饲前2h采集一只骆驼瘤胃液,立即测定pH值,用4层纱布过滤。培养液的配比为65ml蒸馏水、0.12ml微量元素液、232.5ml缓冲液、232.5ml常量元素液、1.2ml刃天青、487.5ml瘤胃液和226.6mg还原液(Menke, 1979)。注射器中的底物和30ml培养液在39℃下培养24h,记录产气量后收集气体。分别从每个注射器中抽10ml气体用于气象色谱(GC—9A JPN)测定甲烷。

1.5 计算中国双峰驼甲烷产生量

甲烷产生量按照下式推算:

$$CH_4 = DMI \times \sum_{i=1}^7 (A_i \times B_i)$$

式中:CH₄——甲烷释放量(g/d);

DMI——干物质采食量(kg/d);

A——各种牧草体内甲烷产生量(g/kg, DM基础);

B——各等级牧草采食概率(%)。

甲烷能量损失(甲烷能/总能)按以下公式计算:

$$MCR(\%) = (M \times 5.565 \times 10^{-2} / GE) \times 100$$

式中:M——产生的甲烷量(g/kg);

GE——饲料总能(MJ/kg);

5.565×10⁻²——甲烷的燃烧热(MJ/g)。

1.6 数据分析

用SAS软件包进行数据分析。

2 结果与讨论

双峰驼夏季选择性采食的7种牧草的营养成分如表1所示。其中除了霸王、沙鞭的CP含量在7%以下外,其余5种牧草的CP含量在9%~16%范围内,接近优质天然牧草的含量。但是,NDF及灰分含量普遍较高,霸王及沙鞭的NDF含量最高,分别达到53.41%、67.06%,梭梭及猪毛菜灰分含量高达19.03%、18.3%。沙葱及猪毛菜的木质素含量较低,分别为4.28%、4.06%。驼绒藜、沙葱和白刺的NFE含量较高,沙鞭的NFE含量较低,只有11.15%。

表1 双峰驼夏季主要采食牧草的营养成分(%)

项目	DM	CP	ADL	NDF	ADF	Ash	EE	NFE
梭梭	96.8	14.58	5.9	43.34	25.36	19.03	3.29	16.56
霸王	94.83	6.56	13.04	53.41	38.15	13.46	2.81	18.59
驼绒藜	95.79	15.15	4.86	38.07	20.91	15.71	3.03	23.83
白刺	95.39	15.95	9.9	43.90	28.71	10.28	4.11	21.15
沙鞭	95.45	5.8	6.51	67.06	43.67	7.92	3.52	11.15
沙葱	93.21	9.32	4.28	48.17	39.42	7.86	3.81	24.05
猪毛菜	94.27	11.52	4.06	47.34	29.54	18.3	1.17	15.94

用SF₆示踪法测定5种标准样体内甲烷产生量的结果为:意大利黑麦草19.6g/kg、紫花苜蓿26.6g/kg、稻秸17.5g/kg、苏丹草28.4g/kg、猫尾草26.9g/kg(DM基础)。在体外培养条件下,5种标准样品的甲烷产生量为:意大利黑麦草0.15g/kg、紫花苜蓿0.26g/kg、稻秸0.09g/kg、苏丹草0.30g/kg、猫尾草0.27g/kg(DM基础)。如图1所示,标准草样体内甲烷产生量与体外培养时的甲烷产生量间建立了如下回归方程: $y=53.572x+12.311$ [y为体内甲烷产生量(g/kg DM),x为体外测定甲烷产生量(g/kg DM)](R²=0.99,P<0.01)。在牛上测定的标准样的体内甲烷产生量与本实验体外培养状态下获得的标准样甲烷产生量间存在高度的相关关系,很

多研究表明,在供给相同饲料的条件下,虽然动物种类、品种、年龄和性别不同,但动物的甲烷排放量相似。Pinares-Patino 等(2003)报道,当给羊驼和绵羊同时饲喂紫花苜蓿时,甲烷产生量没有显著差异。B. L. Estermann 等(2002)表明,不同品种、不同年龄的母牛和犊牛每千克代谢体重的甲烷产生量之间没有显著差异,随着年龄的增长,甲烷产生量增加是由于采食水平的提高引起的,与动物的品种和年龄没有关系。因此,利用上述回归公式推测与标准样一同培养的7种双峰驼喜食牧草的体内甲烷产生量是可行的。

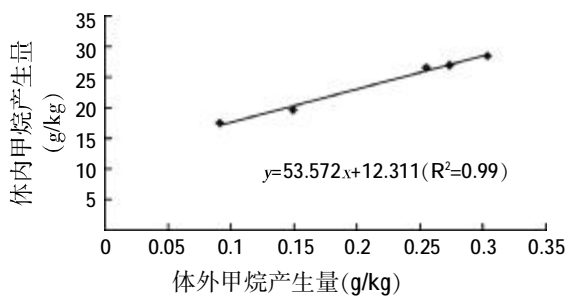


图1 体内与体外甲烷产生量的相关关系

双峰驼夏季喜食牧草的体内外甲烷产生量及其甲烷能量损失见表2。从表2和表1可以看出:蛋白质含量较高、木质素含量较低的藜科牧草梭梭、驼绒藜的甲烷产生量较高;禾本科的木质素含量低但NDF含量较高的沙葱及猪毛菜的甲烷产生量也相对较高;沙葱的NFE含量最高,其甲烷产生量也最高。以上结果表明,牧草的蛋白质含量高、NFE含量高,甲烷产生量高;木质素含量低的牧草因其体外消失率较高,因此相对的甲烷产生量也较高;而NDF含量较高的牧草因其在发酵过程中发酵类型趋向于乙酸型发酵,甲烷产量也相对较高,以甲烷形式损失的能量也较高。

表2 双峰驼夏季喜食牧草的体内外甲烷产生量(DM基础)

项目	体外甲烷产生量 (g/kg)	体内甲烷产生量 (g/kg)	MCR (CH ₄ E/GE)
梭梭	0.41	34.2	12.4
霸王	0.36	31.7	10
驼绒藜	0.39	32.9	9.8
白刺	0.26	26.1	7.7
沙鞭	0.41	34.2	10.4
沙葱	0.68	48.6	15.1
猪毛菜	0.29	27.8	11.2

注:体外甲烷产生量由体外培养法测定;体内甲烷产生量由回归模型计算。

根据双峰驼的干物质采食量和上述7种牧草的体内甲烷产生量推测值及采食概率推算的成年双峰驼在夏季放牧状态下的甲烷排放量为104.38~244.45

kg/(年·峰)。董红敏根据OECD(1991)提供的反刍动物甲烷排放量估测模型 $M=GE(Y_m/100) \times 365 \times 0.18$ (Y_m 为每100 MJ的饲料摄入总能产生的甲烷, M 为以每年每只个体甲烷排放量)计算的骆驼的甲烷产生量是58 kg/(头·年),而本试验测定的甲烷排放量显著高于上述预测值。本试验荒漠地区骆驼采食牧草的NDF及ADL等纤维物质的含量显著高于人工培养的牧草。Moe P W和Tyrrell H F(1979)、樊霞等(2004)报道,DM、ADL和ADF摄入量与甲烷排放量之间存在显著的正相关关系,动物摄入的纤维性物质越高,甲烷产生量也越高。因此,我们认为本试验预测的中国双峰驼甲烷产生量比较接近中国的实际生产状况。

大量研究表明,反刍动物甲烷所消耗的能量约占饲料总能的6%~12%,低质粗饲料可达15%(Leng, 1991; Johnson等, 1994)。本研究计算得出的双峰驼夏季采食牧草产生甲烷的能量损失大约占摄入总能的7%~15%,与牛羊相比偏高。这是因为内蒙古双峰驼生活在荒漠、半荒漠地区,牧草纤维含量较高导致甲烷产生量较高,以甲烷形式损失的能量也相对较高,这与前人报道的结果相似。

参考文献

- Moe P W, Tyrrell H F. Methane production in dairy cows [J]. Journal of Dairy Science, 1979,62(6):1 583~1 586
- Grutzen P J, Aseimann E, Secier W. Methane production by domestic animal, wild ruminants other herbivorous fauna, and humans. Tullus, 1986, 38:271~284
- Menke K H, Raab L, Salewski A. The estimation of the digestibility and metabolically energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor [J]. J. Agric. Sci., 1979,93: 217~222
- Jin Hai, X. Guo, Sh. Xue. Estimation of methane emission in grazing Cashmere goats by using in vitro incubation method, The 5th joint symposium of Japan -Korea -China on rumen metabolism and physiology, 2005
- Leng R A. Improving ruminant production and reducing methane emission from ruminants by strategic supplementation. European patents, 1991
- 董红敏,林而达,杨其长.中国反刍动物甲烷排放量的初步估算及减缓技术 [J].农村生态环境学报, 1995,11(3):4~7
- 岳东贵.阿拉善双峰驼四季牧食行为的研究[D].内蒙古农业大学硕士学位论文, 2002
- 樊霞.肉牛甲烷排放与粪便肥料成分含量快速预测方法和模型的研究[D].中国农业大学博士学位论文, 2004
- C. S. Pinares-Patino. Methane emission by alpaca and sheep fed on Lucerne hay or grazed on pastures of perennial ryegrass/white clover or birdsfoot trefoil [J]. Journal of Agricultural science, 2003,140:215~226
- B. L. Estermann. Effect of calf age and dam breed on intake; energy expenditure, and excretion of nitrogen; phosphorus, and methane of beef cows with calves [J]. Journal of Animal Science, 2002,80: 1 124~1 134 (编辑:张学智, mengzai007@163.com)

利用体外法研究尿素与乙酰氧脲酸的合理配比

王虎成 马亚玲

摘要 利用体外消化法进行尿素与乙酰氧脲酸(AHA)合理配比的筛选。试验分为 5 组,每组基础饲料相同,尿素(%)与 AHA(mg/kg)添加量分别为:A 组(1.0 与 25)、B 组(1.5 与 25)、C 组(2.0 与 25)、D 组(1.5 与 15)、E 组(1.5 与 35),每组 3 个平行,采集安装有瘤胃瘘管羊瘤胃液,分 6 个时间段(0、1、2、4、6、10 h)培养,测定发酵终产物的 pH 值、氨态氮浓度、干物质消失率。结果表明:①培养 1 h,B、C、D 处理组氨态氮浓度出现高峰,随后缓慢下降,4 h 后急剧下降;A、E 处理组在 2 h 出现高峰随后缓慢下降,4 h 后又急剧下降,E 组下降异常迅速。这是由于 B、C、D 处理组尿素量高,A 组尿素低,E 组 AHA 高所造成。②各处理组不同时间段的 pH 值均在 6.01~6.55 之间变动,且在培养 1~4 h 内各组 pH 值都较高,4 h 后逐渐下降,发酵产酸在培养管累积和氨态氮浓度降低是主要原因。③B 处理组干物质消失率变化比较平缓,且在培养后期消失率呈快速上升趋势。故尿素与乙酰氧脲酸的合理配比为 1.5%与 25 mg/kg。

关键词 体外法;乙酰氧脲酸;尿素;配比

中图分类号 S816.79

反刍动物瘤胃微生物可利用尿素合成自身蛋白质,为畜主提供优质菌体蛋白,从而克服蛋白质饲料短缺的现状。尿素进入瘤胃后很快被脲酶分解为 NH_3 和 CO_2 ,分解速度为微生物利用的 4 倍^[1],这使得尿素被浪费,甚者有损动物健康。乙酰氧脲酸(AHA)是使用得较早的一种脲酶抑制剂,它是脲酶的高效特异性的抑制剂,也是目前国内推广应用最多的脲酶抑制剂。Cook 等(1976)用体外试验方法研究发现 AHA 的浓度为 $5 \times 10^{-5} \text{ mol/l}$ 时,对绵羊瘤胃液脲酶活性可产生 50% 的抑制^[2]。AHA 能有效地抑制脲酶活性,但当长期用于羔羊和阉牛时,AHA 对酶活性的抑制是有限的,瘤胃内微生物对其也会逐渐适应^[3](More 等,1968;Jvones 等,1975)。体外法相比体内法具有省时、省力,不需大批试验动物,并可同时进行多处理、多重复比较的优点。本试验按照尿素与 AHA 的不同配比配制试验饲料,模拟瘤胃条件,用离心管进行发酵培养,通过分析不同时间段发酵终产物的 pH 值、氨态氮浓度及干物质消失率等指标的变化,目的在于筛选出理想的尿素与乙酰氧脲酸配比,为尿素、脲酶抑制剂的进一步研究、开发及在生产中的应用提供帮助。

1 材料与方法

1.1 试验材料

乙酰氧脲酸:饲料级,淡黄色晶体,纯度为 80%。尿素:农业肥料,白色颗粒,含氮量 46%。

王虎成,兰州大学草地农业科技学院,730020,甘肃省兰州市嘉峪关西路 768 号。

马亚玲,兰州富昌饲料厂。

收稿日期:2006-06-19

1.2 试验饲料

各种饲料原料分别经制样机粉碎并通过 20 目筛,然后参照中国美利奴育成公羊维持需要量的 1.1 倍,设计出尿素与乙酰氧脲酸配比不同的 5 个饲料配方,并按照配方配制成试验饲料备用,试验饲料配方及营养水平见表 1。

表 1 试验饲料配方及营养水平(干物质基础)

饲料组成	A 组	B 组	C 组	D 组	E 组
玉米秸(%)	60.84	60.12	58.85	60.12	60.12
玉米(%)	32.00	32.00	32.73	32.00	32.00
麸皮(%)	4.00	4.19	4.18	4.19	4.19
尿素(%)	1.00	1.50	2.00	1.50	1.50
氯化铵(%)	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38
硫酸钠(%)	0.11	0.11	0.12	0.11	0.11
碳酸氢钠(%)	1.35	1.37	1.40	1.37	1.37
预混料(%)	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
石粉(%)	0.12	0.13	0.14	0.13	0.13
乙酰氧脲酸(mg/kg)	25	25	25	15	35
合计(%)	100	100	100	100	100
营养水平					
DE(MJ/kg)	11.25	11.20	11.20	11.20	11.20
总 CP(%)	10.87	12.28	13.70	12.28	12.28
植物源 CP(%)	7.41	7.40	7.40	7.40	7.40
尿素源 CP(%)	2.84	4.26	5.68	4.26	4.26
氯化铵源 CP(%)	0.62	0.62	0.62	0.62	0.62
NDF(%)	48.42	48.00	47.15	48.00	48.00
Ca(%)	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35
P(%)	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26
S(%)	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16
DCAB(meq/100 g)	36	36	36	36	36
K(meq/100 g)	25.76	25.56	25.13	25.56	25.56
Na(meq/100 g)	18.78	18.98	19.42	18.98	18.98
Cl(meq/100 g)	8.53	8.54	8.55	8.54	8.54

注:预混料由微量元素、维生素组成。其中微量元素含量(mg/kg)为 Fe 54、Cu 12、Mn 40、Zn 0.35、Co 0.23、I 1.1、Se 0.2;维生素含量(IU/kg)为 VA 800 000、VD₃ 10 000、VE 7 500。

1.3 试验设计

本试验分为5组,每组基础饲料相同,尿素与AHA添加量不同,试验设计见表2。每组3个平行,共分6个时间段(0、1、2、4、6、10 h),每一个时间段3个空白对照管。各培养管在(39±0.5)℃恒温振荡水浴中培养。测定发酵终产物的pH值、氨态氮浓度、干物质消失率。

表2 试验方案

处理	A组	B组	C组	D组	E组
尿素(%)	1.0	1.5	2.0	1.5	1.5
AHA(mg/kg)	25	25	25	15	35

1.4 体外发酵培养

1.4.1 人工瘤胃组成

50 ml具塞塑料离心管若干,微生物培养液及恒温振荡水浴。

1.4.2 瘤胃液供体动物管理及瘤胃液采集

选用8只瘤胃瘘管手术成功的羯羊(平均体重45 kg左右)作为瘤胃液供体动物,于试验前一周开始,每天7:00和17:00分两次饲喂与试验饲料精粗比相似的饲料。用自制瘤胃液抽滤装置通过瘤胃瘘管采集8只羊的瘤胃液,每只羊按预计用量等量抽取,注入经预处理的39℃保温瓶中,迅速送实验室,不断通入CO₂备用。

