

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》《中国学术期刊网》(光盘版)
全文收录期刊

2007年第28卷第21期

(总第306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

投稿邮箱:rl@feedindustry.com.cn

网站:www.feedindustry.com.cn

总编辑:沈桂宇

责任编辑:陈学智

广告全球(代理)沈阳同兴广告有限责任公司

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

邮箱:slxyqg@163.com

印刷:辽宁省印刷技术研究所

国内发行:辽宁省报刊发行局

国外发行:中国国际图书贸易总

公司(北京399信箱)

出版日期:每月5日、20日出版

国外代号:M4290

国内统一连续出版物号:CN21-1169/S

国际统一连续出版物号:ISSN1001-091X

邮发代号:8-163

发行范围:国内外发行

广告刊例:辽江广字01-82号

开户行:中信银行沈阳分行卓尚支行

帐号:72214101826000548-49

每册定价:6.00元

如需转载本刊文章及图片,请注明
源自《饲料工业》杂志,并寄样刊。

饲料

SILIAO GONGYE

工业

(半月刊)

目 次

- 特别关注**
- 1 中国饲料工业协会第五届理事会第二次全会暨第四届大型企业联谊会 in 扬州隆重召开
 - 3 牧羊集团四十周年庆典侧记
- 工艺设备**
- 5 我国预混饲料加工工艺流程分析
 - 8 饲料加工处理与营养物质利用率关系的研究和应用技术
- 营 养**
- 11 猪源 Cathelicidins 抗菌肽家族的研究进展
 - 14 禽类多肽受体的提取、纯化和鉴定研究
- 营 养 研 究**
- 15 能量对家畜卵泡发育的影响及调控
 - 20 体外消化法在动物上的应用
 - 24 母猪口粮中支链氨基酸水平对仔猪血液生化指标和部分免疫指标的影响
 - 27 不同贮藏程度玉米粉的淀粉糊化度研究
 - 31 饲喂次数对育肥猪非采食期行为规律的影响
- 检测技术**
- 34 应用巢式PCR技术对水产饲料及食品转基因成分检测的研究

- 39 高效液相色谱法同时测定鸡蛋中恩诺沙星和环内沙星的残留
- 饲 养 试 验**
- 41 代乳粉在早期断奶仔猪中的应用
 - 44 牛至油对断奶雏兔生长性能和免疫器官的影响
- 反刍动物营养**
- 47 微生物发酵精饲料对喂奶牛效果观察
 - 50 不同蛋白质水平代乳品对羔羊生长性能的影响
- 专 题 论 述**
- 53 大豆抗原蛋白的生物学特性及其对仔猪的过敏反应
- 问 题 探 讨**
- 57 畜牧行业实验室污染的种类及无害化处理措施
- 资 源 开 发**
- 59 啤酒副产品在饲料工业中的应用
- 工 作 研 究**
- 62 产业化养猪是河北省现代化养猪业发展的必由之路
- 信 息 采 摘**
- 49 冬季养鸡莫忘饮水

企业标识展示



正启人才工程
(0519)7309867



通威集团
(028)85188888



江苏中农
(0514)7848811



江苏北方
(0412)3430018
(024)88080922



东阳自动化
(0515)3719406



FOSP
江苏凤友
(0519)88309988



Dobeite-victory
迪高·维尔
www.dobeite-victory.com
(029)87053008



希达机械
(0519)87906658



KDN
康地恩生物
(0532)38966607



武汉振华
(027)83359722



King's Feed Additive
杭州康德威
(0571)86433111



King's Feed Additive
杭州康德威
(0571)86433111



Yingchun
山东迎春钢板仓
(0534)8057585



江苏山成
(0455)7703213



Haid
广州海大
(020)84601699



Haid
广东山田比克
(0760)3113061

齐聚扬城 共谋发展

中国饲料工业协会第五届理事会第二次全会在扬州隆重召开



① 中国饲料工业协会第五届理事会第二次全会大会现场

正值中国共产党第十七次全国代表大会在北京隆重召开之际,中国饲料工业协会第五届理事会第二次全会于10月17日上午在扬州迎宾馆隆重举行。出席这次盛会的有原国务院副秘书长、中国饲料工业协会会长白美清,原化工部副部长、中国饲料工业协会常务副会长谭竹洲,农业部畜牧业司司长王智才,扬州市市长王燕文,江苏省农林厅副厅长王春喜,中国饲料工业协会秘书长谷继承,中国饲料工业协会副会长季之华、王随元,中国饲料工业协会顾问王维四,中国饲料工业协会副秘书长沙玉圣,扬州市邗江区区委书记程裕松,邗江区区长程希,中国饲料工业协会常务副会长、广东恒兴集团董事长陈丹,湖南正虹科技董事长吴明夏,广东温氏食品集团董事长兼总裁温鹏程,唐人神集团董事长陶一山,中国饲料工业协会副会长、大北农集团董事长邵根伙,中国农科院饲料所所长蔡辉益,江苏正昌集团有限公司董事长郝波,中谷集团饲料公司总经理刘晓雨,山东六和集团副董事长黄炳亮,江西正邦集团董事长林印孙,正大(中国)投资有限公司总裁谢毅,广东海大集团董事长薛华,江苏牧羊集团董事长李敏悦及各省饲料工业协会负责人,大型饲料企业代表,国内主要媒体单位共300余人。

开幕式由白美清会长主持并致辞,江苏省农林厅副厅长王春喜和扬州市市长王燕文分别作了热情洋溢的讲话。

王智才司长首先作了《当前畜牧业和饲料工业经济运行形势及未来走势分析》的专题报告。谷继承秘书长向大会作了中国饲料工业协会第五届理事会工作报告,报告就两年来协会开展的主要工作做了说明,并明确提出协会今明两年的八项工作重点:一是继续加强调查研究,加大配合立法工作力度;二是继续做好饲料许可证的审核与监管工作,协助抓好饲料安全监管;三是全面推进饲料工业标准化,切实加强饲料产品质量认证工作;四是加快行业科技创新步伐,提高行业从业人员素质;五是继续做好2008年饲料行业名牌产品评价的组织和服务工作,进一步密切与大型饲料企业的联系;六是筹备好2008年中国畜牧业暨饲料工业展示交易会、第十届全国饲料添加剂大会和2008年饲料发展高层论坛;七是进一步加强国际合作与交流,不断强化行业宣传信息工作;八是积极探索和研究,切实加强协会自身建设。

会议期间季之华副会长就调整、增补第五届理事会部分副会长、常务理事和理事做了说明。

此次中国饲料工业协会第五届理事会第二次全会由中国饲料工业协会和江苏牧羊集团共同主办,得到了与会领导和嘉宾的一致好评。



② 第五届理事会第二次会长办公会现场

17日下午,第五届理事会第二次会长办公会召开,会议由白美清会长主持,与会的会长、副会长共同探讨了当前饲料工业运行形势、出现的困难、发展的出路和对未来协会发展的建议。

整合提升 扩大联合 和谐共赢

中国饲料工业协会第四届大型企业联谊会在扬州召开

10月18日,由中国饲料工业协会和江苏牧羊集团共同主办的中国饲料工业协会第四届大型企业联谊会在扬州隆重举行。此次大会以“**整合提升 扩大联合 和谐共赢**”为主题。

出席本次大会的有原国务院副秘书长、中国饲料工业协会会长白美清,原化工部副部长、中国饲料工业协会常务副会长谭竹洲,中国饲料工业协会秘书长谷继承,中国饲料工业协会副会长季之华、王随元,中国饲料工业协会顾问王维四,中国饲料工业协会副秘书长沙玉圣,中国饲料工业协会常务副会长、广东恒兴集团董事长陈丹,湖南正虹科技发展股份有限公司董事长吴明夏,广东温氏食品集团董事长兼总裁温鹏程,唐人神集团董事长陶一山,中国饲料工业协会副会长、大北农集团董事长邵根伙,中国农科院饲料所所长蔡辉益,江苏正昌集团有限公司董事长郝波,中谷集团饲料公司总经理刘晓雨,山东六和集团副董事长黄炳亮,江西正邦集团董事长林印孙,正大(中国)投资有限公司总裁谢毅,广东海大集团董事长薛华,大会执行主席、中国饲料工业协会副会长、江苏牧羊集团董事长李敏悦及大型饲料企业代表等200多人。

会议由谷继承和李敏悦共同主持,江苏牧羊集团董事长李敏悦作为本次大会执行主席致开幕词。

白美清会长作《努力培育饲料行业的领军企业》专题报告,详细阐述了“**整合提升 扩大联合 和谐共赢**”的重要意义,建议中国大型饲料企业要站得更高,看得更远,成为中国乃至世界范围内农牧饲料行业的领

军企业。

会议中,江苏牧羊集团总裁范天铭首先作了《扩大联合,合筑未来》的专题报告,向与会领导和嘉宾从五个方面系统阐述了牧羊实现国际化的战略目标,一是积极加快牧羊的技术创新步伐;二是积极构建牧羊特色的国际化销售服务网络;三是积极推动产品、工程精品化战略的实施;四是积极推进管理的精细化;五是积极推进人才精英化建设,培养专家型服务人才。

大会期间,新希望集团四川南方希望实业有限公司副总裁严虎作了《聚合优势,快速发展》,北京大北农集团董事长邵根伙作了《构建服务平台,促进成员企业共同发展》,中谷集团饲料有限公司总经理刘晓雨作了《重组整合,形成合力,服务三农,促进发展》的专题报告,最后山东六和饲料集团副董事长黄炳亮代表177家饲料和饲料添加剂大型骨干企业宣读《确保饲料安全承诺书》。



中国饲料工业协会第四届大型企业联谊会现场



和谐创业 合筑未来

——中国饲料工业协会白美清会长为牧羊四十华诞题词

10月18日下午,出席牧羊集团四十华诞庆典的中国饲料工业协会会长白美清,在看到牧羊集团四十年来所取得的成绩时,表示由衷的高兴和赞许,欣然挥毫题词:“和谐创业 合筑未来”,勉励牧羊集团做强、做大饲料机械产业,将牧羊集团发展成为国际化的知名企业。

共庆牧羊四十华诞,奏响百年品牌号角

——牧羊集团四十周年庆典系列活动

10月18日,是牧羊集团四十周年的生日,也是全体牧羊人和所有合作伙伴值得欢庆的好日子。四十年来,作为中国粮油饲料机械行业的领军企业,牧羊集团得到了来自政府部门、行业领导、合作伙伴、供应商等各个方面的鼎力支持和厚爱。牧羊今天的辉煌是由所有关心牧羊的人共同努力的结果,此时此刻,全体牧羊人怀着一片感恩之心道出深深感激之情:“谢谢您!”

四十年的辉煌只能代表过去,百年的企业才是牧羊人共同追求的目标。多年来,牧羊一直有一个愿望,

出席牧羊展示中心揭幕仪式的领导与嘉宾



就是能够成为中国饲料加工工艺及设备的专业研究者、倡导者、领航者,能够成为行业内的世界一流企业。为了实现这一宿愿,牧羊人一直在不断创新、锐意进取。为推动中国农牧加工业跻身国际先进行列而努力奋斗。为此,牧羊人已作好全面准备,向着既定的目标大步前进!

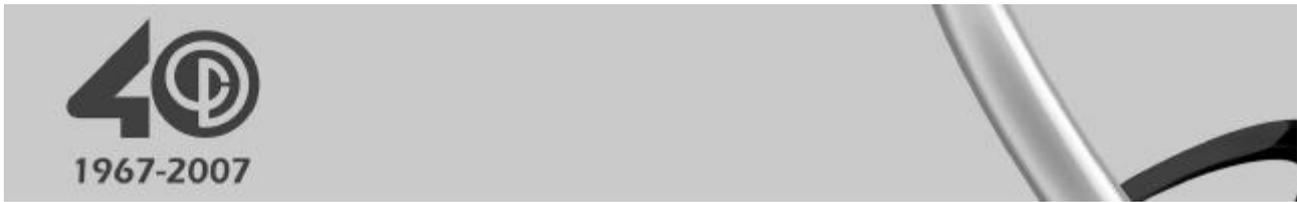
庆典期间,牧羊员工同时自发组织了一系列的庆祝活动,有“千人签名活动”、“合筑未来·揭幕仪式”、“庆典文艺晚会”、“双庆杯篮球赛”、“足球赛”、“广播操大赛”、“书画作品展”等。



牧羊展示中心揭幕仪式现场



千人签名活动



金秋和弦 相约牧羊

——牧羊集团四十周年庆典晚会侧记



国际化的牧羊员工与舞蹈演员共同演出

青春帅气的主持人亚宁，古典韵味的舞台效果，激动人心的经典歌曲《好日子》，精彩绝伦的绳技，幽默喜悦的小品《阴错阳差》，动感出彩的歌舞表演……所有的这一切，汇成了一台精彩纷呈、感动人心的“牧羊四十周年”庆典晚会。

当晚，来自全国各地参加“中国饲料工业协会第五届理事会第二次全会暨第四届大型企业联谊会”的各位代表、政府嘉宾、业界伙伴与牧羊集团的员工们欢聚一堂，共同庆祝牧羊集团成立四十周年之喜。

绚丽的歌舞表演，夺目的明星助阵，整台晚会紧紧围绕“合筑未来”这一主题，始终在一种分享喜悦的温馨氛围中进行着。晚会以一曲代表全体牧羊人祝福的《好日子》拉开了欢乐的序幕，温馨可亲的苏北名歌

牧羊员工和著名歌手苏云表演《感恩的心》



联唱，惊心动魄的杂技表演，牧羊外籍员工精彩的歌唱演出，大兵、赵卫国的经典小品，牧羊员工奉上的感



著名小品演员大兵、赵卫国幽默演绎《阴错阳差》等经典小品



牧羊外籍员工和歌手郝歌激情演唱《好一朵茉莉花》、《千万次的问》

恩花环，精神焕发的牧羊员工大合唱《让我们共同前进》，台上的欢快演绎、台下的掌声雷动……，所有的这一切，构成了一幅多彩的欢聚场景，其乐融融、其景可享、其情可感，充分体现出了牧羊国际化企业的文化底蕴和积极的团队形象。

晚会最后在牧羊员工的掌声和全球三十多家代理商的祝福声中结束，再次向世人表达了 1 000 多名牧羊员工坚决实现“创国际一流品牌、铸牧羊百年基业”宏伟目标的信心和决心。

我国预混合饲料加工工艺流程分析

李军国 秦玉昌 李俊 牛力斌

预混合饲料是配合饲料的核心,一般包括6、7种微量元素,15种以上的维生素,2种氨基酸,1~2种药物及其它添加剂(抗氧化剂和防霉剂等),虽然仅占配合饲料的0.5%~5%,但对动物生产性能的提高、饲料转化率的改善以及饲料的贮存都有很大的作用。预混料不仅在配方设计中体现出相当的技术含量,而且在原料进料、计量混合、成品包装储藏、除尘等加工工艺方面具有较高的要求,其质量好坏直接关系到饲料产品的质量和安全。

1 预混料加工基本工艺要求

预混料具有原料品种多、成分复杂、用量相差悬殊、理化性能差异大、物料粒度细且许多物料具有毒性等特点,大大增加了其加工的复杂性,其工艺主要有以下要求。

① 工艺流程应简短。生产预混合饲料的工艺要抓住两个环节,一是精确配料,二是均匀混合,完成这两个生产工序后,最好不要再经输送,直接打包,以减少成品的分级,防止交叉污染。

② 配料精度要求高。预混合饲料的原料品种多,配比量相差大,称量精度要求达到:微量成分0.01%~0.02%,中量成分0.03%~0.05%,常量成分0.1%,载体0.25%。因此在工艺上一般设置3~4个配料点,每一个配料点称同一种重量等级的原料,量大的用大秤,量小的用小秤。

③ 混合均匀度要求高。混合机的混合均匀度变异系数(CV)不得大于5%,最好采用大开门出料门,减少机内残留,残留量应小于100 g/t,以减少微量组分的污染。

④ 原料活性保护。各种饲料添加剂的性质和作用各不相同,相互间容易产生化学反应而影响其活性,配伍关系复杂,应最大可能地保护活性成分的活性。

⑤ 设备耐腐蚀。预混合的原料多数为活性物质,对设备的腐蚀很强,除载体、稀释剂和非活性物质外,其余与活性物质相接触的设备均应采用耐腐蚀的不锈钢制造。

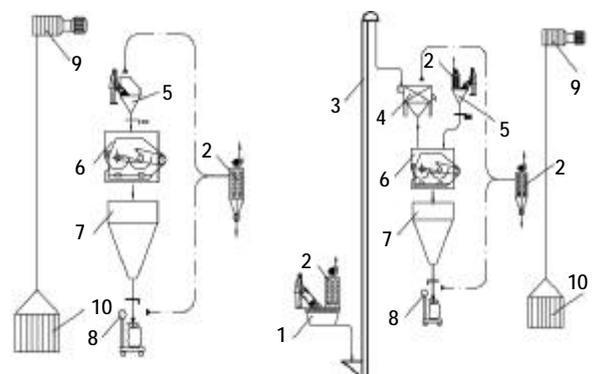
⑥ 粉尘控制。预混料粒度细,在生产的很多环节都会产生粉尘,粉尘问题是预混合饲料厂安全生产和环保工作的重点,必须采取有效措施对粉尘进行控制。各设备或连接处应密封,在各微量组分配料点、投料点、打包点、人工操作区和成品库内,都应配有相应的吸风罩、吸风口,除尘设备应选择性能较好的除尘器。

2 预混合饲料主要加工工艺

我国预混合饲料厂大多都不进行原料处理,所需的原料如维生素、抗生素、微量元素、载体等都是由专门从事这方面原料加工的企业来提供,不需要配备原料预处理工序,如粉碎、干燥等,因此,我国预混料加工工序主要包括原料接收、清理、配料、混合、打包、除尘等。按照配料的自动化程度,将预混合饲料加工工艺分为三类:人工配料、载体与常量成分自动配料、全自动配料。

2.1 人工配料加工工艺

我国中小型预混料加工企业目前主要采用人工配料加工工艺,根据原料的上料方式不同,分为全部原料由电动葫芦上料和载体与常量成分斗提机上料两种,具体工艺流程如图1所示。



a. 电动葫芦上料

b. 载体与常量成分斗提机上料

1. 载体投料斗 2. 除尘器 3. 斗提机 4. 初清筛 5. 小料投料斗
6. 混合机 7. 成品仓 8. 台秤 9. 电动葫芦 10. 提筐

图1 预混料人工配料加工工艺流程

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

秦玉昌、李俊、牛力斌,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-08-20

★ “十一五”国家科技支撑计划课题(2006BAD12B09)及科研院所社会公益研究专项(2004DIB4J151)

由工艺流程图可以看出,采用图 1a 加工工艺,所有原料全部由人工搬运到提筐内,经电动葫芦提升到投料平台上,再由人工搬出,按配方要求投入到混合机中,目前许多小型预混料加工企业采用此工艺。采用图 1b 加工工艺,载体与常量成分经人工按每批物料的配比投入到斗提机的投料斗内,斗提机直接提升并经初清筛去除杂质后,进入到混合机中,中量及微量成分由人工搬运到提筐内,经电动葫芦提升到投料平台上,再由人工搬出,按配方要求投入到混合机中。工艺 b 与工艺 a 相比,设备投资稍大一点,但对于产量较大的预混料企业,可以降低工人的劳动强度。

人工配料是一种最为简单的预混料加工形式,混合机架在一定高度的平台上,配料、进料、开机、停机和出料均由人工操作,具有灵活方便、投资低的优点,但存在费时、劳动强度大、生产环境差、易造成人为失误等缺点。

2.2 载体与常量成分自动配料加工工艺

随着预混料加工业的发展和国家对饲料安全的重视,许多中、大型预混料企业对原有的工艺设备进行了更新升级,载体与常量成分采用自动配料,维生素和微量元素经人工配料、预混合后,再由人工投入到混合机中。具体工艺流程如图 2 所示。

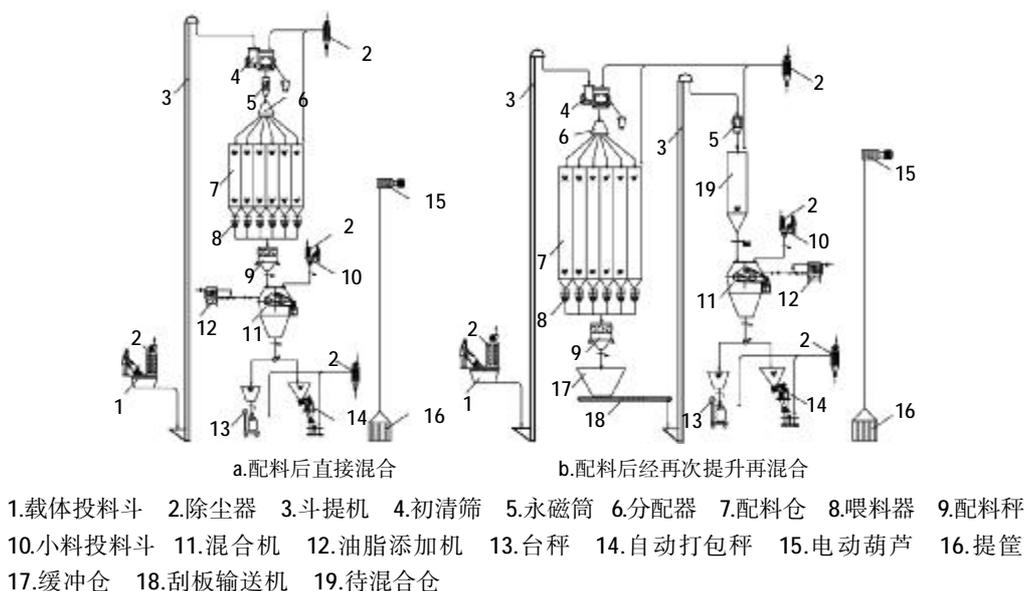


图 2 载体与常量成分自动配料加工工艺

由工艺流程图可以看出,采用图 2a 加工工艺,载体与常量成分经自动配料后直接落入混合机,与人工配料添加到混合机的维生素、微量元素预混料充分混合,混合好的物料落入成品仓直接打包。图 2b 加工工艺与图 2a 相比,载体与常量成分自动配料后须经斗提机提升到待混合仓,再与人工配料添加的维生素、微量元素预混料混合,这样有利于大幅度降低生产车间的高度,但由于增加了水平和垂直输送设备,不仅设备投资相对增加,还增大了产品间交叉污染的可能性。

的物理化学性质等将配料系统分为四部分:载体与常量成分自动配料系统、维生素预混料自动配料系统、微量矿物盐预混料自动配料系统和小剂量微量元素及其它微量添加剂人工配料添加系统。具体工艺流程如图 3 所示。

由于该工艺重量占 80% 左右的载体与常量成分采用自动配料,成品采用自动打包,与人工配料加工工艺相比,工艺配置比较完善,可以降低工人的劳动强度,改善工作环境,提高配料精度和工作效率。

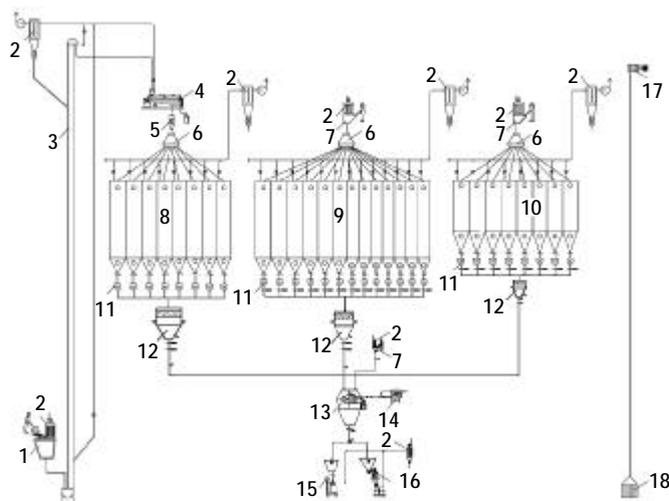
本工艺具有流程科学、合理、实用,路线简短,物料按类专线输送,避免了物料间的交叉污染;配料工艺自动化程度高,保证了较高的精确度;各除尘点分别处理,使粉尘得到很好的控制。本工艺投资成本较高,适合于大型预混合饲料加工生产线。

2.3 全自动配料加工工艺

3 预混合饲料加工工艺发展趋势

全自动配料加工工艺根据原料的用量大小、物料

配料精度和准确性、混合均匀度、残留和交叉污染、粉尘控制等是预混合饲料生产中的重大问题,也是人们最关心的问题。微量添加剂组分配料精度,人工配料失误控制,无残留或低残留混合、输送、仓储设备研究开发,无交叉污染的预混合饲料生产工艺技



1.载体投料斗 2.除尘器 3.斗提机 4.初清筛 5.永磁筒 6.分配器 7.投料斗 8.载体与常量成分配料仓
9.维生素预混料配料仓 10.微量矿物质预混料配料仓 11.喂料器 12. 配料秤 13.混合机 14.油脂添加机
15.台秤 16.自动打包秤 17.电动葫芦 18.提筐

图3 全自动配料加工工艺流程

术,生产车间粉尘控制技术是预混合饲料加工急需解决的关键工艺技术。

3.1 配料精度和准确性

为了保证预混合饲料配料精度和准确性,电子微量配料秤在发达国家饲料生产中早已推广使用,只是对一些药物和极微量添加剂采用人工称重添加,我国微量成分都是通过人工称重、稀释放大后再自动配料或直接投入混合机中。采用电子微量配料秤,不仅可以提高预混合饲料的配料精度和准确性,还能够降低工人的劳动强度,改善工人的工作环境,但由于各种添加剂品种多、用量少、某些原料具有腐蚀性,还有许多药物具有专一性,要求微量配料秤的精度高、称量范围小、防腐蚀、易清理、无残留。国内在电子微量配料秤制造方面与国外还有很大差距,而进口微量配料秤造价较高,且有些微量配料秤性能不稳定,致使国内使用电子微量配料秤的企业很少。

3.2 人工配料失误控制

针对添加剂预混合饲料生产中微量组分人工配料添加容易出错、称量精度难以有效控制以及生产管理困难等许多实际问题,国外将条码技术应用在微量组分的计量、配料和投料控制,通过条码技术来保证微量组分添加过程的准确性。国内在微量组分配料、添加方面均是通过加强小品种添加工人的责任心和岗位职责及操作规范进行管理和质量控制,完全是一种基于人的管理监督机制。

3.3 残留和交叉污染控制

国内载体与常量成分的输送以斗式提升机和U

型刮板输送机为主,配套设施简单,运行费用少,投资成本低廉,但相对而言它的残留较高,交叉污染较严重,需要经常清理。在国外,目前使用前景较好的是高压高浓度低速气力输送系统,它使用范围广泛,残留很少,交叉污染小,不需要经常清理,既解决了分级问题,又解决了积料污染问题,是其它输送形式无法比拟的,但此系统配套设施多,运行费用高,投资成本高很多。目前使用量在逐渐增加。

3.4 粉尘控制

粉尘问题是预混合饲料厂特别是中小企业急需解决的问题,应在每一个投料口、打包口、斗提机卸料处进行独立吸风除尘,边除尘、边回收,如果采用集中除尘,回收料要单独存放,特殊处理。每个配料仓都必须设吸尘点,配料秤与混合机之间应有回风装置。

4 小结

目前国内预混合饲料加工工艺差异较大,繁简不一,效果也各不相同,在保证配料精度和准确性及混合均匀度的前提下,必须解决好残留问题、交叉污染问题、粉尘问题。大型预混合饲料加工技术是未来我国预混料生产的关键,也是我国全面提高预混合饲料生产科技水平,保证其产品品质及改善预混合饲料加工厂生产环境的社会需求。

(参考文献若干篇,刊略,需者可函索)

(编辑:崔成德, cuiengde@tom.com)

饲料加工处理与营养物质 利用率关系的研究和应用技术

周佳萍 杨在宾 王景成 逢伟

摘要 随着畜禽营养学和畜禽养殖业的发展,人们逐渐认识到,不仅营养成分的配比会影响畜禽对饲料的利用率,而且对饲料的加工处理,如粉碎、制粒、膨化等也影响饲料中各种营养成分的利用效率。质量保证是 21 世纪饲料企业赖以生存的四大重要因素之一,而饲料的加工处理过程则是保证饲料产品质量,提高畜禽利用率,使生产性能得以充分发挥的最为重要的环节。因此,只有将畜禽营养学与饲料加工处理有机的结合,才能充分利用饲料的营养价值,使畜牧业迅速有序的发展。文中主要讨论了粉碎、制粒、膨化等主要饲料加工处理过程与营养物质消化率的关系,及国内外学者对此的研究和应用进展。

关键词 饲料加工处理;营养利用率;应用技术

中图分类号 S816.34

饲料占养殖业生产成本的很大一部分,所以提高饲料中营养成分利用率对节省开支、增加利润具有重大意义。影响饲料产品质量的因素是多方面的,其中饲料配方是否科学合理及饲料加工处理环节,是影响饲料产品最终质量的关键。在饲料配方完善的基础上,如何通过饲料加工处理来进一步提高饲料营养利用率,进而提高畜禽生产性能,是降低成本,确保饲料工业健康稳定发展的坚强支柱。

1 粉碎工艺

粉碎是提高饲料质量的重要工序,是使饲料得到合理利用的必要手段之一,一般原料及大块饼粕等都需要进行粉碎。各种饲料原料只有粉碎到一定的粒度,才能混合均匀,并减少了混合后的自动分级;粉碎可提高饲料的调质效果,使颗粒饲料的制作便于进行,从而提高了制粒的效率与质量。

1.1 粉碎粒度

粉碎粒度是指粉碎后成品物料颗粒的大小。粉碎的粒度应根据家畜种类、年龄、生理状态及工艺要求而定。从理论上讲,每一种畜禽在其不同的生理阶段或不同种畜禽之间都有其最适粒度,如肉鸡饲料的粒度可大些,在 15~20 目即可;鱼虾饲料的粒度要求高一些,一般在 40~60 目;特殊饲料的粒度要求更高,在

80~120 目。日粮中谷物的种类也决定饲料的颗粒度。含纤维素高的饲料,如大麦等,粉碎后会大幅度地改善其饲喂价值,细粉碎的大麦对猪的增长速度高于粉碎中度的大麦;小麦面筋较粘糊,粉碎过细会减少猪的饲料采食量,所以在加工小麦时一般采用挤压粉碎机,可生产颗粒度均匀且粉面少的饲料。

1.2 粉碎与饲料营养利用率的关系

① 粉碎可以促进淀粉的糊化,有利于畜禽的消化吸收。

② 粉碎破坏了皮对谷物的保护,增大了饲料的表面积,增加了饲料与消化酶或微生物的接触机会,且对饲料活性成分基本没有影响,从而提高了饲料养分的消化率。

③ 畜禽采食量与饲料的粒度有关。许多饲料原料尺寸较大,不便于畜禽采食,须经适当粉碎才便于畜禽摄入,提高采食量,进而提高畜禽生产性能。

④ 粉碎粒度过粗或过细都对畜禽消化产生不利影响。如果粉碎过粗,将会影响采食及采食后的物理性消化;如果粉碎过细,则因过细的微尘易引起畜禽呼吸系统和消化系统障碍,导致畜禽消化道溃疡、降低采食量等营养上的不良后果。过度粉碎会使饲料的温度因筛孔的缩小而升高,从而增加由于水分损失造成的重量损耗,增加饲料的加工成本。

1.3 粉碎对畜禽生产性能的影响

一般来讲,幼龄猪咀嚼饲料的能力强于生长育肥猪,所以,通过破碎饲料以提高饲料利用效率潜力最大的是育肥阶段。但是,无论年龄的大小,粉碎或挤压破碎都能改善饲料的利用效率。Goodband(1985)用破碎的玉米和高粱饲喂仔猪,结果表明,颗粒的大小并

周佳萍,山东农业大学动物科技学院动物营养系,271018,山东省泰安市岱宗大街 61 号。

杨在宾、王景成,单位及通讯地址同第一作者。

逢伟,烟台经济开发区兽医卫生监督检验所。

收稿日期:2007-09-09

不影响猪的日增重,但是试验组仔猪饲料转化效率都有不同程度的改善。粉碎后的饲料相对粗糙的饲料有利于消化道的发育。据国外报道,玉米、高粱颗粒粒径小时未能改善7~28日龄肉鸡的生产性能;将粉碎粒度由1.0 mm减为0.4 mm时,产蛋鸡产蛋率、蛋重及饲料转化率有所提高。Nir等(1994)研究指出,肉仔鸡日粮中谷物粉碎粒度以中等颗粒为宜,即几何平均直径(GMD)为0.7~0.9 mm,此时增重效果和饲料转化效率最好,粒度过大则出现不利影响。

2 制粒工艺

颗粒饲料具有许多优点,饲料经蒸汽热能、机械摩擦能和压力等因素的综合作用,可杀灭饲料中的各种有害菌并提高饲料消化率等,但制粒过程中的热加工会造成热敏性营养成分的失效,降低饲料效果,因此有效加工是最新的发展趋势。

2.1 制粒与营养物质利用率的关系

① 制粒过程中的蒸汽调质作用使淀粉糊化、蛋白酶抑制剂和其它抗营养因子钝化、蛋白质变性,提高了养分的生物学效价,使畜禽对饲料的利用率提高。

② 制粒使各种氧化酶及脂肪酶失活,减少了饲料中脂肪酸特别是不饱和脂肪酸的氧化分解,提高了饲料营养价值、贮藏性能;同时,由于油细胞破裂,油脂浸到细胞表面,改善了饲料的适口性和外观。

③ 制粒工艺过程可以减少或抑制饲料中某些细菌、霉菌和抗营养因子的作用,延长储存期,减少动物发病,提高生产性能。

④ 颗粒料同粉料相比,减少了饲料的自然分级现象,可以避免畜禽对某些饲料的挑食而造成的营养不均衡;同时,颗粒配合饲料营养全面,适口性好,并且可缩短动物的采食时间,有利于提高动物生产性能。

⑤ 制粒过程中,高温、高湿的条件下,为维生素氧化还原反应提供了能量和介质,导致维生素分解,同时也影响了抗生素、益生菌等添加剂在制粒过程中活性降低或破坏。应根据实际情况调整添加量。

2.2 制粒对畜禽生产性能的影响

李德发等研究表明,饲料制成颗粒后饲喂断奶仔猪可改善饲料转化效率,且早期试验阶段的效果更为明显,饲料转化效率可提高10%左右,最高的可达34%左右。Fitzner(1989)研究用不同程度烘烤的葵花籽制作颗粒和不制作颗粒对仔猪生产性能的影响,试验制粒温度为70~80℃,制粒后立刻烘干并破碎分级包装,加热蒸汽制粒较干制粒饲喂效果好。美国堪萨斯州立大学的S. L. Traylor等(1996)研究了颗粒大小对断奶仔猪及肥育猪生产性能的影响,表明断奶仔猪

颗粒饲料的粒径从2.38 mm增加到3.97 mm时饲料效率有改善的趋势;颗粒饲料对肥育猪的试验表明,颗粒饲料的饲料效率高于粉料,随着粒径由2.38 mm增加到12.7 mm,猪增重加快,采食量增加,但饲料报酬有变差的趋势,粒径大小几乎不影响肉品品质。Stark(1993)研究表明:颗粒中的细粉含量也会影响动物的生产性能,仔猪饲料中的粉料含量从20%上升到40%,饲料转化率明显下降,肉鸡料中含75%颗粒料比含25%颗粒料的平均日增重和饲料转化率明显提高。

3 膨化工艺

膨化工艺是近几十年来发展起来的一种饲料加工工艺新技术。谷物膨化有两种工艺,一种是挤压膨化,一种是气流膨化。膨化在高温高压的条件下进行,它能引起饲料的物理和化学性质的变化。

3.1 膨化对饲料营养价值的影响

① 在高温高压处理下,饲料中积蓄大量能量,随着温差和压差的作用,饲料体积迅速膨胀,水分迅速蒸发,使饲料组织受到拉伸破坏成为无数细微多孔的海绵结构,体积膨大到几倍或十几倍。膨化饲料比重小,含水量少,可以长期贮存。

② 膨化可改变淀粉结构,引起淀粉类型的变化。这可能是由于支链淀粉中的部分侧链被切断,增加了直链淀粉的比例,并使淀粉结晶结构遭受破坏而转变成 α 型淀粉。玉米膨化前 α 度仅为13.58%,经挤压膨化和气流膨化后,淀粉 α 度分别可提高至81.55%、50.88%。淀粉膨化度越高,越易被酶利用。同时 α 型淀粉可提高颗粒的粘结效果,减少损失。

③ 膨化可使构成植物细胞壁的纤维素、半纤维素结构破坏,分子间的键可部分断裂,提高畜禽对其消化率。

④ 膨化能提高脂肪、蛋白质等营养物质的利用率。膨化可使饲料原料中微生物分泌的脂肪酶失活,从而提高饲料的贮藏性能。同时膨化也使蛋白质等大分子物质切成小分子物质,并形成了与原有物质不同的新物质,即饲料发生了化学性质的变化。

⑤ 膨化可使饲料水溶性物质增加,说明膨化后饲料易被畜禽消化吸收。膨化因加工时间较短,维生素等营养素损失较少,膨化条件控制得当,将会提高动物的生产性能。

3.2 膨化降低饲料中的抗营养因子

膨化可降低饲料原料的免疫原性。高品质的乳猪饲料其蛋白质主要来源于乳制品,如全脂奶粉、乳清粉、酪蛋白等,但其制粒难,且价格昂贵。各国科学家正寻找新蛋白源。血浆蛋白虽然是一种优质的蛋白质来

源,但畜禽性蛋白所引起的一系列疾病等问题制约了它的发展,所以,植物性蛋白饲料就成为人们研究的热点。大豆饼粕一直是饲料的主要蛋白质来源,但含有红细胞凝集素、抗胰蛋白酶因子、过敏因子等,影响了仔猪对大豆饼粕的利用。Hancock等(1989)研究发现:大豆饼粕制作过程中热处理可以破坏其中的抗胰蛋白酶因子。大豆中的复合蛋白质能引起早期断奶仔猪的过敏反应,导致绒毛降低,绒毛上出现未成熟肠细胞等,造成仔猪消化不良并引起仔猪腹泻。譙仕彦等试验证明:膨化处理豆饼降低了仔猪皮褶厚度,血清中抗大豆球蛋白和 β 球蛋白效率提高,腹泻率降低。说明膨化降低了豆饼脲酶活性,引起碳水化合物结构变化,使仔猪对其易消化,降低了过敏反应。膨化技术还可用于棉籽饼粕、菜籽饼粕等的脱毒处理。国外有研究用棉籽与大豆(1:1)混合膨化,用其饲喂奶牛,当饲喂量增至3.6 kg/(d·头)时没有影响奶牛的健康。

3.3 膨化对畜禽生长性能的影响

李德发等(1992)试验发现,仔猪采食膨化熟豆粕可降低腹泻率,提高生产性能,且仔猪的血清尿氮明显低于熟豆粕组,表明膨化后氮的利用效率较高。Hancock(1991)研究发现,膨化全脂大豆、膨化高粱并不能提高生长速度,但饲料转化率可提高5%左右,同时改善了膨化原料的干物质和氮消化率。不同种类饲

料膨化后效果不一样,膨化高粱干物质和氮消化率比膨化全脂大豆要高。譙仕彦、李德发等(1997)研究了膨化参数对猪生产性能的影响,试验表明:膨化全脂大豆可提高猪的生长性能,但膨化效果受膨化参数的影响,膨化温度为145℃时的猪日增重、采食量、饲料转化率均优于温度为135℃时。蒋雨等(2004)研究表明,膨化制粒日粮比粉料日粮可提高仔猪日增重8.96%,饲料利用率提高13.42%,干物质、粗蛋白、粗脂肪、粗纤维表观消化率提高4.83%、1.68%、44.26%、22.01%,每头猪节约饲料成本34.5元。Muirhead(1995)报道,大麦和燕麦的膨化处理(130~135℃)可提高反刍动物小肠氨基酸流量。这是由于膨化降低了饲料中蛋白质的溶解性,从而提高了过瘤胃蛋白水平。

综上所述,饲料加工处理可以改善各种饲料的营养价值,不仅扩大了饲料的来源,增加了非常规饲料的利用,而且还提高了畜禽的生产性能,降低了养殖成本。但是,饲料加工处理过程中,各种参数的确定还有待进一步的细化。因此,今后在开发应用新的加工处理手段时,既要提高饲料营养价值,又要确定各种设备的参数,使饲料的营养利用率得到最大的发挥,提高畜牧业的经济效益和社会效益。

(参考文献18篇,刊略,需者可函索)

(编辑:崔成德, cuicengde@tom.com)

第三届水产饲料高级配方师培训班胜利闭幕

由中国畜牧兽医学动物营养学分会主办,北京英惠尔生物技术有限公司承办的第三届水产饲料高级配方师培训班,于2007年10月15~17日在北京郁金香温泉花园度假村隆重开班。会议由北京英惠尔生物技术有限公司技术总监王宏博士主持,作报告的专家、学者以及全国近200多家企业的代表300余人参加了培训。

与会的专家、学者就当前水产饲料配方技术及行业发展中的一些问题分别作了报告。上海水产大学杨毅博士和台湾静宜大学终身国家讲座教授萧锡廷就行业的发展趋势分别作了关于水产养殖结构和模式的未来走势和水产动物营养的反思和再评估的报告;中国农业科学院饲料所薛敏博士和北京英惠尔生物技术有限公司董事长兼总经理任泽林博士就水产饲料原料营养研究方面分别作了关于蛋白质原料最新营养价值评估报告及水产饲料原料利用率第二版数据库解读和非常规动物蛋白对鱼粉的替代的报告;新希望集团水产技术总监刘天骥作了关于水产配方师职能定位及角色转换的报告;四川大学周小秋教授作了关于蛋白质饲料在水产饲料应用的一些思考的报告;国家饲料质量监督检验中心(武汉)首席研究员杨海鹏就实际生产中饲料原料检测方面作了关于蛋白质原料的掺假识别及品质管理的报告;中国农业科学院饲料所周文豪博士作了关于能量饲料与填充性原料的价值评估;新希望集团副总裁涂放和清华大学阎旭临教授就企业发展方向和技术创新方面分别作了关于企业定位与市场细分和技术管理与创新的报告。参会人员都免费获得了第二版水产饲料原料利用率数据库。

专家、研究人员把自己在科研领域的研究成果、实际生产中总结的宝贵经验以精彩报告的方式奉献给大家,参会的代表认真听取报告,积极踊跃提问,整个会场秩序井然,体现了企业技术人员对科技理论知识的渴望。

本次会议以探索原料营养价值为核心主题,代表了广大水产饲料企业当前对技术的需求点,为水产饲料企业的技术人员及配方师提供了难得的学习机会,更为专家和企业之间构建了一个交流的平台。同时,北京英惠尔生物技术有限公司表示,今后将一如既往地提升水产饲料企业的整体发展水平和核心竞争力、推动水产饲料工业和养殖业的可持续发展做出自己的贡献。



小肽营养 全球共享
美国华达 (VBC) 中国广州技术中心



[本栏目由美国华达 (VBC) 中国广州技术中心协办]

猪源 Cathelicidins 抗菌肽家族的研究进展

马文强 冯 杰 王 燕

摘 要 Cathelicidins 是一类在哺乳动物中发现的含有保守的 cathelin 区域的抗菌肽,是宿主防御系统的重要组成部分,具有广谱且强大的抗菌活性。文中综述了猪源 Cathelicidins 抗菌肽家族的基因组成、结构、抗菌活性、作用机制及应用前景。

关键词 猪;Cathelicidins;抗菌肽;结构;作用机理

中图分类号 S816.79

Advances in the research of cathelicidins antimicrobial peptides from pig

Ma Wenqiang, Feng Jie, Wang Yan

Abstract Cathelicidins, a family of mammalian antimicrobial peptides that carry a highly conserved cathelin domain, are important components of host-defense immunity system. They exert a broad spectrum and potent antimicrobial activities. This review is aimed at providing a general overview of cathelicidins from pig, with emphasis on aspects such as biosynthesis genes, structural features, antimicrobial spectrum, and mechanism of action and application outlook.

