

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  
《中国期刊网》《中国学术网》(光盘版)  
全文收录期刊

2007年第28卷第20期  
(总第305期)  
(1980年创刊)

主管单位:  
辽宁省经济委员会  
主办单位:  
辽宁省农业机械研究所  
编辑出版:饲料工业出版社  
地址:沈阳市金沙江街16号6门  
邮编:110036

电话:总编室(024)86391923  
编辑一室(024)86391926(传真)  
编辑二室(024)86391925(传真)  
网络发行部(024)86391237  
投稿信箱:ls@feedindustry.com.cn  
网站:www.feedindustry.com.cn  
总编辑:陈广鹏  
副总编辑:沈桂宇

广告全球代理:沈阳内广告有限责任公司  
董事长:王乾楠  
总经理:林勇  
副总经理:荣立南  
地址:(110036)沈阳市长江街126号甲  
B幢4单元1610室  
电话:(024)86276137 86276627  
传真:(024)86276127

印刷:辽宁省印刷技术研究所  
国内发行:辽宁省报刊发行局  
国外发行:中国国际图书贸易总公司(北京399信箱)  
出版日期:每月5日、20日出版  
国内代号:M4290  
国内统一连续出版物号:CN21-1169/S  
国际标准连续出版物号:ISSN1001-091X  
邮发代号:8-163

发行范围:国内外发行  
广告刊例:辽宁广告01-82号  
开户行:中信银行沈阳分行卓尚支行  
帐号:72214101826000548-49  
每期定价: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

目次

# 工业

(半月刊)

### 饲料添加剂

- 1 蛋氨酸羧基类似物的主要作用及其生物学效应的探讨 ..... 陈熠 贺建华
- 4 丁酸钠及其配伍在断奶仔猪中的应用效果 ..... 丁斌 魏 韩祥东 胡 麟
- 7 胆碱的研究进展 ..... 李 慧 王 宏 任泽林
- 11 外源酶制剂在反刍动物上的应用研究 ..... 王书然 张铁鹰 陈志伟等
- 15 葡萄糖氧化酶的应用研究 ..... 范一文 吴晓英
- 17 不同底物对植酸酶酶活检测的影响 ..... 赵 剑 李光智 郭宝林等

### 水产养殖

- 19 草鱼对四种高蛋白饲料原料的离体消化分析 ..... 李高峰 叶元士 代晓芳等
- 21 云芝多糖对奥尼罗非鱼消化机能的影响 ..... 龚 全 许国焕 付天玺等
- 24 饲料中添加蛋白酶AG对凡纳滨对虾生长和肌肉成分的影响 ..... 刘鼎云 冷向军 卢永红等

### 试验研究

- 26 佛州侧耳对玉米秸秆干物质体外降解率的影响 ..... 仲崇刚 刘 坦 闫坤伦
- 29 不同底源对微生物植酸酶降解饲料中植酸磷的体外研究 ..... 李成良 张海燕 刘献英等
- 33 桔梗水提液的急性毒性和蓄积毒性试验 ..... 金锡九 张 敏 聂 兵

### 饲养试验

- 35 不同日粮能量水平和酶制剂对临武鸭生产性能的影响 ..... 陈清华 程天德 周 海
- 39 日粮中添加铜对肉仔鸡生产性能的影响 ..... 常新耀 王 翠
- 42 β-葡聚糖酶对肉鸡生产性能的影响 ..... 王允超 范志恒

### 营养研究

- 43 瘦素对机体代谢调控研究进展及其在畜牧业中的应用前景 ..... 邹增丁 陈立祥 苏建明
- 47 芽孢杆菌的作用机理及其在断奶仔猪日粮中的应用研究 ..... 张秀文 齐遵利 刘艳琴

### 检测技术

- 50 动物尿液中莱克多巴胺检测方法的研究探讨 ..... 丁美方 邓程君 王有月
- 52 免疫亲和柱净化高效液相色谱法测定饲料中黄曲霉毒素 ..... 姜光兴 刘振伟 曹 旭等

### 专题论述

- 55 伏马菌素的毒性作用研究 ..... 金海涛 陈道付 李绍钰
- 58 氯的研究进展及其在家禽营养中的作用 ..... 鲍庆路 王 安 王 洋

### 问题探讨

- 62 摄食调控的神经内分泌机制研究进展 ..... 曹德瑞 邹晓庭

企业标识展示

EDSO 江苏良友 (0519)88309888  
Dobbette-victory 迪高维尔 www.dobbette-victory.com (029)87035008  
KINS 康源牧业 杭州康源牧 (0571)86433111  
Leader 立达芬 广州立达芬 (020)87636309  
BFI Applied Nature 上海彼福义 (021)57687881  
KDN 康地恩生物 康地恩生物 (0532)88966607  
Huatens Enzymes 欣美华酶 (0758)2838308  
正昌人才工程 (0519)7309867  
通威集团 (028)85188888  
江苏北方 (0412)3430018 (024)88080922  
江苏牧羊 (0514)7848811  
山东东阳 (0315)3719406  
山能化学 烟台山能化学 (0535)3719406  
迪高维尔 (029)87035008  
新泰友邦机械 (0538)7427566  
聚昌 (0485)7703213  
聚昌机械 (0485)7703213  
康地恩生物 (0532)88966607  
欣美华酶 (0758)2838308  
广东中山北克 (0760)3113061

# 蛋氨酸羟基类似物的主要作用 及其生物学效价的探讨

陈 熠 贺建华

蛋氨酸是合成蛋白质的一种重要的必需氨基酸,它主要存在于动物性蛋白中,在植物性蛋白中含量较少。它在体内不能直接合成或合成速度不能满足动物的需要,因此,只能靠外源补充来满足动物对蛋氨酸的需要。蛋氨酸是家禽玉米—豆粕型日粮的第一限制性氨基酸,也是以玉米为主要基础日粮的高产奶牛机体中乳和乳蛋白合成的第一限制性氨基酸,还是猪的第二限制性氨基酸。随着我国畜牧业的飞速发展,蛋白质饲料越来越缺乏,蛋氨酸添加剂的生产虽然不断扩大,但还是不能满足市场需要。由于蛋氨酸羟基类似物(MHA)可在动物体内转化为蛋氨酸而发挥其营养作用,且因其良好的过瘤胃作用、酸化作用、抑菌作用等而备受关注,近几年对它的研究也日益深入。

## 1 蛋氨酸羟基类似物对动物的主要作用

### 1.1 发挥蛋氨酸的生物学作用

#### 1.1.1 营养作用

蛋氨酸羟基类似物可以在动物体内转化为L-蛋氨酸,发挥蛋氨酸的生物学作用。蛋氨酸在动物体内作为必需氨基酸合成机体蛋白,能提高生长性能;可转化为胱氨酸,发挥保肝解毒的作用;可为机体提供活性甲基,参与甲基的转移和肾上腺素、肌酸、胆碱、角质素和核酸等的合成;还能提供活性羟基基团,补充胆碱或维生素B<sub>12</sub>的部分作用;它在体内代谢生成聚胺,聚胺对动物细胞增殖具有非常重要的促进作用;同时它还参与精胺、半精胺等和细胞分裂有关的化合物的合成。

#### 1.1.2 提高机体免疫力

蛋氨酸有提高机体免疫力的作用,其机理目前还不很清楚,目前的研究水平大多停留在表观免疫指标的测定上。一些研究表明,日粮中蛋氨酸水平可影响

动物的体液免疫,主要表现在对抗体效价的影响上。张英杰等报道,蛋氨酸水平为0.063%~0.413%时,随着日粮蛋氨酸水平的提高,鸡血清中的抗体滴度、免疫球蛋白和淋巴细胞转化率显著提高。Tsiagbe研究表明,日粮中添加0.25%蛋氨酸可显著提高经绵羊红细胞腹腔注射后的肉仔鸡抗绵羊红细胞血清抗体效价和IgG抗体效价。同时,日粮蛋氨酸水平对细胞免疫也有影响。Soder等研究表明,在奶牛日粮中添加瘤胃保护蛋氨酸显著提高了牛血液中T淋巴细胞转化率。Swain等在含蛋氨酸0.36%的基础日粮中添加0.15%、0.30%和0.45%的蛋氨酸显著提高了新城疫疫苗免疫后第21d肉仔鸡的淋巴细胞迁移抑制率。发挥免疫作用的蛋氨酸需由饲料补充,而不能由胆碱和半胱氨酸等代替。

#### 1.1.3 降低日粮粗蛋白水平

日粮中蛋氨酸水平的高低将影响其它氨基酸的利用及生产性能的发挥。在保证氨基酸平衡的前提下,提高日粮蛋氨酸水平可降低日粮粗蛋白水平,且不影响生产性能。杨正德等研究表明,低蛋白日粮组即使添加蛋氨酸之外的其它必需氨基酸,肉仔鸡的增重和饲料转化率仍然显著低于高蛋白日粮组,进一步添加蛋氨酸可消除这种差异。Jeroch等报道,若日粮中总含硫氨基酸满足需要,18.0%~18.7%的粗蛋白与20.4%~21.5%的粗蛋白在对肉仔鸡生产性能和胴体脂肪沉积方面的效果相当。

#### 1.1.4 提高生产性能

蛋氨酸羟基类似物可促进肉鸡生长,提高日增重,降低料肉比;可提高蛋鸡产蛋高峰期和产蛋周期的产蛋量、蛋重及蛋壳质量。在开产蛋鸡或产蛋鸡日粮中添加大于0.6%的DL-蛋氨酸(DLM)或0.68%的MHA还可酸化尿,并降低钙引发的肾损伤,降低尿结石的发生率。但过度酸化会影响钙代谢从而影响产蛋量、蛋壳质量及骨质矿物化,引发代谢性酸中毒。添加瘤胃保护性蛋氨酸能提高奶牛的干物质采食量、促进增重、提高乳产量、改善乳成分。Rogers等证实,饲喂玉米蛋白粉+尿素日粮,添加瘤胃保护性蛋氨酸能够

陈熠,湖南农业大学动物科技学院,410128,湖南长沙芙蓉区湖南农业大学1879信箱。

贺建华(通讯作者),单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-08-20

提高产奶量和乳蛋白量。夏中生等报道,MHA 的添加使奶水牛的产奶量和乳蛋白量分别提高了 5.90%、1.55%。这是因为 MHA 是一种过瘤胃蛋氨酸,大部分可避过瘤胃的降解安全到达小肠,蛋氨酸被小肠吸收后即转化为蛋白质以满足奶水牛泌乳的需要。MHA 在猪生产上的研究较少,但部分试验仍证明了其具有提高猪生长性能的作用。浣长兴等研究表明,对 21 头断奶仔猪进行的为期 32 d 的试验,添加 MHA 使仔猪日增重提高 8.6%,采食量提高 5.5%,料肉比降低 3.25%; 同时还能减少仔猪腹泻次数和降低单位增重的饲料成本,从而提高养猪生产的经济效益。

### 1.2 MHA 是经济高效的反刍动物过瘤胃蛋白源

游离氨基酸在瘤胃中会被微生物降解,发生脱氨基作用,因此添加结晶型氨基酸效果不理想。使用保护性氨基酸或氨基酸类似物,可在一定程度上防止瘤胃微生物的降解,当它们到达小肠时释放出来并被机体吸收和利用。游离氨基酸经包被处理后过瘤胃率提高,但使用效果受包被情况及后续加工工艺的影响较大,且成本较高。因而目前倾向于选择效果好且成本相对较低的 MHA。

MHA 进入体内后能被瘤胃微生物降解并转化为蛋氨酸,也能在瘤胃壁被吸收并代谢,此外,MHA 还能随食糜离开瘤胃,并通过瓣胃和小肠被吸收。这 3 种途径同时发生并相互竞争,MHA 被每种途径代谢的程度直接影响其有效性。

Koenig 研究表明,MHA 的过瘤胃率与添加量无关,添加量为 25、50 g/d 时差异不显著,过瘤胃率平均为 41.8%。结合以前的研究,MHA 的过瘤胃率范围为 41%~50%,平均为 44.3%。当 MHA 用量高时,未降解率高,但进一步研究表明,食糜流通速度是影响过瘤胃率的主要因素。Vazquez 等采用连续培养系统的研究表明,MHA 的利用率受食糜流通速度的调控,食糜流通速度快时,MHA 的利用率高。

MHA 能促进脂蛋白和细菌蛋白的合成,改善纤维消化率,提高瘤胃原虫数量,改变瘤胃挥发性脂肪酸的发酵模式,促进瘤胃发酵,是一种效果很好的反刍动物蛋氨酸源。它无需特殊的包被和处理就能避免被瘤胃过多地降解,与其它各种过瘤胃蛋氨酸源所提供的蛋氨酸相比,是最经济的反刍动物蛋氨酸源。另外,由于 MHA 不需要保护性被膜,因而不会受到加工的制约。这意味着可对 MHA 进行高温蒸汽调制、混合、膨化或制粒而不破坏其活性。

### 1.3 用作仔猪日粮酸化剂,降低饲料系酸力

仔猪消化道功能发育不完全,胃酸分泌不足,又加上断奶应激,使胃肠道微生物平衡遭到破坏,大肠杆菌迅速繁殖,最终导致仔猪腹泻,生产性能下降。酸化剂可通过降低胃肠道的 pH 值,提高消化酶的活性,改变有害菌的生存环境或直接抑制杀死病原菌,同时促进有益菌的繁殖,减少腹泻。冷向军等报道,日粮中添加 1.5% 的柠檬酸显著降低了结肠大肠杆菌数量( $P < 0.05$ ),添加 0.25% 的复合酸有降低大肠杆菌数量、增加乳酸杆菌数量的趋势。Piva 等研究发现,酸化日粮对腹泻的预防作用与添加抗生素的作用是一致的。与抗生素相比,酸化剂具有安全、不产生抗药性等优势。抗生素会杀死肠道内所有的微生物,而酸化剂只是抑制或杀死肠道病原微生物,同时使有益菌群在肠道中占据主导地位。

MHA 的 pKa 值为 3.6,pH 值为 1~2,其酸的结构与乳酸相似,具有相对较强的酸性作用。它可以提供  $H^+$ ,从而降低饲料的系酸力,添加得越多,饲料的系酸力下降得越明显。MHA 发挥酸化剂的功能时,能缓冲日粮中高碱成分对胃酸的中和,增强胃肠道的酸性环境,提高胃蛋白酶、十二指肠胰蛋白酶和肠道有益微生物的活性,从而促进营养物质尤其是蛋白质的消化吸收,因而可减少仔猪,尤其是早期断奶仔猪的营养性腹泻,促进其生长。但系酸力的改变应适宜,当系酸力过低而超过仔猪对酸碱平衡的调节能力时,会影响仔猪的生理酸碱平衡,导致体内酸过多,酸碱失衡,引起机体酸中毒,影响仔猪生产性能。目前关于 MHA 用作仔猪日粮酸化剂的研究较少,具体效果有待进一步研究。

### 1.4 抑菌杀菌

MHA 是一种酸性较强的有机酸,它可通过直接扩散进入细胞内,降低细胞内 pH 值,抑制蛋白质、脂类、DNA、RNA 等大分子细胞膜的组成成分的代谢,破坏病原菌细胞膜的完整性,从而起到杀菌作用。Bosi 等认为,对易于在胃内被吸收的酸化剂应采取有效方法使其在后段肠道发挥作用,以有效控制肠道大肠杆菌和其它病原微生物数量。MHA 主要在小肠吸收,也有一部分在大肠吸收,这种吸收方式保证了 MHA 在肠道内能有效地发挥抑菌和杀菌作用。

饲料中添加蛋氨酸可抑制各种霉菌毒素的产生。王冉等研究认为,蛋氨酸可与饲料中的霉菌毒素相结合,使其毒性降低。MHA 对霉菌也具有抑制和杀灭作用,在饲料中添加后,可以防止或控制霉菌在饲料中的繁殖,保持饲料的新鲜度,防止微生物对饲料营养物质的分解,从而提高饲料的适口性和营养物质的利

用率。饲料在加工过程中不可避免地受到外界微生物的污染,添加 MHA 后,既可以防止霉菌在饲料中的繁殖,同时 MHA 又可转化为蛋氨酸,增强机体对霉菌毒素的分解,从而使生产性能得以充分发挥。

### 1.5 减少氮的排泄,保护环境

添加 MHA 能降低日粮配制时的粗蛋白含量,降低血浆尿素氮水平,从而减少氮的浪费和排泄。根据生物化学原理,机体所需要的是必需氨基酸碳架,而不一定是其全部。只要有了必需氨基酸的碳架,机体就可能在转氨酶的作用下,将其转化成相应的 L-氨基酸。MHA 本身就是蛋氨酸代谢的中间产物,具备蛋氨酸的碳架,在代谢中的作用与蛋氨酸相同。由于 MHA 没有氨基,因而在代谢中不会发生脱氨基作用,而且它在体内代谢形成蛋氨酸时会利用血中的游离氨,增加体内氮的沉积,从而降低了粪中氮的水平,减少了氮的排泄。同时,MHA 还能降低日粮粗蛋白水平,进一步减少了氮的排泄,减轻了对环境的污染。Noftsker 等研究表明,低蛋白氨基酸平衡的日粮可显著降低奶牛向环境排出的氮量。低蛋白、高可消化过瘤胃蛋白、MHA 日粮和低蛋白、高可消化过瘤胃蛋白日粮,总氮效率(乳中氮含量/采食氮含量)分别为 35%和 31.7%,环境效率(排出氮/乳中氮)分别为 1.89 和 2.19,差异显著( $P<0.05$ )。

### 1.6 减少热应激

在高温、高湿的气候条件下,由于 MHA 不含氨基,氮转化成尿酸过程中产生的余热减少,因而可减缓鸡的热应激反应,提高采食量和生长速度。据 Diberner 等报道,虽然热应激状态下所有的鸡都表现出生产性能下降,但是饲喂 DLM 的肉鸡和饲喂 MHA 的肉鸡相比下降程度更大。MHA 与 DLM 的吸收速度或程度不同,MHA 的吸收更迅速、更彻底。体外试验表明,当鸡处于热应激时,小肠 DLM 的转运减弱,而 MHA 的转运则加强。这与二者的吸收机制不同有关:MHA 在整个消化道经不耗能的被动扩散途径吸收,而 DLM 在小肠经能量依赖型途径吸收,DLM 只能在小肠,主要是在回肠中被吸收,且热应激条件下,DLM 的利用率小于 MHA。这可能是 MHA 减缓热应激的机理。

## 2 影响蛋氨酸羟基类似物的生物学效价因素

自从 MHA 诞生以来,其生物学效价的问题一直是学术界争论的焦点。许多学者研究了 MHA 相对于 DLM 的生物学效价。研究结果差别较大,从 50%到 100%,甚至更高。目前对 MHA 的生物学效价主要存在两种观点,一种观点认为 65%的 DLM 与 100%的 MHA 在增重、料重比等方面差异不显著,从而得出其

生物学效价为 65%;另一种观点认为二者的使用效果无显著差异,得出 MHA 的生物学效价为 100%。造成争议的主要原因是研究者所采用的测定方法、试验日粮、试验设计和统计方法等不同。

### 2.1 测定方法

测定 MHA 生物学效价的方法主要有两种,一种是用线性模型或指数模型进行回归分析。这种方法需要运用纯合日粮或半纯合日粮设计出缺乏蛋氨酸的基础日粮和几个不同的蛋氨酸添加水平,其结果很大程度上取决于蛋氨酸的缺乏程度和测定的性能指标不同;另一种是简单替代法。这种方法需要配制一种缺乏含硫氨基酸的基础日粮,在等摩尔基础上添加不同水平的 MHA 来替代 DLM,比较动物生长性能,评定 MHA 的生物学效价。该方法比较简单,但不能测出生物学效价值,只能得出一个一般生物当量值。

### 2.2 试验日粮

动物对限制性营养物质的生长反应遵循报酬递减规律。添加蛋氨酸可改善动物的生产性能,但随着添加量的增加,改善的幅度将逐渐减小,直到蛋氨酸满足动物维持和生产的需要量时,再添加蛋氨酸不能进一步提高动物的生产水平。测定 MHA 的生物学效价时,试验日粮必须缺乏蛋氨酸,且缺乏的程度越高,可设计的添加水平就越多,结果就越准确。因此,在试验条件允许的前提下,应尽量选择蛋氨酸缺乏程度高的试验日粮。Summers 等研究表明,玉米—豆粕—动物胶型日粮和低蛋白豆粕型日粮对蛋氨酸添加剂比较敏感。低蛋白豆粕型日粮成本较低,操作也较简便,最适合用于对蛋氨酸添加剂进行评价。

理论上讲,试验日粮中蛋氨酸含量越低,添加 MHA 的效果和添加 DLM 的相比就越差,将减小整个回归曲线的斜率,使 MHA 的相对生物学效价降低。Thomas 等报道,用 23%的豆粕和 21%的花生粕做饲料蛋白源,与只用豆粕做蛋白源的两种日粮做试验。比较 MHA 相对于 DLM 的生物学效价,结果显示,豆粕花生粕组 MHA 的相对生物学效价是 85%(增重)和 79%(饲料效率),豆粕组相应为 72%和 73%。

### 2.3 试验设计

试验在基础日粮中分别添加 100 份 MHA 和 65 份 DLM 进行比较,结果动物生产性能差异不显著,就认为 MHA 的相对生物学效价是 65%。这样的试验在设计上存在缺陷,受部分试验结果的影响,研究者先入为主地认为 MHA 的生物学效价是 65%,缺乏客观性。按照科学的设计方法,要测定 MHA 的生物学效价,首先要配制一个仅缺乏蛋氨酸的试验日粮,再在

# 丁酸钠及其配伍在断奶仔猪中的应用效果

丁斌鹰 韩祥东 胡麟

**摘要** 为研究丁酸钠及其配伍对断奶仔猪生长性能的影响,本试验选用(21±1)日龄断奶、(7.28±0.15) kg 健康“杜×长×大”杂交仔猪 150 头,随机分为 5 个处理组,每个处理组 3 个重复(栏),每个重复 10 头仔猪,公母各半。试验日粮是在基础日粮基础上分别添加 10%硫酸抗敌素预混剂 600 mg/kg(对照组)、0.1%丁酸钠(试验 I 组)、0.2%丁酸钠(试验 II 组)、0.1%丁酸钠+10%硫酸抗敌素预混剂 200 mg/kg(试验 III 组)和 0.1%丁酸钠+10%硫酸抗敌素预混剂 400 mg/kg(试验 IV 组)。试验期为 14 d。试验结果表明,在断奶仔猪日粮中添加丁酸钠及其与硫酸抗敌素配伍均显著降低断奶仔猪腹泻发生率( $P<0.05$ ),并有提高断奶仔猪的平均日增重和采食量、降低料重比的趋势( $P<0.05$ )。且 0.1%丁酸钠与 10%硫酸抗敌素预混剂 400 mg/kg 配伍使用对仔猪抗腹泻、促生长的效果最好。

**关键词** 断奶仔猪;丁酸钠;硫酸抗敌素;腹泻率

**中图分类号** S828

抗生素作为饲料添加剂使用日益受到限制,在欧盟、美国等一些国家已经禁止了大部分抗生素在饲料中使用。为了保证畜禽的健康,生产安全绿色饲料,世

界各国都在积极地寻找可以替代抗生素的促生长物质。目前最具潜力的物质之一是短链脂肪酸及其化合物,如丁酸钠。据报道<sup>[1]</sup>,丁酸钠可作为肠粘膜营养剂、电解质平衡调节剂、胃肠道微生态调节剂、复合酸化剂、香味剂、诱食剂等的成分而发挥其独特的作用,但有关其作为减少抗生素或与抗生素配伍的应用研究报道却相对很少。因此,本试验以断奶仔猪为研究对象,探讨丁酸钠及其药物组合的应用效果,为仔猪生产中应用丁酸钠提供一定的参考。

## 1 材料与方法

丁斌鹰,武汉工业学院饲料科学系,副教授,430023,湖北武汉汉口常青花园特一号。

韩祥东,单位及通讯地址同第一作者。

胡麟,武汉神舟化工有限公司。

收稿日期:2007-07-11

等摩尔基础上添加不同水平的蛋氨酸羟基类似物,这样才能得出客观的结论。

## 2.4 统计方法

方差分析和回归分析是分析试验数据时常用的方法。方差分析的灵敏度较差,只适用于定性的、未严格设计的试验,多重比较一次只能比较两个试验处理,无法看出试验中各处理的总趋势。方差分析是采用一种静态的观点来分析试验数据,得出的结论具有片面性,不适用于按梯度添加方案设计的试验。回归分析常用于梯度添加试验,试验结果中各处理间差异显著与否视试验条件而定。处理数越多,处理间差异越小,试验结果的准确性就越高。

在认为 MHA 的生物学效价与 DLM 无显著差异的试验中,研究者仅采用方差分析对试验数据进行处理,差异不显著,就认为二者效价没有差异。而在认为 MHA 效价较低的研究中,研究者除采用方差分析对试验数据进行处理外,还采用了回归分析来处理数据。回归模型的选择影响对 MHA 生物学效价的评定。据王冉等报道,采用线性回归分析 DLM 和 MHA 的生物学效价时,结果分别为 100%和 96%。同一试验采用

非线性(指数)回归分析,结果分别为 100%和 58%。所以方法不同,结果也不同。

此外,动物的年龄、生长阶段、生理状况,蛋氨酸添加剂的物理状态、添加形式,饲料的能量水平等对 MHA 生物学效价的评定都有影响。

## 3 小结

蛋氨酸对动物的生长、繁殖和生产等有重要作用,是一种重要的必需氨基酸。MHA 在动物体内可转化为蛋氨酸并发挥其营养作用,提高动物免疫力、降低日粮粗蛋白水平、提高生产性能。此外,它还能抑菌杀菌、减少热应激,并可用作反刍动物的过瘤胃蛋白和仔猪日粮的酸化剂。同时,添加 MHA 可以减少氮的排泄,保护环境。目前,对鸡和牛的日粮中添加 MHA 的研究较多,对猪的研究较少。此外,MHA 在不同动物、不同阶段的适宜添加量仍不清楚,在早期断奶仔猪中的应用效果也有待进一步验证,并且许多研究都还未从分子水平阐明其作用机制,这些都是今后研究的重点。

(参考文献 28 篇,刊略,需者可函索)

(编辑:高雁, snowyan78@tom.com)

## 1.1 试验材料

丁酸钠:由武汉神舟化工有限公司提供,含量为99%。硫酸抗敌素:市售,日本旭化成工业株式会社生产的10%硫酸抗敌素预混剂。

## 1.2 试验动物

选择(21±1)日龄断奶、(7.28±0.15) kg体重的健康“杜×长×大”杂交仔猪150头,随机分为5个处理组,每个处理组3个重复(栏),每个重复10头仔猪,公母各半。

## 1.3 试验日粮

基础日粮为玉米—鱼粉—豆粕型日粮,日粮组成及营养水平见表1。试验设计见表2,为保证日粮营养水平基本一致,将上述添加剂和药物配制到预混料中。试验料为粉料。

表1 基础日粮组成及营养水平

原料名称	含量(%)	营养水平	
玉米	60.00	消化能(MJ/kg)	13.79
豆粕	22.45	蛋白质(%)	19
乳清粉	3.50	钙(%)	0.8
进口鱼粉	5.00	磷(%)	0.6
植物油	2.35	赖氨酸(%)	1.35
磷酸氢钙	0.63	蛋氨酸+胱氨酸(%)	0.7
次粉	3.58		
石粉	0.66		
食盐	0.17		
赖氨酸	0.26		
防霉剂	0.10		
酸化剂	0.30		
预混料	1.00		

注:预混料可为每千克全价料提供维生素A 8 500 IU、维生素D 1 300 IU、维生素E 12 IU、维生素K 2.0 mg、维生素B<sub>1</sub> 1.2 mg、维生素B<sub>2</sub> 4.0 mg、维生素B<sub>6</sub> 0.2 mg、泛酸钙 10.0 mg、胆碱 600 mg、烟酸 16.0 mg、叶酸 0.3 mg、生物素 0.06 mg、铜 220 mg、铁 100 mg、锰 60 mg、锌 120 mg、硒 0.3 mg、碘 0.3 mg。

表2 试验设计

项目	饲粮组成
对照组	基础日粮+10%硫酸抗敌素 600 mg/kg
试验 I 组	基础日粮+0.1%丁酸钠
试验 II 组	基础日粮+0.2%丁酸钠
试验 III 组	基础日粮+0.1%丁酸钠+10%硫酸抗敌素 200 mg/kg
试验 IV 组	基础日粮+0.1%丁酸钠+10%硫酸抗敌素 400 mg/kg

## 1.4 试验管理

试验在同一幢保育舍内进行,所有栏舍均为条缝式钢筋水泥地板。按猪场的常规管理进行饲养管理,试验猪自由采食、饮水。试验在湖北团风猪场进行。试验仔猪断奶后,饲喂人工乳7 d,然后用试验日粮过渡3 d,正式试验为14 d。

## 1.5 测定指标

在试验前后对试验猪进行空腹称重,以栏为单位记录试验猪体重、耗料量及腹泻头次。计算平均日增重、料重比及腹泻率。

## 1.6 统计分析

试验数据采用 SAS6.12 统计软件进行单因素方差分析和最小显著性检验。所有数据均表示为“平均数±标准差”。

## 2 结果与分析

## 2.1 断奶仔猪生长性能(见表3)

表3结果表明,试验 I、II、III、IV组与对照组相比,在平均日增重方面,分别提高了4.26%、4.61%、8.65%、13.00%(P>0.05);在平均日采食量方面,分别提高了2.26%、2.26%、3.28%、6.43%(P>0.05);而在料重比方面,分别降低了1.86%(P>0.05)、2.48%(P>0.05)、4.97%(P>0.05)、6.21%(P<0.05),即日粮中添加0.1%丁酸钠+10%硫酸抗敌素预混剂400 mg/kg具有明显改善断奶仔猪对饲料利用率的作用。

表3 试验期间断奶仔猪的生长性能

项目	对照组	试验 I 组	试验 II 组	试验 III 组	试验 IV 组
始重(kg)	7.29±0.15	7.29±0.16	7.27±0.17	7.28±0.10	7.27±0.12
末重(kg)	11.69±0.19	11.88±0.26	11.90±0.32	12.04±0.19	12.20±0.18
平均日增重(g/d)	314.5±31.2	327.9±34.8	329.0±34.4	341.7±18.4	355.4±21.7
平均日采食量(g/d)	505.5±28.0	516.9±29.5	516.9±29.8	522.1±21.9	538.0±19.2
料重比	1.61±0.10 <sup>a</sup>	1.58±0.13 <sup>ab</sup>	1.57±0.16 <sup>ab</sup>	1.53±0.12 <sup>ab</sup>	1.51±0.09 <sup>b</sup>

注:同一行数据肩标相同字母者表示差异不显著(P>0.05),不同字母者表示差异显著(P<0.05)。下表同。

## 2.2 腹泻率(见表4)

表4 试验期间断奶仔猪腹泻率(%)

项目	对照组	试验 I 组	试验 II 组	试验 III 组	试验 IV 组
1~7 d	8.83±2.48 <sup>a</sup>	5.15±2.32 <sup>ab</sup>	2.38±2.18 <sup>bc</sup>	0.91±0.79 <sup>d</sup>	0.95±0.82 <sup>d</sup>
8~14 d	3.20±0.60 <sup>a</sup>	2.81±1.49 <sup>a</sup>	0.48±0.82 <sup>b</sup>	0 <sup>c</sup>	0 <sup>c</sup>
1~14 d	6.02±1.01 <sup>a</sup>	3.98±1.90 <sup>ab</sup>	1.43±1.04 <sup>bc</sup>	0.45±0.39 <sup>d</sup>	0.47±0.41 <sup>d</sup>

由表4可见,在试验前7 d,与对照组相比,试验 I、II、III、IV组腹泻率降低41.68%(P>0.05)、73.05%(P<0.05)、89.69%(P<0.05)、89.24%(P<0.05)。试验 I 组与试验 II 组、试验 III 组与试验 IV 组之间差异不显著(P>0.05)。本次试验结果表明,丁酸钠及其与硫酸抗

敌素的配伍使用在试验前期就有较好的防止断奶仔猪腹泻的效果。

在试验的第 8~14 d,与对照组相比,试验 I、II 组腹泻率降低 12.19%( $P>0.05$ )、85%( $P<0.05$ )。试验 III、IV 组的腹泻率为 0,表明丁酸钠与硫酸抗敌素的配伍对降低腹泻的效果非常明显( $P<0.05$ )。

综观试验全程(1~14 d),与对照组相比,试验 I 组腹泻率降低 33.89%( $P>0.05$ );试验 II 组腹泻率降低 76.25%( $P<0.05$ ),但与试验 I 组相比差异不显著( $P>0.05$ );试验 III 组腹泻率降低 92.52%( $P<0.05$ ),与试验 I、II 组相比差异显著( $P<0.05$ );试验 IV 组腹泻率降低 92.19%( $P<0.05$ ),与试验 III 组相比差异不显著( $P>0.05$ )。因此,丁酸钠、硫酸抗敌素及其配伍都能有效地降低断奶仔猪的腹泻率,尤其是两者配伍使用效果更好。

### 3 讨论

断奶仔猪腹泻是目前最严重的仔猪疾病之一,也是引起仔猪死亡的重要原因,其病因十分复杂,其中,以致病性大肠杆菌引起的哺乳仔猪腹泻最为常见。因此,在配制断奶仔猪日粮时经常添加防治大肠杆菌病的药物,如硫酸抗敌素等。但随着人们对肉食品中药物残留要求越来越严格,因此寻找抗生素的替代品就成为行业研究的热点。

丁酸钠是短链脂肪酸盐,其有效成分是短链挥发性脂肪酸——丁酸。丁酸作为一种生物调节剂对所有动物胃肠道的健康具有广泛的作用。Galfi D 等(1990)<sup>[2]</sup>试验发现,在断奶仔猪日粮中添加 0.17% 丁酸钠可以显著改善仔猪肠道中微生物环境,促进乳酸杆菌等有益菌的生长,显著降低肠道大肠杆菌的数量。Martin Enderink 等(2004)<sup>[3]</sup>认为,在断奶仔猪日粮中添加 0.1% 丁酸钠可以提高仔猪健康水平,提高断奶仔猪日增重,减少腹泻发生率,降低仔猪的药物治疗费用。王继凤等(2005)<sup>[4]</sup>报道,在断奶仔猪日粮中添加 1 g/kg 丁酸钠,可促进仔猪空肠和回肠粘膜结构完整且层次清晰、肠绒毛排列整齐以及柱状细胞结构清晰、绒毛粗壮。因而,在断奶仔猪日粮中添加丁酸钠有益于断奶仔猪的健康。本试验结果表明,在断奶仔猪日粮中添加 0.1% 和 0.2% 丁酸钠都有改善仔猪生长性能的趋势,降低断奶仔猪的腹泻发生率,这与罗海祥(2006)<sup>[5]</sup>报道结果相似。因此,笔者认为丁酸钠有望成为取代抗生素的新型饲料添加剂。

有关丁酸钠与抗生素的比较和相互作用的研究

报道不多,目前已有的相关报道主要集中在免疫和肠道功能方面。王继凤(2005)<sup>[4]</sup>研究了丁酸钠、盐霉素及它们之间复合效应对断奶仔猪肠道粘膜结构与免疫的影响,结果显示两者的复合物效果最好,其次是丁酸钠。李芙燕等(2006)<sup>[7]</sup>报道了丁酸钠与硫酸抗敌素对肉仔鸡肥大细胞数量的影响,结果表明,添加 0.05% 丁酸钠优于添加 100 mg/kg 10% 硫酸抗敌素预混剂。本次试验以断奶仔猪为研究对象,研究了丁酸钠与硫酸抗敌素的复配效果对仔猪生长性能、腹泻发生率的影响,结果显示,丁酸钠与硫酸抗敌素的配伍有较好的效果,尤其在抗腹泻方面。其原因可能是丁酸钠具有抑制大肠杆菌滋生的作用<sup>[2]</sup>,同时,硫酸抗敌素也是一种较强的抗大肠杆菌的药物,因此,两者的配伍使用在本次试验中表现出加强效应。

### 4 小结

4.1 在断奶仔猪日粮中添加丁酸钠及其与硫酸抗敌素两者配伍使用均显著降低断奶仔猪腹泻发生率( $P<0.05$ ),并能提高断奶仔猪的平均日增重和采食量趋势,降低料重比( $P<0.05$ )。

4.2 0.1% 丁酸钠与 10% 硫酸抗敌素预混剂 400 mg/kg 配伍使用对仔猪抗腹泻、促生长的效果最好。

### 参考文献

- 1 康永松,赖州文,周斌华. 丁壮素及其应用[C]. 第八届全国饲料添加剂学术暨新技术、新产品交流会论文集, 2004, 6: 214-217
- 2 Galfi D, Bokori J. Feeding trial in pigs with a diet containing sodium butyrate [J]. Acta Veterinaria Hungarica, 1990, 38 (2): 3-18
- 3 Martin Enderink, Qi Zhang. Sodium butyrate: micro-supplement with macro-benefits [J]. Asian Pork, 2004, 9: 40-41
- 4 王继凤,陈耀星,王子旭,等. 丁酸钠对断奶仔猪小肠粘膜形态结构的影响[J]. 中国兽医科技, 2005, 35(4): 298-301
- 5 罗海祥. 丁酸钠对断奶仔猪生长性能和小肠形态的影响[J]. 畜禽业, 2006, 201: 14-16
- 6 王继凤. 丁酸钠对断奶仔猪肠粘膜结构及粘膜免疫相关细胞影响的研究[D]. 北京: 中国农业大学硕士学位论文, 2005
- 7 李芙燕,陈耀星,王子旭,等. 三种饲料添加剂对肉鸡小肠肥大细胞数量分布的影响[J]. 动物医学进展, 2006, 27(2): 65-68

(编辑:王芳, [xfang2005@163.com](mailto:xfang2005@163.com))

## 胆碱的研究进展

李慧 王宏 任泽林

## 1 胆碱的理化特性

胆碱是一种季胺碱,化学名称为氢氧化 $\beta$ -羟乙基三甲胺,分子量为127.16,分子中的甲基团占37.14%。纯净胆碱为无色、粘滞、微带鱼腥味、吸湿性很强的碱性液体,其无水物为白色易潮解的针状结晶。胆碱有极强的亲水性,与疏水离子(六硝基二苯胺)形成离子对,含离子对的复合物可被有机溶剂(如二氯甲烷)浸提出来,这一过程常被用于选择分离生物组织中微量胆碱。

## 2 胆碱与其它营养素的关系

尽管生物体内的胆碱可由乙醇胺甲基化合成,但胆碱的去甲基产物为二甲基甘氨酸,并不是二甲基乙醇胺。胆碱在肝脏线粒体中被氧化成甜菜醛,然后进一步被氧化成甜菜碱,甜菜碱和高半胱氨酸在甜菜碱高半胱氨酸甲基转移酶的作用下,生成蛋氨酸和二甲基甘氨酸。因此,在生物体内胆碱以甜菜碱的形式提供不稳态甲基。所谓不稳态甲基,是指在体内从一种化合物转移到另一种化合物的甲基,也称活性甲基。除胆碱之外,蛋氨酸、叶酸和维生素 $B_{12}$ 均可提供活性甲基。

## 2.1 胆碱与蛋氨酸、硫酸盐的关系

机体对蛋氨酸和胆碱本身的需要一旦被满足,对不稳态甲基的需要可通过蛋氨酸或胆碱来提供,即胆碱能节省正常用于甲基转移的蛋氨酸,但不能节省用于蛋白质合成的蛋氨酸。由于基础日粮蛋氨酸水平不同,添加不同水平胆碱的试验研究结果也不尽相同。总的说来,当日粮胆碱水平低时,添加蛋氨酸可产生显著应答;与之相似,当日粮蛋氨酸在临界需要量水平时,添加胆碱也可使生产性能得到一定程度改善。

有关胆碱和硫酸盐的研究,多以胆碱和硫酸盐能否节约蛋氨酸以及日粮不同蛋氨酸和硫水平对胆碱添加效果的影响为主要内容。禽可利用无机硫来满足其对总硫需要量的一部分,在纯合日粮中,鸡对添加无机硫的反应取决于日粮含硫氨基酸水平,日粮蛋氨酸水平越高,鸡对添加硫酸盐的反应越小。在玉米—豆粕型日粮中,即使含硫氨基酸缺乏,鸡对硫酸盐的添加也不产生应答。

李慧,北京英惠尔生物技术有限公司,100081,中关村南大街12号科海福林大厦二层。

王宏、任泽林,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-07-09

一般认为,为了研究胆碱对蛋氨酸的节约作用,日粮中应有充足的硫,因为硫的缺乏将增加蛋氨酸需要量。同样,为研究硫酸盐对日粮含硫氨基酸的节约作用,日粮中应有充足的胆碱,否则更多的蛋氨酸将被用于满足动物对甲基的需要。

## 2.2 胆碱与甜菜碱、肉碱的关系

作为甲基供体,胆碱和甜菜碱可在等分子基础上相互代替,虽然甜菜碱的分子结构中有3个甲基,但在甲基反应过程中它只能提供1个甲基,其它部分则经过氧化,最终转化为甘氨酸。在一项研究不同胆碱水平日粮添加甜菜碱效果的试验中发现,在缺乏胆碱的基础日粮中添加不同水平氯化胆碱,肉仔鸡增重和饲料转化率几乎与氯化胆碱的添加量呈线性关系;但在基础日粮和不同胆碱水平的试验日粮中添加甜菜碱,对鸡的生产性能不产生影响。一般认为,用于最大生长所需要的胆碱,其三分之二必需以胆碱形式提供,其余三分之一可由甜菜碱来满足,即在满足机体对胆碱的基本需要之上,甜菜碱可以节约用作甲基供体的胆碱。

肉碱即L- $\beta$ -羟基- $\gamma$ 三甲基氨基丁酸,是由赖氨酸衍生而成的兼性化合物,分布于机体的各个组织,线粒体内含量最多。脂肪酸的 $\beta$ -氧化作用是在肝脏及其它组织的线粒体中进行的。脂肪酸氧化在动物脂肪分解代谢中起至关重要的作用,而肉碱是长链脂肪酸进入细胞线粒体内进行脂肪酸氧化的重要跨膜转运载体。胆碱可能通过以S-腺苷甲硫氨酸为活性甲基供体的甲基代谢间接参与肉碱合成。Daily III等研究发现,鼠组织中肉碱水平随日粮胆碱水平升高而升高的同时,鼠组织中脂肪含量显著降低。许多研究还显示,在缺乏胆碱的饲料中添加胆碱可显著提高鼠肝脏、心脏和骨骼肌中肉碱水平。

2.3 胆碱与叶酸、维生素 $B_{12}$ 的关系

维生素 $B_{12}$ 和叶酸参与胆碱合成、代谢和甲基转移,因此,在叶酸和维生素 $B_{12}$ 缺乏条件下,胆碱需要量增加。

胆碱缺乏可造成肝脏叶酸衍生物含量显著减少及其比例的变化。当蛋氨酸缺乏时,这种减少就更为突出。同样,缺乏叶酸也会引起肝组织中胆碱含量下降。当玉米—豆粕型日粮中含750 mg/kg胆碱时(经甲醇洗涤,去除豆粕中的大部分胆碱),肉仔鸡在每千克日粮中添加1.3 mg叶酸时呈最大生长量;当日粮含