1.4.3 缓冲营养液配制

本次试验选用的缓冲营养液是Kansas缓冲营养液^[4],包括A液和B液。临用前按50:1的比例将A、B液混合。

A液的组成为(g/l):KH₂PO₄ 10、MgSO₄·7H₂O 0.5、NaCl 0.5、CaCl₂·H₂O 0.1。

B液的组成为(g/dl):Na₂CO₃ 15.0、Na₂S·9H₂O 0.1。

1.4.4 发酵培养

准确称取样品(0.400 0±0.000 2) g,倾入50 ml离心管中,同时每个时间段设置3个空白管;分别向每个培养管内加入缓冲营养液20 ml(用移液管沿管壁缓缓加入,边加边摇匀);用同样的方法向离心管中加入10 ml瘤胃液(以上操作缓冲液、瘤胃液、离心管均在39℃恒温水浴锅中由专人进行,并用三向导管不断通入CO₂);迅速用装有放气装置的胶塞塞紧离心管,并将其对应置于39℃恒温振荡水浴中按设计培养,每隔1 h放气一次。

1.5 测定指标及方法

1.5.1 pH值

尿素与乙酰氧肟酸不同配比培养液分别在发

酵培养0、1、2、4、6、10 h后取出,立即用铂磁PHS-2F型酸度计测定pH值;然后加入2滴饱和氯化汞,在4 000 r/min离心15 min,取上清液5 ml放入10 ml塑料离心管中,冷冻保存,以备氨氮测定。

1.5.2 NH₃-N含量测定

用比色法测定NH₃-N含量(冯宗慈,1993)^[5]。

1.5.3 干物质消失率

尿素与乙酰氧肟酸不同配比培养液分别在发酵培养1、2、4、6、10 h后取出,立即向每个离心管中加2滴饱和氯化汞,并将其用已知重量的260目尼龙网在古氏坩埚上过滤,离心管中物质用蒸馏水冲洗无损转移至滤布上过滤;将过滤残渣及滤布对应放于已知重量的铝盒,在105℃下烘干至恒重,做好相应记录。

2 结果与讨论

2.1 尿素与乙酰氧肟酸不同配比对培养液pH值的影响(见表3、图1)

表3 尿素与乙酰氧肟酸不同配比对培养液pH值的影响

培养时间(h)	A组	B组	C组	D组	E组
0	6.26	6.27	6.28	6.27	6.28
1	6.45	6.46	6.49	6.43	6.48
2	6.49	6.53	6.55	6.55	6.52
4	6.46	6.48	6.53	6.50	6.48
6	6.23	6.28	6.32	6.28	6.27
10	6.01	6.12	6.12	6.04	6.01

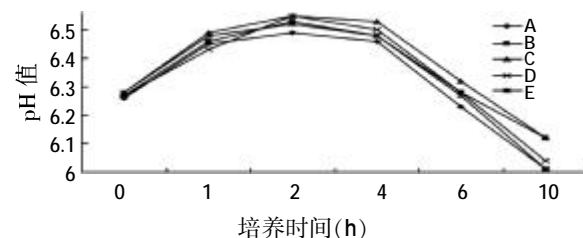


图1 尿素与乙酰氧肟酸不同配比对培养液pH值的影响

由表3、图1可知,各处理组不同时间段的pH值在6.01~6.55之间变动,且在培养1、2、4 h时各组pH值相应较高,4 h后逐渐下降。造成这种结果的原因一方面是氨氮浓度的急剧变化;另一方面是,随着培养时间的延长,产生的酸性物质不能排出而导致积累,从而使体系pH值下降,这也反映了体外法的不足。有研究表明,各种瘤胃细菌与原虫所产生酶类的最适pH值都在弱酸、弱碱范围内,瘤胃pH值变动在5.5~7.5之间,通常维持在6.0~7.0之间^[6];不同发酵时间的pH值与氨氮浓度有极显著的线性回归关系,不同发酵时间段氨氮浓度是导致发酵液pH值差异的重要原因之一^[7]。

2.2 尿素与乙酰氧肟酸不同配比对培养液NH₃-N浓度的影响(见表4、图2)

表 4 尿素与乙酰氧脲酸不同配比对培养液 NH₃-N 浓度的影响(mg/dl)

培养时间(h)	A组	B组	C组	D组	E组
0	0.69	0	0	0	0
1	25.50	38.71	38.29	32.93	27.40
2	27.98	33.84	34.19	32.10	34.52
4	23.69	24.35	25.58	17.69	18.35
6	0.83	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0

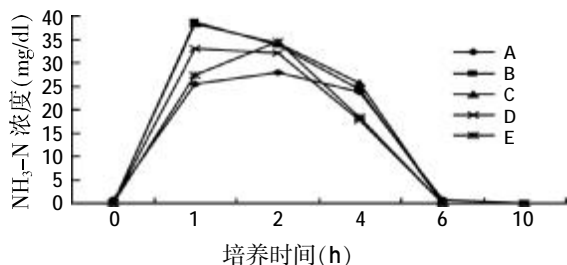


图 2 尿素与乙酰氧脲酸不同配比对培养液 NH₃-N 浓度的影响

由表 4、图 2 可知,在培养 1 h 后 B、C、D 处理组氨氮浓度出现高峰,随后缓慢下降,在 4 h 后又急剧下降;而 A、E 处理组在 2 h 后出现高峰,随后缓慢下降,这与前人报道的通常在饲喂尿素 2 h 后瘤胃内出现氨氮高峰相一致^[8];同样在 4 h 后又急剧下降,但 E 组下降异常迅速,这可能由于高比例的 AHA 影响了微生物的生长, AHA 能够抑制 NPN 的降解,且其作用时间有一定的范围,具体原因还须进一步的研究证明。A、E 处理组尿素降解较缓和,故从本试验结果可得出 A、E 处理组较其它组优越,但 B、C 组也有待考虑。

2.3 尿素与乙酰氧脲酸不同配比对培养液干物质消失率的影响(见表 5、图 3)

表 5 尿素与乙酰氧脲酸不同配比对培养液干物质消失率的影响(%)

培养时间(h)	A组	B组	C组	D组	E组
1	18.22	19.32	21.83	20.54	21.17
2	16.37	19.31	19.46	15.21	20.28
4	20.89	23.19	20.96	21.30	20.66
6	24.13	27.15	23.90	23.63	27.79
10	41.04	40.17	40.81	37.38	43.82

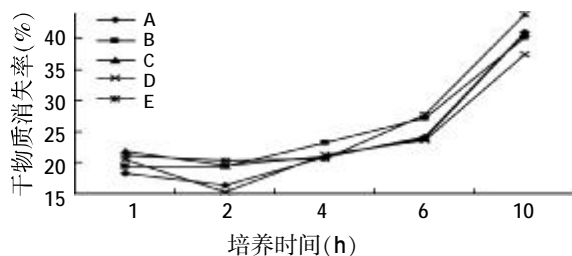


图 3 尿素与乙酰氧脲酸不同配比对培养液干物质消失率的影响

粗饲料在瘤胃中发酵产物是反刍动物主要的物质和能量来源,因而反刍动物对纤维物质的消化具有非常重要的意义。干物质消失率是体外发酵系统对某种饲料消化特性的综合反映,微生物所处的环境不同会影响干物质的消失率。饲料类型影响瘤胃内环境参数,从而影响纤维素酶活性,而纤维素降解酶的活性、酚酸的含量等影响微生物对纤维的黏附,进而影响纤维物质的降解率(Cheng,1995; Morgavi,2000; Chaves,1992 等)^[8,9]。

由表 5、图 3 可知,本试验不同配比处理对人工瘤胃环境造成影响,各处理组干物质消失率在培养 1~2 h 内有所下降(B 组基本无变化),这可能是培养液微生物经加样处理而活性受阻所致。微生物附着于样品需要时间,随着时间推移营养物质供应相对充足,微生物活性得以恢复,干物质消失率呈上升趋势,其中 B 处理组在 6 h 前干物质消失率呈平缓上升趋势。所有处理组在培养后期干物质消失率呈急剧上升趋势,而 E 处理虽然在 6、10 h 消失率较 B 处理组高,但前期较低,且 1~2 h 有降低的趋势;A、C、D 处理 1~2 h 降低较明显,且培养后期干物质消失率较低。故 B 处理组干物质消失率优于其它各组。

3 小结

综上所述,虽然 A、E 处理组尿素降解相对优越,而 B 处理组 pH 值变化范围较窄,干物质消失率较高,但结合动物对蛋白质需要,纤维物质的降解特性及经济效益,综合考虑尿素与乙酰氧脲酸的合理配比应为及处理的 1.5%与 25 mg/kg。

参考文献

- 1 Bloomfield. Kinetics of urea metabolism in sheep [J]. Anim. Sci., 1960,19:248
- 2 Cook A R. Urease inhibitor in the rumen of sheep and the isolation of ureolytic bacteria[J]. J. Gen. Mic.,1976,92:32
- 3 苏军,汪莉,何术伟.利用体外法研究两种脲酶抑制剂对瘤胃微生物脲酶活性的影响[J].饲料工业,2003,24(10):26~28
- 4 师喜雄.不同添加剂对苜蓿草渣青贮品质的影响[D].甘肃农业大学硕士学位论文,2005.20
- 5 冯宗慈.通过比色法测定瘤胃氨氮含量方法的改进[J].内蒙古畜牧科学,1993(4):40~41
- 6 韩正康,陈杰.反刍动物瘤胃的消化和代谢[M].北京科学出版社,1988
- 7 左福元,周克永,曾子健.体外试验研究尿素添加脲酶抑制剂对氨释放速率的影响[J].四川畜牧兽医学院学报,1994(2):5
- 8 郝正里,刘世明,孟宪政,等.反刍动物营养[M].兰州:甘肃民族出版社,2000
- 9 K. J. Sdoer, L. S. Saporito,W. L. Stout. Effect of by-product gypsum application rate to grass pasture, grass hay, and corn silage on fermentation by rumen microorganisms in continuous culture [J]. Animal Science and Technology,2005,132:331~340

(编辑:刘敏跃,lm-y@tom.com)

几种重要蛋白原料的掺假与鉴别

刘兴旺 王华朗

随着养殖业的迅猛发展,我国的饲料工业也不断发展壮大,饲料原料的贸易也日趋繁荣起来。而原料的优劣直接关系到饲料产品质量的好坏,没有好的原料就不可能制造出有较高饲料报酬的饲料,同时企业的声誉也势必受到影响,因此对饲料原料品质的评价和鉴定也显得日益重要。本文综述了一些常见饲料蛋白原料掺假的现状并提出了相应的鉴别和检测方法。

1 鱼粉

鱼粉是水产饲料中最重要的蛋白源。因加工方式的不同,鱼粉常被分为直火鱼粉和蒸汽鱼粉两种。优良的鱼粉呈淡黄色或黄褐色,干燥、不结块、质地蓬松,在显微镜下能够看到少量鱼刺和鱼骨,具有鱼粉正常的鱼腥气味,无异臭味及焦灼味;劣质或掺假鱼粉则手感湿润,有结块现象,异味较强。

目前鱼粉中的掺假现象非常普遍。一般来说,通过粗蛋白、真蛋白、灰分、盐分、钙、磷等常规的检测指标可以有效地控制鱼粉质量,对掺入尿素、食盐、砂土等降低鱼粉品质的掺假情况能够进行控制。但是,随着鱼粉掺假水平的不断提高,在掺入少量尿醛聚合物、血粉、羽毛粉和鞣革粉等物质后,用常规的检测方法很难发现。下面对当前鱼粉掺假中一些特定掺假物的鉴别方法作一些介绍,当通过感官或显微镜观察怀疑鱼粉中掺入某种物质时,可以作为鉴别的参考。

1.1 鱼粉中掺入植物物质的检测

凡植物来源的掺假物均含有淀粉和木质素。淀粉可与碘化钾反应,产生蓝色或蓝黑色化合物;木质素在酸性条件下可与间苯三酚反应,产生红色化合物。故利用上述两种反应,即可迅速检测鱼粉中是否含有植物来源的掺假物。

检测方法:①取被检鱼粉 1~2 g 放入试管中,加 4~5 倍蒸馏水加热至沸以浸出淀粉。冷却后,滴入 1~2 滴碘-碘化钾溶液(取碘化钾 6 g 加入 100 ml 蒸馏水中,再加入 2 g 碘,溶解后摇匀,置棕色瓶中保存),若

溶液立刻出现蓝色或黑蓝色,表明鱼粉中掺入淀粉。

②取被检鱼粉少许平铺入表面皿中,用间苯三酚液(2 g 间苯三酚溶于 100 ml 90%乙醇中)浸湿,放置 5~10 min,再滴加 2~3 滴浓盐酸,若试样中出现散布的红色点,说明鱼粉中掺入了含木质素物质。

1.2 鱼粉中掺入血粉的检测

血粉中含有铁质,该铁质具有类似过氧化物酶作用,能分解过氧化氢,放出新生态氧,使联苯胺氧化成联苯胺蓝,出现蓝色环、点。根据环、点的有无,即可判断出鱼粉是否掺入血粉。

检测方法:取少许被检鱼粉,放入白瓷皿或白色滴板中,加联苯胺-冰乙酸混合液数滴(1 g 联苯胺加入 100 ml 冰乙酸中,加 150 ml 蒸馏水稀释)浸湿被检鱼粉,再加 3%过氧化氢液一滴,若掺有血粉被检样即显深绿色或蓝绿色。

1.3 鱼粉中掺入双缩脲的检测

该法依据双缩脲在碱性介质中可与 Cu^{2+} 结合成紫红色化合物的原理,检测鱼粉中是否掺有双缩脲。

检测方法:称取被检鱼粉 2 g,放入 20 ml 蒸馏水中,搅拌均匀后静置 10 min,用干燥滤纸过滤。取 4 ml 滤液倒入试管中,加 6 mol/l NaOH 溶液 1 ml,再加 1.5% CuSO_4 溶液 1 ml,摇匀后立即观察,溶液显蓝色表示未掺,显紫红色说明掺有双缩脲,且颜色越深,掺入比例越大。

1.4 鱼粉中掺入鞣革粉的检测

鞣革粉中的铬经灰化后部分可变成 6 价铬,6 价铬在强酸溶液中能与均二苯胺基脲发生反应,生成紫红色水溶性铬——二苯硫代偕肼脲化合物。该反应极为灵敏,微量铬即可检出。

检测方法:取被检鱼粉 1~2 g 入瓷坩锅中,炭化后入茂福炉灰化。冷却后,加入少许蒸馏水将灰分湿润,加 2 mol/l H_2SO_4 溶液 10 ml 使之呈酸性,再加数滴均二苯胺基脲溶液(0.2~0.5 g 均二苯胺基脲溶于 90%乙醇中),片刻后若出现紫红色,即证明有鞣革粉掺入。

1.5 鱼粉中掺入羽毛粉的检测

1.5.1 取 2 份各 1 g 左右被检鱼粉倒入两只 500 ml 三角瓶中,一瓶加 1.25% H_2SO_4 溶液 100 ml,另一瓶加 5% NaOH 溶液 100 ml。然后煮沸 30 min(微火,并不断添

刘兴旺,广东恒兴集团科研中心,博士,524094,广东省湛江市麻章经济开发区金康中路。

王华朗,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-01-15

加蒸馏水以保持煮沸的酸碱浓度),静置,弃去上清液,用接种棒蘸取两瓶中残渣少许,分别置两个载玻片上,要求薄层摊开。在50~100倍显微镜下观察。

观察可见,经1.25% H_2SO_4 处理的残渣,掺入由浅色羽制得的水解羽毛粉,颜色呈金黄色;掺入由深杂色羽制得的水解羽毛粉,颜色是深褐至黑色。其镜下主要特征是:完全水解的羽毛粉呈半透明微粒状,像松香颗粒,颜色以黄为主,夹有灰色、褐色或黑色颗粒,光照时会反光;水解不完全的羽毛粉,羽干像半透明塑料管(有时为空心竹节状),呈黄、白至褐色,长短不一,表面光滑、透明,羽毛脱落处多有锯齿边,加热过度者消失。羽支呈长、短碎片,蓬松,半透明,光泽暗淡,呈白色或黄色,若加热过度呈黑色。羽小支呈粉状,呈白色或奶油色,40倍显微镜下为小而松脆的碎片,有光泽并结团。羽根呈圆扁管状,黄至褐色,粗糙、坚硬,有光滑的边。