Key words pig; cathelicidins; antimicrobial peptides; structure; mechanism

抗菌肽是一类带正电荷的两亲性小分子肽的总称,是宿主非特异性防御系统的重要组成部分,不仅对细菌、真菌有广谱的抗菌活性,对病毒、原虫及癌细胞也有作用。由于抗菌肽的抗菌作用机制独特,不易诱导耐药菌株的产生,在当前抗药性蔓延和筛选新的抗生素愈发困难的情况下,抗菌肽可能成为抗生素的新来源。根据抗菌肽的来源、结构等特征,人们将抗菌肽分成两大类:Defensins (防御素)和 Cathelicidins。Cathelicidins 是一类在结构上存在很大差异的抗菌肽,由于分子中都含有与 cathelin(一种从猪白细胞中分离出来的蛋白质,分子量为 12 kDa)非常相似的一段结构,因此将其命名为 Cathelicidins。目前在猪身上发现 Cathelicidins 有 PR-39、PG1~5 (Protegrin)、PF1~2

(Prophenin)和 PMAP 等四类 9 种主要抗菌肽。本文就猪源 Cathelicidins 抗菌肽家族的研究进展作一综述。

1 猪源 Cathelicidins 抗菌肽家族的结构

1.1 基因结构

研究证明编码 Cathelicidins 基因有 4 个外显子和 3 个内含子,如图 1 所示。前 3 个外显子编码前体区,第 4 个外显子编码酶切位点和抗菌区域。前体区含有 123~144 个氨基酸残基,包括一个 29~30 个残基的信号肽和一个长约 94~114 个氨基酸残基的 cathelin 前段。C-末端区域含有长 12~97 个氨基酸残基的成熟肽段。前体区具有高度的同源性,猪种内同源性达 100%。

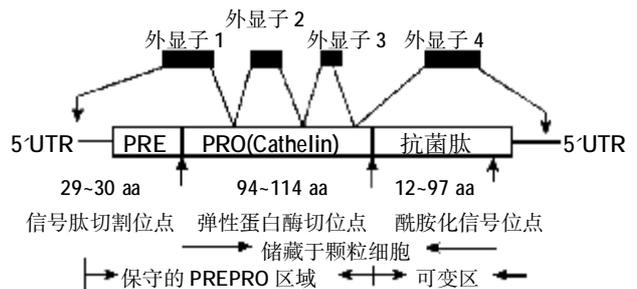


图 1 Cathelicidins 家族基因结构

马文强,浙江大学饲料科学研究所,博士,310029,浙江省杭州市秋涛北路 164 号。

冯杰,单位及通讯地址同第一作者。

王燕,浙江银冠兽药饲料有限公司。

收稿日期:2007-08-20

1.2 氨基酸结构

1.2.1 PR-39 的氨基酸结构

猪抗菌肽 PR-39 由 Agerberth 等人于 1991 年最先从猪小肠组织中分离纯化出来。经氨基酸序列分析,PR-39 一级结构含有 7 种氨基酸,富含脯氨酸(Pro)、精氨酸(Arg)两种氨基酸残基(其中有 19 个脯氨酸和 10 个精氨酸),由 39 个氨基酸残基构成,故称其为 PR-39(Proline-arginine-rich)。其余氨基酸残基分别为苯丙氨酸、亮氨酸、酪氨酸、异亮氨酸和甘氨酸。PR-39 氨基酸排列顺序为:RRRPRPPYLPRRPPPPFFP PRLPPRIPPGFPPRFPPRFPP。在其结构中脯氨酸和精氨酸构成的 Pro-Arg-Pro 结构,可能与细菌磷脂膜的相互作用有关。经圆二色谱和傅立叶变换红外光谱分析,PR-39 在水溶液中并不像其它抗菌肽那样形成 α -螺旋或 β -折叠,而呈伸展性螺旋构象,这可能与其脯氨酸含量有关。

1.2.2 Protegrins 的氨基酸结构

猪抗菌肽 Protegrins(PG)作为抗菌肽 Cathelicidin 家族的成员,共分为 5 种,即 PG1~5(见图 2),最初从猪白细胞中分离得到。近年来,在仔猪的淋巴组织中也分离得到了其 mRNA。Protegrins 是一类富含 Cys、Arg 的小分子肽,分子量约 2 kDa,都含有 2 个分子内二硫键。

Protegrin-1	RGG	R	LCYCR	RRF	C	V	CV	GR*
Protegrin-2	RGG	R	LCYCR	RRF	C	I	CV	
Protegrin-3	RGG	G	LCYCR	RRF	C	V	CV	GR*
Protegrin-4	RGG	R	LCYCR	GWI	C	F	CV	GR*
Protegrin-5	RGG	R	LCYCR	PRF	C	V	CV	GR*

图 2 Protegrins 氨基酸序列

成熟的 Protegrins 含有 16~18 个氨基酸,因富含 Cys 和 Arg 而携带一定量正电荷,因此是一种阳离子肽。Kenneth 等通过 X-射线晶体衍射法得到 PG-1 的氨基酸结构图。同理推测 PG2~5 的氨基酸结构见图 2。由此我们可以看出 PG-1、PG-3 和 PG-5 的氨基酸序列完全相同。

1.2.3 Prophenin 的氨基酸结构

Prophenin(PF)是另一个从猪嗜中性粒细胞中分离得到的抗菌肽,含有 79 个氨基酸残基。近年来,在猪的肺和 Cuiosurf 中也分离出了 PF。经氨基酸序列分析,PF 一级结构中富含脯氨酸(53.2%)、苯丙氨酸(19%)和精氨酸(7.6%)。根据结构不同分为两种,即 PF-1 和

PF-2。PF-1 的分子量是 8 683 Da,是由 79 个氨基酸残基编码的含有 cathelin 的前体肽,含有 42 个脯氨酸(53.2%)和 15 个苯丙氨酸(19.0%)残基。PF 的一级结构最显著的特征为 6 个十聚体(富含脯氨酸,FPPP NFPGPR)串联重复。PF 同 PR-39 一样在水溶液中呈伸展性螺旋构象。

1.2.4 PMAPs 的氨基酸结构

猪髓源性抗菌肽 PMAPs 是通过 cDNA 克隆发现的,根据其结构差异分为 PMAP-23、PMAP-36 和 PMAP-37,它们分别含有 23、36 和 37 个氨基酸残基。圆二色谱分析表明 PMAP-36 和 PMAP-37 具有两亲性 α -螺旋,而 PMAP-23 呈发夹结构。序列比较发现,PMAP-23 与已发现的抗菌肽都没有显著的相似之处,而 PMAP-36 与兔的 cathelicidin CAP18 有 35% 的同源性。虽然 PMAP-37 与猪 cecropin P1 有可忽略不计的相似性,但却与两个昆虫抗菌肽 cecropins A 和 B 有 50% 以上的同源性。因为它们来源于完全不同的祖先,所以没有进化关系存在。

2 抗菌肽 PR-39、PGs、PF 和 PMAP 的抗菌作用及抗菌机理

Cathelicidins 中的抗菌肽尽管在抗菌效果显著上各有侧重,但它们都有着广谱高效的抗菌效果,对革兰氏阳性菌和阴性菌(如大肠杆菌、肠炎沙门氏菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、链球菌等)、真菌(如白色念珠菌、隐球菌等)、原生动植物以及病毒有很好的杀菌效果。不同结构的肽抗菌活性有很大的不同。通常富含脯氨酸和精氨酸的肽对革兰氏阴性菌比对革兰氏阳性菌有更好的效果。

2.1 PR-39 的抗菌作用和机理

猪抗菌肽 PR-39 的抗菌作用主要是针对革兰氏阴性菌,对部分革兰氏阳性菌也有抗菌效果。Agerberth 等用分离纯化得到的 PR-39 作抗菌分析,发现 PR-39 能明显抑制大肠杆菌、鼠伤寒沙门氏菌和醋酸钙不动杆菌等革兰氏阴性菌,对巨大芽孢杆菌和化脓链球菌也能产生抑菌效果,而对其它一些菌株如普通变形杆菌、铜绿假单胞菌和金黄色葡萄球菌即使在 200~300 $\mu\text{mol/l}$ 下也没有抑制作用。用合成的 PR-39 作抗菌试验,也有类似的结果。

1993 年 Boman 等人研究发现 PR-39 发挥抗菌作用时并不形成孔道,不裂解细菌,而是通过抑制细胞内 DNA 和蛋白质的合成来杀灭细菌。Shi 等用扫描电镜观察证明,PR-39 与细胞作用时并没有在膜上形成

孔道。目前已知 PR-39 依靠精氨酸残基的正电荷与细菌细胞磷脂膜之间形成静电引力作用后吸附在细胞膜上,然而至于其如何透过脂质双层进入细胞内,从而抑制 DNA 和蛋白质合成的确切机制尚不清楚。另外,PR-39 对中性粒细胞的趋化作用,即调控中性粒细胞在感染部位聚集,促进其对病原体的吞噬,可能也是 PR-39 抗菌作用的一个方面。

2.2 Protegrins 的抗菌作用和机理

研究表明,抗菌肽 PG-1 具有广谱的抗革兰氏阴性和阳性菌、抗真菌及多种性传播病菌及独特的抗人类的 HIV 病毒的生物学功能。在浓度为 1~5 $\mu\text{g/ml}$ 时,PG-1 能够在体外杀死许多革兰氏阴性菌,包括大肠杆菌、绿脓杆菌、肺炎克雷伯杆菌、鼠伤寒沙门氏菌、沙眼衣原体和结核杆菌。通过性传播的淋病双球菌、沙眼衣原体、单纯疱疹病毒 2 和 HIV-1 都对 PG-1 比较敏感。Mosca 等采用肉汤微量稀释法测定 PG-1 对几种典型的 G⁺、G⁻ 细菌及 *C. albicans* 真菌的抗菌活性,结果表明,PG-1 具有很强的抗细菌活性和中等程度的抗真菌作用。

PG 的阳离子肽的性质决定 PG 可与细胞膜上阴离子发生交互作用。但是,其抗微生物的活性主要还是依赖于其在细胞膜上形成孔道的能力。Sokolov 等研究表明:PG-1 和 PG-3 能够改变细胞膜和人工合成的磷脂膜的通透性。PG-1 可在不含有 LPS 的磷脂双层上形成微弱的阴离子选择性通道并引起 K⁺ 释放;在含有 LPS 的磷脂双层膜上形成中等强度的阳离子选择性通道,即细菌的细胞膜敏感性更高。Heller 等(2000) 通过圆二色谱法对 PG-1 构象分析的结果表明,PG-1 在脂质双层中呈 S 状态向 I 状态转变过程。在 S 状态时,PG-1 与膜相互作用,并以剂量依赖方式降低双层膜的厚度而跨越双层膜,随即转变为 I 状态。

2.3 Prophenin 的抗菌作用和机理

有研究表明,在低阴离子浓度下(10 mmol/l PBS),PF-1 可有效地抗革兰氏阴性菌,但对革兰氏阳性菌没有作用。在生理盐水 (10 mmol/l PBS 和 0.1 mol/l NaCl) 中 PF-1 的抗菌活性被抑制。即使在低离子浓度下重复的十聚体和疏水的尾部也没有抗 *E. coli* 活性,对于它们潜在的功能还不清楚。并且 PF-1 在体外抗 *E. coli* 的活性高于 *Listeria monocytogenes*。

研究表明,如果在 cathelin 和 cathelicidins 的共同切割位点缬氨酸之后将 PRO 序列切割掉,PF 的前体

将被处理成一个 97 个残基的成熟肽,而实际的成熟产物是 PF-1 和 PF-2,是仅含有 C-端 79 个氨基酸残基的片段。并且在 PF-1 的共同切割位点和 N-端之间人工合成 13 个氨基酸,称为 tritrypticin,显示了强的抗革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌的抗菌活性。然而,这 13 个残基肽是否存在于自然界中还需要证明。如果确实存在,意味着有可能 cathelicidin 的前体可以被加工成两个具有功能活性成熟的抗菌肽。

研究发现 PF-1 的片段含有 62~79 个氨基酸残基,包括了 C-端的 18 个氨基酸残基。这个片段在一定浓度时具有抗 *B. megaterium* Bm11 和 *E. coli* D21 活性。在猪肺的有机提取物和 Curosurf 均发现该片段的存在。Harwig 及其合作者发现 PF 由胰岛素裂解产生的从 N-端 42 个氨基酸残基到将近 C-端的片段保留 3 部分抗 *E. coli* 活性,而从 N-端 1~41 的片段没有活性。以上的研究表明了 PF 的 C-端片段可能是发挥抗菌作用的重要部位。

2.4 PMAPs 的抗菌作用和机理

目前 PMAP-23、-36、-37 这三种抗菌肽还没有从自然原料中纯化,合成的肽在体外具有显著的抗革兰氏阴性菌和阳性菌的抗菌活性。PMAP-37 是最强的膜活性因子,在 0.2~1 $\mu\text{mol/l}$ 使细菌内膜渗透性破坏,而 PMAP-23 和 PMAP-36 杀灭细菌分别在 1~10 $\mu\text{mol/l}$ 和 10~50 $\mu\text{mol/l}$ 。但是 PMAP-37 在 10~50 $\mu\text{mol/l}$ 时对人的红细胞有溶血作用,对于 PMAP-23 和 PMAP-36 即使在 100 $\mu\text{mol/l}$ 时也没有此作用。

抗菌肽 PMAP-23 在体外,其合成肽显示了显著的抗革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌、酵母、真菌和霉菌的抗菌活性。在原生质膜上观察到其抗细菌和抗真菌,还可以阻止真菌细胞膜的再生。

3 应用前景

近年来,由于抗生素和传统兽药及饲料添加剂广泛使用所导致的抗药性和药物残留问题已经日益严重地威胁着人们的健康,寻找新型的抗菌药物是解决抗药性问题的一条有效途径。由于抗菌肽具有抗菌能力强、抗菌谱广、种类多、可供选择范围广、靶菌株不易产生抗性突变的性质,是一类非常理想的候选药物。其将在生物农药、生物饲料添加剂、天然食品防腐剂、动植物抗病基因工程方面有着广阔的应用前景。

(参考文献 21 篇,刊略,需者可函索)

(编辑:张学智, mengzai007@163.com)

禽胰多肽受体的提取、纯化和鉴定研究

赵成萍 张 映

摘 要 试验对禽小脑膜胰多肽受体进行提取、纯化和鉴定研究,结果表明:加 0.83 g 正-辛基-β-D-葡萄糖(n-ctyl-β-D-glucoside)的提取产物,禽胰多肽受体的浓度最高为 0.97 mg/ml,分子量为 67 000。

关键词 禽胰多肽;受体;提取;纯化;鉴定

中图分类号 S816.79

Inui 等人^[1]1992 年运用正-辛基-β-D-葡萄糖成功抽提了鸡小脑禽胰多肽受体(avian pancreatic polypeptide receptor, APPR),并保持了其活性。发现 APP 受体是一种糖蛋白,分子量约 67 000。为进一步研究禽胰多肽的生理、生化功能,我们对禽小脑膜胰多肽受体进行提取、纯化和鉴定试验。

1 材料与方 法

1.1 试剂

PMSF(苯甲基磺酰氟, Sigma)、HEPES(N-2-羟乙基派嗪-N-2-乙磺酸, Sigma)、正-辛基-β-D-葡萄糖甙(n-ctyl-β-D-glucoside, Sigma)、卡介苗(太谷县防疫站)、羊毛脂、石蜡油、电泳试剂、sephandex G-50(Pharmacia)、DEAE 纤维素-32(Whatman 进口分装)、硫酸铵、奈氏试剂、磺酰水杨酸、PBS、蛋白质标准(14 400~97 400 kDa, Pharmacia)、酶标兔抗鸡 IgG(Sigma)、3,3-二氨基联苯胺(DAB, Sigma)、硝酸纤维素膜(NC, 孔径 0.45 μm, 浙江黄岩化工厂)、明胶(中国医药公司采购供应站)。

1.2 仪器

高速冷冻离心机(Beckman);JJ-2 组织捣碎匀浆机(江苏国华仪器厂);PHS-3C 酸度计(厦门分析仪器厂);紫外可见分光光度计(UV-9100, 北京瑞利分析仪器公司);B-2 蠕动泵(上海统一生化仪器厂);玻璃匀浆器;1 cm×50 cm 层析柱。

1.3 禽小脑膜胰多肽受体的提取^[2]

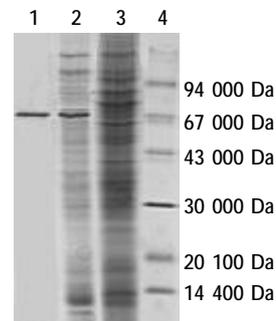
准确称取鸡小脑 50 g, 加 250 ml 冰冷的 0.234 mol/l 蔗糖, 捣碎至匀浆液, 2 100 r/min 离心 10 min, 取上清液, 4 ℃、18 000 r/min 离心 1 h, 弃上清液, 将沉淀悬浮于 30 ml 50 mmol/l tris-HCl(1 mmol/l PMSF, pH 值 7.4), 用玻璃匀浆器于冰上匀浆 3 次, 18 000 r/min

离心 1 h, 弃上清液, 将沉淀中加入 50 mmol/l HEPES(1 mmol/l PMSF, 1 mmol/l MgCl₂, pH 值 7.4)至 300 ml, 4 ℃混匀, 均匀分为 3 份(每份 100 ml)。

将三份溶液中分别加入 0.83 g、1.66 g 和 2.49 g n-ctyl-β-D-glucoside(浓度分别为 0.83%、1.66%和 2.49%)室温振荡 45 min, 4 ℃、18 000 r/min 离心 45 min 取上清液, 4 ℃保存备用。

1.4 禽胰多肽受体纯度的鉴定

用 10%SDS-PAGE 鉴定, 安装好电泳槽后, 按石继红等的方法^[3]依次加完分离胶试剂, 充分混匀(注意不可剧烈振荡, 避免产生泡沫), 迅速倒入两块玻璃板之间, 静置 30~60 min。等胶凝固后, 以同样方法制备浓缩胶。浓缩胶倒至梳子 1 cm 处停止灌胶, 迅速插上梳子, 静置 30 min 凝固。浓缩胶凝固后, 拔出梳子, 小心加入电极缓冲剂直至没过胶面。取 100 μl 的样品和标准蛋白, 分别加入等体积的样品溶解液, 混匀后, 沸水浴 2~5 min, 室温冷却后点样, 每孔 10 μl。电泳时开始电压为 40 V, 待指示剂进入分离胶后, 调电压至 60 V, 恒压电泳直至指示剂距离底部 0.5 cm 为止。电泳完毕后, 卸槽, 将胶置于固定液中过夜, 将固定液倒出, 加染色液染色 1.5 h, 用蒸馏水冲洗 4~5 次后, 再用脱色液脱色至蛋白区带清晰。用凝胶成像仪拍照, 结果见图 1。



注: 1.加 0.83 g n-ctyl-β-D-glucoside 的提取产物;
2.加 1.66 g n-ctyl-β-D-glucoside 的提取产物;
3.加 2.49 g n-ctyl-β-D-glucoside 的提取产物;
4.标准蛋白。

图 1 禽小脑膜胰多肽受体纯度的鉴定结果

赵成萍, 山西农业大学生命科学院, 030801, 山西太谷。
张映, 单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期: 2007-09-09

★ 山西省自然科学基金项目(20011090)和山西农业大学科技创新基金(2006009)

能量对家畜卵泡发育的影响及调控

李 勇 吴 德

摘 要 家畜卵泡发育是被众多因素精确调控的生理过程。日粮能量可能通过不同的机制影响卵泡发育。胰岛素、瘦素和 IGF- I 可能作为代谢信号而介导能量对卵泡发育的影响,即通过下丘脑-垂体-卵巢轴调节促性腺激素释放或直接作用于卵巢。各种代谢信号之间的相互作用也是其介导作用发挥的一个重要方面。

关键词 卵泡发育;能量;代谢激素;家畜

中图分类号 S831.5

Effects and regulation of energy on livestock ovarian follicular development

Li Yong, Wu De

Abstract The follicle development is a physiological process regulated by numerous factors. Mediated by some metabolism signals such as Insulin, Leptin and IGF- I , dietary energy have an impact on the follicle development of female by regulating the release of gonadotropine through the hypothalamic-pituitary-gonad axis or directly influencing the function of ovary. The interaction of these metabolism signals mentioned above is also important to the performance of their mediation.

Key words follicular development; energy; metabolism hormones; livestock

家畜胚胎期或新生卵巢内含有大量原始卵泡,约

有几百万个,然而仅有极少量的卵母细胞能够最终发育成熟并排卵。如何开发和利用卵巢内丰富的卵泡资源成为目前研究的热点之一。原始卵泡生长从起始直至最终成熟并排卵是被众多因素精确调控的生理过程,营养、气候及饲养管理等因素都会对这一过程产

李勇,四川农业大学动物营养研究所,625014,四川雅安。

吴德(通讯作者),单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-07-23

1.5 禽胰多肽受体浓度的检测

采用经验公式法^[9],将经鉴定为纯品的样品稀释10倍,用紫外分析仪在波长260 nm和280 nm处分别测出吸光度值(A值),然后利用以下公式进行计算得出蛋白质浓度。

蛋白质浓度(mg/ml)=(1.45OD₂₈₀-0.74OD₂₆₀)×稀释倍数

2 结果与分析

2.1 禽胰多肽小脑膜受体纯度的鉴定结果

经10%SDS-PAGE鉴定,添加0.83 g n-ctyl-β-D-glucoside的提取产物分子量为67 000,与Inui的实验结果一致,且禽胰多肽小脑膜受体纯度高。而添加1.66、2.49 g n-ctyl-β-D-glucoside的提取产物则纯度低(见图1)。说明在整个APPR的提取过程中,表面活性剂n-ctyl-β-D-glucoside的浓度是关键。

2.2 禽胰多肽受体浓度的检测结果

经公式法测定和计算,禽胰多肽受体的浓度为0.97 mg/ml。

3 讨论

在禽胰多肽小脑膜受体的提取过程中,要注意温度是低温,否则影响实验结果。禽胰多肽小脑膜受体纯度以添加0.83 g n-ctyl-β-D-glucoside的提取产物纯度最高,禽胰多肽受体的浓度为0.97 mg/ml,而添加1.66、2.49 g n-ctyl-β-D-glucoside的提取产物则纯度低。说明在整个APPR的提取过程中,表面活性剂n-ctyl-β-D-glucoside的浓度是关键。

参考文献

- 1 Fuxe K, Agnati L F, et al. Intracisternal administration of avian pancreatic polypeptide lowers respiration rate and enhances the clonidine induced reduction of respiration rate in alpha-chloralose anesthetized rats: possible interactions with an alpha 2-adrenergic receptor. *Acta Physiol Scand Jul, 1982, 115(3):381-384*
- 2 石继红,赵永同,等.应用SDS-PAGE显示小分子多肽技术的探讨. *生物工程进展, 2001, 21(1):38-41*
- 3 王金胜,等编著.农业生物化学研究技术.中国农业出版社,2001
- 4 巩强.禽胰多肽受体的免疫组化研究.山西农业大学硕士论文, 2004 (编辑:刘敏跃, lm-y@tom.com)

生影响。

能量虽然不是一种有形的营养物质,但它蕴藏于蛋白质、碳水化合物、脂肪等营养物质中,是家畜维持生命活动的热力基础。如果能量供给不足,将影响卵泡的生长发育和卵母细胞的成熟排卵。对后备母畜而言,将延迟初情期的到来;对经产母畜则可能会延长产仔间隔时间,减少排卵数。相反,如果能量供给过量,大量的脂肪在卵巢组织沉积,同样影响卵泡的生长发育。David等(2006)还报道在干乳期过度饲喂可能引起奶牛的抗胰岛素作用升高而增加患Ⅱ型糖尿病的风险,也会引起奶牛的繁殖力降低并增大其患产后疾病的可能性。

1 能量对猪卵泡发育的影响

1.1 能量对母猪卵泡发育的影响

目前研究表明,交配前营养水平不同会影响猪卵泡的特性(Yang等,2000)。能量水平对青年母猪和哺乳母猪的卵泡发育都有影响。Booth等(1994)报道,初情期前母猪在75 kg体重之后限饲直到85 kg,与自由采食到85 kg的母猪相比,卵泡数和20个最大卵泡的卵泡液量均低。对发情周期中青年母猪采用不同的能量水平(2.4M与0.8M)饲喂,结果表明0.8M组直径小于2 mm的卵泡数显著增多(Quesnel等,2000)。Zak等(1997)对泌乳初产母猪的研究也发现,尽管屠宰前血浆和卵泡液的雌二醇浓度不同,但限饲后饱饲组比限饲组有更多的大卵泡,并且有更多卵母细胞到达第二次减数分裂中期。这一结果与Ferguson等(2003)的研究结果一致。Zak等(1997)的试验还将卵母细胞-卵丘复合物用来自两个处理的卵泡液孵化,虽然卵母细胞-卵丘复合物的卵丘扩张不同,但是限饲后饱饲组母猪卵母细胞核的成熟率比限饲组高。Quesnel等(1998)研究对经产母猪在泌乳期50%限饲,发现直径大于4 mm的卵泡数量少,这可能是卵巢重量变轻的原因。

有研究表明,排卵前的大、中、小三种卵泡的百分率在高能量组和维持组间无差异,这与Zak等人对初产母猪的研究结果不同(Zak等,1997;Quesnel等,1998;Yang等,2000),他们的研究表明配种前限饲虽然会降低排卵前大卵泡的百分率,但可以增加小卵泡百分率。这些研究结果不一致的原因可能是:哺乳是一个相当耗能的过程,常导致机体失重和分解代谢,并且这种状况延续到断奶后的一段时间。这样,用于

泌乳后期准备再次发育排卵的卵泡的募集和生长的能量就很少了(Britt等,1985)。而对初产的小母猪而言,机体通常处于合成代谢过程而且之前没有身体储备的消耗。

1.2 能量对反刍动物卵泡发育的影响

有关能量对反刍动物卵泡发育的影响也有许多报道。Grimard等(1995)报道采用营养充分和营养不足的饲料饲喂牛,对牛卵泡发育有显著影响。对牛(Bergfeld等,1994)和山羊(Tanaka等,2003)的研究发现,限饲组的卵泡直径较小。同样,Gasser等(2006)报道:早期断奶处理的小母牛,高能量组(60%玉米)与对照组(30%玉米)相比,高能量组优势卵泡的最大尺寸更大,说明饲喂较高能量的饲料可能加快了小母牛卵巢成熟,这与Chelikani等(2003)的研究结果一致。决定优势卵泡排卵与否的关键因素有:优势卵泡的尺寸、LH脉冲频率和系统IGF-I浓度。小于1 cm的优势卵泡排卵的可能性很小,而排卵所需的LH脉冲频率约为1次/h(James等,2006)。Chelikani等(2003)报道,高水平和中水平能量和蛋白质组小母牛的LH平均浓度和脉冲频率都高于低能量和蛋白质组。Diskin等(2003)也报道排卵率与优势卵泡尺寸成正比。如果优势卵泡尺寸小于9 mm,则其能排卵的可能性低于20%。

Perry等(1991)认为奶牛卵泡发育只是在日粮必需营养素缺乏和分娩时体况差的情况下才受影响。如果奶牛产后体况较差,会使优势卵泡尺寸减小并降低胰岛素和IGF-I浓度,并使LH脉冲频率减少。目前研究表明,奶牛分娩时体况评分应在2.75~3,并且在分娩和第一次配种期间体况损失不超过0.5个体况评分单位(Overton和Waldron,2004),而不是以前推荐的3~3.5(Buckley等,2003)。Jorritsma等(2003)报道,奶牛分娩和泌乳早期有许多显著的代谢变化。产后早期能量负平衡会诱导显著的代谢变化,这些变化将对繁殖效率产生不利影响。产后10~20 d开始发育的卵泡可能受能量负平衡的影响,并且这种受影响卵泡的卵母细胞发育能力低下。Leroy等(2005)报道在能量负平衡时,非酯化脂肪酸水平升高会影响奶牛产后早期卵母细胞的发育能力。Butler等(2006)的研究表明,未排卵且雌二醇含量低的奶牛与排卵奶牛相比,其产仔前后的干物质摄入量 and 能量平衡状况都较低,而且产后代谢激素和代谢产物表现出更严重的能

量负平衡状况。能量负平衡的持续时间还影响奶牛内分泌和卵巢对能量负平衡的应答。短期能量负平衡会导致 FSH 增加但 LH 降低,而长期的能量负平衡则导致 FSH 和 LH 都降低。

另外,能量来源不同对卵泡发育也有影响。Van den Brand 等(2000)的试验给初产母猪饲喂不同能量来源(淀粉和脂肪)的饲料后,发现在断奶后第 2 d,淀粉组卵泡直径大于脂肪组。原因可能是不同的能量来源影响到了与卵泡发育有关的激素(如胰岛素)分泌,因而对卵泡的发育产生影响。

2 能量影响卵泡发育的机制

胰岛素(Insulin)、生长激素(ST)和瘦素(Leptin)等,它们的浓度能对日粮能量水平产生应答反应,IGF-I 作为生长因子,其浓度也能对日粮能量水平产生应答,故这些激素和因子很可能是在能量和繁殖性能之间起着重要介导作用的代谢信号。能量供给不足会抑制母畜下丘脑促性腺激素释放激素的脉冲产生系统,导致支持卵泡发育的促性腺激素和性腺激素的产生明显不足,从而影响卵泡的生长发育和卵母细胞的成熟排卵。故可以推断:日粮能量水平的作用是影响这些代谢信号分泌,而这些代谢信号通过影响整个下丘脑-垂体-卵巢轴的活性来介导能量对卵泡发育的影响。

能量水平变化对卵巢活性的影响可以不依赖促性腺激素浓度的显著变化,而与代谢激素的循环浓度有关(Webb 等,2004)。Helen Q 等(2000)的研究也支持上述观点。C Vinoles 等(2005)的研究还认为短期补饲影响卵泡发育的机理与促卵泡生成激素(FSH)浓度无关,而与卵泡中的葡萄糖、胰岛素、瘦素浓度的增加有关。在葡萄糖和这些代谢激素浓度最高时的卵泡发育状况可能是决定排卵率高低的一个因素。营养也能影响卵巢 IGF 系统的 mRNA 编码成分的表达,从而调节卵泡对促性腺激素的敏感性或反应性。从上述研究可以推断,能量对卵泡发育的影响不仅可以通过改变促性腺激素的分泌来实现,还可以在胰岛素、瘦素、IGF-I 等代谢信号的介导下直接作用于卵巢(Booth 等,1996;Prunier 等,2000)。这可能是能量影响卵泡发育的另一机制。

2.1 胰岛素(Insulin)

胰岛素可表现动物的营养状况,因为它能促进葡萄糖代谢。葡萄糖是家畜繁殖过程中维持正常繁殖功

能最重要的底物。家畜(如奶牛)具有维持血液中适量葡萄糖的能力,故推测葡萄糖可能在营养对繁殖的影响过程中起调节作用(Schillo 等,1992;Keisler 和 Lucy,1996)。葡萄糖是中枢神经系统最主要的代谢燃料,葡萄糖不足会导致下丘脑 GnRH 产生量下降(Wetteman 等,2003)。当血液中的葡萄糖降低到一定程度(阈值)时,GnRH 的分泌就被抑制(Dhuyvetter 和 Caton,1996)。葡萄糖还可能通过促进葡萄糖异生作用来刺激 GnRH 的分泌(Randel 等,1990)。

胰岛素通过调节下丘脑中葡萄糖代谢,继而调节 GnRH 释放而影响卵泡发育。人们已证明在猪下丘脑存在着胰岛素受体。Booth 等(1996)的研究表明,初情期前的小母猪,LH 脉冲释放在限饲阶段被抑制而在限饲后的补饲阶段恢复,限饲后补饲出现的 LH 分泌增多可能是由胰岛素-葡萄糖系统介导的。Webb 等(2004)的研究也认为血浆中的葡萄糖和胰岛素状态的变化可能介导短期限饲之后的补饲对 LH 分泌的调节。然而,在没有葡萄糖存在的情况下,不论是脑室内灌注(Hileman 等,1993)还是皮下注射(Dhuyvetter 和 Caton,1996)胰岛素,均能改变 LH 分泌,这说明胰岛素可能对下丘脑释放 GnRH 有直接作用。另外,胰岛素可能对垂体前叶具有直接作用,刺激促性腺激素的分泌。胰岛素也可能会改变垂体前叶对 GnRH 的敏感性。已证明胰岛素可以在没有葡萄糖的情况下促进体外培养的垂体细胞释放 LH 和 FSH。在体外试验中,Fouladi Nashta 等(2006)报道在胰岛素存在下培养卵泡,有利于卵泡存活,并且显著减少卵裂发生。外源胰岛素处理可增加小卵泡数,减少小卵泡的闭锁,并增加小母猪卵泡期排卵率和 LH 的周期性释放,且这种影响不依赖于母猪的体况(Matamoros 等,1991;Cox 等,1987)。

胰岛素还可能直接作用于卵巢。在体外试验中,已在卵巢粒层细胞中发现胰岛素结合位点(Otani 等,1985)。胰岛素对卵巢的直接作用包括促进卵泡颗粒细胞和黄体细胞中孕激素的合成和卵泡内膜细胞合成雄烯二酮等(Almeida 等,2001)。May 等的试验表明胰岛素可促进卵巢粒层细胞促性腺激素刺激的类固醇激素的产生(May 和 Schomberg,1981)。同时,胰岛素可能促进肝脏产生 IGF-I (Keisler 和 Lucy,1996;Webb 等,2004),也可刺激卵泡颗粒细胞合成 IGF-I。IGF-I 的作用可能是参与卵泡的选择和维持卵泡发育,进而降低卵泡闭锁率。故胰岛素可能通过影响卵

泡 IGF- I 系统,使得卵泡减慢了发育的速度,并使更多的卵泡有机会发育到排卵阶段。

2.2 生长激素(Somatotropin, ST)