有 1 300 mg/kg 胆碱时,叶酸需要量则为 1.2 mg/kg。

维生素 B<sub>12</sub> 除作为蛋氨酸合成酶的辅酶外,还参与胆碱合成。30 日龄以上大鼠采食无蛋氨酸和所有已知甲基供体,但含有高半胱氨酸和维生素 B<sub>12</sub> 的日粮,可继续生长;而 30 日龄以下大鼠在这种情况下则不能存活,其症状为肾出血。试验表明,维生素 B<sub>12</sub> 存在下,大鼠能够合成甲基并经高半胱氨酸转甲基反应合成蛋氨酸。Bennett 报道,大鼠采食含叶酸和高半胱氨酸但不含其它不稳态甲基的日粮一段时间后,生长趋于停止。

### 3 胆碱缺乏症

日粮中动物性饲料不足,特别是具有生物活性的全价蛋白、叶酸及 VB<sub>12</sub> 缺乏,将会导致胆碱自身合成不足。若日粮中烟酸含量过多,使其以甲基烟酰胺形式自体内排出,这样体内缺少合成胆碱和其它化合物必需的甲基族,导致胆碱缺乏。微量元素锰参与胆碱代谢过程,起类似胆碱的生物学作用,参与胆碱运送脂肪的过程,因此,缺锰也能导致胆碱的缺乏。生长畜禽一般在不同时期对胆碱的需求量也不尽相同,如幼禽对胆碱的需求量最大(Seifier 等,1972;Pesti 等,1980);产蛋鸡高峰期因为产蛋排出大量的磷脂酰胆碱(蛋黄的主要成分)而需求量增加;犊牛刚出生时,合成胆碱的能力低下,在这些特别时期,如果不在日粮中添加一定量的胆碱更易发生缺乏症。总之,畜禽虽可合成一定数量的胆碱,但一般不能满足其生长及生产的需要。饲料中缺乏胆碱引起水产动物脂肪代谢障碍和诱发脂肪肝病变的生化机制已被证实。胆碱缺乏使合成脂蛋白的重要原料磷脂酰胆碱合成量不足,进而引起肝脏脂蛋白合成减少,影响脂肪向血液中转运,导致肝脏中脂肪积累和向血液运输的脂肪减少。因此,应根据生长畜禽在不同时期对胆碱的需要量,在日粮中额外添加一定量胆碱。

#### 3.1 猪的胆碱缺乏症

猪缺乏胆碱主要表现为衰弱无力、共济失调、跗关节肿胀并有压痛,肩部轮廓异常。因肝脂肪变性引起消化不良而使死亡率升高。仔猪生长发育缓慢,衰弱,被毛粗乱,腿关节屈曲不全,运动不协调,有的呈现先天性八字形腿。

#### 3.2 禽的胆碱缺乏症

雏鸡和雏火鸡最初的胆碱缺乏症状是骨质疏松症,继而发生骨短粗症;而鹌鹑则表现为跗关节肿大和腿弯曲,严重时可与胫骨脱离,从而导致双腿不能支撑体重。禽发病还表现为关节软骨移位,跟腱滑脱。病情发展呈现渐进性,个体较大的发病较多,容易发生肝脂肪变性和卵黄性腹膜炎。青年鸡极易发生脂肪

肝,因肝破裂导致急性死亡。母鸡产蛋量减少,蛋的孵化率下降。雏鸭的胆碱缺乏症表现为共济失调、肌伸张无力、瘫痪、附关节着地、关节肿胀、骨短粗、关节周围有点状出血,肿胀肝有油腻感,往往以生长迅速、个体肥大者较为多见。

#### 3.3 反刍动物的胆碱缺乏症

如用缺乏胆碱的饲料喂养 2 日龄犊牛,至第 7 d 时则出现食欲不振、衰弱无力、不能站立、呼吸急促、消化不良等症状,饲喂胆碱可迅速恢复。

#### 3.4 水产动物的胆碱缺乏症

相对于畜禽动物而言,水产动物缺乏胆碱的症状不是十分明显。研究表明,饲料中缺乏胆碱时,虹鳟表现为肝脏颜色变黄、眼球突出、贫血等症状;日本鳊则表现出生长缓慢、食欲减退、肠道灰白色症状;鲤鱼、斑点叉尾鲷、湖鲮肝脏脂肪含量增加,鲤鱼肝细胞空泡化;此外,鲟鱼还表现出肠道肌肉层变薄,胰腺退化变性等胆碱缺乏症。国内学者主要对鲫鱼、草鱼等进行了研究,饲料中缺乏胆碱时,异育银鲫的增重率和饲料效率均显著下降,血浆甘油三酯,胆固醇含量降低,肝脏颜色变浅、变黄,胆囊颜色变红;在草鱼方面也有类似报道。

### 4 饲料原料中胆碱含量及评定

根据 NRC(1994)推荐量,蛋鸡日粮胆碱添加量约为 1 100 mg/kg。由于这一水平比组成典型商品日粮的饲料原料所提供的胆碱稍高,因此,对日粮中是否添加胆碱仍有争议。胆碱的添加被看作是饲料中天然胆碱含量和生物利用率差异的一个补充。

饲料中的胆碱多以结合形式存在,其主要形式是卵磷脂,占总胆碱含量的 90%以上,另外还有以神经鞘磷脂磷酸胆碱、甘油磷脂酰胆碱等胆碱衍生物形式存在的胆碱。由于作物的生长环境,如气候、土壤、地域、肥料的差异和加工方法不同,饲料中胆碱的含量变化很大。一般说来,动物性饲料胆碱含量最高,其次是饼粕类,再次是糠麸类和谷实类。饲料中胆碱含量是影响胆碱添加量的重要因素,但化学分析值并不能完全代表饲料中天然胆碱生物利用率的高低。在进行胆碱生物学效价评定时,由于所用试验动物年龄、生理状态、基础日粮和判断指标的不同,所得的饲料原料胆碱生物学效价也存在很大差异。Emmert(1997)测定菜籽粕、豆粕和花生粕中胆碱的生物利用率分别为 24%、83%和 76%,说明饲料中天然胆碱的生物利用率存在着明显的差异,也表明配合日粮时利用饲料营养成分表提供的化学测定参考值所存在的问题。菜籽粕、豆粕和花生粕胆碱含量分别为 6 198、2 218、1 685 mg/kg,菜籽粕比其它 2 种饼粕相比胆碱含量更

高,但其利用率却不到其它2种饼粕的三分之一。Hennig(1985)所做的试验表明,用含20%菜籽粕的日粮饲喂肉仔鸡,引起胫骨粗短症,而添加胆碱可减少此病发生。Workel等(1998)报道,给鸡饲喂经化学分析含有充足胆碱的日粮,但添加氯化胆碱仍对鸡的生长具有明显的影响,证明了饲料中天然胆碱生物利用率的变化。因此,即使饲料中天然胆碱含量足够时,日粮中也应该添加氯化胆碱。

## 5 胆碱的应用现状

### 5.1 胆碱在鸡营养中的研究

Illinois大学(1997)研究表明,在缺乏胆碱的10~20日龄肉鸡的基础日粮中添加氯化胆碱(0~1 115 mg/kg),鸡的体增重与氯化胆碱的添加量呈线性增加;增加至2 000 mg/kg时,体增重进一步提高,但增加量较低。INRA(1997)在典型的肉鸡玉米—豆粕型日粮中分别添加400、800和1 600 mg/kg氯化胆碱后发现,800 mg/kg组的料重比最低,从1.71降低到1.66。用玉米—豆粕型日粮饲喂雏鸡(添加胆碱和L-蛋氨酸),3周龄时增重和饲料转化效率没有显著差异;育雏期由于基础日粮中甲基缺少不严重,胆碱对蛋氨酸的替代作用效果微弱;但肥育期在含硫氨基酸不足的日粮中添加胆碱对蛋氨酸有明显的替代作用。在含足量蛋氨酸的肉仔鸡饲料中添加1 500 mg/kg氯化胆碱仍能明显提高肉仔鸡的生产性能。胆碱和蛋氨酸的替代效应不仅取决于日粮中蛋氨酸的数量,而且与基础日粮类型、试禽日龄、日粮中各种养分的水平,尤其是含硫氨基酸和无机硫水平都有重要的影响作用。

在日粮中添加胆碱,可以提高产蛋鸡的生产性能,每枚蛋可含胆碱170 mg。为达到最高产蛋量,保证肝脏脂肪含量较少,一定要在产蛋期补充胆碱。在基础日粮中添加800 mg/kg胆碱,能显著提高平均蛋重和产蛋量。另外,是否额外添加胆碱也要视自然胆碱的生物利用率而定。通过分析近30年16次试验结果差异发现,试验期的长短、产蛋鸡日龄、品种、饲料蛋白质含量、饲料蛋氨酸水平、饲料中胆碱水平和效价对添加胆碱的效果有很大关系。

### 5.2 胆碱在猪营养中的研究

NRC对断奶仔猪、生长猪、肥育猪、母猪日粮中添加不同剂量胆碱的效果进行了综合研究发现,以玉米—大豆—赖氨酸为基础的日粮中添加不同剂量胆碱,各个阶段的猪日增重并没有随添加量增大而产生正效应,饲料转化效率虽有增高趋势,但差异不显著,并得出了在玉米—大豆—赖氨酸日粮中不需要添加胆碱的结论。NRC(1998)对10~20 kg仔猪的胆碱推荐量为400 mg/kg;30~70 kg猪胆碱推荐量为300 mg/kg。

采用NRC(1998)对维生素需要量推荐的指数方程模型,推算得出9~20 kg仔猪的胆碱需要量为390 mg/kg;22~51 kg生长猪胆碱的需要量为320 mg/kg。

林映才等(2001)研究表明,提高试验饲料胆碱水平,可提高9~20 kg仔猪的生产性能,当胆碱添加量为650 mg/kg时,生产性能最佳,基础饲料添加胆碱也可改善仔猪的被毛状况。在生长猪的试验中发现,从满足生长角度考虑,采用玉米—豆粕型饲料无需另外添加胆碱,但适当添加胆碱(450~750 mg/kg)有利于脂肪分解和造血,改善胴体品质、被毛和肤色。Stock land和Hays等在玉米—豆粕型饲料中添加胆碱可使母猪产仔数明显提高(0.6~0.8头/窝)。还有许多研究报道,以玉米、豆饼为基础的母猪日粮中添加800 mg/kg胆碱,能提高母猪每窝产仔数、每窝活仔数、2周龄断奶活仔数,并且肢体外张母猪的数量也明显减少。

### 5.3 胆碱在水产动物营养中的研究

在水产方面,胆碱的营养研究刚刚起步,大多局限于水生动物的营养需要量上。据研究表明,不同鱼类对胆碱的需要量明显不同。鲤鱼对胆碱的推荐添加量为4 000 mg/kg(Ogino,1970)。为防止脂肪肝,3.5 g鲤鱼稚鱼每天对胆碱的需求量为每千克体重60~120 mg,而湖鲌对胆碱的需求量为1 000 mg/kg(Ketola,1976);斑点叉尾鲴为400 mg/kg(Wilson和Poe,1988);草鱼为300 mg/kg(王道尊等,1995)。Yone等(1987)研究认为,真鲷饲料中胆碱添加量为500 mg/kg。对黑鲷幼鱼的研究表明,饲料中胆碱的添加量在594~794 mg/kg时效果较好,中国对虾对胆碱的需求量为4 000 mg/kg。Halver(1972)等认为,大鳞大马哈鱼对胆碱的需求量为600~800 mg/kg。Deshimaru等认为胆碱对斑节对虾而言,并非绝对必要,但金泽(Kanazawa)建议每千克饲料中添加600 mg胆碱。不过胆碱对斑节对虾稚虾的成活率有很大影响,且需求量很高。陈芳等(2003)研究表明,饲料中胆碱的添加量低于0.8%时,会显著影响黄鳝的生长和对饲料的利用效率;低于1.0%时,则其肝脏脂肪含量和肝体指数明显升高。因此,黄鳝饲料中胆碱的适宜添加量应不少于0.8%,以0.8%~1.2%添加量较适宜,比其它几种鱼类对胆碱的需要量要高。

### 5.4 胆碱在反刍动物营养中的研究

在反刍动物体内,胆碱可以由蛋氨酸、维生素B<sub>12</sub>为原料进行生物合成,因此胆碱与蛋氨酸之间的关系就显得尤为重要。Emmanue等(1984)在成年奶山羊上的研究发现,约有28%的蛋氨酸在体内被用于合成胆碱。对于一般成年反刍动物,体内合成的胆碱可满足和维持低生产需要,但对于高生产性能的奶牛和育肥

牛添加胆碱可以提高其生产性能。不论是对于奶牛还是育肥牛,其添加量要根据动物的生理阶段、生产性能、日粮营养水平和动物自身健康状况来确定,同时也需大量的试验进一步证明,但在反刍动物日粮中添加胆碱是必要的,最佳的添加形式是过瘤胃保护性胆碱。

5.5 NRC 对胆碱的推荐用量

参照 NRC 标准,几种常见动物的胆碱需要量见表 1。

表 1 不同动物的胆碱需要量

动物	胆碱(mg/kg)
猪(kg)	
1-5	600
5-10	500
10-20	400
20-50	300
50-100	300
种猪	
青年和成年公猪	1 250
初产和经产哺乳母猪	1 000
鹅	
育雏期 0~6 周	1 300
生长期 6 周以上	900
兔	
生长兔、母兔和公兔	1 200
白壳蛋鸡	
0-6 周	1 300
6-12 周	900
12-18 周	500
18 周~产蛋	500
褐壳蛋鸡	
0-6 周	1 225
6-12 周	850
12-18 周	470
18 周~产蛋	470
肉鸡	
0-3 周	1 300
3-6 周	1 000
6-8 周	750
鱼	
鲶鱼	400
虹鳟鱼	1 000
大麻哈鱼	800
鲤鱼	500

6 小结

作为饲料添加剂,氯化胆碱在维生素类添加量中占居首位,其在配合饲料中的添加量是其它多种维生素的几十倍到几百倍,在饲料工业中的应用十分广泛。

我国饲料工业发展迅猛,2005~2006 年全国各种饲料产量已逾亿吨,其中配合饲料产量达 7 000 多万吨,相应地氯化胆碱的需要量为 16 万吨。因此,有必要就氯化胆碱在畜禽水产动物饲料上的应用、氯化胆碱的防潮、抗结块研究以及其降低脂肪沉积的作用机理等进行进一步的研究和探讨。

参考文献

- 1 王宏.胆碱与其它甲基供体对褐壳蛋鸡脂肪代谢的调控作用及其对生产性能的影响[D].中国农业科学院研究生院博士论文,1998
- 2 王彦新,程伟.肉仔鸡饲料中添加胆碱及无机硫酸盐对蛋氨酸的替代作用[J].饲料工业,1991,12(7):43
- 3 吕克洲.含足量蛋氨酸的肉仔鸡饲料中添加氯化胆碱的效果[J].饲料研究,1988(9):15-16
- 4 王放银.家禽日粮需要补充胆碱[J].国外畜牧学-饲料,1992,3:44
- 5 陆文清.饲料中添加胆碱对蛋种鸡的生产性能及种蛋的受精率的影响[J].黑龙江畜牧兽医,1994(9):17
- 6 王道尊,赵亮,谭玉钧.草鱼鱼种对胆碱需要量的研究[J].水产学报,1995,19(2):133-139
- 7 吴善,蔡清海.对虾对维生素 B<sub>1</sub>、B<sub>6</sub> 和氯化胆碱的需求[J].饲料研究,1994(5):2-4
- 8 尹国平,马新华,刘亚强,等.防止氯化胆碱吸潮结块的新方法[J].中国饲料,1995(12):35
- 9 徐晓峰,张力莉.胆碱及其在反刍动物中的应用[J].草食家畜,2006,(130):38-39
- 10 陈芳,杨代勤,方长琰,等.饲料添加胆碱对黄鳝生长及肌肉和肝脏脂肪含量的影响[J].湖北农学院学报,2002,22(4):327-329
- 11 许朝芳.胆碱对瘤胃微生物代谢的影响[J].广西畜牧兽医,2001,17(6):4-7
- 12 沈红,霍齐光.日粮胆碱及其存在形式对肉仔鸡的影响[J].中国畜牧杂志,1999,35(6):24-26
- 13 王敏奇.胆碱在饲料工业中的研究应用进展[J].粮食与饲料工业,2001(11):25-25
- 14 陈清华译,贺建华校.奶牛的胆碱营养[J].湖南饲料,2001(6):22-26
- 15 吴跃明.胆碱的瘤胃代谢及其在奶牛营养上的作用[J].中国畜牧杂志,1996,32(1):57-58
- 16 杨敏.饲料添加剂预混料中维生素破坏因子的研究[D].东北农业大学硕士学位论文,1996
- 17 孙海霞.复合预混料在贮存过程中有效成分稳定性的研究——维生素[D].东北农业大学硕士学位论文,2000
- 18 杨月祥摘译.影响饲料添加剂中维生素稳定性的因素[J].饲料工业,1991,12(11):45
- 19 Tillman, et al. The Response of Male Broiler Chicksto Corn-Soy Diet Supplemented with L -Methionine, L -Cystine, Choline, Sulfate, and Vitamin VB<sub>12</sub>[J]. Poultry Sci., 1986, 65:1 741~1 748
- 20 Harms, et al. Research Note: Conditions Necessary For a Response by the Commercial Laying Hento Supplemental Choline and Sulfate. Poultry Sci., 1990, 69:1 226~1 229
- 21 Tsiagbe, et al. A Feather -Sexed Strain of Laying Hens was more Responsive to Dietary Supplements of Choline and Methionine than a Ven -Sexed Strain[J]. Poultry Sci., 1992, 71:1 271~1 276
- 22 Dye, et al. Choline Versus Betaine and Expeller Versus Solvent Soybean Meal for Weanling Pigs[J]. J. Anim. Sci., 1950, 9:176
- 23 Emmanue B K, et al. J. Dairy Sci. [J], 1984, 67(9):1 912~1 918
- 24 Sharma B K, et al. J. Dairy Sci. [J], 1988, 71(9):2 406~2 411
- 25 Sharma B K, et al. J. Nutr. [J], 1989, 119:249~254
- 26 Erdman R A, et al. J. Dairy Sci. [J], 1991, 74:1 641~1 647
- 27 Bindel D J. J. Journal of Animal Science, 2000, 78(10):2 497~2 503

(编辑:徐世良, [fi-xu@163.com](mailto:fi-xu@163.com))

本栏目由北京挑战生物技术有限公司协办



## 外源酶制剂在反刍动物上的应用研究

王书然 张铁鹰 陈志伟 敖长金

多年的试验研究表明,添加外源酶有助于提高单胃动物对日粮养分的利用率(特别对肉鸡日粮)和改善其生产性能;但是在反刍动物日粮中的应用很少。反刍动物瘤胃内的微生物能分泌一系列的纤维素降解酶,能将纤维素逐步降解成供宿主动物利用的单糖,所以人们认为简单地添加外源酶制剂不会提高纤维分解率;并认为,外源酶在瘤胃中能被蛋白酶或被小肠蛋白酶水解而失活。但是,随着生物技术的发展 and 发酵工艺的进步,许多优良菌种的发现和应用,使得饲用酶种类、活力和稳定性均有所提高,为提高反刍动物粗饲料的利用率和改善其生产性能创造了条件。但纤维复合酶在反刍动物上的应用还存在着若干问题,主要有以下几方面:日粮的成分、酶的种类、酶的活性、酶的添加量、酶的稳定性、应用方法。本文就酶在反刍动物瘤胃液中的稳定性、添加方式和添加量等方面进行综述。

### 1 反刍动物应用外源酶的必要性

反刍动物的主体饲料是含粗纤维较多的作物秸秆和青干草类饲料,植物细胞壁结构复杂,主要由非淀粉多糖(包括纤维素、 $\beta$ -葡聚糖、木聚糖、甘露聚糖和果胶)和木质素等组成,它们的特殊结构使它们具有一定的抗营养性,许多饲料经加工处理后,仍不能破坏其细胞壁的完整性,包埋在细胞壁内的许多可消化营养物质(如蛋白质、淀粉等)由于不能与消化酶接触而不能被消化利用。幼龄反刍动物瘤胃发育不全,微生物体系不完善,远不能适应分解大分子营养物质的需要,不能充分利用饲料中营养物质,而成年反刍动物自身所具有的内源酶数量及种类有限,不能完全降解饲料中的非淀粉多糖。使用相应的外源非淀粉多

糖酶制剂可以破坏细胞壁的特殊结构,使细胞内容物裸露出来与动物内源消化酶接触消化,改善反刍动物消化道及瘤胃有益菌的环境,改善反刍动物肠道菌群,改善微生物发酵,对细胞免疫、体液免疫、补体功能和白细胞吞噬作用等有重要影响,因而提高了反刍动物的抗病性、免疫力、养分利用率、饲料转化率,并改善了动物的生产性能。

反刍动物的粗饲料含纤维较多,所以目前在反刍动物上常用的外源酶制剂主要有纤维素酶、木聚糖酶、 $\beta$ -葡聚糖酶和果胶酶。

### 2 外源酶对反刍动物养分消化和生产性能的影响

#### 2.1 外源酶对奶牛的影响

越来越多的试验表明,使用酶制剂可以增加奶牛的产奶量和干物质的采食量,Yang等(1999)报道,奶牛日粮中添加纤维素复合酶(由纤维素酶和木聚糖酶组成)可提高产奶量和消化道有机物和NDF的消化率,但对奶成分无影响;加酶使瘤胃中蛋白质的消化率增加,但是有机物和NDF的消化率没有显著的变化,可能的原因是高浓度的酶可能增加瘤胃微生物蛋白的合成,进而增加了瘤胃养分的消化率。

Rode(1999)将纤维素酶和木聚糖酶所组成的复合酶添加到精料中,添加量为1.3 g/kg(干物质的基础上),日粮由24%的青贮玉米、15%的苜蓿干草、61%的大麦组成,用 $Cr_2O_3$ 指示剂法测定营养物质的消化率,发现试验组DM、NDF、ADF、CP的降解率分别高于对照组,产奶量也有增加的趋势,乳脂肪和乳蛋白的含量有所下降,能量的缺乏量略低于对照组。结果表明,日粮中添加纤维素酶,能增加泌乳早期奶牛的产奶量和营养物质的消化率,但不改变采食量。

在精料中添加纤维素复合酶,可提高奶牛在泌乳早期的产奶量,但是采食量没有变化(Yang, 1998)。Schingoethe等(1999)研究表明,当给奶牛饲喂经过纤维素酶和木聚糖酶处理后的玉米与苜蓿混合青贮料时,2~4周后奶牛产奶量提高了10.8%,并持续整个试验期,但对泌乳中期奶牛的产奶量影响较小;乳蛋白和乳脂肪的含量分别提高了20%和13%。

Beauchemin(1999)研究指出,使用外源酶制剂可以

王书然,内蒙古农业大学动物科学与医学学院,010018。

张铁鹰,中国农业科学院畜牧兽医研究所动物营养学国家重点实验室。

陈志伟,山东理工大学生命科学学院。

敖长金,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-08-06

增加 OM、ADF、NDF 总的消化道消化率,但对 OM 在瘤胃内的消化率没有显著的影响。Nowak(2003)研究指出,奶牛全混日粮(TMR)中添加纤维素复合酶(含纤维素酶和木聚糖酶)对 DM、NDF 和 ADF 的消化率影响仅在发酵 4~6 h 之间有提高趋势,在 12 h 和 24 h 基本上没有变化,但可以略微增加 TMR 在小肠的消化率。

Kung(2000)在两年的时间里研究外源酶对奶牛生产性能的影响,第一年,试验 1 组酶的添加量为每千克草料(干物质基础)3 500 IU 纤维素酶和 16 000 IU 木聚糖酶,试验 2 组酶添加 8 800 IU 纤维素酶和 40 000 IU 的木聚糖酶。第二年,试验 1 组的酶添加量为 3 700 IU 的纤维素酶和 14 000 IU 的木聚糖酶,试验 2 组的添加量为 3 600 IU CMCase 和 11 000 IU 的木聚糖酶,试验结果表明,第一年,试验 2 组的产奶量(39.5 kg/d)高于对照组(37.0 kg/d)和试验 1 组(36.2 kg/d),牛奶中乳蛋白和乳脂肪含量随着酶添加量的增加而降低。在第二年,试验 2 组的产奶量(35.4 kg/d)高于对照组(32.0 kg/d)和试验 1 组(33.6 kg/d),乳脂率和乳蛋白的含量各处理之间没有显著的差异,但是试验组偏低,两年中,干物质的采食量各处理之间没有显著的差异。使用外源酶可以促进犊牛断奶后的生长和改善饲料的利用率(朱元招,2001)。金宏(2004)研究表明,日粮中添加饲用纤维素酶可以提高奶牛的产奶量、乳脂率,但 Dhiman(2002)等研究发现,在日粮中添加纤维素酶和木聚糖酶不会改变泌乳早期奶牛的采食量、产奶量、乳成分和代谢体重。

## 2.2 外源酶对肉牛的影响

近年来,对外源酶制剂在肉牛上的应用做了大量的试验(Beauchemin,1995;Michal,1996;Pritchard,1996;McAllister,1999;Wang,1999;ZoBell,2000),结果表明,使用外源复合纤维素酶可提高纤维素的降解率,但是否能提高肉牛日粮的消化率进而提高其生产性能与肉牛的品种特征和试验的条件密切相关。将酶制剂添加在以谷类为主的饲料中的效果要好于添加在以干草为主的饲料中的效果。Iwaasa 等(1997)将饲用木聚糖酶添加到含 95%的大麦基础日粮中,饲料利用率可提高 6%~12%。Similarly 等(1998)报道指出,将单一酶制剂加入到高精料日粮中,ADF 降解率可增加 28%。McAllister 等(1999)报道指出,将酶制剂加入到干草(含 30%的青贮黑麦草)和谷实类(含 70%大麦)为主的日粮中,添加量为每吨干物质 3.5 L,ADG 可提高 10%(干物质基础上)。祁宏伟等(2000)研究表明,饲喂含复合纤维素酶日粮的肉牛,其平均日增重有随复合纤维素酶添加量增加而增加的趋势,但 However 等

(2000)报道指出,酶制剂对饲喂高谷实类日粮的肉牛的生产性能没有显著的影响。尽管外源酶制剂有很大的潜在利益,但与离子载体、抗生素等相比成本较高,故在肉牛工业中发展较慢。近年来有少数几种酶制剂应用在肉牛生产上,但并未广泛的应用。

## 3 影响酶作用效果的因素

### 3.1 酶本身性质

不同微生物发酵来源的酶制剂产品性质是不同的,即使是同一种来源的微生物,不同的加工工艺,其酶的性质也不同。Wallace 等(2001)用 6 种酶制剂检测酶活与体外产气量的相互关系(用干草和玉米青贮做底物),结果表明,纤维素酶活性和干草产气量有极强的相关关系,酶活高的纤维素酶可以增加玉米青贮的产气量。基于这些研究,一些人猜想,提高纤维素酶的活性是最关键的,但这些研究所用的酶制剂添加量是正常水平(每克奶牛全混合日粮干物质中添加 0.5~2 mg)的 20~40 倍。Colombatto 等(2002a)用 23 种商业酶制剂去检测酶活与饲料体外降解的相互关系,测定条件的温度和 pH 值与瘤胃内环境相近(39 ℃,pH 值 6.0),酶的添加量为每克干物质 1.5 mg,结果表明,苜蓿干草和青贮产生的还原糖量与酶活之间有极强的相关关系。Colombatto 等(2002b)用体外法评定酶制剂对饲草干物质降解率的影响,结果表明,发酵 18 h 后,23 种产品中只有 5 种酶能提高苜蓿的降解率,有 9 种酶可以提高青贮玉米的降解率,木聚糖酶活性与苜蓿降解率之间存在着极强的相关关系,但对青贮玉米则无效。Eun 等(2006)用体外法评定了 13 种纤维素酶和 10 种木聚糖酶对苜蓿的发酵效果,分别测定了各种酶的酶活,之后进行体外试验,结果只有 2 种纤维素酶和 2 种木聚糖酶能显著提高苜蓿的产气量和有机物质的消化率,而这 4 种酶的酶活并不是最高的。这些研究结果指出,虽然酶活是衡量酶品质的重要因素之一,但仅仅依靠酶活来预测在瘤胃内对纤维素的降解力是不够准确的。因为酶活是在规定的温度和 pH 值范围内、选用特定的底物来测定的,而这些底物与植物细胞壁的复杂结构相差甚远,不能保证酶活较高的酶在瘤胃内同样能表现相同的酶活。所以,当酶作为一种饲料添加剂时,酶活和其作用的功效没有必然的联系。

### 3.2 酶在瘤胃液中的稳定性

酶的本质是一种蛋白质,传统的理论认为酶在瘤胃内被蛋白酶降解,日粮中的蛋白质尤其是可溶性蛋白质在瘤胃内会被快速的降解(Broderick 等,1991)。因此,外源酶制剂能在瘤胃中稳定存活是其发挥功效的首要条件。Hristov 等(1996)证明,大量的外源纤维复合

酶可以过瘤胃,进而在小肠中发挥作用,改善小肠养分的消化和吸收。杨永明(2003)试验表明,纤维素酶和木聚糖酶在瘤胃液中能稳定存在。Diego等(2000)研究发现, $\beta$ -1,4-内切葡萄糖酶和木聚糖酶(来自 *Aspergillus niger*)在瘤胃液中能稳定存在 6 h 以上,但  $\beta$ -糖苷酶和  $\beta$ -木糖苷酶在瘤胃液中活性损失的很快。Morgavi等(2001)研究报道,外源酶在饲喂前、后的奶牛瘤胃液中都能稳定存在,但在饲喂后的奶牛瘤胃液中表现出更强的稳定性;外源酶在胃蛋白酶中能稳定存在,但是在胰液素中活性随时间损失的很快;同样,外源酶在小肠中可以存活数小时并保持很高的活性。Vyver(2005)报道,经过糖基化的木聚糖酶的稳定性更强。Hristov等(1998)报道,多糖降解酶在体外条件下能抵抗蛋白酶的水解,将酶制剂直接添加到饲料里饲喂奶牛不会提高瘤胃纤维素酶和木聚糖酶的活性,但是将酶制剂直接注入到瘤胃里可以提高酶的活性,羧甲基纤维素酶、木聚糖酶等可以通过反刍动物瘤胃并在小肠中影响营养物质的消化利用;在十二指肠肠液中木聚糖酶酶活比对照组提高近 60 倍。Morgavi等(2000)用体外法研究瘤胃内源酶和外源酶(来自 *Trichoderma longibrachiatum*, 由不同比例纤维素酶和木聚糖酶组成)对底物降解的协同关系,结果表明,在 pH 值 5.0~6.0、39 °C 的条件下,与单独外源酶处理相比,瘤胃内源酶与外源酶组成的混合物对可溶性纤维素、木聚糖、青贮玉米的降解率分别增加了 35%、100%和 40%。由此推断,瘤胃内源酶和外源酶的协同作用可能是添加外源纤维素复合酶能提高饲料利用率的机制,绝大多数真菌纤维素酶和木聚糖酶在瘤胃液中是稳定存在的。

### 3.3 酶和日粮的组成

酶和底物有特异性,酶对一种底物有效,而对其它底物未必有效。Beauchemin等(1995)用一种含有木聚糖酶和内切葡聚糖酶的复合酶制剂处理苜蓿干草和青贮大麦,对酶作用的特异性作了研究,将不同浓度水平的酶喷洒于干草上,结果发现,此复合酶处理苜蓿干草有一定效果,而对青贮大麦的作用效果不明显。Wang等(2004)将复合酶加入到经 5% NaOH 溶液处理的小麦秸秆上,能显著提高酶制剂的利用效果,作用机理可能是碱处理破坏了秸秆表面的纤维素结构,增加了酶渗透到细胞壁内部与包埋营养物质接触的机会。Beauchemin等(2000)用体外人工瘤胃法评定 26 种酶制剂对苜蓿干草和青贮玉米干物质降解率的影响,26 种酶制剂的生物学特征相似,在体外发酵 18 h 后,所有酶制剂均能不同程度的提高苜蓿干草的降解率,但只有 1 种酶制剂能同时提高苜蓿干草和青贮玉米

干物质的降解率,试验说明酶制剂与饲料正确匹配是影响酶作用功效的重要因素之一,酶制剂是否能提高纤维的降解率要依靠饲料的组成。反刍动物商品日粮是由不同类型的粗饲料和精饲料组合而成,所以酶与饲料的特异性就显得很重要了。因此,为了达到最大的利益,在传统日粮中应添加许多不同来源的酶制剂,最理想的方法是添加对大多数饲草都有效果的酶制剂。

目前在反刍动物上应用最广泛的两种非淀粉多糖酶为纤维素酶和木聚糖酶。Pritchard等(1996)研究发现,木聚糖酶和纤维素酶混合酶的饲用效果要好于单一纤维素酶。Fontes等(1995)指出,许多真菌和细菌产的纤维素酶和木聚糖酶均能在瘤胃中有协同作用。Eun(2006)筛选了 2 种纤维素酶和 2 种木聚糖酶,4 种单酶均能提高苜蓿有机物质的消化率,但是,将纤维素酶和木聚糖酶混合使用时,效果没有明显的提高。外源酶制剂的稳定性会随着酶的类型、作用的底物 and 是否混有蛋白酶而发生改变(Hristov等,1998)。Beauchemin(1997)用酶 1(含有木聚糖酶和内切葡聚糖酶)、酶 2(含有纤维素酶和木聚糖酶)分别以低、中、高水平处理的苜蓿干草饲喂犊牛,酶 1 低水平添加组比未处理组(对照组)的日增重提高 13%,干物质采食量明显提高;酶 2 中等水平添加组提高了饲料转化率,高水平添加组同时提高了日增重和饲料转化率。这就说明酶产品间存在不同的适宜添加量,因为每种酶产品都有自己独特的酶系及酶活。

### 3.4 添加方式

在饲喂前,将酶制剂溶于水喷洒在饲料上能提高反刍动物的生产性能(Rode等,1999;Schingoethe等,1999;Kung等,2000;Yang等,2000),将酶制剂直接投入到瘤胃中则效果不明显(Lewis等,1996;McAllister等,1999;Sutton等,2001)。Treacher等(1996)比较了将酶喷洒于饲草与通过瘘管直接加入瘤胃的效果,当用酶制剂体外法处理干草时,干物质和纤维的消化率更高。Beauchemin等(2003)认为,外源酶制剂与饲料的紧密结合组成特殊结构,从而增强了抵抗瘤胃蛋白酶水解的能力。Lewis(1996)在饲喂前将酶溶于水后喷洒在干燥的草上,结果增加了 NDF 在消化道的消化率,但处理后立即饲喂和处理后放置 24 h 后再饲喂,其效果相差不大,体外试验也证实了类似的结果(Colombatto, 2000)。

近年来,酶制剂被广泛地应用在各种类型的饲料上,如奶牛全混合日粮(Higginbotham等,1996;Beauchemin等,1999;Phipps等,2000;Yang等,2000)、干草(Beauchemin等,1995;Lewis等,1996;Yang等,1999)、青贮料(Beauchemin

等,1995;Phipps等,2000a)、精料(Rode等,1999;Phipps等,2000b;Yang等,2000)、添加剂(Bowman,2001)、预混料(Bowman,2001)。外源酶制剂应用在水分含量高的饲料(青贮饲料)上效果优于干燥饲料,因为复杂的多糖水解生成单糖的这个过程需要水的参与,此外,青贮饲料的pH值与大多数真菌类酶的理想pH值相接近。但是,在实际中,一些外源酶处理干燥饲草的效果要好于湿草的效果。Feng等(1996)将酶制剂溶于水后喷洒在新鲜和枯萎的饲草上没有任何效果;但同样处理干燥的草,则增加了DM和纤维的消化率。Yang(2000)等报道,将酶制剂添加到精料中能增加奶牛的产奶量和饲料消化率,但直接加入到全混合日粮中则没有效果。相反,Phipps(2000)等报道,将酶制剂加入到精料和全混合日粮中没有差异。Yang(1999)认为,酶的饲用效果在于总的添加量,在粗料和精料中加酶影响不大。

将酶制剂加入到精料中是有效的(Beauchemin等,1997;Iwaasa等,1997;Rode,1999;Yang等,2000)。Bowman(2001)将酶制剂分别添加到精料(占全混合日粮45%)、补充料(占全混合日粮4%)和预混料(占全混合日粮0.2%)中,精料组消化道内总的DNF消化率增加了44.3%~55.6%,但对其它处理组没有效果。同样的日粮用体外法评定,将酶加入到精料中,全混合日粮的干物质消化率在发酵12h后增加了15%,加入到预混料中增加了17%;发酵48h后,只有预混料组较之对照组有很高的DM消化率。将低剂量的酶加入到日粮中则没有效果,其作用机理尚不清楚。Beauchemin等(1999)建议,将高水平的酶制剂添加到日粮中,增加酶制剂在瘤胃的滞留时间,低水平的酶制剂可能快速的通过瘤胃,但此情况在体外不会发生,故用体外法评定酶的生物化学效果很难精确地反映在体内的真实情况。

### 3.5 添加量

关于酶的添加量方面的研究结果不尽一致,酶活不足或酶活过剩可能是造成许多研究结果不一致性的原因,在体内酶的量与生长性能的表现是非线性的,但应尽可能的提供高水平酶(Beauchemin等,1995;Kung等,2000)。Kung(2000)用不同梯度水平的酶制剂处理干草(60%的青贮玉米和40%的紫花苜蓿),在每千克全混合日粮中的添加量分别为0、1、2.5 ml,结果表明,低水平酶组的奶生产奶量(39.5 kg/d)高于对照组(37.0 kg/d)和高水平酶组(36.2 kg/d)( $P<0.01$ )。同样,Beauchemin等(1995)用肉牛做的试验也得到相同的结论,低水平酶组(每千克干物质添加0.25~1 ml)能使ADG增加24%~30%,说明增加了可消化DM的采食量,但高水平酶组(每千克干物质中添加2和4 ml)则

没有效果。试验结果说明酶的添加量并不是越多越好,理想的添加水平要依靠日粮的类型决定,具体的机理尚不清楚。Nsereko等(2002)对奶牛日粮中添加不同水平的酶制剂对瘤胃液中总的微生物的影响的研究推断,添加适当水平的酶制剂可以在吸收前或后使饲料的表层结构发生适当的断裂,从而更有利于吸收。高水平的酶制剂吸附在饲料的表面上,限制了微生物与饲料表面的接触,降低了饲料表层结构的适当断裂,使吸收受阻。在实际应用中,适宜的添加量不仅可以提高反刍动物的生产性能,而且避免了过量使用酶带来的浪费。

### 3.6 动物种类

当日粮中能量水平很低的时候,使用外源酶制剂能最大限度的消化纤维素,以满足高产奶牛产奶和生长期肉牛生长的需要。对于高产奶牛来说,采食量往往高于满足维持需要量的要求。由于瘤胃内pH值偏低,故纤维素被降解之后能快速的通过瘤胃。NRC(2001)认为,奶牛采食量过高会影响饲料消化率,对于高品质的日粮,消化率降低的程度更大。酶制剂是连接日粮潜在消化率和实际消化率之间的桥梁,Yang等(2000)将酶加入到相同全混合日粮中分别饲喂奶牛和绵羊,对于奶牛来说,对照组的总消化道DM和ADF的消化率分别为63.9%和31.8%;对于采食量较低的绵羊来说,DM和ADF分别为77.1%和49.8%。试验结果表明,使用酶制剂可以提高奶牛的消化率,但是对绵羊则没有效果。这个结果指出,当日粮在动物体内消化受限制而没有达到本身潜在的消化率时,加入酶制剂会提高消化率。现有的酶制剂生产技术很难满足犊牛的需要,同样的,使用外源酶制剂对处在泌乳早期的奶牛效果要好于泌乳后期的奶牛(Nussio等,1997;Schingoethe等,1999)。

## 4 小结

由上述论述可知,由于各试验使用的试验动物、酶的种类及添加量、日粮的组成不同,使得试验结果也不尽一致,但大多数试验结果表明,在反刍动物的饲料中无论是以何种形式添加纤维素酶等非淀粉多糖酶,均可起到促进反刍动物对日粮营养物质的利用和改善其生产性能的作用。对于在反刍动物中应用的酶制剂,目前的研究方向应该是寻找更优良、酶活稳定的菌株,并研究能显著改善反刍动物营养价值的酶制剂,加强反刍动物消化机理和消化过程的应用理论研究,生产针对性强的酶制剂。

(参考文献15篇,刊略,需者可函索)

(编辑:高雁, [snowyan78@tom.com](mailto:snowyan78@tom.com))

# 葡 萄 糖 氧 化 酶 的 应 用 研 究

范一文 吴晓英

葡萄糖氧化酶(Glucose oxidase,简称 GOD),其系统命名为 $\beta$ -D-葡萄糖氧化还原酶(EC 1.1.3.4),它能高度专一性地催化 $\beta$ -D-葡萄糖与空气中的氧反应,使葡萄糖氧化成为葡萄糖酸和过氧化氢。该酶广泛分布于动物、植物及微生物体内,工业上主要利用黑曲霉和青霉属菌株进行发酵生产。作为一种新型酶制剂,由于 GOD 具有去葡萄糖、脱氧、杀菌等特性,而且安全无毒副作用,因此在食品的加工保鲜、医学等上都有广泛的应用。1999 年,农业部将它定为 12 种允许使用的饲料酶制剂添加剂之一。

## 1 葡萄糖氧化酶的性质及其作用机理

### 1.1 葡萄糖氧化酶的酶学性质

高纯度的葡萄糖氧化酶为淡黄色晶体,易溶于水,不溶于乙醚、氯仿、甘油等。一般制品中含有过氧化氢酶(Hydrogen peroxidase,简写 HPD),分子量为 15 万单位左右。葡萄糖氧化酶的最大光吸收波长( $\lambda_{\max}$ )为 377 nm 和 455 nm。在紫外光下无荧光,但是在热、酸或碱处理后具有特殊的绿色。葡萄糖氧化酶稳定的 pH 值范围为 3.5~6.5,最适 pH 值为 5,如果在没有葡萄糖等保护剂的存在下,pH 值大于 8 或小于 3 时,葡萄糖氧化酶会迅速失活。葡萄糖氧化酶的作用温度一般为 30~60 °C。固体酶制剂在 0 °C 下可至少稳定保存 2 年,在 -15 °C 下可稳定保存 8 年。

### 1.2 葡萄糖氧化酶的作用机理

葡萄糖氧化酶通常与过氧化氢酶组成一个氧化还原酶系统。葡萄糖氧化酶在分子氧存在下能氧化葡萄糖生成 D-葡萄糖酸内酯,同时消耗氧生成过氧化氢。过氧化氢酶能够将过氧化氢分解生成水和 1/2 氧,而后水又与葡萄糖酸内酯结合产生葡萄糖酸。在此过程中,葡萄糖氧化酶的特点是能够消耗氧气催化葡萄糖氧化;每克分子葡萄糖氧化酶在有过氧化氢酶

存在下消耗 1 g 原子氧,没有过氧化氢酶存在下消耗 1 g 分子氧,在有乙醇和过氧化氢酶存在下,也消耗 1 g 分子氧。

## 2 葡萄糖氧化酶在动物体内的作用

葡萄糖氧化酶与生命的重要物质——葡萄糖和氧有密切关系,在动物体内发挥着重要作用。葡萄糖氧化酶能催化肠道内的葡萄糖产生葡萄糖酸和过氧化氢。当过氧化氢积累到一定浓度时,直接抑制大肠杆菌、沙门氏菌、巴氏杆菌、葡萄球菌等有害菌的生长繁殖。它还能催化葡萄糖去除肠道内氧气,为厌氧有益菌的增殖创造厌氧环境。葡萄糖氧化酶作用于葡萄糖生成的葡萄糖酸可降低胃肠内 pH 值,为有益菌生长创造酸性环境,而有益菌大量增殖形成微生态竞争优势,抑制了大肠杆菌、沙门氏菌等有害菌存活,控制感染,排除腐败物质,提高巨噬细胞活性,从而提高机体免疫力。