一般优质水解羽毛粉的上述结构特点往往多被破坏,呈碎玻璃样小粒,所以镜检时应仔细搜索未水解羽毛或水解不完全羽毛,以利鉴别。然而经5% $NaOH$ 处理的被检样,因全部被溶,故无法见到任何羽毛痕迹。

1.5.2 取被检鱼粉10g倒入100ml烧杯中,加入四氯化碳80ml,搅拌后静置沉淀。将漂浮层倒入滤纸过滤,滤物用电风吹干。取少许风干滤物置载玻片上,于30~50倍显微镜下观察,除见有表面粗糙,具纤维结构的鱼肉颗粒外,掺有羽毛粉者尚可见或多或少的羽毛、羽干和羽管(中空、半透明)。经水解的羽毛粉,有的形同玻璃碎粒,质地如塑胶,呈灰褐或黑色。

1.6 鱼粉中掺入棉籽饼粕的检测

先将20目和40目分样筛叠放在一起,然后取被检鱼粉200g放入分样筛,摇筛3~5min,即将被检样分成粗、中、细3部分。观察中层40目筛上物,若见筛中央散布有细短绒棉纤维,相互团絮在一起,呈深黄或棕黄色,筛四周有不少深褐色棉籽外壳碎片,可初步证实鱼粉中掺有棉籽饼粕。

为进一步证实,可在30~50倍显微镜下观察,可见中央部分样品散布有细短棉绒纤维,该纤维卷曲、半透明、有光泽、白色,并混有少量深褐色棉籽壳碎片(厚、硬、具弹性),碎片断面有浅色或深褐色相交叠的色层。有时可见一些棉纤维仍附着在外壳上或埋在棉饼中。

此外,有经验的质检员可以通过显微镜发现和判

断大部分的掺假物。在显微镜下肌纤维较粗、颜色较深的,说明可能掺有肉骨粉;如显微镜下看到松碎的香块状物则可能为角质蛋白或水解角质蛋白(如水解羽毛粉、水解蹄角粉等);沥青块状物可能为血粉。细丝状、少骨头的鱼粉多掺有皮粉、皮革粉。有黑褐色块状物,并且一面粘附有白色丝状物,可能掺有棉籽饼粕。发现成粒菜籽或菜籽壳的说明鱼粉中掺有菜籽饼粕。如果鱼粉中掺入菜籽饼、棉籽饼,为使蛋白质含量不致过低,常同时掺入血粉、水解羽毛粉或角质蛋白粉。镜下所见的血粉和角质蛋白粉均呈红褐色和紫黑色的颗粒,边缘较锐利。鱼粉中掺入未经水解的羽毛粉,因其羽毛已卷曲成团粒不易观察,故需用蒸馏水浸润样品,放置10~30min后进行镜检,即可看到小羽梗上已经伸展的羽毛,水解不够完全的羽毛粉,也能看到小梗上少量残留的羽毛,完全水解的羽毛粉呈条状和各种粒状,呈无色、浅黄透明或黑褐色,质硬,而鱼肉纤维相对较软。用显微镜进行检测具有方便、简单、直观等特点,因此应该加强原料质检员的显微镜检测技术培训。通过显微镜检测,对鱼粉的掺假鉴别有事半功倍的效果。

2 豆粕

豆粕是大豆籽粒经压榨或溶剂浸提油脂后,经适当热处理与干燥后的产品。常用的豆粕一般为一次浸出豆粕,豆制品香味较浓。二次浸出豆粕中淡黄色粉末较多,像泥土或膨化的土坷垃状饲料。畜禽饲料中一般不用二次浸出豆粕,因为二次浸提破坏了氨基酸的平衡,有效蛋白质降低。质量优良的豆粕呈浅黄褐色或淡黄色,色泽一致,呈不规则的碎片状、粉状或粒状。若壳太多,则品质差,颜色浅黄表示加热不足,暗褐色表示热处理过度,品质较差。豆粕中常掺有泥沙、麸皮、碎玉米或沸石粉等物质。

豆粕质量控制中,除用国标的方法分析粗蛋白、粗脂肪、灰分等指标外,常用的掺假鉴别方法有以下几种。

2.1 感官鉴别法

纯豆粕呈不规则碎片状,浅黄色或淡褐色,色泽一致,偶有少量结块,闻之有豆粕固有香味。而掺入了沸石粉、玉米等杂质后,颜色浅淡,色泽不一,结块多,剥开后用手指捻可见白色粉末状物,闻之稍有豆香味,掺杂量大的则无豆香味。把样品粉碎后,再与纯豆粕比较,色差更是显而易见。在粉碎过程中,假豆粕粉尘大,装入玻璃容器中粉尘会粘附于瓶壁,而纯豆粕

则无此现象。用牙咬纯豆粕发粘,而掺有玉米的则脆而且有粉末。

2.2 水浸法

取需检验的豆粕(饼)25 g,放入盛有 250 ml 水的玻璃杯中浸泡 2~3 h,然后用木棒轻轻搅动。如果掺有泥沙,可看到豆粕(碎饼)与泥沙分层,上层为饼粕,下层为泥沙。

2.3 容重法

用四分法取样,然后将样品非常轻而仔细地放入 1 000 ml 量筒内,直到正好到 1 000 ml 处,用匙子调整好容积,然后将样品从量筒内倒出并称量。每一样品重复做 3 次,取其平均值为容重,单位为 g/l。一般纯豆粕容重为 594.1~610.2 g/l,将测得的结果与之比较,如果偏差较大,说明该豆粕掺假。

2.4 碘酒鉴别法

取少许豆粕(饼)放在干净的瓷盘中,铺薄铺平,在其上面滴几滴碘酒,过 1 min,其中若有物质变为蓝黑色,说明掺有玉米、麸皮、稻壳等。

2.5 生熟豆粕检查法

此法常用熟豆粕作原料,因生豆粕含有抗胰蛋白酶、皂角素等物质,影响畜禽适口性及消化率。方法是取尿素 0.1 g 置于 250 ml 三角瓶中,加入被测豆粕 0.1 g,加蒸馏水至 100 ml,加塞后于 45 ℃水中温热 1 h,取红色石蕊试纸一条浸入此溶液中,如石蕊试纸变为蓝色,表示豆粕是生的;如试纸不变色,则豆粕是熟的。

2.6 镜检法

取待检样品和纯豆粕样品各一份,置于培养皿中,并使之分散均匀,分别放于显微镜下观察。在显微镜下可观察到:纯豆粕外壳的外表面光滑,有光泽,并有被刺时的印记,豆仁颗粒也无光泽,不透明,呈奶油色;而玉米粒皮层光滑,半透明,并带有似指甲纹路和条纹,这是玉米粒区别于豆仁的显著特点,另外,玉米粒的颜色也比豆仁深,呈桔红色。

3 花生粕

花生粕是以脱壳花生果为原料,经过有机溶剂提取或预压浸提法提取油脂后的副产品,为淡褐色或深褐色,其形状为小块状或粉状,含有少量花生壳。花生粕常见掺杂物有泥土、砾石等较重的物质以及花生壳粉等。其一般鉴别方法如下。

3.1 常规检测法

正常花生粕的粗蛋白含量一般在 40%以上,灰分含量应该在 7%以下。因此通过检测其水分、粗蛋白和

灰分含量等是控制其质量的较好方法。

3.2 感观识别法

正常的花生粕除通过看、嗅等方法外,用手抓有疏松的感觉,掺假花生粕颜色黯淡,用手抓感觉较沉。

3.3 盐酸法

正常花生粕加入适量 10%的盐酸,不产生气泡;掺入砂石等物质的花生粕加入 10%的盐酸,会有大量的气泡产生。

3.4 掺入花生壳粉的识别

取样品 1 g,置于 500 ml 三角瓶中,加入 5%的氢氧化钠溶液 100 ml,煮沸 30 min 后加水至 500 ml,静置,弃去上清液,再加 200 ml 水,再煮沸 30 min。取残渣在 50~100 倍显微镜下观察,如见到不定形的黄褐色乃至暗褐色破片,在外表皮上斜交叉有细纤维,则掺有花生壳粉。

此外,在我国华南部分地区用一次压榨的方法提取花生仁中的油脂,提取油脂后的产品则被称为花生仁饼,其形状为薄片状,粗蛋白及含油量均较花生粕高,掺假现象比较少见。

4 菜籽粕

菜籽粕是由菜籽榨油残渣加工而成,其价格相对较低,一般掺假较少。正常菜籽粕为黄色或浅褐色,色泽新鲜一致,粗粉状,且有菜籽粕油香味,无发酵、发热、结块及异味等现象。在显微镜下,可见种皮碎片互相分离,种皮薄,质地脆,无光泽。其蛋白含量应高于 35%,灰分应小于 14%,若超过此范围,则极有可能掺入砂石、黄土等杂物。其一般鉴别方法如下。

4.1 感观检查

正常的菜籽粕为黄色或浅褐色,具有浓厚的油香味和一定的油光性,用手抓时有疏松感觉。掺假菜籽粕油香味淡,颜色也暗淡无油光,用手抓时感觉较沉。

4.2 盐酸检查

正常菜籽粕加入适量 10%的盐酸,没有气泡产生,掺假菜籽粕则有大量气泡产生。

4.3 四氯化碳检查

取一梨形分液漏斗或小烧杯,放入 5~10 g 菜籽粕,加入 100 ml 四氯化碳,用玻璃棒搅拌后静置 10~20 min,菜籽粕比重比四氯化碳小,所以菜籽粕漂浮于四氯化碳表面,而矿砂、泥土等比重较大,故沉于底部。将沉淀物分离开,放入已知重量的称量盒中,将称量盒放入 10 ℃烘箱中烘 15 min,取出后置干燥器中冷却称重即可算出掺假物含量,正常的应该在 1%以

下,若有掺假,其含量可达到 5%~15%。

5 棉籽粕

棉籽粕是棉籽去掉棉绒浸取油后的残渣,颜色一般为红褐色或黄褐色,为不规则的片状物。棉籽饼粕在显微镜下,可以看到棉籽外壳碎片上附有半透明、有光泽、白色的纤维,壳褐色至深褐色,类似阶梯状的色层。棉粕因产地不同,加工的工艺流程不一样,导致生产的棉粕颜色、质量也不同,因此其质量控制应根据具体情况具体分析。

棉粕中的主要掺假物有红土、膨润土、褐色沸石粉或砂石粉,也有用钙粉、各色土、麸皮、米糠、稻壳经加工制粒、着色制成“棉粕料”的。对于上述的掺假现象,用感官检查配合水浸法鉴别比较容易,也比较准确。

6 肉骨粉及肉粉

肉骨粉是指用动物杂骨、下脚料、废弃物等经高温处理、脱脂、干燥和粉碎加工后的产品。而将碎肉、内脏、胚胎、软骨等经粉碎、蒸煮、压榨,尽可能分离出脂肪,残余物干燥后制成粉末,称为肉粉。肉粉与肉骨粉并无严格的区别,一般地将含磷量高于 4.4%的称为肉骨粉,含磷量低于 4.4%的称为肉粉,也可以通称为肉骨粉。

肉骨粉一般为金黄色至淡褐色或深褐色,含脂肪高时,色较深,过热处理时颜色也会加深,一般用猪骨肉制成者颜色较浅;有新鲜的肉味,并具有烤肉香及牛油或猪油味;正常情况下为粉状,内含小骨块。

在体视镜(数码液晶显微镜)下观察,可以看到肌肉纤维有条纹,白色至黄色,表面有较暗及较淡的区分。畜骨小骨块颜色较白,较硬,形状为多角形,组织致密,边缘平整,内有点状(洞)存在;禽骨为淡黄色或白色椭圆长条形,较松软,易碎,骨头上孔较大。腱为小片颗粒,形状不规则,半透明,呈黄色至黄褐色,质硬,表面光泽暗淡。血呈破碎球体形,形状不规则,黑色或深紫色,难于破碎。毛为长短不一的杆状,红褐色、黑色或黄色,半透明,坚韧而弯曲。一般饲料企业采用如表 1 所示的质量标准控制肉骨粉的质量。

表 1 不同等级肉骨粉的质量标准

项目	一级	二级	三级
颜色	褐色或黑褐色	灰褐色或浅褐色	灰色或浅棕色
气味	具固有气味	无异味	无异味
粗蛋白(%)	≥26.0	≥23.0	≥20.0
水分(%)	≤9.0	≤10.0	≤12.0
粗脂肪(%)	≤8.0	≤10.0	≤12.0
钙(%)	≥14.0	≥12.0	≥10.0
磷(%)	≥8.0	≥5.0	≥3.0

掺假者为牟取暴利,经常添加的有羽毛粉、血粉、皮革粉等一些粗蛋白含量很高、利用率很差的廉价原料,来提高肉粉及肉骨粉蛋白含量。也有部分掺假者用一些植物性杂粕填充到肉骨粉中,以次充好,欺骗用户。其常见的鉴别方法如下。

6.1 肉骨粉中羽毛粉的识别

取肉骨粉 10 g,放入 100 ml 高型烧杯中,加入四氯化碳 80 ml,搅拌后放置沉淀,将漂浮层倒入滤纸过滤。将滤纸上样品用电风吹干,取少许置培养皿中,在 30~50 倍显微镜下观察,除见表面粗糙且有纤维结构的肌肉颗粒外,若见羽毛、羽干、羽管(中空,半透明)或形同玻璃碎粒,质地与硬度如塑胶,呈灰褐色或黑色的物质,则样品含有羽毛粉或水解羽毛粉。

6.2 肉骨粉中血粉的识别

取肉骨粉 1~2 g 置于烧杯中,加水 5 ml,搅拌后静置数分钟过滤。取一试管,加 N,N-二甲基苯胺粉末少许,再加约 2 ml 冰醋酸,待溶解后,加入 3%的过氧化氢溶液(现用现配)2 ml。将样品过滤液徐徐注入试管,如两液接触面出现绿色的环或点,说明有血粉存在。

6.3 肉骨粉中贝壳粉的识别

取 0.5~1 g 样品,在培养皿中铺成薄薄的一层,用 20~50 倍显微镜观察,颗粒质硬,表面光滑,不透明,白色、灰色或粉红色,光泽暗淡或半透明,有些颗粒外表面具有同心或平行的线纹,则掺有贝壳粉。

6.4 肉骨粉中皮革粉的识别

取 2 g 粉碎的肉骨粉样品放入瓷坩埚内,在茂福炉中灰化,冷却后用水润湿。依次加入 10 ml 浓氢氧化钠、4 滴 3% 双氧水、5 ml 戊醇,最后加入足量浓硫酸将溶液酸化,有蓝色出现表明肉骨粉中掺有鞣革粉。

另外,正常肉骨粉的钙含量应为磷量 2 倍左右,比例异常者即有掺假的可能;灰分含量应为磷量的 6.5 倍以下,否则也有掺假的嫌疑。此外,肉骨粉与肉粉含脂肪较高,易变质,使用时必须重点嗅其是否有腐臭味等异味,最好检测其酸价、过氧化物价等。

(参考文献作者略)

(编辑:崔成德, cuicengde@tom.com)

豆粕中尿素酶活性检测方法的应用推广

谭宝玲 冯建文 陈丽

豆粕的加工过程是影响豆粕质量的关键,加热过程可使蛋白质适度变性,使大部分热不稳定抗营养因子钝化和失活,消除抗营养因子对动物的危害,提高氨基酸消化率,因此加热程度是影响豆粕品质的重要因素。

大豆加工时加热不足或加热过度都影响豆粕质量,我们通常用“生、熟”表示。大豆加热时间过长,虽然能使抗胰蛋白酶抑制剂等抗营养因子钝化或失活,尿素酶活性很低,但蛋白质完全变性,蛋白溶解性降低,氨基酸消化率低,豆粕的营养价值亦降低;大豆加热不足或不加热,抗营养因子含量高,其对动物的危害更大。有研究表明,豆粕蛋白质溶解度在66%~85%为加热适中,大于85%为加热不足,小于65%为加热过度。

尿素酶是豆粕中含有的几种天然酶类之一,其本身不是抗营养因子,但它作用于豆粕和动物机体中的尿素和含氮物质,使其分解产生 NH_3 和 CO_2 ,对动物有间接性危害。它在豆粕中的含量与抗胰蛋白酶抑制剂等抗营养因子的含量成正比,加热过程使抗营养因子钝化或灭活时,也使尿素酶活性降低甚至失活,因而尿素酶活性的大小可以表示抗营养因子受到的破坏程度,采用测定豆粕中尿素酶活性的方法能作为评定大豆粕加工程度是否适当及营养品质好坏的依据。