在腔前期卵泡和卵丘细胞中发现 ST 受体,故 ST 可能在卵泡生长和(或)卵母细胞发育过程中有重要作用。ST 由脑下垂体合成并通过肝脏和卵巢中的 ST 受体发挥作用。ST 能引起肝脏 IGF- I 的合成和分泌,这些分泌的 IGF- I 通过下丘脑-垂体-卵巢轴起作用(Wettemann 和 Bossis, 2000; Wettemann 等, 2003)。IGF- I 能通过血液移动而影响卵巢功能(即内分泌来源的 IGF- I)。除此之外,ST 还调节 IGF- I 基因在肝外组织的表达(Etherton 等, 2004)。ST 通过卵巢上的 ST 受体而直接作用于卵巢。卵巢产生的 IGF- I 和 IGF- II (即卵巢 IGF) 能补充内分泌来源的 IGF- I。可见, IGF- I 对卵巢的作用是由内分泌 IGF- I 和卵巢 IGF- I 两部分引起的。一些生理条件如能量负平衡、营养不良等常伴随着肝脏中合成和分泌的 IGF- I 及血液中 IGF- I 的含量减少而减少,这可能通过内分泌机制来影响卵巢功能。除牛外,其它家畜卵巢 IGF 的产生是由 ST 控制的。而 ST 能促进牛卵母细胞的体外成熟,而且这种效果取决于卵丘细胞存在与否,因为裸露的卵母细胞对 ST 没有反应(Izadyar 等, 1997)。另外,ST 的作用不依赖于 IGF- I, 因为 IGF- I 中和抗体并不能影响 ST 的作用效果。

有研究者(Hunter 等, 1991; Dhuyvetter 和 Caton, 1996; Hawkins 等, 2000)认为:胰岛素浓度升高而伴随着生长激素浓度的降低,这是在研究营养对繁殖功能的影响时一个可考虑的重要关系。Lucy(2003)报道,奶牛产后生长激素浓度上升会诱导脂解作用并抑制周边组织对胰岛素的应答。生长激素浓度上升诱导机体分解代谢作用而导致奶牛体况下降和体重变轻。就对繁殖的影响而言,胰岛素与 ST 间的功能关系可能是起合成代谢作用。Molento 等(2002)报道胰岛素与生长激素相互作用来控制肝脏 IGF- I 的产生。

2.3 IGF 结合蛋白(IGFBP)与 IGF- I

95%以上的循环 IGF- I 是由六种 IGFBP 中的一种运输的(Etherton 等, 2004; Thissen 等, 1994)。在奶牛的垂体前叶和卵泡液中都检测出 IGFBP-2、IGFBP-3 和 IGFBP-5(Roberts 等, 2001; Funston 等, 1996)。Boisclair 等(2001)报道,系统 IGF 的合成作用与 IGFBP-3 的相对丰度有关。IGFBP-3 在牛的发育卵泡类固醇激素生成中所起的作用是通过抑制 IGF- I 的作用而实

现的(Thatcher 等 1996)。IGFBP 也可能直接与其受体互相影响,IGFBP 受体能调节 IGFBP 对卵泡发育的抑制作用。在健康卵泡中,通过减少 IGFBP 合成量和增加 IGFBP 蛋白酶活性来降低 IGFBP 的浓度(Lucy, 2000)。有研究表明饲喂低能量水平的母羊有较高量的 IGFBP-2 表达(Snyder 等, 1999),这与 Armstrong 等(1996)的报道一致,即 IGFBP-2 伴随着较差的营养状况。闭锁卵泡的卵泡细胞可产生 IGFBP(Lucy, 2000),卵泡液 IGFBP-2、IGFBP-3 和 IGFBP-5 浓度在各个大小的闭锁卵泡中都高,但在优势卵泡中却是降低的(Wetteman 等, 2003; Webb 等, 2004),而饲喂高能量水平日粮的小母牛,其小卵泡中 IGFBP-2、IGFBP-4 的浓度降低(Armstrong 等, 2001),由此可以推测:高能量水平可能对卵泡的选择和优势化有影响,即有利于减少卵泡闭锁的发生。

目前研究结果表明,能量可通过 IGF- I 来影响卵泡发育。Diskin 等(2003)报道,从限饲到发情开始,小母牛血浆平均 IGF- I 浓度呈线性降低趋势,而从恢复营养到重新排卵,血浆平均 IGF- I 浓度则呈线性增加。饲喂维持日粮的小母猪,无论在卵泡期还是在黄体期,血浆 IGF- I 浓度较高能量组都降低,这与另外一些研究中 IGF- I 浓度与排卵数降低有关的报道相一致(Booth 等, 1994; Quensel 等, 1998)。研究发现,不论在高能组还是维持组,血浆 IGF- I 浓度与到达第二次减数分裂中期的卵母细胞百分率之间有联系。这一结果与卵母细胞体外成熟的研究相似: Sirotkin 等(1998)对猪卵母细胞进行体外培养,在有 IGF- I 的培养基中,能发育成熟的卵母细胞的比例升高。在对反刍动物的研究中, Kirsty 等(2006)研究发现牛卵泡对 IGF- I 的反应性呈剂量和阶段性依赖,这一研究支持了 IGF- I 在有腔卵泡早期发育过程中有调控生殖细胞发育和成熟的作用这一观点。

除了在下丘脑正中隆起和卵巢中发现 IGF- I 受体及 IGF- I 的 mRNA 外,还发现在优势卵泡的颗粒细胞中有高水平 IGF- I 的 mRNA 表达(Bao 和 Garverick, 1998),故推测 IGF- I 可能是通过自分泌、旁分泌和内分泌机制起作用而调节下丘脑-垂体-卵巢轴的功能,IGF- I 可促进体内 LH 的分泌。IGF- I 通过直接调控下丘脑 GnRH 神经细胞来影响促性腺激素如 LH 的释放,在脑、神经细胞和神经胶质细胞合成的 IGF- I 和由外周系统跨过血脑屏障进入中枢神经系统的 IGF- I 相结合,共同作用于广泛分布在脑组

织中的 IGF- I 受体,从而调控 GnRH 的分泌。

IGF- I 也可能直接作用于卵巢而促进卵泡发育。人们已发现在卵巢颗粒细胞中有 IGF- I 的结合位点(Veldhuis 等,1985)。卵巢粒层细胞合成 IGF- I,而卵巢膜细胞合成 IGF- II。IGF- I 和促性腺激素(LH 和 FSH)对卵泡类固醇激素生成有协同作用,这种协同作用包括由 IGF- I 介导并调节的促性腺激素受体表达,以及促性腺激素受体第二信使系统(Lucy,2000)。IGF 和促性腺激素间的协同作用与许多细胞功能有关,如有丝分裂发生和类固醇生成等。这种协同作用是由 IGF 引起的,因为 IGF 能增加促性腺激素受体数量和提高促性腺激素受体第二信使系统的活性(Adashi 等,1998)。同时,促性腺激素促进 I 型 IGF 受体表达并可能提高卵巢粒层细胞中 IGF- I 的合成量。促性腺激素受体的表达可能更依赖于 IGF- I,因为 IGF- I 基因敲除的鼠卵巢 FSH 受体基因的表达量降低,而 FSH 受体敲除的鼠 IGF- I 基因表达正常(Zhou 等,1997)。因此,IGF- I 基因表达量决定 FSH 受体基因表达量。

2.4 Leptin

Leptin 是一种由脂肪细胞分泌的蛋白质激素,它可能受胰岛素长期调节(Houseknecht 等,1998)。Hamm 等(2004)对鼠的研究表明,Leptin 不足导致卵泡闭锁率提高,从而损坏卵泡发生。在 Leo'n 等(2004)的研究中,小母牛血浆 Leptin 浓度与其体况呈正相关,且这种正相关性在体增重阶段几乎是能量限制阶段的 2 倍。在 Ferguson 等(2003)的试验中,高能量水平组的小母猪从发情期的第 3 d 开始,Leptin 浓度始终高于维持组,表明 Leptin 浓度的变化对能量摄入的反应比对背膘厚的反应更强,这与 Blache 等(2000)在羊上的研究结果类似,即在提高日粮能量水平 5 d 内 Leptin 浓度升高。已在猪的下丘脑-垂体前叶发现 Leptin 受体 mRNA,表明 Leptin 可能作用于下丘脑和(或)垂体前叶来调节 LH 分泌。在羊上的试验也表明,限制营养水平通过 Leptin 或其受体来调节下丘脑或垂体的功能(Wettemann 等,2003)。在体外试验中,Barb 等(1997,2004)报道,Leptin 能增加体外培养的猪垂体细胞促性腺激素的分泌。这说明瘦素可能不依靠中枢神经系统而直接作用于垂体促进 LH 的分泌。

Leptin 还可能对卵巢直接起作用。人们已在猪卵巢中发现 Leptin 受体(Ruiz-Cortes 等,2000)。在 Hepburn 等(2002)对 Leptin 基因表达的研究中,高能量水平组小母猪 Leptin 基因表达量是维持组的 30 倍,这

与 Considin 等(1995)的报道一致。许多研究表明,Leptin 在卵巢上的直接作用是抑制性的,Leptin 减弱了由胰岛素、IGF- I 及肾上腺皮质激素介导的类固醇激素的表达(Spicer 等,2000;Stizzoni 等,2001)。Leptin 会阻碍促性腺激素、生长激素对类固醇激素的促进作用,特别是阻碍了雌激素的释放(Greisen 等,2000)。

在 Leptin 影响卵母细胞发育的研究中也存在不一致的报道。Ferguson 等(2003)的试验结果表明,高能组小母猪的血浆 Leptin 浓度与到达第二次减数分裂中期的卵母细胞比率成正相关,而在维持组中未发现这种关系。这一试验结果与一些体外试验的结果不一致。Kirsty 等(2006)的试验通过剂量依赖法培养牛卵泡,结果表明 Leptin 提高胰岛素水平,促进了由促性腺激素刺激的卵巢类固醇激素生成,但危害裸露的卵母细胞发育(100 ng/ml Leptin 处理组与 0 和 12.5 ng/ml Leptin 处理组相比,显著阻碍了裸露的卵母细胞向第二次减数分裂中期发育),这与 Jason 等(2004)在鼠上的研究结果一致:Leptin 对卵泡有直接影响,能增加卵泡类固醇激素产生。然而,Leptin 对卵母细胞成熟的影响不明显。Leptin 作为一个在脂肪组织合成代谢过程中产生的激素,它可能作为一个信使通过大脑给繁殖轴发送信号或者是直接作用于卵巢(Spicer,2001)。

3 结语

综上所述,家畜卵泡发育是被众多因素精确调控的生理过程。包括卵巢内部和外部的诸多因素均在卵泡发育过程中起作用。日粮能量水平对家畜的卵泡发育有重要影响,它通过不同的机制影响卵泡发育,包括对促性腺激素释放的影响和直接对卵巢的影响。胰岛素、瘦素、生长激素和 IGF- I 等代谢信号和因子在日粮能量对卵泡发育的影响中发挥着重要的介导作用。各种代谢信号之间的相互作用也是其介导作用发挥的一个重要方面,这方面的研究有待进一步深入。

研究能量对卵泡发育的影响是一个非常复杂的课题。根据某个调节因素或系统对某一动物特定繁殖过程的研究而得出的推断可能不正确。但这并不意味着这些基础性研究不重要,而是今后的研究应该进一步完善试验设计并考虑到动物生理过程的整体性,同时在研究过程中还应注意同其它学科间的合作,以使试验结果能真正反映营养与动物繁殖间的相互关系。

(参考文献 75 篇,刊略,需者可函索)

(编辑:刘敏跃,lm-y@tom.com)

体外消化法在动物上的应用

叶宏涛 刘国华

对各种饲料的营养价值进行准确评定是配制日粮的关键。目前,评定饲料营养价值的方法主要有化学分析法、体内法和体外法。化学分析法是评定饲料营养价值的一种常用方法,如总能、总磷、粗蛋白、粗纤维和粗脂肪等的测定方法。但利用概略养分分析所得的饲料养分与动物消化吸收养分之间存在很大差异,不足以准确地反映饲料的实际营养价值。动物试验能够比较准确地对饲料营养价值进行评定,但这些方法往往耗时、费力,很难在短时间内对大量的饲料样品进行分析评价,且生物学影响因素多,结果变异大,“重复性差”,限制了其实用性。随着动物消化生理研究的深入和技术手段的创新,利用动物体外消化模拟技术来研究饲料的营养价值也成为可能。为此,人们建立了体外法来研究饲料的营养价值。体外法具有简单、快捷、重复性好等特点,在饲料营养价值评定等方面占有重要地位。本文就体外法在不同动物上的应用状况、存在的问题及前景作一综述,以提高人们对体外法的认识和重视程度。

1 体外消化法在猪上的应用

由于猪个体较大,体外消化法所需要的一些消化酶(如胃蛋白酶和胰酶)以及小肠液等比较容易获得,而且一次性获得量也比较大。因此,体外消化法在猪上的研究和应用较多。

猪体外消化法有 pH 值法、单酶(如胃蛋白酶)法、两步法(胃蛋白酶-胰酶法)、三步法(胃蛋白酶-胰酶-碳水化合物酶法)等,它们都能很好地预测猪饲料的体内消化情况。

Pedersen 和 Eggum 等(1983)利用 NaOH 不断中和蛋白质水解过程中所产生的 H^+ ,使 pH 值保持恒定

不变,并记录所用 NaOH 的量。利用该方法所测定的 31 种植物性蛋白质饲料和 11 种动物性蛋白质饲料体外消化率与猪体内消化率存在显著相关($r=0.85$ 和 0.92)。Meer 等(1990、1992)在对 89 个日粮样品进行评定时发现,用胃蛋白酶在 $pH=1.5$ 的条件下处理饲料样品,有机物质体外消化率与体内消化率相关系数很高($r=0.92$),可以用来预测饲料在猪体内的消化率。Boisen 等(1991)对胃蛋白酶-胰酶法进行了改进,在分离已消化养分与残渣时,先利用三氯乙酸将可溶性肽和蛋白质沉淀出来,然后用测定纤维的标准过滤器过滤消化食糜液,分离已消化养分。Boisen 和 Fernandez 等(1995)在 Boisen 等(1991)的基础上作了进一步的改进,并成功地利用改进后的体外消化模拟方法预测了猪体内蛋白质和氨基酸的回肠消化率。Boisen 和 Fernandez 等(1997)利用胃蛋白酶-胰酶-碳水化合物酶法测定的 90 个饲料样品和 30 种配合饲料的有机物质体外消化率与猪体内消化率之间存在线性相关($R^2=0.94$)。这表明利用胃蛋白酶-胰酶-碳水化合物酶法能够预测猪饲料的消化能。

2 体外消化法在鸡上的应用

由于鸡个体较小,操作和手术有诸多不便,因此,有关鸡体外消化模拟技术的研究报道较少。在鸡饲料的体外评定中,大多是以猪作为研究对象,所采用的参数均以猪体内参数作为参考,体外消化模拟程序也大多采用猪体外消化模拟操作程序(Sakamoto 等,1980;Clunies 等,1984;卢福庄等,1986;杜荣等,1990;李文英等,1990)。

有试验表明,利用猪的内源消化酶和体外消化模拟操作能够用来估测鸡体内养分消化率。Bedford 等(1973)以猪胃蛋白酶和胰酶为消化酶源,在与鸡消化道内 pH 值接近的条件下,研究了不同的胃蛋白酶和胰酶水平以及消化时间对食糜粘性的影响,确立了一套适合于鸡的体外消化操作方法。该方法成功地对饲料喂加酶麦类日粮肉仔鸡的小肠食糜粘性和体增重进行了准确的预测。李小亭(1989)采用猪小肠液(PIF)

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

刘国华(通讯作者),单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-08-22

冻干粉代替鸡小肠液进行饲料离体消化率和消化能测定,结果表明,离体法测定值和生物学法测定值间存在正相关,相关系数在 0.862 以上,达到极显著水平 ($P<0.01$)。

近年来小肽营养理论成为研究热点,鸡体外消化法首先用来研究蛋白质原料的体外释放情况及评定蛋白质原料的品质。施用晖等(2001)应用胃蛋白酶-胰酶两步体外消化法测定 6 种豆饼(粕)、3 种鱼粉、菜籽饼、玉米蛋白粉、肉粉、蚕蛹、酪蛋白等 14 种蛋白质饲料的寡肽释放量,并研究了它们与蛋白质质量和氨基酸组成间的关系。结果表明,酪蛋白、鱼粉、豆饼(粕)的寡肽释放量最高;贮藏的鱼粉及加热、贮藏过的豆粕(饼)寡肽释放量降低;寡肽释放量与饲料赖氨酸、有效赖氨酸、异亮氨酸成正相关($r = 0.86\sim 0.93, P<0.01$)。鱼粉、豆饼、蚕蛹、菜籽饼中寡肽平均链长在 5~6 之间,新鲜豆粕、酪蛋白、玉米蛋白粉中寡肽链长为 7.5、8.4、11.4,大分子肽含量较高;植物性饲料的寡肽中非必需氨基酸(NEAA)占总氨基酸的 50%~70%,必需氨基酸(EAA)相对较低;动物性饲料 NEAA 比例仅略高于 EAA。所有饲料释放的游离氨基酸(FAA)不到总氨基酸(TAA)的 1%,其中主要是 EAA,饲料中含有有效碱性氨基酸的真蛋白与饲料总真蛋白的比值(CBBG/TP)与寡肽和 FAA 的释放量呈显著线性相关($r=0.92$ 和 0.87),寡肽释放量和 CBBG/TP 均较好地反映了蛋白质质量。王丽娟等(2004)应用胃蛋白酶-胰蛋白酶法,对 4 种饲料(鱼粉、豆粕、棉粕和菜粕)进行体外消化,研究体外消化过程中不同饲料的寡肽释放特点与其氨基酸组成的关系。4 种饲料的体外酶水解产物分别经过截留分子量为 3 kDa 和 1 kDa 的中空纤维超滤组件处理,制备 8 种低分子量组分并测定各组分中 TAA 和 FAA 含量,用 RP-HPLC 法分析各组分中典型寡肽。结果表明,低分子量组分中寡肽含量(PAA/TAA)与饲料必需氨基酸(TEAA)含量之间存在显著正相关,TEAA 含量高的优质饲料,其蛋白在体外消化过程中产生较多寡肽。

以上体外消化法在鸡上的应用说明利用猪的消化酶模拟鸡体内消化过程是可行的。虽然利用猪的内源消化酶和体外消化模拟操作能够用来估测鸡体内养分消化率,但还不能够完全替代鸡的消化参数和酶谱。猪与鸡毕竟在消化生理方面存在着很大差异,如消化道 pH 值、食糜在消化道内的停留时间、消化酶分

泌水平和酶谱以及这些酶催化反应的适宜条件等均有所不同。因此,有必要对鸡体外消化模拟技术中的参数和消化酶的组成进行研究确定。Zyla 等(1995)以火鸡为试验动物,实际测定了火鸡嗉囊、胃和小肠内食糜的 pH 值,并将其作为体外消化 pH 值参数模拟了鸡的嗉囊、胃和小肠的消化过程。同时,也将透析法应用于该方法中,从而消除消化产物对酶促反应的抑制作用。试验表明,日粮中磷的体外消化率与火鸡体增重、趾骨灰分、采食量和饲料转化率之间存在显著相关,相关系数 R 分别为 0.986 ($P<0.001$)、0.952 ($P<0.001$)、0.994 ($P<0.001$) 和 0.992 ($P<0.001$)。该方法也是目前鸡体外消化模拟方法中较为成熟的一种。张铁鹰等(2005)系统研究了不同日龄肉仔鸡体内温度、pH 值、酶活水平、食物在体内的停留时间、食糜水分等,并模拟肉仔鸡体内环境,研究了不同剂量植酸酶和不同植酸酶产品对肉仔鸡玉米-豆粕日粮磷利用的影响。结果表明,日粮中磷的体外消化率和有效磷释放量随植酸酶添加水平的增加而增加,这与动物试验中肉仔鸡的生产性能、磷回肠表观消化率、胫骨灰分和磷的沉积以及胫骨灰分中磷含量等指标的测定结果一致;添加不同剂量的植酸酶日粮体外消化率和有效磷的释放量与肉仔鸡生产性能、磷回肠表观消化率、胫骨指标等均存在强相关。添加 4 种植酸酶产品,日粮中磷的体外消化率和有效磷释放量与肉仔鸡生产性能、磷回肠表观消化率、胫骨指标等均存在较强相关。这说明此体外消化模型可用来评定不同剂量和不同种类植酸酶在肉仔鸡玉米-豆粕型日粮中的作用效果,预测肉仔鸡的生产性能。

3 体外消化法在水产上的应用

体外消化法在水产上应用于环保饲料的开发,主要是因为该方法能在较短时间内了解饲料原料的消化率,并能模拟每种鱼类肠道环境,对单一饲料进行消化率的测定,因而能较准确地判断出鱼类对某种具体饲料原料的消化吸收情况,从而很好地指导饲料配方,为优质环保饲料的开发提供最直接的参考数据。大量的体外消化法也用于测定蛋白质饲料的蛋白质消化率、氨基酸生成效率和氨基酸的生成速度。有研究表明,消化道部位不同、饲料原料种类的差异和饲料蛋白质组成与性质的差异使蛋白质饲料原料的消化情况不同;优质的蛋白质饲料体外消化率、氨基酸生成效率和氨基酸生成速度较大;动物蛋白质饲

料的体外消化率、氨基酸生成效率和氨基酸生成速度大于植物蛋白质饲料。

叶元土等(2003)的体外研究表明,对于同种蛋白质饲料原料,以中肠组织粗酶液的酶解速度最大,其余依次为前肠、后肠及肝胰脏,这表明草鱼中肠对饲料蛋白质的酶解能力强于前肠和后肠,同时,肠道酶液的酶解能力均大于肝胰脏。对于4种不同的蛋白质饲料原料,以鱼粉酶解氨基酸生成速度最大,其它依次为豆粕、菜粕、棉粕。涂永锋等(2004)采用离体消化率法测得草鱼肠道对鱼粉、豆粕、菜粕、棉粕的蛋白质消化率分别为66%、56%、37%、50%。酶解7h时鱼粉、豆粕、菜粕、棉粕的氨基酸生成效率(以生成的氨基酸量占饲料量的百分比表示氨基酸生成效率)分别为54.08%、49.91%、33.76%、43.52%。王琳等(2005)以草鱼肠道的粗酶液为酶源采用离体方法的研究表明,氨基酸生成速度表现为:鱼粉>肉骨粉>豆粕>棉粕>菜粕>次粉>玉米。

白燕等(2006)采用离体消化方法测定了鲫鱼肠道对不同蛋白质饲料的消化情况,结果表明,在酶解7h时氨基酸的生成效率以鱼粉最高,为12.23%,其次是花生粕12.14%、棉籽粕11.23%、菜粕6.78%。在灌流40min时,鲫鱼肠道(每克)对4种蛋白质饲料酶解液中氨基酸的吸收转运速度以鱼粉最高,为1.058 mg/min,其次为花生粕0.782 mg/min、棉籽粕0.679 mg/min,最低为菜粕0.451 mg/min。

体外消化试验还表明,鱼类对氨基酸的吸收效率可能不受饲料种类的影响。白燕等(2006)以单位时间内肠道对氨基酸的吸收转运量占流过肠道的氨基酸总量的比例表示肠道对氨基酸的吸收效率来研究氨基酸吸收情况,结果鲫鱼肠道对4种蛋白质饲料酶液氨基酸的吸收转运效率间无显著性差异($P>0.05$),可见肠道对氨基酸的吸收效率可能并不受饲料种类的影响。

由此可见,体外消化法可以有效地评价不同水产饲料原料的品质,且所需时间短,能够在实验室内完成,相对于体内消化法能节省大量的物力与财力,故体外消化率测定方法在筛选水产饲料原料上有广泛的应用前景。

4 体外消化法在反刍动物上的应用

体外消化法在反刍动物上的应用主要有体外发酵法、尼龙袋法等,与体内法评定饲料营养价值相比,

体外法具有的优点有:①发酵条件一致;②发酵时间一致;③能够准确测定发酵产物的产量;④试验费用低。

体外消化法在反刍动物上的应用范围比较广,研究内容有:不同氮来源、不同接种菌源对纤维消化的影响;不同肽源的降解规律;日粮不同来源氮和碳水化合物及其比例对干物质(DM)体外降解率的影响;微生物添加剂与尿素对释放挥发性脂肪酸(VFA)的影响;不同干燥方法对体外消化率的影响等。

王星凌等(1998)研究表明,水溶性物质中的肽对微生物消化纤维起决定作用,而总氮或非蛋白氮(NPN)对微生物消化纤维不起决定作用。张吉鹏等(2004)以绵羊粪和瘤胃液做菌源,测定了4类(豆科、禾本科、秸秆及青贮)9种粗饲料及3个混粗料的中性洗涤纤维(NDF)的体外消化率(IVNDFD),用两种菌源的可发酵纤维指数(FFI)对这些粗饲料的纤维品质进行了评定,结果表明,按两种菌源的FFI的大小对所测定的粗饲料纤维品质进行的排序完全一致。程茂基等(2004)通过体外试验分别研究了36、72、144、216、324和450 mg/l 6个水平的大豆肽、玉米肽和瘤胃液肽在瘤胃微生物培养液中的降解规律。结果表明,随着培养时间的延长,3种肽的降解量均显著增加($P<0.101$ 或 $P<0.105$),而降解速率却显著降低($P<0.101$);当培养液中肽含量增加时,3种肽的降解量显著增加($P<0.101$ 或 $P<0.105$),降解速率显著提高($P<0.101$ 或 $P<0.105$),而降解率却显著下降($P<0.105$)。对于不同肽源来说,培养初期瘤胃液肽的降解量以及降解速率显著高于玉米肽,培养后期几种来源肽的降解量以及降解速率差异不显著。因此,肽的来源和结构不同,其降解规律也有差异。谭支良等(2004)应用体外尼龙袋发酵技术,研究了奶牛日粮不同来源氮和碳水化合物及其比例对干物质(DM)体外降解率的影响,结果表明,过量补充尿素及随着日粮中淀粉和蔗糖比例的增加,日粮干物质的体外降解率均下降。可见,反刍动物饲料中的非蛋白氮、淀粉和蔗糖的含量不能过高。张剑云等(2005)通过体外消化法研究微生物添加剂与尿素对青贮玉米释放VFA的影响,结果表明,微生物青贮添加剂与尿素都能提高青贮饲料消化后VFA含量,且二者共同使用效果更好。同时,此试验亦证明运用体外消化青贮饲料气相法测定VFA含量,具有时间短、费用低的优点。且该方法优于传统的感官鉴定、

饲养试验等鉴别青贮饲料质量的方法。单贵莲等(2006)研究了不同干燥方法对盛世紫花苜蓿、环峡南苜蓿、特高多花黑麦草体外消化率的影响,结果表明,喷洒化学干燥剂在提高其体外消化率效果显著,与自然晒干和阴干相比,压扁茎秆、喷洒化学干燥剂及两者结合使用有效提高了牧草的体外消化率。

5 体外消化法应用存在的问题

动物体内的消化过程是复杂的、高度精密和完整的体系,是通过神经和激素调控对各种刺激发生反应的动态过程。在动物体外准确模拟体内消化系统复杂的消化吸收过程非常困难,甚至是不可能的(Savoie, 1986),主要原因是许多体内发生的化学反应或物理过程在体外是无法模拟的,如日粮纤维对于食糜通过消化道速率的影响;抗营养因子对体内养分消化和吸收过程的影响;蛋白质和氨基酸内源损失对蛋白质和氨基酸表观消化率的影响(Boisen 和 Moughan, 1996a, b),对于消化道内微生物之间复杂的互作关系更无法在体外试验中模拟。体外测定方法也很难将影响体内消化率的变异因素充分考虑进去。

在实际应用中很难将体外消化率估测值与体内消化率测定值直接进行比较,因为体外法测定饲料可消化蛋白质和氨基酸含量大多采用差值法,即用原料蛋白质和氨基酸总含量减去消化后残渣中的蛋白质和氨基酸含量(除去空白残渣中蛋白质和氨基酸含量),两者差值即为可消化蛋白质和氨基酸含量。此法将可溶解的蛋白质作为已被消化的蛋白质来考虑,实际并非如此,有些可溶解的蛋白质是不被动物吸收利用的,因此,导致体外消化率的估测值高于体内测定值。另外,体内消化率通常指的是全消化率,而体外消化法一般模拟前消化道消化过程,而后段消化道中微生物对未被前段消化道消化的蛋白质会产生影响,这就造成体外消化率估测值偏低;其次,体内消化过程排泄物中氨基酸除主要来源于消化食糜外,还有一部分来自肠道代谢产物,包括肠道分泌物、肠细胞脱落、肠粘膜蛋白等,这些代谢产物中的氨基酸含量会影响饲料氨基酸的测定,这也会造成体外消化率估测值偏低。

体外法在应用中需要注意以下几点:①体外消化法中所采用的酶制剂种类及组合方式应尽可能与体内消化反应保持一致,以便更准确地模拟体内消化过程,如采用多酶制剂(包含蛋白酶、脂肪酶、肽酶和碳

水化合物酶等)可以充分考虑其它营养素代谢对蛋白质和氨基酸消化率的影响;②酶与底物的浓度比、酶的特异性以及酶的活性也应该与体内保持一致,如体外消化中使用的胃蛋白酶浓度过高,则劣质蛋白也能被完全消化,相反胃蛋白酶浓度过低,则蛋白质未被完全消化;③孵育温度和 pH 值需要调整到与体内一致的水平;④酶的浓度以及孵育时间应随所模拟体内条件进行调整,使之尽可能接近体内条件;⑤为避免可能存在的消化产物对酶促反应的抑制作用,消化终产物应尽快与未消化物质分离;⑥应注意样品重量和粒度对消化率的影响;⑦考虑激素对营养成分消化的影响。

6 体外消化法应用前景

综上所述可知,体外消化测定法在实际应用中存在许多局限性,但这并不意味着对于体外法的研究没有意义,相反体外消化测定技术在评定饲料价值方面具有很大的潜力。

体外消化测定技术经过几十年的研究已有了很大发展,体外消化测定技术的几个发展方向是:由简单向复杂、由单酶向多酶、由密闭静态孵育体系向动态透析孵育体系、由动物消化液(小肠液和瘤胃液)向商品酶制剂(胃蛋白酶制剂、胰酶制剂和微生物纤维降解酶),从只能估测干物质和蛋白质营养价值到还能估测钙、磷、粗纤维等物质的营养价值发展的趋势。体外消化测定技术不断发展的目的是为了更简便、快速、准确地估测体内消化率,从而更科学地评定饲料营养价值。

体外消化测定法是一种极具潜力的饲料营养价值评定方法,能较好地对饲料消化性的优劣进行比较,并通过消化率差值法研究日粮粗蛋白质摄入量对内源氨基酸排泄量的相对影响,只要将对体内消化率测定结果有影响的因素尽可能考虑周全,并将其影响量化到所建立的回归方程中,就可以得出较为准确的体内消化率估测值。

(参考文献 13 篇,刊略,需者可函索)

(编辑:刘敏跃,lm-y@tom.com)

母猪日粮中支链氨基酸水平对仔猪血液生化指标和部分免疫指标的影响

黄红英 贺建华 范志勇 杨 灿 袁旭鹏

摘要 试验探讨了母猪日粮中添加支链氨基酸对哺乳仔猪血清生化指标和部分免疫指标的影响。选取胎次、体况、分娩期相近的法系(JALAX)母猪144头,随机均分成3个处理(对照组、处理A和处理B),每个处理6个重复,每个重复8头母猪。对照组饲喂基础日粮(总支链氨基酸为3.24%,缬氨酸:赖氨酸=0.86:1),处理A日粮添加低水平支链氨基酸(总支链氨基酸为3.56%,缬氨酸:赖氨酸=1.10:1),处理B日粮添加高水平支链氨基酸(总支链氨基酸为3.74%,缬氨酸:赖氨酸=1.20:1)。试验结果表明:①支链氨基酸添加组仔猪10、21日龄血清尿素氮水平有所降低,但10日龄血糖的浓度显著提高($P<0.05$);②低水平支链氨基酸显著提高了10日龄仔猪血清白蛋白浓度($P<0.05$)以及10、21日龄血清中乳酸脱氢酶活性($P<0.01$);③与对照组相比,支链氨基酸的添加极显著提高了10、21日龄仔猪血清中IgG的浓度($P<0.01$)。这说明母猪日粮中添加支链氨基酸能通过母体效应进而影响仔猪生长发育与免疫功能,但作用效果与添加水平有关。

关键词 支链氨基酸;母猪;仔猪;生化指标;免疫指标

中图分类号 S816.15

支链氨基酸(branched chain amino acid,BCAA)包括亮氨酸(Leu)、异亮氨酸(Ile)和缬氨酸(Val),是一组在碳链上具有支链结构的脂肪族中性氨基酸,均为动物体内不能合成的必需氨基酸。支链氨基酸具有氧化供能、促进蛋白质合成和抑制蛋白质降解、促进糖的异生、增强免疫力、调节母畜泌乳和调节激素代谢等生理功能,已成为营养学研究的热点之一(刘春生等,2006)。国外一些研究表明,日粮中添加BCAA可以改善母乳成分含量和提高仔猪生长性能,说明BCAA对泌乳母猪的产奶量和乳成分具有特殊作用(Dunshea等,2005; Moser等,2000;Richert等,1996、1997a、1997b;Tokach等,1993;Pettigrew等,1993)。但有关母猪日粮添加BCAA对哺乳仔猪血液生化指标和免疫指标的影响及其量效关系的研究,目前尚未见相关报道。因此,本研究通过考察母猪日粮中BCAA添加水平对哺乳仔猪血液生化指标和免疫指标之间的影响,为支链氨基酸在养

猪生产中的应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

L-缬氨酸和L-异亮氨酸由广东肇庆星湖生物科技股份有限公司提供。

1.2 试验动物及饲养管理

选取胎次、体况、分娩期相近的144头法系(JALAX)母猪(每头母猪的带仔数为10~12头),随机分成3个处理组,即对照组、处理A和处理B,每个处理6个重复,每个重复8头母猪,则每个处理组共48头母猪。

妊娠母猪于产前一周转入产仔舍,产仔舍为高床,漏缝式地板,圈舍通风良好,舍内保持清洁干燥,温度适宜,按照常规进行饲养管理,自由饮水,但仔猪不进行补料。试验日粮从母猪进产房之日开始,结束于仔猪断奶之日(21日龄),产仔当日不喂料,第2d每头喂2kg,然后每天每头增加0.5kg直至自由采食,以吃净吃饱为原则。

1.3 日粮组成与营养水平

基础日粮为玉米-豆粕型日粮,参照NRC(1998)推荐的营养水平进行日粮配制。对照组饲喂基础日粮,处理A母猪饲喂低水平BCAA日粮(基础日粮+缬氨酸0.26%+异亮氨酸0.06%),处理B母猪饲喂高

黄红英,湖南农业大学动科院动物营养教研室,410128,湖南长沙。

贺建华(通讯作者)、范志勇、杨灿、袁旭鹏,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-08-20

★ 湖南省教育厅重点项目(06A026)

水平 BCAA 日粮(基础日粮+缬氨酸 0.36%+异亮氨酸 0.14%)。基础日粮组成及营养水平见表 1,各处理组支链氨基酸水平见表 2。

表 1 基础日粮组成及营养水平

原料	组成(%)	营养水平	
玉米	53.50	粗蛋白(%)	18.50
豆粕	14.00	钙(%)	1.20
黄豆粉	16.42	总磷(%)	0.69
小麦麸	8.00	有效磷(%)	0.50
脂肪粉	2.50	消化能(MJ/kg)	14.20
磷酸氢钙	2.03	赖氨酸(%)	1.06
石粉	1.40		
胆碱	0.15		
泌乳母猪预混料	2.00		
合计	100.00		

注:①表中数据均为计算值;

②每千克泌乳母猪预混料中提供 VA 11 025 IU、VD₃ 1 103 IU、VE 44.1 IU、VK 4.4 mg、VB₂ 8.3 mg、VB₃ 28.7 mg、尼克酸 49.6 mg、VB₁₂ 0.03 mg、Mn 39.7 mg、Fe 165 mg、Zn 165 mg、Cu 16.5 mg、I 0.30 mg、Se 0.30 mg。

表 2 各处理组支链氨基酸水平(%)

项目	对照组	试验 A	试验 B
赖氨酸	1.06	1.06	1.06
缬氨酸	0.91	1.17(0.91+0.26)	1.27(0.91+0.36)
异亮氨酸	0.88	0.94(0.88+0.06)	1.02(0.88+0.14)
亮氨酸	1.45	1.45	1.45
总支链氨基酸	3.24	3.56	3.74
缬氨酸:赖氨酸	0.86:1	1.10:1	1.20:1

注:①每种试验日粮都是一批量生产并分析其营养水平,表中数据均为计算值;

②总支链氨基酸包括缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸。

1.4 测定指标

1.4.1 哺乳仔猪血样采集及分析

各处理每重复随机挑选 4 头母猪带的其中 2 头仔猪(每个处理组共采集 48 头仔猪的血样进行检测分析)于 10 日龄、断奶日龄(21 日龄)用真空采血器前腔静脉采血约 5 ml,室温下倾斜放置 30 min 后,3 000 r/min 离心 10 min,分离血清,留血清于 -20 °C 冰箱中冷冻保存,待测仔猪血清生化 and 免疫指标(血糖、总蛋白、白蛋白、尿素氮、胆固醇、碱性磷酸酶、丙氨酸转氨酶、天门冬氨酸转氨酶、乳酸脱氢酶、淀粉酶以及 IgG、IgM、IgA 的浓度),采用全自动生化分析仪(Bekman, 美国)测定各指标,免疫球蛋白(IgG、IgM、IgA)浓度用试剂盒(北京利德曼)通过免疫比浊法测定,其它试剂盒由中生北控提供,按说明书进行测定。

1.4.2 仔猪腹泻情况

分别记录哺乳 3~10 d、11~21 d 两个阶段的仔猪腹泻情况,统计分析各期及全期的腹泻率。

1.5 统计分析

所有数据均表示为平均值±标准差,先用 Excel 2003 作初步统计,再采用 SAS 6.12 软件中 ANOVA 程序对试验结果进行单因素方差分析和 Duncan's 法多重比较及显著性分析。

2 结果与分析

2.1 不同处理对哺乳仔猪血清生化指标的影响(见表 3)

表 3 母猪日粮中添加支链氨基酸对哺乳仔猪血清生化指标的影响

生化指标	第 10 d			第 21 d		
	对照组	处理 A	处理 B	对照组	处理 A	处理 B
总蛋白(g/l)	57.34±1.53	58.37±2.61	55.13±3.22	54.65±1.24	61.71±2.36	60.58±2.02
白蛋白(g/l)	29.88±1.58 ^b	34.46±2.08 ^a	29.94±2.26 ^b	37.23±2.59	37.10±3.66	37.77±1.15
球蛋白(g/l)	27.46±1.00	27.25±0.80	25.19±0.60	17.41±4.86	21.27±5.11	22.81±2.44
血糖(mmol/l)	4.75±0.37 ^b	4.96±0.81 ^b	5.63±0.73 ^a	5.54±0.41 ^{AB}	4.70±0.84 ^b	6.60±1.50 ^A
总胆固醇(mmol/l)	4.35±0.57	4.47±0.27	4.23±0.53	4.55±0.79	4.82±0.04	5.44±0.77
尿素氮(mmol/l)	6.73±0.11	5.00±0.16	5.47±0.22	6.40±0.88	4.72±0.58	5.43±0.49
天门冬氨酸转氨酶(U/l)	37.79±2.51	54.88±1.31	55.21±1.18	63.444±3.63	78.41±5.67	50.97±4.19
谷氨酸转氨酶(U/l)	50.54±2.77	52.42±2.71	47.63±2.29	54.31±3.61	51.46±3.58	37.35±2.50
碱性磷酸酶(U/l)	872.08±13.39	864.94±14.89	878.08±11.96	566.29±9.43 ^{AB}	535.79±5.17 ^B	708.89±6.93 ^A
乳酸脱氢酶(U/l)	412.20±6.25 ^B	675.03±5.34 ^A	309.36±3.99 ^C	404.69±7.16 ^{AB}	437.80±8.67 ^A	322.36±10.55 ^B
α-淀粉酶(U/l)	3 336.05±16.60	3 258.87±23.72	3 367.92±17.24	3 005.45±13.00	3 082.03±11.29	3 056.41±9.23