## 3 葡萄糖氧化酶在畜禽养殖业中的应用

### 3.1 抗生素饲料添加剂的替代品

由于含抗生素饲料添加剂的药物残留及抗药性等问题,抗生素替代品的开发已成为近年研究的热点。葡萄糖氧化酶作为饲料添加剂可催化肠道内葡萄糖产生葡萄糖酸和过氧化氢,直接抑制大肠杆菌、沙门氏菌、葡萄球菌、弧菌,保护肠道上皮细胞的完整性;改善肠道酸性消化环境、保持肠道菌群生态平衡,解除霉菌毒素等作用,从而起到抗菌的功效。在父母代种鸡育成料中添加一定量的葡萄糖氧化酶,对由大肠杆菌等引起的肠道腹泻有明显的预防及治疗作用。另外,临床观察也表明,葡萄糖氧化酶可以解除饲料中真菌毒素的危害,提高动物免疫能力。

### 3.2 饲用抗球虫药物的替代品

球虫病是一种普遍多发、严重危害家禽的寄生虫病。目前国内仍以药物预防为主,但球虫极易产生耐药性,现有的球虫药物已很难控制球虫病,寻求安全、有效、经济的球虫病防治方法是促进家禽生产的当务之急。葡萄糖氧化酶因其具有抗氧化作用,能有效清除自由基,保护肠道上皮细胞的完整性,使球虫侵入肠道上皮寄生部位的机会大大降低,从而达到防御球

范一文,华南理工大学生物科学与工程学院,510640,广州市天河区华观路 1401 号 A13-601 室。

吴晓英,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-07-11

虫的目的。将葡萄糖氧化酶拌料饲养乌鸡,与对照组相比,球虫病发病时间推迟,症状减轻,病程缩短,死亡率大大降低。

### 3.3 促生长作用

当将葡萄糖氧化酶加入青贮饲料中,因其消耗了氧而利于厌氧性乳酸菌的增殖,加快了乳酸菌的发酵过程,可迅速产生大量乳酸,使青贮的 pH 值很快下降,抑制了有害细菌的繁殖,避免了异常发酵,最终保证青贮饲料的质量,有利于牛的育肥。李焰的研究发现,在 AA 肉鸡的基础日粮中添加饲用葡萄糖氧化酶制剂,能显著提高 AA 肉鸡的生产性能、饲料转化率、抗病能力和成活率。

## 4 结语

开发新型酶制剂替代化学添加剂以及对传统酶制剂的应用方式、方法加以改进的研究已成为近年来国内外的研究热点。不过,葡萄糖氧化酶催化反应要消耗能源物质——葡萄糖,是否对动物的生长有负面作用还有待研究。如何更经济、更有效地制备和提高纯葡萄糖氧化酶也是将来的一个研究方面。

### 参考文献

- 1 马清河,胡常英,刘丽娜,等.葡萄糖氧化酶在果汁保鲜中的应用[J].中国食品添加剂,2005(3):83~85
- 2 范孝用,戴平,王洁,等.高效天然去氧保鲜剂——GOD 在啤酒生产中的应用[J].中国食品工业,1998(8):14~15
- 3 靳焯.葡萄糖氧化酶在食品工业中的应用[J].食品与机械,1995(3):17~19
- 4 Vemulapalli V, Miller K A, Hosenney R C. Glucose oxidase in breaking systems[J].Cereal Chemistry, 1998, 75(4):439~442
- 5 夏萍,梁新宇.葡萄糖氧化酶在面包中作用机理的初探[J].中国食品用化学品,1999(4):30~32
- 6 Devail, Felfody L, Wittnerl, et al.Detection of phosphine:new aspects of phosphorus cycle in the hydrosphere [J].Nature, 1988, 333:343~345
- 7 李彤,姚子华,丁良,等.新型葡萄糖氧化酶电极用于临床血糖的测定[J].分析测试学报,2004,23(3):67~69
- 8 卞瑞玲,刘安保.葡萄糖氧化酶法测定尿糖的初步探讨[J].医学杂志,2005(3):81
- 9 Kim E J, Yanagida Y, Haruyama T, et al. Immunosensing system for efetoprotein coupled with a disposable amperometric glucose oxidase sensor[J]. Sensors & Actuators B, 2001, 79: 87~91
- 10 刁其玉,屠焰,齐广海,等.益生菌(素)的研究及其在饲料中的应用[J].饲料工业,2002(10):1~4
- 11 李焰.鲜尔康在肉鸡饲养中替代抗生素的效果试验[J].中国畜牧业通讯,2005(10):70~71

- 12 梁振华.鲜尔康控制鸡育雏期球虫病的疗效观察[J].湖北畜牧兽医,2004(1):31~32
- 13 吕进宏,黄涛,马立保.新型饲料添加剂——葡萄糖氧化酶[J].中国饲料,2004(3):15~16
- 14 李焰.葡萄糖氧化酶饲养肉鸡效果试验[J].龙岩师专学报,2004, 22 (6): 77~78
- 15 窦道龙,王冰山,唐益雄,等.植物广谱抗病基因工程策略与研究进展[J].生物技术通报,2002(1):5~9
- 16 Wu G, Shortt B J, Lawrence E B, et al. Disease resistance conferred by expression of a gene encoding H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-generating glucose oxidase in transgenic potato plants[J]. Plant Cell, 1995(9): 1 357~1 368
- 17 甄伟,陈溪,梁浩博,等.转基因马铃薯中病原诱导 GOD 基因的表达及其对晚疫病的抗性[J].科学通报,2000,45(10):1 071~1 075
- 18 Peng H, Wang Z-X, Dou D-L, et al. Introducing glucose oxidase gene into rice mediated by Agrobacterium tumefaciens[J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2003, 11(1) :16~19
- 19 康乐,叶兴国,徐惠君.葡萄糖氧化酶基因转化小麦的研究[J].作物学报, 2005, 31(6):686~691
- 20 Orozco-Cardenas M L, Narvaez-Vasquez J, Ryan C A. Hydrogen peroxide acts as a second messenger for the induction of defense genes in tomato plants in response to wounding systemin and methyl jasmonate[J]. Plant Cell, 2001, 13 (1) : 179~191
- 21 李庆芝,尚志华,房玉洁,等.姜基因转化系统的建立及优化[J].山东农业科学,2006(3):11~14

(编辑:高雁, [snowyan78@tom.com](mailto:snowyan78@tom.com))

## 征订启事

## 欢迎订阅 2008 年《饲料工业》

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

## 不同底物对植酸酶酶活检测的影响

赵剑 李光智 郭宝林 马玲

**摘要** 试验采用2×5完全随机试验设计,考察不同底物(P3168和P8810)对不同酶活水平(6 000、8 000、10 000、12 000和16 000 U/g)的植酸酶酶活检测的影响。结果表明,以P8810为底物检测的植酸酶酶活显著高于使用P3168为底物的检测结果,但底物类型与酶活水平之间没有显著的交互效应。使用P8810与使用P3168的检测结果之间存在显著的线性关系( $P=0.00$ ),线性方程为: $y(P3168)=0.843 x(P8810)-431.16, R^2=0.987$ 。通过对曲线预测值验证的结果表明,可以使用P8810替代P3168作为底物进行植酸酶酶活检测。

**关键词** 植酸酶;酶活检测;底物

**中图分类号** S816.17

植酸酶是一种生物活性物质,对其酶活的检测是控制植酸酶产品质量的关键环节,也是使用效果的基本保障<sup>[1]</sup>。我国检测植酸酶酶活的方法参照GB/T 18634—2002,酶活单位的定义为:在温度37℃和pH值5.5的条件下,每分钟从浓度为0.005 mol/l的植酸钠溶液中释放出1 μmol无机磷所需要的植酸酶量为1个酶活单位(U)。检测方法中规定了植酸钠的分子式为 $C_6H_6O_{24}P_6Na_{12}$ ,即Sigma试剂公司的产品P3168。Sigma试剂公司的P8810与P3168在结构上极其相似,其分子式为 $C_6H_{18}O_{24}P_6$ 。本试验在GB/T 18634—2002检测方法下比较,P3168与P8810两种物质对植酸酶酶活检测的影响。

## 1 材料和方法

### 1.1 试剂和仪器

植酸酶标准品由北京昕大洋科技发展有限公司提供,标示酶活分别为6 000、8 000、10 000、12 000和16 000 U/g。检测底物分别为购自Sigma试剂公司的P3168(分子量923.82)和P8810(分子量660.04)。P3168和P8810分别精确称取0.692 9 g和0.495 0 g,并用乙酸缓冲液在100 ml容量瓶中溶解定容制备成底物溶液,其它试剂配制和仪器要求均参照GB/T 18634—2002。

### 1.2 试验设计和检测方法

试验采用2×5完全随机试验设计,考察不同底物(P3168和P8810)对不同酶活水平(6 000、8 000、10 000、

12 000和16 000 U/g)的植酸酶酶活检测的影响。植酸酶酶活检测方法按GB/T 18634—2002执行操作步骤:首先准确称取基准物质磷酸二氢钾并稀释成不同浓度的溶液,之后将植酸酶标准样品制备成试样溶液,然后所有与测定酶活反应有关的试剂都预先在37℃下预热5 min,接下来标准、空白和样品均在37℃下精确反应30 min后停止反应(空白样品先加入终止液),经4 000 r/min离心10 min后取上清液,在415 nm处测定其吸光度,制作吸光度-磷含量标准曲线,计算样品中的植酸酶酶活。

### 1.3 数据分析

试验结果以平均数±标准差表示。使用SPSS 13.0软件中GLM-Univariate对因子进行主效应和交互作用分析,使用Regression-Linear对两因子进行线性回归分析。

## 2 结果和分析

### 2.1 不同底物对不同酶活的植酸酶标准品的检测结果(见表1)

由表1可见,分别以P3168和P8810作为植酸酶的检测底物,对同一植酸酶酶活的检测结果有着显著的差异,使用P8810作为底物检测的结果显著地高于使用P3168作为底物的。但底物类型和酶活水平对酶活的检测不存在交互作用。

### 2.2 不同底物测定植酸酶酶活检测结果间的线性关系(见图1)

图1显示了分别使用两种底物检测的酶活之间的线性关系。以P8810的酶活检测结果为横坐标(x),以P3168的酶活检测结果为纵坐标(y)拟合曲线,结果表明,两者的检测酶活之间存在明显的线性关系,其拟合曲线的方程为:

$$y=0.843 x-431.16(P=0.00, R^2=0.987)$$

赵剑,北京昕大洋科技发展有限公司,博士,100081,北京市海淀区中关村南大街12号中国农业科学院百欣科技楼502甲。

李光智、郭宝林、马玲,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-07-23

表 1 两种底物对不同酶活水平的植酸酶标准品的检测结果

项目	6 000(U/g)	8 000(U/g)	10 000(U/g)	12 000(U/g)	16 000(U/g)
P3168(U/g)	6 070.25±172.71	8 135.89±164.62	9 746.91±187.49	11 828.17±162.48	15 820.40±151.77
P8810(U/g)	7 513.75±134.18	10 273.89±204.14	12 038.13±211.41	14 630.67±262.87	19 215.20±153.67
P 值					
主效应					
底物	P=0.00				
酶活水平	P=0.00				
交互作用					
底物×酶活水平	P=0.21				

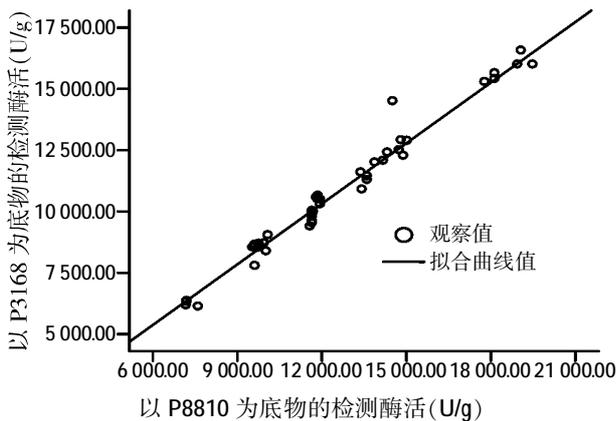


图 1 P3168 和 P8810 对检测酶活的线性关系

### 2.3 拟合曲线预测值的检验

为检验拟合曲线的准确度,试验随机选取了 3 个该产品,按 1.2 所述方法对其植酸酶酶活进行检测,并根据 P8810 的检测结果由拟合曲线进行预测,预测结果与实际检测结果的数据采用 T 检验分析。结果表明,拟合曲线预测结果与实际检测结果之间没有显著差异,说明可以使用 P8810 替代 P3168 作为植酸酶酶活检测的底物(见表 2)。

表 2 拟合曲线预测值与实际检测结果的比较

项目	试样 1	试样 2	试样 3
P8810(U/g)	8 952.00	10 767.50	11 917.00
P3168(U/g)	6 920.50	8 459.50	9 368.50
预测结果(P3168)(U/g)	7 115.38	8 645.84	9 614.87
SEM	413.344	479.230	558.561
T 检测 P 值	0.36	0.61	0.75

### 3 讨论

P8810 的化学名称为植酸,即六磷酸肌醇。其分子中具有 12 个可替换的质子,其中 6 个显强酸性(pH 值 1.5~2.0),2 个呈弱酸性(pH 值接近 6.0),4 个显极弱酸性(pH 值 9.0~11.0)。而 P3168 的化学名称为植酸钠,是植酸分子中 12 个质子被 Na<sup>+</sup>取代后的产物。植酸钠溶于水时,Na<sup>+</sup>会游离到溶液中,而溶液中的 H<sup>+</sup>则结合到显极弱酸性的磷酸根基团上形成稳定的复合

物,从而造成其水溶液呈碱性。

在 GB/T 18634—2002 的检测方法中,底物溶液是用 pH 值 5.5 的乙酸缓冲液配制的。配成的 P8810 底物溶液的 pH 值为 5.4~5.5,而 P3168 的底物溶液的 pH 值为 6.4~6.5,高于酶活检测定义中的 pH 值 5.5。有研究发现,将 P3168 底物溶液的 pH 值由 6.5 调至 5.5,极显著地影响植酸酶活性的检测结果,未调节组的检测结果比调节组低 34%。在本试验中,使用 P8810 作为底物的植酸酶酶活检测结果显著高于使用 P3168 组,可能与两者底物溶液之间 pH 值的差异有关。

本试验所检测的植酸酶的基因片段来源于大肠杆菌,而一些商品植酸酶则来源于曲霉。大量的植酸酶分离纯化后性质鉴定表明,不同来源的植酸酶在分子量、等电点、最适温度和 pH 值上都有着明显的不同,并且在底物的选择性上也有区别。温度和 pH 值对不同来源的植酸酶酶活检测的影响已被广泛研究,但底物的影响则未见报道。不同来源的植酸酶对 P8810 和 P3168 是否存在选择性,还需要进一步地研究。

### 参考文献

- 1 张若寒.植酸酶含量测定的必要性与两步测定方法的评价[J].饲料工业,2001,22(9):1~5
- 2 Costelo A J, Glonek T, Myers T C. 31P-nuclear magnetic resonance-pH titrations of myo-inositol hexaphosphate[J]. Carbohydrate Research, 1976, 46(2):159~171
- 3 刘志伟,黄玉亭,张铁鹰,等.国标法测定植酸酶活性存在问题的探讨[J].中国饲料,2006(18):29~31
- 4 Greiner R, Konietzny U, Jany K D. Purification and characterization of two phytases from Escherichia coli [J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1993, 303:107~113
- 5 Ullah A H J, Gibson D M. Extracellular phytase (E.C.3.1.3.8) from Aspergillus ficuum NRRL 3135: purification and characterization[J]. Preparative Biochemistry, 1987, 17:63~91
- 6 阮静,刘晓娟.植酸酶的相关介绍和活性检测方法的探讨[J].饲料工业,2006,27(10):54~55
- 7 Vats P, Banerjee U C. Production studies and catalytic properties of phytases (myo-inositolhexakisphosphate phosphohydrolases): an overview [J]. Enzyme and Microbial Technology, 2004, 35:3~14

(编辑:高雁, snowyan78@tom.com)

## 草鱼对四种高蛋白饲料原料的离体消化分析

李高锋 叶元土 代晓芳 诸葛燕 高艳玲 李婧 张伟涛

**摘要** 试验采用离体消化法研究草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)对糖蜜酵母、血球蛋白粉、鱼粉和肉骨粉的消化能力。草鱼对4种高蛋白饲料原料干物质的离体消化率为血球蛋白粉(36.80%)>糖蜜酵母(31.14%)>鱼粉(26.10%)>肉骨粉(9.40%);对4种高蛋白饲料原料蛋白质的离体消化率为糖蜜酵母(56.12%)>血球蛋白粉(43.63%)>肉骨粉(30.38%)>鱼粉(26.62%);氨基酸生成量为糖蜜酵母的水溶氨基酸生成率明显高于其它3种,差异极显著,鱼粉的水溶氨基酸生成量略高于血球蛋白粉和肉骨粉,但差异不显著。试验结果表明,在水产饲料中这4种高蛋白饲料原料部分替代鱼粉是可行的。

**关键词** 草鱼;高蛋白饲料原料;离体消化

**中图分类号** S965.112

试验通过离体消化和酶解反应,定量地比较分析草鱼对4种高蛋白饲料原料样品的干物质消化率、蛋白消化率和氨基酸生成效率的差异,验证了其作为优质蛋白源的可行性,为其在水产饲料配方中的应用提供参考。

## 1 试验材料与方法

### 1.1 试验材料

4种蛋白源:鱼粉(产自厄尔多瓦)、肉骨粉(张家港市场购买)、血球蛋白粉(江苏某公司生产)、糖蜜酵母(浙江某公司生产)。

草鱼:为池塘养殖草鱼,3尾,平均体重在(3 500±25)g左右,经实验室循环水水族箱饲养2周备用。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 消化酶制备

常规解剖取出草鱼的肠道,去除脂肪和肠道内容物后称重,按照肠道重量的10倍量取pH值7.4、0.2 mol/l的磷酸缓冲液,用玻璃匀浆器进行匀浆。匀浆液在3 500 r/min下冷冻离心20 min,取上清液在冰箱中冷冻保存,备用。

#### 1.2.2 饲料原料样品的酶水解

精确称取饲料原料样品0.200 0 g于20 ml带塞试管中,加入pH值7.4、0.2 mol/l的磷酸缓冲液15 ml、肠道酶提取液5 ml。为了防止外界微生物的干扰,参照

王子淑等<sup>[1]</sup>、叶元土等<sup>[2]</sup>方法加入双抗(青霉素150 IU/ml、硫酸链霉素150 IU/ml),分别于第0 h、第4 h加入酶液中。在28℃水浴锅中保温酶解6 h,每20 min振荡1次。每个样品分别做个3平行。

#### 1.2.3 离体消化率的计算

按照1.2.2的酶水解方法分别对饲料原料样品水解6 h后用定量滤纸过滤,滤渣用28℃蒸馏水洗涤3次。将消化前的原料样品和滤渣在70℃烘干至恒重,精确称量原料样品滤渣的重量。采用凯氏定氮方法<sup>[3]</sup>对烘干的原料样品和滤渣进行粗蛋白含量测定。按照下列公式计算原料样品干物质的离体消化率、蛋白质离体消化率:

样品干物质离体消化率(%)=(样品重量-样品滤渣重量)/样品重量;

样品蛋白质离体消化率(%)=[(样品重量×样品粗蛋白含量)-(样品滤渣重量×滤渣粗蛋白含量)]/(样品重量×样品粗蛋白含量)。

#### 1.2.4 酶解液中的氨基酸含量测定及计算方法

按照1.2.2的酶水解方法分别对饲料原料样品进行酶水解,水溶氨基酸含量则分别于0、1、2、4、6 h进行测定,取样品0.2 ml上清液,加入等体积的10%的三氯醋酸进行蛋白质沉淀,在4 000 r/min下离心20 min,定量取上清液0.2 ml,采用茚三酮方法测定OD<sub>570</sub>值<sup>[4]</sup>。用亮氨酸标准曲线计算水溶液中氨基酸的含量。按照水解液氨基酸总量占饲料量的百分比计算氨基酸的消化生成效率。

#### 1.2.5 数据的处理和分析

结果以平均值( $\bar{X}$ )±标准差(SD)表示,统计分析采用两样本均值差异显著性检验方法(paired-sample t-test)对数据进行分析。

李高锋,苏州大学生命科学学院,215123,江苏省苏州市工业园区横一路苏州大学生命科学学院702栋2222室。

叶元土(通讯作者)、代晓芳、诸葛燕、高艳玲、李婧、张伟涛,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-07-23

## 2 试验结果

### 2.1 4种优质蛋白源的粗蛋白含量

所有试验原料经过中草药粉碎机粉碎后全部通过 80 目标筛,采用凯氏定氮法测得这 4 种饲料原料的粗蛋白含量(见表 1)。

表 1 4种高蛋白饲料原料的粗蛋白含量(%)

项目	血球蛋白粉	糖蜜酵母	鱼粉	肉骨粉
粗蛋白含量	82.96±1.22	70.05±1.31	62.12±1.05	50.67±1.23

注:样品为 70 ℃烘干样,表中数值为“平均值+标准误差”。下同。

从表 1 可以看出,血球蛋白粉和糖蜜酵母的粗蛋白含量明显高于鱼粉,而此次试验所用的肉骨粉的粗蛋白含量虽然低于鱼粉,但含量也较高。

### 2.2 草鱼对 4 种高蛋白饲料原料的离体消化

草鱼对 4 种高蛋白饲料原料干物质、粗蛋白的离体消化结果见表 2。

表 2 草鱼对 4 种高蛋白饲料原料的干物质、粗蛋白的离体消化率(%)

项目	干物质消化率	粗蛋白消化率
血球蛋白粉	36.80±1.23 <sup>a</sup>	43.63±1.89 <sup>A</sup>
糖蜜酵母	31.14±0.89 <sup>b</sup>	56.12±1.79 <sup>B</sup>
鱼粉	26.10±0.79 <sup>c</sup>	26.62±1.03 <sup>CD</sup>
肉骨粉	9.40±0.99 <sup>A</sup>	30.38±1.22 <sup>C</sup>

注:同列数据肩标字母不同表示差异显著(P<0.05),大写字母不同表示差异极显著(P<0.01)。

从表 2 可以看出,在同等条件下,草鱼对 4 种高蛋白饲料原料干物质的离体消化率差异显著(P<0.05),血球蛋白粉(36.80%)>糖蜜酵母(31.14%)>鱼粉(26.10%)>肉骨粉(9.40%),而肉骨粉样品干物质消化率则明显低于其它 3 种蛋白饲料原料,其原因可能是该试验中所用的肉骨粉中骨头类物质或其它不溶物较多造成的。

在粗蛋白消化率方面,糖蜜酵母(56.12%)>血球蛋白粉(43.63%)>肉骨粉(30.38%)>鱼粉(26.62%),草鱼对糖蜜酵母、血球蛋白粉的蛋白质消化率均远高于鱼粉和肉骨粉,差异极显著(P<0.01),进一步验证了糖蜜酵母、血球蛋白粉作为优质蛋白原料的可行性。

### 2.3 酶解氨基酸生成量

在 0、1、2、4、6 h 取各样品水解液测定生成氨基酸的含量,以 0 h 时的氨基酸生成量为零计算,结果如图 1 所示。

从图 1 中可以看出,在 0~6 h 之间,随着时间的增长,其氨基酸生成量呈明显的上升趋势,且差异较明显。糖蜜酵母的氨基酸生成量明显高于其它 3 种,差异极显著(P<0.01),而鱼粉略高于其它两种,差异不显著(P>0.05)。

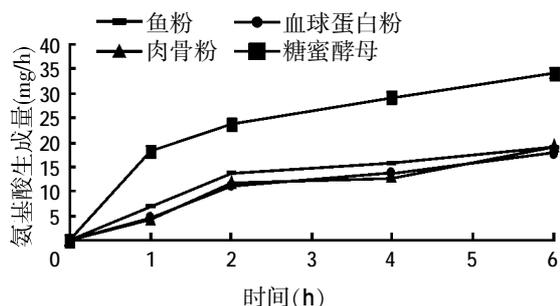


图 1 4种原料的氨基酸生成量随时间变化的趋势

## 3 讨论

饲料及其蛋白质在鱼体消化道中被消化的程度取决于消化酶(蛋白质主要是蛋白酶)的作用时间,消化速度受消化酶的浓度、温度、底物和作用时间的影响(Frukawa A 等,1966)<sup>[9]</sup>。离体消化法是利用酶制剂或研究对象消化器官的酶提取液在试管内进行的消化试验,其测定值近似反映鱼对饲料的消化率<sup>[9]</sup>,这种方法具有快速、简便的特点。在饲料原料真假和营养价值鉴定时,如果原料中掺入了不易消化的物质则可以采用离体消化率测定方法进行鉴别和鉴定。但是,由于此方法存在一定局限性,无法真实反应鱼体的消化情况。因此,得到的消化率只能作为近似值,作为同等情况下比较各饲料原料的相对利用情况。

## 4 结论

结合以上分析,本试验表明:糖蜜酵母、血球蛋白粉在草鱼肠道酶液中的干物质消化率、蛋白消化率和氨基酸生成量各方面均高于鱼粉,作为优质的高蛋白饲料原料代替鱼粉加入水产饲料配方中是可行的;而含骨类等不溶物质较少的高蛋白肉骨粉代替鱼粉也是可行的。

## 参考文献

- 1 王子淑编著. 人体及动物细胞遗传学实验技术[M]. 成都:四川大学出版社,1987. 1-40
- 2 叶元土,薛敏,林仕梅,等. 草鱼肠道、肝胰脏对饲料蛋白质酶解速度的比较[J]. 中国水产科学,2003,2(10):174-176
- 3 杨胜编著. 饲料分析及饲料质量检测技术[M]. 北京:北京农业大学出版社,1993. 19-23
- 4 叶元土,林仕梅,罗莉. 茚三酮法测定蛋白质饲料中水溶蛋白质成分[J]. 饲料工业,1993,14(9):18-20
- 5 Frukawa A, Tsukabatra H. On the acid digestion method for the determination of chromic oxide as an iondex substance in the study of digestibility in fish food [J]. Bull. Jap. sci. fish., 1966, 35:502-506

(编辑:徐世良, [fi-xu@163.com](mailto:fi-xu@163.com))

# 云芝多糖对奥尼罗非鱼消化机能的影响

龚全 许国焕 付天玺 吴月嫦

消化酶是决定饵料在鱼类消化道分解的关键因素和生理基础,不同种类消化酶具有各自的酶学特性,在某种程度上决定着鱼类对饵料的消化特性。国内外研究者针对多糖对生长及免疫机能的影响作了很多相关研究,但未见云芝多糖对鱼类消化功能影响的研究。本试验就云芝多糖对奥尼罗非鱼消化酶活性和消化率的影响进行研究,旨在探讨云芝多糖促生长的营养生理学机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验饲料

在基础饲料(见表1)中分别添加0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 g/kg的云芝多糖(云芝多糖由广东省微生物研究所功能新产品研发中心提供,多糖含量60%以上)组成试验饲料分别饲喂各试验组(P<sub>0.5</sub>~P<sub>2.5</sub>组),对照组(P<sub>0</sub>组)饲喂基础饲料。各组饲料加工成直径为1.5 mm的硬颗粒饲料,晾干后置冰箱内保存。

表1 基础日粮组成

原料成分	含量(%)
豆粕	30
菜粕	24
面粉	26
鱼粉	15
鱼油	2.0
磷酸二氢钙	1.5
无机盐预混料 <sup>①</sup>	0.5
氯化胆碱	0.5
维生素预混料 <sup>②</sup>	0.3
维生素C	0.1
食盐	0.1
合计	100

注:①无机盐预混料配方(%)为NaCl 1.0、MgSO<sub>4</sub>·0.162、NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 32.0、MgO 2.5、ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.353、FeSO<sub>4</sub>·2.5、MnSO<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O 0.162、CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0.031、CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 0.001、KIO<sub>4</sub>·6H<sub>2</sub>O 0.003;

②每千克维生素预混料中的含有VB<sub>1</sub> 8.33 g、VB<sub>2</sub> 33.33 g、VB<sub>6</sub> 8.33 g、VC 2.5 g、VB<sub>3</sub> 125.0 g、VH 1.0 g、VB<sub>5</sub> 83.3 g、VB<sub>12</sub> 0.17 g、VA 6.67 g、VE 66.67 g、VK<sub>3</sub> 6.67 g。

龚全,广东省微生物研究所,510070,广州。

许国焕(通讯作者)、付天玺、吴月嫦,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-09-10

### 1.2 试验鱼及分组

将体重(9.0±1.0)g、健康的奥尼罗非鱼(Hybrid Tilapia, Oreochromis Niloticus × O. Aureus)随机分为6组,每组设3个重复,每重复20尾,依次记为P<sub>0</sub>、P<sub>0.5</sub>、P<sub>1.0</sub>、P<sub>1.5</sub>、P<sub>2.0</sub>、P<sub>2.5</sub>组。将试验鱼饲养在圆柱形玻璃钢水簇箱(直径1.0 m、高0.7 m)内,日夜充氧,每天排污1次。试验期间水温(28.5±1.0)℃,pH值7.0±0.2,DO浓度≥5 mg/l, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N浓度≤0.6 mg/l。饲喂56 d后,从每组中挑选大小均匀的10尾鱼用于消化酶的测定、10尾用于消化率测定。测定消化率时,将各组用试验饲料投喂7 d后开始测定。

### 1.3 消化酶活性的测定

#### 1.3.1 酶液的制备

取鱼体肠道、肝胰脏和胃进行消化酶活性测定。肠道分前肠(第1个转折前部分)、中肠和后肠(最后1个转折后部分),剪开肠道,用冷冻去离子水冲去肠内容物,用脱脂棉球轻轻擦干并称重。按样品重的10倍加入冷冻去离子水(4℃),在冰浴下匀浆,4℃、13 000 r/min离心30 min,取上清液置于4℃冰箱中待用,24 h内测定完毕。

#### 1.3.2 酶活的测定

参考《临床生化检验》(上海市医学化验所主编,1979)、《生化技术导论》(中山大学生物系生化微生物学教研室主编,1978)和《现代临床检验学》(王庸晋主编,2000),用722S型分光光度计测定蛋白酶(福林-酚试剂法)、淀粉酶(淀粉-碘显色法)的活性,用聚乙烯醇橄榄油乳化液水解法测定脂肪酶活性。

### 1.4 消化率测定

#### 1.4.1 粪便的采集

每次喂食完毕后,清除残饵。1~2 h后,开始收集粪便,选择成形粪便,连续收集2 h。用镊子将包膜完整的粪便置于称量瓶中,65℃烘干,保存于4℃冰箱以待分析。

#### 1.4.2 消化率的测定

用722S型分光光度计测定饲料及粪便中Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>的含量。按下式计算相关指标:

$$\text{饲料总消化率}(\%) = 1 - \frac{B}{B'}$$

$$\text{营养成分的表观消化率}(\%) = \left(1 - \frac{A}{A'} \times \frac{B}{B'}\right)$$

式中: A——饲料的某营养成分含量(%);  
 A'——粪便中的某营养成分含量(%);  
 B——饲料的 Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 含量(%);  
 B'——粪便中的 Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 含量(%)。

1.5 数据处理

试验结果用平均值±标准差表示, 用 STATISTICAL CA6.0 在 α=0.05 水平下进行统计分析, 所有试验数据经方差分析后进行组间多重(Duncan's)比较。

2 结果与分析

2.1 云芝多糖对蛋白酶活性的影响(见表 2)

表 2 云芝多糖对奥尼罗非鱼消化道蛋白酶活性的影响(U/g)

项目	前肠	中肠	后肠	胃	肝胰脏
P <sub>0</sub>	820.07±22.25 <sup>c</sup>	714.50±31.51 <sup>c</sup>	833.41±37.52	317.11±126.98 <sup>b</sup>	519.70±134.42 <sup>a</sup>
P <sub>0.5</sub>	1 028.82±74.32 <sup>ab</sup>	994.40±35.00 <sup>bc</sup>	942.52±212.72	365.85±63.89 <sup>ab</sup>	514.37±86.84 <sup>a</sup>
P <sub>1.0</sub>	1 091.78±52.39 <sup>a</sup>	1 174.40±164.74 <sup>a</sup>	929.56±123.45	529.19±163.58 <sup>a</sup>	567.70±66.08 <sup>a</sup>
P <sub>1.5</sub>	946.22±154.54 <sup>bc</sup>	940.30±11.19 <sup>abc</sup>	911.78±24.06	365.85±36.11 <sup>ab</sup>	509.56±85.03 <sup>a</sup>
P <sub>2.0</sub>	854.19±27.59 <sup>c</sup>	910.30±271.05 <sup>abc</sup>	905.30±137.23	375.11±124.52 <sup>ab</sup>	276.04±67.86 <sup>b</sup>
P <sub>2.5</sub>	847.52±79.38 <sup>c</sup>	747.50±67.37 <sup>c</sup>	786.96±47.17	238.11±86.68 <sup>b</sup>	301.41±64.79 <sup>a</sup>

注:表中同列数据肩标不同字母表示差异显著(P<0.05),相同字母或无字母表示差异不显著(P>0.05)。下表同。

由表 2 可知,各浓度组后肠蛋白酶活性差异不显著(P>0.05),其余各组织蛋白酶活性与对照组有不同程度差异。P<sub>0.5</sub>组和 P<sub>1.0</sub>组前肠蛋白酶活性显著高于对照组(P<0.05),其余各组与对照组相比差异不显著,其中 P<sub>1.0</sub>组蛋白酶活性最高;P<sub>1.0</sub>组中肠、胃的蛋白酶活

性最高,与对照组相比差异显著,其余各组与对照组相比差异不显著(P>0.05);P<sub>2.0</sub>组肝胰脏蛋白酶活性显著低于对照组(P<0.05),其余各组与对照组相比差异不显著(P>0.05)。

2.2 云芝多糖对脂肪酶活性的影响(见表 3)

表 3 云芝多糖对奥尼罗非鱼消化道脂肪酶活性的影响(U/g)

项目	前肠	中肠	后肠	胃	肝胰脏
P <sub>0</sub>	76.32±37.34	75.76±7.89 <sup>a</sup>	70.42±17.92	74.39±12.04 <sup>a</sup>	71.40±5.25 <sup>a</sup>
P <sub>0.5</sub>	45.95±33.50	53.92±24.69 <sup>ab</sup>	60.33±23.89	48.13±27.05 <sup>bc</sup>	57.67±23.69 <sup>a</sup>
P <sub>1.0</sub>	66.24±9.71	65.14±17.48 <sup>ab</sup>	64.99±10.00	58.32±6.20 <sup>ab</sup>	53.36±7.06 <sup>ab</sup>
P <sub>1.5</sub>	73.60±4.78	62.19±7.78 <sup>ab</sup>	64.85±1.99	48.42±8.31 <sup>bc</sup>	52.85±20.75 <sup>ab</sup>
P <sub>2.0</sub>	65.38±2.56	52.39±51.61 <sup>ab</sup>	51.61±11.46	46.00±0.99 <sup>bc</sup>	44.51±19.04 <sup>ab</sup>
P <sub>2.5</sub>	41.60±15.55	45.19±6.98 <sup>b</sup>	50.44±9.84	33.76±4.44 <sup>c</sup>	29.96±4.04 <sup>b</sup>

由表 3 可知,各浓度组前肠和后肠脂肪酶活性差异不显著(P>0.05),其余各组织脂肪酶活性与对照组相比有一定差异。P<sub>2.5</sub>组中肠脂肪酶活性显著低于对照组(P<0.05),其余各组与对照组相比差异不显著(P<0.05);P<sub>1.0</sub>组胃的脂肪酶活性与对照组相比差异不显著(P>0.05),

其余各组脂肪酶活性均显著低于对照组(P<0.05)。其中 P<sub>2.5</sub>组显著低于 P<sub>1.0</sub>组(P<0.05),P<sub>0.5</sub>组、P<sub>1.5</sub>组、P<sub>2.0</sub>组显著低于对照组(P<0.05)。P<sub>2.5</sub>组肝胰脏脂肪酶活性显著低于对照组,其余各组与对照组差异不显著。

2.3 云芝多糖对淀粉酶活性的影响(见表 4)

表 4 云芝多糖对奥尼罗非鱼消化道淀粉酶活性的影响(U/g)

项目	前肠	中肠	后肠	胃	肝胰脏
P <sub>0</sub>	19.098±6.068	20.543±2.271	18.892±3.829	16.309±8.986	18.056±7.057
P <sub>0.5</sub>	20.862±3.482	21.309±3.266	20.257±0.728	16.421±2.326	19.010±3.647
P <sub>1.0</sub>	16.913±1.366	18.530±3.536	17.290±5.407	12.959±1.925	15.280±2.568
P <sub>1.5</sub>	16.905±4.006	20.697±2.128	19.582±1.017	18.995±5.313	17.690±3.425
P <sub>2.0</sub>	16.527±4.063	19.208±1.491	17.939±3.317	16.325±3.998	19.428±3.166
P <sub>2.5</sub>	17.484±4.168	16.414±1.023	16.326±2.847	14.433±2.123	14.573±3.514

由表 4 可知,各浓度组淀粉酶活性与对照组相比没有显著差异(P>0.05)。

2.4 云芝多糖对表观消化率的影响(见表 5)

由表 5 可知,各浓度组干物质表观消化率略高于对照组,但与对照组相比无显著差异(P>0.05);P<sub>0.5</sub>和

P<sub>1.0</sub>组显著提高了奥尼罗非鱼对蛋白质表观消化率(P<0.05),其余各组间无显著性差异(P>0.05);在奥尼罗非鱼日粮中添加云芝多糖后,能显著地降低脂肪表观消化率(P<0.05),随着添加浓度的增加,脂肪表观消化率逐渐降低。

表5 云芝多糖对奥尼罗非鱼表观消化率的影响(%)

项目	干物质	蛋白质	脂肪
P <sub>0</sub>	73.05±1.71	75.08±2.27 <sup>c</sup>	89.60±1.13 <sup>a</sup>
P <sub>0.5</sub>	74.97±1.92	81.32±2.05 <sup>ab</sup>	85.44±2.48 <sup>b</sup>
P <sub>1.0</sub>	75.91±1.78	84.11±1.56 <sup>a</sup>	84.92±0.66 <sup>b</sup>
P <sub>1.5</sub>	74.71±2.44	77.22±0.93 <sup>bc</sup>	81.82±2.60 <sup>bc</sup>
P <sub>2.0</sub>	74.79±1.19	74.53±2.75 <sup>c</sup>	80.97±3.27 <sup>c</sup>
P <sub>2.5</sub>	73.51±2.21	72.97±2.02 <sup>c</sup>	80.93±1.90 <sup>c</sup>

### 3 讨论

#### 3.1 云芝多糖对奥尼罗非鱼消化酶活性的影响

与畜禽相比,鱼类的机械消化能力很差,消化功能的强弱很大程度上取决于消化酶的活性。提高鱼体的消化酶活性就能提高鱼体的消化功能,鱼体对营养物质的吸收也就会增加。有研究表明,饲料成分的改变能影响鱼的消化酶活性。本试验表明,在饲料中添加不同浓度的云芝多糖后,能提高蛋白酶活性,降低奥尼罗非鱼脂肪酶活性,而对淀粉酶活性影响不显著。

对鱼类而言,蛋白质作为主要营养物质利用的主体而参与机体的物质和能量代谢。蛋白酶活性的升高,可以促进蛋白质的消化吸收,从而促进鱼体的生长。丁贤等研究认为,芽孢杆菌能提高南美白对虾的消化酶活性和成活率,利于养分消化吸收,促进生长。肖明松等研究发现,果寡糖对鲤消化酶活性具有正向促进作用,能够显著提高2龄鲤的相对增重率,促进鲤的生长。另外,糖萜素能显著提高动物蛋白酶活性和促进其生长。本试验发现,P<sub>1.0</sub>组能显著提高前肠、中肠和胃蛋白酶活性,而P<sub>2.0</sub>组的肝胰脏蛋白酶活性显著高于对照组,因此推测云芝多糖对奥尼罗非鱼蛋白酶活性可能有一定的诱导作用。

与哺乳类不同,鱼类消化脂类物质的能力很强,同时机体缺乏像哺乳类所具有的脂类摄食调节因子,鱼类很可能会因过量食用脂肪,导致过度肥胖,成为病态;同时,过多的脂肪会造成对肝脏的浸润,从而妨碍肝脏行使正常的功能,导致其代谢功能紊乱。冯健等研究发现,红姑鱼(*Sciaenops ocellatus*)各期生长率和存活率随着日粮脂肪含量增加而显著下降,肝胰脏脂肪含量与日粮脂肪水平成正比,各组均发生程度不同的营养性脂肪肝病,其病变程度与日粮脂肪水平成正比,认为日粮中脂肪是红姑鱼发病与死亡的直接原因。本试验发现,在饲料中添加云芝多糖(0.5~2.5 g/kg)能抑制供试鱼中肠、胃和肝胰脏的脂肪酶活性,推测云芝多糖可能对奥尼罗非鱼脂肪酶活性具有一定抑制作用。因此,添加一定浓度的云芝多糖可能会减弱鱼

类对脂肪的消化能力,从而减少脂肪在鱼体内的蓄积,有效防止鱼类因摄取过多脂肪而导致的疾病。

糖类是廉价的能量物质,鱼类和高等动物都能利用糖作为能量。但是,鱼类对糖类的利用能力很低,需在饲料中添加外源物质才能促进鱼类对糖类的消化吸收。有研究发现,壳聚糖被试验鱼摄取后,经口腔、胃,再进入肠道,能够调节肠道微生态平衡,因此有学者认为,肠内的有益菌群在良好的微环境中发挥分泌淀粉酶的作用,使暗纹东方鲀幼鱼对碳水化合物的利用率提高,从而使壳聚糖起到间接提高消化酶活性、节约蛋白质的作用。陈勇等研究发现,壳聚糖进入鱼体后,能提高消化酶的活性,并且消化酶活性的变化趋势与生长的趋势相吻合。本试验发现,添加了云芝多糖的试验鱼淀粉酶活性与对照组淀粉酶活性差异不显著,本试验结果与上述研究并不一致,笔者推测多糖的结构和构成是产生这一差异的主要原因。影响鱼类消化酶的因素很多,云芝多糖影响奥尼罗非鱼消化道蛋白酶和脂肪酶活性的机理还需要进一步的研究。

#### 3.2 云芝多糖对消化率的影响

鱼类个体生长过程其实就是物质在体内的贮留过程,鱼体对营养物质的消化吸收与鱼体的生长速度直接相关,营养物质消化率高,生长速度必然就快。目前,饲料添加剂有良好的促生长效果,因此得到了广泛应用,不少学者为了探讨其促生长机理,研究了饲料添加剂对鱼类消化率的影响。邱小琼等研究发现,中草药添加剂可以提高异育银鲫对饲料营养物质的消化吸收率,促进营养物质的消化吸收,从而促进异育银鲫的生长。王爱民等试验表明,在异育银鲫饲料中添加500~750 mg/kg外源酶能有效地改善异育银鲫对干物质、蛋白质及磷的消化吸收,并显著促进异育银鲫的生长。本试验发现,P<sub>0.5</sub>组和P<sub>1.0</sub>组的粗蛋白表观消化率明显高于其它各组,且与对照组相比差异显著,与生长结果相吻合。