对于豆粕质量判断,国标GB10380—89中有明确规定。该标准不仅规定了豆粕的感观性状、水分、杂质标准,并依据豆粕中粗蛋白质、粗灰分、粗纤维的含量对豆粕质量划分等级;该标准还要求对豆粕进行尿素酶活性的测定,确立了尿素酶活性的定义,要求尿素酶活性 ≤ 0.4 个活性单位,以检测结果作为最终评定豆粕的品质。

1 豆粕中尿素酶活性常见的三种检测方法

豆粕中尿素酶活性的测定是根据酶水解尿素产氨量测定方式来进行,常用的方法是pH增值法、酚红法和国家标准法。

1.1 pH增值法(ΔpH 法)

本法是用磨碎的豆粕与尿素缓冲溶液混合,溶液的pH值因尿素被酶水解作用产生的氨发生改变,测定溶液的pH值改变值,间接表示产生的氨含量,从而表示豆粕中尿素酶活性的强度。

1.2 酚红法(快速检测法)

酚红指示剂的变色范围是pH值6.4~8.2之间,氨可使得酚红由无色变为红色。快速检测法是将酚红-尿素混合指示液与豆粕试样混合,根据酚红的变红时间长短和豆粕表面变红面积大小来判断尿素酶活性的大小。

判断结果一般变红时间为5~25 min之间,豆粕表面积约有1/4为红色覆盖,则尿素酶中度活性,豆粕加工适中,品质较好;若 < 5 min变红,有1/2面积为红色,则豆粕过生,尿素酶活性很强,豆粕不可用;若 > 25 min变红或豆粕表面没有变红,则豆粕过熟,此豆粕仍可使用,但营养价值下降。此法多用于豆粕生产或采购现场的快速测定。

1.3 国家标准法

国标法把尿素酶活性的单位定义为:在 (30 ± 0.5) ℃和pH值为7的条件下,每分钟每克大豆制品分解尿素所释放的氨态氮的毫克数,表示为U。方法是将粉碎的大豆制品与中性尿素缓冲溶液混合,在30℃保持30 min,尿素酶催化尿素水解产生氨的反应,用过量盐酸中和所产生的氨,再用氢氧化钠标准液回滴。具体的操作见GB/T8622—1988。

尿素酶活性国标检测方法严谨,对酶的活性表示直观、准确,操作步骤简单,在各饲料企业的建立能够更直接、更有效地监控豆粕的质量,作为仲裁法值得推广应用,有利于饲料的生产。

2 尿素酶活性检测的意义

尿素酶作为一种水解酶,它具有一切酶类特有的特性,对热敏感,因而此酶用作豆粕热处理的指标。由于尿素酶活性容易检测,所以常以“尿素酶活性”的大小来表示豆粕中抗营养因子的破坏程度。

4组由生到熟的豆粕用国标法、 ΔpH 增值法和酚红法测得的数据比较见表1,从表1可以看出这三种方法之间存在很强的正相关性^[3]。

谭宝玲,广东温氏食品集团有限公司,高级饲料检验化验员,527439,广东省云浮市新兴县勒竹镇。

冯建文、陈丽,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-01-23

表 1 三种检测方法的结果比较

组号	酚红法(豆粕面积比)(%)	国标法(U)	ΔpH 增值法(ΔpH)
1	5~10	0.09	0.07
2	20	0.16	0.27
3	30	0.32	0.41
4	40	0.49	0.55

尿素酶活性并非越低越好,尿素酶活性为零的豆粕氨基酸利用率较低,是家禽和猪的劣质蛋白,一般不用于家禽与猪的饲料中。

尿素酶活性高于国标规定的 0.4 U 也不意味着豆粕加工不够,只是认为尿素酶活性 0.4 U 是最高限额,尿素酶不应过高,这对家禽与猪的日粮消化有利。

表 2 蛋白溶解度与尿素酶检测数据

组号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
蛋白溶解度(%)	80.64	79.32	82.21	78.58	80.87	77.27	80.26	82.46	82.46	85.18	85.58	80.88
快速检测法(变红时间,min)	3	6	7	10	10	18	18	22	27	>30	>30	>30
国标方法(U)	0.12	0.16	0.11	0.06	0.08	0.05	0.06	0.07	0.03	0.04	0.05	0.02

速检测法时,随着时间从短到长的增加,其尿素酶活性由大到小,豆粕从过生逐步到过熟;②蛋白溶解度并不随着时间的变化而发生相应的变化;③用国标方法时,随着时间的增加,其尿素酶活性数据也随着从大到小逐步变化。从蛋白溶解度与尿素酶快速检测法两个方面去判定豆粕的质量,虽然存在一定的相关性,但是相关性不是很明显;从蛋白溶解度与国标法两个方面去判定豆粕的质量,没有相关性;从快速法与国

一般认为豆粕中抗营养因子只要灭活 80%~85%即能达到最佳营养价值。

3 豆粕蛋白溶解度与尿素酶活性检测的相关性

一般的饲料企业对豆粕的检验除了水分、粗蛋白、粗灰分的测定外,只通过检测蛋白溶解度来衡量豆粕的生熟度,对豆粕中的尿素酶没有进行检验,这是对豆粕质量监控时的不足之处。

本实验室对公司所购进的豆粕分别进行蛋白溶解度与尿素酶活性测定,按尿素酶快速检测法所测得的变红时间分成 12 个组,有关检测数据见表 2。

对检测数据进行分析,我们发现:①用尿素酶快

标法两个方面去判定豆粕的质量,其相关性很强。

由此得出结论,蛋白溶解度与尿素酶活性没有多大相关性,用蛋白溶解度对豆粕质量的监控没有起到直观作用,尿素酶活性能够直观判断豆粕的生熟度。

4 豆粕尿素酶活性检测方法的推广及意义

豆粕中的抗营养因子对畜禽的生长、健康影响极大,直接影响了饲料业和养殖业的发展。有研究表明豆粕热处理对育雏有很大的影响(见表 3)^[4]。

表 3 豆粕热处理对育雏的效果

处理	尿素酶活性(ΔpH 法)	初体重(g)	增加体重(g)	料重比	胰脏重(g)	水溶性氮指数
加热适应	0.20	67	308	2.6	1.57	0.85
过分加热	1.70	67	254	3.0	1.77	2.14
不处理	1.90	67	121	4.4	1.97	6.85

由表 3 可见,豆粕中抗营养因子阻碍了幼雏的体重增加,育雏的料重比增大,同时造成胰脏肥大。

因此,饲料企业有必要开展尿素酶活性的检测工作。各饲料企业在对豆粕实行采购或购进入库时,应在现场采用尿素酶快速检测法进行初步检验,并抽样送检,应由实验室进行尿素酶活性国标检测方法直观测定,根据结果直接评定豆粕品质。

尿素酶活性检测方法监控豆粕的质量,能够及时判断豆粕品质的好坏,避免劣质豆粕在饲料生产中使用,预防饲料质量问题引起动物的不良反应。

参考文献

1 GB/T8622—1988.大豆制品中尿素酶活性测定方法.饲料工业标准

汇编 2002(上册),中国标准出版社

2 NY/T131—1989.饲料用大豆粕(原 GB10380—1989).饲料工业标准汇编 2002(上册),中国标准出版社

3 吴新民.豆粕中抗营养因子及抗营养机理的研究进展.浙江畜牧兽医,2004(4):14~16

4 刘德芳.配合饲料学.北京:农业大学出版社,1992

5 刘晓光.尿素酶活性对大豆饼粕正确加工的影响及其现场测定.饲料工业,1998,19(3):42~43

6 陈建欣.大豆粕中尿素酶活性及测定方法的探讨.吉林粮食高等专科学校学报,2005,20(4):1~4

7 周坚成.豆粕脲酶活性的快速测定及其对肉用仔鸡生长的影响.饲料工业,2000,21(5):21~23

(编辑:崔成德,cuicengde@tom.com)

日粮中添加复方中草药添加剂对产蛋后期蛋用种母鸡繁殖性能和新城疫抗体效价的影响

柏华 牛竹叶 高玉鹏 刘福柱 李龙

摘要 试验研究了补益类中草药对淘汰蛋用种母鸡繁殖性能和新城疫抗体效价的影响。将360羽72周龄蛋用种母鸡随机分为4组,每组5个重复,每个重复18羽鸡。对照组饲喂基础日粮,试验I、II、III组分别在基础日粮中添加了1%的补益中草药方剂I、II、III,试验期为7周,观察三种方剂对正常淘汰的蛋用种鸡繁殖性能和免疫功能的影响。结果表明:试验I、II、III组和对照组相比产蛋率分别提高2.45%、6.3%、5.1%,差异不显著($P>0.05$);破蛋率和对照组相比分别降低了26.1%、26.86%、18.7%,差异不显著($P>0.05$);蛋形指数和蛋壳厚度均差异不显著($P>0.05$);试验I、II、III组受精率分别比对照组提高了1.58%、4.42%、1.47%,试验II组的受精率显著高于对照组($P<0.05$);试验I、III组死精率分别比对照组降低了41.98%、38.93%,差异不显著($P>0.05$);试验I、III组受精蛋孵化率均显著高于对照组($P<0.05$),试验II组和对照组差异不显著($P>0.05$);试验组新城疫抗体效价在大多数时间均比同期对照组高,第1周时,试验II、III组显著高于对照组($P<0.05$);第6周时,试验III组显著高于对照组($P<0.05$)。

关键词 蛋用种鸡;中草药方剂;繁殖性能;抗体效价

中图分类号 S816.79

随着化学合成药物添加剂对动物及其产品所造成的危害凸现,人们寻求新型饲料添加剂愿望越来越迫切。中草药添加剂以其天然、无污染的特点而倍受畜牧研究者的关注。用中草药添加剂替代抗生素等化学类添加剂在商品蛋鸡和肉鸡上的研究已很多,但在产蛋后期蛋用种母鸡上的研究还未见报道。随着机体的衰老,蛋鸡到了产蛋后期,生殖机能衰退,产蛋率逐渐下降。对种母鸡来说其生产性能还表现在繁殖方面。产蛋后期种蛋鸡的免疫力下降,从而降低种蛋的孵化率。研究表明,许多中药和中药成分具有增强免疫功能的作用。培育一批种鸡是一个完全的投入过程,如果在产蛋后期蛋用种母鸡日粮中添加中草药方剂能提高其产蛋率和繁殖率,则可延迟蛋用种母鸡的淘汰,提高种母鸡的利用年限,从而降低饲养成本。本试验旨在探讨补益中草药方剂对种母鸡生产性能和新城疫抗体效价的影响。

1 材料与方法

1.1 试验地点与时间

试验在西北农林科技大学动物科技学院种鸡场进行。时间从2005年11月23日~2006年1月12日。

1.2 中草药方剂的组成

三种补益中草药方剂组成: I号方剂是由补中益气汤调整而来,主要有当归、黄芪、陈皮、淫羊藿、益母草、五味子等; II号方剂是由四物汤和补中益气汤调整而来,主要有当归、黄芪、川芎、白术、淫羊藿、益母草、陈皮等; III号方剂是根据产蛋后期种母鸡的生理特点自制的,主要有党参、当归、黄芪、淫羊藿、益母草、女贞子、茯苓等。上述各种药材均购自陕西杨陵中药门市部,经检验合格,各味中药按处方称好后,粉碎过60目筛,用塑料包装,阴凉处保存。

1.3 日粮组成及试验设计

试验为单因子试验。将360羽72周龄健康状况良好,体重和产蛋率相近的尼克红蛋用种母鸡随机分为4组,每组5个重复,每个重复18羽鸡。对照组饲喂基础日粮; 试验I组饲喂基础日粮加1%的处方I添加剂; 试验II组饲喂基础日粮加1%的处方II添加剂; 试验III组饲喂基础日粮加1%的处方III添加剂。预试期1周,并做调整,使得各组繁殖性能差异不显著($P>0.05$)。基础日粮是西北农林科技大学种鸡场蛋鸡全价日粮,

柏华,西北农林科技大学动物科技学院,712100,

牛竹叶、高玉鹏、刘福柱(通讯作者)、李龙,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-01-23

★ 基金项目:陕西省农业攻关项目“杨凌绿色鸡蛋产品生产基地配套技术示范研究”(2004K02-G11-06)

其组成及营养成分见表 1。

表 1 蛋用种母鸡日粮组成及营养水平

项目	含量(%)	营养水平	
玉米	61	代谢能(MJ/kg)	9.31
麸皮	2	粗蛋白(%)	12.85
豆粕	17	钙(%)	3.68
棉粕	2.5		
菜粕	2.5		
油脂	1		
石粉	8		
预混料	6		
合计	100		

1.4 饲养管理及样品采集

试验鸡采用双层阶梯式笼养,每笼两只。人工饲喂,每日于清晨 8:00 和下午 14:00 分别饲喂干粉料。自由饮水。光照采用自然光照加人工照明,每天保持光照 15~16 h。定时清粪、通风。每天上午 10:00 和下午 16:30 人工捡蛋。

试验开始时,全群以 0.5 ml/只,胸部肌肉注射新城疫、传染性支气管炎二联油乳剂灭活苗(南京瑞康畜禽生物技术有限公司生产),分别于第 7、14、28、35、42 d 早上从每个重复随机取 4 只鸡,翅静脉采血,分离血清,并置 4℃冰箱中保存,测定新城疫抗体滴度。于试验结束前一周从每试验组随机收集种蛋 150 枚,做标记后,同其它种蛋一起进行孵化,统计受精率、死精率和孵化率。试验结束前 3 d,每重复随机收集两枚蛋,进行常规指标的测定。预试期为 1 周,观察鸡群健康状况,统计每天的产蛋率和采食量。试验期为 7 周,试验期间各组鸡除添加中草药方剂外,饲养管理一致。

1.5 测试指标及方法

1.5.1 生产性能的测定

测定产蛋率、耗料量、蛋重。

1.5.2 蛋品质的测定

测定蛋壳厚度、蛋形指数、破蛋率。

1.5.3 繁殖性能的测定

测定受精率、死精率、受精蛋孵化率。

1.5.4 抗 NDV 特异血清抗体效价的测定

采用半微量血凝抑制试验(HI)(阴天榜,1999),抗体效价用 $\log_2 X$ 表示。

1.6 数据统计处理

所有数据用 Excel 处理,结果用 SAS 软件进行单因素方差分析,差异显著后再用 LSD 法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 生产性能(见表 2)

表 2 复方中草药添加剂对蛋用种母鸡生产性能的影响

项目	对照组	试验 I 组	试验 II 组	试验 III 组
产蛋率(%)	57.1±0.026 ^a	58.5±0.061 ^a	60.7±0.063 ^a	60.0±0.072 ^a
平均蛋重(g)	59.42±2.02 ^a	60.14±3.33 ^a	58.82±1.35 ^a	60.28±2.86 ^a
耗料量(g)	107.0±3.63 ^a	108.7±2.48 ^a	111.3±4.73 ^a	110.4±6.11 ^a

注:同行肩标相同小写字母表示差异不显著($P>0.05$),肩标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),下表同。

由表 2 可见,各试验组鸡的产蛋率和对照组相比,均有所提高,试验 I、II、III 组的产蛋率分别比对照组提高了 2.45%、6.3%、5.1%,经统计分析,差异不显著($P>0.05$)。平均蛋重以试验 III 组最高,为 60.28 g,最低为试验 II 组,58.82 g,统计分析差异不显著($P>0.05$)。耗料量各组差异不显著($P>0.05$),以试验 II 组最高,对照组最低。

2.2 蛋品质(见表 3)

表 3 复方中草药添加剂对蛋品质的影响

项目	对照组	试验 I 组	试验 II 组	试验 III 组
破蛋率(%)	5.942±0.017 ^a	4.389±0.022 ^a	4.346±0.016 ^a	4.829±0.014 ^a
蛋壳厚度(μm)	0.371±0.022 ^a	0.392±0.031 ^a	0.401±0.020 ^a	0.381±0.022 ^a
蛋形指数	0.766±0.007 ^a	0.760±0.021 ^a	0.754±0.006 ^a	0.756±0.073 ^a

由表 3 可见,各试验组破蛋率比对照组均有所降低,分别降低了 26.1%、26.86%、18.7%,但差异不显著($P>0.05$)。蛋壳厚度和蛋形指数均差异不显著($P>0.05$)。