注:1.每个处理组参与检测分析统计的共为 48 头仔猪的血样;

2.同行数据肩标无任何字母或标相同字母的表示差异不显著(P>0.05),标不同小写字母的表示差异显著(P<0.05),标不同大写字母的表示差异极显著(P<0.01)。下表同。

由表 3 可见,与对照组、处理 B 相比,处理 A 仔猪 10 日龄血清中白蛋白分别提高 15.33%(P<0.05)、

15.10%(P<0.05), 乳酸脱氢酶活性分别提高 63.76%(P<0.01)、118.20%(P<0.01);断奶日龄(21 d)血清中乳

酸脱氢酶活性分别提高了 8.18%($P<0.05$)、35.81%($P<0.01$)。而处理 B 与对照组、处理 A 相比,仔猪 10 日龄血清中葡萄糖以及断奶日龄葡萄糖和碱性磷酸酶活性有不同程度的提高,分别提高 18.53%($P<0.05$)、13.51%($P>0.05$)、19.13%($P<0.05$)、40.43%($P<0.01$)、25.18%($P<0.05$)、32.31%($P<0.01$)。本试验发现,处理 A 和处理 B 仔猪 10、21 日龄血清中的尿素氮分别降低了 25.71%、18.72%、26.25%、15.16%,但差异不显著($P>0.05$)。此外,日粮添加 BCAA 并没有明显影响仔猪 10、21 日龄血清中总蛋白、球蛋白、总胆固醇的浓度以及天门冬氨酸转氨酶、丙氨酸转氨酶、 α -淀粉酶的活性($P>0.05$)。

2.2 不同处理对哺乳仔猪血清免疫指标的影响(见表 4)

表 4 母猪日粮中添加支链氨基酸对仔猪血清免疫球蛋白的影响(mg/ml)

项目	免疫指标	对照组	处理 A	处理 B
10 日龄	IgG	12.59±1.90 ^c	34.65±2.89 ^a	24.28±1.36 ^b
	IgM	35.36±2.10 ^b	31.67±3.57 ^b	51.17±2.09 ^a
	IgA	21.55±0.83	23.33±0.58	19.33±0.61
21 日龄	IgG	10.18±0.48 ^c	42.23±1.42 ^a	19.97±1.25 ^b
	IgM	30.16±3.90 ^a	27.31±3.06 ^{ab}	23.53±3.92 ^b
	IgA	20.65±0.72 ^a	16.38±0.38 ^{ab}	10.75±0.19 ^b

试验结果表明,日粮中添加 BCAA 明显改善了哺乳仔猪的免疫功能。由表 4 可知,处理 A 和处理 B 仔猪 10、21 日龄血清 IgG 活性均极显著高于对照组($P<0.01$),其中以处理 A 仔猪血清 IgG 水平最高。

2.3 不同处理对哺乳仔猪腹泻率的影响(见表 5)

表 5 母猪日粮中添加支链氨基酸对仔猪腹泻率的影响(%)

项目	对照组	处理 A	处理 B
3~10 日龄	7.87±0.78	6.89±0.98	7.65±1.35
11~21 日龄	5.67±1.32	4.79±1.56	5.23±1.08
3~21 日龄	6.77±1.67	5.84±2.03	6.44±1.26

由表 5 可以看出,母猪日粮中添加 BCAA 对哺乳仔猪各阶段以及哺乳全期的腹泻率有一定改善作用,但各处理之间没有显著差别($P>0.05$),与添加水平也没有明显联系。

3 讨论

仔猪血液生化指标的改变是组织细胞通透性发生改变和机体新陈代谢机能发生改变的反映。血糖主要指血液中的葡萄糖,是蛋白质的重要底物,它是由小肠吸收的葡萄糖,首先经门静脉进入肝脏,再经肝静脉进入血液循环,被送到各组织细胞供全身利用。

日粮营养水平对血糖有明显影响,血糖丰富时,胰岛素能通过影响细胞膜的转运系统促进细胞对氨基酸和葡萄糖的摄取,增加蛋白质和糖原的合成。本试验中,血糖几乎随 BCAA 添加剂量的增加而逐渐升高,表明 BCAA 具有促进体内血糖升高的作用,从而有利于机体蛋白质的合成。

Malmolf 等(1988)认为血清尿素氮浓度可以较准确地反映动物体内蛋白质代谢和氨基酸之间的平衡状况,氨基酸平衡良好时血清尿素氮浓度下降(Rosebrough, 1983; Borg 等, 1987)。一般认为血液尿素氮水平反映饲料蛋白利用情况,较低的血清尿素氮值表明氨基酸平衡好,机体蛋白质合成率较高(Coma 等, 1995; 朱年华和肖永祚, 1997)。所以血清尿素氮浓度可以作为表达日粮蛋白质或氨基酸在动物体内利用情况的一个指标。本试验结果表明,BCAA 的添加降低了仔猪血清中尿素氮的浓度,但以 3.56% BCAA 添加组的最低,说明 3.56% BCAA 组母猪乳汁中的氨基酸平衡性最佳。

就天门冬氨酸转氨酶(AST)和丙氨酸转氨酶(ALT)而言,本试验结果表明,BCAA 的添加对仔猪血清 ALT、AST 的活性没有显著影响($P>0.05$)。至于碱性磷酸酶(AKP),朱年华和肖永祚(1997)曾报道,提高血液中碱性磷酸酶活性有利于提高动物的日增重。但在本研究中,泌乳母猪日粮中添加高水平 BCAA 在一定程度上提高了 AKP 活性,但低水平则与对照组相近。分析其原因,是否与 BCAA 对仔猪的作用和母体效应有关,尚有待研究证实。

IgG 是动物自然感染和人工主动免疫后机体产生的主要抗体,在体内发挥抗菌、抗病毒、抗毒素等免疫学活性(陶义训, 1999)。本试验结果表明,母猪日粮中添加 BCAA 极显著提高了仔猪 10、21 日龄血清中 IgG 的浓度($P<0.01$),减少了仔猪的腹泻,说明 BCAA 可通过母体效应,一定程度上改善仔猪的免疫状况。

4 结论

4.1 哺乳母猪日粮中添加支链氨基酸能显著提高仔猪血糖水平、血清白蛋白浓度和乳酸脱氢酶活性,对降低血清尿素氮浓度也有一定作用。

4.2 哺乳母猪日粮中添加支链氨基酸能通过增加仔猪血清 IgG 浓度改善仔猪机体免疫功能,减少腹泻。

(参考文献 14 篇,刊略,需者可函索)

(编辑:刘敏跃,lm-y@tom.com)

不同微细化程度玉米粉的淀粉糊化度研究

廖娜 谭鹤群

摘要 以登海9号(DH-9)玉米粉为原料,应用物理方法制备出具有不同粒径的微细化样品。用ZMM-500E型金相显微镜放大400倍观察不同微细化程度样品的微观形貌以及用测微尺测量平均粒径。利用吸光度-糊化度标准曲线和碘分光光度法测定它们的糊化度。结果表明:随着微细化时间的延长,微细化玉米粉颗粒逐渐减小;粉碎时间从5 min到15 min,然后对粉碎过的玉米粉依次球磨0、24、48、72 h,玉米粉颗粒的平均粒径从20.01 μm 减小到7.89 μm 。同时,玉米粉颗粒粒径分布越来越均匀和集中;微细化样品的淀粉糊化度从1.28%增大到21.41%,但增大到一定程度时,变化的幅度有所减慢。球磨对玉米粉的淀粉糊化度的影响比粉碎显著。

关键词 微细化;玉米粉;糊化度;粒度

中图分类号 S817.12*2

超微粉碎是近年来发展起来的新技术。颗粒的微细化导致物料表面积和孔隙率大幅度的增加,使得超微粉碎体具有良好的分散性、化学活性等理化特性^[1]。研究发现,对天然淀粉的微细化处理可以使其微观形貌、物理化学性质乃至分子量分布发生明显变化,呈现出相对于原淀粉所没有的特殊性能。传统对淀粉理化特性的研究停留在粒径较大的淀粉颗粒,限制了产品质量的提高和新产品的开发^[2]。目前,有关微细化淀粉的粒度效应与其形态结构及性能的关系研究受到广泛关注。如研究发现球磨对颗粒形貌的主要影响是产生粗糙表面,出现更多的伤痕和裂纹,球磨后的淀粉颗粒存在深度裂纹^[3];对于不同粒度的米粉糊化特性的研究结果表明,粒度越细,颗粒的糊化温度越低,糊化结束的温度也越低^[4]。现在正兴起的粉体机械力化学理论就是研究在机械力作用下产生颗粒微细化时,微细颗粒尺寸大小、晶粒大小、表面性质等所显示出来的与原颗粒不同的物理化学性质^[5]。

玉米是世界三大高产粮食作物之一,用玉米制取淀粉具有原料充足、工艺成熟、得粉率高等特点。玉米淀粉工业已发展成为世界性的产业,占世界90%以上的淀粉都来自玉米^[6]。本文以玉米粉为研究对象,分别用DJ-04型粉碎机粉碎和QM-BP行星球磨机球磨两种微细化方法,通过控制微细化时间来得到不同粒度范围内的微细化玉米粉,通过标准曲线方程测定微细化后生玉米粉的淀粉糊化度。从而来研究微细化方

法^[7]、微细化时间及粒度对生玉米粉的淀粉糊化度的影响。旨在为玉米食品的微细化加工提供参考,促进食品及饲料加工行业的发展。

1 材料与方法

1.1 原料及试剂

玉米粉为市售登海9号玉米种子加工而成;0.1 mol/l HCl;2 g/l 碘液;无水乙醇纯度为99.8%。

1.2 仪器与设备

DHS20-1多功能红外水分仪:读数精度0.001 g,上海精密科学仪器有限公司生产。

DJ-04型粉碎机:转速2 400 r/min,容量200 g,1~2 min便可完全粉碎,粉末粒度为10~200目,上海淀久中药机械制造有限公司生产。

QM-BP行星球磨机:研磨产品最小粒度可达0.1 μm ,最大连续工作时间(满负荷)为72 h,南京大学仪器厂生产。

722型光栅分光光度计:波长范围是330~800 nm,波长精度为 ± 2 nm,山东高密彩虹分析仪器有限公司生产。

ZMM-500E型金相显微镜:放大倍数为25~2 000倍,上海宙山精密光学仪器有限公司生产。

1.3 试验方法

1.3.1 微细化玉米粉的制备

用DJ-04型粉碎机对原始玉米粉进行粉碎,分别粉碎5、10、15 min,然后将粉碎5 min的玉米粉过75目筛,粉碎10 min的玉米粉过100目筛,粉碎15 min的玉米粉过150目筛,再用QM-BP行星球磨机对这三种粉碎过筛样品进行球磨,每一粉碎过筛样品均分别球磨0、24、48、72 h,共制得12种微细化样品。

1.3.2 水分含量的测定

廖娜,华中农业大学工程技术学院,430070,湖北省武汉市洪山区狮子山1号。

谭鹤群,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-09-16

利用 DHS20-1 多功能红外水分仪测定各微细化样品的水分含量。各称取 5.000 g, 设定加热温度为 105 ℃, 加热时间为 60 min, 从该水分仪上直接读取水分含量。

1.3.3 微观形貌的观察

取少量微细化玉米粉样品置于载玻片上, 用酒精分散^[8,9], 在 ZMM-500E 金相显微镜 400 倍下观察玉米粉颗粒的显微结构, 随机选取 50 粒玉米粉颗粒, 用测微尺测定每颗玉米粉粒径, 以其算术平均值 d_1 表示^[10]。

1.3.4 糊化度-吸光度标准曲线的绘制

1.3.4.1 全糊化玉米粉的制备

将自制的 DH-9 玉米粉在 DJ-04 粉碎机上粉碎 3 min, 并让它过 60 目筛, 作为测标准曲线的样品。

制备全糊化玉米粉: 称取 50.000 g 该粉碎样品, 按照玉米粉: 水=1:7 的比例在 90 ℃水浴下调制玉米糊, 并对干燥过的糊化玉米粉用 DJ-04 粉碎机粉碎 3 min, 使之过 60 目筛, 得到全糊化玉米粉。

1.3.4.2 比色

将各样品加 20 ml 蒸馏水, 并放入 45 ℃水浴锅内溶解 30 min, 待冷却到室温时, 用蒸馏水定容到 50 ml, 摇匀后用定量滤纸过滤, 各取滤液 0.3 ml 置于 10 ml 容量瓶中, 再向容量瓶中先后加入 5 ml 蒸馏水和 0.1 mol/l HCl 1.4 ml, 调节溶液 pH 值到 3 左右, 然后加入 0.2 ml 所配制的碘液, 使溶液显色, 最后将溶液定容到 10 ml, 摇匀, 静置 15 min, 以空白溶液作为参比溶液。倒入 1 cm 比色皿进行比色, 记录吸光度的值。

1.3.4.3 最大波长的确定

通过调节吸收波长, 每隔 10 nm 调节一次, 调节范围为 400~790 nm, 作出吸光度-波长的曲线, 从而确定出最大吸收波长。

1.3.4.4 标准曲线的绘制

糊化度实际上是淀粉中全糊化淀粉所占的比例, 选取糊化度从 0 到 100% 的 11 个点来作标准曲线。

方法一: 保证混合粉淀粉含量为 0.25 g, 在 DHS20-1 多功能红外水分仪上, 用四分法一次性称取各糊化度所需的全糊化玉米粉和生玉米粉的量, 配备好各种糊化度的样品。

方法二: 全部用自制的生玉米粉作为原料, 再按照各种不同糊化度一次性称取糊化所需的量, 各加入 20 ml 的水, 使玉米粉混合液在 90 ℃恒温水浴中 30 min, 充分糊化后冷却到室温, 然后称取各种不同糊化度所

需生玉米粉的量, 并对应的与全糊化玉米粉液混合。

1.3.5 样品糊化度的测定

将待测样品用 1.3.4.2 所述的方法进行比色, 记录下吸光度的值。每次试验重复三次, 取其平均值作为该样品吸光度的值, 然后利用标准曲线计算出对应的糊化度。

1.4 试验数据处理

利用 Excel 对试验数据进行处理。

2 结果与分析

2.1 微细化玉米粉的微观形貌

图 1 为各样品在 ZMM-500E 型金相显微镜下放大 400 倍后的显微镜照片。

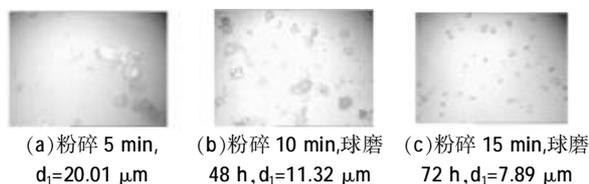


图 1 ZMM-500E 金相显微镜下微细化玉米粉显微照片(400×)

从以上各微细化玉米粉显微照片可以看出: 粒径较大的玉米粉颗粒呈卵形, 较小的呈球形, 随着微细化时间, 即粉碎时间和球磨时间的延长, 玉米粉颗粒部分分裂成片状; 各样品平均粒径逐渐变小; 平均粒径从 20.01 μm 到 7.89 μm, 变化相对比较缓慢。这可以用以下推断来解释, 在本试验所采用 DJ-04 粉碎机和 QM-BP 行星球磨机微细化作用下, 物料可能存在粉碎极限, 当颗粒粒度很小后, 尽管继续施加机械应力, 粒度可能不再减小或减小的速度很慢^[5]。

2.2 不同粒径范围玉米粉颗粒粒度分布

采用平均粒径表示微细化玉米粉的颗粒大小^[11], 如表 1 所示。

表 1 不同微细化时间的玉米粉粒度分布

样品	粉碎时间(min)	球磨时间(h)	平均粒径(μm)
1	5	0	20.01
2	10	0	17.74
3	15	0	14.21
4	5	24	14.16
5	10	24	13.29
6	15	24	12.60
7	5	48	11.62
8	10	48	11.32
9	15	48	10.55
10	5	72	10.01
11	10	72	9.20
12	15	72	7.89

选取样品 1、样品 8、样品 12 作粒度累积分布和

频率分布曲线,如图2所示。

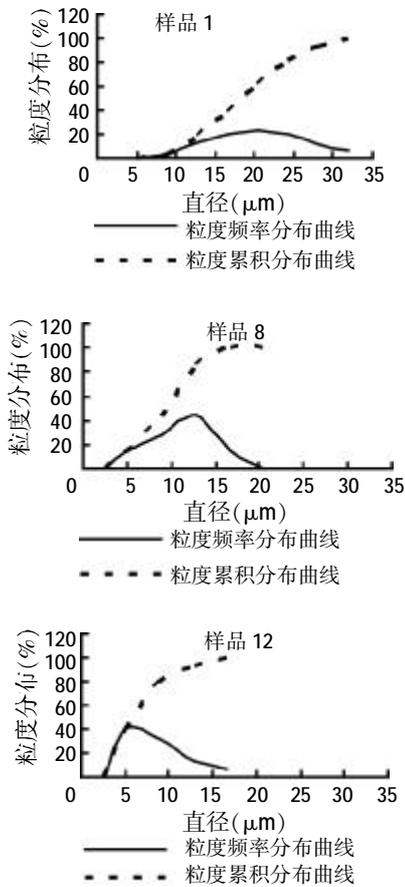


图2 粒度累积分布曲线和频率分布曲线

由图2可以看出,累积分布曲线随着微细化时间的增长越来越陡,且频率分布曲线的区间越来越窄,同时曲线及波峰渐渐向左移。这表明,随着粉碎时间的延长和颗粒平均粒径的减小,玉米粉颗粒的粒度分布越来越集中,颗粒的大小越来越均匀。

2.3 作吸收光谱曲线,确定最大吸收波长

按照上述1.3.4.3的方法用全糊化玉米粉溶液(静置了一段时间后)测出波长在400~790 nm范围内的吸光度,用Excel作出全糊化玉米粉在不同波长下的吸光度曲线,如图3所示。

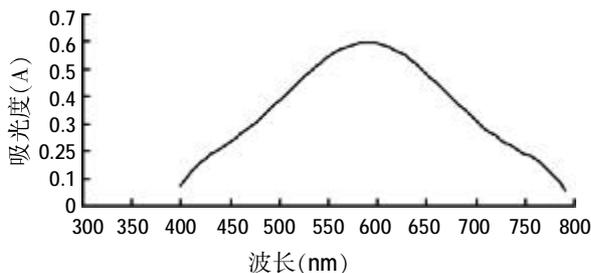


图3 全糊化玉米粉在不同波长下的吸光度曲线

由图3可以看出,在580 nm波长下吸光度最大。

2.4 按照两种不同的方法作标准曲线并进行比较

按照1.3.4.4中的方法一和方法二得到的标准曲线如图4和图5所示。回归直线为 $y_1=0.0075x_1+0.0342$, $y_2=0.0073x_2+0.026$ 。

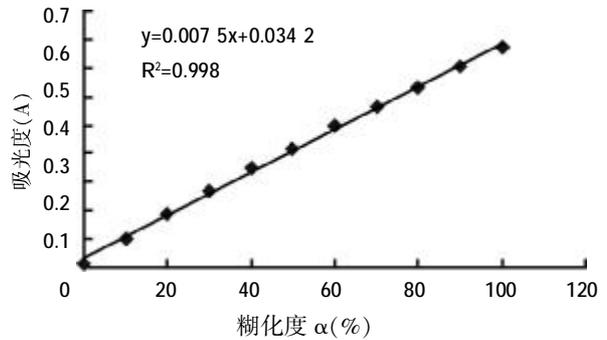


图4 方法一:580 nm 波长下吸光度-糊化度曲线

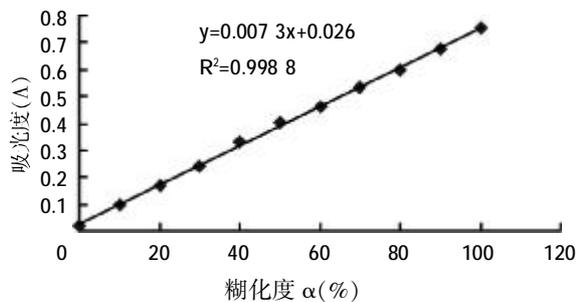


图5 方法二:580 nm 波长下吸光度-糊化度曲线

统计分析表明,两种方法得到的回归直线既共点又平行,即两者本质上是一条回归直线,为此,将两组数据合并进行回归,得到回归直线为: $y=0.0074x+0.030$,线性回归效果极显著($P<0.01$)。由于标准曲线是需要过原点的,于是进行系数 b_0 即回归直线常数项的显著性检验,结果表明 b_0 不显著,回归直线过原点。采用过原点的回归直线拟合方法进一步求解标准曲线,得到回归直线: $y=0.0078x$,线性回归效果极显著($P<0.01$),说明标准曲线 $y=0.0078x$ 可以使用。

2.5 待测样品糊化度的测定

通过标准曲线 $y=0.0078x$ 计算得到待测样品的糊化度,研究微细化方法和颗粒粒径大小与糊化度之间的关系。

分别以球磨前和球磨24、48、72 h作为前提,来比较试验所选的三个粉碎时间,即5、10、15 min对于玉米粉的淀粉糊化度的影响情况。采用类似的方法,分别以粉碎5、10、15 min为前提,来比较试验所选的三个球磨时间24、48、72 h对于玉米粉淀粉糊化度的影响情况(见图6、图7)。

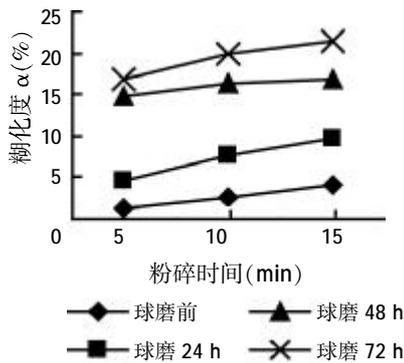


图6 球磨时间一定时玉米粉的淀粉糊化度随粉碎时间变化的曲线

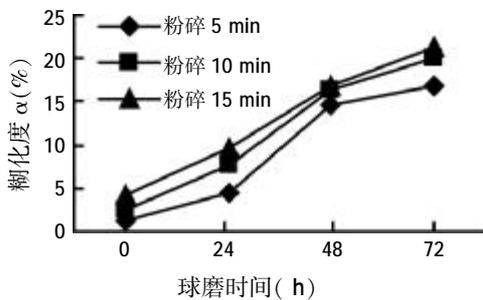


图7 粉碎时间一定时玉米粉的淀粉糊化度随球磨时间变化的曲线

从图6中可以看出,在5~15 min粉碎时间内,粉碎对于样品糊化度影响不是很显著,且随着时间的增长,玉米粉的淀粉糊化度的增长幅度有所减小;从图7中可以看出,在0~72 h球磨时间内,球磨对于玉米粉的淀粉糊化度的影响较为显著,且随着球磨时间的延长,糊化度的增长幅度由大变小,但减小幅度不及粉碎大。结合图6、图7可见,对于粉碎和球磨这两种微细化方法,微细化程度越高,玉米粉的淀粉糊化度越大。

各组图的曲线极为相似,说明这两种微细化方法对于玉米粉的淀粉糊化度的影响是有一定规律的。玉米粉经过一定的球磨处理后,它的糊化度随着粉碎时间的变化曲线几乎呈直线,且较平缓;玉米粉经过一定的粉碎处理后,它的糊化度随着时间的变化曲线类似三角函数曲线的一部分,但随着球磨时间的加长,变化也渐渐趋近于直线。

3 结论与讨论

① 应用物理粉碎方法可以制备出不同粒度范围内微细化玉米粉,随着粒度的降低,玉米粉表面趋于粗糙,颗粒形态发生变化,比表面积增加,糊化度有一定程度的提高。

② 玉米粉粒度累积分布曲线随着微细化时间的延长越来越陡,且粒度频率分布曲线的区间越来越窄,说明随着微细化时间的延长,微细化玉米粉颗粒粒度分布越来越均匀和集中。同时曲线及波峰渐渐向左移,说明微细化时间越长,玉米粉粒度越小。

③ 关于两种微细化方法,它们对糊化度的影响是有一定规律的。粉碎对于样品糊化度影响不及球磨对糊化度的影响显著;玉米粉经过一定的球磨处理后,它的糊化度随着粉碎时间的变化曲线几乎呈直线,且较平缓;玉米粉经过一定的粉碎处理后,它的糊化度随着时间的变化曲线类似三角函数曲线的一部分,但随着球磨时间的加长,变化也渐渐趋近于平缓的直线。

④ 玉米粉颗粒的研磨时间是影响其微细化的重要因素之一。研磨时间越长,玉米粉颗粒被破碎得越小,可通过调节研磨时间来控制玉米粉颗粒的粒度,以适合应用要求。由于在常温下通过粉碎就能使玉米粉糊化,这对于饲料行业的一些生产企业而言,为糊化这一加工环节提供了参考依据。

参考文献

- 胡飞,陈玲.微细化马铃薯淀粉颗粒的表面形态及分子链变化的研究[J].化学通报,2003,66(3):1-5
- 胡飞,陈玲,温其标.淀粉微细化国内外研究概况与展望[J].郑州工程学院学报,2001,22(2):74-77
- Jane J. Preparation and properties of small-particle corn starch[J]. Cereal Chem, 1992(3):280-283
- 潘思铁,王可兴,刘强.不同粒度超微粉碎米粉理化特性研究[J].中国粮油学报,2003,18(5):1-4
- 胡飞.粉体机械力化学与淀粉微细化发展概况[J].化学工业与工程,2003,20(6):372-376
- 张晖,姚惠源,王立.国外玉米深加工工业现状和发展趋势[J].粮食与饲料工业,2004(9):24-26
- 卢训,吕政义.不同碾磨方法对米粉理化性质的影响及米雪片的试制[J].食品科学(台),1989,16(1):22-35
- 吴俊,谢笔钧,熊汉国.淀粉粒度对热塑性淀粉性能的影响研究[J].农业工程学报,2003,19(3):37-40
- 陈玲,叶建东.木薯淀粉微细化及颗粒形貌的研究[J].粮食与饲料工业,1999(1):41-43
- 熊善柏,赵思明,冯醒桥,等.淀粉在过量水分下糊化机理研究[J].粮食与油脂,2001(9):2-4
- 刘启觉,王继焱.大米微粉碎工艺特点及参数[J].粮食与饲料工业,1998(8):17-18

(编辑:崔成德, cuicengde@tom.com)

饲喂次数对育肥猪非采食期间行为规癖的影响

王昕陟 王艳丽 王哲 肖焕星

摘要 试验研究了不同饲喂次数对育肥猪行为的影响。选择平均初始体重(60.01±0.96) kg 长大二元生长肥育母猪 24 头,分为 3 个处理,每个处理 8 个重复,每栏一头猪。3 个处理分别为:①日饲喂 2 次;②日饲喂 3 次;③日饲喂 4 次。采用瞬时记录法,在非采食期间观察,试验期为 2 个月。结果表明:育肥猪在非采食期间,日饲喂 2 次比日饲喂 3 次、4 次有更强的采食动机,与采食有关行为规癖的发生频率较大。

关键词 肥育猪;饲喂次数;采食动机;行为规癖

中图分类号 S815.4

Effects of different feeding times on feed-related behaviour stereotypes of finishing pigs in non-feeding time

Wang Xinshi, Wang Yanli, Wang Zhe, Xiao Huanxing

Abstract This experiment is carried out to study the effects of different feeding times on behaviour of growing pigs. 24 growing-finishing female pigs average initial body weight (60.01±0.96) kg are divided randomly into three treatments with each treatment including 8 repetitions. There is a pig in one pen. Treatment one, twice each day; Treatment two, three times each day. Treatment 3, three times each day. Behaviour is recorded by direct observation during the non-feeding time. The whole experimental period is two months. The experimental result shows that: During the non-feeding time, the feeding motivation of feeding twice of finishing pigs is much higher than the others and the behaviour stereotypes is higher.

Key words finishing pigs; feeding frequency; feeding motivation; behaviour stereotypes

育肥猪饲养管理以及营养的研究一直以来是大家关注的问题,而且影响的因素也很多,但大部分是从饲料学和免疫学的角度来分析的,对猪的行为尤其是采食行为的研究比较少,在国内未得到应有的重视。自 20 世纪 70 年代以来,在国际家畜行为学会议的推动下,陆续翻译和出版了不少行为学著作,发表了不少研究成果,但从内容看,还远远不能适应我国目前畜牧业发展的需要。

李世安(2001)研究表明,动物的行为是指动物对各种不同的内在和外界条件的适应或调整的一种表现,即对刺激的一种反应^[1]。崔卫国(2004)研究表明,饲喂方式、饲料的营养水平和动物的采食动机与动物的行为表现存在着某种联系^[2]。本试验主要研究不同饲喂次数对育肥猪行为的影响,为今后的研究提供一些参考依据。

王昕陟,沈阳农业大学畜牧兽医学院,副教授,110161,沈阳市东陵路 120 号沈阳农业大学 99# 信箱。

王艳丽(通讯作者)、王哲、肖焕星,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-08-27

1 材料与方法

1.1 试验动物分组及饲养管理

选择 24 头长大二元生长肥育母猪,平均初始体重为(60.01±0.96) kg,分为 3 个处理组,每个处理组 8 个重复,每栏一头猪。3 个处理组分别为:处理 1 组在 7:00 和 15:30 各投料一次;处理 2 组在 7:00、11:30 和 17:00 投料;处理 3 组在 7:00、11:30、15:30 和 20:00 投料。每次投料后,各栏猪几乎不再采食时,分别将剩余饲料收回,自由饮水。预饲期 10 d,试验期为 2 个月。

本试验于 2007 年 3 月开始在沈阳农业大学科研种猪场进行,各栏之间以砖墙相隔,无视觉交流。

1.2 试验饲粮

试验饲粮采用的是玉米-豆粕型全价配合饲粮(参照 NRC 1998 生长肥育猪营养标准配制),日粮组成及营养水平见表 1。

1.3 观察方法

所有行为采样都由同一名观察者坐在观察台(高约 2 m)上完成,这样可以避免观察者来回走动对动物行为的影响。每日在 14:30~15:00 非采食期间观察,每 30 s 瞬时行为采样一次。

表1 日粮组成及营养成分

饲料原料	配合比例(%)	营养成分	
玉米	72.00	代谢能(MJ/kg)	12.38
大豆粕	10.00	粗蛋白(%)	13.76
菜籽粕	1.00	钙(%)	0.51
小麦麸	8.30	总磷(%)	0.46
次粉	6.00	有效磷(%)	0.20
L-lys(盐酸盐)	0.1	Met+Cys(%)	0.37
DL-met	0.15	Lys(%)	0.64
石粉	0.7		
骨粉	0.45		
食盐	0.3		
添加剂	1.00		

1.4 统计分析

试验结果采用频率表示,与地面、食槽等有关的瞬时性行为数据采用观察时间内行为发生频率的百分比表示,处理前数据经平方根变换,再经反正弦转换。数据全部采用SPSS12.0.1软件进行处理,ANOVA过程进行数据的方差分析及多重比较。

2 结果和分析

2.1 饲喂次数对育肥猪采食行为的影响及其随时间变化趋势(见图1)

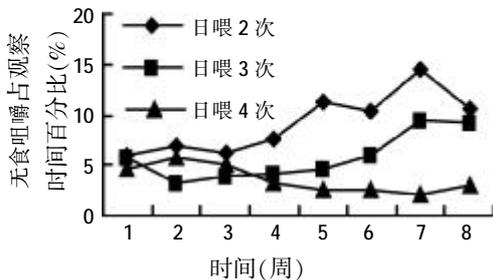


图1 饲喂次数对育肥猪采食行为的影响

图1表明,在整个试验期,日饲喂2次、3次处理组的空嚼次数呈上升趋势,而日饲喂4次处理组的空嚼次数随时间增长而缓慢下降。饲喂2次处理组的空嚼频率平均为9.16%,极显著多于其它两处理组(P<0.01),尤其在4周以后,在4周以前各处理差别不大。

2.2 饲喂次数对育肥猪与地面有关行为的影响及其随时间变化趋势(见图2)

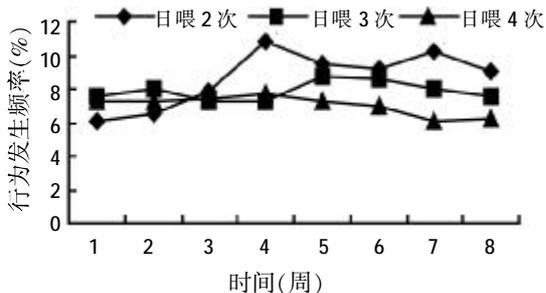


图2 饲喂次数对育肥猪与地面有关行为的影响

由图2可以看出各处理与地面有关行为随时间变化没有一定的规律性,前两周各处理相差不多,两周后处理1发生频率高于处理2和处理3,但差异不显著(P>0.05)。

2.3 饲喂次数对育肥猪与栏杆有关行为的影响及其随时间变化趋势(见图3)

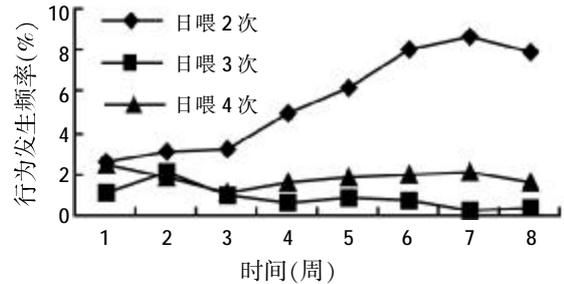


图3 饲喂次数对育肥猪与栏杆有关行为的影响

由图3可以看出,各处理在试验第1周与栏杆有关行为发生率几乎相同,平均为2.01%;随着时间的增加日饲喂2次处理组此行为发生频率急剧上升,最高出现在第7周8.69%;日饲喂3次和4次处理组随时间变化趋势基本一致,平均为0.86%、1.81%,极显著低于日饲喂2次处理组(P<0.01)。

2.4 饲喂次数对育肥猪与饲槽有关行为的影响及其随时间变化趋势(见图4)

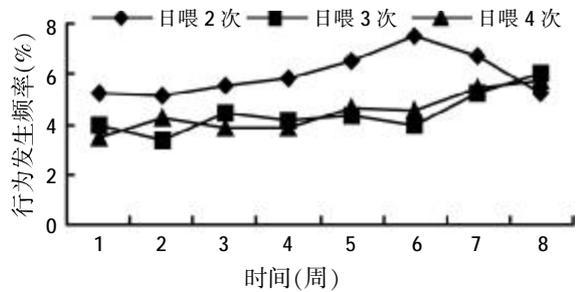


图4 饲喂次数对育肥猪与饲槽有关行为的影响

如图4所示,在整个试验期,除第8周末日饲喂2次处理组与饲槽有关行为发生率都高于另外两处理组,但差异不显著(P>0.05);日饲喂3次、4次处理组随时间变化趋势一致,均呈缓慢上升趋势,平均为4.42%、4.5%,发生率较少。

3 讨论

3.1 饲喂次数对育肥猪非采食期间行为的影响

Lawrence A B(1988)经大量研究表明限饲是引起母猪行为规癖的主要原因之一^[1]。Garner J P(2002)表明行为规癖是动物对环境“不适症”在行为学上的体现^[4]。由于动物的行为适应能力是有限的,如果环境、饲养管理制度的改变超出一定限度,动物通过正常的

行为反应无法适应这一环境时,其行为常常会表现出异常。限饲使母猪处于高水平的持续饥饿状态,保持较高水平的采食动机。Von Borell(1991)认为采食动机受挫与食物是否出现、食物的多少、限饲的程度、猪的年龄及经验程度有关^[9]。

饲喂 2 次处理组无食咀嚼次数多于饲喂 3 次和 4 次处理组,这与前人研究有相似之处。Bergeron 等人(2000)试验表明,妊娠母猪自由采食减少了无食咀嚼的发生^[9],但与本试验的试验动物生长阶段不相同。这可能是由于饲喂 2 次处理组饲喂间隔时间较长,在高水平采食动机情况下采食欲望较强,空咀嚼次数较多。

与地面有关行为在试验前两周差异不大,可能是在试验初期,各处理组没完全适应新的饲喂制度,在生理上还沿袭以前的饲喂程序,而在两周后随着体重的增加,采食欲望不断增加,在高采食动机下口吻部行为增加,另外也可能是由于猪舍为水泥地面,地面残留有采食时抖落的饲料和尿中含有的无机盐诱发了与采食有关行为的发生。

与栏杆有关行为日喂 2 次处理组极显著高于其它两处理组,除与采食动机有关外,另外极有可能是个体差异造成。

Bergeron 等(1997)指出,与饲槽有关行为的产生可能是由于饲槽中有小颗粒的饲料残留物或气味,使猪产生较强烈的采食欲望^[9]。本试验中与饲槽有关行为日喂 2 次处理组高于其它两处理组,原因可能是饲喂间隔时间长,较强的采食动机促使其对饲槽的饲料残留物或气味较敏感,另外也可能是个体差异造成的,具体原因有待于进一步研究。

日喂 2 次处理组与地面、栏杆、食槽有关行为均明显高于另外两组,这与前人研究有相似之处。Lawrence 和 Terlouw(1993)研究表明,采食时间的增加实际上允许动物表达更多的与采食有关的行为,这样反过来减少了以规癖形式表达采食行为的动机^[9]。也可能是由于猪的个体差异和饲养管理造成,或由于猪体内缺乏某种微量元素而导致磨牙这种行为规癖的增加。

3.2 饲喂次数、采食动机及动物行为的联系

Leibowitz(1991)研究表明神经肽 Y(NPY)是由 36 个氨基酸残基构成的肽,NPY 参与调整能量平衡的各种内分泌活动,对生理和行为过程有巨大影响,与采食动机和采食行为的关系相当密切^[9]。Sahu 等(1998)将小鼠连续禁食 4 d,随后 1 d 让小鼠自由采食^[10]。结果

发现,在绝食的第 3~4 d 时,弓形核内的 NPY 水平显著提高,甚至在自由采食的第 2 d 时,其浓度依然很高。但在下丘脑的视前区,持续 4 d 的绝食并没有对 NPY 浓度造成影响,可是自由采食能显著提高其浓度。而绝食能导致室旁核内 NPY 水平逐渐地、时间依赖性地提高,到第 4 d 时直至最高点;在自由采食后又大幅度降低至对照组饱食大鼠的水平,从而表明小鼠小肠内的营养信号能激活中枢神经系统中特定的 NPY 神经通路,但是关于饲喂次数对育肥猪行为规癖及采食动机影响还缺乏全面、系统的研究。