另外,营养物质的消化吸收需要消化酶的参与,消化酶活性的升高有利于营养物质在体内的消化吸收,反之则会降低营养物质的利用率。表观消化率试验表明,P<sub>0.5</sub>组和P<sub>1.0</sub>组蛋白质表观消化率高于对照组,而云芝多糖能降低奥尼罗非鱼脂肪表观消化率,这结果与消化酶结果基本吻合。

(参考文献24篇,刊略,需者可函索)

(编辑:徐世良, [fx-xu@163.com](mailto:fx-xu@163.com))

# 饲料中添加蛋白酶 AG 对凡纳滨对虾生长和肌肉成分的影响

刘鼎云 冷向军 卢永红 李小勤

鱼粉供求的日益紧张和价格上涨,使得植物蛋白源替代鱼粉的研究成为现阶段的一个热点。但植物蛋白存在较多的抗营养因子使其难以被消化利用,通过酶制剂降解这些抗营养因子,消除其抗营养特性,是提高植物蛋白消化吸收率的重要途径。目前酶制剂在畜禽饲料中已有较多的应用,但在水产饲料上的研究应用较少。

本试验以凡纳滨对虾为研究对象,考察饲料中添加蛋白酶 AG 对凡纳滨对虾生长和肌肉基本成分的影响,为酶制剂在生产中的合理应用提供依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验设计和试验饲料

表 1 饲料组成及配方(%)

项目	33%鱼粉组	26.4%鱼粉组
鱼粉	33	26.4
鲑鱼内脏粉	5	5
豆粕	16.5	25.25
花生粕	10	10
面粉	24.9	22.68
啤酒酵母	3	3
磷酸二氢钙	2.5	2.5
鱼油	2	2
大豆磷脂	1.5	1.5
其它	1.6	
总计	100	100

注:其它成分包括虾用多维 0.3%、虾用多矿 1%、氯化胆碱 0.2%、虾壳素 0.1%。

本试验共分为 4 个处理组:33%鱼粉组、33%鱼粉+蛋白酶 AG(175 mg/kg)组、26.4%鱼粉组、26.4%鱼粉+蛋白酶 AG(175 mg/kg)组,每个处理组 4 个平行,每个平行(每缸)50 尾虾。饲料配方组成见表 1,其中

33%鱼粉饲料粗蛋白为 43.08%, 26.4%鱼粉饲料粗蛋白为 43.27%(均为实测值)。

蛋白酶 AG 由加拿大 JEFO 公司提供,为细菌代谢所产生的多种蛋白酶复合物,添加量为 175 mg/kg,所有饲料原料均粉碎过 60 目筛,用制粒机制成直径 1 mm 的颗粒,风干后破碎,置 4℃冰箱备用。

### 1.2 试验动物与饲养管理

凡纳滨对虾幼苗取自上海申漕特种水产养殖场,经过淡化和饲养条件适应后,取平均体重为 0.10 g 的体质健壮对虾 800 尾,饲养于 16 口玻璃钢水箱(1.2 m×0.7 m×0.7 m)中。试验期间 24 h 不间断充气增氧,水温为(26±1)℃,盐度为 3‰,每天分 4 次(6:00、12:00、18:00、23:00)等量投喂,投饲率为体重的 10%,并根据摄食情况进行调整。养殖试验在中国水产科学院渔业机械研究所渔业水体净化技术和系统研究重点开放实验室进行,时间为 7 月 22 日~8 月 22 日,共 30 d。

### 1.3 测定指标与方法

养殖试验结束后称终末体重并记终末个体数,取肌肉做常规成分分析用。测定指标包括增重率、成活率、饲料系数及虾肉水分、灰分和粗蛋白含量。

增重率(%)=(末均重-初均重)/初重;

成活率(%)=试验结束时虾尾数/试验开始时虾尾数;

饲料系数=总投饵量/总净增重。

肌肉水分含量测定采用 105℃常压干燥法;肌肉灰分含量测定采用 550℃高温灼烧法;肌肉粗蛋白含量测定采用凯氏定氮法。

### 1.4 数据统计及分析

采用 SPSS 统计软件处理数据并进行方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 蛋白酶制剂 AG 对凡纳滨对虾生长和饲料利用率的影响(见表 2)

从表 2 可见,在 33%鱼粉饲料中添加蛋白酶制剂 AG,对虾增重率、饲料系数、成活率均无显著影响( $P>0.05$ );在 26.4%鱼粉饲料中添加蛋白酶制剂 AG,对虾增重率比 26.4%鱼粉组提高 10.8%( $P>0.05$ ),饲料系数也有下降趋势。33%鱼粉组的对虾增重率显著高于

刘鼎云,上海水产大学生命科学与技术学院,200090,上海市军工路 334 号。

冷向军(通讯作者)、李小勤,单位及通讯地址同第一作者。

卢永红,上海市农业科学院畜牧兽医研究所。

收稿日期:2007-07-30

★ 上海市重点学科建设项目资助(Y1101)

26.4%鱼粉组( $P<0.05$ ),但 26.4%鱼粉+AG 组的虾体增重率和 33%鱼粉组相比差异不显著,表明在 26.4%鱼

粉饲料中添加蛋白酶制剂 AG,可使凡纳滨对虾达到与 33%鱼粉组基本一致的生长性能。

表 2 蛋白酶 AG 对凡纳滨对虾生长和饲料利用率的影响

项目	初均重(g)	末均重(g)	增重率(%)	饲料系数	成活率(%)
33%鱼粉组	0.10	1.42	1 321±28 <sup>a</sup>	1.11±0.05 <sup>a</sup>	81.3 ±5.0
33%鱼粉+AG 组	0.10	1.46	1 359±27 <sup>a</sup>	1.09±0.06 <sup>b</sup>	82.7±3.1
26.4%鱼粉组	0.10	1.25	1 158±119 <sup>b</sup>	1.26±0.08 <sup>a</sup>	82.6±2.3
26.4%鱼粉+AG 组	0.10	1.39	1 283±40 <sup>ab</sup>	1.14±0.07 <sup>ab</sup>	83.0 ±2.3

注:同列数据不同肩标字母者表示差异显著( $P<0.05$ )。

## 2.2 蛋白酶制剂 AG 对凡纳滨对虾肌肉组成成分的影响(见表 3)

表 3 蛋白酶 AG 对凡纳滨对虾肌肉成分的影响(%)

项目	水分	粗灰分	粗蛋白
33%鱼粉组	76.97±0.52	5.70±0.16	88.78±0.45
33%鱼粉+AG 组	77.24±0.26	5.68±0.07	88.39±0.28
26.4%鱼粉组	76.69±0.40	5.94±0.09	89.16±0.36
26.4%鱼粉+AG 组	76.34±0.28	5.79±0.15	89.29±0.50

由表 3 可知,在鱼粉含量分别为 33%、26.4%的饲料中添加蛋白酶制剂 AG 后,各组间蛋白质含量、灰分含量和水分含量均无显著影响。

## 3 讨论

酶制剂在鱼类饲料中的应用已有一些研究报道。在鲤鱼饲料中添加植酸酶可提高饲料总磷、植酸磷、蛋白质和脂肪的利用率<sup>[2,3]</sup>;添加复合酶制剂可改善草鱼、鲤鱼、彭泽鲫、鲫鱼的生产性能<sup>[4-7]</sup>,但在虾饲料中的应用研究很少。朱宏友等<sup>[8]</sup>在饲料中添加 0.03%高温酶(含蛋白酶、淀粉酶和纤维素酶等)饲养凡纳滨对虾 2 个月,增重率提高了 46.5%,成活率提高 13.5%,饲料系数则下降 30.9%。仲军等<sup>[9]</sup>在饲料中添加 1‰复合酶制剂(蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶),在养殖生产条件下提高虾体增重率 11.20%,降低饲料系数 12.02%;添加 500~1 000 U/kg 的植酸酶,对凡纳滨对虾的生长虽无显著影响,但显著提高了虾壳中灰分和钙含量<sup>[10]</sup>。本试验所用蛋白酶制剂 AG 为细菌代谢所产生的多种蛋白酶复合物,在鱼粉含量分别为 33%和 26.4%的饲料中添加 175 mg/kg 后,增重率分别提高了 2.88%和 10.8%。

上述研究表明,在饲料中添加酶制剂后,可在一定程度上改善虾的生产性能。不同种类的酶具有不同的作用机理。蛋白酶 AG 加入饲料中后,一方面直接参与大分子蛋白,包括抗营养因子的降解;另一方面可补充内源酶消化分泌的不足,因而改善了凡纳滨对

虾的生长性能。但是在不同鱼粉含量和不同植物蛋白(豆粕)含量的基础饲料中添加蛋白酶 AG 的作用效果不同。在鱼粉 33%、豆粕 16.5%的基础饲料中添加 AG,仅在数值上提高增重率 2.88%;在鱼粉 26.4%、豆粕 25.25%的基础饲料中添加 AG,则提高增重率 10.8%,达到与 33%鱼粉组基本一致的生长性能。对这种现象我们推测,蛋白酶 AG 对植物蛋白具有较好的降解作用,而鱼粉因其可消化性高,加入 AG 后对其消化利用率改善不大,因此,在鱼粉含量较低而植物蛋白含量较高的饲料中添加蛋白酶 AG 对虾体的生长性能改善较为明显。

## 参考文献

- 1 Yu B, Wu S T, Liu C C. Effects of enzyme inclusion in a maize-soybean diet on broiler performance [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2007, 134: 283~294
- 2 白东清,乔秀亭.植酸酶对鲤鱼磷钙等营养物质利用率的影响[J]. *天津农学院学报*, 2003, 10(1): 6~10
- 3 白东清,郭立,乔秀亭,等.植酸酶对鲤鱼主要营养物质利用率的影响[J]. *中国饲料*, 2002(16): 16~17
- 4 张满隆,邓理.草鱼饲料中添加酶制剂的效果试验[J]. *粮食与饲料工业*, 2002(5): 36~37
- 5 韩如政,解涵.鲤鱼饲料中添加酶制剂试验[J]. *饲料研究*, 1999(6): 30
- 6 陈应华.复合酶制剂对彭泽鲫生长性能的影响实验[J]. *饲料工业*, 2001(3): 27~28
- 7 张满隆,邓理.鲫鱼饲料中应用酶制剂的实验[J]. *饲料博览*, 2001(3): 43
- 8 朱宏友,邓岳松,陈学铭,等.高温酶和鱼虾壮对南美白对虾生长的影响[J]. *内陆水产*, 2004(9): 12~13
- 9 仲军,王健鹏,马梦瑞.饲用酶制剂在对虾饲料中的应用研究[J]. *齐鲁渔业*, 1994, 11(3): 30~32
- 10 陈新宇,潘庆,毕英佐,等.植酸酶对凡纳滨对虾生长性能和体成分的影响[J]. *湛江海洋大学学报*, 2005, 25(5): 14~17

(编辑:徐世良, [fi-xu@163.com](mailto:fi-xu@163.com))

# 佛州侧耳对玉米秸秆干物质体外降解率的影响

仲崇刚 刘坦 闫坤伦

粮食短缺、环境污染以及能源浪费是我国现代农业发展亟待解决的问题,采用微生物处理农作物秸秆提高木质纤维素的降解率,开发饲料资源,是解决人畜争粮矛盾、改善生态环境、节约能源的重要环节。

在实际生产中,白腐真菌在以木质素为唯一碳源的培养基上一般不能生长,这是因为这些木质素降解菌必须首先降解多糖类以取得能量,在此基础上才能对木质素进一步降解;再者多糖类物质比木质素更容易被降解,而木质素较难被降解。因此在木质素被降解的同时,一般都先伴随有对纤维素和半纤维素的分解,这对生物处理发酵秸秆不利,降低了秸秆的营养价值;其次,由于秸秆存在着大量霉菌和其它杂菌,在氧气、温度和湿度等适宜条件下,杂菌会迅速繁殖,竞争性抑制白腐真菌的正常生长,使秸秆发霉变质;由于白腐真菌发酵秸秆时受到菌种的选择、温度、水分含量、通风状况、酸碱度、秸秆碳氮比及发酵时间等因素的影响,实际操作中底物营养调控及培养条件很难把握。

本试验从秸秆培养基的营养水平和发酵时间两方面来研究佛州侧耳对秸秆发酵的影响。第一个试验是针对目前秸秆培养料多以生产食用菌为目的,且营养水平偏高,发酵秸秆饲料的成本较高。试验中用麦麸的不同比例来调节培养基碳氮比,要寻求一个既可以满足佛州侧耳对秸秆的正常发酵处理,又可以提高经济效益的理想配比。第二个试验,研究发酵时间对处理秸秆的影响,目的是确定适宜的发酵时间,为开发真菌处理秸秆,提高其营养价值提供参考依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 白腐真菌的培养

#### 1.1.1 材料

试验采用的佛州侧耳选自东北农业大学食用菌实验室培育的“平菇 10 号”为菌种,采用 PDA 培养基作为一级培养基,煮熟的玉米粉作为二级培养基。

### 1.1.2 方法

#### 1.1.2.1 一级菌种的培养

##### ① 培养基制备

固体培养基:马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、琼脂 20 g、水 1 000 ml, pH 值 6.2~6.5。

液体培养基:马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、水 1 000 ml, pH 值 6.2~6.5。

将制备好的培养基装入试管,在高温(120 ℃)、高压(0.11 MPa)下灭菌 30 min,静止冷却。将固体培养基制成斜面。

##### ② 接种与培养

要求在无菌操作台上进行无菌操作。取 0.5 cm<sup>2</sup> 大小的菌块,对于固体培养基放于中部偏下要带有部分原来的培养基以利于真菌定植、生长。接种在斜面或液体培养基后标号并记录。在恒温 28 ℃下培养,坚持每日观察菌种的生长情况。

#### 1.1.2.2 二级菌种的培养

##### ① 培养基制备

玉米培养基:将玉米粒粉碎(过 6~20 目筛),麦麸 10%、石膏 1%、石灰 0.5%, pH 值自然。

将培养基加水煮沸成豆渣样,要求水分含量在 60%,搅拌均匀,分装在 16 个培养皿中,冷却至室温,准备接种。此过程仅对培养基进行煮沸灭菌,而不进行严格的高温、高压灭菌,目的是在有一定杂菌条件下人工提高佛州侧耳的抗逆性。

##### ② 接种与培养

为了更能适应实践生产中的需要,对无菌条件要求不严,仅采用酒精灯创造无菌环境,进行无菌操作。在接种前要选取生长速度快、菌体浓密高的一级培养菌,接种到二级培养基中。接种菌块大小在 0.5 cm<sup>2</sup> 左右,每个平皿中放置 2~3 块,将菌块均匀分布于平皿中,菌块上带有部分的原培养基,这样利于真菌的定植。在培养中要严格控制环境条件,即温度 28 ℃,不可过高;平菇是好氧菌,要保证通风;湿度一般在 75%。每日观察生长情况。

### 1.2 佛州侧耳对秸秆的发酵

#### 1.2.1 试验设计

##### 1.2.1.1 不同配比的培养料对佛州侧耳处理玉米秸秆干物质体外降解率的影响

仲崇刚,五大连池市畜牧局,164100,五大连池市。

刘坦、闫坤伦,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-07-09

将玉米秸秆和麦麸分别按 10 : 1、10 : 1.5、10 : 2 的比例制成培养料。选择生长旺盛的佛州侧耳二级菌种分别接种到 3 个不同麦麸水平的玉米秸秆培养料中,与对照组(不接种佛州侧耳的玉米秸秆)共同置于培养箱中,于 28 °C 下恒温培养,每个比例都设置两个重复。对于处理好的真菌发酵秸秆放于 65 °C 烘箱中烘干至恒重,混合均匀取样,采用体外法测定被处理秸秆的干物质降解率。

### 1.2.1.2 不同发酵时间对秸秆降解的影响

将接种真菌的培养料及对照组分别在 28 °C 下恒温培养 10、20、30 d,每个天数都设置两个重复。对于处理好的真菌发酵秸秆放于 65 °C 烘箱中烘干至恒重,混合均匀取样,采用体外法测定被处理秸秆的干物质消失率。

### 1.2.2 秸秆发酵方法

#### 1.2.2.1 不同配比秸秆的制备

按玉米秸秆与麦麸 10 : 1(A 处理组)、玉米秸秆与麦麸 10 : 1.5(B 处理组)、玉米秸秆与麦麸 10 : 2(C 处理组)配比。

将石膏 1%、石灰 0.5%、水分 67% 构成不同麦麸水平的培养料,分别混合均匀,分装于不同的广口瓶中。要求秸秆长度在 1 cm 左右。

#### 1.2.2.2 接种与发酵

在秸秆培养基中心打孔,深度约为秸秆培养料厚度的 1/2,将真菌置于孔中,接种量 3%。接种好的秸秆与对照组分别封口后放于 28 °C 恒温下培养,秸秆要更为严格的控制温度、湿度、通风等环境条件。

#### 1.2.2.3 样品的制备

将发酵秸秆分别在 10、20、30 d 停止发酵。把发酵过的生物秸秆在 65 °C 条件下烘干至恒重,粉碎、混合均匀,装瓶备用。

### 1.2.3 测定指标和方法

应用体外法测定被处理秸秆的干物质消失率:将处理的秸秆装入尼龙袋(尼龙袋为 300 目),分装样品约 2 g,投入 250 ml 三角瓶中,加入瘤胃液 200 ml,厌氧,置于 37 °C 水浴中进行振荡培养 48 h,取出后用清水漂洗 3 遍,放于 65 °C 烘箱中烘干至恒重,称重。瘤胃液来自装有永久瘻管的成年东北半细毛羊。

### 1.2.4 数据处理

采用统计软件 SAS6.12 中的 t 检验程序进行显著性检验。

## 2 结果与讨论

### 2.1 试验结果

#### 2.1.1 培养观察

在一级培养过程中,5 d 菌丝长度就可达 3 cm 左右,分出 3~5 层;二级培养过程中,4 d 菌株高度可达 4 mm;在处理秸秆时 3 d 就可见秸秆上出现白雾样的菌丝,20、30 d 处理的秸秆中可见有黄色、青绿色杂菌,秸秆颜色发暗。

#### 2.1.2 不同配比的培养料对玉米秸秆干物质的体外降解率(见图 1)

由图 1 可知,处理后的玉米秸秆干物质降解率明显提高。处理后的玉米秸秆干物质降解率分别为 A 处理组 24.30%、B 处理组 22.92%、C 处理组 22.87%,分别比对照组高 35.23%、27.55%、27.27%,其中 A 处理与对照组相比差异显著( $P < 0.05$ )。对 A、B、C 3 个处理相互之间作显著性检验,结果发现不同的秸秆配对于干物质降解率的影响差异不显著。

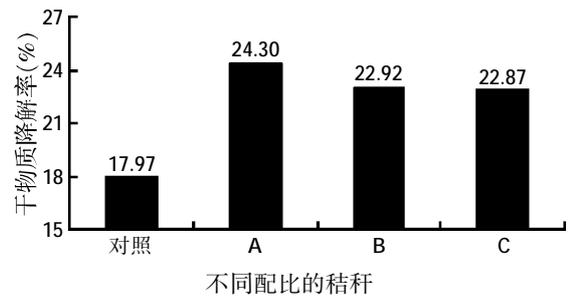


图 1 不同配比秸秆的干物质降解率

#### 2.1.3 不同发酵时间对秸秆体外降解率的影响(见图 2)

不同处理时间的秸秆干物质降解率分别为 31.07% (10 d)、22.29% (20 d)、16.73% (30 d)、对照组 17.97%。从图 2 可以看出,处理 10 d 的秸秆干物质降解率最高;处理 20 d 秸秆干物质降解率下降;处理 30 d 的秸秆干物质降解率低于对照组。通过 t 检验分析,结果显示:处理 10 d 的秸秆比处理 30 d 的秸秆在干物质降解率上极显著提高( $P < 0.01$ ),且比对照组提高 72.89%。

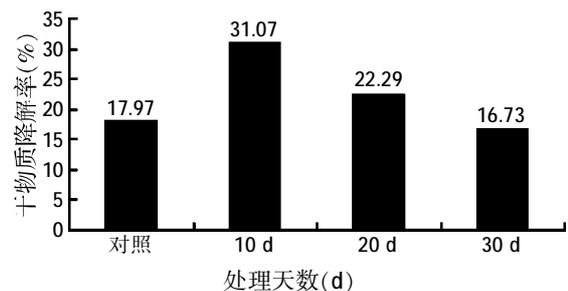


图 2 不同处理时间的秸秆干物质降解率

## 2.2 讨论

### 2.2.1 不同培养料配比对佛州侧耳处理玉米秸秆干物质体外降解率的影响

白腐菌在以木质素为唯一碳源的培养基上一般不能生长,这是因为这些木质素降解菌必须首先降解多糖类以取得能量,在此基础上才能对木质素进一步降解。麦麸中含有丰富的营养成分,其中含粗蛋白15%左右、粗脂肪4%左右。在秸秆中加入一定量的麦麸就提供了白腐真菌生长所需的营养成分。

本试验随着麦麸的水平上升,处理秸秆的干物质降解率A处理组24.30%、B处理组22.92%、C处理组22.87%,分别比对照组高35.23%、27.55%、27.27%。试验结果与英国Aston大学的试验结果基本一致。应用体外法测定干物质降解率受到羊的营养水平、瘤胃液品质、降解的厌氧环境等诸多因素影响,因此会导致测定的干物质降解率整体偏低。

本试验为了使发酵条件更接近生产实践,从二级培养开始不进行严格的高温、高压灭菌。选择长势旺盛的二级菌种进行下一步接种,意在提高菌种的抗逆性,接近实际生产条件,为生产实践积累切实可行的参数。这不仅可以提高秸秆的一次性发酵量,而且降低生产成本。

### 2.2.2 不同发酵时间对秸秆体外降解率的影响

佛州侧耳具有耐低温、生长速度快等特点。Kishan等在麦秸上接种黄孢原毛平革菌,结果表明,发酵过程中干物质的降解率与真菌接种量成正比,与CP的含量、IVDMD(干物质的体外消化率)成正相关,与CF、NDF、ADF、HC和木质素的含量成负相关,随发酵时间的延长,干物质的降解量不断提高。因此,发酵时间越长干物质的体外降解率越高。本试验结果显示,处理10d的秸秆干物质降解率与对照组相比差异极显著( $P < 0.01$ );处理20d的秸秆干物质降解率低于处理10d的结果;处理30d秸秆干物质降解率比对照组低。20d和30d的秸秆发酵瓶中发现黄色、青绿色杂菌,抑制了佛州侧耳的生长,因此对提高玉米秸秆干物质体外降解率没有效果。试验结果说明佛州侧耳处理秸秆10d左右,可明显提高秸秆干物质的降解率。

## 3 结论

由本试验结果可知,经过佛州侧耳处理的秸秆其干物质体外降解率明显提高,秸秆与小麦麸比为

10:1、10:1.5和10:2时处理的干物质体外降解率分别比对照组高35.23%、27.55%、27.27%。佛州侧耳发酵秸秆10d,其干物质体外降解率达到31.07%,比对照提高72.89%。

### 参考文献

- 1 冯仰廉.反刍动物营养学[M].科学出版社,2004
- 2 张丽英.饲料分析及饲料质量检测技术[M].中国农业大学出版社,2004
- 3 王忠艳.动物营养与饲料科学[M].东北林业大学出版社,2004
- 4 邓耀杰,林鹿,詹怀宇.白腐菌对芳香化合物的降解及其机制[J].环境科学与技术,1999,86(3):8~12
- 5 席冬梅,邓卫东,毛华明.白腐真菌降解木质素的机理及培养的营养调控[J].中国饲料,2002(9):8~10
- 6 赵华,齐刚,代彦,等.白腐真菌对稻草秸秆生物降解的研究[J].饲料工业,2003,24(11):37~40
- 7 杭怡琼,薛惠琴,郁怀丹,等.白腐真菌对稻草中木质素、纤维素降解的影响[J].上海畜牧兽医通讯,2001(1):17
- 8 陈翠微,刘长江.利用白腐真菌提高秸秆利用率[J].中国农业科技导报,2001,3(3):53~56
- 9 余伯.白腐真菌发酵粗饲料[J].江西饲料,2000(6):20~22
- 10 陈谊,杭怡琼,薛惠琴,等.白腐真菌降解稻草转化饲料的研究[J].上海交通大学学报,2001,19(2):151~153
- 11 Lang E, Gonser A, Zadrazil F. Influence of incubation temperature on activity of ligninolytic enzymes in sterile soil by *Pleurotus* sp. and *Dichomitus squalens*[J]. Journal of Basic Microbiology,2000,40(1):33~39
- 12 Fazaeli H, Mahmoodzadeh H, Jelani ZA, et al. Azizi A. Utilization of fungal treated wheat straw in the diet of late lactating cow[J]. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 2004, 7(4): 467~472
- 13 Steffen KT, Hatakka A, Hofrichter M. Mineralisation of C-14-labelled synthetic lignin and ligninolytic enzymeactivities of litter-decomposing basidiomycetous fungi [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2000, 54(6):819~825
- 14 Mukherjee R, Nandi B. Improvement of in vitro digestibility through biological treatment of waterhyacinth biomass by two *Pleurotus* species[J].International biodeterioration & biodegradation, 2004, 53(1): 7~12
- 15 Scheel T, Ludwig S, Holker U, et al. Differential expression of manganese peroxidase and laccase in white-rotfungi in the presence of manganese or aromatic compounds [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2000,54(5):686~691

(编辑:王芳,xfang2005@163.com)

# 不同酸源对微生物植酸酶降解

## 饲料中植酸磷的体外研究

李成良 张海燕 刘献英 周安国 王之盛

**摘要** 通过模拟生长猪消化道环境,以玉米、豆粕和菜粕为植酸磷的载体,考察了不同酸源对微生物植酸酶体外释放植酸磷的影响。结果显示,在体外近似体内条件下(37℃、2.5 h、pH值3~6),酸梅粉和植酸酶(500 U/kg)联用释放不同饲料中的植酸磷比例最大,其次是柠檬酸,盐酸最低。

**关键词** 酸源;微生物植酸酶;植酸磷;释放比例

**中图分类号** S816.7

谷物和油料作物及其饼粕等植物性饲料中绝大部分的磷是以植酸磷(60%~70%)的形式存在。单胃动物很难消化利用植酸磷<sup>[1]</sup>。随着酶制剂应用技术的发展,已经证明添加微生物植酸酶对提高日粮中植酸盐的利用率是一种有效而切实可行的技术手段。如何进一步提高微生物植酸酶的作用效果和植酸磷的降解程度是目前研究的热点和难点。微生物植酸酶的作用效果具有pH值依赖性,其最适pH值为5~5.5和2.5,日粮酸化能降低饲料的pH值而提高微生物植酸酶的作用效果。

酸梅粉是由脱水“酸梅干”粉碎而成,是一种天然的组分,含有大量的有机酸,有人曾在酸梅中分离出10种有机酸:苹果酸、柠檬酸、草酸、乙醇酸、乳酸、琥珀酸、焦精谷氨酸、甲酸、乙酸、丙酸,其中柠檬酸含量达到24.96%,总酸度以柠檬酸表示为27.82%。研究酸梅粉作为一种天然来源的复合有机酸对微生物植酸酶作用效果的影响,同时以常用的有机酸化剂柠檬酸和无机盐酸作对照,比较不同种类酸对植酸酶作用效果的影响。

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料

植酸酶和酸梅粉由福建某公司提供,微生物植酸酶酶活为2 000 U/g,酶活单位的定义:在37℃、pH值5.50的条件下,每分钟从0.005 1 mol/l的植酸钠溶液中释放出1 μmol无机磷所需要的植酸酶的量为一个酶活单位(U)。柠檬酸为分析纯试剂。

李成良,广东肇庆华芬饲料酶有限公司,526020,广东省肇庆市端州六路22号之三。

张海燕,单位及通讯地址同第一作者。

刘献英、周安国(通讯作者)、王之盛,四川农业大学动物营养研究所。

收稿日期:2007-08-20

#### 1.2 试验操作

分别准确称取过60目筛的玉米、豆粕和菜粕各0.1 g(精确到0.000 1 g),植酸酶的添加量为500 U/kg(取适量植酸酶溶入水中,溶解、离心,配成0.5 U/ml工作液),反应温度固定37℃,然后分别加入pH值为2、3、4、5、6、8的不同酸源的酸溶液10 ml,反应2.5 h后加入终止液中中止反应,混匀静置10 min,4 000 r/min条件下离心10 min,取上清液测定无机磷的含量。对照管中只加0.1 g饲料(总反应体积都为10 ml),不加植酸酶,其它操作同测定管。

将酸梅粉溶入一定量水中[酸梅粉(g):水(ml)=1:2],充分溶解,离心取上清液,配成pH值分别为2、3、4、5、6、8的溶液,pH值为8的溶液是在pH值为6的溶液中添加适量的pH值为9.6的碳酸缓冲液(1.59 g碳酸钠和2.93 g碳酸氢钠共同溶入1 000 ml水中)配制而成。盐酸和柠檬酸溶液的配制方法与之相同。

#### 1.3 测定指标与方法

本试验中以不同底物中植酸磷的释放比例反映植酸酶在不同条件下水解植酸磷的能力。植酸磷的释放比例(%)=反应体系中无机磷的释放量(g/kg)/饲料中植酸磷量(g/kg)。测定管含磷量与对照管之差为所释放的无机磷量。无机磷和植酸磷的测定参考杨胜《饲料分析及饲料质量检测技术》(1993)中的方法。

#### 1.4 数据处理

用Excel 2003对数据进行初步处理,结果用平均数表示,采用SPSS 11.5进行单因素方差分析和Duncan's法多重比较。

### 2 结果与分析

在模拟动物胃肠道条件下(pH值2~8),3种酸调节的反应体系中植酸磷的释放比例都是在pH值3~6之间相对较高(见表1、图1),pH值和植酸磷的释放率间存在极显著的二次曲线关系,求二阶导数得到pH值4.5左右时植酸磷的释放率达到最大值(见表2)。

pH 值为 2 和 8 时,不同反应体系中植酸磷的释放率明显降低。

表 1 在不同 pH 值条件下,不同酸源和植酸酶对玉米、豆粕和菜粕中植酸磷释放比例的影响 (%)

原料	酸源	pH 值					
		2	3	4	5	6	8
玉米	盐酸	37.34	43.59 <sup>a</sup>	46.38 <sup>a</sup>	52.04 <sup>a</sup>	48.71 <sup>a</sup>	7.07
	酸梅粉	40.44	50.72 <sup>c</sup>	55.89 <sup>c</sup>	70.39 <sup>c</sup>	64.71 <sup>c</sup>	8.21
	柠檬酸	38.43	49.20 <sup>bc</sup>	51.30 <sup>c</sup>	64.25 <sup>d</sup>	61.63 <sup>c</sup>	7.12
豆粕	盐酸	15.15	22.39 <sup>a</sup>	22.64 <sup>a</sup>	23.75 <sup>a</sup>	18.05 <sup>a</sup>	3.89
	酸梅粉	18.97	31.68 <sup>c</sup>	33.68 <sup>c</sup>	33.98 <sup>c</sup>	26.74 <sup>c</sup>	3.86
	柠檬酸	16.96	26.38 <sup>b</sup>	29.40 <sup>d</sup>	30.54 <sup>d</sup>	21.62 <sup>b</sup>	3.71
菜粕	盐酸	17.57	30.03 <sup>a</sup>	37.52 <sup>a</sup>	38.71 <sup>a</sup>	36.22 <sup>a</sup>	14.87
	酸梅粉	20.41	40.10 <sup>c</sup>	50.04 <sup>c</sup>	55.20 <sup>c</sup>	43.59 <sup>c</sup>	16.71
	柠檬酸	19.02	33.42 <sup>b</sup>	44.63 <sup>b</sup>	47.40 <sup>b</sup>	43.28 <sup>c</sup>	16.35

注:同列数据肩标字母相邻者表示差异显著(P<0.05),相间者表示差异极显著(P<0.01);没有标注或标注字母相同表示差异不显著(P>0.05)。下表同。

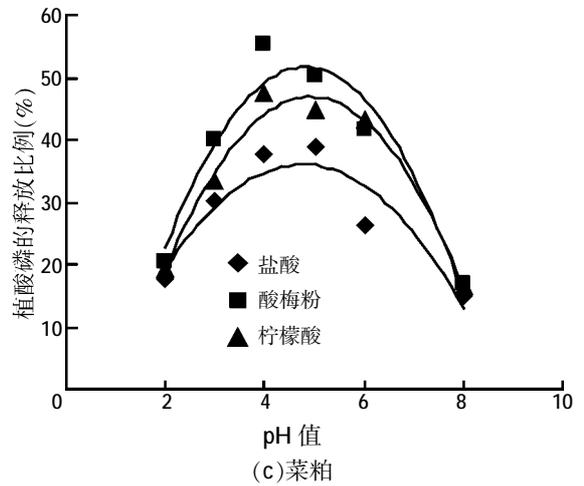
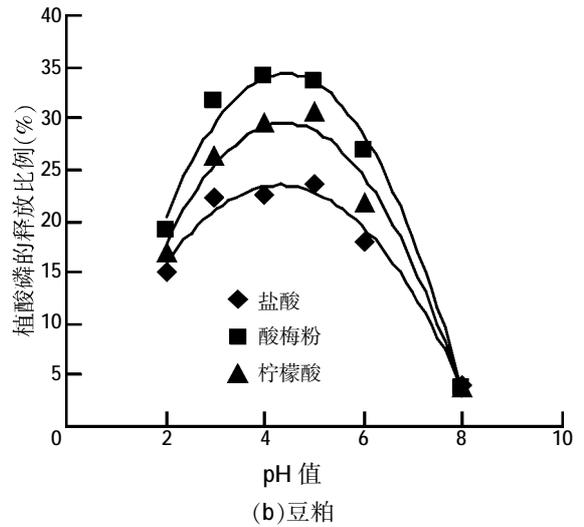
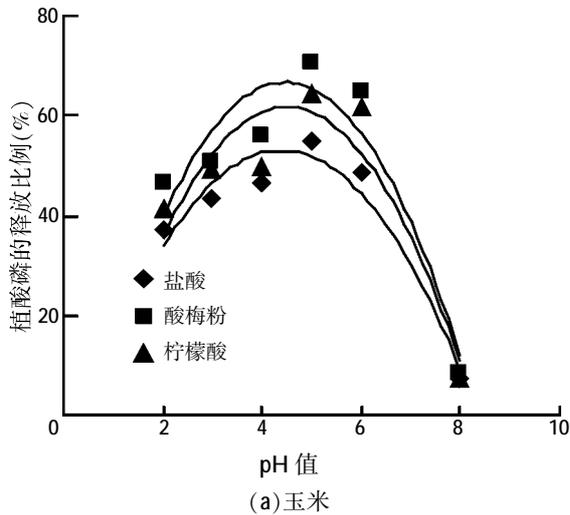


图 1 以玉米、豆粕和菜粕为植酸磷的载体,不同 pH 值条件下,不同来源酸对微生物植酸酶释放植酸磷的影响

表 2 不同酸源条件下, pH 值与微生物植酸酶释放植酸磷比例的回归关系

原料	酸源	回归方程	R <sup>2</sup>	P	植酸磷释放率最大时的 pH 值及最大值(%)
玉米	盐酸	$y = -3.373 2x^2 + 29.606x - 11.894$	0.94	<0.001	pH 值 4.39, $y_{max} = 53.11$
	酸梅粉	$y = -4.406 4x^2 + 39.413x - 21.437$	0.88	<0.002	pH 值 4.47, $y_{max} = 66.61$
	柠檬酸	$y = -4.171 2x^2 + 37.534x - 22.566$	0.87	<0.002	pH 值 4.50, $y_{max} = 61.85$
豆粕	盐酸	$y = -1.450 5x^2 + 12.454x - 3.2432$	0.98	<0.001	pH 值 4.29, $y_{max} = 23.45$
	酸梅粉	$y = -2.413 4x^2 + 21.293x - 12.605$	0.99	<0.001	pH 值 4.41, $y_{max} = 34.33$
	柠檬酸	$y = -2.046x^2 + 17.999x - 10.046$	0.98	<0.001	pH 值 4.40, $y_{max} = 29.56$
菜粕	盐酸	$y = -2.189 1x^2 + 20.841x - 13.582$	0.87	<0.001	pH 值 4.76, $y_{max} = 36.02$
	酸梅粉	$y = -3.641 4x^2 + 35.121x - 33.049$	0.94	<0.001	pH 值 4.82, $y_{max} = 51.55$
	柠檬酸	$y = -3.236 5x^2 + 31.854x - 31.505$	0.98	<0.001	pH 值 4.83, $y_{max} = 46.44$

注: y 为植酸磷释放比例(%), x 为 pH 值。

在模拟消化道 pH 值条件下,不同酸源对微生物植酸酶在不同饲料中释放植酸磷的影响如图 1 和表 1 所示。在近似体内条件下,体系中 3 种饲料原料中植酸磷的释放比例按酸梅粉组、柠檬酸组和盐酸组顺序逐渐降低,且在 pH 值 3~6 时,这种关系表现得更加明

显,总体有机酸与微生物植酸酶联用的效果比盐酸与微生物植酸酶联用的效果好(P<0.05)。而在 pH 值为 2 和 8 时,3 种酸对植酸酶的作用效果基本没有变化(P>0.05)。不同酸源条件下对 pH 值和植酸酶的二次曲线回归方程求导可得不同酸源对反应体系中植酸

磷的最大释放率的影响,酸梅粉的影响最大,其次是柠檬酸,盐酸最小(见表2)。对于玉米,在pH值为4和5时,酸梅粉组植酸磷的释放率极显著( $P<0.01$ )和显著地( $P<0.05$ )高于柠檬酸组;pH值为5时,酸梅粉组植酸磷的释放率比柠檬酸组提高了9.56%( $P<0.05$ ),这两组与盐酸组相比分别提高了35.26%和23.46%,差异极显著( $P<0.01$ )。

对于植酸磷含量比较高的豆粕和菜粕,在pH值为3~6时,酸梅粉组和柠檬酸组植酸磷的释放率都显著( $P<0.05$ )或极显著( $P<0.01$ )地高于盐酸组;除pH值为6时的菜粕组外,其它处理中植酸磷的释放率酸梅粉组显著( $P<0.05$ )或极显著( $P<0.01$ )高于柠檬酸组;pH值为5时,酸梅粉组豆粕和菜粕中植酸磷的释放率分别比柠檬酸组提高了11.26%( $P<0.05$ )和16.46%( $P<0.01$ );柠檬酸组分别比盐酸组提高了28.59%和22.45%,差异极显著( $P<0.01$ )。

### 3 讨论

#### 3.1 pH值对不同饲料原料植酸磷释放比例的影响

Simon等(1990)的研究表明,无花果曲霉植酸酶最佳pH值为2.5和5.5。而在本研究中只发现一个最佳pH值。有关植酸酶的基础研究表明,不同来源的微生物植酸酶在分子大小、结构和特性等方面存在差异(姚斌,1998)。事实上,微生物植酸酶并不是单一的一种酶,而是由植酸酶和酸性磷酸酶组成的一个酶系。植酸酶只能将植酸分解成肌醇磷酸,必须在酸性磷酸酶的协助下才能将植酸彻底分解。无花果曲霉植酸酶包括PhyA和PhyB两种,在不同pH值下表现的酶活性与两种酶的含量有关(Simons等,1990)。Ullah(1987)的研究证明,无花果曲霉能够同时产生PhyA和PhyB,不同微生物所产植酸酶系不同。本研究所用植酸酶在不同酸体系中最佳pH值为4.5左右,在pH值为2时没有活性高峰,说明此酶不含或仅含极少量PhyA,有可能来自黑曲霉或无花果曲霉的变种,或在酶的后处理过程或贮存过程中PhyA已部分失活。

Simons等(1990)在pH值为5.5、温度为40℃的条件下测定了1000 U/kg的微生物植酸酶对玉米和豆粕中植酸磷的释放效果,结果表明,反应60 min时,玉米和豆粕中分别释放出100%和84.5%的植酸磷。石宝明等(1999)报道,在玉米、豆饼和麦麸混合物(1:1:1)中添加500 U/kg微生物植酸酶,在温度为40℃、pH值为5.5的乙酸缓冲液中分别培养2.5 h和

4 h,植酸磷的消化率分别达到50%和80%。宋金彩(2000)在pH值为5.5和温度为37℃条件下,300 U/kg微生物植酸酶作用60 min,分别从玉米和豆粕中释放37.4%和20.7%的植酸磷。杨晓玲等(2006)报道,在pH值为5.5、温度为37℃条件下向米糠中添加500 U/kg微生物植酸酶并培养6 h,米糠中植酸磷的释放率达到60.3%,进一步发现,在37℃条件下向米糠中添加250 U/kg植酸酶并培养6 h,当pH值为3时,米糠中植酸磷的释放率达到最大值(68.3%)。本次研究得到,在pH值为3~6(接近不同状态胃内pH值)的不同酸介质存在下,37℃培养2.5 h,玉米中植酸磷的释放比例为43.59%~70.39%;豆粕中植酸磷的释放比例为22.39%~33.68%;菜粕中植酸磷的释放比例为30.03%~55.20%。

#### 3.2 不同酸源对饲料中植酸酶释放植酸磷的影响

本次研究显示,在pH值为3~6时,分别以玉米、豆粕和菜粕作为底物,酸梅粉组和柠檬酸组植酸磷的释放率都显著或极显著地高于盐酸组,由二次曲线回归得到的不同酸源对植酸磷的释放率的影响也呈相似的趋势。结果显示,有机酸(酸梅粉和柠檬酸)对植酸酶的增效作用好于无机酸(盐酸)。

Zhu等(1990)对玉米—豆粕—小麦麸型日粮采用了两步法脱植酸,首先在pH值为3.1的条件下用柠檬酸处理玉米和豆粕2 h,然后在pH值为5.1的条件下处理小麦麸2 h,植酸的水解率达到81%,认为柠檬酸是一种竞争性的螯合剂,可以提高第二阶段植酸水解的敏感性。Zyla等(1995a、b)研制了一种由商品真菌植酸酶、酸性磷酸酶、柠檬酸酶和果胶酶组成的复合酶,这种复合酶在模拟火鸡肠道条件下,可以完全水解玉米—豆粕型日粮中的植酸。柠檬酸和辅酶的作用可能是提高消化过程中底物对复合酶中植酸酶和非特异性磷酸酶的敏感性(破坏矿物质-植酸盐复合物)而进行水解。理论上讲,日粮中添加螯合剂能够提高植酸酶的效果,增加磷及其它矿物质的沉积,理想的螯合剂应该是比矿物质具有更高的与植酸结合的能力,并且无毒,形成的复合物能被动物解离或利用。氨基酸和羧基酸(柠檬酸)比矿物质具有更高的与植酸结合的能力(Cheryan, 1980)。Maenz等(1999)在菜粕上进行了系统的研究,在植酸酶存在的情况下,随着邻苯二甲酸和柠檬酸水平的进一步提高,无机磷的释放量进一步增加。当邻苯二甲酸的水平达到100 mmol/l时,无