2.3 繁殖性能(见表 4)

表 4 复方中草药添加剂对受精和孵化效果的影响(%)

组别	无精率	受精率	死精率	受精蛋孵化率
对照组	4.7±1.8 ^a	95.1±1.7 ^b	13.1±6.8 ^a	86.4±6.9 ^b
试验 I 组	3.3±2.4 ^a	96.6±2.4 ^b	7.6±3.3 ^a	94.7±3.4 ^a
试验 II 组	0.7±1.5 ^b	99.3±8.2 ^a	12±27.9 ^a	89±4.1 ^{ab}
试验 III 组	3.5±0.8 ^a	96.5±97.2 ^b	8±41.1 ^a	93.3±2.6 ^a

注:同列肩标相同小写字母表示差异不显著($P>0.05$),肩标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),下表同。

由表 4 可见,各试验组的无精率和对照组相比,都有所降低,试验 I、II、III 组的无精率分别比对照组降低了 29.8%、85.1%、25.5%,统计结果表明,试验 II 组的无精率显著低于其它各组($P<0.05$)。各试验组受精率和对照组相比均有提高,试验 I、II、III 组的受精率分别比对照组提高了 1.58%、4.42%、1.47%,统计结果显示,试验 I、III 组和对照组差异不显著($P>0.05$),试验 II 组和对照组差异显著($P<0.05$)。各组死精率差异不显著($P>0.05$)。各试验组受精蛋孵化率和对照组相比均有提高,其中试验 I、III 组显著提高了受精蛋孵化率($P<0.05$)。

2.4 新城疫抗体滴度(见表 5)

表5 复方中草药添加剂对新城疫抗体滴度的影响(log₂)

组别	第一周	第二周	第三周	第四周	第五周	第六周
对照组	1.045±0.27 ^b	7.831±0.89 ^b	9.032±1.21 ^a	10.17±0.65 ^a	11.47±1.26 ^a	8.689±0.65 ^b
试验Ⅰ组	1.811±0.53 ^{ab}	9.013±0.43 ^a	8.671±1.13 ^a	10.45±0.39 ^a	11.63±1.23 ^a	8.951±1.34 ^b
试验Ⅱ组	2.093±0.52 ^a	8.871±0.18 ^a	8.783±1.15 ^a	10.33±1.18 ^a	12.02±1.49 ^a	9.746±0.71 ^{ab}
试验Ⅲ组	2.304±0.82 ^a	8.809±0.84 ^a	9.051±0.71 ^a	10.02±1.22 ^a	11.53±0.73 ^a	10.22±0.57 ^a

由表5可见,各试验组的新城疫抗体效价在多数时间比同期对照组高,表明三种中草药添加剂均能提高NDV-IV系苗的免疫抗体效价。试验组的新城疫抗体效价在第1周时比对照组的抗体效价高,试验Ⅱ、Ⅲ组显著高于对照组(P<0.05);到第2周时,3个试验组的抗体效价均显著高于对照组(P<0.05);对照组和试验组的峰值均在第5周出现,试验组的峰值均高于对照组,但差异不显著(P>0.05);第6周时,对照组和试验组抗体水平均开始下降,试验组下降得比对照组慢,试验组的抗体水平均高于对照组,其中试验Ⅲ组的抗体水平显著高于对照组(P<0.05)。

3 讨论

3.1 中草药方剂对生产性能的影响

现代药理学已证明,淫羊藿具有肾上腺皮质激素和性激素样作用,能促进子宫内膜增厚和卵巢激素的分泌,并能补气壮阳,养血滋阴,改善全身功能等。蛇床子有温肾壮阳作用,其浸膏给小白鼠皮下注射,可使小白鼠子宫及卵巢重量增加;当归、益母草对输卵管有兴奋作用,可促进排卵。本试验的3个中药方剂中均以淫羊藿和益母草为主药。试验结果表明,试验组的3种中草药方剂对产蛋后期蛋用种母鸡的产蛋率未见明显影响(P>0.05),表明这3种复方中草药方剂对产蛋后期蛋用种母鸡的生产性能影响不明显。3种中药方剂均以补益类为主,和马得莹等(2005)报道的女贞子、五味子、四物汤等补益类中草药对常温下蛋鸡生产性能没有明显影响相一致;与前人(李文学等1997;申瑞玲等,2000)报道的中草药添加剂显著提高蛋鸡生产性能的结果不一致;中药方剂Ⅲ中也辅有泄下的药,结果与褚耀诚等(2005)报道的补泻结合的复方中草药极显著提高了175日龄海兰灰蛋鸡的产蛋率不一致。这种结果可能和以下两种原因有关。
①试验鸡的周龄不同:申瑞玲等是在蛋鸡52周龄进行的试验,李文学等是在66周龄,褚耀诚等是在175日龄进行的,本试验的试验鸡为72周龄。
②突发事件:本试验在进行到第4周时,试验鸡场爆发了全群的呼吸道疾病,使得鸡场的所有产蛋鸡产蛋率急剧下降,影响了试验结果。鸡群在疫病后的恢复期,试验组产蛋率均比对照组恢复得快。本试验的结果和前人报道不一致的原因还有待进一步的试验验证。

3.2 中草药对繁殖性能的影响

本试验结果表明,试验组的3种中草药方剂均改善了产蛋后期蛋用种母鸡的受精率和出雏率,改善的程度不同。试验Ⅱ组显著降低了种蛋的无精率,提高了受精率(P<0.05),而未提高种蛋的出雏率。可能的原因是试验Ⅱ组未改善种蛋的死精率(P>0.05)。试验Ⅰ、Ⅲ组因降低了无精率和死精率而提高了种蛋的出雏率,和张永英(2000)使用中草药添加剂显著提高种蛋孵化率的结果一致。

3.3 中草药对免疫功能的影响

一些常用的中草药都兼有营养和药理双重作用,富含蛋白质、氨基酸、维生素、微量矿物元素等营养成分。现代药理学已证明,黄芪具有调节机体新陈代谢,增强全身免疫功能等作用。陈明如(1996)报道,补益类中草药具有刺激免疫系统,提高免疫系统组织细胞活性,增强免疫细胞生长及抗体合成的作用,从而增强机体的免疫机能。马得莹等(2004)研究发现饲喂当归、党参、五味子的动物HI抗体水平较高,表明这几种中草药具有抗病毒作用。机体的抗体水平高低是评估免疫状况的重要指标之一。本试验在给试验组饲喂三种方剂的补益类中草药后,分别于鸡群接种ND油苗后1~6周每周采血一次,测定血清中HI抗体水平,以研究三种中草药添加剂对HI抗体产生变化的规律。从试验结果来看,三种方剂均不同程度地提高了HI抗体水平,和张述斌(2004)报道的黄芪多糖、淫羊藿多糖不但对鸡新城疫疫苗诱导的体液免疫有显著的增强作用,还可使血清特异性抗体效价明显增高相一致。从抗体的产生过程来看,试验组的抗体水平出现的快,峰值出现的更高,峰值过后抗体水平下降的速度比对照组慢,抗体水平维持的时间更持久,同张述斌(2004)报道的相同。

4 结论

有以上的试验结果可以得出以下结论:①3种复方补益类中草药添加剂均能改善繁殖性能,以复方Ⅰ较好;②试验Ⅲ组鸡的HI抗体效价较高;③3种复方补益类中草药添加剂均有改善产蛋率的趋势,但结果还有待进一步的试验验证。

(参考文献12篇,刊略,需者可函索)

(编辑:刘敏跃,lm-y@tom.com)

控释尿素对牦牛瘤胃氨氮和微生物蛋白质的影响

李林 薛白 韩银仓 靳议超

摘要 试验旨在探讨控释尿素对牦牛瘤胃氨氮和微生物蛋白质合成的影响。试验选 4 头 2 岁牦牛,安装永久瘤胃瘘管,分期定量饲喂不同粗蛋白日粮:含尿素日粮(CP 10.79%)、无尿素日粮(CP 10.75%)、控释尿素日粮(CP 10.73%)。结果表明:含尿素日粮瘤胃 pH 值和氨氮浓度在一天中变化较快,而无尿素日粮和控释尿素日粮变化较为平缓;控释尿素日粮微生物蛋白合成量虽然变化幅度较大,但能量与氨氮释放同步,微生物蛋白质合成量较大,充分把食用氮转化为微生物蛋白质;且控释尿素日粮在瘤胃 pH 值、氨氮浓度和微生物蛋白含量方面均优于含尿素日粮和无尿素日粮,差异极显著($P < 0.01$),从而表明采用控释尿素日粮对牦牛补饲具有良好的效果,是反刍家畜安全、高效的粗蛋白营养日粮。

关键词 粗蛋白源;瘤胃 pH 值;瘤胃氨氮浓度;瘤胃微生物蛋白

中图分类号 S816.79

牦牛是青藏高原的优势动物,但近年来由于过度放牧,草场退化,草地产草量低^[1],营养物质含量处于季节性不平衡状态,冷季牧草粗蛋白含量为 5.47%,远远满足不了牦牛的营养需要,始终摆脱不了冬瘦春死亡的恶性循环^[2]。为解决这一难题,人们常采用冷季营养缓释技术补饲,Ammerman 等(1986)用可降解玻璃为载体,将矿物质融入其中,生产出瘤胃可溶性弹丸^[3],以此给反刍动物补充微量元素;在给反刍动物提供充足廉价氮源方面的研究主要是利用尿素等非蛋白氮(NPN)替代日粮中的蛋白质,由于适口性差、易中毒等缺点^[4],崔立(1997)等用 PVA(聚乙烯醇)胶粘剂作为尿素的包被材料开发了缓释尿素^[5];F B Castr 等(1998)用木质素作载体研制了控释尿素^[6]。在国内,冯仰廉率先开发了糊化玉米缓释尿素,并获得国家专利^[6]。但目前为止,国内缓释产品品种单一。为丰富缓释尿素产品,解决青藏高原牦牛冷季氮源补饲,2004 年薛白等结合以往的缓释技术研制开发了独特的控释尿素产品,为验证该产品的缓释性能进行了本项试验。

1 材料和方法

1.1 试验动物

4 头体况良好、体重相近、去势的 2 岁牦牛,安装永久瘤胃瘘管。

李林,青海大学,810016,青海省西宁市生物园区纬二路 1 号青海省畜牧兽医学院。

薛白(通讯作者)、韩银仓、靳议超,青海省畜牧兽医学院。

收稿日期:2006-12-25

★ 基金项目:青海省科技厅 2003-N-518

1.2 试验日粮

试验日粮配制参照 NRC(1981)^[7]育肥牛饲养标准,日粮组成和营养成分见表 1。

表 1 日粮的组成和粗蛋白水平(%)

项目	玉米	麸皮	酵母蛋白	尿素	食盐	小麦秸	CP
无尿素日粮	24	1.6	14	0	0.4	60	10.75
含尿素日粮	22.4	8.4	8	0.8	0.4	60	10.79
控释尿素日粮	22	8.8	7.2	1.6	0.4	60	10.73

注:* 为控释尿素量,控释尿素为尿素和玉米淀粉 1:1 糊化而成。

1.3 饲养管理

对试验动物成组圈养,每日 8:00、20:00 饲喂两次(先喂精料,后喂粗料)^[8],每次每头饲喂精料 0.75 kg,自由饮水。预饲 13 d。

1.4 采样方法

试验分 3 期进行,第一期饲喂无尿素日粮,第二期饲喂含尿素日粮,第三期饲喂控释尿素日粮,每期 15 d,前 13 d 预饲,第 14、15 d 饲喂前 1 h 和饲喂后 2、5、8、11 h 用真空泵从瘤胃瘘管抽取瘤胃液 50 ml 左右。

1.5 样品分析

样品采集后立即用 PHS-25B 酸度计测定 pH 值^[9,10],并用 722 分光光度计比色法测定氨浓度^[11],用靛吟法测定瘤胃微生物蛋白质产量^[12,13]。

1.6 数据分析

利用 SAS 中的 ANOVA 过程进行方差分析。

2 结果与讨论

2.1 不同粗蛋白日粮对牦牛瘤胃 pH 值的影响(见表 2)

表2 不同粗蛋白日粮对牦牛瘤胃 pH 值的影响

项目	无尿素日粮	含尿素日粮	控释尿素日粮
饲前 1 h	6.91±0.02 ^a	6.93±0.03 ^a	6.92±0.01 ^a
饲后 2 h	6.75±0.03 ^c	7.33±0.03 ^a	6.99±0.01 ^b
5 h	6.64±0.02 ^b	6.58±0.04 ^c	6.77±0.01 ^a
8 h	6.75±0.04 ^b	6.75±0.02 ^b	6.85±0.01 ^a
11 h	6.91±0.02 ^a	6.89±0.01 ^a	6.90±0.02 ^a

pH 值测定结果表明,含尿素日粮组的牦牛瘤胃 pH 值变化较大,在一天中 pH 值变化幅度达到 0.75,而无尿素日粮和控释尿素日粮组的牦牛瘤胃 pH 值变化较为平缓,变化幅度分别为 0.27 和 0.22。从表 2 中还可以看出,含尿素日粮组和控释尿素日粮组的瘤胃 pH 值具有相同的变化趋势:0~2 h 增大,2~5 h 减小,且 5 h 时减小到最低,5~11 h 又增大。但无尿素日粮组的瘤胃 pH 值与前两种日粮不同,变化趋势是:0~5 h 是一直减小,5~11 h 是一直增大。

瘤胃液 pH 值是反映瘤胃发酵状况的一项综合指标^[14]。韩正康^[15]和 Murphy 等^[16]指出,瘤胃内 pH 值变动为 5.0~7.5,呈现有规律的变动,取决于饲料的性质和摄食后时间,一般饲喂后 2~6 h 达到最低值^[17]。对含尿素日粮组而言,尿素到瘤胃后迅速分解释放出 NH₃,使瘤胃 pH 值先升高,但 2~3 h 内,NH₃ 转化为氨基酸和小肽,进一步合成微生物蛋白质,此时氨氮浓度减小,挥发性脂肪酸浓度达到最大,从而使瘤胃 pH 值减小以至达到最小,随着时间的延续,挥发性脂肪酸被吸收,瘤胃 pH 值又增大。而控释尿素日粮组的原理与含尿素日粮组一致,只是尿素被糊化,控制了尿素的快速降解,得以缓慢释放,被反刍动物充分利用合成微生物蛋白质,使得瘤胃 pH 值变化较为平缓。无尿素日粮组的瘤胃 pH 值变化趋势与公认的反刍动物的瘤胃 pH 值的变化趋势一致^[9]。用 SAS 进行方差分析后表明,三组日粮对应的瘤胃 pH 值之间都有极显著差异(P<0.01)。总体而言,控释尿素日粮组的瘤胃 pH 值变化最为平缓,保证了瘤胃的内环境的稳定,使微生物的活性一直处于最强,更有利于微生物蛋白质的合成^[18]。

2.2 不同粗蛋白日粮对牦牛瘤胃氨氮浓度的影响(见表 3)

表3 不同粗蛋白日粮对牦牛瘤胃氨氮浓度的影响(mg/dl)

项目	无尿素日粮	含尿素日粮	控释尿素日粮
饲前 1 h	11.3±0.2 ^b	7.7±0.8 ^c	17.2±0.7 ^a
饲后 2 h	28.8±0.3 ^c	72.6±0.9 ^a	35.8±0.7 ^b
5 h	22.8±0.5 ^c	41.4±0.9 ^b	27.3±0.7 ^b
8 h	17.2±0.7 ^b	17.2±1.1 ^b	22.0±1.3 ^a
11 h	12.3±0.7 ^b	8.5±0.9 ^c	17.3±0.8 ^a

从表 3 可知,瘤胃液氨氮浓度都是先升高后降低,且在饲后 2 h 达到最大。含尿素日粮组牦牛的瘤胃液氨氮浓度变化较大,变化幅度达到 64.9 mg/dl;控释尿素日粮组变化较为平缓,变化幅度为 18.6 mg/dl,各时间点的氨氮浓度基本处于微生物正常生长对氨氮浓度耐受的临界范围内(6~30 mg/dl)^[19];无尿素日粮组变化最为平缓,变化幅度为 17.5 mg/dl。控释尿素日粮在饲喂后 8 h 仍能保证瘤胃液中有较合理水平的氨氮浓度。