综上所述,育肥猪在非采食期间,日饲喂 2 次比日饲喂 3 次、4 次有更强的采食动机,与采食有关行为规癖的发生频率较大。

参考文献

- 1 李世安主编.动物生物学[M].北京:科学出版社,2001:563-564
- 2 崔卫国,包军.动物的行为规癖与动物福利[J].中国畜牧兽医,2004,31(6):3-5
- 3 Lawrence A B, Apleby M C, Macleod H A. Measuring hunger in the pig using operant conditioning: the effect of food restriction[J]. Anim. Prod., 1988(47):131-137
- 4 Garner J P, Mason G J. Evidence for a relationship between cage stereotypies and behavioural disinhibition in laboratory rodents[J]. Behav. Brain. Res., 2002,136(1):83-92
- 5 Von Borell E, Hurnik J F. Stereotypic behavior, adrenocortical function, and open field behavior of individually confined gestating sows [J]. Physiol. Behav., 1991,49(4):709-713
- 6 Bergeron R, Bolduc J, Ramonet Y, et al. Feeding motivation and stereotypies in pregnant sows fed increasing levels of fibre and/or food. Appl. Anim. Behav. Sci., 2000, 70:27-40
- 7 Bergeron R, Gonyou H W. Effect of increasing energy intake and foraging behaviours on the development of stereotypies in pregnant sows. Appl. Anim. Behav. Sci., 1997,53:259-270
- 8 Lawrence A B, Terlouw E M C. Review of behavioral factors involved in the development and continued performance of stereotypic behaviors in pigs[J]. Anim. Sci., 1993,71:2 815-2 825
- 9 Leibowitz S F. Brain neuropeptide Y: an integrator of endocrine, metabolic and behavioral processes [J]. Brain Res. Bull, 1991,27:333-337
- 10 Sahu A, Kalra P S, Kalra S P. Food deprivation and ingestion induce reciprocal changes in neuropeptide Y concentrations in the paraventricular nucleus [J]. Peptides, 1988(9):83-86

(编辑:刘敏跃, lm-y@tom.com)

应用巢式 PCR 技术对水产饲料及食品转基因成分检测的研究

陶冉 刘梅 王雷 王宝杰 蒋克勇

摘要 根据 GenBank 中登录的转基因大豆完整外源 DNA 序列设计了几对引物,对转基因大豆和水产饲料以及部分豆制品进行了巢式 PCR 检测。结果表明,巢式 PCR 可以扩增 10^{-10} g/ μ l 浓度的 DNA 溶液,检测灵敏度高达 0.01%;该巢式 PCR 技术具有高度特异性、灵敏度和很好的重复性。用巢式 PCR 对部分市售的水产饲料和豆制品进行检测,90.6%的水产饲料和 46.5%的食品能检测出外源基因片段,表明转基因大豆广泛存在于水产饲料和我们的日常食品中,为食品安全分析和管理工作提供了方法和依据。

关键词 转基因大豆;水产饲料;食品;巢式 PCR

中图分类号 S816.17

转基因作物是指利用重组 DNA 技术将外源基因整合于受体植物基因组,改变其遗传组成后产生的植物及其后代,也称为遗传修饰生物体(Genetically modified organisms, GMOs)。自 1983 年首例转基因植物问世以来,全球转基因作物的种植面积和销售收入均以倍数增长。但从严肃的科学意义上说,转基因农产品的生物安全性目前尚无确定的结论。人类关注转基因食品安全的同时,也关注着动物饲料的安全。饲料安全是食品安全的一个重要环节,转基因饲料的安全性检测也将为相应转基因食品的安全性提供有力的证据。我国的饲料生产已经具有相当规模,饲料中常用的原料有豆粕、棉籽粕、玉米、菜籽粕等,这些可能含有转基因的作物有可能对动物、人体和生态环境存在不可知的危害。本研究主要以水产饲料为研究对象,建立了一套具有高灵敏度的转基因检测技术,不仅对市售多种水产饲料进行了检测,而且该方法为含有其它转基因作物成分的饲料检测提供了借鉴,也为进行转基因饲料安全性分析提供技术参考。

转基因产品的检测,主要从核酸和蛋白质两个水平上进行^[1]。基于外源基因的表达产物——蛋白质的

检测技术主要包括 Western 杂交、ELISA 和试纸条法。ELISA 检测法可以进行定量检测,但该技术需要明确知道转入的外源基因的表达产物,对所检测的基因有很强的特异性,对于不明确外源基因的转基因作物无法检测。蛋白质的检测技术需要根据特异的外源蛋白制备纯度较高的抗体,前期工作比较复杂。因此,目前普遍应用基于 DNA 的检测技术对转基因作物进行检测,该类技术主要包括 Southern 杂交、传统定性 PCR 和定量 PCR。基于 DNA 的检测技术可以不必明确知道外源基因而根据基因工程操作过程的一些通用序列进行检测。目前在国际上比较认同的是利用 PCR 进行检测^[2-4]。一般情况下,转基因作物的检测都针对普遍存在于转基因植物中的外源 DNA 片段,例如:35S 启动子和 NOS 终止子^[5]。但是由于这些序列较短,而且序列中富含 A、T,所以根据这些序列设计的引物扩增效率都较低。水产饲料以及大豆加工食品的成分比较复杂,而且在加工过程中 DNA 受到了破坏,对转基因检测的灵敏度要求较高,又可能会因为 DNA 模板的浓度过低,而造成假阴性结果^[6-8]。因此,探讨一种可靠、高特异性、高灵敏度的 PCR 检测方法非常重要。巢式 PCR(nested PCR)是指利用两套 PCR 引物对(巢式引物)进行两轮 PCR 扩增反应。在第一轮扩增中,外引物用以产生扩增产物,此产物在内引物的存在下进行第二轮扩增。巢式 PCR 主要应用于分子生物学研究和医学检测研究中^[9]。本研究首次应用巢式 PCR 技术对水产饲料进行了转基因检测,同时对部分转基因大豆加工食品也进行检测,其检测的灵敏度有所提高,而且减少了假阳性结果的出现,是一种有效的水产饲料和食品的转基因检测方法。

陶冉,中国科学院海洋研究所海洋生物技术研究中心,中国科学院研究生院,266071,山东省青岛市南海路 7 号中国科学院海洋研究所水族楼 301。

刘梅(通讯作者)、王雷、王宝杰、蒋克勇,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-09-09

★ 青岛市科技发展计划课题“转基因作物检测及安全性评价方法的研究”(05-2-NS-23)

1 材料和方法

1.1 材料和试剂

转基因大豆由青岛进出口检验检疫局提供,非转基因大豆购自青岛市;水产饲料包括各种鱼虾饲料,从市场购买;含有大豆成分食品为超市购买。

Taq DNA 聚合酶、 $10\times$ PCR(含 Mg^{2+})缓冲液、 $10\times$ Loading Buffer、DNA marker DL2000、dNTPs 购自宝生物工程(大连)有限公司。

1.2 DNA 的提取

将转基因大豆、水产饲料及含大豆成分食品分别用粉碎机磨碎混匀后,参照农业行业标准 NY/T674—2003 提供的 CTAB 法提取 DNA。

1.3 引物设计

从 Genbank 获得了转基因大豆的完整外源 DNA 序列,其中包括 35S 启动子(来源于花椰菜花叶病毒 CaMV)、5-烯醇丙酮酸莽草酸-3-磷酸合酶融合基因(CP4-EPSPS)(来源于土壤杆菌 CP4 菌株和矮牵牛),采用欧盟推荐的引物序列进行 35S 启动子扩增,该引物可以特异性扩增 35S 启动子产生 195 bp 的条带。巢式 PCR 引物根据转基因大豆外源基因序列自行设计。

35S 启动子引物序列如下。

35F:5'-GCTCCTACAAATGCCATCA-3';

35R:5'-GATAGTGGGATTGTGCGTCA-3'。

所用巢式 PCR 引物序列如下。

F1:5'-GGACCCCCACCCACGAGGAG-3';

R1:5'-GAACATGAAGGACCGGTGGGAGAT-3';

F2:5'-CATTGGAGAGGACACGCTGACA-3';

R2:5'-CCGAAAGGCCAGAGGATT-3';

F3:5'-TAACAACATGGCACAAGGGATACA-3';

R3:5'-CAGAGGATTTGCGGGCGGTTGC-3'。

F1 和 R1 预期扩增片段长 532 bp;F2 和 R2 预期扩增片段长 324 bp;F3 和 R3 预期扩增片段长 254 bp。引物间位置关系如图 1 所示。

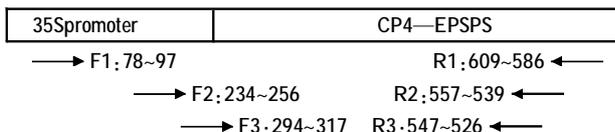


图1 巢式 PCR 各引物间位置关系

1.4 巢式 PCR 检测灵敏度确定

1.4.1 不同浓度梯度转基因大豆 DNA 溶液的配制

提取转基因大豆 DNA,采用分光光度计测定 OD_{260nm} 值确定其浓度。用无菌水进行 10 倍、100 倍、1 000 倍…… 10^n 倍稀释,制备成为 1 倍、 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} …… 10^{-n} 倍不同浓度的 DNA 模板。

1.4.2 PCR 反应条件

PCR 反应均采用 25 μ l 反应体系,扩增条件为 94 $^{\circ}$ C 预变性 2 min;94 $^{\circ}$ C 变性 30 s,55 $^{\circ}$ C 退火 30 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 45 s,共 35 个循环;最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。巢式 PCR 采用外引物进行一次 PCR 扩增后,将 PCR 产物进行 100 倍稀释后采用内引物进行第二轮扩增。

1.4.3 转基因大豆的 PCR 检测

转基因大豆 DNA 经过倍比稀释后,分别用 35S 启动子引物和自行设计引物 F1R1 或 F2R2 进行扩增,扩增产物进行电泳检测,对比其灵敏度。对 F1R1 或 F2R2 的第一次扩增产物进行 100 倍稀释后分别利用 F2R2 或 F3R3 进行第二轮扩增,扩增产物进行电泳检测。

根据上述试验确定的巢式 PCR 反应引物和反应条件对所收集的水产饲料和食品进行检测。

2 结果和分析

2.1 普通 PCR 和巢式 PCR 检测灵敏度比较

2.1.1 转基因大豆 DNA 提取质量

利用 CTAB 法可以从转基因大豆中提取出较高质量的 DNA,通过在紫外分光光度计 OD_{260nm} 的检测,可以计算出提取的转基因大豆的 DNA 含量为 3.15×10^{-6} g/ μ l。

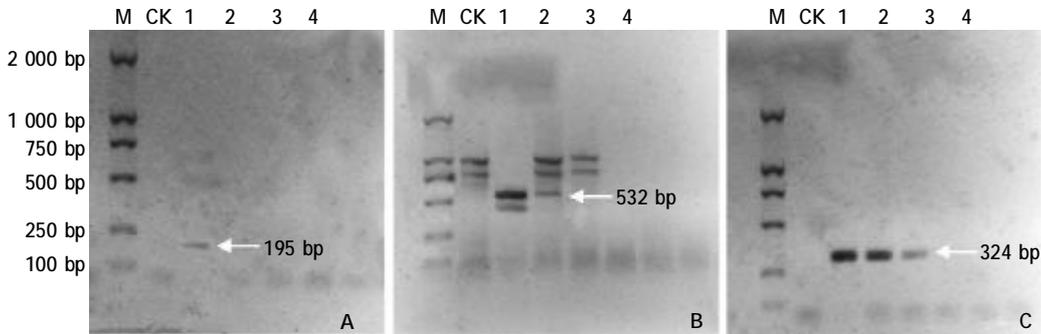
2.1.2 普通 PCR 扩增

利用 35S 启动子引物、F1R1 或 F2R2 分别扩增转基因大豆的倍比稀释 DNA,电泳结果显示 35S 引物、F1R1、F2R2 都能对原始转基因大豆 DNA 提取液扩增出特异的条带,但是特异性和灵敏度存在差异。35S 引物只能对原始大豆 DNA 提取液扩增出 195 bp 条带;F1R1 引物可以对原始 DNA 溶液和稀释 10 倍 DNA 溶液扩增获得 532 bp 条带,但是该引物特异性较低,对非转基因大豆和转基因大豆均扩增出非特异性条带;F2R2 引物灵敏度最高,对原始 DNA 溶液、稀释 10 倍和 100 倍 DNA 溶液可以扩增获得 324 bp 特异性条带,可以检测到浓度为 3.15×10^{-8} g/ μ l 的 DNA 溶液,检测灵敏度为 1%,而且特异性较高,无非特异性条带。因此,如果利用普通 PCR 对转基因大豆进行检测,F2R2 为最好的引物对。

按照本文所述的 DNA 提取方法和检测条件,当待检样品中含有 1%的转基因大豆成分时,该方法可

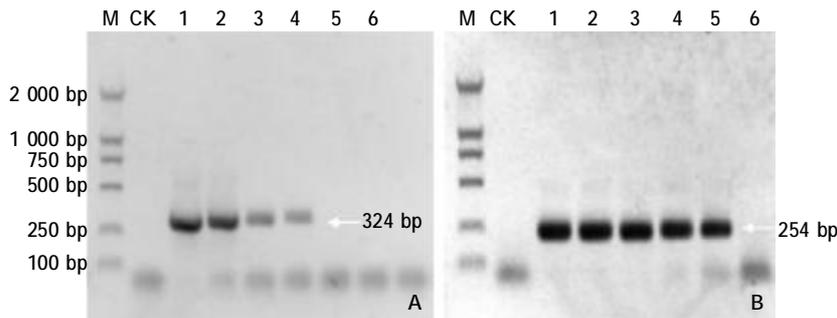
以成功对其进行检测,电泳结果如图 2 所示。

2.1.3 巢式 PCR 扩增(见图 3)



注:A,转基因大豆利用 35S 启动子引物扩增结果;B,转基因大豆利用 F1R1 引物扩增的结果;C,转基因大豆利用 F2R2 引物扩增的结果。
M,DL2000 分子量标准;CK,阴性对照(非转基因大豆);1~4,转基因大豆不同稀释度 DNA(1、 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4})。

图 2 转基因大豆的普通 PCR 扩增结果



注:A,转基因大豆利用 F1R1-F2R2 两对引物进行巢式 PCR 扩增的结果;
B,转基因大豆利用 F2R2-F3R3 两对引物进行巢式 PCR 扩增的结果。
M,DL2000 分子量标准;CK,阴性对照(非转基因大豆);1~6,转基因大豆不同稀释度 DNA(1、 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6})。

图 3 转基因大豆的巢式 PCR 扩增结果

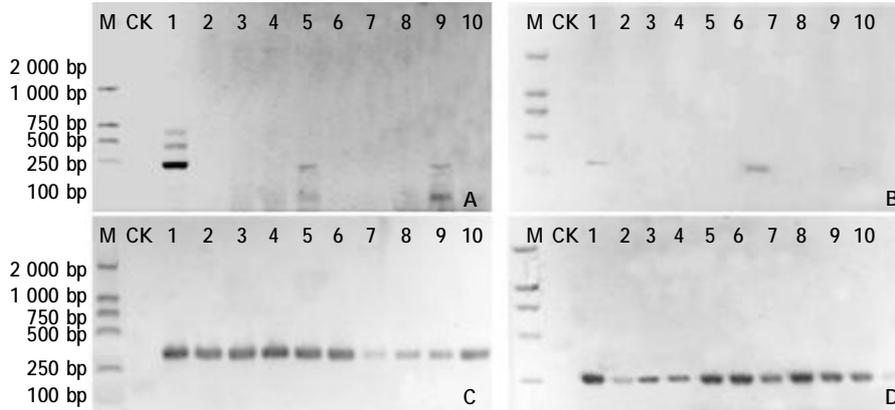
转基因大豆的不同稀释度 DNA 溶液经引物 F1R1、F2R2 扩增以后,分别采用 F2R2 或 F3R3 进行第二轮扩增,结果显示经过第二轮扩增以后其特异性和灵敏度均有很大提高。采用 F1R1-F2R2 两对引物进行巢式 PCR 扩增,可特异性扩增出 324 bp 片段,检测灵敏度为 0.1%,即 3.15×10^{-9} g/ μ l 的 DNA 溶液,较之 F2R2 一步 PCR 灵敏度提高了 10 倍。而采用 F2R2-F3R3 两对引物进行巢式 PCR 扩增,扩增出的 DNA 片段大小为 254 bp,可以检测到 3.15×10^{-10} g/ μ l 的 DNA 溶液,检测灵敏度为 0.01%,比普通一步 PCR 灵敏度提高了 100 倍。由此可见,巢式 PCR 反应比一般的 PCR 反应的灵敏性和特异性都有所提高,而且使用引物 F2R2-F3R3 比使用引物 F1R1-F2R2 进行扩增的

灵敏性要高。

2.2 应用巢式 PCR 技术检测水产饲料和部分豆制品

2.2.1 水产饲料的检测结果(见图 4)

应用上述试验确定的普通一步 PCR 和巢式 PCR 检测技术对部分市售水产饲料(包括鱼料和虾料)进行了检测。应用 35S 启动子引物无法扩增得到转基因特异性条带,而利用 F1R1 或 F2R2 进行一次 PCR 扩增只能检出少数产品中含有转基因成分,利用巢式 PCR 进行两轮扩增可以检出多数饲料中含有转基因成分。该研究中分别利用 F1R1-F2R2 和 F2R2-F3R3 引物对检测了 32 种不同品牌的国产水产饲料,其中 29 种检出了转基因成分,转基因阳性率为 90.6%,而



注:A,水产饲料利用 F1R1 引物进行一次 PCR 扩增的结果;B,水产饲料利用 F1R1-F2R2 两对引物进行巢式 PCR 扩增的结果;C,水产饲料利用 F2R2 引物进行一次 PCR 扩增的结果;D,水产饲料利用 F2R2-F3R3 两对引物进行巢式 PCR 扩增的结果。
M,DL2000 分子量标准;CK,阴性对照(非转基因大豆);1,转基因豆粕;2~10,不同品牌水产饲料。

图 4 部分水产饲料的巢式 PCR 扩增结果

且两种引物对的阳性符合率为 100%。由此可见,转基因豆粕普遍用于国内水产饲料生产中。

2.2.2 一些豆制品的检测

利用 F2R2-F3R3 引物对检测了一些市售豆制品,主要包括豆奶粉、豆腐乳、豆芽、豆腐、豆干、腐竹、豆皮、豆面、挂面、豆酱、豆油等。检测结果如表 1 和图 5 所示。经过两轮扩增,大部分食品种类中能够检出转基因成分,但是与水产饲料相比,转基因阳性比例低的多。

表 1 豆制品的巢式 PCR 检测结果统计

项目	检测样本数	转基因阳性样本数	转基因阳性比例(%)
豆奶粉	8	6	75
豆干	6	1	16.7
豆腐	8	4	50
腐竹	6	2	33.3
豆瓣酱	12	4	33.3
豆油	3	3	100
合计	43	20	46.5(平均)



注:M,DL2000 分子量标准;CK,阴性对照(非转基因大豆);1~4,豆奶粉;5~6,豆干;7~10,豆腐;11~13,豆瓣酱;14~15,腐竹。

图 5 部分豆制品的巢式 PCR 检测结果

3 讨论

3.1 DNA 的提取

由于本研究中检测的样品为剧烈加工产品,其 DNA 在加工过程中受到了破坏,DNA 模板的浓度比较低,因此采用一种高效的提取方法是十分必要的。采用不同的提取方法会影响 DNA 提取质量和 PCR 扩增结果。Zimmermann 等(1998)尝试了 Wizard 试剂盒法、CTAB 法、SDS 法等 9 种方法,对大豆加工食品如豆腐、豆粉、卵磷脂中的 DNA 进行提取发现,不同的提取方法,DNA 提取效率差别很大。本研究中尝试采用 SDS 和 CTAB 两种方法提取 DNA。比较后发现,SDS 方法相对量较少,重复性不好。CTAB 方法提取量较多,重复性好,DNA 较纯净,不易出现假阴性结果。此结果与胡汉桥、蒋原等的研究结果相同,因此本研究最后采用 CTAB 法提取 DNA。CTAB 方法已经广泛应用于各类植物及加工食品的核酸提取。通过验证可以满足 PCR 扩增。

3.2 转基因大豆及制品检测方法

国内外对转基因制品的检测方法主要分为两类:第一类是建立在以核酸为基础的 PCR 检测方法;第二类是检测外源基因的表达产物——蛋白质的方法。雷勃钧、单宏等用 PCR 和 ELISA 方法相结合对转基因大豆进行检测,将 PCR 的高效性和 ELISA 的高特异性相结合,灵敏度达到 0.1%。武泰存等用不连续 SDS-PAGE 方法进行转基因大豆蛋白质电泳,结果表

明转基因大豆中含有一条明显的约 40 kDa 的差异蛋白带。阚贵珍等利用试纸条检测到 CP4-EPSPS 蛋白。但上述研究都涉及到对蛋白质的检测,因此受到所检测蛋白的构象和含量的限制。对于加工程序复杂的食品,由于目标蛋白质在加工过程中变性造成该蛋白质构象的改变,影响了抗原抗体的特异性识别,从而直接影响了 ELISA 法和试纸条法的使用,因此基于蛋白质的检测技术一般只适用于对转基因大豆进行检测,而不适用于对饲料等深加工产品进行转基因检测。

欧盟利用 PCR 技术对转基因玉米和大豆的 35S 启动子和 NOS 终止子进行水平测试时,检测灵敏度达到 2%。陶震等利用多重 PCR(MPCR)和普通 PCR 技术对 5 个大豆样品,6 个大豆粕样品进行检测,两者结果完全符合。周颖等利用双重 PCR-毛细管电泳法快速检测大豆中的转基因成分,进样量少,分析时间短,适于痕量快速检测。赵锦等利用 MPCR 和实时荧光定量 PCR 进行转基因食品检测,后一种方法灵敏度高,可以检测到每克样品中 2 pg 转基因 DNA 量。许小丹等利用 DNA 芯片技术检测转基因大豆,结果显示芯片技术稍优于电泳检测方法,凝胶电泳检测可达 1%,芯片检测灵敏度 0.5%,且芯片检测所需样品量少于凝胶电泳检测方法所需检测的样品量。可见普通一步 PCR 检测方法灵敏度较低,而毛细管电泳法、实时荧光定量 PCR、DNA 芯片技术需要价格昂贵的专门仪器,较难推广。与这些转基因检测方法相比较,本研究采用的巢式 PCR 方法可以不受限于外源基因的表达产物,而根据基因工程操作过程的一些通用序列进行检测,并且具有高度特异性、高灵敏度和很好的重复性,引物设计和反应体系简单,不需要昂贵的仪器设备,容易推广。巢式 PCR 反应主要应用于分子生物学研究和医学检测研究中,由于有两次 PCR 扩增,从而降低了扩增多个靶位点的可能性(因为与两套引物都互补的引物很少)增加了检测的敏感性;又有两对 PCR 引物与检测模板的配对,增加了检测的可靠性。含有大豆成分的水产饲料和食品在加工过程中要经过一系列的物理或化学因素的处理,提取到的 DNA 常出现以下几种情况:DNA 严重降解,有些 DNA 片段非常短;DNA 浓度明显偏低;DNA 严重不纯。研究表明,在 DNA 受到严重破坏的含有大豆成分的水产饲料和食品中,用普通的一步 PCR 反应不能完全检测出是否含有转基因大豆成分,即使检测出,重复性

也不好。采用巢式 PCR 反应,可以克服一般 PCR 的这个缺点。

本研究中设计的引物目的片段较小,引物 F1R1 扩增目的片段长度为 532 bp,引物 F2R2 扩增目的片段长度为 324 bp,引物 F3R3 扩增目的片段长度为 254 bp,从而避免了由于 DNA 受到破坏而无法扩增出目的基因,也避免了由于扩增片段大而导致假阴性结果或由于扩增片段小而降低反应特异性的特点。采用引物 F2R2-F3R3 进行巢式 PCR 扩增的检测灵敏度比采用引物 F1R1-F2R2 的检测灵敏度要高,分别为 0.1%和 0.01%,前者是后者的 10 倍。利用巢式 PCR 方法对转基因大豆的检测灵敏度比欧盟推荐的 PCR 方法提高 5~50 倍,因而更适用于对转基因加工产品的检测。

用巢式 PCR 检测水产饲料和大豆加工食品,90.6%的水产饲料和 46.5%的大豆加工食品被检测出转基因片段。虽然检测的样本数不是很多,但是这些结果也初步显示,目前国内水产饲料行业普遍使用转基因大豆的豆粕作为原料,而在食品中,也有相当一部分产品采用了转基因大豆。

3.3 饲料安全

我国是世界第二大饲料生产国,饲料工业已经成为我国国民经济中的重要产业之一。饲料安全是食品安全的一个重要环节,现已有大量的转基因作物作为饲料原料为动物所食用,因此建立一种有效的转基因饲料检测的方法是十分必要的。转基因产品是一类经过基因工程修饰的特殊产物,从作物的种子到终产品,都无法从外观和一些物理化学指标加以区别。针对这类特殊产品,建立相应的检测和安全性评价方法,对各类农产品包括种子、粮食、秸秆及其加工产品,包括食品、植物油、豆粕、饲料等进行转基因检测势在必行。本研究所建立的巢式 PCR 检测方法具有高度特异性、高灵敏度和很好的重复性,不仅为转基因饲料检测提供了一种有效的方法,而且将其应用于检测水产动物消化道、排泄物、肠道微生物以及不同组织中是否含有转基因成分,将有助于丰富转基因大豆安全性评价方面的工作。

(参考文献 27 篇,刊略,需者可函索)

(编辑:徐世良,fi-xu@163.com)

高效液相色谱法同时测定鸡蛋中 恩诺沙星和环丙沙星的残留

刘明生 甘辉群 谭菊 吴敏秋 王子轼

摘要 实验研究用高效液相色谱法同时测定鸡蛋中恩诺沙星和环丙沙星的残留。鸡蛋样品经二氯甲烷提取,氧化铝柱净化,提取物蒸发浓缩至干,用流动相(0.01 mol/l 85%草酸/15%乙腈,V/V)溶解,微孔过滤,进行HPLC分析。结果表明,用该方法测得恩诺沙星和环丙沙星的最低检测限均为5 ng/g,回收率环丙沙星为82.0%~91.2%,恩诺沙星为83.2%~92.5%,能够满足鸡蛋中恩诺沙星和环丙沙星残留量检测技术要求。

关键词 高效液相色谱法;恩诺沙星;环丙沙星;鸡蛋;残留

中图分类号 S851.34+7.5

1 材料与amp;方法

1.1 仪器与amp;设备(见表1)

表1 仪器与amp;设备

仪器名称	型号与amp;规格	产地	仪器名称	型号与amp;规格	产地
色谱仪	Agilent1100	美国	离心机	MICRO 22R	德国
荧光检测器	HP1046A	美国	分析天平	CP153	德国
色谱柱	ZORBAX Bonus	美国	匀浆机	DY89-1	上海
漩涡混合器	SK-1	常州	旋转蒸发仪	DKS-11	天津

1.2 材料及amp;试剂

1.2.1 实验材料

恩诺沙星标准品(含量99.8%)、环丙沙星标准品(含量99.9%),购自美国Sigma公司。

1.2.2 混合标准工作液的制备

精密称取恩诺沙星、环丙沙星标准品各25 mg,置于250 ml容量瓶中,加0.01 mol/l硝酸溶液溶解,并稀释至刻度,摇匀即得100 μg/ml的混合标准储备液。然后依次用流动相稀释成0.5、0.25、0.1、0.05、0.025、0.01、0.005 μg/ml的混合标准工作液。

1.2.3 化学试剂

二氯甲烷、乙腈为色谱纯;甲醇、硝酸、草酸、中性氧化铝(70-230目)为分析纯;所有试剂除说明外,均用超纯水配制。

1.3 实验方法

1.3.1 实验动物

从泰州某蛋鸡场购买28周龄,体重(2.2±0.3) kg

某品种蛋鸡20只,按常规饲养方法进行笼养,饲喂不含抗菌药物的全价饲料,连续饲喂10 d后收集空白鸡蛋样品,备用。

1.3.2 色谱操作条件及amp;参数

色谱柱为ZORBAX Bonus RP HPLC分析柱,250 mm×4.6 mm,粒径5 μm;流动相为0.01 mol/l 85%草酸/15%乙腈(V/V);流速为1.0 ml/min,柱温为室温(30 ℃),激发波长为280 nm,发射波长为445 nm。

1.3.3 标准曲线制作

按浓度由小至大的顺序,用微量注射器依次注入20 μl的0.005、0.01、0.025、0.05、0.1、0.25、0.5 μg/ml混合标准工作液,按操作条件,用HPLC检测,得到色谱图,记录峰高(面积)及保留时间,并计算其线性关系和相关系数。

1.3.4 样品的提取净化步骤

将鸡蛋样品制成匀浆;称取2.0 g样品匀浆,置于30 ml聚丙烯离心管中,加入0.5 mol/l磷酸缓冲液2 ml,再加入二氯甲烷10 ml,漩涡振摇1 min;10 000 r/min离心10 min,上清液倒入另一离心管中;向沉淀物中再加入10 ml二氯甲烷,重复提取一次,合并离心所得上清液;将上清液倾入已装备好的氧化铝柱(先向氧化铝柱倾入甲醇,使甲醇约占柱高1/3,然后加入10 g左右氧化铝),控制流速3 ml/min;用20 ml甲醇进行洗脱,真空抽干,收集甲醇洗脱液;洗脱物集入100 ml旋转蒸发瓶中,于45 ℃旋转蒸发浓缩至干;浓缩物用2 ml流动相溶解,0.45 μm微孔滤膜过滤,滤液备HPLC检测之用。取滤液20 μl注入色谱柱,记录恩诺沙星和环丙沙星的峰高或峰面积。

1.3.5 样品回收率测定

称取5份各2 g鸡蛋样品匀浆,置于30 ml聚丙烯离心管中,分别加0.5、1、2 ml的0.1 μg/ml的混合标准工作液,经上述方法提取和净化后,进行HPLC检

刘明生,江苏畜牧兽医职业技术学院,225300,江苏省泰州市江苏畜牧兽医职业技术学院兽医系树仁楼410办公室。

甘辉群、谭菊、吴敏秋、王子轼,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-08-20

测,求得恩诺沙星和环丙沙星在 0.025、0.05、0.1 $\mu\text{g/g}$ 水平上的鸡蛋样品回收率。

1.3.6 灵敏度测定

将混合标准工作液分别加到空白鸡蛋样品匀浆中,使每克鸡蛋匀浆含恩诺沙星和环丙沙星 0.005、0.01、0.025、0.05、0.1 μg ,按上述方法提取、净化,再经 HPLC 检测,观察出现恩诺沙星和环丙沙星色谱峰的最低药物浓度($\mu\text{g/g}$ 样品)。

1.3.7 残留计算

$$C = \frac{A_x \times C_r}{A_r} \times \frac{V}{W}$$

式中: C ——鸡蛋样品中恩诺沙星或环丙沙星的浓度($\mu\text{g/g}$);

A_r ——标准品中恩诺沙星或环丙沙星的峰面积或峰高;

A_x ——样品中恩诺沙星或环丙沙星的峰面积或峰高;

C_r ——标准品中恩诺沙星或环丙沙星的浓度($\mu\text{g/ml}$);

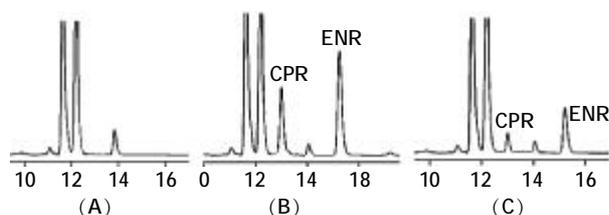
V ——溶解残渣的流动相的体积(ml);

W ——称量匀浆时的重量(g)。

2 结果

2.1 色谱峰与保留时间

在本实验选定的色谱操作条件及参数下,测得环丙沙星和恩诺沙星的保留时间分别为 12.9 min 和 15.3 min(如图 1 所示),从图 1 可以看出,该色谱峰峰形较佳,且均为基线分离峰。而空白对照组的鸡蛋样品匀浆提取液在上述保留时间无色谱峰出现。



(A) 空白鸡蛋样品 (B) 混合标准工作液

(C) 添加于空白鸡蛋样品中的恩诺沙星和环丙沙星

图 1 环丙沙星和恩诺沙星的高效液相色谱

2.2 标准曲线

在选定的色谱操作条件和参数下,各浓度的混合标准工作液经过滤后,进样 20 μl ,经 HPLC 测定,得到恩诺沙星标准曲线的回归方程为: $y=0.249+120.57x$,相关系数 $r=0.999\ 8$; 环丙沙星标准曲线的回归方程为: $y=0.093+61.80x$,相关系数 $r=0.999\ 7$; 其中 y 代表

恩诺沙星或环丙沙星峰面积, x 代表恩诺沙星或环丙沙星浓度($\mu\text{g/ml}$),当恩诺沙星和环丙沙星浓度为 0.005~0.5 $\mu\text{g/ml}$ 时线性关系良好。

2.3 鸡蛋样品回收率

鸡蛋样品添加混合标准工作液后,经样品提取、净化、HPLC 检测,结果见表 2。

表 2 鸡蛋样品回收率测定结果

项目	添加浓度($\mu\text{g/g}$)	实测浓度($\mu\text{g/g}$)	回收率(%)
环丙沙星	0.025	0.020 5	82.0 \pm 1.8
	0.05	0.044 1	88.2 \pm 2.3
	0.1	0.091 2	91.2 \pm 3.6
恩诺沙星	0.025	0.020 8	83.2 \pm 2.6
	0.05	0.045 2	90.4 \pm 2.8
	0.1	0.092 5	92.5 \pm 4.3

注:表中实测浓度值是以 5 次的平均值(Mean)表示,回收率值是以 5 次的平均值 \pm 标准差(Mean \pm SD)表示。

回收率计算公式:回收率(%)=(实测浓度/添加浓度) \times 100%。

2.4 灵敏度

将混合标准工作液添加到空白组织匀浆中,使每克鸡蛋样品匀浆含恩诺沙星和环丙沙星 0.005、0.01、0.025、0.05、0.1 μg ,应用本实验所建立的方法,测得鸡蛋样品中恩诺沙星和环丙沙星最低检测限为 5 ng/g。

3 讨论

3.1 残留检测

目前国内外有关恩诺沙星和环丙沙星同时在鸡蛋中的残留检测尚未见报道。本试验用高效液相色谱技术(配荧光检测器)同时测定了鸡蛋中恩诺沙星和环丙沙星的残留。实验表明,该法操作简便、快速、灵敏度高,完全能满足检测要求。

3.2 操作条件的选择

应用 HPLC 检测药物残留量时,选择合适的液相色谱操作条件是至关重要的。在一定的柱温(室温 30 $^{\circ}\text{C}$)下,流动相的组分和流速直接影响到柱压,进而影响到组分的保留时间。本实验在前人工作的基础上,结合本实验室的一些具体条件,通过改变流动相混合物的组成、比例与流速,调节柱压和组分在色谱柱中的分离效果,使之出现了较佳的色谱峰和保留时间(见图 1)。

3.3 回收率

在空白鸡蛋样品中分别添加 0.025、0.05、0.1 $\mu\text{g/g}$ 的恩诺沙星和环丙沙星,测得恩诺沙星和环丙沙星的回收率均大于 82.0%,与其它报道的残留回收率基本接近,符合残留检测要求。

(编辑:崔成德, cuiengde@tom.com)

代乳粉在早期断奶仔猪中的研究与应用

谭景春 刘祥友 周庆安 何瑞国

摘要 选取 28 日龄断奶的杜×长×大三元商品仔猪 90 头,按体重接近的原则分成试验组和对照组,每组 3 个重复,每个重复 15 头。对照组仅提供教槽料,试验组在教槽料的基础上饮喂冲调代乳粉 10 d,在停止喂给代乳液后,又进行了为期 15 d 的后续效果测定。通过测定仔猪的生长性能和观察仔猪行为来研究代乳粉在减缓仔猪断奶应激方面的效果。结果表明:在断奶后 10 d 测得的平均日增重,试验组比对照组提高 16.2%,试验组料重比比对照组下降显著($P<0.05$),腹泻程度也显著降低,仔猪行为表现比较安静,说明在断奶后补饮代乳液可在一定程度上缓解断奶应激。

关键词 断奶仔猪;代乳粉;生长性能;断奶应激

中图分类号 S816.32

1 材料与方

1.1 试验动物与试验设计

选取 28 日龄断奶的杜×长×大三元商品仔猪 90 头,按体重接近的原则分成试验组和对照组,每组 3 个重复,每个重复 15 头仔猪。对照组仅提供教槽料,试验组在教槽料的基础上从断奶当天开始饲喂冲调代乳粉直至断奶后 10 d。

1.2 试验日粮

仔猪代乳粉由深圳光明猪育种中心提供,仔猪教槽料由深圳市成农饲料股份有限公司提供,主要营养成分见表 1 和表 2。

表 1 仔猪代乳粉主要营养成分

营养成分	含量	物理性状
脂肪	≥14.5%	颜色 乳白色
蛋白质	≥22.5%	外观 均匀粉末、流动性好
水分	≤5.0%	气味 奶香味
矿物质	≤7.5%	密度 400~450 g/l
乳糖	45.00%	清洁度 B
赖氨酸	1.36%	乳化稳定性 ≥85%
蛋氨酸	0.45%	可溶性 ≥90%
铁	80 mg/kg	
铜	20 mg/kg	
维生素 A	65 000 IU/kg	
维生素 D ₃	11 000 IU/kg	
维生素 E	80 mg/kg	
维生素 K ₃	2.5 mg/kg	
维生素 B ₁	3.2 mg/kg	
维生素 C	150 mg/kg	
维生素 B ₂	10.0 mg/kg	
钙	0.73%	
磷	0.59%	

谭景春,深圳出入境检验检疫局,518000,深圳市福田区福强路 1011 号检验检疫大厦 801 室。

刘祥友,贵州省饲草饲料工作站。

周庆安,陕西省杨陵职业技术学院。

何瑞国,华中农业大学动物科技学院。

收稿日期:2007-07-16

表 2 仔猪教槽料配方的主要营养成分

日粮配方	组成(%)	营养成分	
玉米	52	消化能(MJ/kg)	14.06
豆粕	20.5	粗蛋白(%)	20.43
乳清粉	12	粗纤维(%)	1.96
鱼粉	5	钙(%)	0.8
大豆浓缩蛋白	3.5	总磷(%)	0.65
油脂	1	食盐(%)	0.54
预混料	6	赖氨酸(%)	1.25

注:仔猪颗粒料 210 按以上配方混合后制成直径 3.0 mm 颗粒。

冲调方法:代乳粉与水按 1:6.5 的比例混合,并用 38~40 ℃的温开水进行冲调,不用凉水,否则容易刺激仔猪的消化道影响吸收效果,冲调时用搅拌棒充分混匀。每次冲调不过量,即冲即用。

1.3 试验动物饲养管理

试验组与对照组仔猪均于出生后 5 d 开始供给教槽料,自由采食到断奶后 25 d。仔猪平均断奶日龄为 28 d,断奶当天转入保育栏,次日开始试验。期间试验组于断奶当天饲喂冲调仔猪奶粉。奶粉冲调成浓度为 15%的液体,冲调温度 38~40 ℃。每栏除固定料槽外,另放置一个铁铸圆食槽和一个长 1 m 的条状食槽(宽和高均为 10 cm)用于喂奶。冲调奶粉每次每头 50 ml,按断奶后 0~4 d 每天 4 次、5~7 d 每天 3 次、8~9 d 每天 2 次、第 10 d 1 次进行饲喂。在奶粉快要饮完时加入少量新的教槽料。当仔猪采食完浸湿的饲料后,方可再向槽内加料,并遵循少加多餐原则,保证在下次给奶前槽内基本上没有剩余料。用电子秤以栏为单位称取试验猪开始体重(断奶重),断奶 10 d 和 25 d 体重。正式试验开始到第 10 d,每天分栏记录投料量和剩料量,计算采食量。奶粉停喂后(断奶后 11~25 d),每日采食的饲料量不再按栏统计,只按试验组和对照组计量,参照日增重结果计算出料重比。试验期间观察猪只的健康情况,并做好记录。