机磷的释放量是不加植酸酶组的4倍,是植酸酶添加组的2倍。在植酸酶存在的情况下,随着时间的增加,无机磷的释放量在1 h达到平台期,此时无机磷的释放量约等于总磷的50%,进一步添加EDTA或邻苯二甲酸并不影响这种反应的趋势,但能使其达到平台期时无机磷的量增加,添加100 mmol/l邻苯二甲酸时的无机磷的释放量几乎是总磷的100%。Tang等(2006)报道,随着有机酸浓度的增加(0.015 6~1 mmol/l),组氨酸磷酸酶(HAP)和紫色酸性磷酸酶(PAP)对无机磷的释放效果按柠檬酸(盐)、草酸(盐)和苹果酸(盐)的顺序逐渐减小,这种作用效果与Jones(1998)的报道一致。但Jones等(1998)报道,在pH值为4~6时,其效果以草酸(盐)、柠檬酸(盐)和苹果酸(盐)的顺序逐渐减小。因此,可能草酸盐吸附自由植酸的主要机制是配基交换,而柠檬酸盐作用的重要机制是形成金属复合物。苹果酸盐和草酸盐含有2个羧基,而柠檬酸盐含有3个羧基,因此具有更强的与阳离子结合的能力。如在pH值为6的条件下苹果酸盐和草酸盐含有2个负电荷,而柠檬酸盐中-2价和-3价的比例是1:1。柠檬酸作为一种弱酸性螯合剂,而盐酸仅能为反应体系提供质子,二者作用模式的不同导致了植酸磷释放比例的差异,这与前人报道的结果是一致的,但数值存在差异,可能与植酸酶或底物不同有关。

本次研究表明,在相同条件下,酸梅粉组对不同饲料原料中植酸磷的释放比例都显著地高于柠檬酸组。酸梅粉虽然其绝大部分有机酸是柠檬酸(24.96%),占总酸度的89.72%,还含有苹果酸(1.22%)、甲酸、乙酸等10多种有机酸,是一种天然来源的有机酸复合酸。另外,酸梅粉中还含有其它不同形式的有机盐、抗坏血酸螯合剂和其它未知物质,但其具体的作用机制还需要进一步研究。

#### 4 结论

以饲料中植酸磷的释放率为标示来评价不同来源的酸对微生物植酸酶的增效作用。在体外近似生长猪消化道条件下(37 ℃、2.5 h、pH值为3~6),有机酸相对于无机酸有更好的提高植酸酶释放植酸磷的能力,有机酸中天然复合酸——酸梅粉增效作用比柠檬酸好。

不同酸源条件下对pH值和植酸磷的释放率的二次曲线回归方程求导可得,不同酸源的反应体系在pH值为4.5左右时对饲料中植酸磷的释放率最大,此

时酸梅粉、柠檬酸和盐酸分别使玉米中植酸磷的释放率为66.61%、61.85%和53.11%;豆粕中植酸磷的释放率为34.33%、29.56%和23.45%;菜粕中植酸磷的释放率为51.55%、46.44%和36.02%。

#### 参考文献

- 1 石宝明,单安山.微生物植酸酶在体外条件下活性的测定[J].黑龙江畜牧兽医,2000(2):15~16
- 2 宋金彩.微生物植酸酶特性的研究及其在蛋鸡饲料中的应用[D].东北农业大学博士学位论文,2000
- 3 姚斌,张春义,王建华,等.产植酸酶的黑曲霉菌株的筛选及其植酸酶基因的克隆[J].农业生物技术学报,1998,6(1):1~6
- 4 杨晓玲,周明.米糠中植酸磷的体外消化试验[J].粮食与饲料工业,2006(7):37~39
- 5 Cheryan M. Phytic acid interactions in food systems [J]. CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1980,13:297~335
- 6 Cromwell G L. The biological availability of phosphorus in feedstuffs for pigs[J]. Pig News and information, 1992,13(2):75
- 7 Jones D L. Organic acids in the rhizosphere—a critical review [J]. Plant and Soil, 1998, 205:25~44
- 8 Jones D L, Brassington D S. Sorption of organic acids in acid soils and its implications in the rhizosphere [J]. European Journal of Soil Science, 1998, 49:447~455
- 9 Maenz D D, C. M., Engele-Schaan, et al. The effect of minerals and mineral chelators on the formation of phytase-resistant and phytase-susceptible forms of phytic acid in solution and in a slurry of canola meal[J]. Animal Feed Science and Technology, 1999, 81:177~192
- 10 Simons P C, H.A.J. Versteegh, A.W. Jongbloed, et al. Improvement of phosphorus availability by microbial phytase in broilers and pigs [J]. Br. J. Nutr., 1990, 64:525~540
- 11 Ullah A H, D. M. Gibson. Extracellular phytase from *Aspergillus ficuum* NR R L3135:purification and characterization[J]. Preparative Biochemistry, 1987, 17:63~91
- 12 Tang J, A. Leung, C. Leung, et al. Hydrolysis of precipitated phytate by three distinct families of phytases [J]. Soil Biology & Biochemistry, 2006, 38 :1 316~1 324
- 13 Zhu X S, P. A. Seib, G. L. Allee, et al. Preparation of a low-phytate feed mixture and bioavailability of its phosphorus to chicks[J]. Animal Feed Science and Technology, 1990, 27:341~351
- 14 Zyla K, D.R Ledoux, A. Garcia, et al. An in vitro procedure for studying enzymic dephosphorylation of phytate in maize-soybean feeds for turkey poults[J]. British J.Nutri.,1995a, 74:3~17
- 15 Zyla K, Ledoux D R, Veum T L. Complete enzymic dephosphorylation of corn-soybean meal feed under simulated intestinal conditions of the turkey[J]. J. Agric. Food Chem., 1995b, 43:288~294

(编辑:高雁, [snowyan78@tom.com](mailto:snowyan78@tom.com))

# 桔梗水提取物的急性蓄积毒性试验

金锡九 张敏 聂兵

桔梗含桔梗皂苷、桔梗酸、桔梗糖、菊糖等,中医临床上主要用于寒热虚实引起的咳嗽、痰喘。近年来,作为药食同源的传统中药,也用于免疫调节、抗炎、抗溃疡、抗肿瘤、降血压、降血脂、扩张血管、镇痛、镇静、解热、降血糖、抗过敏等。药理试验表明,桔梗有较多的生理活性,具有较大的研发价值。因此,为了研究桔梗水提取物作为饲料添加剂并长期应用于畜禽产业中是否会引起毒害反应,特就桔梗水提取物进行本项毒理试验,以便了解桔梗水提取物的安全性以及对家畜的限量标准,为合理的利用该添加剂提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验动物:昆明种小白鼠由延边大学医学院实验动物科提供。

受试物:桔梗水提取物由延边大学农学院动物营养实验室提供。桔梗系3年生,清洗干净后,切片、低温烘干。

### 1.2 试验动物的饲养标准

饲料为全价饲料,试验组的饲料成分是在标准日粮的基础上添加不同比例的桔梗水提取物。饲养温度22~25℃,湿度40%~60%,自然采光。基础饲料成分见表1。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 桔梗水提取物水提取方法

将桔梗用清水洗净,剪碎,放入蒸馏水中浸泡20h后,将桔梗捞出放入烧杯中(水没过桔梗2cm),再将烧杯放在电炉子上进行加热,加热时水温应保持在60~80℃,如此反复3次,将每次的剩余溶液滤出,滤出的液体再进行水浴蒸干,剩下的粘稠溶液取出后称重,然后放入冰箱保存备用。

#### 1.3.2 急性毒性试验(LD<sub>50</sub>的测定)

取18~20g小白鼠60只,共设6组,1个对照组,5个试验组。每组10只,雌雄各半,一周内每只试验

组小鼠按每千克体重10 000、13 200、17 420、23 000、30 360 mg灌服桔梗水提取物,对照组灌服蒸馏水。小鼠禁食8h(不禁水)后进行灌服,给药后3~4h复食,给药停止后连续观察7d,并观察小鼠精神、食欲、饮水、活动情况,并记录小白鼠的中毒情况、死亡时间和死亡数量。

表1 小白鼠基础饲料配方

成分	含量(%)
玉米	21
豆粕	23
芝麻粕	5
面粉	15
大米	5
高粱	4
麦麸	4
草粉	3
鱼粉	5
花生	5
奶粉	5
鸡蛋	1.5
骨粉	2
食盐	0.5
矿物质	0.5
维生素	0.5

#### 1.3.3 蓄积毒性试验

取18~20g小白鼠50只,共设5组,1个对照组,4个试验组。每组10只,雌雄各半,每天每只试验组小鼠按每千克体重200、400、800、1 600 mg服用桔梗水提取物,提取物添加到饲料中饲喂,对照组饲喂正常的无桔梗水提取物的饲料,连续饲喂20d,在给药期间观察小白鼠的精神、食欲、饮水及死亡情况和有无异常反应,给药停止后观察7d内小白鼠的死亡情况、体重变化和有无异常反应。同时测量如下指标:

① 一般性指标:记录小白鼠采食量,每周称量小鼠体重。计算整个试验期各组平均体增重、小鼠平均耗料量。

平均体增重=(试验末重-试验始重)/试验小白鼠数;

平均耗料量=(试验初的饲料量-试验末的剩料量)/试验小白鼠数。

② 脏器系数:取心、肝、脾、肺、肾称重,计算脏器与体重的比值。

## 1.4 数据统计

金锡九,延边大学农学院动物科学系,133400,吉林省龙井市龙门街。

张敏、聂兵,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-07-23

用 SPSS 11.5 进行单因素方差分析,采用多个试验组和 1 个对照组间的两两比较方法统计。试验结果用平均值±标准差表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 急性毒性试验

小白鼠按每千克体重 10 000、13 200、17 420、23 000、30 360 mg 剂量的桔梗水提取物灌胃给药,7 d 后观察各剂量组小白鼠的精神、食欲、饮水等情况和对照组比较均无异常,未出现死亡及其它异常行为,按照毒理学评价标准,当 LD<sub>50</sub>>15 000 mg 时属于实际无毒物质,可不必测定半致死量(LD<sub>50</sub>)。本试验结果 LD<sub>50</sub>>30 360 mg 表明,桔梗水提取物作为中草药添加

剂属于实际无毒类物质。

### 2.2 蓄积性毒性试验

桔梗水提取物按每千克体重 200、400、800、1 600 mg 的剂量添加到饲料中饲喂小白鼠,在给药期间及停药 7 d 观察期内,各试验组小白鼠未出现死亡情况,精神、饮食和饮水无异常,同时也未出现其它异常行为,结果表明,桔梗水提取物无蓄积毒性作用。

#### 2.2.1 一般性指标测定

平均体增重、平均耗料情况见表 2。

由表 2 可知,经 20 d 给药饲喂试验,各试验组小白鼠的平均体增重及平均耗料量与对照组相比差异均不显著(P>0.05)。

表 2 不同剂量的桔梗水提取物对小白鼠生长的影响(平均值±标准差)

项目	剂量(mg/kg)	只数	平均始重(g/只)	平均末重(g/只)	平均体增重(g/只)	平均耗料量(g/只)
1 组	200	10	18.87±1.31	38.37±3.21	19.50±3.90	139.65±3.89
2 组	400	10	18.43±1.75	37.59±2.49	19.16±0.74	137.92±4.24
3 组	800	10	17.95±1.68	37.03±1.72	19.08±0.04	140.74±2.75
4 组	1 600	10	18.37±1.34	38.58±3.21	20.21±1.87	132.81±5.37
5 组	0	10	18.29±1.81	38.76±2.18	20.47±0.37	134.19±3.69

#### 2.2.2 脏器系数的测定

将桔梗水提取物按每千克体重 200、400、800、1 600 mg 剂量添加到饲料中,连续饲喂小白鼠 20 d 后,扑杀受试鼠,取主要脏器称重,测定脏器系数,结果

见表 3。

由表 3 可知,给予受试小白鼠桔梗水提取物 20 d 后,各试验组与对照组之间脏器系数差异不显著(P>0.05),各试验组间差异也不显著(P>0.05)。

表 3 桔梗提取物对小鼠脏器比的影响(%)

项目	剂量(mg/kg)	心脏/体重	肝脏/体重	脾脏/体重	肺脏/体重	肾脏/体重
1 组	200	0.44±0.05	4.24±0.26	0.36±0.05	0.54±0.07	1.12±0.06
2 组	400	0.44±0.05	4.47±0.31	0.33±0.07	0.61±0.06	1.13±0.10
3 组	800	0.45±0.04	4.61±0.35	0.33±0.10	0.61±0.07	1.09±0.07
4 组	1 600	0.41±0.05	4.53±0.40	0.35±0.09	0.68±0.05	1.04±0.12
5 组	0	0.43±0.04	4.36±0.28	0.31±0.10	0.60±0.06	1.11±0.09

## 3 结论

### 3.1 急性毒性试验

当 LD<sub>50</sub>>30 360 mg/kg 时小白鼠仍未出现死亡及其它异常行为,表明桔梗水提取物属于实际无毒类物质。

### 3.2 蓄积试验

20 d 给药后,各试验组和对照组的小白鼠均无异常表现和死亡,同时试验组小白鼠平均体增重、平均耗料量及脏器系数的测定与对照组相比均无明显差异,表明桔梗水提取物无蓄积作用。

综上所述,桔梗水提取物属于无毒物质,可以取代抗生素,作为饲料添加剂应用于畜牧业生产中,

有着广泛的应用前景。

### 参考文献

- 1 巩丽丽,石俊英.桔梗近年来的研究进展[J].时珍国医国药,2006,17(3):封3~封4
- 2 付文卫,窦德强,裴月湖.桔梗的化学成分和生物活性研究进展[J].沈阳药科大学学报,2006,23(3):184-191
- 3 余椿生.桔梗[J].食品与药品,2006(5):75
- 4 庞立杰,王彦,许永华,等.桔梗的药用价值及其栽培[J].人参研究,2003(4):38
- 5 宋杨,齐云.桔梗的药理研究进展[J].中国药房,2006,17(2):140
- 6 中华人民共和国农业部.新兽药一般毒性试验技术要求[S].1991
- 7 袁伯佼,冶乔.药临床前安全性评价与实践[M].医学科学出版社,1997.11

(编辑:高雁, [snowyan78@tom.com](mailto:snowyan78@tom.com))

# 不同日粮能量水平和酶制剂对临武鸭生产性能的影响

陈清华 程天德 周海

**摘要** 试验拟研究不同日粮能量水平和酶制剂对鸭生产性能的影响,选用21日龄临武鸭555只,随机分成5个组,每组111只,分别饲养于3个重复栏,每个重复栏37只。在保持含有相同的粗蛋白含量的前提下,5种日粮代谢能(ME)分别为10.91、10.44、9.97、9.97 MJ/kg(每吨饲料添加0.10 kg复合酶制剂)和9.97 MJ/kg(每吨饲料添加0.15 kg复合酶制剂)。试验结果表明,通过建立日粮ME水平与鸭采食量之间的线性回归函数 $y = -133.01x + 3779 (R^2 = 0.9954)$ ,可以推算出,当ME值每下降0.1 MJ/kg时,鸭平均日采食量上升0.95 g;在低日粮ME水平条件下,随着酶制剂添加量的增加,平均个体总增重有增加的趋势,但试验Ⅳ、Ⅴ两组之间没有显著的差异( $P > 0.05$ )。不加酶制剂组与加酶制剂组比较,相同的ME值水平下,加入酶制剂的试验Ⅳ、Ⅴ组与不加酶试验Ⅲ组的体增重相比较有所上升,并达到高ME组的平均个体总增重水平,通过建立日粮ME与FCR之间的相关线性关系,得到本试验用的复合酶制剂潜在的表观ME为4.73 MJ/kg以上;经济效益分析结果表明,试验Ⅳ、Ⅴ组与试验Ⅰ组相比,养鸭毛利分别提高0.32和1.08个百分点,与相同能量水平的试验Ⅲ组比较,添加酶制剂的试验组的毛利分别提高了5.37和6.13个百分点。

**关键词** 临武鸭;酶制剂;表观代谢能

**中图分类号** S834

酶制剂能有效分解饲料中的纤维素、半纤维素等抗营养成分,显著提高和改善营养物质的消化吸收,提高动物免疫机能,进而提高动物的生产性能<sup>[1]</sup>。目前酶制剂在鸭日粮中应用越来越广泛,但研究多局限在生产性能方面,而对量化酶制剂提高能量利用率方面研究较少。Dean(1992)提出为酶制剂赋予一定的表观代谢能(ME)值,以便把酶制剂作为一种饲料原料进入电脑最低成本配方筛选使用<sup>[2]</sup>。后来一些报道表明,可通过家禽代谢试验测定日粮加酶前后的ME差值作为外源酶制剂的表观ME值<sup>[3-5]</sup>,外源酶制剂的表观ME值评价已成为评价其质量优劣及正确使用的前提<sup>[6]</sup>。

本试验采取不同日粮能量水平和选用含木聚糖酶、 $\beta$ -葡聚糖酶、甘露聚糖酶、纤维素酶、果胶酶和蛋白酶等复合酶制剂进行研究,探讨不同能量水平和酶制剂对21~35日龄阶段临武鸭生产性能的影响,为临武鸭生产中正确设定能量水平和科学使用鸭专用复合酶制剂提供参考依据,以便获取更高的经济效益。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验动物及日粮组成

本试验选取555只21日龄临武鸭(临武鸭产于湖南省临武县,属肉蛋兼用型鸭种),随机分成5个组,每组111只鸭,分别饲养于3个重复栏,每个重复栏37只。5个试验组分别饲喂5种不同的日粮(试验中无鸭只死亡),5种日粮在保持日粮蛋白质和可消化氨基酸水平不变的条件下,ME水平分别为10.91、10.44、9.97、9.97、9.97 MJ/kg(试验Ⅰ~Ⅴ组),试验Ⅳ组和试验Ⅴ组在每吨饲料中分别添加0.1 kg和0.15 kg鸭用复合酶制剂(由夏盛实业集团有限公司生产),复合酶制剂的成分为:淀粉酶120 U/g、蛋白酶2 000 U/g、木聚糖酶50万 U/g、 $\beta$ -葡聚糖酶60万 U/g、甘露聚糖酶5 000 U/g、纤维素酶1万 U/g和果胶酶8 000 U/g。试验日粮组成及营养水平见表1。

### 1.2 饲养管理

做好鸭舍及其用具的消毒工作,按规定的免疫程序进行预防接种。试验14 d,网上平养,饲养密度为6~8只/m<sup>2</sup>。自由采食和饮水,饲养管理按常规进行。

### 1.3 试验测定的指标

分别于21、28日龄和35日龄早晨8:00,按重复组为单位统计总采食量并称空腹体重,计算各阶段的平均日增重(ADG)、平均日采食量(ADFI)和料肉比(F/G),并按照目前市场价格进行效益分析。料重比=平均日

陈清华,湖南农业大学动物科学技术学院,博士,410128,长沙市芙蓉区。

程天德,夏盛实业集团有限公司。

周海,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-09-10

表1 试验日粮组成及营养水平

项目	试验 I 组	试验 II 组	试验 III 组	试验 IV 组	试验 V 组
日粮组成(%)					
玉米	47.1	39.6	36.5	36.5	36.5
次粉	16	16	16	16	16
豆粕	4	4.8	5.5	5.5	5.5
米糠	10	10	10	10	10
菜粕	8.5	8.5	8.5	8.5	8.5
统糠	2.5	9.2	11.6	11.6	11.6
棉籽粕	8.5	8.5	8.5	8.5	8.5
石粉	0.92	0.9	0.88	0.88	0.88
磷酸氢钙	1.48	1.5	1.52	1.52	1.52
预混料 <sup>*</sup>	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
鸭专用酶	-	-	-	0.01	0.015
营养水平					
代谢能(MJ/kg)	10.91	10.44	9.97	9.97	9.97
粗蛋白质(%)	16.00	16.00	16.00	16.00	16.00
粗脂肪(%)	3.91	3.11	2.92	2.92	2.92
粗纤维(%)	5.05	8.12	9.78	9.78	9.78
钙(%)	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84
有效磷(%)	0.43	0.43	0.43	0.43	0.43
可消化赖氨酸(%)	0.50	0.51	0.51	0.51	0.51
可消化蛋氨酸+胱氨酸(%)	0.56	0.56	0.55	0.55	0.55
可消化苏氨酸(%)	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48
可消化色氨酸(%)	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15

注:<sup>\*</sup>预混料含食盐 0.4%,为每千克饲料提供铜 8 mg、铁 80 mg、锰 0.3 mg、锌 150 mg、维生素 A 9 600 IU、维生素 D<sub>3</sub> 3 200 IU、维生素 E 16 mg、维生素 K<sub>3</sub> 1.92 mg、维生素 B<sub>1</sub> 1.92 mg、维生素 B<sub>2</sub> 6.4 mg、维生素 B<sub>6</sub> 2.64 mg、维生素 B<sub>12</sub> 0.016 mg、烟酸 40 mg、泛酸钙 8.8 mg、叶酸 1.6 mg、生物素 0.08 mg。

采食量(g)/平均日增重(g);增重成本=单位饲料成本×料重比×总增重。

1.4 结果统计分析

用 SPSS 11.0 软件进行单因素方差分析、多重比

较(LSD)及回归分析,结果用平均数±标准差表示。

2 结果与分析

2.1 不同 ME 水平与酶制剂对肉鸭平均个体总增重的影响(见表 2)

表2 各试验组平均个体总增重结果(g)

项目	试验 I 组	试验 II 组	试验 III 组	试验 IV 组	试验 V 组
21 日龄体重	542.25±18.00 <sup>a</sup>	547.66±10.23 <sup>a</sup>	546.10±9.34 <sup>a</sup>	551.26±13.33 <sup>a</sup>	548.42±12.94 <sup>a</sup>
28 日龄体重	904.41±8.69 <sup>a</sup>	901.71±12.48 <sup>a</sup>	896.82±13.42 <sup>a</sup>	903.51±21.62 <sup>a</sup>	904.91±23.35 <sup>a</sup>
35 日龄体重	1 343.15±17.38 <sup>a</sup>	1 323.33±6.24 <sup>ab</sup>	1 306.52±13.52 <sup>b</sup>	1 341.35±16.22 <sup>a</sup>	1 342.98±8.83 <sup>a</sup>
21~27 日龄阶段增重	362.16±14.3 <sup>a</sup>	354.02±2.70 <sup>a</sup>	350.72±17.50 <sup>a</sup>	352.25±13.33 <sup>a</sup>	356.49±13.43 <sup>a</sup>
28~35 日龄阶段增重	438.74±24.52 <sup>a</sup>	421.62±0.81 <sup>a</sup>	409.70±5.26 <sup>a</sup>	437.84±19.49 <sup>a</sup>	438.07±12.18 <sup>a</sup>
21~35 日龄阶段增重	800.90±24.22 <sup>a</sup>	775.68±9.74 <sup>ab</sup>	760.42±21.31 <sup>b</sup>	790.09±22.01 <sup>ab</sup>	794.56±18.35 <sup>ab</sup>

注:同行数据肩标小写字母不同表示差异显著(P<0.05),大写字母不同表示差异极显著(P<0.01),相同字母表示差异不显著(P>0.05)。下表同。

表 2 结果表明,在 21~35 日龄各阶段和整个试验过程中,肉鸭平均个体总增重随着日粮 ME 水平的降低而降低,在 21~27 日龄阶段以及 28~35 日龄阶段各试验组平均个体总增重无显著性差异(P>0.05),但在 21~35 日龄阶段,试验 III 组的平均个体总增重显著低于试验 I 组(P<0.05),与试验 II、IV、V 组相比差异不显著(P>0.05)。在低日粮 ME 水平条件下,随着酶制剂添加量的增加,平均个体总增重有增加的趋势,但试验 IV、V 组之间没有显著的差异(P>0.05)。试验结果显示,本试验条件下,在低 ME 水平中添加不同水平酶

制剂有改善鸭增重的效果,并达到高 ME 组的平均个体总增重水平。

2.2 不同 ME 水平与酶制剂对鸭采食量和料肉比的影响(见表 3)

表 3 结果表明,在 21~27 日龄阶段期间,不加酶制剂的试验 I、II、III 组随着日粮能量水平的降低,鸭的采食量逐渐增加,且试验 I、II、III 组之间差异极显著(P<0.01);加酶制剂的试验 IV 和 V 组之间有降低的趋势,且差异显著(P<0.05)。在 28~35 日龄期间,试验 III、IV、V 组之间的总采食量差异不显著(P>0.05),但试验 I、II

组与其它3组相比差异极显著 ( $P<0.01$ ); 在整个试验(21~35日龄)过程中,随着ME的降低,鸭的采食量逐渐增加,其中,试验I、II、III组平均个体总采食量之间差

异极显著 ( $P<0.01$ ),试验IV组、V组与II组的采食量之间差异不显著 ( $P>0.05$ ),但与试验I组、III组差异极显著 ( $P<0.01$ );试验IV、V组之间采食量差异显著 ( $P<0.05$ )。

表3 各试验组平均采食量与料肉比

项目	试验I组	试验II组	试验III组	试验IV组	试验V组
采食量(g)					
21~27日龄阶段	932.52±15.29 <sup>cd</sup>	956.51±17.63 <sup>bcd</sup>	987.23±13.75 <sup>ab</sup>	959.18±13.70 <sup>bc</sup>	949.98±10.52 <sup>bc</sup>
28~35日龄阶段	1 397.78±16.76 <sup>cd</sup>	1 428.94±15.77 <sup>bc</sup>	1 468.10±18.32 <sup>ab</sup>	1 430.29±15.29 <sup>ab</sup>	1 427.98±12.56 <sup>ab</sup>
21~35日龄阶段	2 330.3±43.50 <sup>cd</sup>	2 385.45±15.78 <sup>bc</sup>	2 455.33±23.54 <sup>ab</sup>	2 389.47±9.74 <sup>bc</sup>	2 377.96±9.78 <sup>bc</sup>
料肉比					
21~27日龄阶段	2.57	2.70	2.81	2.72	2.66
28~35日龄阶段	3.18	3.39	3.58	3.27	3.26
21~35日龄阶段	2.91	3.07	3.23	3.02	2.99

21~27日龄和28~35日龄两个生长阶段中不添加酶制剂试验组的料肉比随着ME水平的降低而增大,添加不同水平酶制剂后,料肉比有明显的改善,但两个添加酶制剂组之间差异不显著。整个试验期的料肉比结果显示,酶制剂能改善料肉比,与试验III组相比,添加

酶制剂的IV、V组料肉比分别降低了6.50%和7.43%。

### 2.3 经济效益分析

按照目前饲料原料市场价格和肉鸭的销售价格进行计算每组效益,酶按60元/kg计算。经济效益分析见表4。

表4 经济效益分析

项目	试验I组	试验II组	试验III组	试验IV组	试验V组
活重单价(元/kg)	6.2	6.2	6.2	6.2	6.2
增重(kg/只)	0.800 9	0.775 7	0.760 4	0.790 1	0.794 6
收入(元/只)	4.96	4.81	4.71	4.90	4.93
饲料单价(元/kg)	1.534	1.475	1.457	1.463	1.467
平均毛利(元/只)	3.426	3.335	3.253	3.437	3.463
比较(%)	100	97.34	94.95	100.32	101.08

表4结果表明,在平均毛利比较中,没有添加酶制剂的试验组随着ME水平的降低,饲料单价下降,养鸭的平均毛利也下降。在添加了酶制剂的试验IV、V组中,随着酶制剂添加量的增加,尽管饲料单价有增加,但给养鸭带来的毛利有增加的趋势,与试验I组相比,分别提高0.32和1.08个百分点;与相同能量水平的试验III组比较,添加酶制剂的试验组的毛利分别提高了5.37和6.13个百分点。由此可见,在低ME水平的饲料中添加酶制剂后能带来较好的经济效益。

## 3 讨论

### 3.1 不同ME水平与酶制剂对鸭采食量和生产性能的影响

日粮能量水平是决定动物生产性能和饲料成本的最重要营养指标,有研究表明,日粮能量水平决定鸭的采食量<sup>[7]</sup>。据报道,在低能量水平的饲料中添加酶制剂后,家禽的采食量会降低,因此许多研究者建议在家禽日粮中赋予外源酶表现ME<sup>[8]</sup>,这样可以把酶作为一

种独立的饲料原料进入计算机最低成本配方筛选。杨加豹等<sup>[9]</sup>研究报道,在保持日粮蛋白质和可消化氨基酸水平不变的条件下,日粮ME在10.878~10.042 MJ/kg范围内递减,并不显著影响肉鸭增重,但引起采食量和料肉比线性上升,日粮代谢能每下降0.418 MJ/kg,肉鸭采食量和料肉比分别上升3.16%、4.88%。本试验结果表明,随着日粮ME的下降,鸭的采食量逐渐增加。经线性回归分析表明,ME在10.91~9.97 MJ/kg范围内日粮能量水平与鸭采食量为线性负相关, $y = -133.01x + 3 779 (R^2 = 0.965 4)$ ,其中x为日粮能量含量,y为21~35日龄阶段总的采食量。结果显示,日粮ME每下降1 MJ/kg,鸭21~35日龄总采食量上升13.30 g,平均日采食量增加0.95 g。

在本试验条件下,鸭的平均个体总增重随日粮ME水平的降低而降低,尽管添加酶制剂后的试验IV、V组的总增重与其它试验组没有显著差异,但是相对于低ME试验III组来说,试验IV、V组的平均个体总

增重明显上升。结果显示,在低 ME 水平中添加不同水平酶制剂有改善鸭增重的效果,并达到高 ME 组的平均个体总增重水平。与试验Ⅲ组相比,试验Ⅳ、Ⅴ组料肉比分别降低了 6.50% 和 7.43%,这与何健等<sup>[9]</sup>、吕敏芝等<sup>[10]</sup>报道的酶制剂能提高鸭的生长速度和饲料转化率结果相一致。

### 3.2 复合酶制剂在鸭日粮中应用研究

酶制剂作为一种新型的饲料添加剂在畜禽生产中的应用愈来愈受到生产者的关注,其作用不仅在于提高和发挥畜禽生产潜力,更重要的作用可降低成本,为充分利用众多的饲料资源进行饲粮配合提供可能和保证。越来越多的研究表明,使用酶制剂能够显著提高鸭的生产性能和降低饲料成本<sup>[11-14]</sup>。本试验选用含淀粉酶、蛋白酶、木聚糖酶、 $\beta$ -葡聚糖酶、甘露聚糖酶、纤维素酶和果胶酶的鸭用复合酶,能有效地降解日粮中次粉、米糠、统糠、菜粕、棉粕中的抗营养因子(如果胶质、纤维素、半纤维素),降低食糜粘度,改善营养物质的消化率和吸收率,进而改善日粮的代谢能值,提高日增重和饲料利用率。

杨加豹等<sup>[9]</sup>研究报告,在肉鸭饲料中添加酶制剂能明显改善肉鸭的生长性能和饲料转化率,并通过日粮 ME 和料肉比函数关系的标准曲线推算出肉鸭用商品复合酶制剂的表观 ME 值为 0.244 MJ/kg 酶。本试验若以日粮 ME 和料肉比建立相关函数关系的标准曲线,得到: $y = -0.3404x + 6.624$  ( $R^2 = 0.9999$ ),其中  $y$  为料肉比, $x$  为 ME 值,试验Ⅳ、Ⅴ组料肉比分别为 3.02 和 2.99。这样会得到试验Ⅳ、Ⅴ组表观 ME 值分别为:10.59 MJ/kg 和 10.68 MJ/kg,分别比其配方计算值大 0.62 MJ/kg 和 0.71 MJ/kg,由此可推算,本试验所使用的酶制剂在肉鸭日粮中潜在的表观 ME 在 4.73 MJ/kg 以上。

本试验结果表明,临武鸭日粮中添加 0.01%、0.015% 的复合酶制剂,可以提高鸭的生长速度、饲料利用率和经济效益。由试验可得,营养水平越低,加酶的经济效益越明显,加酶制剂组比对照组经济效益提高 5.37 个百分点以上。酶的价格及其使用酶制剂带来的经济效益是用户最关心的问题,本试验的结果表明,在鸭 ME 低水平(9.97 MJ/kg)基础上添加复合酶制剂的经济效益是显著的,但是在某一低能量水平日粮中添加多少酶制剂才能达到理想效果还有待于进一步研究。

## 4 结论

4.1 本试验中,日粮 ME 在 10.91~9.97 MJ/kg 范围内递减,鸭采食量上升。日粮每下降 1 MJ/kg,鸭在 21~35 日龄阶段总采食量上升 13.30 g,即平均日采食量增加 0.95 g。

4.2 在保持蛋白质含量不变的低 ME 水平日粮中添加一定量的酶制剂能提高经济效益,本试验条件下,经济效益提高了 5.37 个百分点以上。

4.3 在低能量的水平的饲料日粮中添加酶制剂能提高日粮的 ME 值,本试验条件下,酶制剂在临武鸭日粮中潜在的表观 ME 在 4.73 MJ/kg 以上。

### 参考文献

- 1 文杰. 小麦日粮粘滞性及小麦粘度的研究 [J]. 动物营养学报, 1999, 11(4): 44-50
- 2 Dean W F. An Update On Applied Duck Nutrition [J]. presented On Behalf Of the American Soybean Association in China, 2003 (4): 11-27
- 3 刘永刚. 通用酶在畜禽生产中的应用效果 [J]. 饲料广角, 2004 (4): 13-14
- 4 倪志勇. 不同营养水平饲料中添加饲用复合酶对肉鸡生产性能的影响 [J]. 饲料工业, 2001 (12): 38-39
- 5 杨加豹, 张亚平, 李定发, 等. 日粮能量水平对肉鸭生产性能影响及“标准曲线法”测定饲用酶制剂的表观代谢能值 [J]. 中国饲料, 2004 (19): 12-14
- 6 王晔. 复合酶制剂对肉鸭生产性能的影响 [J]. 中国饲料, 2004 (13): 23-25
- 7 胡志军, 许梓荣, 邹晓庭. 酶制剂在商品肉鸭生产中应用效果的研究 [J]. 上海畜牧兽医通讯, 2004 (2): 25-26
- 8 刘一伟译. 配制最低成本的加酶家禽日粮: 酶的表现代谢能 [J]. 国外畜牧学, 1993 (2): 14
- 9 何健, 冯光德, 豆松方, 等. 在低营养水平的肉鸭日粮中添加酶制剂的效果研究 [J]. 中国家禽, 2001 (23): 14-16
- 10 吕敏芝, 陈建权, 黄得纯, 等. 肉鸭日粮中添加酶制剂的效果试验 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2002 (2): 12-13
- 11 余有贵, 贺建华. NSP 酶在单胃动物日粮中的应用 [J]. 中国畜牧兽医, 2004 (1): 9-11
- 12 廖细古, 冯定远, 于旭华, 等. 木聚糖酶对生长肉鸭生产性能影响的研究 [J]. 饲料工业, 2006, 27 (18): 44-45
- 13 章德育, 李昂, 李鑫, 等. 番鸭日粮添加溢多酶 P-8306 的饲养效果试验 [J]. 福建畜牧兽医, 2006, 28 (5): 1-3
- 14 王晔. 日粮中添加酶制剂对樱桃肉鸭生产性能的影响 [J]. 山东饲料, 2004 (3): 20-22

(编辑: 高 雁, [snowyan78@tom.com](mailto:snowyan78@tom.com))

# 日粮中添加铜对肉仔鸡生产性能的影响

常新耀 王 翠

**摘 要** 为研究日粮中添加不同水平的铜对肉仔鸡生产性能的影响,本试验选用健康、初生重相近的1日龄商品代爱拔益加(AA)肉仔鸡3 000只,并随机分为5组,每组3个重复,每个重复200只鸡。在玉米—豆粕型基础日粮(含铜量5.7 mg/kg)的基础上,分别添加2.3、42.3、82.3、122.3、162.3 mg/kg的硫酸铜( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ),进行为期6周的饲养试验。整个试验期分为3个阶段:0~2周龄、3~5周龄、6周龄。设I组为对照组,其它4组为试验组。在较合理的饲养管理条件下,记录各试验组鸡的增重、采食量,计算料肉比。试验结果表明,试验组鸡各阶段及整个试验期的增重、采食量、料肉比与对照组相比受饲料铜水平的影响差异不显著( $P>0.05$ )。根据试验结果,考虑到生产效益,建议肉鸡日粮中的铜供给量按NRC(1994)标准,即8 mg/kg进行添加。

**关键词** 铜;肉仔鸡;生产性能;增重;采食量;料肉比

**中图分类号** S831

## 1 材料与方

### 1.1 试验动物与分组

选用健康、体重相近的1日龄商品代爱拔益加(AA)肉仔鸡3 000只,随机分为5组,每组3个重复,每个重复200只鸡。

### 1.2 试验设计

本试验以硫酸铜( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )为外加铜源,以玉米—豆粕型日粮(含铜量5.7 mg/kg)为基础日粮。试验I~V组分别添加2.3、42.3、82.3、122.3、162.3 mg/kg的硫酸铜( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )。设I组为对照组,其它4组为试验组。试验设计见表1。

表1 试验设计

项目	试验组				
	I组	II组	III组	IV组	V组
硫酸铜添加量(mg/kg)	2.3	42.3	82.3	122.3	162.3

### 1.3 基础日粮组成及营养水平

参照NRC(1994)肉仔鸡营养需要配制基础日粮,基础日粮组成及营养水平见表2。

### 1.4 饲养管理

试验在新乡市获嘉县冯庄鸡场进行,试验从2007年4月2日至2007年5月14日,试验期为42 d。试验分为3个阶段:0~2周龄、3~5周龄、6周龄。整个试验期内由专人负责,试验开始前对鸡舍、鸡笼及其它饲养管理用具用甲醛-高锰酸钾全面熏蒸消毒。整个试验期用厚垫料平养,控制好鸡舍内的温湿度,昼夜24 h光照,定期进行疫苗接种、驱虫工作。每天清理、消毒鸡舍,冲洗饮水器,让鸡自由采食干粉料,自由饮水,其它均按照肉仔鸡常规饲养操作规程进行。

表2 基础日粮组成和营养水平

项目	0~2周龄	3~5周龄	6周龄
玉米(%)	53.86	60.57	64.45
豆粕(%)	34.50	31.00	30.00
鱼粉(%)	5.00	3.00	-
动物油(%)	3.00	2.00	2.00
石粉(%)	1.35	1.48	1.41
磷酸氢钙(%)	0.88	0.62	0.82
赖氨酸(%)	1.14	0.99	0.85
蛋氨酸(%)	0.11	0.03	0.03
食盐(%)	0.30	0.30	0.30
预混料(%)	1.00	1.00	1.00
营养水平			
代谢能(MJ/kg)	12.14	12.18	12.26
粗蛋白(%)	21.94	19.75	17.76
钙(%)	1.00	0.90	0.80
有效磷(%)	0.45	0.35	0.30

注:每千克基础日粮中添加维生素A 14 400 IU、维生素E 20 mg、维生素K 1.5 mg、维生素B<sub>1</sub> 2.25 mg、维生素B<sub>2</sub> 9 mg、泛酸钙 15 mg、烟酸 30 mg、维生素B<sub>6</sub> 3.0 mg、维生素B<sub>12</sub> 0.025 mg、叶酸 0.75 mg、氯化胆碱 1 000 mg、Mn 80 mg、Zn 60 mg、Fe 40 mg(Mn、Zn、Fe均以硫酸盐形式添加)、Se(亚硒酸钠)0.15 mg、I(碘化钾)0.3 mg。

常新耀,河南科技学院动物科学系,副教授,453003,新乡市五一路东端。

王翠,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-08-09

1.5 测定指标及方法

分别在肉仔鸡 1、14、35、42 日龄时对每个处理组分别随机抽取 50 只鸡进行空腹称重,记录饲料采食量,并计算整个试验期不同阶段、不同处理组肉仔鸡的增重、采食量和料肉比。

平均日增重=(试验末重-试验初重)/(参试鸡只数×试验天数);

平均日采食量=总采食量/(参试鸡只数×试验天

数);

料肉比=总采食量/(末重-初重)。

试验数据用 Excel 进行处理,并进行方差分析,试验结果用平均数±标准差表示。

2 试验结果

2.1 肉仔鸡各阶段增重

日粮中添加不同水平的硫酸铜(CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O),试验鸡各阶段的增重情况见表 3。

表 3 各阶段增重情况(g)

项目	I 组	II 组	III 组	IV 组	V 组
初重	44.3±0.9	45.1±1.0	45.0±0.7	46.8±0.6	45.4±0.8
2 周龄体重	337.2±8.4	338.1±3.2	337.7±7.5	339.0±4.6	339.3±9.9
5 周龄体重	1 729.1±52.1	1 730.5±53.7	1 729.6±39.6	1 731.2±48.9	1 730.8±37.8
6 周龄体重	2 150.3±32.2	2 152.0±44.6	2 153.2±53.4	2 156.7±43.2	2 156.0±69.1
0~2 周龄增重	292.9±8.8	293.0±3.9	292.7±7.7	292.2±4.2	293.9±9.4
3~5 周龄增重	1 391.9±52.1	1 392.4±47.3	1 391.9±65.2	1 392.2±49.8	1 391.5±45.7
6 周龄增重	421.2±12.0	421.5±15.4	423.6±19.0	425.5±13.9	425.2±18.5

由表 3 可以看出,日粮中添加不同水平的硫酸铜(CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O)对 AA 肉鸡在 0~2 周龄、3~5 周龄、6 周

龄增重的影响差异不显著(P>0.05)。

2.2 肉仔鸡各阶段采食量和料肉比(见表 4)

表 4 各阶段肉仔鸡采食量及料肉比

项目	0~2 周龄		3~5 周龄		6 周龄	
	采食量(g)	料肉比	采食量(g)	料肉比	采食量(g)	料肉比
I 组	415.9±26.8	1.42±0.10	2 547.2±50.7	1.83±0.05	897.2±45.7	2.13±0.04
II 组	410.2±18.3	1.40±0.06	2 520.2±38.0	1.81±0.03	887.3±36.3	2.11±0.06
III 组	418.6±10.3	1.43±0.05	2 575.0±74.3	1.85±0.07	921.5±73.2	2.18±0.10
IV 组	417.8±26.3	1.43±0.03	2 559.8±66.7	1.84±0.10	902.0±67.7	2.12±0.09
V 组	413.0±16.7	1.41±0.07	2 532.5±31.7	1.82±0.08	884.4±59.6	2.08±0.03

由表 4 可以看出,试验组与对照组相比,日粮中添加不同水平的硫酸铜(CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O)对 AA 肉仔鸡各阶段的采食量及料肉比的影响差异不显著(P>0.05)。在 3~5 周龄肉仔鸡日粮中添加 82.3、122.3mg/kg 的硫酸铜(CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O)时,即 III、IV 组肉仔鸡的采食量较对照组分别增加 1.09%、0.49%,6 周龄时 III、IV 组肉仔鸡的采食量较对照组分别增加了 2.71%、0.53%,料肉比也略有增加,统计结果显示差异均不显著。

2.3 整个试验期肉仔鸡的生产性能(见表 5)

表 5 肉仔鸡的生产性能

项目	增重(g)	采食量(g)	料肉比
I 组	2 106.00±53.1	3 860.30±57.2	1.83±0.08
II 组	2 106.90±45.2	3 817.70±87.9	1.81±0.02
III 组	2 108.20±60.7	3 915.10±41.6	1.86±0.04
IV 组	2 109.90±53.3	3 879.60±34.4	1.84±0.05
V 组	2 110.60±36.7	3 829.90±66.8	1.81±0.04

由表 5 可以看出,日粮中添加不同水平的硫酸铜(CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O)对 AA 肉仔鸡整个试验期的增重、采食量、料肉比的影响与对照组相比差异均不显著(P>0.05)。试验过程中当日粮中添加 82.3、122.3 mg/kg 的硫酸铜时,即 III、IV 组肉仔鸡的采食量较对照组分别增加了 1.42%、0.50%,料肉比分别提高了 1.64%、0.55%,统计结果显示差异仍不显著。