一般认为,瘤胃液氨态氮水平是瘤胃日粮可降解蛋白质数量与瘤胃微生物蛋白质合成状况的综合反映^[17,20]。氨氮是食糜中的蛋白氮和非蛋白氮降解的终产物,也是合成微生物蛋白质的原料^[21,22],瘤胃中适宜的氨氮浓度有利于微生物蛋白质的合成^[23,24]。从表 3 可以看出,控释尿素日粮组的瘤胃液氨氮浓度均高于同一时间的无尿素日粮组。从 Ward C^[25]的研究来看,控释尿素日粮组的瘤胃液的氨氮浓度更能满足反刍动物的需要^[16]。由此可以看出,控释尿素的释氮速度大幅度降低,可以长时间平缓地为瘤胃微生物生长提供氮源,还不会导致氨中毒。用 SAS 进行方差分析表明,三组日粮对应的瘤胃液的氨氮浓度之间都有极显著差异(P<0.01)。

2.3 不同粗蛋白日粮对牦牛瘤胃微生物蛋白质合成量的影响(见表 4)

表4 不同粗蛋白日粮对牦牛瘤胃微生物蛋白含量的影响(mg/dl)

项目	无尿素日粮	含尿素日粮	控释尿素日粮
饲前 1 h	8.5±0.3 ^b	7.5±0.5 ^c	11.7±0.5 ^a
饲后 2 h	10.5±0.5 ^c	11.6±0.3 ^b	32.5±0.6 ^a
5 h	15.1±0.5 ^c	16.5±0.5 ^b	43.9±0.6 ^a
8 h	10.8±0.2 ^b	10.5±0.6 ^b	25.8±0.6 ^a
11 h	8.6±0.3 ^b	7.6±0.3 ^c	11.5±0.9 ^a

由表 4 可知,在每一时间点上控释尿素日粮组瘤胃微生物蛋白质合成量都明显高于含尿素日粮组和无尿素日粮组(P<0.01)。控释尿素日粮组的瘤胃微生物蛋白质合成量在 5 h 达到最大(43.9 mg/dl),是含尿素日粮组的 2.66 倍,是无尿素日粮组的 2.91 倍,这也可以看出含尿素日粮在 2 h 释放的氨没有完全转化为微生物蛋白质,造成蛋白质日粮的浪费。

瘤胃微生物蛋白是瘤胃微生物经复杂的发酵过程合成的,是反刍动物最重要的氮源供应者,它可以满足动物需要量的 40%~80%^[26],并且瘤胃微生物蛋白代谢是瘤胃微生物区系营养代谢的一个最重要组成部分^[27],Bryant 于 1961 年就证实了绝大多数瘤胃细菌

都可以利用 NH_3 作为氮源来合成微生物蛋白质^[26]。根据能氮平衡理论,瘤胃中有效能与氨氮的释放在速度和数量上相匹配可以使微生物蛋白合成量达到最大,并且瘤胃中有效能与氨氮的释放在速度和数量上同步是提高微生物蛋白质合成量的关键^[28]。虽然控释尿素日粮组的微生物蛋白质合成量的变化幅度比较大,但总体合成量是远远大于另外两种日粮($P<0.01$)。这可能是控释尿素日粮瘤胃发酵释放的氨氮与能量同步,并且适宜的 pH 值又增强了瘤胃微生物的活性,充分把食入的蛋白质日粮释放的氨转化为微生物蛋白质供机体需要。

3 结论

① 控释尿素日粮组的瘤胃 pH 值比较稳定,牦牛的 pH 值变化范围分别为 6.77~7, 此 pH 值环境下微生物的活性一直较强。

② 控释尿素日粮释氨速度大幅度降低,可以长时间平缓地为瘤胃微生物生长提供氮源,还不会导致氨中毒。

③ 控释尿素日粮瘤胃发酵释放的氨氮与能量同步,并且 pH 值又在适合瘤胃微生物活性的范围,充分把食用氮合成为微生物蛋白质供机体需要。

④ 控释尿素日粮对青藏高原的牦牛具有较好补饲作用,解决冷季蛋白质缺乏,提高放牧家畜的营养水平和草原资源的利用效率,缓解草畜矛盾。

参考文献

- 1 靳议超,薛白. 家畜营养缓释弹丸的研制及其开发利用前景[J]. 青海畜牧兽医杂志,2006,36(3):38~39
- 2 王万邦,刘书杰,薛白,等. 舔食复合尿素砖对冬春期放牧牦牛、藏羊的饲喂试验[J]. 饲料工业,1997,18(2):30~31
- 3 薛白,马利青,靳议超. 藏羊营养缓释技术的研究[J]. 畜牧与兽医,2003,35(10):19~21
- 4 许丽,滕冰,叶建敏,等. 缓释尿素对绵羊瘤胃液理化指标的影响[J]. 黑龙江畜牧兽医,2001(5):1~3
- 5 崔立,韩友文,蒋士龙,等. 缓释尿素制剂及其蛋白精料的制备与检验[J]. 上海农学院学报,1997,15(3):173~177
- 6 王琪瑞,高民. 糊化玉米缓释尿素饲喂绵羊效果初探[J]. 内蒙古畜牧科学,1998(2):32~33
- 7 NRC. Ruminant Nitrogen Usage. US Academy of Science, Washington DC, 1981
- 8 韩兴泰,胡令浩,谢敦云,等. 牦牛瘤胃细菌中核糖核酸含量及其细菌总氮比值的研究[J]. 动物营养学报,1998,10(2):35~39
- 9 冯仰廉. 反刍动物营养学[M]. 北京:科学出版社,2004. 136~138
- 10 王新峰,潘晓亮,向春和,等. 添加甜菜糖蜜对绵羊瘤胃 pH 值和 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度的影响[J]. 中国饲料,2006(2):25~27
- 11 冯宗慈,高民. 通过比色法测定瘤胃液氨氮含量方法的改进[J]. 内蒙古畜牧科学,1993(4):40~41
- 12 卢德勋,谢崇文. 现代反刍动物营养研究方法和技术[M]. 北京:中国农业出版社,1990.81~87
- 13 Zinn R A, F N Owens. A rapid procedure for purine measurement and its use for estimating net ruminal protein synthesis [J]. Can J Anim. Sci., 1986,66:157
- 14 嘎尔迪,齐智利,张润厚,等. 玉米的不同加工处理对绵羊瘤胃内 pH 值, $\text{NH}_3\text{-N}$ 和 VFA 浓度的影响 [J]. 黑龙江畜牧兽医,2002(9):18~20
- 15 韩正康,陈伟华,陆天水. 三种饲养制度下山羊瘤胃内 pH 值、氨态氮和蛋白含量的变化[J]. 南京农学院学报,1982(3):118
- 16 Murphy J J, Kennelly J J. Effect of protein concentrate and protein source on the degradability of dry matter and protein in situ [J]. Dairy Sci.,1987,70:1 841~1 849
- 17 李勇,李发弟,周青平,等. 饲喂燕麦-箭舌豌豆捆裹青贮对绵羊瘤胃 pH 值与氮代谢参数的影响[J]. 草原与草坪,2006(2):33~36
- 18 Ellis WC, WH P lander. Rumen microbial polynucleotide synthesis and its possible role in ruminant nitrogen utilization[J]. Nature,1965,205:974~978
- 19 佟瑛. 精料补饲对藏系绵羊育肥效果及瘤胃内环境参数的影响[D]. 兰州:甘肃农业大学,2004
- 20 Hristov A N, Ropp J K, Hunt C W. Effect of barley and its amylopectin content on ruminal fermentation and bacterial utilization of ammonia-N in vitro [J]. Animal Feed Science and Technology,2002,99:25~36
- 21 Smith R H. Nitrogen metabolism in the rumen [J]. J. Dairy Res., 1974, 36:313~320
- 22 Nikolic A, M Jovanovic. Preliminary study of the use of different methods for determining the proportion of bacterial nitrogen of rumen contents[J]. J. Agric. Sci.,1973,81:1~5
- 23 Czerkawski J W. Chemical composition of microbial matter in rumen[J]. J. Anim. Sci.,1976,27:621
- 24 Kropp J R, Johnson R R, Males J R, et al. Microbial protein synthesis with low quality roughage rations: isonitrogenous substitution of urea for soybean meal[J]. J. Anim. Sci.,1977, 46: 837~845
- 25 Ward C, Cullison A E. Effect of ethylcellulose coating on utilization of urea by ruminants[J]. J. Animal Sci.,1970, 30:331~337
- 26 陈小连,贾亚红,赵国琦. 影响反刍动物瘤胃微生物生长效率及蛋白产量的因素[J]. 中国饲料,2003(17):4~7
- 27 薛白. 缓释纤维素酶和控释尿素的研发与推广项目验收材料[R]. 青海:青海省畜牧兽医科学院,2006
- 28 陈小连,贾亚红,赵国琦. 影响反刍动物瘤胃微生物蛋白合成因素的研究综述[J]. 饲料广角,2003(19):31~33

(编辑:张学智, mengzai007@163.com)

饲料企业库存系统的系统动力学研究

朱亚男 滕小华 李牧

库存系统在饲料企业中承担着原料、成品、编织袋和其它材料的储存任务,是饲料企业中占用流动资金比重最高的关键部门。房明华(2004)认为,库存量过多或过少都会影响企业的生产,确定合理的库存量对保证物资供应和提高企业的经济效益有着重要作用。同时,库存是整个企业系统的一个部门。刘亚相(1997)认为库存控制问题不能孤立地来处理,它和分销问题、生产问题、财务问题有千丝万缕的联系。在以往的企业管理中只注重局部最优,在局部取最优解研究,而忽视了饲料企业本身是一个相互作用不可分割的系统,产、供、销是相互联系的。每个部门只考虑自己部门的最大利益,而忽视了整体的联系,从而造成资源浪费,各部门计划相互矛盾,给企业的经营管理带来一定的麻烦。而在这个竞争的时代要想立于不败之地,必须从整体上考虑,成本最低,获取最大利润。赵斌(2003)认为,实际生产中,在注重库存成本的同时,也应该考虑采购、营销、生产、分销等各部门的总体目标。

综合分析一下传统的库存管理问题就可以发现,尽管目前已有许多数学模型和计算机软件能够辅助库存管理,但是这些研究都侧重于企业库存的微观方面,出发点主要集中在库存里的算法分析,最典型的就应用运筹学建立的库存模型去进行库存量的优化。如果跳出传统的考虑方法来审视库存问题,可以看到库存管理首先是个动态的系统,影响库存的各种因素在不断变化。赵小英(1998)认为应该用动态的、系统的思想、理论和方法进行研究,把库存管理纳入到企业这个大系统中去,从系统的角度分析库存管理。因此,本文采用系统动力学方法研究饲料企业的库存管理问题,而系统动力学就是一门从整体上研究考虑问题的学科,因此,将系统动力学应用于饲料企业的库存管理中,从企业的全局考虑库存问题,为企业管理者提供决策依据。

朱亚男,东北农业大学动物科学技术学院,150030,黑龙江省哈尔滨市公滨路木材街59号。

滕小华(通讯作者)、李牧,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-01-29

1 系统动力学概述

系统动力学是系统学与动力学相结合的综合学科,它是福雷斯特教授(J. W. Forrester)于20世纪50年代创立的,是一门研究复杂反馈系统动态行为的方法学,是在系统设计概念、信息反馈控制理论、决策理论、仿真方法和计算机应用的基础上发展形成的一门边缘学科(Michael R.古德曼,1998)。严武元(2003)认为应用系统动力学研究库存管理问题有两大优势:①用系统的观念分析问题,系统动力学对于解决复杂系统问题有特长;②用动力学的方法解决问题,系统动力学采用计算机仿真的方法研究现实问题。它首先建立模型,然后根据实际“试验”,多次模拟现实中可能的情况,从而在此基础上做出科学决策。因此,利用系统动力学对饲料企业库存系统进行动态的、全面的分析,从整体上分析系统内部结构之间和其与外部环境之间的关系,为企业经营者经营决策提供参考。桂寿平(2003)认为其仿真过程如下。

① 确定系统目标:主要包括预测系统的期望状态、观测系统的特征、找出系统中的问题所在、描述与问题有关的系统状态、划定问题的范围和边界、选择适当的变量等。

② 分析系统中的因果关系:描述问题的有关因素、解释各因素间的内在关系、画出因果关系图、隔离和分析反馈环路及它们的作用。

③ 建立系统动力学模型:建立流程、建立方程式。

④ 计算机模拟:将原始数据及相关数据(变量)在计算机上多方案模拟实验,得出结果,绘制结果曲线图,修改程序(方程式),调整数据(变量),进行反复模拟。

⑤ 结果分析讨论:通过对结果的分析,不仅可发现系统的构造错误和缺陷,而且还可以找出错误和缺陷的原因。根据结果分析情况,确定是否对模型进行修正,然后再做仿真试验,直至得到满意的结果为止。

2 饲料企业库存系统动力学模型的建立

通过对饲料库存系统的调查研究,了解库存系统的特征和运作机理,从而得到系统各个部分相互影响的因素,根据其各因素之间的关系绘出库存控制系统的因果关系(见图1)。

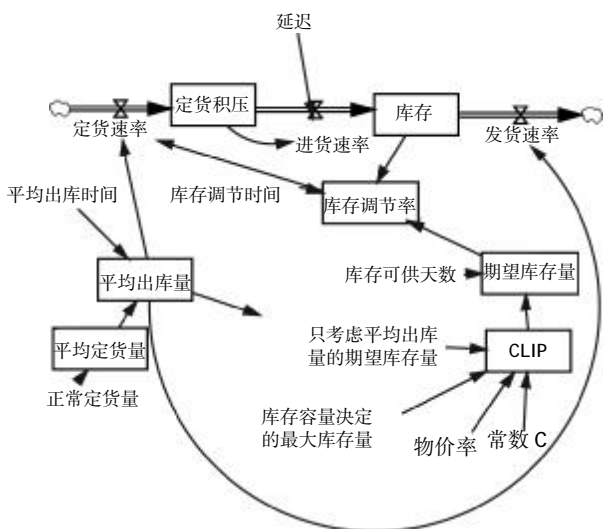


图1 库存控制系统流程

根据因果关系图可以得出本模型的运作机理是：
 ①库存量的多少取决于发货速率和进货速率，发货速率主要由平均出库量决定。在实际生产中还有可能出现突然出货的情况，为了简化模型，在本模型中不考虑这种情况。
 ②进货速率与订货速率和时间延迟有关，当缺货而决定进货时不能马上到货，所以存在延迟这种现象。
 ③库存调节率除了与库存和进货速率有关外还与期望库存有关，而期望库存由 CLIP 函数控制，即当物流率大于常数 C 时，CLIP 函数取值为库存容量决定的最大库存量，反之只考虑平均出库量的期望库存量。本模型中常数 C 设为 0。本模型的变量关系见图 2、3、4。

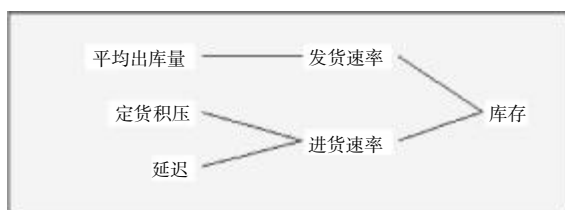


图2 库存结构



图3 发货速率关系

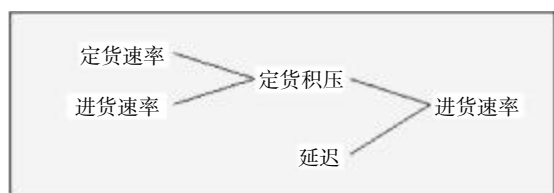


图4 进货速率关系

3 模型的仿真与分析

以某企业为对象进行系统的仿真，仿真的长度定为 30 d，步长定为 1 d。对该公司的库存系统取如下方程式进行仿真：

- (01) 常数 $C=0$
- (02) 定货积压(千元)=INTEG[(定货速率-进货速率), 50]
- (03) 定货速率(千元/d)=平均出库量+库存调节率
- (04) 发货速率(千元/d)=平均出库量
- (05) 进货速率(千元/d)=定货积压/延迟
- (06) 库存(千元)=INTEG[100+(进货速率-发货速率), 100]
- (07) 库存调节率(千元/d)=(期望库存量-库存量)/库存调节时间
- (08) 库存调节时间(d)=3
- (09) 库存可供天数(d)=15
- (10) 库存容量决定的每天最大出库量(千元)=800
- (11) 平均出库量(千元)=平均定货量×平均出库时间
- (12) 平均出库时间(d)=5
- (13) 平均定货量(千元)=正常定货量
- (14) 期望库存量(千元)=库存可供天数×CLIP
- (15) CLIP(千元)=IF THEN ELSE(物价率>常数C, 库存容量决定的每天最大出库量, 只考虑平均出库量的期望库存量)
- (16) 物价率=0.1
- (17) 延迟(d)=2
- (18) 只考虑平均出库量的期望库存量(千元)=平均出库量
- (19) 正常定货量(千元)=300

