

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(光盘版)》
 全文收录期刊

2008 年第 29 卷第 4 期
 (总第 313 期)
 (1980 年创刊)

主管单位:
 辽宁省经济委员会
 主办单位:
 辽宁省农牧业机械研究所
 编辑出版:饲料工业杂志社
 地址:沈阳市金沙江街 16 号 6 门
 邮编:110036
 电话:总编室(024)86391923
 编辑一室(024)86391926(传真)
 编辑二室(024)86391925(传真)
 网络发行部(024)86391237
 投稿邮箱:tg@feedindustry.com.cn
 网 站:www.feedindustry.com.cn
 总 编 辑:陈广鹏
 副总编辑:沈桂宇 崔成德
 责任编辑:徐世良
 广告全权代理:沈阳同兴广告有限责任公司
 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:slgyggb@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
 国际标准连续出版物号:ISSN1001-991X
 邮发代号:8—163
 发 行 范 围:国内外发行
 广告许可证:辽工商广字 01-82 号
 开户行:中信银行沈阳分行皇姑支行
 帐 号:72214101826000548-49
 每期定价:6.00 元

如需转载本刊文章及图片,请注明
 摘自《饲料工业》杂志,并寄样刊。

饲 料

SILIAO GONGYE

目 次

饲料添加剂

- 1 绿色功能性饲料添加剂——异麦芽低聚糖
 王怀蓬 乌日娜 孙镇平等
- 4 酵母类饲料在畜牧业中的应用
 冯佳时 王清声 廖冰麟等
- 7 细菌素的研究与应用 张建飞 李巧贤

酶 制 剂

- 9 在玉米—豆粕型日粮中添加 α -半乳糖苷酶对生长猪生产性能
 的影响 许尧兴 许少春 李艳丽等
- 11 角蛋白酶在饲料行业的应用
 李 静 井 婧 李绍钰
- 14 外源纤维复合酶对绵羊瘤胃代谢的影响
 杨永明 卢德勋 赵秀英

水产养殖

- 16 日粮中添加不同形式赖氨酸对南美白对虾生长及肌肉成分
 影响的研究 朱 选 曹俊明 蓝汉冰等
- 19 多糖类免疫增强剂对海参肠道菌群的影响
 汪婷婷 孙永欣 徐永平等
- 21 方斑东风螺营养特征及促生长剂对其的影响
 王冬梅 李春强 刘志昕等

试 验 研 究

- 24 微量元素添加剂烘干温度试验研究
 邓援超 赖晓桦 舒莲梅
- 26 不同饲料铜源体外溶解度的研究
 刘 强 董宽虎 王 聪等
- 28 布拉酵母菌活菌制剂制备方法的比较研究
 楚 杰 张大伟 郝永任等

农业

(半月刊)

企业标识展示



正昌人才工程
(0519)7309867



通威集团
(028)85188888



江苏牧羊
(0514)7848811



辽宁北方
(0412)3343018
(024)88080922



布勒(常州)
(0519)7966666



江苏良友
(0519)88309988



唐山金鼎自控
(0)13603373412



裕达机械
(0519)87906658



新泰友邦机械
(0538)7427566



杭州康德权
(0571)86433111



诸城恒基机械
(0536)6358822



上海蓝普
(021)64197116



山东迎春钢板仓
(0546)8057585



上海彼福艾
(021)57687881



康地恩生物
(0532)88966607



广州立达尔
(020)87636309

营养研究

- 31 营养基因组学研究及其在动物营养中的应用前景
..... 李宗付 张天伟 邓雪娟
- 34 鱼类营养性脂肪肝的研究进展
..... 王菊花 薛敏 丁建中等
- 38 钙蛋白酶抑制蛋白对猪肉品质的影响
..... 李方方 张勇 王红艳

饲养试验

- 41 纳米氧化锌对断奶仔猪血液指标及表观性状的影响研究
..... 喻兵权 张宏福 陆伟等
- 45 在降低代谢能日粮中添加微生态制剂对肉鸡生产性能的影响
..... 王允超 岳寿松 彭虹旒等