3 讨论

铜作为多种酶的辅助因子,它与动物营养的关系早已引起人们的重视,Barber 等(1955)首先提出对于生长肥育猪添加高于正常生理需要数 10 倍的铜,可以改进猪的生长速度和饲料利用率,在不同生长阶段的饲料中添加高水平的铜(>200 mg/kg)均可改善生长猪的日增重和饲料转化率。此后,Gipp(1973)、Crone(1989)、许梓荣(2000)、王希春(2004)等对此进行了大量

的研究,进一步证实了高铜的促生长作用,而且,研究者普遍认为补铜剂量为 250 mg/kg 时效果最好。从此,铜作为一种高效、廉价、方便的促生长剂在养猪业中被广泛应用。

日粮中添加高剂量铜能否促进家禽的生长和改善饲料利用率,专家和学者做了很多的试验,有关高剂量铜对禽类(尤其是肉鸡)生长的影响也有报道,但结果不尽一致。Fisher(1973)认为,改善肉鸡体增重和饲料效率的最佳饲料铜水平分别为 169 mg/kg 和 140 mg/kg。何霆(2001)在肉鸡日粮(铜水平为 9.4 mg/kg)分别添加 10、50、100、200 mg/kg,结果表明,高铜对肉仔鸡生长、增重无影响。胡坚(2000)、周桂莲(2004)等指出,高铜对试验鸡的生产性能无影响。然而也有研究者得出相反的结论,如周文卿(1994)总结大量试验研究成果,提出高铜(25~150 mg/kg)对肉仔鸡具有显著的增重效果,平均增重可提高 39.3%。龚月生(2002)研究表明,高剂量铜(250 mg/kg)对笼养海布罗混合雏前期(1~28 日龄)生长有一定的促进作用。夏中生(2000)等研究表明,在肉用三黄鸡饲料中添加 125~250 mg/kg 铜可以促进生长,提高饲料效率。

本试验结果表明,在玉米—豆粕型日粮中添加不同水平的硫酸铜( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ),试验鸡各阶段及整个试验期的增重、采食量、料肉比没有随日粮铜水平的增加而改善,其增重、采食量、料肉比与对照组相比差异均不显著( $P>0.05$ )。由此可见,本试验结果与胡坚、周桂莲等研究者的报道相一致。

高铜的增重效应研究得出的结论不一致,有些研究者认为,试验动物、日粮类型、饲料中营养素等显著影响铜的吸收利用。也有研究者认为,高铜的促生长作用主要因为高铜有类似抗生素的作用,当雏禽的生活环境较差时,高铜可抑制胃肠道有害菌的繁殖,间接表现出高铜的促生长作用。而本试验饲养管理条件较好,故表现不明显。因此生产过程中在肉仔鸡饲料中添加铜制剂时应充分考虑各种因素,才能使铜在促进肉仔鸡生产性能方面达到最佳的应用效果。

高铜在饲料中的应用有其自身的优点,虽然对其生理作用的报道很多,但是不够全面,尤其是生长机理方面的研究,观点很不一致。随着养殖业集约化与畜禽生产水平的提高,生产上出现一种盲目超量添加铜的倾向,由此产生各种潜在的生物学负效应和动物产品品质的改变及生态环境的破坏日益备受人们关

注。总之,高铜的促生长机理有待进一步研究。

#### 4 结论

试验结果表明,试验鸡在各阶段及整个试验期的增重、采食量、料肉比受饲料中铜水平的影响差异不显著( $P>0.05$ )。根据试验结果,考虑到生产效益,建议肉鸡日粮中的铜供给量按 NRC(1994)标准(8 mg/kg)进行添加。

#### 参考文献

- 1 陈喜斌. 饲料学[M]. 北京:科学出版社, 2003. 132~133
- 2 王忠艳. 饲料学[M]. 哈尔滨:东北林业大学出版社, 2005. 97~98
- 3 NRC. Nutrient requirements of swine (9 th R ev Ed)[M]. Washington: national Academy Press,1988(1):64~72
- 4 NRC. Nutrient requirements of poultry (9 th R ev Ed)[M]. Washington: national Academy Press,1994(1):67~68
- 5 刘小波,罗绪刚. 高剂量铜对猪促生长作用机理的研究进展[J]. 动物营养,2001,6(9):13~15
- 6 周桂莲,韩友文. 饲喂高铜日粮对肉仔鸡影响的研究[J]. 饲料博览, 1993,6(3):3~6
- 7 杜娟,高荣琨. 高铜的生理功能及影响[J]. 当代畜禽养殖业,2006 (1):32~34
- 8 Fisher C. Use of copper sulfate as a growth-promoter for broiler [J]. Feedstuff, 1973,16:24~25
- 9 胡吉耘. 微量元素在猪生长中的作用与影响 [J]. 贵州畜牧兽医, 2005,29(4):28~29
- 10 何霆,刘汉林,梁琳,等. 肉用仔鸡的饲料铜水平[J]. 广东畜牧兽医科技, 2001,19(2):1~3
- 11 谭芳,胡坚. 日粮铜水平对肉仔鸡组织中矿物质含量的影响[J]. 兽医大学学报,2000(1):67~72
- 12 夏中生,覃小荣,王振权,等. 饲料高剂量铜对肉仔鸡生产性能的影响[J]. 广西农业生物科学,2000,19(1):39~42
- 13 龚月生,薛桥,曹雨莉. 高剂量铜对肉仔鸡生产性能的影响[J]. 黄牛杂志, 2002,20(1):64~65
- 14 杨凤. 动物营养学[M]. 北京:中国农业出版社, 2001. 92~93
- 15 骆先虎,吴晋强. 锰、锌、铜对肉用仔鸡营养效应的研究[J]. 安徽农业大学学报,2001,24(1):62~67
- 16 刘玉兰,李德发,龚利敏,等. 日粮铜水平对肉仔鸡生产性能和免疫器官发育的影响[J]. 饲料工业,2003,24(2):16~18
- 17 田允波,曾书琴. 高铜改善猪生产性能和促生长机理的研究进展 [J]. 黑龙江畜牧兽医,2002,11(2):36~37
- 18 王希春,吴金节. 高剂量铜对仔猪的促生长作用及其机理[J]. 动物医学进展,2004,25(6):62~64
- 19 程志刚,林映才,许梓荣. 高铜促生长机理综述[J]. 兽药与饲料添加剂, 2001,6(3):33~35

(编辑:高雁, [snowyan78@tom.com](mailto:snowyan78@tom.com))

# β-葡聚糖酶对肉鸡生产性能的影响

王允超 范志恒

β-葡聚糖酶是一类能降解谷物中β-葡聚糖的水解酶类的总称,β-葡聚糖酶属于半纤维素酶类,是采用枯草杆菌经过液体深层发酵制得。β-葡聚糖酶包括内切和外切β-1,3-葡聚糖酶、内切和外切β-1,4-葡聚糖酶。内切β-1,4-葡聚糖酶是饲用β-葡聚糖酶的有效成分。β-葡聚糖酶能降解β-葡聚糖分子中的β-1,3和β-1,4糖苷键,使之降解为小分子,失去亲水性和粘性,改变单胃动物肠道内容物的特性、消化酶的活性、肠道微生物的作用环境等,从而有利于动物对营养物质的消化和吸收,提高生长性能和饲料的转化率。

本试验旨在研究肉鸡日粮中添加β-葡聚糖酶对肉鸡生产性能的影响,以探讨β-葡聚糖酶在肉鸡日粮中的使用价值,为β-葡聚糖酶的应用推广提供参考。

## 1 材料与试验方法

β-葡聚糖酶由青岛康地恩生物集团山东六和农牧科技园有限公司提供。

本试验采用单因子随机试验设计,将144只1日龄AA肉鸡,按照公母各半、体重一致的原则随机分为2个处理组,对照组和试验组,每个处理组9个重复,每个重复8只鸡。

试验日粮采用市场上常用的商品颗粒饲料,按正常给料程序进行饲喂。试验组在对照组日粮基础上添加1000g/t的β-葡聚糖酶。各处理组基础日粮配方及营养水平见表1。

试验鸡只采用立体重叠式笼养,人工控制光照、温度和湿度。自由采食和饮水,自然通风。其它饲养管理和免疫按常规肉鸡饲养办法和免疫程序进行。

试验期间分别记录1~21日龄、22~41日龄及1~41日龄的各阶段试鸡增重、耗料量,并在每周末按照5%的比例随机抽样进行称重,试验期共41d。

表1 基础日粮组成及营养水平

项目	510日粮(1~21日龄)	511日粮(22~42日龄)
原料(%)		
玉米	50.89	49.63
玉米酒精糟	5.00	5.00
豆粕	24.50	18.07
棉粕	2.00	3.00
菜籽粕	2.00	4.00
玉米蛋白粉	1.20	-
麸皮	10.00	16.45
食盐	0.35	0.35
石粉	1.30	1.20
磷酸氢钙	1.60	1.30
预混料	1.16	1.0
合计	100	100
营养水平		
AME(MJ/kg)	11.00	10.67
CP(%)	20.50	18.51
钙(%)	0.96	0.86
有效磷(%)	0.47	0.43
总赖氨酸(%)	1.14	1.01
总蛋氨酸(%)	0.51	0.43
总苏氨酸(%)	0.79	0.73

注:预混料为六和生肉鸡预混料,试验日粮均经85℃制粒。

以鸡只个体或重复为单位,计算两个处理组日粮试验前后的表观代谢能和蛋白质的利用率,数据用SPSS 11.5软件进行单因素方差分析和Duncan's法多重比较,结果均以“平均值±标准差”表示。

试验在青岛康地恩生物集团生物代谢试验室(城阳区青大工业园)进行。

## 2 试验结果与分析

### 2.1 添加β-葡聚糖酶对1~21日龄肉鸡生产性能的影响(见表2)

表2试验结果表明,肉鸡1~21日龄期间日粮中添加1000g/t的β-葡聚糖酶与对照组相比,平均个体重提高2.5%,日耗料量提高3.6%,个体日增重提高3.6%,料肉比降低1.1%。

表2 日粮中添加β-葡聚糖酶对1~21日龄肉鸡生产性能的影响

组别	21日龄平均个体重(g)	日耗料量(g/只)	日增重(g/只)	料肉比
对照组	545.5±10.0	43.9±0.8	24.9±0.6	1.79±0.02
试验组	559.4±11.7	45.5±0.6	25.8±0.5	1.77±0.02

注:同列数据肩标小写字母不同表示差异显著(P<0.05);肩标无字母者或字母相同者表示差异不显著(P>0.05)。下表同。

王允超,康地恩生物集团生物代谢实验室,266061,青岛市高科园苗岭路29号澳柯玛大厦0607室。

范志恒,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-07-30

### 2.2 添加β-葡聚糖酶对22~41日龄肉鸡生产性能的影响(见表3)

由表3结果表明,添加1000g/tβ-葡聚糖酶的试验组与对照组相比,平均个体重提高3.8%(P<0.05),个

# 瘦素对机体代谢调控研究进展 及其在畜牧业中的应用前景

邹增丁 陈立祥 苏建明

**摘要** 瘦素(leptin)是由肥胖基因(Obese gene)编码、脂肪组织合成并分泌的一种激素,具有调节动物摄食行为、减少能量消耗和降低动物采食量的作用,从而提高动物的生产效益。文中阐述了瘦素的结构特点、作用机理、能量代谢调控并对瘦素在畜牧业中的应用前景进行了展望。

**关键词** 瘦素;调控;作用机理

**中图分类号** S816.11

在畜牧业生产中,生产者需要控制畜禽的脂肪沉积,以追求最大的经济效益。由于过去在育种中过分注重了生长速度的选择,导致出现畜禽生长速度增快的同时伴随着体脂的增多,风味下降等负面效应。因此,了解家畜控制肥胖、摄食与能量代谢的基本机制有助于提高动物的生产性能和改善产品的品质。瘦素

(leptin)是由肥胖基因编码、脂肪细胞分泌的一种激素<sup>[1]</sup>,具有调节摄食行为,减少能量消耗和降低动物采食量的作用<sup>[2]</sup>。长期以来,研究者一直试图找到一种有效控制脂肪沉积的方法。Kennedy 提出了控制体重的“脂肪自稳理论”(Lipostatic theory)。Hervey 的小鼠试验结果证实了这一点,并解释为小鼠脂肪组织能够产生一种“循环饱感因子”,这种因子可作用于下丘脑而减少摄食。Zhang 等(1994)首次克隆到肥胖基因(Obese gene)<sup>[3]</sup>,并发现其编码产物为 leptin,这一发现为人们解决这一问题带来了新的希望。本文就近年来国内外有关瘦素对机体代谢调控研究作一综述。

## 1 leptin 及其受体的生化结构特点

### 1.1 leptin 生物学组成

邹增丁,湖南农业大学动物营养研究所,410128,长沙。  
陈立祥(通讯作者),单位及通讯地址同第一作者。  
苏建明,湖南农业大学动物医学院。  
收稿日期:2007-08-25

★ 湖南省重大科技专项子课题资助(湘:03-NKY-1001)

表 3 日粮中添加β-葡聚糖酶对 22~41 日龄肉鸡生产性能的影响

组别	41 日龄平均个体重(g)	日耗料量(g/只)	日增重(g/只)	料肉比
对照组	1 763.5±31.4 <sup>b</sup>	132.0±2.0	61.1±1.4 <sup>b</sup>	2.17±0.02 <sup>a</sup>
试验组	1 830.2±29.0 <sup>a</sup>	134.4±2.1	64.1±1.0 <sup>a</sup>	2.10±0.01 <sup>b</sup>

体日耗料量提高 1.8%,日增重提高 4.9%(P<0.05),料肉比降低 3.2%(P<0.05)。

### 2.3 β-葡聚糖酶对 1~41 日龄肉鸡生产性能的影响 (见表 4)

表 4 β-葡聚糖酶对 1~41 日龄肉鸡生产性能的影响

组别	日耗料量(g/只)	日增重(g/只)	料肉比
对照组	87.9±1.2	42.7±0.8 <sup>b</sup>	2.08±0.01 <sup>a</sup>
试验组	90.0±1.2	45.1±0.6 <sup>a</sup>	2.00±0.01 <sup>b</sup>

1~41 日龄试验结果表明,添加 1 000 g/t 的 β-葡聚糖酶的试验组与对照组相比,全期日耗料量提高 2.4%,日增重提高 5.6%(P<0.05),料肉比降低 3.8%(P<0.05)。

## 3 小结

本试验结果表明,基础日粮中添加 1 000 g/t 的 β-葡聚糖酶对肉鸡生产性能有显著的改善作用。这与 Rotter 等在大麦、燕麦和小麦为主的饲料中添加 β-葡聚糖酶可提高小鸡的日增重和饲料转化率的研究报道一致。

因此,在玉米—豆粕—杂粕型肉鸡日粮中添加的 β-葡聚糖酶对提高肉鸡生产有显著作用,可以明显提高肉鸡个体重,降低料肉比。

(编辑:高 雁,snowyan78@tom.com)

leptin 的前体物是由 167 个氨基酸组成的 Ob 基因编码产物,在分泌入血的过程中 N 端由 21 个亲水氨基酸残基组成的信号肽被水解后形成由 146 个氨基酸组成的分子量约为 16 kD 单链分泌型非糖基化多肽,链内的两个半胱氨酸残基构成一个二硫桥,具有强亲水性。根据氨基酸序列推测<sup>[6]</sup>,leptin 是球形分子,无明显的结构域或跨膜结构,以单体形式存在于血浆中。瘦蛋白的 mRNA 及蛋白质仅在脂肪细胞表达,且氨基酸的编码区具有高度的保守性,人与小鼠有 84% 的碱基序列相同<sup>[6]</sup>。目前研究表明,leptin 主要是由脂肪组织(主要是白色脂肪,也有棕色脂肪)分泌的蛋白质类激素,其它组织也能产生,包括胎盘,胎儿的心脏、骨、软骨,大鼠的骨骼肌和胃,人的乳腺上皮细胞,人和鼠的腺垂体<sup>[6]</sup>。leptin 在血液中以游离和结合两种形式存在,游离状态可能是其生物活性状态。正常人血清中 leptin 大部分以游离状态存在。

## 1.2 leptin 受体(Ob-R)

leptin 受体有 5~6 种剪接体<sup>[7]</sup>,其中 Ob-Rc、d、e、f 为短形受体,Ob-Rb 为长形受体。只有 Ob-Rb 具有信号传导功能,为功能性受体,主要分布于下丘脑表达神经肽 Y 的细胞表面。在人和多种动物的下丘脑、垂体以及胰岛素 B 细胞、脉络丛、肝、肺、心、肾、睾丸、淋巴细胞和脂肪等组织中都发现有 leptin 受体分布<sup>[8-10]</sup>,在下丘脑发现有长形受体 mRNA 特异表达,而在中枢以外的组织中则有短形受体 mRNA 表达。早期的大多数研究表明,长形 leptin 受体主要分布在大脑,特别是在下丘脑的弓状核和室旁核这两个调节摄食和代谢的活跃区域<sup>[11]</sup>,leptin 受体 mRNA 呈浓集分布,因而认为 leptin 主要通过中枢神经系统影响动物的摄食和代谢。有研究发现,猪的长形 leptin 受体 mRNA 除在大脑和垂体组织中大量表达以外,在其它组织中也广泛分布。长形 leptin 受体 mRNA 在大鼠胃和十二指肠粘膜和粘膜下层广泛表达<sup>[12]</sup>,这进一步证明了长形 leptin 受体在中枢神经以外组织中广泛存在。消化系统中 leptin 可与存在于胃肠组织的 leptin 受体相互作用参与胃肠功能的调节<sup>[13-15]</sup>。

## 2 leptin 对能量代谢的调控作用

### 2.1 leptin 在能量平衡中的调节作用

leptin 作为神经内分泌激素,能够提供调节信号,通过抑制食物摄取并提高代谢率来限制脂肪的储存,在能量平衡中起着重要作用,尤其在食物缺乏或饥饿

状态下能有效地延长动物的存活时间。饥饿会引起一系列异常反应,如产热量下降、体温过低、拒食症、免疫力下降以及神经内分泌功能紊乱、体脂消耗等。作为饥饿反应的调节者,leptin 浓度也随着下降,若用 leptin 处理这些饥饿动物则能明显改善上述饥饿反应。此外,巨大的能量消耗也伴随有 leptin 水平的下降,以诱导摄食和降低产热量。据报道,在维持状态(Steady-State, Zero energy balance)下,leptin 的表达和分泌反映了人和动物的体脂含量<sup>[16,17]</sup>。综上所述,leptin 具有双重调节性:在能量消耗和能量摄入相平衡、体质量恒定时,leptin 是反映体脂贮存的指标;而一旦能量平衡被破坏,如呈现能量正平衡(过量饮食)或负平衡(禁食、运动等),leptin 则代表一种能量感受器,通过能量代谢的负反馈调节以维持体重。

### 2.2 leptin 对体重的调节作用

通过腹膜注射用大肠杆菌(E.Coli)表达的小鼠 leptin<sup>[18]</sup>,证实 leptin 参与了脂肪沉积的调节,当体内脂肪含量增高时,脂肪细胞产生的 leptin 作用于大脑,使之产生负反馈调节作用,停止摄食和提高代谢水平;反之,脂肪含量下降时,leptin 浓度下降,给大脑信号以增强摄食和降低代谢水平,并以此来调节体重。用 leptin 处理动物的试验结果表明,低剂量 leptin 即可降低采食量,减轻体重,减少脂肪沉积,加快能量代谢<sup>[19]</sup>,leptin 处理也可用于减少啮齿动物的脂肪含量<sup>[20]</sup>。在 leptin 处理结束后的几个星期,由于 leptin 不能继续发挥作用,所以与 leptin 处理过程中体重和脂肪损失不同。

### 2.3 leptin 对体脂肪代谢的调节作用

#### 2.3.1 leptin 介导的脂肪代谢神经调节作用

早期研究认为,肥胖是由于体内能量吸收与热量消耗不平衡而引起的体内脂肪过量沉积所致<sup>[21-24]</sup>。而调节能量吸收与热量消耗的中枢是下丘脑的腹侧正中核(VMH),VMH 损害会引起食物摄入增加和能量消耗降低,从而导致肥胖。后来发现,室旁核(PVN)损害也可导致肥胖,人类下丘脑损害时也可引起下丘脑性肥胖。所以,认为下丘脑可能是调节机体能量平衡的神经中枢。研究发现,leptin 在下丘脑和脂肪细胞的联系中扮演重要角色。脂肪细胞产生 leptin 后,分泌的 leptin 进入血液。在大脑,通过与脉络膜上的 leptin 受体结合而被转运至脑脊液中,在脑脊液中的 leptin 与下丘脑 leptin 受体结合,通过下丘脑 leptin 受体的信

号传导作用,引起下丘脑与能量代谢有关的一系列变化。如神经肽 Y(NPY)的变化,导致食物摄入减少,能量消耗增加。NPY 由下丘脑弓状核神经元产生,是目前所知的最强的食物摄入诱导剂之一。leptin 可减少 NPY 的表达,并使其分泌减少。除 NPY 外,研究者在刺鼠的变异小鼠中发现 MC 受体激动剂与肥胖存在一定的关系。Agouti 蛋白可拮抗某些促黑素皮质素(MC)的受体家族,包括毛囊中的 MC。若将 MC 剔除,则可导致小鼠摄食增加,若用 MC 受体激动剂(如 MSH)则会呈现摄食减少的表现。由此推测黑色素、皮质素也是调节体重的重要因子。leptin 调节能量代谢与体重的神经机制主要由两部分构成,一是促黑皮质素(主要是 MC)受体系统,在高 leptin 水平时 MC 受体系统发挥作用,通过 MC 受体系统抑制摄食<sup>[26]</sup>;二是 NPY 递质系统,主要在低 leptin 水平时发挥作用,通过 NPY 促进摄食。这两个信号系统在中枢神经系统协调控制摄食过程。

### 2.3.2 leptin 介导的激素调节作用

随着研究进一步深入,发现 leptin 对脂肪代谢调节还存在另外一条通路,即通过体内调节能量代谢的神经内分泌通道发挥其作用。leptin 作为调节因子在下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴上对具有同化作用的糖皮质激素发挥双向调节作用<sup>[26,27]</sup>,协调作用于体内的脂肪代谢。胰腺的 B 细胞也是 leptin 的靶器官之一,将肝细胞暴露于 leptin 中,发现几种胰岛素诱导物活性下降,leptin 通过激活磷酸二酯酶抑制胰岛素的分泌,而血中胰岛素水平升高,促进 leptin 分泌,增加交感神经系统的活性,使外周去甲肾上腺素的释放增加,后者激活脂肪细胞膜上 Nad(去甲肾上腺素)受体,使脂肪细胞内解偶联蛋白(UCP)增加,于是大量储存的能量转变为热能释出。由此可见,leptin 与胰岛素之间存在相互调节的关系。leptin 也可通过抑制乙酰 CoA 羧酶的合成,干扰脂肪合成代谢<sup>[28]</sup>,即在无中枢神经系统参与下,leptin 可直接参与脂肪代谢的调节。leptin 可促进脂肪细胞的成熟,其作用是促进脂肪前体细胞向脂肪细胞的转变,即促进脂肪细胞的成熟,从而导致肥胖。leptin 也可选择性地增加棕色和白色脂肪的产热酶和脂解酶<sup>[29]</sup>,如非偶联蛋白 1 和 2、脂蛋白脂酶、激素敏感脂酶,而脂肪酸合成酶、内源性 leptin 和细胞色素 c 氧化酶的 mRNA 表达减少,导致脂肪迅速分解。机体静脉内注入 leptin 可通过促进一

氧化氮(NO)的合成实现对脂肪,如皮下和网膜脂肪组织的溶解作用,从而减轻体重。

### 3 leptin 的作用机理

leptin 作为神经内分泌激素,主要通过靶细胞膜上的受体及相应的信号传导系统实现其生物学功能。目前的研究表明,leptin 既可通过中枢神经,又可通过外周神经作用来降低食欲,减少能量的摄取或提高代谢率,增加能量的消耗,抑制脂肪的合成,从而减少脂肪的沉积。在饥饿状况下,NPY 神经元被激发,大部分是由于 NPY 的激发降低了用来抑制 NPY 激发的 leptin 水平;反之,leptin 则抑制 NPY 的激发。因此,在脑和神经下行作用时,NPY 是 leptin 作用的主要目标。当用 leptin 处理 Ob/Ob(含 Ob 纯合子基因)鼠时,降低 Ob/Ob 鼠的 NPY 水平,引起采食量迅速降低,产热增加以及在体重降低之前的糖尿病及胰岛素血症将得以改善。当 leptin 不起中枢作用时,NPY 水平不断提高,采食量增加,脂肪细胞合成加快<sup>[30]</sup>,因此出现肥胖;当下丘脑 NPY 和 leptin 共同作用时,体重表现出自身的稳定性。另外,有研究发现,NPY 遗传缺失的小鼠仍能维持正常体重,这就暗示了 leptin 还有可能通过其它一些因子和途径来调节体重。最近发现黑色素-4 受体(MC-4)和它的配体促黑激素(MSH: Melanocyte-stimulating Hormone)在黄色 Agouti 小鼠的肥胖发生机理中具有重要作用。Agouti 小鼠虽然不象 Ob/Ob 小鼠那样肥胖,但它的体重仍是正常鼠的 2 倍<sup>[31]</sup>。Agouti 基因的克隆研究表明,其基因产物在含有该基因的小鼠中过度表达。当 Agouti 产物在皮肤中过度表达时,它抑制 MSH 对 MC-1 受体的效应,使黑色素不能生成而产生黄色皮肤<sup>[32]</sup>。因此推测 Agouti 蛋白还有可能抑制 MSH 对在下丘脑表达的 MC-4 受体的效应<sup>[33]</sup>。这些研究结果表明,虽然 NPY 和 MSH 在调控系统中起不同作用,而且 NPY 和 MSH 在大脑不同区域表达,但它们之间存在着广泛的联系和相互作用。

### 4 leptin 在畜牧业上的应用前景

目前,国内外对 leptin 的生物学功能、基因表达调控研究已经较为详尽。从目前国内外有关报道来看,主要集中在 leptin 对母畜繁殖性能以及控制人的肥胖方面的研究。而 leptin 对繁殖性能的影响也是通过调节母畜体脂肪沉积来实现的。因此可知,leptin 的主要生理功能就是调节能量代谢。leptin 对家畜脂肪组织和神经内分泌有显著的调控作用,通过采食量和

家畜能量平衡的调节可促进家畜的生长、繁殖、泌乳和体况。因此,leptin 可被称为动物真正的“代谢修饰因子”。了解 leptin 调节脂肪、采食量、能量代谢的内在机制对研究新的营养重新分配,提高畜禽胴体品质,改善动物生长性能及保护动物健康方面极具应用价值和经济价值。另外,在家畜的遗传育种中,可针对 leptin 基因进行 mRNA 限制性片段长度多态性(RFLP)的选择,从而提高畜牧业生产水平。

#### 参考文献

- 1 茹娟,李宁,吴常信.猪肥胖基因 cDNA 的克隆与分析[J].遗传学报,2000,27(4):290-293
- 2 戴茹娟,李宁,吴常信.猪肥胖基因(Ob)部分序列的克隆与多态性分析[J].遗传,1997,19:29-33
- 3 Zhang Y, Proenca R, Maffei M, et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue [J]. Nature, 1994,372:425-432
- 4 Tartaglia LA, Dembski M,Weng X,et al. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R[J]. Cell, 1995,83:1 263-1 271
- 5 Banks WA, Kastin AJ, Huang W, et al. leptin enters the brain by a saturable system independent of insulin [J]. Peptides, 1996,17:305-311
- 6 Masuzaki H, Ogawa Y, Isse N, et al. Human obese gene expression. Adipocyt -e specific expression and regional differences in the adipose tissue[J]. Diabetes,1995,44:855-858
- 7 Senaris R, Garcia-Caballero T, Casabiell X, et al. Synthesis of leptin in human placenta[J]. Endocrinology,1997,138:4 501-4 504
- 8 单安山,徐奇友.动物脂肪代谢与调控 [J].东北农业大学学报,2004,35(6):216-221
- 9 何静,王平芳.脂肪细胞分化的分子机制研究进展[J].国外医学生理、病理科学与临床分册,2004,24(5):442-446
- 10 吴玲,王敏,占秀安.脂肪沉积的分子调控机制[J].中国饲料,2006(12):15-17
- 11 Satoh N,Ogawa Y,Katsuura G,et al.The arcuate nucleus as a primary site of satiety effect of leptin in rats[J].Neurosci.Lett.,1997,224:149-152
- 12 Pellemounter MA, Cullen MJ, Baker MB, et al. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice [J]. Science,1995,269:540-543
- 13 Halaas JL,Gajiwala KS,Maffei M,et al.Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene[J].Science,1995,269:543-546
- 14 王舒然,麻微微,牛玉存,等.铬、鱼油对肥胖模型大鼠瘦素和胰岛素的影晌[J].卫生研究,2006,35(1):43-45
- 15 Niki T, Mori H, Taori Y, et al. Human obese gene. Molecular screening in Japanese and Asian Indian NIDDM patients associated with obesity[J]. Diabetes,1996,45:657-678
- 16 Considine RV,Considine EL,Williams CJ, et al. Mutation screening and identification of a sequence variation in the human OB gene coding region[J]. Biochem. Biophys. Res. Commun., 1996, 220:735-739
- 17 牛淑玲,张才,王哲,等.外源性牛重组瘦蛋白(leptin)对初生小牛脂肪细胞形态及甘油三酯含量的影响 [J].中国兽医学报,2005,25(3):295-297
- 18 Lee GH, Proenca R, Montez JM, et al. Abnormal splicing of the leptin receptor on diabetic mice[J]. Nature,1996,379:632-635
- 19 Iida M,Murakami T,Ishida K,et al. Phenotype-linked amino acid alteration in leptin receptor cDNA from Zucker fatty (fa/fa) rat [J]. Biochim. Biophys. Res. Commun.,1996,222:19-26
- 20 Considine RV, Sinha Mk, Heiman ML, et al. Serum immunoreactive leptin concentrations in normal-weight and obese humans. N. Engl. J. Med.,1996,334:292-295
- 21 Maffei M,Halaas J,Rayussin E,et al.leptin levels in human and rodent:measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects[J]. N-ature Med.,1995(1):1 155-1 161
- 22 Clement K,Vaisse C,Lahlou N,et al.A mutation in the human leptin receptor gene cause obesity and pituitary dysfunction [J]. Nature, 1998,392:398-401
- 23 Hirose H, Saito I, Tsujioka M, et al. The obese gene product,leptin: possible role in obesity-related hypertension in adolescents [J]. J Hypertens,1998,16:2 007-2 012
- 24 William GH,Donald AM, Morgan SA,et al.Receptor-mediated regional sympathetic nerve activation by leptin [J]. J Clin Invest, 1997,100:270-278
- 25 Jackson EK,Li P.Human leptin may function as a diuretic/natriuretic hormone[J]. Hypertension, 1996, 28:517-521
- 26 Sierra-Honigmann MR,Nath AK,Murakami C,et al.Biological action of leptin as an angiogenic factor[J]. Science,1998,281:1 683-1 686
- 27 Gema Friihbeck.Pivotal role of nitric oxide in the control of blood pressure after leptin administration[J]. Diabetes,1999,48:903-908
- 28 Lembo G,Vecchione C,Fratta L,et al.leptin induce nitric oxide-mediated Vasor elaxation in aortic rings of WKY rats (Abstract)[J]. Hypertension,1998,32:599-602
- 29 Eugene WS, Michael WB, John EH.Chronic leptin infusion increase arterial pressure[J]. Hypertension, 1998, 31:409-414
- 30 Wellens D,Wouters L,Nijkamp FP,et al.Distribution of the blood flow supplied by the vertebral arterial in rats:anatomical,functional and pharmacological aspects[J]. Experimentia,1976,32:85-87
- 31 Dunber JG, Hu Y, Lu H, et al. Intracerebroventricular leptin increase lumbar and renal sympathetic nerve activity and blood pressure in normal rats[J]. Diabetes, 1997, 46:2 040-2 043
- 32 Zhang Y, Proenca R, Maffei M, et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue [J].Nature,1994,372:425-432
- 33 Saladan R, de vos p, Guerremillo M. Transient increase in obese gene expression after food intake or insulin administration [J]. Nature,1995, 377: 527-529

(编辑:高雁,snowyan78@tom.com)

# 芽孢杆菌的作用机理及其在断奶仔猪日粮中的应用研究

张秀文 齐遵利 刘艳琴

随着生物技术的发展,益生菌在生活和生产中的作用越来越重要。从应用范围讲,在药品、食品、饲料、饮料、肥料、生物、纺织以及环境处理等方面无处不用,而且都具有良好的经济效益。1999年,我国农业部公布了可以直接饲喂动物的12种饲料级微生物添加剂菌种:干酪乳杆菌、植物乳杆菌、嗜酸性乳杆菌、粪链球菌、乳链球菌、枯草芽孢杆菌、纳豆芽孢杆菌、乳酸片球菌、啤酒酵母、产朊假丝酵母、沼泽红假单胞菌、曲霉。目前,国内外市场上的益生菌主要以芽孢杆菌、乳酸菌及酵母菌为主。生产上益生菌的使用形式有两种:一种为单一菌属组成的单一型制剂;另一种为多种不同菌属组成的复合菌制剂。

乳酸杆菌和链球菌对维持肠道微生物菌群的平衡具有重要作用,早期人们主要使用乳酸杆菌和链球菌属作为调节和维持肠道平衡的益生菌。然而这些微生物较不稳定,不能耐受饲料加工,也不宜长期存放。而芽孢杆菌属以孢子形式存在,芽孢的耐受性较强,可以耐受饲料加工、储藏和胃的酸性环境,可以在肠道萌发成为具有新陈代谢作用的营养细胞。因而针对芽孢杆菌的研究逐渐增多。

## 1 芽孢杆菌的概况

芽孢杆菌属于芽孢杆菌科、芽孢杆菌属,模式种为枯草芽孢杆菌,是可形成内生孢子——芽孢的革兰氏阳性杆菌,需氧或兼性需氧,具有鞭毛。芽孢杆菌广泛分布于土壤、空气、水和动物肠道中,其稳定性强,芽孢一旦形成,便能耐受各种不利条件,如干热(150℃干热1h仍有芽孢存活)、湿热、紫外线、强酸、强碱、有机溶剂、极度干燥、真空干燥、氧化剂的氧化作用等。

在一定条件下,芽孢能够长时间保存,可以保证益生菌制品的有效期。

所有菌属中芽孢杆菌是最理想的微生物添加剂。大量试验证明,芽孢杆菌添加剂具有类似于泰乐菌素的效果,可明显改善机体内菌群组成和具有促生长的功效,并且芽孢杆菌在颗粒料、粉料的加工过程中以及酸性环境中具有较高稳定性,在肠道内环境中能发挥作用而增殖,符合微生物添加剂的条件。

芽孢杆菌在肠道酸性环境中具有高度的稳定性,能分泌较强活性的蛋白酶及淀粉酶,促进饲料营养物质的消化。芽孢杆菌可以减少粪和消化道中的大肠埃希氏菌数量。目前使用的菌株有枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)、蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)、东洋芽孢杆菌(*Bacillus toyoi*)等。

## 2 芽孢杆菌的作用机理

### 2.1 拮抗病原微生物,维持和调节微生态平衡

有研究表明,动物肠道内寄居的微生物主要为厌氧菌。通常情况下,肠道内有益菌和致病菌保持一定比例,当条件发生改变时,这种平衡失调,致病菌大量繁殖,从而导致动物体患病。当需氧型益生菌进入消化道后,生长繁殖消耗肠道内的大量氧气,通过“生物夺氧”使需氧型致病菌数量大幅度下降,因而起到防止动物患病的作用。田允波等(1999)指出,一般情况下,猪、鸡肠道内优势种群为厌氧菌,占99%以上,而需氧菌和兼性厌氧菌只占1%。以益生菌形式添加好氧菌特别是芽孢杆菌能特异性地增殖某些好氧菌,它们在繁殖过程中消耗肠道内的氧气,造成局部厌氧环境,促进有益厌氧菌的生长,同时抑制需氧和兼性厌氧病原菌的生长,从而把失调菌群恢复到正常状态。

研究还发现,益生菌能够有秩序地定植于粘膜、皮肤等表面或细胞之间形成生物屏障,这些屏障可以阻止病原微生物的定植,起着占位、争夺营养、互利共生或拮抗作用,形成保护屏障,阻止病原菌的侵入,从而对致病菌的定植产生抑制作用。淳泽等(1994)通过体外生物试验表明,芽孢杆菌对致病性猪大肠杆菌、

张秀文,河北农业大学海洋学院,066003,秦皇岛市海港区河北大街东段52号。

齐遵利,单位及通讯地址同第一作者。

刘艳琴,河北农业大学动物科技学院。

收稿日期:2007-08-16

猪霍乱沙门氏菌、鸡大肠杆菌、鸡白痢沙门氏菌有拮抗作用。

## 2.2 产生有益代谢产物

益生菌在动物消化道内可产生水解酶、发酵酶和呼吸酶等多种消化酶,有利于降解饲料中蛋白质、脂肪和复杂的碳水化合物,促进动物的消化吸收,从而提高饲料转化率。Sogarrd(1990)报道,枯草芽孢杆菌和地衣芽孢杆菌具有较强的蛋白酶、淀粉酶活性,同时还能降解木聚糖、地衣聚糖、果胶、羧甲基纤维素、多聚半乳糖醛酸以及其它一些复杂的植物性碳水化合物。邝哲师等(2005)报道,在断奶仔猪基础日粮中添加0.1%芽孢杆菌制剂饲养2周后,添加芽孢杆菌制剂的试验组比对照组胃蛋白酶活性提高58.68%,胰淀粉酶活性提高24.05%,回肠内蛋白酶和淀粉酶活性分别提高61.0%和20.30%,差异均显著( $P<0.05$ )。

芽孢杆菌在肠道内生长繁殖过程中,能产生乳酸或蛋白多肽类拮抗物质,一方面可降低肠道pH值,抑制有害微生物繁殖;另一方面,有助于动物(特别是幼小动物)对营养物质的消化,尤其是对蛋白质的消化吸收。

## 2.3 增强动物免疫能力

仔猪肠道感染时,肠道的正常微生物调动肠壁固有层的免疫细胞通过免疫反应形成机体的第二道防线。肠道细菌和其它抗原进入机体的主要通道是通过M细胞的传递,M细胞将抗原传递给抗原递呈细胞(位于肠上皮细胞内的巨噬细胞和B细胞),抗原递呈细胞将抗原递呈给邻近的T细胞,引起反应性T细胞的增殖。T细胞被激活的同时,B细胞也被激活,通过外周游离肠道固有层,开始分泌特异性的抗体。分泌型IgA由固有层的B细胞分泌到肠腔,将病原菌包裹起来,防止其粘附和促进肠道将病原菌排出体外。在仔猪出生后的第1周主要依靠母乳的抗体和非免疫因子来保护。

益生菌可以成为非特异性免疫调节因子,通过细菌本身或细胞壁成分刺激动物的免疫细胞,使其激活,增强吞噬细胞的吞噬能力和B淋巴细胞产生抗体的能力,刺激动物产生干扰素,从而增强抗病能力。芽孢杆菌能促进肠道相关淋巴组织的免疫功能,使之处于高度反应的“准备状态”,同时使免疫器官的发育增快,免疫系统的成熟度快而早,T、B淋巴细胞的数量增多,使动物的体液和细胞免疫水平提高,增强机体

抗病能力。Fuller(1989)指出,直接饲喂活的微生物可刺激动物免疫器官发育,提高动物抗体水平或巨噬细胞活性,增强机体免疫功能。

潘康成等(1996)研究认为,地衣芽孢杆菌的免疫促进作用是机体经口服芽孢杆菌后,在肠道淋巴组织集合的抗原结合位点上直接作为免疫佐剂,或者通过调整宿主体内的微生物群,尤其是双歧杆菌群起主导,间接地发挥免疫佐剂的作用,提高机体局部或全身防御功能。

## 3 芽孢杆菌在断奶仔猪日粮中的应用

益生菌制剂应用于动物生产上已有几十年历史。人们最早研究和使用的历史可以追溯到1947年,Mollgaard首次使用乳酸杆菌饲喂仔猪,结果显示,乳酸杆菌可有效增加仔猪体重和提高健康状况。我国益生菌的应用研究开始于20世纪80年代,何明清教授用由大肠杆菌SY-30菌株制成的制剂防治仔猪腹泻。总体来说,在饲料日粮中加入益生菌可提高动物生长速度、改善饲料利用率、减少疾病、改善产品品质、提高动物免疫力。

林小伟等(1994)用芽孢杆菌复合菌剂饲喂哺乳仔猪发现,芽孢杆菌有助于仔猪建立正常的微生物菌群,排除或控制潜在的病原体,促进仔猪消化功能和免疫功能的加强与完善,从而促进生长,提高饲料利用率,但对仔猪抗病力无明显的增强作用。陈旭东等(2003)研究发现,蜡样芽孢杆菌能产生细菌素并可以拮抗致病菌;用0.2%的芽孢杆菌饲喂35日龄仔猪,日增重显著提高( $P<0.01$ ),料重比和腹泻率显著降低( $P<0.05$ )。霍军等(2004)通过在生长肥育猪饲料中添加凝结芽孢杆菌制剂与抗生素对比研究表明,饲料中添加100 mg/kg凝结芽孢杆菌制剂可显著提高平均日增重,降低饲料成本和沙门氏菌阳性率,饲养效果与添加100 mg/kg抗生素没有显著差异。

但也有一些其它报道表明,芽孢杆菌没有明显作用。虞泽鹏(2002)试验研究表明,在断奶仔猪日粮中添加0.4%益生菌对仔猪体重无显著影响,日增重和料重比无明显改善,但有降低仔猪腹泻、改善胃肠功能的趋势。

## 4 影响芽孢杆菌制剂使用效果的因素

在饲料中添加芽孢杆菌等益生菌制剂的目的是提高畜禽生产性能,增加畜产品产出量,降低饲养成本,提高产品品质,主要表现在提高仔猪成活率、降低

死亡率、减少下痢、提高采食量和日增重、提高饲料转化率、减少发病率、改善环境质量等方面。但也正如其它饲料添加剂(如抗生素、饲用酶制剂、酸化剂)一样,芽孢杆菌制剂的使用效果也受到诸多因素的影响。

#### 4.1 使用时段

当仔猪微生物菌群状况良好时,益生菌对肠道变化和生产性能的影响可能较小,有试验结果表明,在出生前期、食物改变、应激时使用微生态制剂会取得理想效果。乔宏宇等(1994)在研究复合活菌制剂对仔猪生产性能影响的研究中发现,动物处于应激期是使用复合活菌制剂发挥作用最好的前提条件。一般在动物出生、断奶、转群3个关键时期,在仔猪日粮中添加微生态制剂效果较好。断奶仔猪从吃奶到采食植物性饲料的改变过程中,常会发生严重的消化问题,此时适时地添加益生菌对防止腹泻、提高日增重能起到理想的效果。

#### 4.2 添加量

为了保证有益菌能够发挥作用,适宜的添加量是重要的。添加量不足不能达到预期效果,但添加过量反而会使增重和饲料转化率变差,造成饲料成本上升。因为微生物本身的繁殖也需要消耗能量,过多的微生物会同动物本身微生物争夺营养物质。

#### 4.3 日粮营养水平

日粮蛋白质和限制性氨基酸的平衡程度影响着益生菌的使用效果,在低蛋白质或氨基酸不平衡的日粮中添加更为有效。Newman(1988)报道,在低蛋白质且未添加赖氨酸的日粮中添加益生菌,生长猪的平均日增重和饲料效率分别提高14%和7%,但在蛋白质和赖氨酸都满足的平衡日粮中添加,上述两项指标反而不如对照组。