其中物价率=物价上涨指数+囤积指数-工业利率-库存费用率。仿真结果见图 5、图 6。

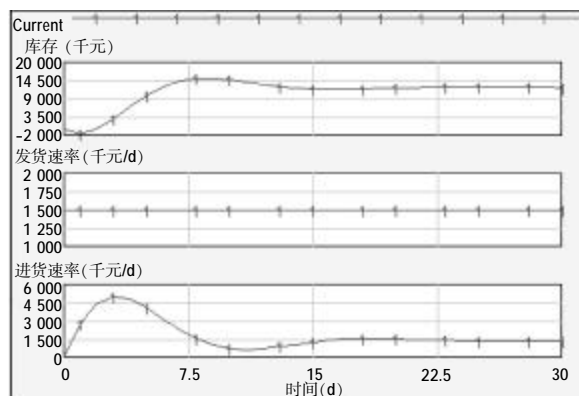


图5 库存系统仿真结果

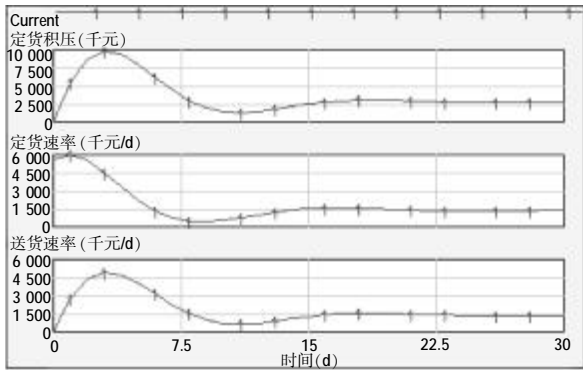
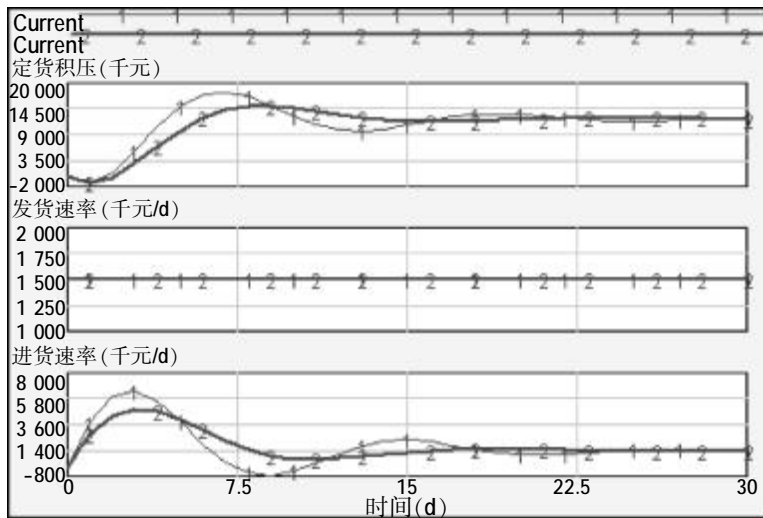


图6 库存系统仿真结果

从图5、图6中我们可以看出:库存系统在开始的几天出现一些振荡,库存、发货速率、进货速率、订

货速率在前两周有比较大的浮动,库存量开始随着出库量的增加而减少,随着订货速率的增加又提高了库存量,而两周后振荡趋于平缓,就进入了一个平衡状态,这是由于库存系统自身有一个自我调节的能力,使系统保持在一个稳定的状态。这个结果也是与实际相符合的。

库存系统是动态的,是不断变化的,有一些突发情况的出现或者人为需要一些改变,所以要对库存系统进行控制,饲料企业物流系统仿真模型控制是通过改变模型可控变量的输入值来实现的。其目的是使结果达到建模者满意的程度。例如当改变库存调整时间为2d,模型结果见图7、图8。



注:1线是库存调整时间为3d时的结果,2线是库存调整时间为2d的结果。图8同。

图7 库存控制结果

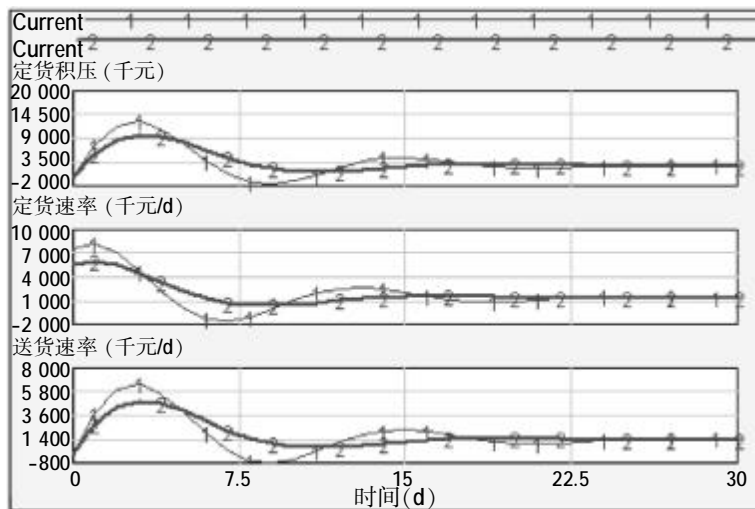


图8 库存控制结果

通过图7、图8可以看出衰减幅度的强度和速度与库存调节时间有关,当库存调整时间较短时,库存量

的振荡幅度也会变小,这是因为到货的时间越短,在途中的物流量就会越少,库存量的增减量就会越小,占用的

资金也会越少,这也是经营管理者所希望的。

模型的控制还可以根据企业的实际情况进行改变,如物价率的改变、突然出货、库存的可供天数等等,都可以通过对模型的控制而模拟出情况改变后系统的状态,有时可能一个变量的改变不能达到经营者满意的状态。夏文汇(1997)认为,也可以进行复杂控制,同时改变几个变量,改变系统的状态,其总的目的就是达到让经营者满意的效果。

4 小结

Ronald H.Ballou 等(2001)认为库存控制动力学模型为我们提供了一个新的物流管理方法,充分发挥系统动力学容易结合领导决策者和实际工作者的经验及加深系统机制理解的优点。通过对仿真模型的运行和控制,验证了从总体上将企业库存系统模拟出来并控制在较为满意的水平是可能的。对模型进行控制也是建模的目的,对模型的控制反映到实际操作上就是对库存系统的控制,通过对模型中各影响因素的调整来达到对模型的控制。通过物流控制系统的实际模拟研

究,证明模型具有较好的决策和环境协调能力,能较好地反应实际系统,将系统动力学引入到饲料企业的经营管理中,为经营者提供了一个新的管理办法。

参考文献

- 1 桂寿平. 基于系统动力学模型的库存控制机理研究[J]. 物流技术, 2003(6): 17~19
- 2 刘亚相. 库存数学模型在饲料加工企业中的应用 [J]. 黄牛杂志, 1997,(2):52-56
- 3 夏文汇. 工业企业库存模型的技术经济分析[J]. 物流技术, 1997,(6): 12~14
- 4 赵小英. 强化库存管理促进企业发展[J]. 商业经济研究, 1998,(10): 13~15
- 5 Michael R. 古德曼. 系统动力学[M]. 能源出版社, 1998
- 6 Ronald H.Ballou 著. 王晓东, 胡瑞娟等译. 企业物流管理——供应链的规划、组织和控制[M]. 北京: 机械工业出版社, 2001
- 7 房明华. 基于系统动力学的库存管理研究[D]. 大连海事大学硕士学位论文, 2004.4~5
- 8 严武元. 基于系统动力学的工业企业物流研究[D]. 武汉理工大学硕士学位论文, 2003.1~4
- 9 赵斌. 库存仿真系统的研究与开发 [D]. 清华大学硕士学位论文, 2003.3 (编辑: 崔成德, cuicengde@tom.com)

· 广告 ·

宜兴市新宇科教仪器研究所

(原宜兴市科教仪器研究所)



九三年国家级新产品
全国消费者放心产品
国家专利号 90212354.8

为您提供国内首创、国际先进 LNK 新型先进蛋白分析仪

蒸馏器特点:

1. 消化液不转移直接蒸馏, 5分钟一个样品。
2. 符合国标法, 可常量蒸馏也可微量蒸馏。
3. 自动定时, 自动加碱, 自动加水, 自动衡压, 自动排废, 自动报警。
4. 壳体全塑耐酸碱, 与消化器配套使用。
5. 电源AC220V, 功率1kW, 蒸馏量20ml/min, 回收率 > 99%, 重复误差 < 1%。

消化器特点:

1. 气锅式远红外辐射加热, 消化快, 省工、节电, 比电炉节电90%, 提高工效7倍。
2. 一机多用, 投资少、效益大。
3. 符合国标法, 准确可靠。
4. 数字显示自动恒温, 自动定时关机。
5. 不锈钢材质经久耐用。
6. 配套齐全, 操作方便。

诚招各省经销商

地址: 江苏省宜兴市和桥镇北新桥东 邮编: 214211
电话: 0510-87801038 传真: 0510-87808265
网址: www.changshen.com E-mail: web@changshen.com



凯氏定氮快速自动蒸馏器



多功能快速消化器

我国畜牧业发展与粮食安全

孙涛 李胜利

1 饲料粮现状

改革开放以来,随着我国饲料工业的迅速发展,饲料粮用量逐年增加。1978年我国饲料用粮为4 575万吨,2003年达到16 558万吨,其中玉米为9 400万吨,占56%。25年来,我国饲料粮年均增长率为5.3%,远高于粮食年均1.4%的增长率。饲料粮在粮食总产量中的比重提高很快。

2 饲料粮在粮食安全中占有重要位置

饲料粮占粮食比重的增加速度明显加快。在1978年至2003年的25年间,饲料粮在粮食总量中的比重增加了23%,预计2020年饲料粮占粮食的比重将达到40%以上^[1],2030年饲料粮占粮食的比重将达到50%以上,饲料粮总量将超过城镇和农村居民口粮消费总量,饲料粮在我国粮食安全中的地位会迅速提

高,成为粮食安全的重要因素。近年来我国的粮食需求和消费情况见表1、表2。

表1 近10年来国内粮食需求量

年份	总需求量 (万吨)	口粮 (万吨)	饲料粮 (万吨)	饲料粮比例 (%)
1995	45 280	27 247	12 913	28.52
1996	45 789	27 395	13 172	28.77
1997	46 406	27 555	13 501	29.09
1998	46 953	27 677	13 812	29.42
1999	47 320	27 680	14 060	29.71
2000	47 703	27 669	14 271	29.92
“九五”累计	234 171	137 976	68 815	29.39
2001	48 050	27 614	14 499	30.17
2002	48 350	27 451	14 789	30.59
2003	48 629	27 283	15 100	31.05
2004	49 020	27 200	15 432	31.48
2005	49 440	27 107	15 818	31.99
“十五”累计	243 489	136 656	75 639	31.06

表2 1982-2001 我国人均粮食消费量(kg)

年份	农村居民人均消费量			城镇居民人均消费量		
	粮食消费量	饲料粮	口粮消费量	粮食消费量	饲料粮	口粮消费量
1982	351	34	286	364	85	249
1983	356	38	286	376	92	253
1984	367	41	293	377	93	252
1985	353	43	280	372	100	242
1986	361	46	285	384	103	250
1987	364	46	285	383	107	243
1988	368	43	286	398	110	249
1989	372	46	289	398	118	243
1990	371	47	288	399	126	237
1991	368	50	281	401	132	232
1992	364	50	276	393	138	217
1993	370	50	279	394	145	209
1994	364	50	274	393	154	197
1995	369	52	272	394	161	189
1996	373	58	269	397	167	184
1997	367	60	263	397	171	172
1998	366	61	262	395	181	170
1999	366	64	260	402	193	167
2000	372	69	262	407	205	161
2001	358	69	250	404	210	156

孙涛,中国农业大学动物营养学国家重点实验室,博士,100094,北京市圆明园西路2号动物科技学院中美奶业中心。

李胜利(通讯作者),单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-01-23

★ 本研究受中国工程院咨询项目“中国不同区域农业资源合理配置、农业协调发展和生态环境的综合治理研究”资助

3 存在的主要问题

3.1 饲料粮供需矛盾越来越突出

自我国农业结构战略性调整以来,玉米播种面积和产量都有所增加,但仍满足不了饲料生产需求,已经连续4年动用国家储备粮作为饲料粮,对我国粮食安全构成了严重威胁^[2]。近年来我国的粮食产量及未来预测产量对饲料粮的满足程度见表3、表4。

表3 近年来我国粮食产量(万吨)

项目	1999年	2000年	2001年	2002年	2003年	2004年	2005年
粮食	50 838.6	46 217.5	45 263.7	45 705.8	43 069.5	46 946.9	48 402.2
谷物	45 304.1	40 522.4	39 648.2	39 798.7	37 428.7	41 157.2	42 776.0
稻谷	19 848.7	18 790.8	17 758.0	17 453.9	16 065.6	17 908.8	18 058.8
小麦	11 388.0	9 963.6	9 387.3	9 029.0	8 648.8	9 195.2	9 744.5
玉米	12 808.6	10 600.0	11 408.8	12 130.8	11 583.0	13 028.7	13 936.5
豆类	1 894.0	2 010.0	2 052.8	2 241.2	2 127.5	2 232.1	2 157.7
薯类	3 640.6	3 685.2	3 563.1	3 665.9	3 513.3	3 557.7	3 468.5
油料	2 601.2	2 954.8	2 864.9	2 897.2	2 811.0	3 065.9	3 077.1
花生	1 263.9	1 443.7	1 441.6	1 481.8	1 342.0	1 434.2	1 434.2
油菜籽	1 013.2	1 138.1	1 133.1	1 055.2	1 142.0	1 318.2	1 305.2
芝麻	74.3	81.1	80.4	89.5	59.3	70.4	62.5
棉花	382.9	4 41.7	532.4	491.6	486.0	632.4	571.4
麻类	47.2	52.9	68.1	96.4	85.3	107.4	110.5
黄红麻	16.4	12.6	10.6	15.9	10.0	8.7	8.3
甘蔗	7 470.3	6 828.0	7 566.3	9 010.7	9 023.5	8 984.9	8 663.8
甜菜	863.9	807.3	1 088.9	1 282.0	618.2	585.7	788.1

表4 我国未来粮食产量及其对饲料粮满足程度预测(万吨)

年份	粮食总产量	饲料粮需求量	玉米产量	饲料粮玉米需求量	玉米缺口	豆类产量	饲料粮豆粕需求量	豆粕缺口
2010	51 456	30 036	14 305	15 807	-1 502	2 444	4 705	-2 628
2020	59 123	33 934	16 436	17 849	-1 413	2 808	5 247	-2 681
2030	68 000	35 446	18 904	18 641	+263	3 230	5 432	-2 687

饲料原料供应不足,资源制约因素日趋突出。改革开放 20 多年来,广大农户作为畜牧业生产的主体,充分利用各类饲料资源,特别是不能工业化、规模化利用的饲料资源,使我国在人均农业资源相对短缺的情况下成为世界上最大的畜产品生产国。进入 2000 年以来,我国粮食连年减产,与粮食生产下降相反的是我国畜牧业继续保持较快的发展势头,尽管近几年来我国主要饲料原料的产量呈现持续下降的趋势,但我国饲料总产量却呈现持续上涨的势头。目前,我国已经出现了饲料工业原料短缺的情况。2003 年我国粮食产量只有 4.3 亿吨,其中养殖业转化粮食 1.63 亿吨,占粮食总产量的 38%,饲料粮缺口仍在 4 000 万吨以上,不但直接制约了饲料工业和畜牧业的发展,而且成为粮价波动的主要因素^[9]。