检测技术

- 47 高效液相色谱-四极杆质谱联用测定饲料中三聚氰胺含量
..... 赖碧清 郑晓航 韩银涛
- 49 酶联免疫法检测饲料中莱克多巴胺的探讨
..... 贾涛 魏秀莲 王有月

专题论述

- 52 霉菌毒素及其作用机理 徐运杰 方热军

问题探讨

- 58 鱼类体色的色素评价及人工调控
..... 张晓红 吴锐全 王海英等

业界访谈

- 62 专访奥特奇公司总裁 Lyons 博士 本刊记者:高雁

信息采集

- 57 辨别饲料真伪只看“指纹”信息
- 64 第一个水产疫苗与中试基地通过认证等

绿色功能性饲料添加剂——异麦芽低聚糖

王怀蓬 乌日娜 孙镇平 范艳平 田树清 颜怀宇

抗生素作为饲料添加剂对饲料工业及畜牧业的发展做出了不可磨灭的贡献,但随着科学认识的深入,人们发现,抗生素的使用可引起动物内源性感染或二重感染、耐药菌株的产生、畜禽的细胞免疫和体液免疫功能下降以及在畜禽产品中的残留等问题。活菌制剂虽然能克服抗生素的上述缺陷,但实际应用后,人们发现它也有许多极难克服的缺点,如活菌制剂多为厌氧菌、发酵生产难度很大、产品质量标准难以统一、品质行业管理几乎无法进行;储运和加工过程中氧气、高温等条件均使其大量失活;制作配方时存在着与抗生素类的配伍禁忌;胃酸对它有失活作用以及在动物肠道内定植能力不强等。而异麦芽低聚糖能克服两者的不足,它既能替代抗生素,生产无药物残留的功能性畜产品,又能降低饲料成本;制作配方时无配伍禁忌;

能耐受氧气、高温等所有饲料极端加工条件,不仅用于粉料生产而且也可用于生产颗粒料、膨化料;能耐胃酸的作用;通过促进肠道有益菌的生长繁殖,克服了外源性活菌制剂肠道定植能力不强的缺陷。因此异麦芽低聚糖是一种有望代替抗生素和活菌制剂的新型绿色功能性饲料添加剂。

1 异麦芽低聚糖的理化特征

1.1 化学结构

异麦芽低聚糖(Isomalto-oligosaccharides, IMO)又称异麦芽寡糖、低聚异麦芽糖、分支低聚糖。它是由两个或两个以上葡萄糖通过 α -1,6糖苷键结合而形成的,其有效成分为异麦芽糖、潘糖、异麦芽三糖等,结构见图1。

1.2 理化性质

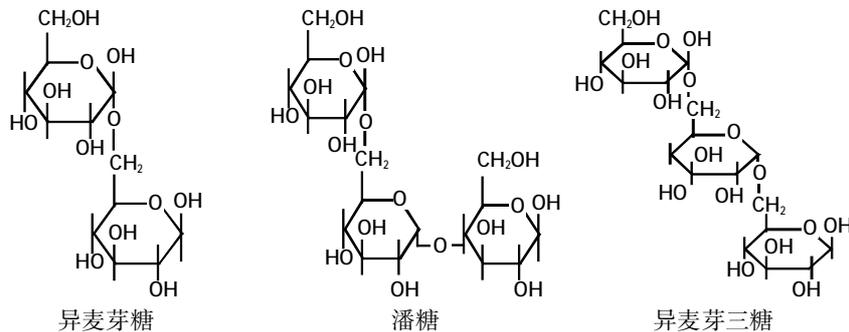


图1 异麦芽低聚糖有效成分结构

1.2.1 甜度

异麦芽低聚糖 IMO-500(含异麦芽糖 50%)甜度为 52,异麦芽低聚糖 IMO-900(含异麦芽糖 89%~90%)甜度为 42。甜度低的异麦芽低聚糖替代部分蔗糖可以降低食物甜度,改善味感。