#### 4.4 抗生素

各种抗生素对各类益生菌的抑制作用不一,若是益生菌与有强烈抑制作用的抗生素同时使用,可能会影响其效果。因此,在使用前需了解各种抗生素与所用益生菌之间的关系。有时两者同时使用也会产生协同作用,现在大多数研究认为两者可以在一定程度上联合使用,即先用抗生素处理肠道,杀灭有害微生物,再添加益生菌补充肠道有益微生物的数量。

#### 4.5 环境卫生

若供试畜禽饲养环境卫生条件极差致使动物肠道中栖居有高浓度的微生物,有益菌不能轻易竞争取

代这些微生物,则作用效果可能较差或需加大提高有益菌的添加量。卫生状况好的动物使用效果会好些。但在卫生条件差的动物肠道中,一旦有益菌竞争定居并繁殖,其效果会更显著。

### 5 芽孢杆菌的应用前景

为了保证食品卫生安全,发展绿色畜牧业,将会禁止使用抗生素作为饲料添加剂,抗生素替代物的研究应用已是必然趋势。因此必需开发无毒副作用、无残留、无耐药性、不污染环境的抗生素添加剂替代用品,由于芽孢杆菌制剂全面具备这些性能,而且在使用过程中具有很高的稳定性,可在饲料中直接添加,方便实用。因此越来越受到专家学者和生产经营者的重视,应用前景十分广阔。

#### 参考文献

- Fuller R J. Probiotics in man and animals[J]. Appl. Bacteriol., 1989, 66:365-378
- 何明清.我国动物微生态制剂的起源、发展战略及应用前景[J].中国微生物学杂志, 2001(3):166-167
- 田允波,葛长荣,张曦,等.益生菌的研究和应用现状[J].兽药与饲料添加剂, 1999, 4(3):36-39
- 淳泽,何明清.芽孢杆菌对肠道致病菌体外生物拮抗作用的研究[J].四川农业大学学报, 1994, 12:627-634
- Sogarrd H. Microbials for feed: Beyond lactic acid bacteria. Feed[J]. International. Nov., 1990, 4:22-37
- 邝哲师,田兴山,张玲华,等.芽孢杆菌制剂对断奶仔猪体内消化酶活性的影响[J].中国畜牧兽医, 2005, 32(6):17-18
- 李桂杰,张钧利,徐海燕.益生菌对肉用仔鸡生产性能和肠道微生物的影响[J].饲料博览, 2000(1):43-44
- 潘康成,吕道俊,何明清.正常菌群对动物免疫功能的影响研究进展[J].饲料工业, 1996, 20(9):24-26
- 林小伟,何志刚.不同芽孢杆菌复合菌剂饲喂哺乳仔猪效果比较[J].四川农业大学学报, 1994, 12(增刊):27-28
- 陈旭东,马秋刚,计成.芽孢杆菌和果寡糖对断奶仔猪肠道菌群的影响[J].中国饲料, 2003(18):11-13
- 霍军,程会昌,宋予震.抗生素与芽孢杆菌制剂对猪生产性能影响的比较研究[J].现代畜牧兽医, 2004(11):19-20
- 陈旭东,马秋刚,胥传来,等.芽孢杆菌和寡糖在仔猪营养中的应用[J].农产品市场周刊, 2004(2):36-39
- 虞泽鹏,谢启轮,唐举,等.益生菌对断奶仔猪生产性能的影响[J].河北畜牧兽医, 2002, 18(5):17-18
- 乔宏宇,郎仲武,董克苏,等.接续产酸型活菌制剂对仔猪生产性能的影响及机理初探[J].吉林农业大学学报, 1994, 16(2):74-80
- 梁明振,梁贤成,林空东,等.动物微生态制剂的研究进展[J].粮食与饲料工业, 2003(1):28-30

(编辑:徐世良, [fi-xu@163.com](mailto:fi-xu@163.com))

# 动物尿液中莱克多巴胺检测方法的研究探讨

丁美方 邓程君 王有月

**摘要** DB33/T539—2005方法是目前检测动物尿液中莱克多巴胺的有效方法,但也存在一些不足之处,对此方法的前处理过程和色谱条件等方面进行改进后,用气相色谱-质谱法(GC-MS)对猪尿液中莱克多巴胺进行检测,回收率可大大提高,重复性也很稳定。且改进后的方法操作简便,灵敏度高。

**关键词** 莱克多巴胺;气相色谱-质谱法;方法改进;回收率;重复性

**中图分类号** S816.17

莱克多巴胺是苯乙醇胺类β<sub>2</sub>-肾上腺素兴奋剂,如果给动物饲用含莱克多巴胺的饲料,会造成肌肉及组织中不同程度的残留,通过食物链进入人体,使消费者出现不同程度的中毒现象。为保障人民的身体健康和生命安全,保障畜牧业的健康持续发展,我国已经明确将其列入禁用药品目录。对于动物尿样中的莱克多巴胺的检测,目前国内采用DB33/T539—2005方法。但此方法存在一些不足之处,本试验按照改进后的DB33/T539—2005方法对尿样进行前处理,气质联用测定,发现效果良好。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要仪器

TRACEDSQ-GC气相色谱-质谱仪,配有自动进样、ChemStation工作站,由美国菲尼根(Finnigan)公司提供;ALC pk121R高速冷冻离心机;MS2 minishaker漩涡混合器;德国沙多利斯BT224电子天平;Organmatic氮吹仪;Waters 20孔固相萃取装置。

### 1.2 主要材料与试剂

莱克多巴胺,含量96.0%,由Dr.Ehrenstorfer GmbH Germany公司生产;BSTFA(双三甲基硅基三氟乙酰胺)+TMCS(三甲基氯硅烷),由美国SUPELCO公司提供;甲苯,色谱纯,由美国TED IA公司提供;试验用水为milliQ超纯水;其它试剂均为分析纯。固相萃取柱由硅藻土和硅胶柱(SLH)组成,规格为500 mg/5 ml,由杭州富裕科技服务有限公司提供。

### 1.3 标准溶液的配制

准确称取50 mg莱克多巴胺对照品置于10 ml容量瓶中,用甲醇溶解后定容,摇匀,为对照品储备液(5 mg/ml),置于-20℃冰箱中保存。使用时用甲醇溶液

稀释至所需浓度即可。

## 1.4 仪器条件

### 1.4.1 色谱条件

色谱柱为HP25 MS 5%苯基甲基聚硅氧烷石英毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm)。升温程序:150℃保持3 min,以25℃/min升温至230℃保持5 min,再以25℃/min上升到280℃保持5 min。进样口温度300℃;载气(高纯氮)流速1.0 ml/min;不分流进样,进样量1 μl。

### 1.4.2 质谱条件

电子轰击(EI)离子源、电子倍增器电压为1 506 V、质量扫描范围为30~550 U、离子源温度230℃、接口温度280℃、溶剂延迟时间5 min,采用选择离子监测(SIM)模式进行检测,选择离子为m/z 179、250、267、502。

## 1.5 样品处理

### 1.5.1 提取

量取尿液试样10.0 ml至50 ml离心管中,用1 mol/l NaOH溶液调节pH值为10,加1 g氯化钠,振荡数秒,加10 ml叔丁基甲醚提取,中速振荡10 min,7 000 r/min离心5 min,取上清液;重复提取1次,氮气吹干。

### 1.5.2 净化

用2 ml乙酸乙酯溶解试管中的残余物,过固相萃取柱(先经5 ml甲醇和5 ml乙酸乙酯润洗);另取3 ml 30%的甲醇-乙酸乙酯洗涤试管中的残余物1次,过柱;再用5 ml 50%甲醇-乙酸乙酯洗脱,氮气吹干。

### 1.5.3 衍生和测定

蒸发剩余物加0.1 ml BSTFA+TMCS,加瓶盖于漩涡混合器上涡旋1 min,在80℃的烘箱中加热1 h,氮气吹干,加0.2 ml甲苯溶解,上机。取适量的莱克多巴胺标准工作溶液,氮气吹干,与试样同法进行衍生化。

### 1.5.4 计算

$$X(\text{ng/ml}) = \frac{P_i \times C_s \times V_s}{P_s \times V_i}$$

式中: X——样品中莱克多巴胺含量(ng/ml);

$P_i$ ——试液溶液的峰面积相应值;

丁美方,北京市饲料监察所,100107,北京市朝阳区安外北苑路甲15号。

邓程君、王有月,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-07-30

$P_s$ ——标液的峰面积相应值;

$C_s$ ——质谱测定对应莱克多巴胺浓度(ng/ml);

$V_f$ ——样品体积(ml);

$V_s$ ——定容体积(ml)。

## 2 结果与讨论

### 2.1 质谱定性、定量分析

由于莱克多巴胺是沸点较高的极性物质,且含有羟基结构,直接采用气相色谱法进行分离较为困难。为了改善其气相色谱性质,在进行仪器检测前必须对样品进行衍生化。莱克多巴胺经 BSTFA+TMCS 衍生化后,所含 3 个羟基上的氢均被三甲基硅烷所取代,此时的色谱形状良好,其质谱图见图 1。由图 1 可知,莱克多巴胺的衍生物在  $m/z$  250、267、179、502 有特征离子,这些碎片离子的比例关系可用于莱克多巴胺的定性分析。定量离子采用  $m/z$  250,因为此特征离子既有一定的丰度,并且受杂质干扰较少。

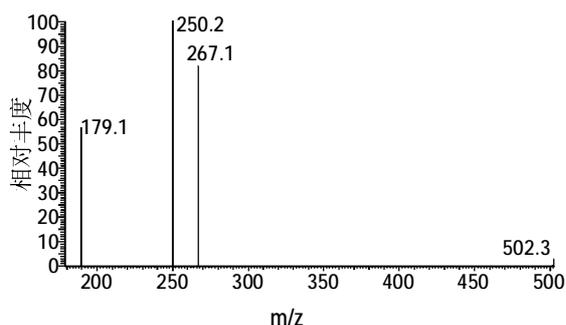


图 1 莱克多巴胺的质谱图

### 2.2 前处理过程改进后的评价

原方法前处理过程中用无水硫酸钠过滤后收集到鸡心瓶中,然后旋转蒸干,这两步都极易造成损失,影响检测结果。

我们经过多次试验得出:提取过程不经无水硫酸钠过滤,加叔丁基甲醚后直接收集到 5 ml 试管中;也不用旋转蒸发仪蒸干,而改用氮气吹干,但要控制其流速,避免将样品吹飞。这样避免了原方法中由于鸡心瓶的面积过大,用 2 ml 乙酸乙酯溶解,不能全部溶解而造成的损失,以及经过无水硫酸钠过滤造成的损失。

### 2.3 方法改进后的回收率、重复性分析

在 2.2 提到的对前处理的改进大大提高了回收率,同一份猪尿每个浓度取 4 份平行样品,在 1.4 中的条件下对添加了 20 ng/ml 和 40 ng/ml 莱克多巴胺的猪尿进行回收率测定试验。

运用原方法测定的结果计算回收率和相对标准偏差见表 1。由表 1 可以看出,原方法重复性、回收率都偏低。

表 1 原方法测定猪尿中莱克多巴胺不同添加量的重复性和回收率

项目	回收率(%)				平均回收率(%)	RSD(%)
	1	2	3	4		
20 ng/ml	63.4	58.2	51.5	72.4	61.4	8.8
40 ng/ml	71.5	55.9	82.3	70.2	70.0	10.8

运用改进后的方法测定的结果计算回收率和相对标准偏差见表 2。由表 2 可以看出,改进后的方法重复性稳定,回收率也大大提高。

表 2 方法改进后测定猪尿中莱克多巴胺不同添加量的重复性和回收率

项目	回收率(%)				平均回收率(%)	RSD(%)
	1	2	3	4		
20 ng/ml	84.3	82.8	86.5	82.4	84.0	2.2
40 ng/ml	93.5	90.6	91.8	101.2	94.3	5.0

### 2.4 色谱条件的改变以及条件改变后峰形对称性的比较分析

原方法色谱柱的升温程序,第一阶升温速率慢,用时长;反之,第二阶升温速率快,导致基线整体向上漂移,使柱相出峰过于集中而且靠后,峰间彼此分离效果变差,而待测物的峰相恰巧就出现在基线上移的地方,本底过高,峰左右不对称,造成积分不准。

我们经过反复试验得出:将气相的升温程序由原来的 150 °C 保持 3 min,以 10 °C/min 升温至 230 °C 保持 10 min,再以 20 °C/min 上升到 280 °C 保持 10 min。改为:150 °C 保持 3 min,以 25 °C/min 升温至 230 °C 保持 5 min,再以 25 °C/min 上升到 280 °C 保持 5 min。

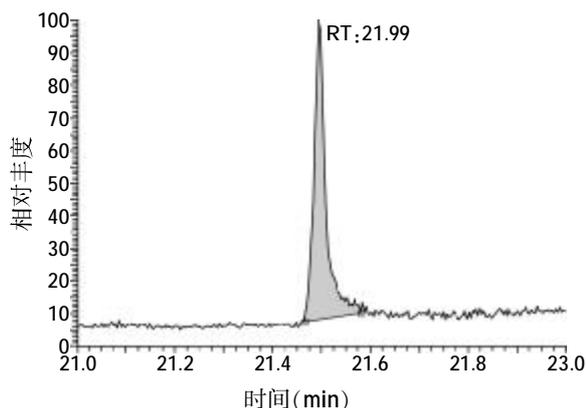


图 2 原方法特征离子扫描图谱

图 2 为采用原方法对 20 ng/ml 添加量的样品,用 4 个特征离子扫描后的离子流图,可以看见基线放大后,本底高度为 60 000 (绝对丰度),样品在 21.99 min 出峰,而恰巧出在基线缓慢上移的地方。

图 3 为同样 20 ng/ml 添加量的样品采用改进后方法的特征离子扫描图谱。从图 3 可以看出,本底高

# 免疫亲和柱净化高效液相色谱法 测定饲料中黄曲霉毒素

姜兆兴 刘振伟 曹旭 王智亮 李智瑾

**摘要** 试验建立了测定饲料中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、G<sub>1</sub>、G<sub>2</sub> 的高效液相色谱法。该方法以甲醇-水 (8+2) 提取, 免疫亲和层析柱净化, 碘液柱后衍生, 荧光检测器进行检测。检测限最低达到 0.5 μg/kg, 线性在 2~50 μg/kg 良好, 平均回收率较高。该方法具有准确度高、精密度好、检测限低、检测快速的特点。

**关键词** 高效液相色谱; 黄曲霉毒素; 荧光检测器

**中图分类号** S816.17

饲料在运输、贮藏过程中若管理不当, 如淋雨、受潮、通气不当、堆压时间过长都容易产生黄曲霉毒素, 动物食用后会对其肝脏产生伤害, 可导致肝功能

下降, 并使动物的免疫力降低。此外, 长期食用含低浓度黄曲霉毒素的饲料也可导致胚胎中毒, 因此, 在大多数国家对黄曲霉毒素无论在食品、农产品以及饲料中被检测出的限量要求普遍较低。按照 GB13078—2001《饲料卫生标准》规定, 玉米及杂粕类原料中黄曲霉毒素的含量不能超过 50 μg/kg, 豆粕中不能超过 30 μg/kg, 成年家畜及肉牛、鹌鹑等饲料中不能超过 20 μg/kg, 年幼的动物对黄曲霉毒素敏感, 其饲料中黄曲霉毒素的含量不能超过 10 μg/kg。

姜兆兴, 赤峰出入境检验检疫局, 024000, 内蒙古赤峰市新城区大明街南支八路东。

刘振伟、曹旭、王智亮、李智瑾, 单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期: 2007-08-18

度为 20 000 (绝对丰度), 出峰时间提前到 15.99 min, 峰的锐度增加, 灵敏度提高, 杂峰出现很少, 干扰小, 这样积分更为准确。

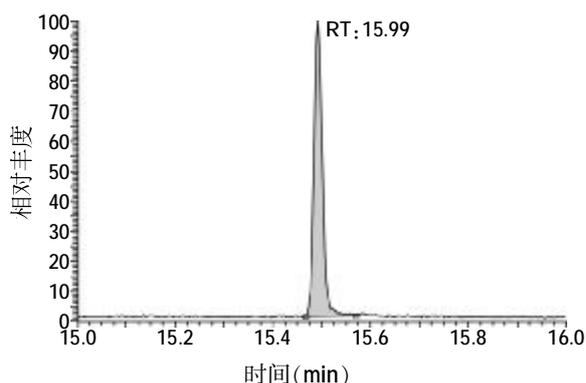


图3 改进后方法特征离子扫描图谱

## 2.5 影响回收率的其它因素的分析

前处理过程中氮气吹干法可操作性差, 氮气流速稍控制不当, 就会把溶液吹到试管外面, 造成损失, 影响检测结果, 所以一定要控制流速, 小心吹干。另外, 净化处理将试样进行洗脱时, 将 5 ml 洗脱液改为 7 ml, 洗脱会更完全, 回收率会更高。

## 3 结论

本试验将改进前后的两种方法进行反复试验和分析, 并对图谱的对称性、重复性以及回收率大小进行了详细比较。结果表明: 改进后的动物尿液中莱克多巴胺残留的检测方法不论是在峰形的对称性上, 还是在稳定性与回收率上, 都较原方法有了一定提高。该方法分析猪尿液中的莱克多巴胺含量, 具有操作简单, 前处理净化效果好, 灵敏度高等优点。为进一步加强饲料安全监控和畜产品安全监控提供了较为可靠的检测依据。

## 参考文献

- 1 Turberg MP, Rodewald JM, Coleman MR. Determination of Ractopamine in Monkey Plasma and Swine Serum by High Performance Liquid Chromatography with Electrochemical Detection [J]. J. Chromatogr B., 1996, 675: 279~285
- 2 魏蔚, 祝伟霞, 杨冀州. 气相色谱-质谱(GC-MS)测定猪尿中莱克多巴胺残留[J]. 监督与选择, 2006(12): 61
- 3 谢孟峡, 刘媛, 蒋敏. 固相萃取-气相色谱-质谱分析肉样中盐酸克伦特罗的残留量[J]. 分析化学, 2002(11): 1 308~1 312
- 4 于洪侠. 莱克多巴胺检测问题探讨[J]. 饲料广角, 2006(15): 27~28
- 5 应永飞, 陆春波, 任玉琴, 等. 气相色谱-质谱法测定猪肉中的莱克多巴胺[J]. 中国兽药杂志, 2006, 40(5): 23~26
- 6 张素霞, 沈建忠, 丁苏阳, 等. 高效液相色谱法测定饲料中莱克多巴胺[J]. 中国饲料, 2005(10): 28~31

(编辑: 高雁, snowyan78@tom.com)

当前饲料中黄曲霉毒素的检测方法主要采用薄层色谱法、微柱法、酶联免疫法、免疫亲和柱法以及荧光光度法等<sup>[1-3]</sup>。随着高效液相色谱应用在我国日益普及,我们尝试选用免疫亲和层析柱净化、高效液相色谱液柱后衍生、荧光检测器进行检测的方法对饲料中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、G<sub>1</sub>、G<sub>2</sub> 进行检测研究。

### 1 测定原理

用甲醇-水提取饲料中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、G<sub>1</sub>、G<sub>2</sub>, 经免疫亲和层析柱净化,洗脱液通过带有荧光检测器的高效液相色谱仪柱后碘液衍生进行测定,外标法峰高定量。

### 2 试剂和材料

甲醇(色谱纯)、乙腈(色谱纯)、氯化钠(分析纯),色谱用水为符合 GB/T6682 规定的一级水。

0.05%碘液:称取 0.1 g 碘,溶于 20 ml 甲醇后,加纯水定容至 200 ml,以 0.45 μm 的尼龙滤膜过滤,4 °C 避光保存。

准确称取适量的黄曲霉毒素标准品(纯度>99%),以苯-乙腈(98+2)溶解于棕色容量瓶中,配成浓度为 10 μg/ml 标准储备液,置 4 °C 冰箱中避光保存。根据需要,用苯-乙腈(98+2)稀释,再配成适当浓度的标准工作液。

### 3 仪器和设备

液相色谱(配荧光检测器)(Agilent 1100)、柱后衍生化系统(Pickering)、小型粉碎机、样筛、均质器、分析天平(感量为 0.000 1 g 和 0.01 g)、15 ml 注射器、针头过滤器(配孔径为 0.45 μm 尼龙滤膜)、Beacon 黄曲霉毒素免疫亲和柱、直径为 11 cm 玻璃纤维滤纸。

### 4 试验方法

#### 4.1 提取

准确称取 50 g 经过粉碎且过 20 目筛的饲料试样,并转移到干净的均质器中,准确加入 100 ml 甲醇-水(8+2)至均质器中高速均质 1 min,用定量滤纸过滤,准确移取 5 ml 滤液并准确加入 20 ml 水混匀,用玻璃纤维滤纸过滤 2 次,备用<sup>[4]</sup>。

#### 4.2 净化

将 2 次用 10 ml 水淋洗过的免疫亲和柱连接于 15 ml 注射器下,准确移取 10 ml 样品滤液注入注射器中,使样品以 1~2 滴/秒的速度通过亲和柱,再以 10 ml 水洗柱 2 次,并使约 2 ml 空气通过柱体。准确加入 1.0 ml 色谱级甲醇洗脱并过 0.45 μm 尼龙滤

膜,流速为 1~2 滴/秒,收集全部洗脱液于玻璃试管中,供检测用<sup>[5]</sup>。

### 4.3 测定

#### 4.3.1 色谱条件

色谱柱为 MYCOTOX™ 黄曲霉毒素分析柱,4.6 mm ID×250 mm(5 μm);柱温 42 °C;流动相为 V<sub>甲醇</sub>:V<sub>乙腈</sub>:V<sub>水</sub>=22:22:56;流速 1.0 ml/min;激发波长 365 nm,发射波长 430 nm;进样量 10 μl;衍生液为 0.05%碘液;衍生液流速 0.3 ml/min;反应管温度为 90 °C<sup>[6]</sup>。

#### 4.3.2 色谱测定

分别向液相色谱仪中注入 10 μl 标准工作液和样液,记录色谱峰高,并与相应的标准峰高进行比较,外标法峰高定量,见图 1。

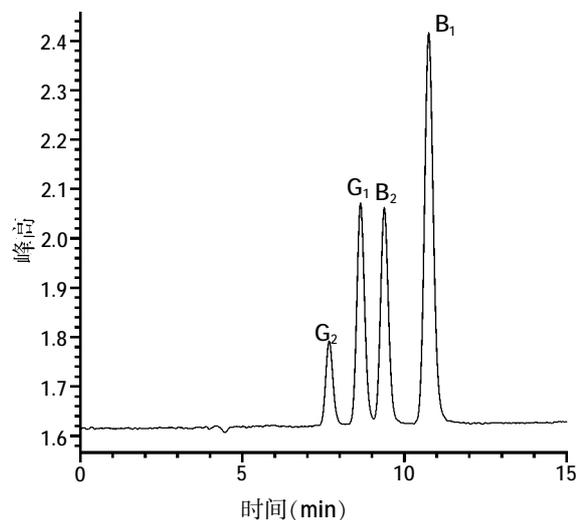


图 1 标准品色谱图

在上述条件下,保留时间(min)为:G<sub>2</sub> 7.68、G<sub>1</sub> 8.64、B<sub>2</sub> 9.38、B<sub>1</sub> 10.75。

### 4.4 结果计算和表述

按下列公式计算:

$$X = \frac{h \cdot c \cdot v}{h_s \cdot m}$$

式中: X——黄曲霉毒素残留量(μg/kg);  
h——样液中黄曲霉毒素的峰高;  
h<sub>s</sub>——标准工作溶液中黄曲霉毒素的峰高;  
c——标准工作溶液中黄曲霉毒素的浓度(ng/ml);  
v——样液最终定容体积(ml);  
m——分取过柱净化的试液中所含试样的量(g)。

### 5 结果与讨论

#### 5.1 净化条件的选择

试验中比较了 Oasis<sup>®</sup>HLB 柱、Supelclean<sup>™</sup> 硅胶小柱以及 Beacon 黄曲霉毒素免疫亲和柱 3 种净化方式,均能够对黄曲霉毒素进行富集和净化,相对而言免疫亲和柱不但可以对黄曲霉毒素有很强的选择性,避免其它非目标检测物质的影响,而且还可以特异性地将黄曲霉毒素和其它真菌毒素分离出来,分离效率和回收率高,正确性和可靠性强。因此,本文采用 Beacon 黄曲霉毒素免疫亲和柱来对饲料样品进行净化。

## 5.2 色谱条件的选择

经过反复试验,黄曲霉毒素在本实验室仪器条件下荧光检测器激发波长 365 nm,发射波长 430 nm 处检测灵敏度相对较高。对于流动相,比较了乙腈-水、甲醇-水、甲醇-乙腈-水等体系,最终采用甲醇-乙腈-

水(体积比为 22:22:56)体系,是因为黄曲霉毒素在此体系下峰形好、分离度高、检测范围内线性良好。对于色谱柱的选择本文比较了 Zorbax SB-C18 柱及 MYCOTOX<sup>™</sup> 黄曲霉毒素分析专用柱,发现均能达到饲料中黄曲霉毒素的检测要求,后者由于是专用柱,其选择性和分离度均好于前者,更利于做低限量的黄曲霉毒素检测。

## 5.3 方法的线性及回收率

向已知不含黄曲霉毒素的饲料试样中分别添加相当于浓度为 2、8、20、50  $\mu\text{g}/\text{kg}$  的黄曲霉毒素标准品,按照试验方法中所述测定步骤进行测定(取 8 次测定结果的平均值)。试验结果见表 1,由表 1 所述结果可以看出本方法回收率较高,线性良好。

表 1 方法的线性回收率

项目	添加量 X( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	实测峰高 Y	标准峰高	回收率(%)	线性方程及相关系数
黄曲霉毒素 B <sub>1</sub>	2.0	0.378	0.437	86.50	Y=0.207 9X-0.154 0 R= 0.999 7
	8.0	1.477	1.740	84.89	
	20.0	3.864	4.352	88.79	
	50.0	10.299	10.913	94.37	
黄曲霉毒素 B <sub>2</sub>	2.0	0.201	0.238	84.45	Y= 0.110 0X-6.366 2E-02 R = 0.999 6
	8.0	0.834	0.943	88.44	
	20.0	2.040	2.400	85.00	
	50.0	5.470	5.972	91.59	
黄曲霉毒素 G <sub>1</sub>	2.0	0.207	0.245	84.49	Y= 0.114 8X-8.528 9E-02 R = 0.999 6
	8.0	0.831	0.973	85.41	
	20.0	2.113	2.430	86.95	
	50.0	5.691	6.131	92.82	
黄曲霉毒素 G <sub>2</sub>	2.0	0.070	0.093	75.27	Y= 4.310 1E-02X-4.151 8E-02 R = 0.999 3
	8.0	0.309	0.377	81.96	
	20.0	0.772	0.925	83.46	
	50.0	2.131	2.318	91.93	

## 5.4 检测限的确定

向空白样品中添加不同浓度的黄曲霉毒素标准溶液,按照试验方法中的测定步骤处理后进行液相色谱测定。通过多次添加试验,反复降低添加浓度,当荧光检测器的检测信号是噪音信号 3 倍时,相对应的添加浓度即为检测限<sup>[7]</sup>。经过测定,本方法检测限能够达到 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

## 6 结论

通过上述试验方法进行反复测试,认为本方法提取操作简单,净化效果好,在上述色谱条件下,分离度高,干扰极少,适用于各种饲料中黄曲霉毒素的测定。本方法最小检出浓度满足了对饲料中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、G<sub>1</sub>、G<sub>2</sub> 日常检测的需要,具有良好的准确度及精密性。

## 参考文献

- 1 Epply R M, et al. J. Assoc. Of Anal. Chem.[J], 1968, 51:104
- 2 Natural poisons Chap,26.Official Method of Analysis Association of Official Analytical Chemists. 1980(26):26~36
- 3 Andri, Papadopoulou-Bouraoui, et al. Comparison of Two Post-Column Derivatization Systems, Ultraviolet Irradiation and Electrochemical Determination, for the liquid chromatographic Determination of Aflatoxin in food[J]. Journal of AOAC International,2002, 85(2):411
- 4 GB/T 5009.23-2003 食品中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、G<sub>1</sub>、G<sub>2</sub> 的测定
- 5 GB/T18979-2003 食品中黄曲霉毒素的测定. 免疫亲和层析净化高效液相色谱法和荧光光度法
- 6 张丽,朱姝,张文海. 高效液相色谱柱后衍生法测定食品中的黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>[J]. 中国卫生检验杂志,2006(1):70~71
- 7 张晓彤.液相色谱检测方法[M].北京:化学工业出版社,2000. 12~13

(编辑:王芳,xfang2005@163.com)

# 伏马菌素的毒性作用研究

金海涛 陈道付 李绍钰

伏马菌素(fumonisin)是一组主要由串珠镰刀菌(*Fusarium moniliforme*)产生的真菌毒素。经研究表明,伏马菌素能够污染多种粮食及其制品,并对某些家畜产生急性毒性及潜在的致癌性,因此,它在食品与饲料安全中的意义越来越受到人们的广泛关注,已成为继黄曲霉毒素之后的又一研究热点。本文主要就伏马菌素毒性及作用机理等方面进行综述。

## 1 伏马菌素的化学结构及主要产毒菌种

20 世纪 80 年代末,Gelderblom 等(1988)首次从串珠镰刀菌培养液中分离出伏马菌素。随后,Laurent 等(1989)又从伏马菌素中分离出伏马菌素 B<sub>1</sub>(FB<sub>1</sub>)和伏马菌素 B<sub>2</sub>(FB<sub>2</sub>)。到目前为止,已经鉴定到的伏马菌素类似物有 28 种,它们被分为 4 组,即 A、B、C 和 P 组。B 组伏马菌素是野生型菌株产量最丰富的,其中伏马菌素 B<sub>1</sub>(FB<sub>1</sub>)是其主要成分,占总量的 70%,同时也是导致伏马菌素毒性作用的主要成分。伏马菌素是一类由不同的多氢醇和丙三羧酸组成的结构类似的双酯化合物,包括一个由 20 个碳组成的脂肪链及通过二个酯键连接的亲水性侧链。

在自然界中产生伏马菌素的真菌主要是串珠镰刀菌,其次是再育镰刀菌(*Fusarium proliferatum*),两者广泛存在于各种粮食及其制品中,尤其是对玉米的污染,在干燥温暖的环境下,串珠镰刀菌是玉米中出现最频繁的菌种之一。除串珠镰刀菌和再育镰刀菌之外,*Fusarium nygamai*、花腐镰刀菌(*Fusarium anthophilum*)、*Fusarium dlamini*、*Fusarium napiforme* 以及交链胞属 *Alternaria alternata*、*plycopersici* 也能够产生伏马菌素(Moss,1998)。但是这些产毒菌对粮食及其制品的污染程度较小。

## 2 伏马菌素在动物体内的代谢

动物代谢试验发现,给大鼠腹腔注射 FB<sub>1</sub>(7.5 mg/kg),FB<sub>1</sub> 被迅速吸收,20 min 后在血浆中的含量达到最大

浓度,在体内半衰期为 18 min。用 <sup>14</sup>C 标记的 FB<sub>1</sub> 进行腹腔注射,24 h 后,经腹腔注射的标记物有 66% 进入粪便内,尿中 32%,肝中 1%,在肾脏和红细胞内仅有微量(<1%)。而用管饲法饲喂 <sup>14</sup>C 标记的 FB<sub>1</sub> 发现,标记物几乎全部出现在粪便内,在尿、肝、肾和红细胞内仅有微量,绝大多数是未经代谢的 FB<sub>1</sub> 原形(Shephard 等,1992)。

## 3 伏马菌素的毒性作用

### 3.1 神经毒性

大量研究表明,伏马菌素可引起马脑白质软化症(equine leucoencephalomalacia. ELEM),本病是一种对马属动物具有高度致死性的中毒症,病畜中毒的临床表现为:初期病畜嗜睡拒食,共济失调,抽搐等症状,最后死亡。病理学检查发现明显的肝病样改变和延髓水肿。Marasas 等(1988b)研究伏马菌素对马的毒性发现,给马静脉注射 FB<sub>1</sub>,剂量为每日 0.125 mg/kg,观察到马在第 8 d 出现明显的神经中毒症状,表现为精神紧张、淡漠、偏向一侧的蹒跚、震颤、共济失调、行动迟缓、下唇和舌轻度瘫痪,不能饮食等症状,第 10 d 出现强直性痉挛。病理解剖发现脑部重度水肿,延髓质有早发的、两侧对称的斑点样坏死,脑白质软化改变,证明伏马菌素是诱发马脑白质软化症(ELEM)的致病因子。

### 3.2 肺毒性

伏马菌素具有肺毒性,可引起猪肺水肿综合症(pig pulmonary edema, PPE)(Harrison 等,1990)。猪摄入含有伏马菌素的饲料后,最典型的病变为胸膜腔积水和肺水肿,并伴有胰脏和肝脏损伤。Zomborszky-Kovacs 等(2002)报道,日粮中添加 40 mg/kg 伏马菌素就可引起仔猪肺部重量显著增加,出现明显的肺水肿症状。在亚急性毒性试验中,FB<sub>1</sub> 对猪亚急性毒性表现为肝结节性增生和远侧食道粘膜增生斑,同时还可观察到胰腺的病理改变,腺细胞中分泌粒减少,细胞核变形,核仁变大,染色质不规则浓缩。FB<sub>1</sub> 为 5 μg/kg 时,血液中 SA 与 SO 比率在血液中其它生化指标和组织损伤之前即有明显上升趋势。短期喂养试验中,在引起肝脏和肺部严重损伤的剂量下,未观察到肾脏组织学及有关临床化学的改变。

### 3.3 对免疫系统的毒性

金海涛,河南工业大学,450008,河南郑州市农业路 1 号。

陈道付,单位及通讯地址同第一作者。

李绍钰(通讯作者),河南省农业科学院畜牧兽医研究所。

收稿日期:2007-08-20

★ 河南省科技攻关计划项目(编号为 0623012700)

大量试验结果表明,伏马菌素能够对动物免疫系统造成损害,引起免疫功能降低,造成免疫抑制,从而影响疫苗的免疫效果,使免疫后抗体水平不整齐或不高。Oureshi 等(1992)在研究  $FB_1$  对仔鸡腹膜巨噬细胞的影响时发现, $FB_1$  (10~100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )可引起巨噬细胞在形态学上发生改变,产生萎缩;同时还显著降低了细胞活性以及产生功能损伤,导致免疫应答降低,从而增加了传染易感性。用  $FB_1$  提取物观察其对小鸡巨噬细胞的影响,也得出同样的结果,引起了小鸡巨噬细胞数量减少(Chatterjee 和 Mukherjee,1994)。Li 等(1999)给肉鸡饲喂含  $FB_1$  的日粮,分别在第 2 周和第 3 周注射 0.5 ml 的新城疫疫苗,注射 7 d 后发现  $FB_1$  能够对鸡新城疫疫苗抗体产生抑制作用,显著降低鸡新城疫疫苗的抗体滴度。

### 3.4 致癌性

经研究表明,伏马菌素对肝脏、肾脏均具有毒性作用,在高剂量或长期饲喂条件下,可诱发啮齿类动物癌症,是一种慢性癌症促进剂和诱导剂。Gelderblom 等(1991)对雄性 BDIX 大鼠的长期慢性毒性试验表明,饲喂浓度为 50  $\text{mg}/\text{kg}$  的  $FB_1$  (纯度>90%) 26 个月后,诱发了大鼠肝癌。而用含  $FB_1$  (纯度>92%) 的饲料对 Fischer344/N/Netr 大鼠进行 2 年的饲喂试验,结果发现,长期摄入高水平伏马菌素(50  $\text{mg}/\text{kg}$  以上)可引起 Fischer344/N/Netr 大鼠肾脏损伤,包括肾小管腺肿、细胞增生和细胞程序性死亡,并诱发肾癌(National Toxicology Program, 1999)。

此外,伏马菌素还被怀疑与诱发人类食道癌有密切关系。Marasas 等(1988a)在对南非 Transkei 食管癌高发地区进行流行病学调查时发现,在食管癌高发区伏马菌素的污染水平与低发区的污染水平有显著的不同,高发区的伏马菌素污染水平是低发区的 2 倍多。Yoshizawa 等(1994)的调查显示,伏马菌素在食道癌高发区玉米中的污染率为 48%,而在食道癌低发区玉米中的污染率为 25%,污染率前者大约为后者的两倍。但目前还没有充足的证据证明伏马菌素可以诱发食道癌。1993 年,在法国里昂,国际癌症研究中心(IARC)将伏马菌素列为 2B 类致癌物质(即人类可能致癌物)。

### 3.5 其它毒性作用

伏马菌素除具有上述毒性外,还具有胚胎毒性和植物毒性。Zacharius 等(1996)给鸡胚注射 72  $\mu\text{g}/\text{kg}$  的  $FB_1$ ,结果发现,鸡胚重量显著下降和皮下出血,表明  $FB_1$  对鸡胚有致病或致死作用。伏马菌素对植物也

有很强的毒性。Desjardins 等(1995)研究发现,在生物体外,串珠镰刀菌菌株产生伏马菌素与引起玉米苗枯萎具有相关性。在玉米苗枯萎过程中,它可能作为一个毒害因子而起着作用。另有研究表明,对曼陀罗(*Datura stramonium* L.)、黑茄(*Solanum nigrum* L.)和易感品种番茄的叶表面喷施  $FB_1$  液滴能导致枯斑的形成、生长抑制和死亡(Ahhas 等,1998)。

### 4 伏马菌素毒性作用的机理

目前为止,人们对伏马菌素的毒性作用机理仍不十分清楚,但怀疑可能是与伏马菌素对神经鞘脂类生物合成的破坏作用有关。神经鞘脂类是真核细胞细胞膜的重要构成成分,在细胞的附着、分化、生长和程序化死亡中发生关键性作用。由于伏马菌素在结构与神经鞘氨醇(Sphingosine, SO)和二氢神经鞘氨醇(Shpinganine, SA)极为相似(如图 2),故 Wang 等(1991)认为,伏马菌素主要通过竞争的方式对神经鞘氨醇 N-2 酰基转移酶产生抑制作用,破坏了鞘脂类代谢,造成神经鞘氨醇生物合成被抑制,导致复合鞘脂减少和游离二氢神经鞘氨醇增加,从而阻碍了复合鞘脂作为第二信使介导的信号传递途径。

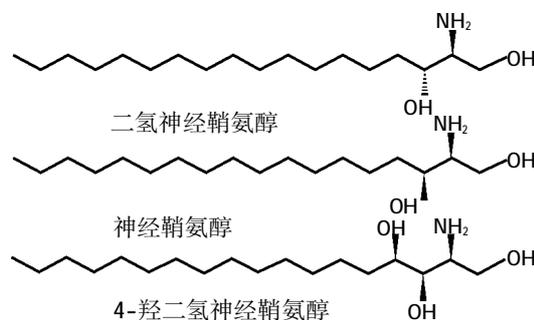


图 1 3 种主要的类神经鞘氨醇的化学结构

猪、马、大鼠和小鼠的肝、肾对伏马菌素引起的神经鞘氨醇合成的抑制非常敏感,导致了神经鞘氨醇(Sphingosine, SO)和二氢神经鞘氨醇(Shpinganine, SA)的比例发生变化(Riley 等,1993; Riley 等,1994)。伏马菌素诱导的鞘脂类代谢发生紊乱还能对细胞造成损伤,破坏细胞膜结构,影响复合鞘脂类作为第二信使介导在细胞间的联系和细胞基质的相互作用,蛋白质的运输、分类和定位,以及其它与细胞的正常生长、分化和程序化死亡有关的调控功能。Schroeder 等(1994)研究认为,伏马菌素破坏了大鼠肝脏的鞘脂类代谢导致 DNA 合成发生紊乱,刺激了细胞增殖,导致细胞失控。可能一些细胞死亡,一些细胞停止生长,而一些细胞生长加快。若一些细胞逃脱细胞生长周期的控制就

会增加基因的不稳定性,从而诱发癌症。

## 5 结语

综上所述,伏马菌素是普遍存在于粮食作物中的一种真菌毒素,对动物和人的健康有很大的潜在危害。随着对伏马菌素毒性研究的深入,人们越来越重视它在饲料和食品安全中的影响。欧美等国已投入大量的人力、物力对其毒性及作用机理,与人畜疾病的关系等进行了较全面的研究。2001年,美国食品与药物管理局(FDA)发布了食品(2 mg/kg)和动物饲料(1~50 mg/kg)中伏马菌素最高限量的指导性公告。我国在伏马菌素毒性方面的研究极少,尚无食品与饲料中伏马菌素的限量标准,因此,对伏马菌素的生物学作用及作用机理做更加深入的研究,并尽快制订我国的伏马菌素限量标准将是今后此项工作的重点。

### 参考文献

- Gelderblom W C A, Jaskiewicz K, Marasas W F O, et al. Fumonisinins—novel mycotoxins with cancer-promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*[J]. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1988,54:1 808~1 811
- Laurent D, Platzer N, Kohler F, et al. Macrofusin and micromonilin: two new mycotoxin isolated from Iron infested by *Fusarium moniliforme*[J]. *Microbiol Aliment Nutr.*, 1989, 7:9~16
- Moss M O. Recent studies of mycotoxins [J]. *J. Appl. Microbiol. Symp. Suppl.*, 1998, 84:62~76
- Shephard G S, Thiel P G, Sydenham E W, et al. Determination of fumonisin B1 in plasma and urine by high performance liquid chromatography[J]. *J. Chromatogr*, 1992, 574:299~304
- Marasas W F, T. S. Kellerman, W. C. Gelderblom, et al. Leukoencephalomalacia in a horse induced by fumonisin B1 isolated from *Fusarium moniliforme*[J]. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 1988b, 55:197~203
- Harrison L R, B. M. Colvin, J. T. Greene, et al. Pulmonary edema and hydrothorax in swine produced by fumonisin B1, a toxic metabolite of *Fusarium moniliforme* [J]. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 1990, 2:217~221
- Zomborszky-Kovacs M, F. Kovacs, P. Horn, et al. Investigations into the time- and dose-dependent effect of fumonisin B1 in order to determine tolerable limit values in pigs. *Livest[J]. Prod. Sci.*, 2002, 76: 251~256
- Qureshi M A, W. M. Hagler, Jr. Effects of fumonisin B1 exposure on chicks macrophage functions in vitro[J]. *Poultry Sci.*, 1992, 71:104~112
- Chatterjee D, Mukherjee S K. Contamination of India maize with fumonisin B1 and its effects on chicken macrophage[J]. *Lett Appl Microbiol.*, 1994, 18:251~253
- Li Y C, Ledoux D R, Bermudez A J, et al. Effects of Fumonisin B1 on Selected Immune Responses in Broiler Chicks [J]. *Poult. Sci.*, 1999, 78 :1 275~1 282
- Gelderblom W C A, N.P.J. Kriek, W.F.O. Marasas, et al. Toxicity and carcinogenicity of the *Fusarium moniliforme* metabolite, fumonisin B1 in rats[J]. *Carcinogenesis*, 1991, 7:1 247~1 251
- National Toxicology Program. Toxicology and carcinogenesis Studies of Fumonisin B1 (CAS NO. 116355-83-0) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice.NTP Technical Report 496 [C]. Research Triangle Park, North Carolina National Institutes of Health Publication, 1999(99):3 955
- Marasas W F O, K. Jaskeiwicz, F. S. Venner, et al. *Fusarium moniliforme* contamination of maize in oesophageal cancer areas in Transkei[J]. *S. Afr. Med. J.*, 1988a, 74:110~114
- Yoshizawa T, A. Yamashita, Y. Luo. Fumonisin occurrence in corn from high- and low-risk areas for human esophageal cancer in China[J]. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1994,60:1 626~1 629
- Zacharius C, Van Echten, D G, et al. The effect of fumonisin B1 on developing chickembryos:correlation between de novo sphingolipid biosynthesis and gross morphological changes [J]. *Glycownj J.*, 1996, 13(2):167~171
- Desjrdins A E, Plattner R D, Leslie J. F. Genetic analysis of fumonisin production and virulence of *Gibberella fujikuroi* mating population A (*Fusarium moniliforme*) on maize (*Zea mays*) seedlings[J]. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1995, 54: 1 806~1 811
- Ahhas H K, Shier W T, Seo A, et al. Phytotoxicity and cytotoxicity of the fumonisin C and P Series of mycotoxins from *Fusarium* spp. fungi[J]. *Toxicon*, 1998, 36: 2 033~2 037
- Wang E, Norred W P, Bacon C W, et al. Inhibition of sphingolipid biosynthesis by fumonisins. Implications for diseases associated with *Fusarium moniliforme* [J]. *J. Biol. Chem.*, 1991, 266: 1 4486~14 490
- Riley R T, An N H, Showker J L, et al. Alteration of tissue and serum sphinganine to sphingosine ratio; An early biomarker of exposure to fumonisin-containing feeds in pigs [J]. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1993, 118: 105~112
- Riley R T, Hinton D M, Chamberlain W J, et al. Dietary fumonisin B1 induces disruption of sphingolipid metabolism in Sprague-Dawley rats: A new mechanism of nephrotoxicity [J]. *J. Nutr.*, 1994, 124: 594~603
- Shephard G S, Thiel P G, Sydenham E W, et al. Determination of the mycotoxin fumonisinB1 and identification of its partially hydrolysed metabolites in the faeces of non-human primates[J]. *Food Chem. Toxicol.*, 1994, 32:23~29