在新的历史发展阶段,随着畜产品需求的继续稳定增长和产业化、规模化比重的不断提高,对工业化饲料的需求将不断提高。据专家预测,到 2010 年、2020 年和 2030 年,我国饲料粮占粮食的比重将达到 40%、45%和 50%。饲料粮问题将成为我国饲料生产的主要问题。

3.2 蛋白质饲料原料严重匮乏

蛋白质饲料原料明显不足是制约我国畜牧业发展的关键因素,我国每年从国际市场上进口的大豆和豆粕已占到需要量的 50%以上,不但需要花费大量的

外汇在国际市场上采购大量的大豆,而且在价格上受到美国经销商的控制。2004 年我国养殖业转化粮食约为 1.7 亿吨,占粮食总产量的 36%。我国饲料粮需求量为 2 亿吨左右,其中大豆和豆粕等蛋白饲料需求量的 50%以上依靠进口,2004 年进口大豆生产豆粕达 1 600 万吨。合成氨基酸 50%以上需要进口,较高的价格导致配合饲料的生产成本居高不下,大多饲料企业常常在亏损边缘徘徊。在奶牛养殖迅猛发展的背景下,青粗饲料供应也日趋紧张,羊草、苜蓿等优质干草的价格在最近几年持续上涨。我国蛋白质饲料原料加工业发展严重滞后,不仅抑制了饲料工业的快速发展,而且由于营养失衡造成了其它饲料原料的浪费。

4 未来我国粮食供求展望

今后,随着对外开放程度的扩大和粮食安全观念的转变,我国利用国际市场实现粮食供求平衡、确保粮食安全的机会和可能性,都会进一步加大。因此,从中长期的角度看,实现粮食供求平衡的压力会持续增加。

今后我国粮食消费需求的增长,主要表现为饲料粮的增长,城乡居民对口粮的消费需求则呈不断减少的趋势。与此同时,由于城镇人口规模的扩大和农业结构调整、农业专业化的发展,我国对粮食的商品性消费需求仍将进一步增加。在考虑粮食安全问题时,对于口粮和饲料粮以及对于商品粮和农民自给粮不可等同视之^[10]。我国解决未来粮食安全问题的基调应

该是以口粮安全为主,兼顾饲料粮^④。主要考虑商品粮的供给安全。根据这种基调,到 2010、2020 年,我国的

粮食安全压力会有所增大(见表 5),但对粮食安全压力的增长并不像粮食消费需求的扩张那么大。

表 5 预测我国未来饲料粮需求量

年份	产品	产量	料肉比(料奶比)	粮食需求量	日粮中玉米比例	玉米需求量	日粮中豆粕比例	豆粕需求量
2010 年	猪肉	6 596	3.3	21 766.80	0.60	13 060.08	0.20	4 353.36
	牛肉	1 197	3.0	3 591.00	0.55	1 975.05	0.05	179.55
	羊肉	831	4.0	3 324.00	0.55	1 828.2	0.05	166.20
	禽肉	1 830	2.3	4 209.00	0.60	2 525.4	0.15	631.35
	禽蛋	3 599	2.8	10 077.20	0.60	6 046.32	0.15	1 511.58
	牛奶	5 872	2.7	2 174.81	0.50	1 087.41	0.20	434.96
	总量	19 925		45 142.81		26 552.46		7 277.00
2020 年	猪肉	10 949	3.3	36 131.70	0.60	21 679.02	0.20	7 226.34
	牛肉	2 465	3.0	7 395.00	0.55	4 067.25	0.05	369.75
	羊肉	2 152	4.0	8 608.00	0.55	4 734.4	0.05	430.40
	禽肉	2 708	2.3	6 228.40	0.60	3 737.04	0.15	934.26
	禽蛋	5 326	2.8	14 912.80	0.60	8 947.68	0.15	2 236.92
	牛奶	13 916	2.7	5 154.07	0.50	2 577.04	0.20	1 030.81
	总量	37 516		78 429.97		45 742.43		12 228.48
2030 年	猪肉	17 003	3.3	56 109.90	0.60	33 665.94	0.20	11 221.98
	牛肉	4 415	3.0	13 245.00	0.55	7 284.75	0.05	662.25
	羊肉	4 647	4.0	18 588.00	0.55	10 223.4	0.05	929.40
	禽肉	3 819	2.3	8 783.70	0.60	5 270.22	0.15	1 317.56
	禽蛋	7 510	2.8	21 028.00	0.60	12 616.8	0.15	3 154.20
	牛奶	24 910	2.7	9 225.93	0.50	4 612.97	0.20	1 845.19
	总量	62 304		126 980.53		73 674.08		19 130.57

注:产量、粮食需求量、玉米需求量、豆粕需求量的单位均为“万吨”。

5 建议

在今后 30 年内,要实现粮食的供求平衡,必须切实加强粮食综合生产能力建设。从中长期的角度看,随着工业化、城镇化的加快推进,即使我们能够实行“世界上最严格的耕地保护制度”,用于粮食生产的耕地面积仍将难以实现具有实质意义的增长,粮食总产的提高只能更多地依靠提高单产^⑤。可以预见,到 2020、2030 年,如果我国的粮食单产不能显著超过此前的历史最高水平,即使粮食进口量能够扩大到国内消费量的 10%,要实现粮食的供求平衡都是不现实的。因此,针对在今后 30 年内实现粮食供求平衡,我们从下列几方面提出了加快科技研发和推广应用的建议。

5.1 加快以育种技术为重点的农业科技的研究开发及其推广应用,以此提高粮食单产,推进粮食的优质化和专用化。

5.2 加强畜禽良种培育力度。发展资源节约、环境友好型畜牧业首先应提倡“良种先行”。世界畜牧业发展的实践经验表明,畜牧业每一次突破和跨越,都是以良种革命为先导。据国内外专家推算,在畜牧生产的各项科学技术中,遗传改良的作用居首,达到近 40%。

由于持续不断的遗传改良和其它技术的应用,发达国家在饲养数量不增加甚至减少的情况下,畜产品产量却稳步增长。因此,我国只有充分地利用现有的畜禽资源,培育出具有优良生产性能的品种、品系或种群,针对不同的生产模式和消费特点,选择适当的配套系组合进行生产,才能在同等资源消耗的前提下,获得畜产品最大的产出和效益。

5.3 优化农业种植结构,提高饲料粮产量。应加快推行粮食、经济作物和饲料作物三元种植业结构,增加饲料作物种植面积,提供充足的高品质专用饲料粮,缓解粮食生产压力。三元种植结构已提倡多年,取得了一定进展,但仍然存在粮、饲不分的问题,在作物品种选择和加工处理方法上,尚未发挥饲料作物的特点和优势。建议尽快将饲料作物的种植有计划地纳入农业生产,实行优势区域布局,示范推广饲料作物的种植模式,搞好饲料作物加工处理,彻底解决饲料粮的稳定供应问题。

5.4 加大农作物秸秆开发利用的力度,发展节粮型养殖业。发展秸秆养畜是充分利用非粮食饲料资源的有效途径,有利于减少饲料粮消耗,缓解粮食安全压力。1995 年全国青贮秸秆 7 513 万吨(下转第 64 页)

辽宁省“多宝鱼”及 “多宝鱼”饲料中药物残留抽检情况分析报告

蒋莲萍 李明玥

2006年12月12日,辽宁省水产品质量安全检验检测局根据省海洋与渔业厅的指示,对全省“多宝鱼”药残情况进行抽样检测。抽样分两次进行,第一次对葫芦岛市抽样,第二次在营口市抽样。共抽检企业30家,抽取样品31份,其中葫芦岛市抽检企业29家,取样30份,营口市抽检企业1家,取样1份。此外,为了弄清鱼体内药物来源途径,同时抽查了4份鱼饲料。具体情况见表1。

表1 饲料样品来源及检验结果

序号	样品名称	检验项目	检验方法	检验结果	被检地区
1	鱼饲料	呋喃唑酮	高效液相色谱法	未检出	葫芦岛市
2	鱼饲料	呋喃唑酮	高效液相色谱法	未检出	葫芦岛市
3	鱼饲料	呋喃唑酮	高效液相色谱法	未检出	葫芦岛市
4	鱼饲料	呋喃唑酮	高效液相色谱法	未检出	葫芦岛市

4份饲料样品取自葫芦岛市4个水产养殖企业,检验指标均为呋喃唑酮原体。4份样品均未检出呋喃唑酮,合格率为100%。

1 “多宝鱼”样品来源及检验结果

多宝鱼样品共31份,来自30家被检企业,其中有2份样品检验8项指标,其余样品均检2项指标。检验结果为:被检样品总合格率为19%;被检企业总合格率20%。

1.1 2家企业的2份样品检测8项指标,包括孔雀石绿、无色孔雀石绿、呋喃唑酮、氯霉素、呋喃唑酮代谢物、呋喃西林代谢物、环丙沙星、磺胺噻唑。检测结果为:①1家企业各项指标全部合格;②另一家企业的样品呋喃唑酮代谢物、呋喃西林代谢物2项指标不合格。

1.2 28家企业的29份样品检测2项指标,包括呋喃唑酮代谢物、呋喃西林代谢物。检测结果为:①2项指标均合格的有5家企业,占被检企业的17.9%;②其

中呋喃唑酮代谢物1项指标不合格的企业有17家,占被检企业的60.7%;③呋喃西林代谢物1项指标不合格的企业有4家,占14.3%;④呋喃唑酮代谢物和呋喃西林代谢物2项指标均不合格的有3家,占被检企业的10.7%。

2 结果讨论

2.1 “多宝鱼”体内残留药物主要是硝基呋喃类代谢物。检测8项指标的2个鱼样品,只有呋喃唑酮代谢物和呋喃西林代谢物被检出,呋喃唑酮原体及孔雀石绿、无色孔雀石绿、氯霉素、环丙沙星以及磺胺噻唑均未检出。说明被检企业所养“多宝鱼”在养殖过程中主要使用了呋喃唑酮和呋喃西林两种药物,造成药物在鱼体内残留,而这两种药物均属硝基呋喃类,是国家规定的禁用药物。

2.2 养殖过程中硝基呋喃类药物的使用较为普遍。抽检31个样品,每个样品均检测了呋喃唑酮和呋喃西林两种硝基呋喃类药物,仅有6个样品合格,合格率为19%。说明了在多宝鱼养殖中使用硝基呋喃类药物较为普遍。

2.3 硝基呋喃类药物使用之后,随着鱼体的生理代谢作用将转化为其代谢物,比如呋喃唑酮转化为呋喃唑酮代谢物(AOZ);呋喃西林转化为呋喃西林代谢物(SEM)。所以检测鱼体中药物原体有可能检测不出,导致不能准确反映药物残留情况。

2.4 根据检验结果,原来怀疑饲料中含有呋喃唑酮的猜想可以被否定。也就是说鱼体中的呋喃唑酮不是通过饲料进入的。真正来源有待进一步调查。

3 存在问题及治理措施

“多宝鱼”药物超标,从一个侧面反映了我省乃至我国水产养殖业的用药现状和存在问题——“禁用药物,禁而不止”。

硝基呋喃类药物作为渔业养殖抗菌药物,由于其高残留、高毒性,对人类健康具有很大的危害。2002年国家公布了《动物源性食品禁用药物清单》,把此类药物列为禁用,公告发布已有5年,禁用药物并未在水产养殖业消失。在此提出二点治理办法,仅为个人

蒋莲萍,辽宁省水产品质量安全检验检测局,130031,沈阳市皇姑区昆山中路51号。

李明玥,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-03-21

观点,供有关部门参考。

3.1 推广健康安全的水产品养殖模式

笔者近段时间走访了几家“多宝鱼”养殖场,重点考察防病、用药、健康养殖,结合生产实际,总结出一套健康养殖方法,具体如下。

① 购买 7 cm 左右的健康鱼苗;②放苗前将病苗、伤苗、弱苗挑出;③放苗后,如果有部分鱼苗因操作不慎而擦伤,可用盐酸土霉素药浴;④每天刷池 1 次,冬天每天换水 1 次,夏天每天换水 3 次,保持微循环;⑤如果不生病就不要用药预防,否则容易产生耐药性,一旦生病会出现治疗无效;⑥依靠井盐水自然水温,不需人工调节,冬天辽宁省井盐水大约是 11~12℃,夏天大约是 16~18℃;⑦分池时也不需用药;⑧饲料中添加适量的“多维”。按照上面的方法养殖,鱼

能保持健康生长,很少生病。对类似上述健康养殖方法,技术推广部门应该进行大力推广和普及,让养殖者尽快掌握健康养殖技术。

3.2 加强法律法规的宣传普及和日常监管

根据目前对药物残留途径的调查发现,药物残留的主要途径有二个,一是养殖过程中用药,二是运输过程中用药。因此,渔业行政主管部门要加强对水产养殖者、经营者进行水产品质量安全法律法规的宣传,强化他们的法律意识。各级政府及渔业行政主管部门按照职责分工,加强对重点品种、重点环节、重点场所,尤其是高风险品种的养殖、捕捞、加工、经营、消费等环节的水产品质量安全的日常监管。

(编辑:张学智, mengzai007@163.com)

(上接第 62 页) (鲜重),氨化秸秆 2 150 万吨,两项合计折算节约饲料粮 1 980 多万吨。2005 年全国青贮秸秆 1.75 亿吨(鲜重),氨化(含微贮)秸秆 5 300 万吨,两项折算节约饲料粮 4 700 万吨。我国秸秆处理利用率由 1995 年的 8.2% 提高到 2000 年的 15.8%, 2005 年达到 17.7%。作物秸秆在发展牛、羊等草食家畜生产和优化畜牧业结构中发挥了重要作用。

对我国秸秆资源的利用方式进行统计的结果表明,中国秸秆利用中,以肥料(包括直接还田)用量最多,占秸秆资源的 36.6%,其次是燃料和饲料粮,分别占秸秆资源的 23.7% 和 22.6%,其它如原料、焚烧和弃置乱堆共占 17%。不同作物的秸秆利用方式不同,小麦、水稻和其它类作物的秸秆,40% 以上以各种方式还田,用作肥料,而杂粮和花生秸秆作饲料的比例较高,在 40% 以上;棉花和豆类秸秆多用作燃料,焚烧比例较大的秸秆有油菜、小麦、玉米和水稻,在 5% 以上。

我国每年有近 6 亿吨可利用的农作物秸秆资源,而目前用作饲料的比例不足 25%,开发利用的潜力巨大。目前我国秸秆利用率较低,主要原因是高质量秸秆饲料所占比例低,专用青贮玉米种植面积小。目前用作饲料的秸秆中青贮的比例仅为 28% 左右,比例偏低。专用青贮玉米播种面积仅占到全国玉米播种面积的 6%,法国则占到 80% 以上。

加大青贮玉米及全株青贮玉米的加工量,提高秸秆饲料处理率;大力推广优质专用青贮玉米,扩大其播种面积,提高秸秆资源的总体利用率,通过发展秸

秆畜牧业降低饲料粮用量,缓解我国草食家畜快速发展对粮食安全的压力。

5.5 增加科技推广投入,引导农民科学饲养,提高饲料粮利用率。饲料粮经过营养调配和加工,转化效率大幅度提高。使用 1 t 配合饲料比使用单一饲料养殖平均可以节约饲料粮 250 kg。目前我国规模化养殖的比例不高,分散养殖仍占很大的比重,对饲料粮的浪费惊人。通过提高规模养殖的比重,大量推广使用配合饲料,能够减少小规模散养户消耗原粮的比例。这样不仅节约养殖用粮,缓解粮食安全的压力,而且提高养殖效益,增加农民收入。建议增加饲料工业科研与推广的投入,通过示范,提高规模养殖及农民科学饲养的水平,为粮食安全及养殖业现代化贡献力量。

参考文献

- 姜长云. 2020 年前我国粮食供求平衡状况展望. 科学决策月刊, 2006(1): 22~23
- 农业部畜牧兽医局. 饲料粮消费对粮食安全的影响. 中国畜牧业通讯, 2004(14): 42~43
- 潘耀国. 饲料粮与粮食的产需平衡问题. 中国畜牧业通讯, 2004(22): 34~37
- 梁雨祥. 我国粮食安全应处理好的几个关系. 中国粮食经济, 2005(3): 14~17
- 尚强民. 我国粮食消费需求增加并发生结构性变化. 中国粮食经济, 2005(10): 14~17
- 陈百明, 周小萍. 中国粮食自给率与耕地资源安全底线的探讨. 经济地理, 2005(2): 145~148

(编辑:崔成德, cuiengde@tom.com)