1.2.2 粘度

异麦芽低聚糖浆与相同浓度蔗糖溶液粘度接近,

对食品和饲料的组织与物理性质无不良影响。

1.2.3 耐热性、耐酸性

异麦芽低聚糖耐热、耐酸性极佳,浓度 50%的糖浆在 pH 值为 3、温度 120 °C 下长时间加热不会分解。

1.2.4 保湿性和防淀粉老化

异麦芽低聚糖对各种食品的保湿和维持品质的效果好,能抑制蔗糖与葡萄糖结晶的形成,添加异麦芽低聚糖糖浆还能防止淀粉老化,可延长食品的保存期。

1.2.5 着色性

异麦芽低聚糖所含糖分子末端为还原基团,与蛋白质或氨基酸共热会发生美拉德反应而产生褐变,着色程度与糖浓度有关,并与共热的蛋白质或氨基酸种类、pH 值、加热温度及时间长短有关。

1.2.6 水分活度

王怀蓬,扬州大学动物科技学院,225009,江苏省扬州市扬州大学文汇路校区 30191 信箱。

乌日娜、范艳平、田树清、颜怀宇,单位及通讯地址同第一作者。

孙镇平(通讯作者),扬州大学兽医学院。

收稿日期:2007-12-24

当浓度为 75%、温度为 25 ℃时,异麦芽低聚糖水分活度为 0.75,与蔗糖非常接近。

1.2.7 发酵性

异麦芽低聚糖不被酵母及乳酸菌所利用,在面包、发酵乳中不会被酵母、乳酸菌所利用而残留在食品中发挥其各种生理功能和特性,同时可促进发酵乳中双歧杆菌的发育。

1.2.8 抗龋齿性

异麦芽低聚糖不易被蛀牙病原菌变异链球菌发酵,所以产酸少,不易腐蚀牙齿,它与蔗糖并用时,也能阻碍蔗糖被变异链球菌作用而产生水不溶性的高分子葡聚糖,抑制了蔗糖的龋齿性。

1.2.9 安全性

异麦芽低聚糖的最大安全量为每千克体重 2 g,老鼠经口投与急性毒性 LD₅₀ 为每千克体重 44 g 以上,与蔗糖每千克体重 29.8 g 和麦芽糖每千克体重 26.7 g 相比,它的安全性更高。饮水中添加此糖粉,1 年内由老鼠自由摄取(日摄入量为每千克体重 2.7~5.0 g),解剖结果与血液检查无任何异常现象。细菌回归变异试验及培养细胞染色体异常试验无任何变异原性。

1.3 异麦芽低聚糖的作用机理

1.3.1 促进营养物质的合成和吸收

异麦芽低聚糖能促进营养物质的合成和吸收,这一功能的发挥主要是通过促进双歧杆菌增殖来实现的。大量试验证明,双歧杆菌能促进氨基酸、VB₁、VB₂、VB₆、VK、尼克酸、叶酸等的合成,并能促进氨基酸、Ca²⁺、Mg²⁺、Fe²⁺等营养物质的吸收,因此动物食入异麦芽低聚糖后也有此效果。

1.3.2 调节机体的免疫系统

异麦芽低聚糖调节动物机体免疫系统主要通过 3 个途径来实现。

① 通过促进双歧杆菌的增殖来增强机体的免疫功能。异麦芽低聚糖能促进双歧杆菌的增殖,而双歧杆菌能促进 B 淋巴细胞的分裂生长和抗体的产生,诱导多种具有免疫活性的物质如白细胞介素、干扰素等的 mRNA 的表达,增强巨噬细胞的吞噬活性。

② 作为免疫佐剂和抗原,增强机体的免疫功能。异麦芽低聚糖能与一定的毒素、病毒结合,结合后作为这些抗原的佐剂,能减缓抗原的吸收,增加抗原的效价。另外,异麦芽低聚糖还具有抗原作用,可以引起直接的抗体应答。

③ 激活机体的体液免疫和细胞免疫系统,增强机体的免疫功能。Spring(1998)报道,异麦芽低聚糖能提高动物肠和血清中免疫球蛋白的浓度和 B 淋巴细胞的数目、增加细胞因子的释放、提高白细胞介素的浓度、增强