1.4 试验指标的测定

1.4.1 生长性能

测定平均断奶重、断奶后 10 d 体重、断奶后 25 d 体重;计算仔猪 29~38 日龄、39~53 日龄的平均日增重、后期增重和每栏采食量;计算仔猪各阶段(29~38 日龄和 39~53 日龄)的料重比。

以栏为单位记录每日投料量,称重前一天清料。

每栏日采食量=(该栏投料量-被剔除猪的饲料消耗量-浪费料量-试验结束时余料量)/(结束时头数×试验天数)

被剔除猪的饲料消耗量=被剔除猪头数×(到剔除日累计的全栏采食量/全栏头数)

后期增重:喂奶结束后 15 d 的后期观察阶段,此阶段仍要统计每栏的采食量,并记录被剔猪应扣除的饲料。

1.4.2 腹泻指数

发现腹泻病猪后为该猪作标记号,跟踪记录发病日期、持续时间、治疗方案、康复情况;严重发病要剔除试验栏,并称取病猪的体重,做好日期和体重的记录。根据评分结果计算每窝腹泻指数和存活率,其计算公式为:

每窝腹泻指数=[观察记录分数总和/(观察总天数×每窝仔猪数)]×100%。

腹泻状况评分标准见表 3。

表 3 腹泻状况评分标准

项目	粪便的表观形状	粪便的干物质量(%)	腹泻分数
不腹泻	正常	30-40	0
轻微	软	25-30	1
中等	液状,灰色	20-25	2
严重	液体,黄色	<20	3

注:存活率=(试验结束猪头数/试验开始猪头数)×100%。

1.4.3 综合状况

记录仔猪其它疾病、死淘情况;结束时对试验仔猪综合状况进行评定,采用 10 分制:仔猪健康状况(6 分)+毛色(2 分)+肤色(2 分)。

1.5 数据处理

数据全部采用 SAS 软件包(Ver 6.12 for Windows,

Statistical Analysis Systems Institute, 1997) 进行处理。ANOVA 过程进行仔猪体重和日增重的方差分析及均数的多重比较;Means 过程计算平均数及标准差;本文图表制作均采用 Excel2000。

2 结果与分析

2.1 生长性能指标

2.1.1 仔猪各阶段平均体重(见表 4)

表 4 代乳粉对不同日龄仔猪平均体重的影响(kg/头)

项目	平均体重		
	28 日龄	38 日龄	53 日龄
试验组	7.27±0.68 ^a	9.50±1.12 ^a	16.48±1.43 ^a
对照组	7.30±0.62 ^a	9.22±0.95 ^a	15.57±1.20 ^a

注:同列肩标字母相同者表示差异不显著(P>0.05),字母不同者表示差异显著(P<0.05)。以下各表同。

经统计分析,结果表明:试验组和对照组仔猪的初始体重(即 28 日龄平均体重)相比较,试验组仔猪比对照组平均低 0.03 kg/头,低了 0.41%,差异不显著(P>0.05);开始试验后 10 d 即试验组和对照组仔猪的 38 日龄平均体重相比较,试验组仔猪比对照组平均高出 0.28 kg/头,提高了 3.04%,差异不显著(P>0.05);试验组和对照组仔猪的 53 日龄平均体重相比较,试验组比对照组仔猪平均高出 0.91 kg/头,提高了 5.84%,但统计分析差异不显著(P>0.05)。

2.1.2 仔猪各阶段平均日增重(见表 5)

表 5 代乳液对不同阶段仔猪平均日增重的影响(g)

项目	平均日增重	
	29~38 日龄	39~53 日龄
试验组	223.0±32.7 ^a	465.3±41.6 ^a
对照组	192.0±28.3 ^b	423.3±36.5 ^a

经统计分析,结果表明:试验组和对照组仔猪的 29~38 日龄平均日增重相比较,试验组比对照组仔猪平均高出 31.0 g,提高了 16.1%,存在显著性差异(P<0.05);试验组和对照组仔猪的 39~53 日龄平均日增重相比较,试验组仔猪平均高出 42.0 g,提高了 9.9%,但差异不显著(P>0.05)。

2.1.3 仔猪各阶段料重比(见表 6)

经统计分析,结果表明:29~38 日龄阶段,试验组

表 6 不同阶段仔猪料重比

项目	29~38 日龄				39~53 日龄		
	平均增重(kg/头)	平均采食量(kg/头)	代乳液消耗量(kg/头)	料重比(kg/头)	平均增重(kg/头)	平均采食量(kg/头)	料重比(kg/头)
试验组	2.23	3.23	0.252	1.56 ^a	6.98	12.15	1.74 ^a
对照组	1.92	3.57	0	1.86 ^a	6.35	11.56	1.82 ^a

与对照组的仔猪料重比相比较,相差 0.30,降低了 16.13%,存在显著性差异(P<0.05),这说明试验组仔

猪比对照组仔猪饲料利用率有显著提高;39~53 日龄阶段,试验组与对照组的仔猪料重比相比较,低 0.08,

降低了 4.40%, 差异不显著 ($P>0.05$), 表明对照组仔猪经过断奶应激后, 对饲料的利用率有所改善。

2.2 仔猪各阶段腹泻率(见表 7)

表 7 代乳液对不同阶段仔猪腹泻率的影响

项目	29~38 日龄		39~53 日龄	
	腹泻头次	腹泻率(%)	腹泻头次	腹泻率(%)
试验组	8	1.78 ^a	3	0.67 ^a
对照组	14	4.22 ^a	5	1.11 ^a

经统计分析, 结果表明: 29~38 日龄阶段, 试验组与对照组的仔猪腹泻率相比较, 低 2.44%, 差异不显著 ($P>0.05$); 39~53 日龄阶段, 试验组与对照组的仔猪腹泻率相比较, 低 0.44%, 差异也不显著 ($P>0.05$)。

2.3 仔猪行为观察

通过连续 5 d 对每栏猪(选 4 头)进行 24 h 行为观察, 并对观察到的结果进行统计分析, 结果见表 8。

表 8 代乳液对断奶仔猪 5 d 内行为的影响(%)

项目	仔猪行为类别			
	睡觉	采食	玩耍	其它
试验组	63.83 ^a	4.13 ^b	5.01 ^b	27.03 ^a
对照组	60.43 ^a	6.58 ^a	11.00 ^a	21.99 ^b

注: 其它的行为包括饮水、排粪尿、争斗, 寻找母猪及饲养员等。

从表 8 可看出, 试验组比对照组仔猪睡觉所占的时间长 5.6%, 但统计分析表明二组差异不显著; 试验组仔猪比对照组仔猪的采食时间短 37.2%, 且差异显著; 同样试验组仔猪比对照组仔猪的玩耍时间短 54.5%。这说明对照组仔猪由于断掉液态乳后产生较严重的心理应激, 整体活动的时间较长。

3 讨论

3.1 断奶后补喂代乳液对仔猪生长性能的影响

断奶引起仔猪生长受阻, 采食量下降, 增重缓慢, 饲料利用率降低。且断奶越早, 生长受阻的程度越大, 恢复生长的时间越长(Campbell, 1976; Leibbrandt, 1975; Appleby 等, 1992; 陈代文等, 1996)。但许多研究表明, 断奶后补喂液体饲料可将仔猪需要的营养物质和水混合在一起同时喂给仔猪, 使仔猪不易发生缺水及腹泻后矿物质和水分的丢失而造成的脱水, 同时饲喂液体料可减少饲料对仔猪肠道的刺激, 改善绒毛结构和功能, 还可促进仔猪采食, 因而断奶后饲喂液体料比固体料更有利于促进仔猪的生长。尤其是补喂模拟母乳成分的液体奶粉(由低抗原性蛋白质原料如乳制品等配制), 可极大缓解断奶后的生长抑制。

本试验结果表明, 补喂代乳液的仔猪在生长性能方面均优于直接饲喂固体饲料的仔猪。本试验通过对刚断奶的仔猪以不同的方式饲喂 10 d 后进行比较(38

日龄平均体重), 试验组比对照组仔猪平均体重高出 0.28 kg ($P>0.05$); 53 日龄平均体重试验组比对照组仔猪高出 0.91 kg ($P>0.05$); 29~38 日龄平均日增重试验组比对照组仔猪高出 31.0 g, 提高了 16.1% ($P<0.05$), 39~53 日龄平均日增重试验组比对照组仔猪高出 42.0 g, 提高了 9.9% ($P>0.05$)。两组仔猪的料重比试验组均比对照组低, 并在 29~38 日龄阶段表现出差异显著 ($P<0.05$); 在 39~53 日龄阶段, 差异不显著(降低了 4.40%, $P>0.05$), 说明补充冲调液态奶对刚断奶的仔猪的肠道机能起到了保护的作用, 即饲料利用率有增高趋势, 但后期差异不显著, 说明断奶应激虽然对仔猪生长有一定的影响, 但在以后的生长阶段中仔猪会发生一定的补偿生长。补偿生长的强度视所受的应激程度而定, 本试验的对照组虽未补喂代乳液, 但由于饲喂的教槽料中采用大量的乳制品(乳清粉), 与全植物性日粮的仔猪料相比断奶应激对仔猪生长影响较小, 也是仔猪生长受抑制程度较小并很快发生补偿生长的原因。此结果与 Tokach 等(1990)、Stairs 等(1991)的猪不存在补偿性增重生理反应的结论相反, 而美国内布拉斯加大学、明尼苏达大学、佐治亚大学和大豆饲料研究中心等研究发现, 在仔猪断奶期使用简单的玉米-豆粕型日粮虽然能降低成本和减少因频繁变换日粮带来的管理上的不变, 却能造成仔猪断奶后的生长迟滞并导致终生生长速度减慢。这些差异可能与试验猪品种或代乳料不同有关。

3.2 断奶后补喂代乳液对仔猪各阶段腹泻情况的影响

断奶应激或断奶日粮中抗原活性物质导致的过敏反应可使绒毛变短, 隐窝增深, 可使肠绒毛上皮成熟细胞数量减少(Cera 等, 1988), 从而造成仔猪肠道消化吸收面积减少, 消化能力下降, 进而大量未完全消化的物质在肠道后段堆积, 极易引起异常发酵, 造成腹泻(Hampson, 1986), 影响仔猪的健康和生长。本试验中, 试验组比对照组腹泻率有一定程度下降 ($P>0.05$), 因此表明补喂代乳液可在一定程度上缓解仔猪断奶后的腹泻现象, 从而缓解断奶后仔猪生长受阻现象。这与 Pluske(1996b)研究结论相符, 即断奶后立即喂给仔猪新鲜牛奶每 2 h 一次, 仔猪绒毛高度和隐窝深度没有发生变化, 可见断奶后 1 周采食量的大小及采食的规律性、营养物质的吸收、小肠结构与生长关系非常密切。如果断奶后有规律地喂给仔猪液体料, 就可缓解断奶仔猪生长受阻。从本试验数据中可看出各阶段试验组的腹泻程度均比对照组的低, 与上

牛至油对断奶獭兔生长性能和免疫器官的影响

冯志华 龚建刚 张义明 赵超 赵国先

摘要 将60只35日龄的断奶獭兔随机分为3组,分别为基础日粮组(对照组)、基础日粮+35 mg/kg 噻乙醇组和基础日粮+10%牛至油 100 mg/kg 组,连续饲喂30 d,研究日粮中添加牛至油后对断奶獭兔生长性能和免疫指标的影响。结果表明:添加了10%牛至油 100 mg/kg 对断奶獭兔能够达到噻乙醇(35 mg/kg)同样的抗菌促生长效果,且饲养效果和综合效益为最高;牛至油可刺激断奶獭兔免疫器官的发育,提高免疫器官指数,增强机体的免疫力。

关键词 生长性能;免疫指标;牛至油;断奶獭兔

中图分类号 S816.75

长期以来,噻乙醇作为兽医临床用药和以改善家兔的生产性能为目的的抗菌促生长剂被广泛使用。但

在一定剂量下或用药时间延长时均可能引起机体较强的毒性反应,噻乙醇的蓄积毒性不但能使家兔发生中毒或死亡,而且可能残留在肉食品中,对人体也有较大危害。牛至油是从植物牛至中提取的一种纯天然新型广谱抗菌药物添加剂,具有很强的抗菌作用,可以抗细菌和真菌^[1-3],可以提高机体的免疫力^[4],还具有促生长、提高饲料转化率的作用^[4,5],而且该药物添加剂属纯中草药提取物,无任何药物残留和耐药性问题^[6]。国内外学者对牛至油在猪、禽日粮中的应用进行

冯志华,河北农业大学中兽医学院,073000,河北省定州市博陵街44号。

龚建刚、张义明、赵超,单位及通讯地址同第一作者。

赵国先(通讯作者),河北农业大学动物科技学院。

收稿日期:2007-09-18

★ 河北农业大学青年基金项目(2004-Q-06)

述结论相符。

3.3 断奶后补喂代乳液对仔猪行为的影响

本次试验结果表明,给刚断奶的仔猪补充冲调液态奶,补充了体液,提高了喂奶期间日增重。另外,仔猪采食液态奶有助于维护哺乳期节律,通过对刚断奶后5 d 仔猪发生的各种行为的统计发现,给刚断奶的仔猪补充冲调液态奶,仔猪较为安静、喜睡。断奶后以饮喂奶粉为“诱饵”可以刺激仔猪对教槽料的采食。在饮喂奶粉试验期间白天只在奶槽中加教槽料,使仔猪建立饮奶-吃料反射,而本试验除奶槽外还设有全天有料的料槽,可能影响了诱食效果。因此如何利用好奶槽和料槽,做好液体奶与教槽料的衔接,也是提高液体奶缓解断奶应激影响需要解决的问题。

参考文献

- 曹渝晖,李朕杰,戴志明,等.液态饲料对超早期断奶仔猪血清生化指标的影响.饲料工业,2006(7):32-35
- 陈代文,杨凤,陈可容.不同断奶时间和体重的仔猪对简单饲料和复杂饲料的反应.四川农业大学报,1996,14(2):280-286
- 陈代文,杨凤,陈可容,等.仔猪补饲不同类型的饲料蛋白质对仔猪小肠粘膜形态结构的影响.动物营养学报,1996,8(2):18-24
- 范志勇,沈静玲,王康宁,等.猪胃肠道微生态平衡的调控技术研究

究进展.饲料工业,2005(6):38-42

- 冯志华,赵国先.早期断奶仔猪的营养调控.饲料博览,2003(7):22-24
- 李艳彩,王俊河.仔猪腹泻的原因及综合防治.中国畜牧兽医,2006(2):46-48
- 刘光富,初晓娜,汪以真.仔猪早期断奶对肠道屏障损伤机制研究进展.养猪,2004(3):9-12
- 唐仁勇,陈代文,张克英.不同形态饲料在仔猪生产中的应用.养猪,2005(6):4-6
- 王静华,汪以真.仔猪早期断奶对肠道免疫功能的影响.养猪,2003(3):13-15
- 杨雪峰,王艳玲.早期断奶仔猪腹泻的发生原因及其预防措施.饲料工业,2004(12):34-36
- Appleby M C, Pajor E A, D Fraser. Individual variation in feeding and growth of piglets: effects of increased access to creep food. Anim. Prod., 1992, 55:147-152
- B. F. Wolter, M. Ellis, B. P. Corrigan, et al. The effect of birth weight and feeding of supplemental milk replacer to piglets. during lactation on preweaning and postweaning growth performance and carcass characteristics. J. Anim. Sci., 2002, 80(2):301-308
- Campbell R G. A note on the use of a feed flavor to stimulate the feed intake of weaner pigs. Anim. Prod., 1976, 23:417
- De Passille A M, Pelletier B G, Menard J, et al. Relationships of weight gain and behavior to digestive organ weight and enzyme activities in piglets. J. Anim. Sci., 1989, 67:2 921-2 929

(编辑:张学智, mengzai007@163.com)

了较多研究,但牛至油应用于獭兔饲料中的效果还未见报道。为此,本试验选用牛至油和喹乙醇对断奶獭兔生长性能和免疫指标的影响进行对比实验研究,为牛至油作为绿色饲料添加剂进一步在獭兔生产上应用提供科学依据。

1 试验材料与方法

1.1 试验材料

10%牛至油预混剂由荷兰罗帕法姆(Ropapharm)公司生产;喹乙醇为原料药。

1.2 试验设计

试验兔为河北省定州市獭兔繁育中心提供的35日龄左右健康断奶獭兔60只,根据血缘、体重、性别等情况随机分为3组,每组20只。经方差分析,初始体重差异不显著($P>0.05$)。三组分别为基础日粮组(对照组,不添加任何抗生素);基础日粮+35 mg/kg 喹乙醇组;基础日粮+10%牛至油 100 mg/kg 组。

1.3 基础日粮组成及营养水平(见表1)

表1 基础日粮组成及营养水平

日粮组成	含量(%)	营养水平	
玉米	23.76	代谢能(MJ/kg)	10.61
麸皮	25	CP(%)	16.50
豆粕	16	CF(%)	11.37
花生秧	22	钙(%)	0.98
米糠	10	磷(%)	0.51
贝壳粉	1.74	赖氨酸(%)	0.79
食盐	0.5	蛋氨酸+胱氨酸(%)	0.50
预混料	1		

注:预混料中仅含微量元素、维生素、合成氨基酸。

1.4 饲养试验

饲养试验于2006年3月20日~4月27日在光照通风等环境条件一致的室外进行。预饲期7 d,正试期30 d。试兔饲养于三层重叠式兔笼内,每笼2只。各组试验兔管理和卫生条件相同,并采取驱虫保健、疫苗接种等常规的抗病防疫措施。采用自由采食(试验期间全部供给颗粒料,不加喂任何青绿饲料)、自由饮水的饲喂方式,每日喂料2次(8:00、18:00)。

1.5 测定指标与方法

1.5.1 生长性能

测定体重,统计喂料量,计算日采食量、日增重和料肉比;仔细观察獭兔的精神、活动、粪便变化情况,记录病兔只数、天数及治疗用药情况。

日增重(ADG)=(试验末平均体重-试验初平均体重)/试验天数

料肉比(F/G)=日采食量/日增重

腹泻频率=[(试验各组腹泻只日数)/(每组试验只数×试验天数)]×100%

1.5.2 免疫指标

饲养试验结束后,每组分别选择体重接近群体均值的4只獭兔(公母各半),屠宰后快速取出胸腺、脾脏,小心剔除周围的脂肪组织,吸干血水,称重,并计算胸腺和脾脏指数。

胸腺指数=胸腺重(mg)/体重(g)

脾脏指数=脾脏重(mg)/体重(g)

1.6 数据处理

使用SPSS11.0统计软件对试验数据进行方差分析,并用LSD法进行多重比较。试验结果用平均值±标准差(Mean±SD)表示。

2 结果与分析

2.1 牛至油对獭兔增重、耗料的影响(见表2)

表2 牛至油对獭兔增重、耗料的影响

项目	对照组	喹乙醇组	牛至油组
始重(g)	962.00±237.14	968.0±202.91	954.00±253.56
末重(g)	1 643.00±203.69	1 768.00±206.17	1 764.0±230.03
平均日增重(g)	22.70±4.51 ^a	26.53±3.74 ^b	27.13±3.22 ^b
料肉比	4.05±0.50 ^a	3.78±0.45 ^{ab}	3.65±0.32 ^b
平均采食量(g)	92.00±4.3 ^a	100.28±5.10 ^b	99.02±6.20 ^b

注:同行肩标无任何字母表示差异不显著($P>0.05$),不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。以下各表同。

由表2可知,断奶獭兔饲料中添加喹乙醇、牛至油均不同程度地改善了獭兔的生长性能。其中牛至油组日增重最高,其次为喹乙醇组,分别比对照组提高19.52%($P<0.05$)和16.87%($P<0.05$),牛至油组比喹乙醇组提高2.26%($P>0.05$)。料肉比以牛至油组最低,显著低于对照组9.88%($P<0.05$),低于喹乙醇组3.44%($P>0.05$),喹乙醇组较对照组降低6.67%($P>0.05$)。喹乙醇组、牛至油组采食量较对照组均有显著提高,分别为9.00%($P<0.05$)和7.63%($P<0.05$),喹乙醇组与牛至油组两组间差异不显著($P>0.05$)。

2.2 牛至油对獭兔腹泻频率的影响(见表3)

表3 牛至油对獭兔腹泻频率的影响

项目	对照组	喹乙醇组	牛至油组
腹泻只日数	27	16	18
腹泻频率(%)	4.50	2.67	3.00

獭兔的腹泻频率以对照组最高,其余两组均有不同程度降低,喹乙醇组和牛至油组分别降低了40.67%和33.33%。

2.3 牛至油对獭兔免疫器官的影响(见表4)

表4 牛至油对獭兔免疫器官的影响

项目	对照组	喹乙醇组	牛至油组
胸腺重(g)	3.12±0.15	3.28±0.08	3.31±0.10
脾脏重(g)	1.00±0.15	1.22±0.14	1.29±0.16
胸腺指数	1.83±0.04	1.85±0.08	1.86±0.03
脾脏指数	0.59±0.05 ^a	0.68±0.05 ^{ab}	0.72±0.09 ^b

在獭兔饲料中添加喹乙醇和牛至油,其胸腺重、脾脏重和胸腺指数均呈升高趋势,但统计学上无显著性差异(P>0.05);脾脏指数以牛至油组最高,分别比对照组、喹乙醇组提高 22.03%(P<0.05)和 5.88%(P>0.05),喹乙醇组与对照组相比差异不显著(P>0.05)。

2.4 经济效益分析(见表5)

表5 试验期经济效益

项目	对照组	喹乙醇组	牛至油组
只均收入(元)	16.34	19.10	19.54
饲料成本(元)	3.45	3.77	3.74
药费(元)	0.31	0.18	0.19
只均盈利(元)	12.58	15.15	15.61
与对照组比较(%)	100	120.43	124.09

注:①獭兔的价格以活兔 24 元/kg 计算,只均盈利=只均收入-饲料成本-药费;

②牛至油预混剂按 90 元/kg 计算,喹乙醇按 50 元/kg 计算。

试验期间牛至油组效益最佳,其次为喹乙醇组。与对照组相比,牛至油组獭兔每只多盈利 3.03 元,喹乙醇组多盈利 2.57 元,分别比对照组提高 24.09% 和 20.43%。牛至油组比喹乙醇组每只獭兔多盈利 0.46 元,提高 3.04%。

3 讨论

3.1 牛至油对獭兔增重、耗料及腹泻频率的影响

断奶獭兔饲料中添加牛至油能够显著提高生长性能,降低腹泻频率。这与牛至油在家禽、猪生产中的一些研究结果一致。陈权军等(2004)^[4]探讨喹烯酮、牛至油和喹乙醇对肉鸭生长的影响,结果发现牛至油组增重最好,与空白对照组相比,增重提高了 11.3%,料肉比下降了 7.5%;比喹乙醇组增重提高 7.1%(P<0.05),料肉比降低 4.6%(P<0.05),采食量以牛至油组最高,但各组间差异不显著。伍喜林等(2003)^[7]通过对 21 日龄早期断奶仔猪进行试验发现,牛至油分别使仔猪日增重提高 15.19%(P>0.05),料肉比下降 12.00%(P<0.05),饲养效果明显优于金霉素。牛至油的添加效应与其含有酚类化合物的功能密切相关。牛至油中的活性成分具有较强的表面活性和脂溶性,能迅速穿透病原微生物的细胞膜,使其内容物流失,并有效阻止线粒体内的呼吸氧化过程使病原微生物丧失能量供应而死亡。

同时,牛至油独特的芳香气味能直接刺激动物消化道及感受器,促进肠道上皮细胞更新脱落,使肠道保持健康状态,减少病原微生物的附着,有提高食欲和促进消化酶分泌的作用,从而改善增重和饲料转化率,降低生产成本,提高经济效益。

3.2 牛至油对獭兔免疫器官的影响

免疫指数在一定程度上反映了动物的免疫功能,在动物健康的条件下,免疫指数越大其免疫功能越强。本研究表明,牛至油可刺激免疫器官的生长发育,促进机体免疫机能成熟,这可能是牛至油提高家兔免疫功能的途径之一。但是獭兔的上述免疫器官在不同个体之间差异极大,一定程度上反映了一些不确定因素掺杂其中,免疫器官的相对重量并不能完全反映机体的免疫功能的大小。因此,一些能充分证明提高免疫学的指标还有待做更细致的深入研究。

4 结论

植物提取物 10%牛至油(100 mg/kg)对断奶獭兔能够达到喹乙醇(35 mg/kg)同样的抗菌促生长效果,综合考虑,以牛至油的饲养效果和经济效益最高。牛至油还可以刺激断奶獭兔免疫器官的发育,提高免疫器官指数,增强机体的免疫力。关于牛至油在断奶獭兔饲料中的最佳添加剂量还有待进一步研究。

参考文献

- 林清华.肠炎常见菌对牛至浸膏的敏感性实验[J].氨基酸和生物资源,1999,21(2):30-32
- A Bendini, T Gallina Toschi, G Lercker. Antioxidant activity of oregano(*origanum vulgare* L.) leaves[J]. Ital. J. Food. Sci., 2002,14 (1):17-24
- Khadija Rhayour, Touria Bouchikhi, AbdelrhafourTantaoui -Elaraki, et al.The mechanism of bactericidal Action of oregano and clove essential oils and of their phenolic major components on *Escherichia coli* and *bacillus subtilis* [J].Journal of Essential Oil Research,2003, 15(5):356-362
- 曹建国,潘正伟,陈正华,等.“牛至油”在仔猪饲料中的抗菌促生长效果[J].上海畜牧兽医通讯,2004(1):24-25
- 陈权军,邓岳松.喹烯酮、牛至油和喹乙醇对肉鸭生长的影响[J].饲料工业,2004(3):41-42
- Docic M, G. Bilkei. Differences in antibiotic resistance in *Escherichia coli*, isolated from East-European swine herds with or without prophylactic use of antibiotics [J]. Journal of Veterinary Medicine B, 2003, 50:27-30
- 伍喜林,梁轩,文学平.植物提取物代替抗生素对早期断奶仔猪生长表现的影响[J].养猪, 2003(4):12-13

(编辑:刘敏跃,lm-y@tom.com)

微生物发酵精饲料饲喂奶牛效果观察

王德培 揣玉多 马志刚 丁友昉 张学炜

摘要 奶牛精饲料经微生物发酵成熟后等量代替原精饲料饲喂奶牛, 试验组较对照组每头牛的日常奶量提高了 0.85 kg ($P < 0.05$), 乳脂率提高了 0.17% ($P > 0.05$), 乳蛋白含量提高了 4.1% ($P < 0.05$), 全乳固体提高了 0.4% ($P < 0.05$), 奶牛的健康状况有很大改善, 饲喂效果良好, 经济效益显著提高。

关键词 发酵精饲料; 饲喂; 奶牛

中图分类号 S816.32

近十年来, 微生物发酵饲料作为动物一种重要的饲料得到了快速发展, 现已有许多有价值的产品上市。其中秸秆发酵饲料已经在牛羊饲养中得到广泛的应用, 而微生物发酵精饲料的研究却相对滞后。优质的发酵精饲料不仅保持了饲料原有的大部分营养, 而且有利于消除精饲料在贮藏过程中所产生的大量黄曲霉毒素及其它有害成分。同时, 由于它具有芳香的酸味, 柔软多汁, 适口性好, 能刺激家畜消化液的分泌和肠道蠕动, 增加食欲, 从而可增强消化功能, 促进饲料中营养物质的更好利用。为此, 我们进行了发酵精饲料饲喂奶牛试验, 旨在探索发酵精饲料饲喂奶牛的效果, 为该饲料的产业化利用提供帮助。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 微生物发酵菌剂

将实验室已选育的菌种按细菌 1.5 mg/kg、酵母菌 0.5 mg/kg、霉菌 1.5 mg/kg、嗜酸乳杆菌 1.5 mg/kg、费氏丙酸菌 1.5 mg/kg 的比例混合, 制成发酵菌剂, 添加量为每千克精饲料 5 mg。

1.1.2 基础精饲料配方

玉米粉 55%、麸皮 30%、豆粕 10%、其它 5% (该奶牛场原来饲喂的精饲料配方)。

1.2 发酵精饲料的制作方法

按 1 000 kg 精料配合料添加微生物发酵菌剂, 将菌剂事先用蔗糖水 (其浓度小于 5%) 活化 2 h, 以最终添加水量 600~650 ml/kg 为基准补足水量, 再用 TMR 饲料搅拌机将活化后菌液与饲料混匀, 然后将其装入容积 50 kg 的带盖塑料桶中, 边装边压实, 密封桶盖, 置于室温 (20~25 °C) 条件下厌氧发酵 10~15 d, 饲料即发酵成熟, 随之进行各项指标检测。

1.3 发酵饲料的质量检测

1.3.1 感官评定

待发酵 10 d 后, 随机抽样, 开盖后立即观察发酵饲料的颜色、气味以及长霉菌情况。

1.3.2 水分的测定

按国家标准 GB6432—86^[1]测定。

1.3.3 pH 值的测定

取发酵饲料中间部分, 用 pH 试纸测定其 pH 值。

1.3.4 粗蛋白含量的测定

按国家标准 GB6435—86^[2]测定。

1.3.5 挥发性脂肪酸(VFA)的测定

用 GC—7890 II 气相色谱仪测定, 不锈钢色谱柱, GDX—401 固定相, 色谱柱温度为 200 °C, 进样气为 220 °C, 检测器温度为 220 °C, 进样量 1 μ l, 外标法测定。

1.3.6 活菌数的测定

取 5 g 发酵精饲料置于装有 50 ml 无菌生理盐水的 250 ml 三角瓶中, 30 °C、180 r/min 摇床振荡 2 h, 4 000 r/min 离心 10 min, 取上清液进行梯度稀释, 倾注法测定活菌数。

细菌: 按国家标准 GB13093—91^[3]测定。

酵母菌: YEPD 培养基^[4], 使用前加入经过滤除菌的链霉素水溶液, 使其在培养基中的浓度为 50 μ g/ml。

霉菌: 按国家标准 GB13092—91^[5]测定。

产酸菌: 培养基 (牛肉膏 1%、酵母膏 1%、乳糖

王德培, 天津科技大学生物工程学院, 博士, 副教授, 300457, 天津泰达开发区 13 大街 29 号。

揣玉多, 天津现代职业技术学院生物化工系。

马志刚, 天津达美科技有限公司。

丁友昉, 单位及通讯地址同第一作者。

张学炜, 天津农学院动物科学系。

收稿日期: 2007-09-09

★ 天津市农委推广项目《微生物发酵绿色奶牛饲料》(No. 04100)

2%、碳酸钙 1%、磷酸氢二钾 0.2%、琼脂 2%, pH 值 6.6), 其上层为素琼脂层。

1.4 饲喂试验方案

1.4.1 试验地点和时间

饲喂试验于 2006 年 8 月 15 日至 2006 年 9 月 15 日在天津市超跃奶牛养殖场进行。

1.4.2 试验动物分组

试验以该牛场所有泌乳牛为研究对象, 以牛舍为单位将 4 栋牛舍中的泌乳牛随机分为两组, 每组 2 栋。1、3 栋共 150 头设为对照组, 2、4 栋共 152 头设为试验组。两组奶牛于 8 月 10~12 日进行初始目标指数的测定并进行分析, 分析乳成分, 估测体重, 结果测试指数差异不显著, 符合对比试验要求。

试验期间, 对照组泌乳牛仍饲喂原精饲料日粮; 试验组奶牛以部分发酵精饲料代替原基础精饲料。

1.4.3 日粮组成

试验组以发酵精饲料替代了原日粮组成中相同

重量(按干物质计算)的基础精饲料, 即每头每天饲喂 2 kg 发酵奶牛精饲料(以干物质质量占 50%计), 替换 1.1 kg 原有奶牛精饲料(以干物质质量占 91.1%计), 其它饲料配比不变。

1.4.4 饲养管理

试验期间两组牛每日的精粗料供给、比例、饲喂方法及管理措施和日常安排均按该场常规方法进行。

1.4.5 牛奶的检测指标

从饲喂后第 3 d 开始检测牛奶指标。①产奶量: 以蒙牛乳业每天在该场收购的牛奶总量为产奶量记录。②乳成分: 脂肪含量、蛋白质含量、全乳固体含量, 由蒙牛乳业技术中心检测。

1.5 数据处理

试验数据均采用 t 检验^[6]进行分析。

2 结果与分析

2.1 发酵精饲料的成分分析(见表 1)

由表 1 可知, 饲料发酵成熟后, 粗蛋白含量由发

表 1 发酵精饲料的成分

检测项目	水分(%)	pH 值	粗蛋白(%)	挥发性脂肪酸(g/kg)			活菌数(cfu/g)			
				乙酸	丙酸	乳酸	细菌	酵母菌	霉菌	产酸菌
发酵饲料	50.10	3.8	17.89	6.10	2.35	17.0	6.3×10 ⁶	2.7×10 ⁶	6.3×10 ⁴	3.0×10 ⁷
原料	8.91	7.0	14.58	0.1	0	0.2	8.0×10 ⁶	3.6×10 ⁴	1.8×10 ⁶	5.4×10 ⁷

注: 活菌计数均换算为每克干重饲料的菌落数。

酵前的 14.58% 提高到 17.89%, 增加了 22.7%, 饲料中挥发性脂肪酸含量达到 25.45 g/kg, pH 值由发酵前的 7.0 降低到 3.8, 在水分含量较高情况下, 饲料没有霉变并产生一定的酸香气味, 成为奶牛喜食的原料。发酵饲料被动物采食后, 可使胃内 pH 值下降, 从而激活胃蛋白酶原转化为胃蛋白酶, 促进蛋白质的分解, 降低胃肠蠕动, 减缓排空时间, 从而提高消化吸收率。

从活菌计数的结果来看, 与原料相比, 发酵饲料的细菌总数略有下降, 酵母菌数量略有增加, 霉菌数量明显下降, 产酸菌数量大大增加。这主要是因为开始发酵时饲料呈中性, 饲料颗粒间残存有氧气, 很适合霉菌、酵母菌和部分好氧细菌的生长。随着氧气的消耗和部分好氧细菌发酵产酸, 降低了饲料的 pH 值, 霉菌的生长受到了严重的抑制, 随着厌氧程度的加强, 产酸菌大量增殖, 在数量上逐渐形成绝对优势, 其它微生物的生长受到抑制, 当 pH 值下降到一定程度以后, 产酸菌的活动也受到了抑制, 延长了饲料保存时间。

另外, 通过菌落计数观察明显看出, 原料计数板上菌落形态各异, 而发酵饲料计数板上菌落形态较一致, 经显微镜观察初步判定, 其多数为添加的微生物, 说明饲料在发酵过程中, 添加的微生物有效抑制了原饲料中固有微生物的增殖。

2.2 发酵奶牛精饲料饲喂奶牛效果(见表 2、表 3)

表 2 对照组饲喂结果

项目	头均日产奶量(kg)	乳脂率(%)	乳蛋白(%)	全乳固体(%)
1 d	16.94	3.81	2.88	12.04
3 d	17.39	3.63	2.86	11.94
5 d	17.37	3.53	2.87	12.00
7 d	17.33	3.57	2.88	12.04
9 d	17.62	3.62	2.86	12.03
11 d	17.67	3.51	2.82	11.80
13 d	18.11	3.63	2.84	12.00
15 d	17.99	3.54	2.91	11.96
17 d	17.87	3.59	2.88	12.03
19 d	18.29	3.56	2.98	11.99
21 d	18.16	3.60	2.97	12.13
23 d	19.39	3.72	2.97	12.21
25 d	17.76	3.72	2.97	12.29
27 d	18.71	3.59	2.92	11.99
29 d	18.21	3.85	2.96	12.22
平均	17.92	3.63	2.90	12.04

表3 试验组饲喂结果

项目	头均日产奶量(kg)	乳脂率(%)	乳蛋白(%)	全乳固体(%)
1 d	18.74	3.64	3.00	12.09
3 d	18.65	3.66	3.00	11.96
5 d	18.65	3.69	3.04	12.08
7 d	18.65	3.71	3.06	12.13
9 d	18.06	3.71	3.04	12.13
11 d	18.74	3.59	3.04	12.11
13 d	18.55	3.70	3.03	12.07
15 d	18.54	3.72	3.06	12.03
17 d	18.86	3.81	3.07	12.13
19 d	18.75	3.88	3.07	12.41
21 d	18.72	3.73	3.02	12.11
23 d	19.02	3.64	3.02	12.01
25 d	19.02	3.60	3.01	11.99
27 d	19.12	3.72	2.96	12.09
29 d	19.49	3.52	2.94	11.97
平均	18.77	3.69	3.02	12.09

2.2.1 产奶量结果分析

试验期间试验组比对照组头均日产奶量增加 0.85 kg, 差异显著 ($P < 0.05$), 产奶量提高 4.7%, 试验组比对照组在 30 d 的试验期内总产奶量增加 3 850.5 kg (按每组都为 151 只计算), 经济效益显著提高。

试验期间, 由于天气闷热, 产奶量较低, 且正在逐渐下降, 而饲喂发酵饲料的奶生产奶量下降幅度较小, 甚至出现继续增加的现象, 说明发酵饲料具有抗热应激的作用, 而且可以看出试验组的产奶水平比对照组高, 表现出较高的增加水平。

2.2.2 乳成分分析

由表 2 和表 3 可见, 试验组牛奶的乳脂率、乳蛋白和全乳固体含量均有所提高, 乳蛋白含量提高 4.1%, 差异显著 ($P < 0.05$); 全乳固体含量提高率较低, 只有 0.4%, 但经 t 检验进行分析差异显著 ($P < 0.05$); 试验组和对照组乳脂率分别为 3.69% 和 3.63%, 差异不显著 ($P > 0.05$)。可见, 饲喂发酵饲料对牛奶的乳蛋白含量影响最为显著。

鲜奶中的乳脂、乳蛋白、全乳固体含量受控于遗传因素和环境因素。正常情况下, 奶产量提高伴随着乳成分含量的下降, 本试验中试验奶牛因饲喂发酵精饲料, 奶产量明显提高, 同时乳脂、乳蛋白及全乳固体含量有升高的趋势, 究其原因, 精饲料发酵后饲料中的大分子物质如淀粉、蛋白质等降解为动物易于消化吸收的糖、氨基酸等, 有效地促进奶牛对各种营养物质的吸收和利用。

2.2.3 奶牛健康状况

试验前期, 天气闷热, 奶牛的采食量较低, 不愿意运动, 体质较弱, 很容易感染病菌。而试验组由于精饲料经发酵后, 具有营养全面、色泽好、酸香味浓厚、适口性好的优点, 奶牛的采食量明显提高, 而且饲料中

的有益微生物可以改善瘤胃微生物的生存环境, 调节微生物的生长和繁育, 使整个瘤胃微生物处于一种正常快速发展的状况, 保证了瘤胃微生物的健康即保障了奶牛机体的健康, 也为奶牛机体提供了免疫物质, 提高了奶牛抗应激的能力和对疾病的抵抗力。

2.2.4 经济效益分析

每制作 2 t 奶牛发酵精饲料需 10 g 发酵剂, 发酵剂成本为 4 元/g, 则需要 40 元发酵菌剂的费用。每 2 kg 发酵饲料可增加奶产量 0.85 kg, 2 t 发酵精饲料则可多产 850 kg 牛奶, 以每千克牛奶 2 元计算, 毛利可达到 1 660 元。

3 小结

奶牛精饲料经过复合微生物发酵成熟后, 表现出营养全面、色泽好、味香、适口性好等优点, 粗蛋白含量相对增加 22.7%, 产生挥发性脂肪酸 25.45 g/kg, pH 值降低至 3.8, 产酸菌活菌数量大大增加, 细菌、霉菌的菌落形态较一致, 添加的微生物有效抑制了原饲料中固有微生物的增殖。饲喂试验证明了发酵精饲料的功效, 经济效益显著提高, 可以在奶牛生产中大力推广。

参考文献

- 1 GB6432—86. 饲料水分的测定方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 1986
- 2 GB6435—86. 饲料粗蛋白含量的测定方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 1986
- 3 GB13093—91. 饲料中细菌总数检测方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 1991
- 4 杜连祥. 工业微生物学实验技术[M]. 天津: 天津科学技术出版社, 1992: 277
- 5 GB13092—91. 饲料中霉菌检测方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 1991
- 6 汪荣鑫. 数理统计[M]. 西安: 西安交通大学出版社, 2004: 93

(编辑: 张学智, mengzai007@163.com)

· 信息采撷 ·

冬季养鸡莫忘饮水

冬季鸡的需水量相对降低, 水往往被忽视掉了, 事实上, 鸡冬季同样需要水来维持正常的生命活动和生产, 鸡群缺水, 轻则食欲减退, 产蛋量下降, 严重时鸡群产蛋停止, 鸡体消瘦, 最后因衰竭而死亡。冬季饮水需注意以下几方面的问题。

1. 水温不能太低, 饮用过冷的水可使产蛋率下降, 饲料消耗增加, 水温一般以 10~20 ℃ 为宜。有条件的可在鸡舍中置一大容器放水, 使水温升高。

2. 水槽内水不可太多, 以避免鸡体上沾水冻伤。对于平养鸡舍, 饮水槽一定要有防止鸡进入槽内的装置。

3. 保证水质清洁卫生, 水槽要经常清洗。

4. 鸡对水的需要量一般为所采食饲料的两倍, 但实际需要量常受气温、采食饲料种类的影响, 因此要供给充足的饮水, 让鸡自由饮水。

不同蛋白质水平代乳品对羔羊生长性能的影响

阎宏 孙忠保

摘要 代乳品蛋白质由膨化大豆粉、奶粉、玉米蛋白粉等组成,其水平按一定梯度设计,组成1号、2号、3号、4号四种饲料。饲养试验选用陶赛特×小尾寒羊F1代的初生公、母羔羊各25只,随机分成5组,每组10只(5♂+5♀),I组~IV组分别饲喂1号~4号代乳品,第V组为对照组,自然哺乳。试验结果表明:代乳品蛋白质水平较高者,更有利于羔羊体尺的增加,第IV组羔羊体高、体长指标和平均日增重好于其它各试验组,但略逊于对照组。

关键词 代乳品;羔羊;生长性能

中图分类号 S816.32

Effect of milk replacers with different protein level on growth performance of lamb

Yan Hong, Sun Zhongbao

Abstract Protein in milk substitutes was provided by expanded soybean, milk powder, corn gluten meal etc. Protein level in milk substitutes was designed by various gradients. Milk substitutes were named No.1, No.2, No.3, No.4. Fifty(25♂+25♀)F1 lambs(Dorset♂×Small tailed sheep♀) were divided into five groups at random, ten lambs in each group(5♂+5♀). Group I, group II, group III and group IV were fed by milk substitutes No.1, No.2, No.3 and No.4 respectively. Group V was a control group and suckled naturally. The experimental result showed: The higher the lever of the protein, the better the growth of lambs. Group IV's body height, body length, and average daily gain were better than those of the other experimental groups, but a little worse than those of the control group.