(编辑:王芳,xfang2005@163.com)

# 氯的研究进展及其在家禽营养中的作用

鲍庆晗 王安 王洋

氯是动物体内重要的电解质之一,同钠、钾一起在维持体液渗透压,调节酸碱平衡,控制水代谢,保证营养素的适宜代谢环境方面发挥着重要的作用。由于氯在动物体内是产酸的,当动物摄入氯不足或过量时,就会导致动物体内的酸碱平衡发生异常,进而引起代谢性酸中毒或代谢性碱中毒。同时,由于动物体内的各种酶只有在所处体液微环境中特定的 pH 值下才能发挥催化作用,当酸碱平衡被破坏时会使体内的许多酶系的催化效率降低,从而引起代谢异常。本文主要对氯在动物体内的分布、代谢、功能、参与调节酸碱平衡的形式及在家禽生产中的作用作一简要综述。

## 1 氯在动物体内的分布及在饲料中的添加量

动物体内氯离子均存在于细胞内外液中,约占体重的 0.11%,但主要存在于细胞外液中,是细胞外液中主要的阴离子;少部分可存在于红细胞、肾小管细胞、胃肠粘膜细胞、性腺、皮肤等细胞内液中。

目前在实际生产中,人们往往忽视氯的作用,只单纯地利用添加食盐来满足动物对钠和氯的需要。NRC (1999)对家禽饲料中氯的最小推荐添加量为 0.11%~0.20%。

## 2 氯在家禽体内的代谢及功能

### 2.1 氯的吸收与排泄

氯主要以离子的形式被吸收。Cl<sup>-</sup>的吸收部位在小肠前段,主要通过扩散途径经细胞旁路被吸收,而且速度很快。Cl<sup>-</sup>的吸收与 Na<sup>+</sup>吸收密切相关,主要有非耦联吸收、耦联吸收和中性 NaCl 的吸收 3 种途径。其中,中性 NaCl 的吸收是 Cl<sup>-</sup>被吸收的主要形式,主要机制为 Na<sup>+</sup>和 Cl<sup>-</sup>以 1:1 的比例从肠道转运到组织液或血液中,包括 Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup>交换和 Cl<sup>-</sup>-HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>交换。细胞内的 H<sup>+</sup>和 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>是通过内源性或外源性 CO<sub>2</sub> 的水合作用产生的。然后 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>与 Cl<sup>-</sup>,H<sup>+</sup>与 Na<sup>+</sup>分别进行反向转

运,使 Na<sup>+</sup>和 Cl<sup>-</sup>以 1:1 的比例被吸收,而 H<sup>+</sup>和 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>以 1:1 的比例被分泌到肠腔,形成 H<sub>2</sub>O 和 CO<sub>2</sub>。

进入体内的钠、氯经肾小球滤过后,在流经远曲小管时大部分被重吸收。Cl<sup>-</sup>的重吸收与 Na<sup>+</sup>的重吸收是相伴的。在髓祥升支粗段,Cl<sup>-</sup>的重吸收与 Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>的转运有关,Na<sup>+</sup>:Cl<sup>-</sup>:K<sup>+</sup>以 1:2:1 的比例协同转运。其特点是 Na<sup>+</sup>、Cl<sup>-</sup>与 K<sup>+</sup> 3 种离子中缺少任何一种离子,都将影响其它两种离子的转运。3 种离子进入细胞后的去向不同:Na<sup>+</sup>被管周膜上的泵驱入组织间隙,Cl<sup>-</sup>则顺着浓度差相继扩散进入组织间隙,K<sup>+</sup>则由于浓度差经管腔膜返回小管液,多余部分经肾脏排出体外。

从肾脏排出的钠和氯大部分以氯化钠的形式存在。当体内缺钠时,从尿中排出的氯化钠减少,当体内钠含量显著增加时,肾脏排出的氯化钠也随之增多。由此可以看出,肾脏对钠、氯的调节有很强作用。

### 2.2 氯的功能及调节

钠离子和氯离子是构成细胞外液的主要电解质,其中氯离子是细胞外液中含量最多的阴离子,主要功能体现在调节和维持酸碱平衡方面,如低氯性代谢性碱中毒和高氯性代谢性酸中毒,原因在于机体体液的电中性原理,即细胞外液的阴离子主要为 Cl<sup>-</sup>与 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>两者互为消长。当其中某一个离子减少时,必然引起另一个离子的增加。高氯时,HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>减少而引起代谢性酸中毒;低氯时,HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>增加而引起代谢性碱中毒。同样,发生代谢性酸中毒时,HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>减少而引起高氯;发生代谢性碱中毒时,HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>增加而引起低氯。血清 Cl<sup>-</sup>和 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>一样是维持机体酸碱平衡、水分交换和细胞内外渗透压的主要阴离子。但是,血 Cl<sup>-</sup>变化往往与血 Na<sup>+</sup>、HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>、K<sup>+</sup>等其它主要细胞外液离子变化、酸碱平衡密切相关。主要表现在:

① 血 Cl<sup>-</sup>水平往往受 Na<sup>+</sup>水平影响。根据电中性原理,正常情况下,细胞外液中 Na<sup>+</sup>、HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>、Cl<sup>-</sup>之间有一较恒定常数,即 Na<sup>+</sup>=HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>+Cl<sup>-</sup>+AG (Anion Gap),AG 约为 8~16 mmol/l。当血 Na<sup>+</sup>下降时,血 Cl<sup>-</sup>或 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>相应减少或同时减少,以求阴阳离子总和相等;反之,正好相反。

② 血 Cl<sup>-</sup>与 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>呈相反方向变化。同样,根据电中性原理,为了维持血液阴离子总数为一相对常数,当血 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>下降时,必有血 Cl<sup>-</sup>升高;反之,正好相反,

鲍庆晗,东北农业大学动物营养研究所,150030,哈尔滨市香坊区木材街 59 号。

王安(通讯作者),单位及通讯地址同第一作者。

王洋,东北农业大学农学院。

收稿日期:2007-08-11

★ 国家自然科学基金项目(30571345)

即低氯性代谢性碱中毒,高氯性代谢性酸中毒。

③ 血 Cl<sup>-</sup>变化与血 K<sup>+</sup>变化密切相关。高氯性代谢性酸中毒时伴有高 K<sup>+</sup>血症;低氯性代谢性碱中毒时伴有低 K<sup>+</sup>血症。

同时 Cl<sup>-</sup>通过调节机体的酸碱平衡,从而保证细胞内正负电荷数相等,维持稳定的渗透压,影响水在细胞内外之间的流动方向,维持正常的血容量。

在体液各部分中,离子组成存在很大的差别,这说明机体对其实行主动调节与控制。分子通过半渗透的细胞膜的简单扩散,维持着细胞内液和细胞外液的离子平衡。在细胞膜上,主要的主动运输复合物之一

是 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-三磷酸腺苷酶(即 Na-K 泵),这种蛋白质复合物将 Na<sup>+</sup>从细胞内转运至细胞外以交换 K<sup>+</sup>,调整日粮中阴阳离子至平衡;肾脏通过改变肾小球滤过速度和部分离子的重吸收作用来调节机体 Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Cl<sup>-</sup>的含量。

### 3 氯离子与日粮阴阳离子平衡、酸碱平衡的关系

日粮阴阳离子平衡(DCAB)是指日粮中每千克干物质所含主要阳离子(Na<sup>+</sup>+K<sup>+</sup>+Ca<sup>2+</sup>+Mg<sup>2+</sup>)毫摩尔与主要阴离子(Cl<sup>-</sup>+S<sup>2-</sup>+PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>)毫摩尔之差。许多学者对离子平衡的表示方法存在分歧,Cl<sup>-</sup>在各种表示方法中的作用也发生了相应的变化(见表 1)。

表 1 日粮电解质平衡的表示方法

项目	计算公式	适用动物	资料来源
日粮电解质平衡	DEB=Na <sup>+</sup> +K <sup>+</sup> -Cl <sup>-</sup>	各种动物	Mongin, 1981
未测定阴离子	DUA=Na <sup>+</sup> +K <sup>+</sup> +Ca <sup>2+</sup> +Mg <sup>2+</sup> -Cl <sup>-</sup> -SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> -H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> -HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	各种动物	Patience 等, 1987
阳离子与阴离子的当量比	C/A=(Na <sup>+</sup> +K <sup>+</sup> +Ca <sup>2+</sup> +Mg <sup>2+</sup> )/(Cl <sup>-</sup> -SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> -H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> -HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> )	鸡	Mellieret 等, 1966
酸碱毫当量	Meq=(Na <sup>+</sup> +K <sup>+</sup> +Ca <sup>2+</sup> )-(Cl <sup>-</sup> +SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> )	鸡	Summers, 1996
阳阴离子差	CAD=(Na <sup>+</sup> +K <sup>+</sup> )-(Cl <sup>-</sup> +S <sup>2-</sup> )	奶牛	Harris 等, 1996
其它方法	Na/Cl, Cl/(Na+K)或(K+Cl)/Na	鸡	冯于明等, 1997

Mongin(1981)认为,Ca、P、Mg、S 的主要作用不是参与酸碱平衡的调节,将日粮阴阳离子平衡简化成(Na<sup>+</sup>+K<sup>+</sup>-Cl<sup>-</sup>) mEq/kg,又称日粮电解质平衡,目前这种表达式最为简洁和常用。在电解质的平衡表达式中,氯离子作为唯一的阴离子中和 Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>的碱性作用,从而保持细胞的电中性和维持机体的酸碱平衡。生理体液中的酸碱平衡对于维持动物的正常生理活动和最佳的生产性能十分重要,因此,氯离子可以通过影响动物机体的酸碱平衡状态对动物的生产活动产生影响。

## 4 氯在家禽生产中的作用

### 4.1 氯对家禽生产性能的影响

作为影响动物生产性能的主要因素之一,日粮电解质平衡状况与动物的生产性能密切相关。NRC(1994)给出生长肉鸡的钠和氯需要量的推荐值均为 0.15%。Mongin(1981)报道,当鸡日粮(Na<sup>+</sup>+K<sup>+</sup>-Cl<sup>-</sup>)为 250 mEq/kg 时,动物生长性能最佳。霍启光等(1992)通过调整氯离子水平的试验发现,当饲料中钠离子水平为 0.15%时,氯离子水平分别为 0.15%、0.30%、0.45%、0.60%,产蛋鸡的各项生产指标和蛋壳品质指标均无显著差异(P>0.05)。

Karunajeewa 等(1986、1988)试验表明,在日粮中的 Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Cl<sup>-</sup>满足动物最低需要的情况下,(Na<sup>+</sup>+K<sup>+</sup>-Cl<sup>-</sup>)在 150~300 mEq/kg 范围内不显著影响 1~21 日龄肉鸡的生长。Hulan 等(1987)的试验也表明,肉鸡日粮

(Na<sup>+</sup>+K<sup>+</sup>-Cl<sup>-</sup>)在 155~300 mEq/kg 范围内,肉鸡体重和饲料转化率均无大的差异,并发现获得最大体增重所需要的(Na<sup>+</sup>+K<sup>+</sup>-Cl<sup>-</sup>)量为 215 mEq/kg,而当日粮含钙 1.38%时,174 mEq/kg 的(Na<sup>+</sup>+K<sup>+</sup>-Cl<sup>-</sup>)就可使体重达到最大。

Murakami 等(2001)经研究发现,42~56 日龄肉鸡的钠离子需要量为 0.15%,而氯离子的需要量则不高于 0.2%。Pesti 等(1999)研究发现,为得到最大的增重和最佳的饲料转化率,日粮中氯化钠的添加量为 0.4%(钠:0.16%;氯:0.24%)。Rondon 等(2000)研究表明,1~7 日龄肉鸡达到最大体增重所需的钠离子和氯离子分别为 0.26%和 0.29%,最佳饲料转化率所需的钠离子和氯离子分别为 0.29%和 0.28%。Murakami 等(2001)对 21~42 日龄肉鸡的钠离子和氯离子的需要量进行了研究,结果表明,钠离子的需要量为 0.15%,而氯离子的需要量为 0.23%,肉鸡最佳生长性能的日粮 DEB 值为 249~261 mEq/kg。

### 4.2 氯对家禽氨基酸代谢的影响

日粮中氯的含量会影响动物对氨基酸的吸收和代谢,研究主要集中在家禽体内赖氨酸与精氨酸的拮抗作用。二者的拮抗表现为日粮中赖氨酸水平过高会提高肉仔鸡对精氨酸的需要量(见表 2)。其机制为:一方面赖氨酸-精氨酸有共同的吸收与转运部位;另一方面过高的赖氨酸水平会增强肾脏中精氨酸酶的活性,导致精氨酸分解增强。

表2 日粮中氯离子对肉仔鸡日粮中赖氨酸-精氨酸拮抗作用的影响

赖氨酸(%)	精氨酸(%)	日增重			料重比		
		0.5% Cl <sup>-</sup>	1.0% Cl <sup>-</sup>	1.5% Cl <sup>-</sup>	0.5% Cl <sup>-</sup>	1.0% Cl <sup>-</sup>	1.5% Cl <sup>-</sup>
0.8	1.0	5.5	4.8	4.2	2.69	3.09	3.06
1.2	1.0	7.5	7.1	5.3	2.16	2.27	2.82
2.5	1.0	3.3	2.2	1.7	4.11	6.01	7.00
2.5	2.3	7.6	7.2	6.0	2.09	2.25	2.27

注:资料来自 J.Anin,Sci.(1990)。

Riley Jr.等(1989)报道,赖氨酸、精氨酸在小肠被吸收的最适 pH 值为 6.0;日粮高氯(0.89%)比高钾(1.81%)更能提高小肠对赖氨酸的吸收(对照日粮含 Na 0.381%、K 0.389%、Cl 0.484%),日粮单价离子的平衡对精氨酸吸收氯影响不明显。高氯提高小肠对赖氨酸的吸收可能就是高水平氯会加剧赖氨酸、精氨酸拮抗的原因。

总而言之,过量赖氨酸增加了组织中赖氨酸的浓度,降低了组织中精氨酸浓度,从而引起鸡增重速度明显下降。虽然目前氯离子与碱性氨基酸之间的相互作用还不清楚,但可从钠、钾和氯对酸碱平衡的影响方面得到解释。

#### 4.3 氯对家禽产蛋率和蛋壳质量的影响

蛋壳形成是一个产酸的过程,蛋鸡血液碱贮增高则蛋壳质量提高。日粮中含有过量的氯会严重降低蛋鸡进食量、产蛋性能和蛋壳品质,使蛋壳的强度和厚度均显著降低。食入高 Na(0.52%)、低 Cl(0.12%)的日粮时,鸡采食量减少,产蛋率降低,但蛋的比重和壳厚增大。日粮含 Cl 过高,不利于蛋壳钙化。

许多学者就能否通过调整日粮(Na<sup>+</sup>+K<sup>+</sup>-Cl<sup>-</sup>)来改善蛋鸡的产蛋能力和蛋壳质量方面作了大量研究。Hughes(1988)观察到 DEB 过低(8 和 33 mEq/kg)或过高(319 和 418 mEq/kg)都会降低蛋鸡的进食量和产蛋水平;当 DEB 在 150 mEq/kg 以上时,随 DEB 上升,血液的 pH 值和 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>浓度上升,蛋壳厚度也上升。在养鸭方面,朴香淑等(1994)用 DEB 分别为 165、200、225 和 250 mEq/kg 的日粮饲喂 50 周龄伊莎蛋鸭,发现夏季日粮中 DEB 在 200~225 mEq/kg 为宜。王安等(2005)研究了在高温条件下(32±2)℃,笼养产蛋鸭日粮 DEB 对其相关指标的影响,根据产蛋率、破蛋率、蛋壳厚度、血液 pH 值和 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>浓度等各项指标可以认为:高温条件下,笼养产蛋鸭日粮适宜 DEB 应该为 250~300 mEq/kg。

#### 4.4 氯对家禽腿病的影响

肉鸡和火鸡的腿疾与日粮中氯离子浓度过高有关。日粮中以氨基酸盐酸盐和氯化钙形式存在的氯化

物含量过高会降低鸡骨中灰分含量。Hulan 等(1987)表明,日粮中 Na、K 含量影响肉鸡胫骨发育不良(TD)的发生率,但这还与日粮中 Ca、Cl 水平相关。日粮 Ca、Na 或 K 含量升高,TD 发生率下降;在日粮 Na 水平较低时,只有日粮 K 和 Cl 含量均高时才有降低 TD 的作用。当日粮 Cl 的含量较高(0.36%)时,日粮中高水平可利用磷(0.65%)会导致肉仔鸡 TD 发生率显著提高(Lilburn 等,1989)。Halley 等(1987)研究表明,日粮阴离子含量升高,肉仔鸡血液 pH 值趋于下降;磷添加水平过高会降低血液 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>和碱超值;血液碱超值与 TD 发生率呈现显著负相关,日粮中氯离子浓度过高直接导致了肉鸡胫骨软骨发育不良。另外一些研究者也报道,日粮中氯离子浓度过高时,胫骨软骨发育不良导致的腿疾就增多(Suveur 等,1974;Veltmann 等,1981;Edwards,1984)。氯离子浓度过高会使饲料效率变差,使胫骨软骨发育不良的发生率增高。佟建明等(1993)研究了日粮中氯、镁水平对肉仔鸡胫骨软骨发育异常和生产性能的影响。研究表明,肉仔鸡饲用高水平的氯离子时,血液中的氯离子浓度和腿病发生率都显著升高,而血液和胫骨中钠和钾的含量降低。

饲料中氯离子浓度影响肉仔鸡胫骨软骨症的作用机制可能是多方面的,尚无定论,但是有几点值得考虑:①酸碱平衡影响钙的代谢途径,如血浆钙和游离钙的结合;②在长期代谢性酸中毒条件下,哺乳动物血液 pH 值较低,骨组织重吸收增加,导致了骨密度降低(Whiting 等,1981),血浆 Ca<sup>2+</sup>水平上升(Ching,1989),尿 Ca 排泄增加,Ca 平衡降低(Patience 等,1997)。进一步的研究表明,由 Cl<sup>-</sup>过量添加(NH<sub>4</sub>Cl)引起的代谢性酸中毒,损伤了鼠(Lee 等,1977)、鸡(uvenr 等,1977)、猫(Ching 等,1989)肾脏形成 1,25-(OH)<sub>2</sub>-VD<sub>3</sub> 的能力,从而降低了 Ca 的吸收和利用,影响骨的形成。

#### 4.5 氯对家禽粪便含水量的影响

家禽的饮水量依赖于盐的摄入量。日粮 Ca、K 含量升高会增大家禽的饮水量和粪便的含水量。Hulan H W(1987)报道,Cl 供给量高也会使鸡粪便中含水量增大,不过依赖于日粮钙的含量,高 Cl 可缓和钙导

致的湿便或拉稀。

## 5 小结

氯与家禽生产间存在密切关系,它对酸碱平衡的影响已基本取得共识,但对营养物质消化率、氨基酸代谢的作用还存在异议,其作用机制也不十分清楚。氯对家禽体内酸碱平衡影响到什么程度尚需进一步研究。尤其值得一提的是,目前的研究过分注重电解质平衡的整体效果,缺乏对单一元素的深入研究。彻底揭示 Na、K、Cl 等元素在动物体内的作用机制将更有利于日粮电解质平衡理论的进一步发展,同时也将为科学的畜禽饲养提供参考。

### 参考文献

- 唐湘芳,张宏福,夏中生.我国常见典型仔猪日粮系酸力和电解质平衡水平的调查研究[J].动物营养学报,2007,19(2):163~165
- 李德发.猪的营养[M].北京:中国农业科学技术出版社,2003
- 冷向军,王康宁.猪营养中的离子平衡与酸碱平衡[J].养猪,1999(1):2~4
- 林映才,蒋宗勇.仔猪饲料中电解质平衡的研究[J].中国畜牧杂志,1996,32(2):37~39
- 冯子明.家禽营养与饲料[M].中国农业大学出版社,2004
- 陈海燕.饲料离子平衡对动物生产性能的影响[J].中国畜牧杂志,1999,35(4):53~54
- 何建,周安国.电解质平衡与猪的营养[J].饲料博览,1999,11(6):6~8
- 胡明,卢德勋,牛文艺,等.动物日粮阴阳离子平衡技术及研究现状[J].动物营养学报,2000,12(4):8~12
- 霍启光,林理真,孙万岭.日粮氯离子水平对产蛋鸡的影响[C]//张子仪.中国动物营养研究进展.天津:天津科技翻译出版公司,1992:519
- 黄瑞林,谭支良,陈福华.日粮阴阳离子平衡对生长猪营养物质消化代谢的影响[J].中国饲料,2000(3):11~12
- 伍喜林,杨凤.离子平衡的营养学原理及其在畜禽生产中的应用[J].贵州大学学报,2002,21(3):208~214
- 伍喜林,杨凤.离子平衡的营养学原理及其在畜禽生产中的应用(续)[J].贵州大学学报,2002,21(4):291~298
- 陈杰.家畜生理学[M].中国农业大学出版社,2003
- 郑世峰.笼养蛋鸭夏季开产日粮电解质平衡调节的研究[C].东北农业大学学位论文,2004
- 冷向军,王康宁,杨凤,等.盐酸对早期断奶仔猪生长性能和体内酸碱平衡的影响[J].饲料博览,2000(9):10~14
- 李鉴轩.家畜生理学[M].西宁:青海人民出版社,1988.142
- 韩志钧,胡成进,黄志锋,等.血气酸碱分析[M].沈阳:辽宁科学出版社,2004.58~64
- 杨秀平.动物生理学[M].北京:高等教育出版社,2002.254~256
- 汪尧春,周毓平,冯子明,等.日粮不同阴阳离子对21日龄肉仔鸡血液酸碱平衡和胫骨软骨发育不良的影响[J].畜牧兽医学报,1999,30(3):211~216
- Britton W M. NaCl for broiler chick growth [J]. Poultry Science, 1991, 70:1~18
- Britton W M. Dietary sodium and chloride for maximum broiler growth[J]. Zootecn. Int., 1992,1:52~57
- Hagsten I, T. W. Perry. Evaluation of dietary salt levels for swine 2. effect on blood and excretory patterns[J]. J. Anim. Sci., 1976, 42: 1 191~1 195
- Haydon K D, et al. Effect of dietary electrolyte balance in performance and blood parameters of growing-finishing swine fed in high ambient temperatures[J]. J. Anim. Sci., 1990b,68:2 400~2 406
- Haydon K D, et al. Effect of dietary electrolyte balance on nutrient digestibility determined at the end of the small intestine and over the total digestive tract in growing pigs[J]. J. Anim. Sci.,1990a, 68:3 687~3 693
- Honeyfield D C, J. A. Froseth. Effects of dietary sodium and chloride on growth, efficiency of feed utilization, plasma electrolytes and plasma basic amino acids in young pigs[J]. J.Nutr., 1985,115: 1 366~1 371
- Hughes E H, N. R. Ittner. The potassium requirement of growing pigs[J]. J. Agric. Res.,1942, 64(3):189~192
- Hughes R J. Inter-relationships between eggshell quality, blood acid-base balance and dietary electrolytes[J]. World Poult. Sci. J., 1988,44(1):30~40
- Keshavarz K, Austic R E. Effects of dietary minerals on acid-base balance and eggshell quality in chickens[J]. J. Nutr., 1990, 120: 1 360~1 369
- Mayo R H, et al. Magnesium requirement of the pig[J].J.Anim.Sci., 1959, 18:264~274
- Meyer J H, et al. Sodium, chlorine, and potassium requirements of growing pigs[J]. J. Anim. Sci., 1950, 9:300~306
- Miller E R. Magnesium requirement of the baby pig [J]. J. Nutr., 1965a,85(1):13~20
- Miller E R. Comparisons of casein and soy proteins upon mineral balance and vitamin D2 requirement of the baby pig [J]. J. Nutr., 1965b,85(4):347~354
- Mongin,P.Recent advances in dietary anion-cation balance in poultry[M]. Recent Advances in Animal Nutrition(Haresign Wed), 1981. 109~119
- Murakami A E, Oviedor Rondon E O, Martins E N, et al. Sodium and chloride requirements of growing broiler chickens (twenty-one to forty-two days of age) fed corn-soybean diets [J]. Poult. Sci., 2001,80:289~294
- Mushtaq M, Sarwar H, Nawaz M, et al. Effect and interactions of dietary sodium and chloride on broiler starter performance (hatching to twenty-eight days of age) under subtropical summer conditions[J]. Poultry Science, 2005, 84:1 716~1 722
- National Research Council. Nutrient requirements of Poultry. 8th rev. ed. National Academy Press, Washington, DC., 1994
- Oviedor-Rondon E O, Murakami A E, Martins E N. Sodium and chloride requirements of young broiler chickens fed corn-soybean diets (one to twenty-one days of age) [J]. Poultry Science, 2001, 80 (5):529~598
- Patience R E, et al. Effect of dietary electrolyte balance on growth and acid-base status and performance in pigs[J].J.Nutr., 1987,120: 579~587
- Rondon E O O, Murakami A E, Furlan A C. Sodium and chloride requirements and the best electrolyte balance estimate of diets for broiler chickens in the pre-initial pHase (1-7 days of age)[J]. Revista-Brasileira-de-Zootecnia,2000,29(4):1 162~1 166
- Svajgr A J. Effects of dietary levels of manganese and magnesium on performance of growing finishing swine raised in confinement and on pasture[J]. J. Anim. Sci., 1969, 29:439~443

(编辑:徐世良, [fi-xu@163.com](mailto:fi-xu@163.com))

# 摄食调控的神经内分泌机制研究进展

曹德瑞 邹晓庭

摄食调控是一个极其复杂的过程,总的来说,主要取决于机体能量的需要。动物的能量储存是相对稳定的。动物体首先感觉并整合关于营养状况的复杂而矛盾的信号,然后发出信号调节能量平衡。参与摄食调控的因素有许多,多种神经递质和激素能影响摄食行为,这些递质和激素间又有相互作用。多个中枢部位包括经典的下丘脑、大脑皮层和边缘前脑,以及最近提出的在机体的躯体-内脏整合中发挥重要作用的小脑均参与摄食信息的整合。在将外周摄食信号传入脑,以及将中枢摄食整合信号传出外周的过程中,迷走神经起重要作用(张月萍等,2001)。另外,外界因素,如食物的味道,甚至环境中的大气状况都会影响摄食活动。这些因素构成了摄食调控的神经内分泌网络。

## 1 下丘脑摄食中枢

早期的损伤和刺激试验产生了“双中枢”学说:下丘脑腹内侧核(VMH)为饱中枢,下丘脑外侧区(LHA)为摄食中枢(Vettor等,2002)。双中枢实际上是由一些分散的神经通路组成,在这些神经通路中特异性的下丘脑核团形成一个更为复杂、系统性的神经网络。这些神经核产生和分泌多种神经递质和神经调节因子,参与下丘脑的食欲调控。下丘脑接收和整合一些神经和体液输入信号,从而能够在不同的能量平衡情况下协调摄食和能量消耗。近年来,越来越多的证据表明“双中枢”学说是一个过于简单的概念,事实上,中枢多个部位,如大脑皮层、边缘前脑、纹状体等均参与了摄食调控。

## 2 与摄食调节有关的神经递质和激素

### 2.1 瘦素(leptin)

瘦素是脂肪细胞分泌的一种激素,通过血脑屏障,发出脂肪储存饱和和信号,随之触发摄食减少和能量消耗增加的生理过程,是重要的摄食调节外周信

号。血液中瘦素的浓度与体脂之间存在一定的关系,瘦素有很长的半衰期,这些特点都与脂衡理论相符合。外周或中枢给予瘦素能降低啮齿动物采食和体重,同时提高能量消耗。徐淑静等(1999)研究显示,在脑室内给予瘦素可剂量依赖性的减少大鼠摄食量。低剂量瘦素(1~10 pg)即可抑制对葡萄糖敏感的肝迷走神经传入纤维放电,刺激支配脂肪组织的交感神经元放电。将瘦素微电泳注射到麻醉大鼠下丘脑LHA和VMH中,使LHA的糖敏和非糖敏神经元显著抑制,VMH中的大多数糖敏神经元显著兴奋。膜片钳试验进一步证实,瘦素可以激活Na<sup>+</sup>和K<sup>+</sup>通道,使这些神经元去极化。瘦素能抑制摄食亢进性神经元,而促进摄食抑制性神经元。

### 2.2 胆囊收缩素(CCK)

CCK广泛分布于胃肠道和脑组织中,是抑制摄食作用最强的肽类激素。外周和中枢给予CCK能产生相似的饱感作用,说明CCK可能通过中枢和外周两种途径发挥抑制摄食的生物学效应。CCK的抑制摄食效应被认为主要由CCK-A受体介导(Wang L等,2000)。CCK-A受体主要存在于外周部位,但最近的免疫组化研究表明,CCK-A受体在脑组织中也广泛存在(Fink H等,1998)。CCK不能透过血脑屏障,胃肠道中分泌的CCK影响脑内神经元活动的机制还不十分清楚。有研究表明,CCK在脑内和血清中的浓度显著相关,在膈下切断迷走神经胃支可减弱外周给予CCK产生的抑制效应,外周给予CCK可激活多个脑区的C-fos表达(Mnnikes H等,1997),因此,估测外周CCK信号是经迷走神经传递到较高级中枢(包括LHA、杏仁核等处)而发挥抑食效应的。

### 2.3 去甲肾上腺素(NE)

NE是参与摄食调控的经典神经递质(Wellmam P J,2000),将NE晶粒通过导管置于大鼠的LHA,可引起大鼠剂量依赖性的摄食增加。将NE放置到LHA前预先静注肾上腺素能阻断剂可完全阻断NE引起的摄食效应。药理性阻断突触小泡对NE的重摄取或促进突触小泡释放NE,都发现饱食的大鼠能进一步摄食,从而证明内源性NE也具有外源性NE的作用。

曹德瑞,浙江大学饲料科学研究所,310029,杭州市秋涛北路164号。

邹晓庭,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-07-16

Harrison J K 等(1991)研究认为,NE 增加动物摄食,是通过  $\alpha$  受体起作用的,如 NE 与 H 受体结合,则动物摄食减少。因此,NE 作用于下丘脑的不同部位或与不同的受体结合对动物摄食的影响是不同的。

#### 2.4 神经肽 Y、糖皮质激素和胰岛素

神经肽是联系机体感受器和效应器的一个重要信号(傅茂等,1999)。它产生于下丘脑弓状核,并通过轴突转运到室旁核。脑室注射神经肽 Y 可显著增加动物的摄食量,并抑制交感神经活性和热量产生,增加体重。中枢持续注入神经肽 Y 可使啮齿类动物产生特征性的夜间阵发性进食行为,这种行为与正常大鼠的进食行为非常相似,提示正常大鼠的夜间阵发性进食行为是神经肽 Y 释放所引起的。将 ODNs(磷酸二酯寡聚脱氧核苷酸)显微注入下丘脑弓状核中,发现能减弱与神经肽 Y 相关的动物进食活动。但要想完全阻碍神经肽 Y 在进食活动中的作用,则必须长期抑制神经肽 Y 的基因表达(Kalra P S, 2000),然而神经肽 Y 基因缺失的动物仍可表现正常的摄食行为及储脂能力。许多研究表明,糖皮质激素、胰岛素和神经肽 Y 在促进动物摄食方面有显著的相关性。Wisialowski T 等(2000)研究显示,脑室注射神经肽 Y 可显著增加大鼠血浆胰岛素水平,而肾上腺切除的大鼠则无此效应。同时发现神经肽 Y 受体在肾上腺切除的大鼠 VMH 中的表达显著下降,而在室旁核和弓状核的表达不受影响。这一结果说明了这三者之间的关系,提示中枢给予神经肽 Y 导致胰岛素释放增多,糖皮质激素的作用在神经肽 Y 引起的胰岛素释放机制中是必需的,该机制尤其与 VMN 神经元关系密切。

#### 2.5 5-羟色胺(5-HT)

许多试验表明,5-HT 能够抑制摄食。外周或下丘脑注入 5-HT 可使动物摄食量和摄食次数显著减少。中枢神经系统 5-HT 受一些外周饱食因子(如 CCK、肠抑素)血浓度的影响。5-HT 与瘦素抑制摄食的作用机制是:5-HT 是短期作用饱信号整合网络的一部分,而瘦素是长期能量保存的一个激素信使,两者都调节神经肽 Y 的活动,后者或许是前两者影响食欲表达的一个共同输出通路(Halford JC 和 Blundell J E, 2000)。

#### 2.6 食素(orexin)

食素是一组新发现的神经肽,主要功能是刺激摄食(Mondal M S 等,2000)。食素神经元主要分布于下丘脑内,包括下丘脑外侧区、背内侧核、弯隆周区和下

丘脑后区。何天培(2000)在大鼠脑室注射食素、神经肽 Y 后发现,orexin-A 可持续刺激摄食,orexin-B 对摄食的促进作用具有偶然性。这两种肽的增食作用都显著小于神经肽 Y,禁食 48 h 后,LHA 中的 orexin-A 和 orexin-B 的浓度都表现出增加的趋势。但其它脑区中的 orexins 含量则显著下降,表明它们作为一种神经递质或调质通过与神经网络的相互作用参与摄食调控(Nambu T 等,1999)。原位杂交组织化学研究表明,orexin 前体的基因表达在 ob/ob 和 db/db 小鼠中显著减少,而神经肽 Y 基因的表达在 ob/ob 和 db/db 小鼠的弓状核中则显著增加,表明 orexin 和神经肽 Y 对基因型肥胖小鼠的调控机制是不同的。

#### 2.7 黑素皮质素(MC; ACTH/MSH)

黑素皮质素类肽参与摄食和能量的调节,在能量内环境稳定中起中心通道的作用。它们主要由 leptin 激活,包括 agouti 相关肽(AGRP); $\alpha$ -促黑素素( $\alpha$ -MSH)及 MC-3、MC-4 两种受体。兴奋性配基  $\alpha$ -MSH 和抑制性配基 AGRP 的比率与黑素皮质素神经元在调节摄食和能量平衡中的作用密切相关。AGRP 可抑制 MC-4 活性,拮抗  $\alpha$ -MSH 对 MC-4 的激动效应,使动物表现肥胖。瘦素水平升高,诱导弓状核中  $\alpha$ -MSH 前体 POMC 表达,使  $\alpha$ -MSH 轴突分泌增加,激活 MC-4 受体,抑制动物摄食,脂肪组织减少,继而瘦素水平下降,构成一个反馈调节。

#### 2.8 ghrelin

ghrelin 是目前研究发现的唯一一个外周分泌的能促进动物食欲的激素。ghrelin 是由胃、肠、胰腺合成的一种肽,是促生长激素受体(GSH-R)的内源性配体,具有促进生长激素释放,增加食欲、脂肪积聚和体重,调节能量代谢平衡等功能。在禁食期间,血液中 ghrelin 浓度上升,采食后其浓度迅速下降。虽然最近的研究结果表明,循环中的 ghrelin 浓度不能预测采食的间隔时间(Callahan 等,2004),但 ghrelin 可能涉及到采食的开始(Cummings 等,2001),血液中 ghrelin 浓度可能主要受食入能量多少的影响,但 ghrelin 准确的分泌调节机制还不清楚。脑室内投予 ghrelin,弓状核神经肽 Y/AgRP mRNA 表达上升,它还可以活化单独分离出来的弓状核神经肽 Y 神经元,因此认为神经肽 Y 神经元介导了 ghrelin 的作用。ghrelin 活化神经肽 Y 神经元,而瘦素则抑制神经肽 Y 神经元,两者通过神经肽 Y 神经元这一共同靶靶进行相反地调节作用。关于两者

的反向关系,也可以从肥胖者血中瘦素浓度增加而 ghrelin 浓度降低这种激素水平的负相关性看出。

### 2.9 乙酰胆碱(ACh)

放置碳酰胆碱(CARB)于 LHA 后,鼠摄食增加。注射 CARB 到鼠、猫、羊和兔的乳头体、视前区、膈和海马等结构中,都可引起摄食活动,向膈区内注射阿托品则抑制摄食(金国章,1999),这些研究表明,ACh 可以通过边缘系统的许多结构,促进动物摄食。

### 3 迷走神经在摄食调控中的作用

迷走神经是由食物成分接触胃肠道所引起的进食相关信号传递到中枢神经系统中介导摄食与消化行为的部位,对摄食行为进行调节(Schwartz G J,2000)。目前认为,胃肠激素是提供信息给中枢神经网络以终止摄食的主要外周机制,迷走神经在这一过程中起重要的调节作用。切断迷走神经抵消某些胃肠激素的饱效应,刺激迷走神经则能引起某些胃肠激素的释放(Bray G A,2000)。这一现象说明迷走神经不仅介导胃肠激素的生物学效应,也控制胃肠激素的释放。电生理学研究提供了许多迷走神经与下丘脑之间相互联系的直接证据。刺激迷走神经胃支能诱发 LHA、VMH 和 PVN 神经元放电,胃迷走神经前干和后干的传入在下丘脑神经元上存在会聚(Yuan C S 等,1992)。另一方面,刺激 LHA 和 VMH 能引起大鼠胃迷走神经传出性活动增加,其中 LHA 使胃运动增强,VMH 使胃运动减弱(李在疏等,1983)。这些研究证实,迷走神经向食欲中枢传递来自胃肠道和外周血的相关信息,而食欲中枢也通过迷走神经传出性活动影响摄食行为。

### 4 结语

影响摄食的多种神经递质和激素在摄食控制中存在复杂的相互联系,共同发挥作用,调节摄食行为。但摄食调控的机制是一个复杂的生理生化过程,有许多问题还需要进一步研究。虽然现在通过外源添加一些活性因子调节激素或相关神经递质来调节动物采食量成为动物营养学上的研究热点,但目前能产生显著促食欲效果的产品还不多,今后应加强这方面的研究。

#### 参考文献

- 1 傅茂,李秀均.神经肽 Y 在物质代谢和神经内分泌调节中的作用[J].中华内分泌代谢杂志,1999,4 (15):169-17
- 2 何天培.肥胖研究的新发现——增食因子[J].生理科学进展,2000,31(1):74-75
- 3 金国章.胆碱能神经系统[M].基础神经药理学(第二版)科学出版社,1999.198-220

- 4 李在疏,中山沃.刺激饱中枢和摄食中枢对迷走神经胃支传出性活动和胃运动的影响[J].中华消化杂志,1983(3):247-249
- 5 徐淑静,徐明形,傅祖植.肥胖基因和瘦素[J].中华内分泌代谢杂志,1999,15(2):155-157
- 6 张月萍,王建军.摄食控制的神经体液机制研究进展[J].中国神经科学杂志,2001(4):350-353
- 7 Bray G A. Afferent signals regulating food intake[J]. Proc. Nutr. Soc., 2000,59(3):373-384
- 8 Callahan H S, Cummings D E,Pepe M S, et al. Postprandial suppression of plasma ghrelin level is proportional to ingested caloric load but does not predict intermeal interval in humans [J]. J. Clin. Endocrinol Metab., 2004, 89:1 319-1 324
- 9 Cummings D E, Purnell J Q, et al. Plasma ghrelin levels after diet induced weight loss or gastric bypass surgery [J]. N. Engl. J. Med., 2002, 346:1 623-1 630
- 10 Fink H, Res A, Voits M, et al. Major biological actions of CCK: a critical evaluation of research findings[J]. Exp. Brain Res., 1998, 123: 77-83
- 11 Harrison J K, Parson W R. Molecular characterization of adrenergic receptors[J]. Trends in Pharmacol. Sci., 1991, 12:62-67
- 12 Halford JC, Blundell J E. Separate systems for serotonin and leptin in appetite control[J]. Ann. Med., 2000, 32(3):222-232
- 13 Kalra P S. Use of Antisense Oligodeoxynucleotides to Study the Physiological Functions of Neuropeptide Y [J]. Methods, 2000, 22(3): 239-254
- 14 Mnnikes H, Lauer G, Arnold R. Peripheral administration of cholecystokinin activates c-fos expression in the locus coeruleus/subcoeruleus nucleus vagal complex and paraventricular nucleus via capsaicin-sensitive vagal afferents and CCK-receptors in the rat[J]. Brain Res., 1997, 770(1/2):277-288
- 15 Mondal M S, Nakazato M, Mizukami K, et al. Orexins(hypocretins): novel hypothalamic peptides with divergent functions [J]. Biochem. Cell Biol., 2000, 78:299-305
- 16 Nambu T, Sakurai T, Mizukami K, et al. Distribution of orexin neurons in the adult rat brain[J]. Brain Res., 1999, 827(1/2):243-260
- 17 Schwartz G J. The role of gastrointestinal vagal afferents in the control of food intake: current prospects[J]. Nutrition, 2000, 16:866-873
- 18 Vettor R, Fabris R, Pagano C. Neuroendocrine regulation of eating behavior[J]. Endocrinol Invest, 2002, 25: 836-854
- 19 Wang L, Barachina MD, Martinez V, et al. Synergistic interaction between CCK and leptin to regulate food intake [J]. Regul. Pept., 2000, 2(1/3):79-85
- 20 Wellmam P J. Norepinephrine and the control of food intake[J]. Nutrition, 2000, 16(10): 837-842
- 21 Wisialowski T, Parker R, Preston E, et al. Adrenalectomy reduces neuropeptide Y-induced insulin release and NPY receptor expression in the rat ventromedial hypothalamus [J]. J. Chin Invest, 2000, 105:1 253-1 259
- 22 Yuan C S, Barber W D. Hypothalamic unitary response to gastric vagal input from the proximal stomach[J]. AM J. Physiol., 1992, 262: 74-80

(编辑:高雁, snowyan78@tom.com)