干扰素的活性,因而能提高动物体的体液免疫和细胞免疫功能。

1.3.3 调节消化道微生物区系,促进健康菌系的形成

由于异麦芽低聚糖单糖分子之间以 α -1,6 糖苷键结合,而动物消化道分泌的糖类水解酶只能水解 α -1,4 糖苷键,因此,异麦芽低聚糖以未降解的形式进入后段肠道并被其中的微生物利用。但不同菌种对异麦芽低聚糖的利用情况不同,有益菌尤其是双歧杆菌能够以异麦芽低聚糖为营养基质进行大量增殖,而大肠杆菌、沙门氏菌等有害菌则不能利用;此外,双歧杆菌等利用异麦芽低聚糖后产生乳酸等酸性物质,使得肠道 pH 值下降,大肠杆菌等有害菌的生长繁殖因而受到抑制,使得动物肠道内的健康菌系得以形成。

1.3.4 结合吸附肠道病原菌

近几十年的研究表明,细菌细胞壁表面蛋白与肠粘膜上皮细胞表面糖脂或糖蛋白的糖残基的结合促进了细菌在肠壁上的定植和繁殖,从而导致疾病的发生。当肠道内存在一定量的异麦芽低聚糖时,它便与细菌结合,从而减少了细菌与肠粘膜上皮细胞结合的机会,阻碍了细菌在肠壁的生长繁殖。有时异麦芽低聚糖甚至可以将已与细菌结合的肠粘膜上皮细胞的糖基部分置换下来而起到置换肠道病原菌的作用。

2 异麦芽低聚糖的生产

2.1 利用糖化酶(glucomylase)的逆合作用

在异麦芽低聚糖的功能特性被发现之前,此类糖一直被视作是葡萄糖生产中的不利物质,因为异麦芽低聚糖的存在会干扰葡萄糖的结晶,从而影响葡萄糖的回收率并降低葡萄糖的可发酵性,故而人们采取种种措施来减少其生成量。有研究发现,糖化酶在高浓度的葡萄糖溶液中极易发生逆合作用,将葡萄糖合成为异麦芽糖、麦芽糖等低聚糖。Yasuda 等曾在其专利中报道,65%的葡萄糖溶液在 60 ℃、pH 值 4.5 的条件下加入 0.5%的糖化酶,反应 72 h 后,可获得异麦芽低聚糖含量为 34.2%左右的糖液。也有人尝试以固定化糖化酶来生产异麦芽糖。有关利用糖化酶(glucomylase)的逆合作用来产生异麦芽糖的专利已经有很多,但鉴于该方法所生产的异麦芽糖产率低,产物复杂,生产周期长等缺点而难以在工业上大量推广。

2.2 α -D-葡萄糖苷酶(α -D-glucosidase)的转苷作用

麦芽糖在 α -D-葡萄糖苷酶的作用下水解,生成 2 分子的葡萄糖;游离出的葡萄糖残基再被该酶转移到另一葡萄糖分子上,通过 α -1,6 糖苷键连接生成异麦芽糖(如图 2)。若受体为麦芽糖则生成潘糖。目前,日本几家主要的异麦芽糖生产厂家采用工艺路线如图 3 所示。