Key words milk substitute, lamb, growth performance

近年来,随着国内外多胎性优良羊品种引入,羊的繁殖性能明显提高,多胎率日益增加。据宁夏地区调查结果显示,一些羊场肉羊多胎率可达70%以上,其中窝产3羔以上的可达25%左右,这为肉羊生产提供了较多的羔羊来源,但同时由于母羊的乳头少,产奶量低及乳房疾病等原因,导致羔羊因缺奶而营养不良,抗病力、成活率下降,极大地限制了肉羊生产水平的提高,成为制约肉羊生产新的瓶颈问题。研发特异的羔羊代乳品是解决这一问题的最佳途径。另外,为了适应工厂化养羊生产,缩短肉羊繁殖周期,需要对羔羊早期断奶,而实施这些措施也必须依靠羔羊代乳品作为保障。本试验正是基于上述需要而进行的。

1 材料与方法

1.1 试验地点和时间

试验地点为宁夏银川贺清肉羊有限责任公司。试

验时间为2005年5月20日~2005年7月5日。

1.2 试验羔羊选择与分组

试验选用陶赛特×小尾寒羊F1代的初生公、母羔羊各25只,胎次、体重、初生日期相同或相近,遗传组成相似,健康无疾病。采用单因子方差分析,每组10只(5♂+5♀),随机分成I、II、III、IV、V5个处理组,V组为对照组。

1.3 羔羊的饲养管理

各试验组羔羊分别饲养于面积、结构及温热环境条件一致的圈舍中,对照组羔羊随母羊自然哺乳,I、II、III、IV组羔羊分别饲喂1号、2号、3号、4号代乳品。饲喂方法:羔羊出生后7日龄内完全吃初乳;8~12日龄(过渡期)时,补喂代乳品,并且逐渐增加每天代乳品的饲喂量,减少自然哺乳次数,到13日龄全部用代乳液代替母乳;第三周龄时开始饲喂补充饲料;第四周龄时加喂优质青干草(苜蓿、羊草),以刺激瘤胃的生长发育。对照组除母羊哺乳外,其它管理方式与试验组一致。补饲料与饲草各组相同,自由采食,每日清理一次补料槽,记录总的采食量,自由饮水。试验期内每周消毒一次,试验羔羊每10d称重并测量体尺(体高、体长、胸围)一次。

阎宏,宁夏大学农学院,教授,750021,宁夏银川市西夏区贺兰山西路489号。

孙忠保,安徽师范大学。

收稿日期:2007-07-30

★ 宁夏自然科学基金资助项目(NZ0502)

1.3.1 代乳品营养成分含量

代乳品中的蛋白质由大豆粉、奶粉、玉米蛋白粉等组成,其水平按一定梯度设计组成四种试验饲料,代乳品中的其它营养成分包括羔羊需要的各种维生素、微量元素等。具体原料有:膨化全脂大豆粉、奶粉、乳清粉、玉米蛋白粉、黄米、玉米粉、大豆油、碳酸钙、碳酸氢钙、食盐、复合维生素、预混料添加剂。各代乳品营养水平见表1,绵羊奶营养水平见表2。

表1 代乳品营养水平(干物质基础)

营养成分	1号	2号	3号	4号
蛋白质(%)	26.00	28.00	30.00	32.00
脂肪(%)	15.42	16.86	17.20	18.10
消化能(MJ/kg)	18.70	18.00	19.44	18.92
钙(%)	0.80	0.87	0.91	0.83
磷(%)	0.45	0.40	0.54	0.41
蛋氨酸(%)	1.75	1.80	1.82	1.85
赖氨酸(%)	0.63	0.50	0.57	0.62
粗纤维(%)	1.83	2.00	1.92	2.01
粗灰分(%)	5.80	5.42	5.72	5.64

表2 绵羊奶中营养成分含量(%)

营养成分	干物质	蛋白质	脂肪	钙	磷	粗纤维	粗灰分
含量	24.59	6.21	7.62	0.16	0.15	0.06	2.58

1.3.2 代乳品饲喂方法

首先将代乳液按照一定比例[代乳品:水=1:(5~7)]配好,温度控制在37~39℃,一月龄后可直接饲喂室温代乳液。将配好的代乳液分别装入奶瓶中并摆放在奶架上,供羔羊吮吸,补奶后再用洁净温水将口鼻周围残留乳汁擦干。奶瓶用前须经过高温煮沸或开

水消毒,喂下一组羔羊时需要更换奶瓶、奶嘴,以防止病源传播。羔羊哺乳情况参照表3。

表3 试验组羔羊哺乳状况

出生日龄(d)	温度(℃)	日哺次数(次)	间隔时间(h)	代乳品量[g/(d·只)]	代乳液量[g/(d·只)]
0~7	这一阶段完全吃初乳				
8~12**	38	3	8	42~75	250~450
13~19	38	5	8	125	750
20~26	38	5	8	175	1 050
27~32	38	4	8	183	1 100
33~39	室温	4	12	200	1 200
40~46	室温	3	12	167	1 000
47~53	室温	2	12	133~42	800~250

注:标有**为过渡期,边吃母乳边补喂代乳品。

1.3.3 补充饲料

补充饲料是羔羊用颗粒料,原料有玉米、苜蓿粉、豆粕、胡麻饼、麸皮、碳酸氢钙、羊添加剂预混料等,含干物质91.4%、粗蛋白17.45%、粗脂肪2.75%、能量14.50 MJ/kg、粗纤维8.45%、粗灰分13.14%、钙1.50%、磷0.40%,草料主要是优质青干草(苜蓿、羊草等)。

1.4 测定指标

测定指标包括羔羊体高、体长、胸围、腹围、体重。这些指标在试验开始时,早晨空腹测定,以后每10 d测定一次。

2 结果与分析

2.1 羔羊的增重情况

羔羊在不同日龄阶段平均日增重情况见表4。

由表4可知,13~23日龄时,各组之间平均日增

表4 不同试验阶段羔羊的平均日增重情况(g)

项目	I组	II组	III组	IV组	V组(对照组)
13~23日龄	160.0±33.0 ^a	164.5±36.7 ^a	158.5±29.3 ^a	161.0±53.1 ^a	168.5±47.0 ^a
24~33日龄	161.5±26.9 ^A	149.0±19.8 ^A	173.0±33.8 ^A	200.5±38.6 ^B	227.5±56.9 ^B
34~43日龄	188.5±22.4 ^A	210.0±33.3 ^A	222.0±61.1 ^A	271.0±53.0 ^B	290.0±38.8 ^B
44~53日龄	199.0±32.1 ^{Ab}	225.0±54.8 ^{Ab}	240.0±44.5 ^b	282.0±44.2 ^{Bc}	305.0±47.2 ^{Bc}

注:同行肩上标有不同大写字母的为差异极显著(P<0.01),同行标有不同小写字母的为差异显著(P<0.05),同行标有相同字母的为差异不显著(P>0.05)。以下各表同。

重差异不显著(P>0.05)。随着日龄的增加,高蛋白水平组和低蛋白水平组平均日增重差距越来越大,以高蛋白水平的IV组和母乳哺喂的V组增重最高,24~33日龄、34~43日龄时,I组、II组、III组分别和IV组、V组差异极显著(P<0.01);I组、II组、III组之间差异不显著(P>0.05);IV组和V组之间差异也不显著(P>0.05)。在44~53日龄时,I组、II组分别和IV组、V组之间差异极显著(P<0.01);I组和III组,III组和IV组、V组分别差异显著(P<0.05);I组和II组,II组和III组,IV组和V组差异不显著(P>0.05)。可见,高蛋白质

水平组能够更好地满足羔羊的生长需要,但是,与对照组相比,平均日增重还是稍差。

2.2 羔羊体尺发育状况

2.2.1 羔羊体高变化

羔羊不同日龄阶段体高变化情况见表5。

由表5可知,在各试验组中,IV组的体高增长最快,其余依次为III组、II组、I组,但均不及对照组的生长速度。13日龄时,各组体高差异不显著(P>0.05);在23日龄时,I组和IV组差异显著(P<0.05),其余各组差异不显著(P>0.05);33日龄时,I组、II组分别和

表 5 不同试验阶段羔羊体高的变化情况(cm)

项目	I组	II组	III组	IV组	V组(对照组)
13日龄	40.90±2.13 ^a	40.70±1.78 ^a	40.50±2.64 ^a	41.50±3.17 ^a	41.15±3.65 ^a
23日龄	45.55±1.28 ^a	45.85±1.27 ^{ab}	46.45±2.27 ^{ab}	47.50±1.29 ^b	46.85±3.56 ^{ab}
33日龄	47.80±1.40 ^a	48.25±2.14 ^a	49.00±3.13 ^{ab}	50.80±2.82 ^b	50.05±3.25 ^{ab}
43日龄	49.65±1.80 ^{Ab}	51.55±3.28 ^a	52.15±3.72 ^{ab}	52.95±2.61 ^b	55.10±4.93 ^{Bb}
53日龄	51.50±2.35 ^{Ab}	53.85±3.73 ^{Ab}	54.80±3.35 ^{ab}	55.10±3.66 ^b	58.95±5.91 ^{Bc}

IV组差异显著($P<0.05$);43日龄时,I组和V组差异极显著($P<0.01$),II组和IV组差异显著($P<0.05$);53日龄时,I组、II组和V组比较差异极显著($P<0.01$),III组、IV组和V组比较差异显著($P<0.05$)。由此可见,羔羊代乳品的蛋白质水平影响羔羊体高的增长,随着

羔羊日龄的增加,体高的增长由差异不显著到差异显著、极显著。蛋白质水平较高者有利于羔羊的体高的增长。

2.2.2 羔羊体长变化

羔羊不同日龄体长的变化情况见表6。

表 6 不同试验阶段羔羊体长的变化情况(cm)

项目	I组	II组	III组	IV组	V组(对照组)
13日龄	37.25±2.96 ^a	38.00±2.21 ^a	37.70±1.51 ^a	37.30±2.59 ^a	38.40±1.83 ^a
23日龄	41.05±2.51 ^a	42.60±1.68 ^{ab}	42.20±1.72 ^{ab}	42.15±2.52 ^{ab}	43.00±1.72 ^b
33日龄	44.50±2.04 ^{Ab}	46.35±2.24 ^{ab}	46.40±2.89 ^{ab}	46.60±2.45 ^{ab}	47.60±2.04 ^{Bb}
43日龄	46.00±2.29 ^{Ab}	48.00±2.40 ^{ab}	48.40±2.80 ^{abc}	49.20±3.33 ^{bc}	50.60±3.07 ^{Bc}
53日龄	47.30±2.52 ^{Ab}	49.40±2.50 ^{ab}	49.90±2.57 ^b	50.60±3.53 ^{bc}	52.50±3.08 ^{Bc}

由表6可知,各试验组羔羊体长的变化趋势与体高的变化基本一致,以IV组增长最快,I组最慢,且试验组不及对照组。13日龄时,各组体长差异不显著($P>0.05$)。在23日龄时,I组和V组差异显著($P<0.05$),其余各组之间差异不显著($P>0.05$)。33日龄时,I组和V组差异极显著($P<0.01$),其余各组差异不显著($P>0.05$)。43日龄时,I组和V组差异极显著($P<0.01$);I组和IV组差异显著($P<0.05$);II组和V组

差异显著($P<0.05$)。53日龄时,I组和V组差异极显著($P<0.01$);I组分别和III组、IV组差异显著($P<0.05$);II组、III组分别和V组差异显著($P<0.05$)。可见,代乳品的蛋白质水平对羔羊的体长增长有影响,体长增长速度随着蛋白质水平的提高而增加,而且随着羔羊日龄的增加,表现越来越明显。

2.2.3 羔羊胸围的变化(见表7)

由表7可知,以V组和IV组胸围的增长较快,II

表 7 不同试验阶段羔羊胸围的变化情况(cm)

项目	I组	II组	III组	IV组	V组(对照组)
13日龄	41.40±3.93 ^a	41.65±1.76 ^a	39.90±3.12 ^a	42.40±3.41 ^a	41.85±2.51 ^a
23日龄	45.25±3.70 ^a	45.55±2.59 ^{ab}	45.10±3.81 ^a	48.25±2.19 ^b	47.35±2.42 ^{ab}
33日龄	48.55±3.16 ^a	48.75±2.37 ^a	49.55±3.83 ^{ab}	51.50±3.01 ^b	51.40±1.94 ^b
43日龄	50.05±3.27 ^{Ab}	50.50±2.45 ^{Ca}	50.85±3.82 ^a	53.90±2.59 ^{Bb}	54.10±2.72 ^{Bb}
53日龄	52.35±2.63 ^{Ab}	51.70±2.41 ^{Ca}	52.20±3.68 ^{Ab}	55.30±2.53 ^{ABb}	56.10±2.92 ^{Bb}

组最慢。13日龄时,各组胸围差异不显著($P>0.05$)。在23日龄时,IV组分别与I组、III组差异显著($P<0.05$),其余各组之间差异不显著($P>0.05$)。33日龄以后,高蛋白水平组胸围增长速度加快,IV组与V组胸围显著高于I组和II组($P<0.05$)。随着日龄的增长,差距进一步加大,至53日龄时,V组胸围极显著地高于I组、II组、III组($P<0.01$),IV组胸围极显著地高于II组($P<0.01$),显著地高于I组、III组($P<0.05$)。

3 小结

本试验中饲喂不同蛋白质水平(CP含量:26%~32%)代乳品的羔羊,体重和各项体尺指标随着日龄的增加而增加,羔羊整体上生长发育正常。试验组中,

平均日增重及体高、体长、胸围等体尺指标,均以蛋白质含量最高的IV组增加效果最好,呈现出随着代乳品蛋白水平的增加而增加的趋势。说明CP含量32%的代乳品更适合哺乳羔羊的生长发育需要。但是在本试验条件下,饲喂代乳品的各试验组的体重和各项体尺指标仍不及自然哺乳的对照组。

此外,试验期间羔羊在一月龄内有腹泻现象出现。一月龄之后,随着日龄的增长和羔羊对代乳品的适应性不断增强,腹泻现象消失。对照组羔羊也有腹泻现象,但从腹泻率分析,显然好于试验各组。

(参考文献11篇,刊略,需者可函索)

(编辑:张学智, mengzai007@163.com)

大豆抗原蛋白的生物学特性 及其对仔猪的过敏反应

游金明 王自蕊 瞿明仁 黎观红 潘珂

大豆含有丰富的蛋白质和平衡的氨基酸,是人和畜禽优质的植物性蛋白源(Hancock等,2000;Friedman和Brandon,2001)。但大豆中含有的多种抗营养因子因干扰营养物质的消化吸收、破坏正常的新陈代谢和引起不良的生理反应而危害着畜禽(尤其是幼龄畜禽)的健康,因此在很大程度上降低了大豆制品的利用效率。

大豆抗原作为大豆中的主要抗营养因子之一,是大豆中能引起畜禽过敏反应的一类蛋白质,其主要包括:大豆疏水蛋白、大豆壳蛋白、大豆抑制蛋白、大豆空泡蛋白、大豆球蛋白(glycinin)和 β -大豆伴球蛋白(β -conglycinin)等。自Duke(1934)首次发现大豆蛋白可引起婴儿腹泻、虚脱和肠道炎症反应以来,人们对大豆蛋白的研究从未间断,现已从婴幼儿、仔猪和犊牛对大豆蛋白的过敏反应现象逐渐深入到大豆抗原蛋白的致过敏机理研究。本文从大豆抗原蛋白的生物学特性、对仔猪的影响、致敏机理以及加工对其免疫活性的影响等多个方面对大豆抗原蛋白的研究现状和进展进行简要的综述。

1 大豆抗原蛋白的种类、结构及其生物学特性

大豆中的抗原蛋白有很多,目前已被确认的有21种(Wilson等,2005)。根据以蛋白质沉降系数为基础的超速离心分类法,大豆蛋白分为4个组分,即2S、7S、11S和15S。其中11S组分为大豆球蛋白,占大豆可浸出蛋白总量的33%;15S组分为多聚体glycinin,占大豆可浸出蛋白总量的10%;2S组分占大豆可浸出蛋白总量的20%,主要包括胰蛋白酶抑制因子和细胞

色素;其余部分为7S组分,主要含大豆伴球蛋白(conglycinin)、 α -淀粉酶、脂肪氧化酶和凝集素(赵威祺,2003)。Catsimpoolas和Ekenstam(1969)用免疫电泳法将conglycinin分离并鉴定为 α -conglycinin、 β -conglycinin和 γ -conglycinin三种大豆伴球蛋白。目前研究较多的大豆抗原主要有大豆glycinin和 β -conglycinin两种球蛋白。

1.1 Glycinin

大豆glycinin(11S)是大豆中的一种主要贮藏蛋白,也是大豆蛋白中最大的单体成分,占大豆籽实总蛋白的19.5%~23.1%(Mujoo等,2003)和总球蛋白的40.0%(李德发,2003)。Glycinin是相对分子量为320~360 kDa的六聚体,其单聚体亚基的结构形式为A-S-S-B。其中A为酸性多肽,B为碱性多肽,A和B的分子量分别为34~44 kDa和20 kDa。S-S是一个二硫键,它将A和B连接起来,分别标示为A_{1a}B₂、A_{1b}B_{1b}、A₂B_{1a}、A₃B₄和A₅B₃等(Maruyama等,1998)。Glycinin在构型上为两个环状六角形结构,每个环上含6个亚基,分别以酸性和碱性亚基形式交互形成稳定结构,12个亚基组成了两个相同的六角形结构,形成中空的扁圆柱。两个六角形间的结合由静电或氢键作用维系。六角环内是亚基之间的相互作用,酸性亚基和碱性亚基交互排列,各酸性亚基之间和碱性亚基之间均具有很高的同源性(Staswick等,1981)。

Glycinin酸性亚基和碱性亚基的等电点分别为4.80~5.50和6.50~8.50。Glycinin含有较多的含硫氨基酸,一些化学试剂(如尿素、强酸、强碱、十二磺基硫酸钠、巯基乙醇、硫化钠和亚硒酸钠等)可打断其二硫键,从而改变glycinin的四级结构,并增加其溶解度(Awazuhara等,2002)。温度对glycinin的结构和溶解性也有较大影响,冷冻干燥和低温贮存将降低glycinin的溶解度,而加热则增加其黏度,形成预凝胶,并在冷却后形成凝胶。Glycinin溶液在低温贮存时还会发生

游金明,江西农业大学动物科技学院,博士,副教授,330045,江西省南昌市国家经济技术开发区。

王自蕊、瞿明仁、黎观红、潘珂,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-08-20

二硫键聚合现象,形成不溶的沉淀或大小不同(14~22S)的聚合物(周瑞宝和周兵,1998)。

1.2 β -conglycinin

β -conglycinin 也是大豆中的一种主要贮藏蛋白,占大豆籽实总蛋白的 10.0%~12.7%和总球蛋白的 30.0%(Mujoo 等,2003)。不过, β -conglycinin 比 glycinin 含有更多的糖基(3.8%甘露糖和 1.2%氨基葡萄糖)。因此, β -conglycinin 是一类糖基化蛋白质(张雪梅和郭顺堂,2003)。Catsimpoolas 和 Ekenstam(1969)用免疫电泳方法将 conglycinin 分为 α -conglycinin、 β -conglycinin 和 γ -conglycinin,其中 α -conglycinin 是具有酶活性的 2S 蛋白质组分; β -conglycinin 和 γ -conglycinin 则不具有酶的活性,在中性环境和离子强度为 0.05~0.10 的条件下,可将 β -conglycinin 和 γ -conglycinin 分开。 β -conglycinin 由 α 、 α' 和 β 三种亚基组成,三种亚基的分子量分别为 58~77、58~83 和 42~53 kDa(Thanh 和 Shibasaki,1977;Maruyama 等,2003;Mujoo 等,2003)。 α 、 α' 和 β 亚基的等电点分别为 4.90、5.18 和 5.66~6.00(Lei 和 Reeck,1987)。在 β -conglycinin 空间结构中, α -螺旋、 β -折叠和不规则结构分别占 5%、35%和 60%。 β -conglycinin 的稳定性比 glycinin 差,其在离子强度变化时不稳定,常发生聚合或离析作用。在高离子强度下, β -conglycinin 存在一个 7S 沉降系数;在低离子强度下, β -conglycinin 可聚合成 9~10S 蛋白。盐可促进 β -conglycinin 凝胶的形成。除 Na_2CO_3 外,所有的水合盐均可增加 β -conglycinin 的热稳定性。 β -conglycinin 的三个亚基都富含天冬氨酸/天门冬酰胺、谷氨酸/谷氨酰胺、亮氨酸和精氨酸,其中 α 和 α' 亚基的氨基酸组成非常相似,二者均含有少量的蛋氨酸但缺乏胱氨酸,而 β 亚基则不含蛋氨酸。三个亚基的热稳定性顺序为: $\beta > \alpha' > \alpha$ (Maruyama 等,2003)。

作为大豆的主要球蛋白,glycinin 和 β -conglycinin 提供了大豆食品和饲料中总蛋白 65%~80%的蛋白质(Thanh 等,1976;Sission 等,1982)。但是,glycinin、 α -conglycinin、 β -conglycinin 和 γ -conglycinin 都具有免疫原性,都能不同程度地导致仔猪的过敏反应,尤其以 glycinin 和 β -conglycinin 的免疫原性最强。不过,导致过敏反应的具有抗原活性的大豆 glycinin 和 β -conglycinin 只占其中很少一部分。大豆制品中究竟有多少 glycinin 和 β -conglycinin 具有抗原活性,实际上与其加工工艺密切相关。

2 大豆抗原蛋白对仔猪的影响

大量的研究发现,包括大豆蛋白在内的日粮抗原过敏反应是造成仔猪肠道功能变化的主要原因,且与腹泻的发生有着密切的关系。Glycinin 和 β -conglycinin 作为大豆中的两种最重要的抗原蛋白,主要引起仔猪的过敏反应。当仔猪采食含大豆蛋白的日粮后,大部分 Glycinin 和 β -conglycinin 被降解为肽和氨基酸。由于仔猪肠道发育不成熟,少部分 glycinin 和 β -conglycinin 穿过小肠上皮细胞间或上皮细胞内的空隙完整地进入血液和淋巴,刺激肠道免疫组织,产生包括特异性抗原抗体反应和 T 淋巴细胞介导的迟发性过敏反应,前者刺激肥大细胞释放组胺,引起上皮细胞通透性增加和黏膜水肿,后者主要引起肠道形态变化,并表现为:小肠绒毛萎缩、脱落,隐窝细胞增生(Li 等,1990),血清中大豆抗原特异性抗体滴度升高(Li,1991),结果导致消化吸收障碍、生长受阻和过敏性腹泻的发生。

2.1 大豆抗原蛋白对仔猪免疫系统的影响

仔猪采食日粮抗原后,大部分蛋白质和碳水化合物等大分子物质在消化酶的作用下被消化成没有抗原性的小分子物质,但仍有一小部分以完整的大分子形式通过肠上皮细胞间的空隙进入血液和淋巴,这些具有抗原活性的大分子物质刺激机体产生分泌型 IgA (Swarbrick,1979)、血清 IgA (Kilshaw 和 Sissons,1979) 及血清 IgE (Barratt 等,1978)。分泌型 IgA 在机体对日粮抗原的免疫耐受性和免疫排斥中起主要作用。血清 IgA 能和吸收的抗原特异性结合形成 IgA-抗原复合物,这种复合物很快被肝胆系统清除(Russel 等,1982)。血清 IgE 和 IgM 能中和被吸收进血液中的抗原,中和后形成的抗原抗体复合物,引起机体免疫损伤,其中 IgE 是日粮抗原引起免疫损伤的主要抗体。IgE 具有亲细胞性,其 Fc 片段与组织中肥大细胞上的 Fc 受体结合,从而使机体处于致敏状态。当日粮抗原再次进入机体后,抗原与结合在肥大细胞上的 IgE 结合,使肥大细胞释放组胺等细胞介质,释放的速度在结合后的 15 min 达到高峰,释放的时间可持续 1 h (Stokes 等,1986)。从而引起血浆蛋白质漏入肠腔、肠黏膜水肿、杯状细胞黏液渗出及肠道对水和电解质吸收不良。

2.2 大豆抗原蛋白对仔猪肠道形态的影响

断奶仔猪对大豆抗原蛋白的过敏反应包括特异

性抗原抗体反应和 T 淋巴细胞介导的迟发型过敏反应两个方面,它们在肠道功能异常中所起的作用是不一样的,前者刺激肥大细胞释放组胺,引起上皮细胞通透性增加和黏膜水肿,而后者主要引起肠道形态的变化。已有的研究表明,在 *glycinin* 和 β -*conglycinin* 引起的断奶仔猪的过敏反应中,T 淋巴细胞介导的迟发型过敏反应引起的肠道形态变化是主要方面。Li 等(1990)报道,给 7 日龄的仔猪灌服大豆蛋白提取液,每天 6 g,连续 5 d,21 日龄断奶后喂以含有相应大豆蛋白的断奶日粮,在血清中测出了较高效价的抗 *glycinin* 和 β -*conglycinin* 的抗体;断奶后第 7 d 测得的绒毛高度显著低于饲喂牛乳的对照组,隐窝深度和绒毛宽度显著低于对照组;用电镜对绒毛发育的观察表明,与饲喂牛乳的对照组仔猪相比,饲喂大豆蛋白的仔猪刷状缘上皮细胞不完整,且有细胞融合的现象。连续饲喂 6 d 后,皮下注射 1:1 的 *glycinin* 和 β -*conglycinin* 均匀混合物,皮褶厚度显著增加,这些变化与绒毛结构的变化一致,并与生产性能有较大的相关性。

2.3 大豆抗原蛋白对仔猪生产性能的影响

Dréau 等(1993)给 21 日龄断奶仔猪饲喂大豆抗原后发现,与对照组相比,饲喂大豆抗原的仔猪体重降低了 10.0%($P<0.01$),绒毛面积减少了 37.0%($P<0.01$),但隐窝深度无明显变化;与形态学变化相一致,黏膜上皮总淋巴细胞密度增加了 31.6%($P<0.001$);小肠发生炎症反应,黏膜上皮嗜酸性细胞密度增加了 10 倍($P<0.001$)。Li 等(1991)通过组织学检查、木糖吸收试验和生产性能分析,研究了断奶仔猪肠道损伤和吸收受阻与生产性能下降的关系。结果表明,大豆抗原引起的肠道损伤导致了肠道吸收功能的障碍,使仔猪对营养物质的消化吸收率降低,进而导致生产性能下降。

2.4 大豆抗原蛋白与仔猪断奶后腹泻

在早期的研究中,人们认为断奶仔猪腹泻是由于大肠杆菌性肠炎引起的,但后来的研究发现,仔猪断奶后出现腹泻虽然与大肠杆菌有着密切关系,但大肠杆菌本身并不能单独引起这种疾病(Miller 等,1984),且健康仔猪的胃肠道中存在着大量的病原性大肠杆菌。仔猪对断奶日粮中包括 *glycinin* 和 β -*conglycinin* 在内的抗原蛋白的短暂过敏反应引起的肠道损伤是断奶后腹泻的原发性原因,大肠杆菌在肠道的附着和

增殖只不过是继发性原因(Miller 等,1984;Li 等,1990)。

仔猪断奶后腹泻的直接原因是养分消化率的下降,而根本原因是机体对日粮抗原发生的过敏反应,这一理论已被许多试验所证实。Kenworthy 等(1976)报道,仔猪断奶后前几天发生的腹泻,典型的损伤是肠绒毛严重萎缩,酶水平下降,养分吸收率下降,但微生物检查并未发现大肠杆菌的增殖。Stokes(1986)对未断奶仔猪用卵清白蛋白诱发免疫反应时,仔猪肠道产生类似的损伤性变化。仔猪断奶前适当地补饲少量抗原可以刺激机体发生免疫反应,但再次接触该抗原时仔猪会经历二次免疫,导致更加严重的腹泻和吸收障碍。据此,他们提出日粮抗原的过敏原性是断奶后腹泻发生的关键。譙仕彦和李德发(1996)的研究表明,仔猪断奶后第 8 d 肠道中致病性大肠杆菌与血清抗大豆 *glycinin* 和 β -*conglycinin* 抗体效价成正比。不过,也有试验研究表明,动物在断奶前食入一定量的断奶日粮,断奶后并没有腹泻发生(Newby,1979),其原因可能是仔猪对日粮抗原产生了免疫耐受。

3 大豆抗原蛋白的致过敏作用机理

自 Duke 等(1934)首次注意到大豆抗原蛋白对婴儿的反应原性后,人们对这种过敏反应现象和可能的作用机理进行了长期的探索。日粮抗原导致的过敏反应既有特异性抗原抗体间的 I 型过敏反应,又有由特异性 T 淋巴细胞介导的 IV 型过敏反应。在不同的日粮抗原所引起的过敏反应中,这两种反应的程度不同。常规处理下,大豆中的主要抗营养因子可被降低至无害水平,但大豆中的致敏因子的活性却基本不受影响。

动物因其种类、品种及所处的环境不同,对大豆抗原蛋白过敏的反应也不同,但其机制基本相似。肠道对抗原蛋白吸收增加是引起过敏反应的决定性因素(Walker-smith,1986),而特异性免疫力不足是抗原蛋白大量透过肠道进入血液循环的主要原因。动物饲喂一种新的日粮,将产生针对该日粮中抗原的相应抗体(譙仕彦和李德发,1995),如分泌型 IgA,血清型 IgA、IgE、IgM 和 IgG。从肠道吸收的抗原在血液中和相应的抗体结合形成抗原-抗体复合物。分泌型 IgA 在肠道内可直接中和日粮抗原,从而阻止抗原被小肠吸收。血清型 IgA 与循环中的日粮抗原形成的复合物相对缺乏免疫药理作用(王彩虹等,1997),可很快被肝胆系统清除(王世若等,1996)。因此,IgA 对阻止日

粮抗原入侵以及对已入侵的抗原予以清除具有重要作用。其它几种抗体与抗原形成的复合物则具有较强的药理作用。IgM 或 IgG 与抗原形成的复合物一旦穿过肠壁进入循环则可刺激全身的淋巴结并产生较多的 IgM 或 IgG。循环中的 IgM/IgG-抗原复合物可沉积在肠壁组织内,通过激活补体系统释放出过敏毒素和血管通透性增强因子。同时,抗原-抗体复合物还可黏附于血小板上,促使活性胺的释放,或引起嗜中性粒细胞对其吞食,由嗜中性粒细胞释放出各种蛋白水解酶,引起组织损伤(即三型变态反应)。IgE 的 Fc 片段可与组织中的肥大细胞上的 Fc 受体结合,使机体致敏。当日粮抗原再次进入机体后,抗原与结合在肥大细胞上的 IgE 结合而导致组胺快速释放(I 型变态反应),结果毛细血管渗透性增加,血浆蛋白漏入肠腔,出现肠黏膜水肿等。

大豆抗原蛋白引起过敏反应造成的免疫损伤主要发生在肠道,包括上皮淋巴细胞增加、隐窝细胞有丝分裂速度加快、血浆蛋白漏入肠腔、杯状细胞黏液渗出以及肠绒毛结构变化。细胞免疫和体液免疫参加了这一过程,但绒毛结构的变化主要是由细胞免疫引起的,这种作用使小肠结构受损、食糜滞留时间缩短,营养物质转运和吸收出现紊乱,最终导致消化不良和腹泻(Lalles 等,1993)。

目前,由于受提纯方法的限制,很难获得大量、高纯度的大豆抗原蛋白样品,因此很少有试验以纯蛋白分子的 glycinin 或 β -conglycinin 为研究对象探讨其对畜禽的致敏机理,而更多的是集中于整个大豆蛋白的共同作用。因此,获得大量的纯品抗原蛋白具有极其重要的意义。在 Thanh 和 Shibasaki(1976)方法的基础上,游金明(2007)用免疫亲和层析、郭鹏飞(2007)用基因表达的方法分别获得了纯度大于 93%和 99%的 β -conglycinin 及其 α' 亚基。Guo 等(2007a)随后以大鼠为实验动物建立了过敏反应模型,将体内与体外试验相结合,系统研究了 β -conglycinin 及其 α' 亚基对大鼠的致敏作用。结果发现,在灌服 β -conglycinin 及其 α' 亚基后,大鼠的 IgE 和 IgG₁ 抗体浓度显著升高($P<0.05$),肠道中肥大细胞数量增加,肥大细胞脱粒现象明显;肠道组织中组胺的释放率和释放量增加;淋巴细胞过度增殖,CD4⁺显著升高,血液和脾脏中的 IL-2、IL-4 和 IL-5 的分泌量增加。在后来的研究中,Guo 等(2007b)进一步证实了大豆 β -conglycinin 对大鼠细胞免疫和体液免疫功能的影响。这些免疫反

应最终引起小肠炎症及上皮细胞变性坏死,造成免疫功能和组织器官的损伤及消化吸收不良。

4 加工处理对大豆抗原蛋白免疫原性的影响

大豆 glycinin、 β -conglycinin 是热稳定性的抗原蛋白,直接加热并不能彻底破坏其抗原活性。经过加热处理的大豆制品仍可引起断奶仔猪和犊牛的消化异常和肠道黏膜的炎症反应。与 glycinin 相比, β -conglycinin 的热稳定性相对较差,因此,破坏速度相对较快。生大豆(CP 36.5%)中 β -conglycinin 的含量约为 155 mg/g,烘烤大豆中含量为 52 mg/g(Murphy 和 Resurreccion,1984),而经过乙醇浸提获得的大豆浓缩蛋白(Soy protein concentrate,SPC)中 β -conglycinin 的含量则降低至 5 mg/g 左右(Russett,1997)。另外,膨化大豆中虽然 glycinin 的含量仍然较高,但 β -conglycinin 的含量大为降低。经过适当加工处理后的大豆,虽然无法彻底破坏其抗原蛋白的活性,但可以在一定程度上减轻其对畜禽的致敏作用。Li 等(1991)和 谯仕彦等(1995)对断奶仔猪试验的结果证实,经过膨化处理的豆粕能降低仔猪血清中抗 glycinin、 β -conglycinin 抗体的滴度,并能降低 glycinin、 β -conglycinin 引起的迟发型过敏反应程度。目前已证实,豆粕、膨化大豆、发酵豆粕、大豆浓缩蛋白和大豆分离蛋白等大豆制品的抗原活性低于生大豆。但是,在大豆加工参数和抗原蛋白活性的致敏临界值方面还没有一个统一的认识,其原因主要是抗原蛋白活性的定量检测技术还很薄弱。已有的定量检测方法主要以抗血清测定和高效液相色谱分析为主。这些方法从免疫学角度来看仍存在一定的缺陷,前者检测的灵敏度较低,后者则无法体现免疫反应性,并且由于前处理过程繁琐和需要昂贵的专门仪器而难以广泛应用于大豆制品的现场检测。You 等(2007)以 β -conglycinin 分子上的一段抗原表位肽为半抗原,与载体蛋白 OVA 交联后作为免疫原,成功制备了能够识别 α 与 α' 亚基的抗 β -conglycinin 单克隆抗体。以该抗体为基础建立的 β -conglycinin 定量 ELISA 方法应用于大豆制品的检测,检测限高达 2.0 ng/ml。因此,抗 β -conglycinin 单克隆抗体的制备为 β -conglycinin 免疫原性的定量分析提供了一个有效工具,同时,为指导大豆的正确加工以减少或消除大豆抗原蛋白的免疫活性,提高大豆的利用效率奠定了基础。

(参考文献 42 篇,刊略,需者可函索)

(编辑:刘敏跃,lm-y@tom.com)