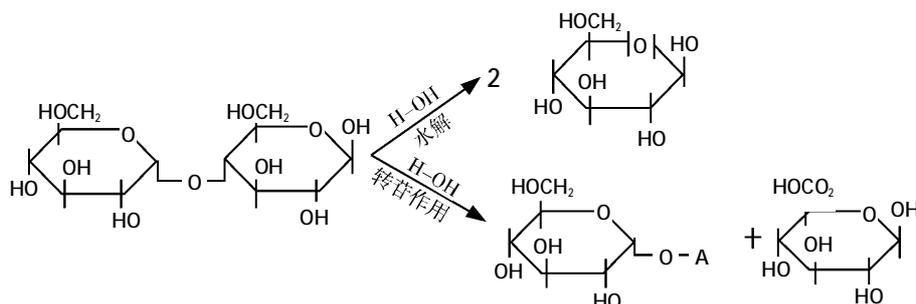


图2 α-D-葡萄糖苷酶的转苷反应



图3 异麦芽糖的生产工艺

3 异麦芽低聚糖的检测

常用的方法有纸层析、薄层色谱法、毛细管电泳法、高效液相色谱法。

3.1 薄层色谱法

以乙酸乙酯：甲醇：乙酸：水=12：3：2：2为展开剂,对混合标样进行二次展开,喷洒地衣酚显色剂显色,显色后用薄层色谱扫描仪扫描定量。

3.2 毛细管电泳法

应用高效毛细管区带电泳柱前衍生法测定食品中的功能性低聚糖(低聚异麦芽糖和低聚麦芽糖)。样品经稀释,去除蛋白,在甲醇溶液中与对氨基苯甲酸乙酯(ABEE)衍生后,于熔融石英毛细管中,以 80 mmol/l 硼砂缓冲溶液(pH 值 8.0)为缓冲体系,恒定柱温 25 ℃,在 30 kV 电压下 30 min 内得以完全分离。在紫外 300 nm 下检测,外标法定量。各组分在 31.25~1 000 μg/ml 的浓度范围内线性相关系数均达 0.998 以上,检出限可达 0.027~0.059 ng,相对标准偏差为 2.9%~5.0%,回收率为 100.4%~101.2%。

3.3 高效液相色谱法

以 Zorbax C18 为固定相,水为流动相,外标法进行定量分析,本法简便,分离效果好,适用于生产过程中的产品检测。

4 异麦芽低聚糖的应用

异麦芽低聚糖是由日本的光冈知足首先研究发现的,1982 年日本林源生化研究所将其开发成功,1985 年由昭和产业公司率先推入市场。目前,欧洲一些国家和地区正在大力研究和开发应用异麦芽低聚糖,国

内亦有异麦芽低聚糖的生产,但其在饲料工业中的应用尚处于研究阶段。异麦芽低聚糖最初作为一种健康糖原和食品添加剂广泛应用于食品工业,20 世纪 80 年代中后期,日本首先把它开发成饲料添加剂应用于饲料工业,90 年代中期,日本该产品的 1/3 都被用做饲料添加剂,且 40% 的猪饲料中都添加了此类物质。目前,异麦芽低聚糖正风靡欧洲一些国家和地区,但我国对本产品的应用起步较晚,目前还仅限于食品工业,在饲料工业中的应用还处于探索和研究阶段。

试验证明,用添加异麦芽低聚糖的饲料喂动物,可提高动物的生长速度,降低料肉比,防止腹泻,降低死亡率,缩短产仔母畜的发情周期,提高胎儿成活率;另外还能改善畜禽产品的品质,增加食用的安全性。在 35 日龄仔猪饲料中添加 0.1%~0.2% 的异麦芽低聚糖,结果日增重提高了 3%~4%,料肉比降低 3%~4% (Bolden,1993)。Tomeokamo(1990)用添加 0.25% 的异麦芽低聚糖饲料对 21 日龄仔猪进行试验,日增重提高了 7%,粪便中氨的含量有所下降。日本学者高户宗幸等(1991)在肉鸡饲料中添加 0.2% 的异麦芽低聚糖对 9 万羽肉鸡进行试验,结果育成率、平均体重和饲料报酬等得到改善,屠体分割后的平均腿肉、胸肉、胸脯嫩肉及可食部分提高,肠道内的细菌相得到改善,鸡肉的安全性提高,在效益上可增收节支。据 I.N.R.A(1992)报道,在犍牛精料中添加 0.15% 的异麦芽低聚糖,日增重可提高 20 g,饲料消耗降低 2%。

(参考文献 14 篇,刊略,需者可函索)

(编辑:沈桂宇,guiyush@126.com)

酵母类饲料在畜牧业中的应用

冯佳时 王清声 廖冰麟 晏向华

酵母菌是一种真核单细胞微生物,具有典型的细胞结构,有细胞壁、胞浆膜、细胞浆、细胞核及其它内含物等。大多数酵母菌是球形、卵形、椭圆形、腊肠形、圆筒形和胡瓜形,少数为瓶形、柠檬形和假丝状等,其细胞直径大约为细菌的10倍。酵母菌属于兼性厌氧微生物,在有氧和无氧状态下都能生存和繁衍,酵母菌一般以无性繁殖为主,只有在一定条件下才产生孢子^[1]。

1 主要酵母类饲料的分类

1.1 饲料酵母

饲料酵母也叫单细胞蛋白(Single Cell Protein, SCP)。它是从以碳水化合物(淀粉、糖蜜以及造纸、酿酒、味精等工业产生的高浓度有机废液)为主要原料,在适宜的温度环境和pH值范围培养一段时间,并最后从其发酵罐中分离出酵母菌,再经过干燥制成。饲料酵母蛋白含量可达50%~60%,主要为菌体蛋白,核酸为6%~12%,脂为2%~6%,灰分5%~10%,赖氨酸含量较高,蛋氨酸含量较少,含有丰富的B族维生素,还含有未知促生长因子^[2],营养价值较高,可以替代部分豆粕或鱼粉添加在畜禽饲料中,是一种很有开发前景的蛋白质饲料。

1.2 酵母培养物

酵母培养物(Yeast Culture, YC)是一种酵母培养的产品,是指经过严格控制条件的发酵后连同培养基一起加工制得的产品,其中的主要成分是培养基、酵母菌以及酵母菌的代谢产物。酵母培养物的蛋白质含量很少,不属于蛋白质饲料。它含有一种“未知生长因子”,用来调节动物肠道的微生态平衡,从而提高动物的生产性能,实际上是一种微生态制剂。

1.3 活性干酵母

活性干酵母不同于单细胞蛋白饲料酵母,它是作为一种益生菌应用于饲料的。活性干酵母是含有少量乳化剂的活酵母,控制其水分在4%~6%之间,隔绝空气与水,使之处于一种“休眠状态”,这种状态的酵母保存期一般可以达两年以上,“休眠状态”的酵母菌被动物采食进胃肠道以后,接触到水分即可复活并发挥

其生物功能^[3]。

1.4 酵母细胞壁

酵母细胞壁是通过将酵母培养后,收集酵母细胞,并将其通过音波使其细胞裂解,然后经过多次清洗过滤,将其中的可溶性物质在高温、酸碱处理后进行离心分离,提取的细胞壁于特定的温度和压强下进行喷雾干燥而得到的一种纯天然绿色添加剂。酵母细胞壁在机体免疫过程中充当一种免疫刺激的辅助因子来调节机体的免疫系统,从而提高动物的免疫力。酵母细胞壁含有大量 β -葡聚糖和甘露寡糖,对各种原因引起的畜禽应激反应产生非特异性免疫力。

1.5 酵母水解物

酵母水解物是通过内源或外源的水解酶将酵母细胞水解得到的产物,其中含有丰富的氨基酸、小肽、B族维生素、矿物质等多种营养物质。

1.6 酵母硒

在适宜的生长条件下,酵母菌能够把大量的硒整合到细胞内,以蛋氨酸硒、胱氨酸硒和半胱氨酸硒等有机硒的形式存在于酵母菌细胞内。酵母硒主要用于宠物的饲料中。

2 酵母类饲料在动物养殖中的应用

2.1 酵母类饲料在禽类养殖中的应用

饲料酵母作为单细胞蛋白质饲料,含蛋白质50%以上,各种氨基酸的组成和比例与进口鱼粉相似,并且富含多种维生素、未知促生长因子等成分。近年来一般用于替代全部或部分鸡日粮中的进口鱼粉。综合这方面的试验研究表明,在肉鸡生产中用饲料酵母替代鱼粉对肉鸡的生产性能(生长速度、成活率等)有提高作用^[4],对肉鸡屠宰后肉的嫩度有改善作用^[5],在肉鸡高纤维饲料中添加6.0 g/kg的干酵母,可以提高肉鸡的饲料转化效率^[6]。酵母类饲料对蛋鸡产蛋率、蛋重、饲料转化率也有提高作用,但也有不良影响的报道。建议的替代量不是很一致,一般建议替代50%~60%的进口鱼粉^[7],也有建议替代70%的进口鱼粉^[8]。产生这种不一致的原因是多方面的,主要与酵母类饲料的添加形式、添加水平、酵母类饲料的质量以及鸡的种类等因素有关。以纯酵母替代鱼粉饲养效果较好,酵母类饲料中含有活菌数高的饲喂效果优于品质较差的酵母类饲料。此外,在蛋鸡的饲料中添加硒酵母可以明显提高鸡蛋中硒的含量^[9]。饲料中添加酵母可以改善肠道环境,刺激消化器官发育和刺激免疫机