畜牧行业实验室污染的种类及无害化处理措施

李艳琴 王照华 刘美丽 高义俊

畜牧行业的实验室与大型化工企业等的实验室不同,一般为中小型实验室,由于其分散、独立、每次的排污量不大而被忽视,不易受到环保部门的重视。实际上这些实验室已经成了一类典型的小型污染源,而且许多实验室地处城区和居民区,其产生的废物虽单一品种的量不大,但种类繁多,有些废液毒性较大、成分具有不确定性,这些有毒有害废物若不做无害化处理而直接排放,一方面会造成比较严重的环境污染,另一方面若排放后和普通生活污水混到一起,污染物间可能形成交叉污染,还会损害生活污水处理厂的处理能力。

我们需清楚的认识畜牧行业实验室污染的危害,并根据污染物种类和特点,提倡实验室自行对有毒有害物质进行无害化处理,这样不仅能减少废弃物对环境的污染,保证人体健康,还可节约由废液处理厂集中消纳处理所需支付的高昂费用。

1 畜牧行业实验室污染的种类

1.1 按污染物的形态分类

1.1.1 废气

实验室产生的废气包括试验所用试剂和样品的挥发物,样品处理过程中产生的中间产物(如粗蛋白消化过程中产生的 SO_2),泄漏和排空的标准气体及载气等。废气的种类主要有:酸雾、氨气、甲醛、苯系物、各种有机溶剂等常见污染物和汞蒸汽、氰化氢、砷化氢等剧毒气体。

1.1.2 废液

畜牧行业实验室产生的废液包括多余样品、标准曲线及样品分析残液、失效的贮藏液和洗液、大量洗涤水等。兽药、饲料和畜产品检测中,几乎所有的分析项目都不同程度的存在废液污染问题。这些废液的成分复杂,其中产生量多、污染大的是有毒有害废液。有毒有害废液根据其性质一般可分为:①无机废液。此类废液多为饲料和畜产品重金属检验中产生的含有

重金属和金属离子的无机盐类,对环境和人类危害很大,比较常见的有汞及其化合物、砷及其化合物、镉及其化合物、铬(IV)及其化合物、铅及其化合物、锌及其化合物、可溶性铜化合物、氰化物、氟化物等,另外还有一些氧化剂,如铁氰化钾等。②废酸和废碱。包括有机酸碱和无机酸碱,如硫酸、盐酸、硝酸、氢氧化钠、氢氧化钾等。③有机废液。主要以有机溶剂为主,如纤维检测中使用的乙醇、石油醚、乙醚等;还有一些含氮化合物、含硫化合物和卤代物,如丙烯腈、二甲胺、氯仿、四氯化碳等。

除上述废液外,废液还包括含有有害微生物、细菌毒素、各种药物残留的废液等。

1.1.3 固体废弃物

包括多余样品、分析产物(如培养了细菌的固体培养基等)、消耗和破损的实验用品(如玻璃器皿、金属器皿、纱布等)、残留或失效的固体化学试剂。这些固体废弃物成分复杂,涵盖各类化学、生物污染物,尤其是不少过期失效的化学试剂,处理稍有不慎,很容易导致严重的污染事故。

1.2 按污染性质分类

1.2.1 化学污染

化学污染包括无机物污染和有机物污染。

无机物污染有强酸强碱污染、重金属污染、氰化物污染等。其中汞、砷、铅、镉、铬等金属不仅毒性强,而且在人体中易引起蓄积性中毒。

有机物污染主要是有机试剂污染和有机样品污染,这些污染物进入环境中经过长年累月的积累后,会对环境(水环境、大气环境、土壤环境和生态环境)和人体健康造成严重影响,甚至导致“三致”(致癌、致畸、致突变)等。

1.2.2 生物性污染

生物性污染包括生物废弃物污染和生物细菌毒素污染。生物废弃物有实验室丢弃的样品,如血样、尿、粪便等;检验用品,如实验器材、细菌培养基等;开展生物实验的检验室会产生大量含有高浓度有害微生物的培养基、培养液,如未经适当的灭菌处理而直接排外,会造成严重后果。另外,生物实验室的通风设备设计不完善或实验过程个人安全保护有漏洞,会使生物细菌毒素扩散、传播、污染,甚至带来严重不良后果。

1.2.3 放射性污染

李艳琴,河北农业大学动物科技学院,副教授,071000,河北省保定市乐凯南大街。

王照华(通讯作者),河北省廊坊市畜牧水产局。

刘美丽,内蒙古呼和浩特市草原工作站。

高义俊,内蒙古阿盟农业局。

收稿日期:2007-07-30

放射性污染是由放射性废弃物,如放射性标记物、放射性校准溶液等引起。

2 畜牧行业实验室污染的无害化处理与预防措施

2.1 加强废液的管理

在废液的收集处理过程中要严格做到以下几点:

①统一使用规定类型的贮存容器;②废液贮存要使用洁净容器,以免交叉反应引起污染;③废液严禁混合贮存,以免发生剧烈化学反应而造成事故(如氰化物废液中严禁混入酸,含铬酸的废液中严禁混入有机废液等);④废液应用封闭容器贮存,避免挥发和产气逸出;⑤贮存废液的容器上应标明废液种类、成分、贮存时间;⑥废液应放在指定的场所,避光、远离热源,以免加速其化学反应,且贮存时间不易过长;⑦收集者应记录各实验室收集的废液种类、数量、时间;⑧处理后确认安全、达标后方可排放。

2.2 对有毒有害废物进行有效的无害化处理

废液中有毒有害物质的处理方法主要是通过物理过程和化学反应等,将有害物回收或分解,转化生成其它无毒和低毒的化合物。根据有毒有害物质废液产生的类型,对其进行无害化处理,主要有3种方法。

2.2.1 中和法

使废液发生酸碱中和反应,调节pH值至中性。如针对酸类物质可加生石灰等生成氢氧化物、盐类等。

2.2.2 转化法

六价铬:六价铬在酸性条件下具有强氧化作用,在废液中加入亚铁盐或亚硫酸盐等还原剂还原为三价后,加碱转化为低毒的氢氧化铬沉淀分离。

汞:包括有机汞和无机汞,有机汞的废液中加入适当的氧化剂还原为无机汞,无机汞的废液调节pH值至8~10后加入可溶性硫化物,使汞离子转化为难溶的 Hg_2S 和 HgS 沉淀,由于汞有剧毒,废液要用活性炭处理后再过滤排放。

其它铅(II)、铬(III)、镉(II)、铜(II)等重金属离子:一般通过调节pH值至8~9,使之转化为氢氧化物沉淀。

氰化物:氰化物在酸性介质中产生有剧毒的氢化物,很危险,一般在碱性及中性条件下加入次氯酸钠进行分解。

砷:在砷的废液中加入氧化钙,调节pH值至8,生成沉淀,或调节pH值至10,加入硫化钠,反应生成难溶低毒的硫化物沉淀。

2.2.3 蒸馏或分馏纯化法

此方法主要用于有机类废液的处理,而且通过此方法回收的一些溶剂的纯度完全可以达到使用的

要求。

2.3 固体废弃物的无害化处理

多余样品、兽药、饲料、畜产品以及分析产物等不应随意丢弃,应按类统一存放回收。特别是畜产品易腐败变质,应及时处理,可以采取焚烧、坑埋等措施。

2.4 寻求替代品

保证实验效果的前提下,用无毒害、无污染或低毒害、低污染试剂替代毒性较强的试剂。

2.5 建立资源共享机制

现行的管理体制使很多部门都拥有各自小而全的实验室,既浪费了资源,又不利于保护环境。因此,在条件允许的情况下,实验室间建立资源共享机制,尽量避免大批化学试剂失效,又可节约实验成本。

2.6 制定切实可行的技术规范

根据各实验室工作重点,认真研究实验室的污染特点和防治途径,设法减少污染,制定操作性强、简便实用的技术规范。并且,应将实验室污染治理措施融入到实验室建设和验收中,这样有利于实验室污染防治措施的贯彻落实。

2.7 提高人员素质,推行环保、绿色、清洁实验理念

人是做好无害化工作的关键,要以人为本,加强实验室人员培训,提高法律意识和业务素质,树立全局观念,推行环保、绿色、清洁实验理念,提倡有效的清洁实验行为。如用酒精温度计代替水银温度计,避免可能带来的汞污染,使用可降解的无磷洗涤剂。

3 结语

在实验过程中需使用或接触多类有害化学试剂和药品的今天,如何减少畜牧行业实验室污染对环境和人类的危害、避免“三废”污染是我们亟待解决的现实问题,必须引起全社会的高度重视。作为畜牧行业实验室工作人员,我们必须做好实验室污染的预防和治理工作,努力实现实验室科学、有效、安全管理。

参考文献

- 1 吕明泉,焦书明.实验室常见有毒有害废液的危害及无害化处理[J].实验技术与管理,2006,22(11):154-155
- 2 徐静年,苏建茹,郭奋.高校实验室污染不容忽视[J].实验技术与管理,2005,22(11):154-155
- 3 张文华.必须重视学校化学实验室的污染问题[J].实验技术与管理,2005,23(4):123-125
- 4 梁起,黄华珍.“绿色化学”实验的探索[J].实验技术与管理,2004,21(1):109-111
- 5 姚运先,王艺娟.实验室废液的处理与管理[J].化学教学,2002(2):9-10
- 6 陈阳.卫生检验实验室废弃物的一般处理方法[J].中国卫生检验,2001,11(5):604-605 (编辑:崔成德,cuicengde@tom.com)

啤酒副产品在饲料工业中的应用

郭雪霞 张慧媛 来创业 孙学华

摘要 啤酒副产品主要是啤酒废酵母和啤酒糟,啤酒废酵母可直接作为鱼虾饲料,生产发酵饲料、酵母精、饲料添加剂和颗粒混合饲料;啤酒糟可直接用作传统饲料,生产干粉饲料、发酵饲料、粗酶制剂和菌体蛋白饲料。啤酒副产品在饲料工业中具有非常广阔的应用前景,具有较好的社会效益和经济效益。

关键词 啤酒;啤酒废酵母;啤酒糟;饲料

中图分类号 S816.35

啤酒是以谷物为原料,经麦汁糖化和酵母发酵而成,在整个酿制过程中不可避免地会产生一定量的副产物或者称之为废弃物。啤酒酿制过程中的副产品主要是啤酒糟和废酵母,也有硅藻土污泥和少量废蛋白沉淀物,另外还有废CO₂气体等。

据统计,2005年中国啤酒产量首次突破3000万吨大关,达到3061万吨,产销量已连续四年位居世界第一。随着中国啤酒产量的连年增加,啤酒酿造过程中的副产品如啤酒糟、废酵母也迅速增加,这些副产品及废弃物如果没有很好地被利用,将造成资源的巨大浪费和对周围环境的严重污染。在欧美发达国家,由于受环境保护法的严格制约,啤酒副产品及废弃物的开发利用获得高度重视。在中国,人们也逐步重视这个问题,近几年,啤酒企业和高校、研究所联手,共同寻找出了许多啤酒副产品及废弃物的应用领域和综合回收利用途径。对啤酒副产品回收利用不仅可以减轻对环境的污染,还能开发出潜在的高附加值的产品,可以大大提高企业的经济效益。

1 啤酒酿造过程中的副产品概述

啤酒整个生产过程中主要的副产品及废弃物^[1]有:制麦过程中的麦根,糖化过程中的糖化糟、酒化糟、沉淀蛋白,发酵过程中的剩余酵母,以及各工艺中排出的废水和废水处理沉淀下来的活性污泥等。

啤酒废酵母全身都是宝,它含有50%左右的蛋白质,6%-8%的核糖核酸,2%的B族维生素,1%的谷胱

苷肽及辅酶A,还有人体必需的8种氨基酸等多种营养成分。

啤酒糟的主要成分是麦芽壳,其粗蛋白含量在25%左右,粗纤维含量在17%以上。啤酒糟是啤酒生产中最主要的副产品,占废弃物总量的80%以上。

废酒花糟中含有葎草酮5%,异葎草酮5%,蛇麻灵酮1%,蛇味酮20%,总树脂34%。啤酒生产中产生的酒花糟,对一个中型厂来说,每年约有几百吨的数量。

麦根的主要成分为:含氮物质24.4%、无氮浸出物42.2%、粗纤维14.2%。麦根内还含有多种酶类,主要是磷酸酯酶。麦根的数量约占大麦原料投入量的3%左右。

啤酒废水含有酒糟、酵母、废啤酒液、麦汁等,成分相当复杂。各工艺排放的废水特性不同,糖化麦糟水的固形物含量高,是高浓度的有机废水。

活性污泥粗蛋白含量46%左右,高于三级鱼粉。污水处理产生的污泥量约占污水量的0.3%-0.5%(体积),故污泥量较大。

2 啤酒废酵母在饲料工业中的应用

2.1 直接作为鱼虾饵料

啤酒酵母是单细胞微生物,废酵母中除有活体酵母菌外,还包括自溶的酵母和死亡的酵母细胞,在水生生态系统物质循环中,活体酵母成为鱼虾类的适口饵料;自溶及死亡细胞类似于水体中的有机碎屑,滤食性鱼类和甲壳类均能直接摄食。其次,含水分高的酵母泥可以直接作为颗粒饲料配制中部分原料。亦可将湿酵母泥制成干燥酵母粉,作为配制颗粒饲料中的蛋白源,代替常用作提高鱼用饲料蛋白质水平的鱼粉或鱼油^[2]。另外,废酵母也可和啤酒生产中排除的其它废渣,如麦糟、硅藻土滤泥、碎麦粒、麦芽根及污泥等混合制成不同养殖对象所需的颗粒饲料。

2.2 开发营养型发酵饲料

通常作为饲料的啤酒干酵母粉,是利用啤酒酿造

郭雪霞,农业部规划设计研究院,100026,北京市朝阳区麦子店街41号901室。

张慧媛,单位及通讯地址同第一作者。

来创业,沧州市产品质量监督检验所。

孙学华,河北师范大学汇华学院。

收稿日期:2007-08-20

过程中排出的废酵母泥经脱水干燥而成。然而,酵母泥的脱水干燥工艺设备投资大、耗能大、成本高,酵母作为副产品数量又有限,缺乏规模生产的效益。为了充分发挥啤酒酵母的饲料营养功能,国家海洋局第三海洋研究所开发研究利用啤酒厂废酵母泥作菌种,培养为菌母,以廉价的谷糠为原料,采用固体发酵工艺,开发营养型的发酵饲料^[9]。

成品发酵饲料的粉状成品呈浅桔黄色,有浓郁的啤酒酵母香味,粗蛋白平均含量 23.2%、水分 10.5%、粗脂肪 6.7%、粗纤维 10.6%、灰分 8.4%,富含氨基酸、B 族维生素和矿物质,且干燥后的发酵饲料成品不反潮、不吸湿、抗霉变能力强、保存期较长。

2.3 生产酵母精

酵母精又名酵母抽提物,它是利用啤酒厂的废弃酵母采用酸法、碱法或自溶法处理而得到的一种食品营养添加剂^[9]。该产品中含有蛋白质、18 种氨基酸,尤以赖氨酸的含量最丰富,还含有丰富的 B 族维生素、矿物质、核苷酸、有机酸和糖,具有调味、强化营养、抗衰老、抗氧化作用。酵母精可用于食品工业、饲料工业,可直接作为调味品,也可添加在方便食品、肉制品、水产品中,还可直接作为饲料蛋白。投入含水 85% 左右的酵母泥 1 800 t,可产出氨基酸态氮含量为 1.5 g/100 ml 的液态酵母精 300 t。

2.4 饲料添加剂

我国科研单位利用啤酒糟采用多菌株深层液混合培养和固体发酵法相结合的新生产工艺,成功开发出饲料酵母添加剂。分析结果得知,其蛋白含量为 50% 以上,氨基酸组成和含量与进口鱼粉相当,各种微量元素含量比较理想,并检测酵母细胞总数为 4×10^8 个/g,活细胞数占细胞总数的 10%。并含有激素、胆碱等,可明显促进动物的消化吸收、生长及繁殖,提高动物成活率、产蛋率及生产率,是优质饲料蛋白源,而产品价格远远低于进口鱼粉。是饲料加工业、养殖业降低成本提高经济效益比较理想的饲料添加剂^[4]。

2.5 颗粒混合饲料

国内已有啤酒厂把啤酒生产过程中的固体废弃物,主要是废啤酒酵母,还包括麦粒、麦根、废过滤硅藻土等一起收集。干原料进行粉碎,湿原料干燥后进行粉碎,然后根据一定的配比,混合搅拌均匀,再加入一些粘结剂挤压成型,制成颗粒混合饲料。这种方式,对啤酒厂废弃固形物进行综合治理和利用,不仅减少环境污染、变废为宝,并且有可观的经济效益。一个年产 12 万吨啤酒、1.6 万吨麦芽的啤酒厂,每年可制成

800 t 混合饲料,获利润 500 万元以上^[4]。

3 啤酒糟在饲料工业中的应用

3.1 直接用作传统饲料

据统计,每投 100 kg 原料,约产湿麦糟 120~130 kg(含水分 75%~80%),以干物质计为 25~33 kg。湿麦糟的成分见表 1。

表 1 湿麦糟的成分(%)

成分	水分	粗蛋白	可消化蛋白	脂肪	可溶解非氮物	粗纤维	灰分
含量	75-80	5	3.5	2	10	5	1

由表 1 可以看出,麦糟营养价值比较高,作为饲料是比较理想的。据有关资料介绍,根据牛、羊、鸡、鱼等动物生理结构具有分解和利用纤维素的功能,用啤酒糟做饲料,不仅可以提高食欲、增加体重、提高产蛋率,而且肉质鲜嫩味美。日本大阪市的田金公司就是以提供这种牛肉而闻名的,他们在啤酒糟内加入部分乳酸菌,发酵后成为牛的“上等食品”,吃了这种饲料,牛就可以长出脂肪均匀的“五花上等肉”。日本札幌企业公司在进行啤酒糟喂牛试验中,发现酒糟还可促进牛乳的分泌。用酒糟饲养不同类型的牛,可长出肉质接近的牛肉。若将从麦汁回收的沉淀蛋白和废酵母掺入麦糟中,则营养价值更高^[4]。

3.2 啤酒糟干粉饲料

啤酒糟干粉又称啤酒糟粕,是将啤酒糟经脱水、干燥、粉碎后所得的产品。其蛋白质含量高达 22%~29%,有丰富的氨基酸和残糖,是饲料工业理想的蛋白质资源。表 2 所示为啤酒糟干粉与其它常用饲料工业原料的养分比较。从表 2 中可见,啤酒糟干粉作为一种饲料原料其综合营养价值在小麦麸、米糠饼之上。作为一种蛋白质含量较高的原料,啤酒糟在现今饲料原料的市场上,有着相当的经济价值。

表 2 啤酒糟干粉与其它常用饲料工业原料的养分比较(%)

项目	水分	粗蛋白	粗纤维	粗脂肪	灰分	无氮浸出物
啤酒糟	8	25.2	16.1	6.9	3.8	40.0
玉米	11.6	8.6	2.0	3.5	1.4	72.9
小麦麸	11.4	14.4	9.2	3.7	5.1	56.2
豆饼	9.4	13.0	5.7	5.4	5.9	30.6
米糠饼	9.3	15.2	8.9	7.3	10.0	49.3
大麦	11.2	10.8	4.7	2.0	3.2	68.1

啤酒糟干粉在国际饲料行业应用较为广泛,据世界粮农组织(FAO)的资料,啤酒糟干粉已大量用于家畜、水产等养殖业的全价饲料中,饲养效果较为理想,它不但可使动物的生长速度加快,而且可以改善动物体内尿素的利用率,防止瘤胃不全角化、肝脓疡及消

化障碍^[6]。

3.3 微生物发酵啤酒糟生产饲料

啤酒糟可以利用微生物或理化方法进行处理。近年来运用理化方法处理的酒糟废液仍含有大量的有机物, COD 值在 1 500 mg/l 左右, 若直接排放, 将对环境产生严重影响^[7]。利用啤酒糟为基本原材料进行混合菌种发酵, 可得到菌体蛋白饲料。这样不仅可以变废为宝、减少污染, 而且可以将原本作为粗饲料添加的啤酒糟变为精料, 即高营养含量添加剂, 饲喂效果也比较理想。目前用于生产菌体蛋白的微生物主要有曲霉菌、根霉菌、假丝酵母、乳酸杆菌、乳酸链球菌、枯草杆菌、赖氨酸产生菌、拟内胞霉、白地霉等, 选育出用于啤酒糟的菌种有酵母菌、放线菌、霉菌、担子真菌等。相比而言, 采用微生物发酵的方法, 既可防止污染, 又能最大程度地利用资源, 生产条件也比较简单。啤酒糟经过微生物发酵作为饲料与直接干燥作为饲料相比, 其中的蛋白质含量由 8.8% 提高到 19.5%~25.8%, 能量值从原来的 10 504 kJ/kg 提高到 17 786 kJ/kg, 动物消化率为 55%~66%。另外, 混合菌发酵的效果更明显, 在不添加其它辅料的条件下, 可将啤酒糟中的粗蛋白提高到 35%, 其中真蛋白提高 11%, 粗纤维降低 2.05%, 氨基酸占粗蛋白的 94.1%^[7-9]。

发酵后饲料中含有丰富的维生素, 多种微生物酶、生物活性物质及生长调节剂, 蛋白质含量高, 动物容易吸收, 营养平衡, 解决了目前配合饲料中营养水平低、吸收效率低的问题。利用啤酒糟作为原料载体, 采用多菌种混合固态发酵的技术, 生产成本大大降低, 是适合中国生产高蛋白菌体饲料的有效途径, 同时也给众多酒厂啤酒糟的综合利用、提高啤酒糟饲料的质量开辟了一条新路。

3.4 生产粗酶制剂

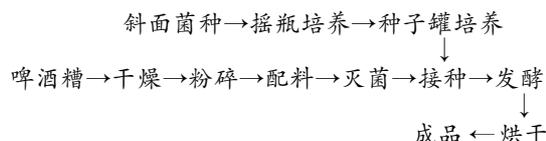
酶制剂是继单细胞蛋白饲料、活性饲料酵母之后的又一种微生物制剂。啤酒糟是培养微生物的优质原料, 以选择获得的高产蛋白菌株和里氏木霉为菌种, 啤酒糟为主要原料, 通过添加适当辅料为培养基, 采用三级培养固体浅层发酵生产的酶制剂, 经固态发酵后基质中蛋白质含量达 41.8% (干物质基础)、纤维素酶活性达 12 483 U/g。利用啤酒糟为原料, 改进固体发酵, 生产低成本饲用酶制剂^[10]。

3.5 生产啤酒糟菌体蛋白饲料

菌体蛋白饲料^[11]是利用微生物技术, 用原料中的碳水化合物和无机氮转化成的高蛋白饲料, 在蛋白质增加的同时, 还会产生如酶、维生素、氨基酸、协同因

子等活性成分。啤酒糟菌体蛋白饲料包括啤酒糟单细胞蛋白饲料 (SCP)、啤酒糟发酵饲料、啤酒糟饲料酵母和用啤酒糟生产的多维多酶高蛋白饲料等, 其共同特点是蛋白质含量大大提高, 可达 30%~60%, 富含生物活性物质, 粗纤维含量降低, 消化利用率大幅度提高。湖南益阳微生物所开发的啤酒糟 SCP 饲料含 CP 50% 以上, CF 降解率 30% 以上, 富含 18 种氨基酸, 氨基酸总量占蛋白总量的 90% 以上, 鸡、猪的饲喂试验表明, 可取代 50%~80% 的鱼粉。多年来, 这方面的研究一直是我国的科技攻关项目, 并取得了较大进展。啤酒糟菌体蛋白饲料的开发, 是缓解我国蛋白质资源短缺, 实现啤酒糟增值的重要途径。生产中, 啤酒糟菌体蛋白饲料可全部或部分代替日粮饼粕和鱼粉, 是理想的优质蛋白质饲料。

目前国内用于生产菌体蛋白饲料的微生物主要有: 根霉菌、曲霉菌、酵母菌、乳酸杆菌、枯草杆菌等。工艺有液体深层发酵、固态发酵和多菌种混合发酵, 流程如下。



生产菌体蛋白饲料, 极大地增加了啤酒糟的利用附加值, 是啤酒糟资源开发的必然趋势。

4 麦根、废水、活性污泥在饲料工业中的应用

麦根可直接用来作饲料, 大量的麦根的最新利用途径是与废啤酒酵母、麦粒、废过滤硅藻土制成颗粒混合饲料。麦根为反刍动物的优良饲料来源, 肉牛、奶牛均可用, 奶牛饲料用量不宜超过 20%, 否则牛奶可能会有苦味。

啤酒废水处理最近采用优化工艺组合, 各工艺排放的废水分别处理, 糖化麦糟水中固体悬浮物用滚筒过滤器分离出来加工成饲料。过滤后的一部分糖化麦糟水可用来培养单细胞蛋白。

在活性污泥利用方面, 中国渔业机械仪器研究所将活性污泥用作蛋白添加剂, 配以其它粉料, 再膨化成浮性颗粒, 作为饲料, 其营养成分比国内常见的饲料还要高。武汉城市建设学院成功研究出以活性污泥为主要原料, 加少量的啤酒生产单细胞蛋白的方法^[1]。

5 结语

利用啤酒工业中的副产物 (啤酒糟、废酵母、酒花糟、麦芽根) 开发各种生物活性物质, 如膳食纤维、低

产业化养猪是河北省 现代化养猪业发展的必由之路

王银钱 张青艳 刘文科 李会庆 李旭霞 葛娜

随着养猪业的迅速发展,传统的千家万户分散饲养方式已不适应商品市场的要求,规模化养猪已逐步在农村兴起,饲养规模在不断扩大。但是,目前我国农村养猪散养仍占主导地位,产品规格不一,质量控制难度大,加上品种杂乱,饲养规模小、技术水平低,生产的猪肉产品质量没有竞争优势,难以适应市场的变化。随着经济的全球化,国外猪肉产品不断涌入国内,对国内养猪业将造成很大的冲击。为了与国际市场接轨,必须尽快提高我国养猪生产和猪群的健康水平,使猪肉产品上档次,实行标准化生产,以商品生产为目的,要求良种化、饲养标准化、管理科学化、产业化为特征,生产出规格统一、质量稳定的产品。这样才能使我们的产品打开市场,走出国门,参与国际市场竞

争,因此,产业化养猪已成为河北省养猪业发展的必由之路。

1 分散养猪存在的问题

分散养猪虽然在一定时期解决了农村剩余劳动力问题,在当时具有一定的先进性,但是现阶段却存在很多自身不能解决的问题,具体体现在以下几个方面。

1.1 全省散养户所占比例大,对养猪市场影响很大。全省散养猪户占70%,养殖档次低,人员配置不合理,养殖设施重复建设,造成极大浪费,不能定期进行疾病预测监测,饲料价格不稳定,质量得不到保障,达不到畜产品安全的要求。

1.2 兽药残留和违禁兽药的使用造成猪肉品质下降,严重危害到行业的健康发展。部分猪场为了片面追求利润,从促生长、控制疾病和提高瘦肉率的目的出发,超量或违禁使用药物添加剂,造成猪肉中有害物质的残留,直接危害人类健康。

1.3 排泄物对周围环境污染严重。据统计资料显示,1万头商品猪每天排出污水在100~150 t,猪粪10 t左右。此外还有臭气,它对周围的环境污染很大,不能得

王银钱,河北省畜牧站,高级兽医师,050031,河北省石家庄市翟营南大街385号。

张青艳,河北省畜牧良种工作站。

刘文科、李会庆、李旭霞、葛娜,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-08-20

聚糖、生物药品、酶制剂、活性肽等,已成为目前国内外对啤酒糟资源化研究的主要方向。这样既可生产出高科技产品,同时也可防止三废污染,从而明显提高了经济效益和环境效益。但以啤酒糟为原料进行微生物发酵,其工艺流程、菌种筛选和组合、工艺参数、产物营养价值评定及产物的负影响研究较多,众说纷纭,如何实现规范化、程序化有待进一步研究。

啤酒副产品的回收利用对于促进中国啤酒工业的健康发展、减少环境污染、增加社会效益和经济效益及丰富人民群众的生活都有很大的意义。随着自然资源紧缺,市场需求增加和新型生物技术的应用,啤酒副产品的应用将有更大的市场前景。

参考文献

- 1 邹连生.啤酒副产品及废弃物的开发利用[J].四川食品与发酵,1999(3):21-24
- 2 李洪亮,田野.浅谈啤酒废酵母的综合利用[J].酿酒科技,2006(2):

39-41

- 3 高路.啤酒副产物在饲料工业中的应用[J].啤酒科技,2004(12):30-31
- 4 耿文君,耿曙光.利用啤酒糟生产饲料酵母[J].酿酒,1996(1):28
- 5 诸镇祺.啤酒酵母的开发利用[J].酿酒,1996(6):7-9
- 6 高路.小议啤酒副产物综合利用[J].酿酒,2001(5):50-51
- 7 P. Ucfen. Recovery of insoluble fibre fractions by filtration and centrifugation[J].Animal Feed Science and Technology,2006(129):316
- 8 Klosowski G, Czupryn ski B, et al. Stielwanowicz B Monitoring of sugar substrates utilization by D-2 and As-4 yeasts and kinetics of by-products formation during alcoholic fermentation of rye and corn mashes[J].Poland Journal of Food and Nutrition Science,2001(2):19
- 9 Grzegorz Klosowski, Boguslaw Czupryri ski. Kinetics of acetals and esters formation during alcoholic fermentation of various starchy raw materials with application of yeasts *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Journal of Food Engineering,2006,72:242
- 10 高路.酒糟的综合利用[J].酿酒科技,2004,26(5):101
- 11 孙小琴.啤酒糟饲料的加工与利用[J].粮食与饲料工业,2000(5):20-21

(编辑:崔成德, cuicengde@tom.com)

到有效的控制。

2 产业化生产的优点

2.1 饲养模式

饲养模式可采用“协会+加工屠宰企业+大型养猪企业+基地”、“协会+大型养猪企业+基地”、“大型养猪企业+基地+农户”、“加工屠宰企业+基地+农户”等多种形式,实行期货交易,统一管理、统一供仔猪、统一供料、统一防疫、统一收购、统一认定,这样既可以保证货源和质量,又可以提高农村养猪户的积极性,销售渠道畅通,将农户与企业的发展紧密联系在一起,形成一个风险共担、利益共享、优势互补、共同发展的科学化养殖模式。在此基础上统一制定发展目标,根据具体协议界定各自职能,双方各自利用自身的优势来共同经营,共同抵御来自集团内外部的各种风险,实现共赢和共同成长、共同发展的目的,解决好农户引猪难、防疫难、原料价格高、销路不畅等诸多困难,将引种、进料、防疫、销售组成一个统一的联合体。切记不可伤农,广大养猪户、企业与加工企业是鱼水关系,相互依存,正确处理好看养猪业(自动化)和猪肉深加工(分割手工劳动)的关系。以提高生产力为根本出发点,利用有利的自然条件,生产成本比较低的商品,通过国内外市场的交换,从而使成本较低的定量劳动通过交换获取较大的价值(比较价值)。有效地改进供给,就必须促进产业重组,这就是:饲料工业和食品工业重组(大重组);养殖业和加工业重组(中重组);运输业+仓储业+信息技术=现代物流(混合重组)。

2.2 人员配置

产业化养猪可使人员配置更趋合理化,实行分层次培训,各尽其责,学习和引进国外先进科学技术和方法,实现饲养品种优良化、饲料配方科学化、技术装备现代化、生产经营集约化;建立多层次的技术结构,采取自动化、半自动化、机械化、手工劳动相结合的方法;不断提高先进技术的比重,减少初级产品的份额。把科技的引进、开发、推广和生产结合起来,形成一个上下衔接,左右配合的技术网络。

2.3 疫病预防与控制优势

随着养猪业的快速发展,猪疾病的发生也呈多样化,疾病发生的种类越来越多,危害也越来越大。产业化养猪企业有能力加强对猪流行病的发生、传播机理的研究,并采取有效控制和防治措施,最大限度地减少疾病带来的经济损失。对猪疫病防治要更多地从分子水平上研究病原的演变和致病机理,并且能建立快

速准确的诊断、监测技术,研究和应用新型高效的灭活苗、基因工程苗,并将这些技术和产品推广到联合体内的散养户内,并能够制订养猪生产危害较大的疫病的防治和根除计划,严格控制人畜共患疾病的发生。同时实行肉制品安全生产的源头管制,保证猪在屠宰前不携带病原,实现猪肉产品的优质、安全生产。

2.4 服务及服务队伍建设

我国中小规模养猪业存在的根本问题是养猪业者(或农民)从“项目选择、原料购进、资源配置、良种引进、饲养管理、疫病防治、产品销售、组织协调”等各个环节都亲自承担主角,每一环节的错误或失误都可导致养猪生产亏损。加上知识结构的限制,传统养猪(场)户艰难地扮演着这一复杂的角色,使其在规模、质量、效率、效益上跟不上时代步伐。所以,产业升级必须通过相关措施将从业者(或农民)从这复杂链条中脱离出来,专门负责一个或简单几个环节生产,其它环节建设通过专业服务队伍来完成。产业化养猪业合作经济组织必须拥有专业服务和专业的服务队伍。从服务环节入手,能够健全合作经济组织的服务,搞好流动服务和定点服务。

2.5 饲料质量与价格优势

在生猪养殖成本中,饲料所占比重为75%~85%,国内测算养殖户盈利的传统方法是用猪粮比价(毛猪价格/玉米价格)。当系数大于5.5时,养户就盈利,否则就亏本。一般经验表明,能量原料(玉米)价格变动要小于蛋白原料(豆粕)。为此我们建议将猪粮比价改为猪料比价更为准确。国内饲料生产者猪料毛利率平均为5%~10%,饲料经销商却高达15%~25%,养殖户实际上承受了高利贷,而不是合理的利润。产业化养猪经济合作组织能够保证饲料质量和价格稳定,并且比市场价格略低,使本联合体内每一成员都能享受这种待遇,利润更加合理。

2.6 疫病监测便利

产业化经济联合体(企业)拥有大量先进的仪器和优秀的兽医技术人员,能够定期对本合作组织内每一成员单位内的猪只准确的进行疫病监测,并能够在短时间内制定出防控方案,利用最有效的兽药进行疫病控制,将损失减少到最小。

2.7 质量安全监控

2.7.1 今后,我省养猪业要朝着安全、优质、高产、高效、生态的目标和方向发展;养猪生产方式将以适度规模化为主体,生产技术的应用不是某一单项技术,

而是多项关键技术集成和综合配套来提高养猪业整体水平和效益,生物技术、信息技术和系统工程技术必将在养猪业中发挥越来越大的作用。

2.7.2 通过网络的追溯制度,生猪质量安全溯源系统即是在猪业合作经济组织完善的配套服务和监督下,保证每一头生猪从出生到最后销售出去都具备完整真实的“生活经历”档案资料,根据这些档案资料可以追踪各环节的质量管理源头。生猪质量安全溯源系统建设的目标是同时达到产地追溯制度、检疫追溯制度。建立一套完整的标准体系,贯穿于饲料生产、养猪生产、加工、流通的所有过程,即从饲料厂、养猪场、肉类加工厂、销售商一直到普通百姓的餐桌严格标准化。每个环节都要有食品安全和质量保证的标准,每个环节都可查寻,包括包装与运输,对饲料、添加剂等必须建立严格的检测制度,保证投入品在猪肉中的残留符合安全标准。

2.7.3 有一套完备的推行产品标准化的保障体系。由政府颁布一系列的法规和政策,保证产品的生产和加工在有序安全的环境中进行,有一定的奖罚措施。

2.7.4 实行“档案农业”。对原料、饲料、预混料、添加剂、猪种、饲养过程、屠宰、加工、运输等全过程有准确的记录,建立一套完整的档案。一旦发现不安全的因素,以最快的速度解决问题。

2.7.5 以优质猪肉参与国际市场的竞争,“安全肉”的生产仅仅解决猪肉中的有毒有害物质的残留问题,但不能解决猪肉色淡、味差等品质问题。为了参与国际市场竞争,还必须充分利用我省地方猪种资源进行“优质猪肉”的生产。目前,还没有“优质猪肉”的国家或行业标准。

2.7.6 目前我国生猪质量安全控制的关键在生产环节,可以通过对猪业合作经济组织来加强对中小型场户生产的关键点控制。从猪业合作经济组织发展来看,生猪质量安全溯源系统建设的目标就是整合资源,发掘潜力,促进合作经济组织生猪质量安全达到标准,适应国内外市场需要。从猪业发展看,生猪质量安全溯源系统建设的目标就是通过合作组织质量溯源体系的建设逐步发展到区域性生猪质量安全体系的建设,最后建立起适应我国养猪特点的生猪质量安全溯源认证体系,规范和加强我国猪业质量安全管理,以满足国内及国际市场对优质、安全猪肉产品的需求。

2.8 环保优势

集约化规模养猪是生产力发展到一定程度之后

的必然趋势。今后我省集约化养猪发展与对周围环境的污染是急需解决的重要问题。最近,胡锦涛总书记在中央人口资源环境工作座谈会上讲话强调,“加强畜禽养殖污染防治,合理施用化肥、农药,发展生态农业,整治农村环境,切实解决农业和农村面临污染问题”。环境污染已成为制约畜牧业可持续发展的重要因素,要想达到可持续发展,必须走生态养猪之路。这就需要加强环保型的猪舍设施、设备的研制开发,加强高效节能的粪污处理、净化技术研究,执行《畜禽养殖业污染物排放标准》(GB—18596—2001),减少环境污染,研究并建立适合我省发展的现代化农业、养猪业,新的猪-农良性生态循环模式。最典型的就是以沼气为纽带的各种模式,如“猪-沼-果”、“猪-沼-菜”、“猪-沼-粮”、“猪-沼-渔”等。这些是散养户和小型养猪企业根本办不到的。只有通过产业化联合组织,国家、企业、成员单位共同参与,才能够解决这一难题。

2.9 政府在产业化中的职能定位

虽然市场机制是组织生产和配置资源的方法,但是有时“市场失灵”会导致不良的经济后果,政府就应该介入市场,以纠正这些缺陷。现代经济中政府职能在于保证效率、纠正不公平的收入分配和促进经济的增长与稳定。当存在不完全竞争和外部性时(当企业的活动使市场以外的其他人付出代价或赠与利益而不能得到补偿时,就产生了外部性),市场不能提供有效率的资源配置,政府就应该干预,如垄断导致较高的价格和较低的产量水平。尤其是生猪生产,它涉及到千家万户,还涉及到环保、疫病控制、土地资源等问题,必须由政府按市场经济的规律来进行组织、指导、控制和协调。所以政府职能的重新定位在生猪产业化中显得十分重要。要求政府按照市场经济的要求,解决好收费和服务的关系,协调好四种关系,即:政府-农户-企业-社会。同时建立一个强大的监督体系。包括政府、媒体以及中介组织定期在媒体上发布监测报告,对不合格产品进行曝光和惩罚。

3 小结

今后我省养猪要以市场为导向,以科技为动力,以效益为中心,立足国内市场,走进国际市场,调整结构,培植特色产品,形成主导产业,建立生产基地,积极发展养猪大户,扶持壮大龙头企业,逐步完成传统养猪业向现代养猪业转变,为京津和周边省市及国际上提供更优质安全的猪肉及其加工产品。

(编辑:崔成德, cuiengde@tom.com)