冯佳时,华中农业大学动物科技学院,430070,武汉。

王清声,江苏无锡德冠化工有限公司。

廖冰麟、晏向华(通讯作者),单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-11-26

能。添加酵母培养物对小肠绒毛长度的影响不显著,但具有增加绒毛长度的趋势^[10]。酵母培养物的添加能够提高鸡的免疫机能,有研究表明,添加酵母培养物能够显著提高肉鸡血清中免疫抗体(IgA 和 IgG)水平,明显降低盲肠食糜中大肠杆菌的数量,也能显著增加双歧杆菌的数量^[11],并且有减少肉鸡沙门氏菌的作用^[12],说明酵母培养物有改善肠道内环境的作用。酵母培养物能够提高胸腺、法氏囊和脾脏的指数,但和对照组 s 相比差异不显著。

2.2 酵母类饲料在猪生产中的应用

给猪饲喂酵母培养物或酵母菌,对其生产性能、消化能力有提高作用,并可以改善猪肠道微生物菌群。一般猪的日粮中酵母添加量为 2%~5%,也有研究用饲料酵母替代 80%的动物蛋白,而对猪的生产性能没有不良影响^[13]。有试验表明,在母猪进入产仔舍到断奶这段时间内,给其饲喂添加有酵母菌的饲料,母猪的采食量不受影响,哺乳母猪体重的下降得到了显著的减轻,说明饲料中添加酵母可以有效地提高母猪对饲料的利用率^[14]。酵母对仔猪肠道微生态平衡有积极的作用,可以降低仔猪的腹泻率,给断奶仔猪饲喂活酵母菌可以提高其采食量、日增重、成活率和断奶重^[15]。

2.3 酵母类饲料在反刍动物生产中的应用

酵母培养物在反刍动物生产中最早是用作反刍动物的蛋白质补充饲料。酵母培养物可以调整瘤胃菌群结构,刺激瘤胃微生物生长,促进瘤胃发酵,提高了饲料中纤维的利用率以及瘤胃微生物合成菌体蛋白的效率,改变胃肠内挥发性脂肪酸的比例,减少甲烷和乳酸盐的产生,提高 pH 值的稳定性,进而增加反刍动物采食量,提高饲料利用率和生产性能,而且对疾病防治和增强免疫力方面也有一定的作用。

在奶牛饲料中添加酵母培养物,可以显著提高标准乳的产量和乳脂率,而不影响牛奶性质和血液成分。酵母培养物有抗热应激的作用,可以改进产奶中期热应激下的饲喂效果,同时降低产奶过渡期由于干物质采食量下降对奶牛的体况影响^[16]。在泌乳早期添加酵母培养物效果优于其它时期。

在肉牛饲料中添加酵母培养物可以提高肉牛的采食量。国外有研究人员综合 16 个研究结果后发现,饲喂酵母培养物可使肉牛增重速度提高 7.5%。国内有研究表明,在肉牛肥育过程中添加活性酵母益生菌,可以使生长速度提高 3%~8%,增加胴体净肉率 3.35%^[17]。

2.4 酵母类饲料在水产养殖中的应用

首先,它可以作为水产动物饵料中替代鱼粉的优良蛋白质来源。酵母细胞中含有丰富的营养成分,含有多种必需氨基酸和必需脂肪酸,丰富的维生素、矿

物质、多种消化酶及未知的促生长因子等。有研究报道,酵母菌不仅能提高鱼的成活率,增加鱼的重量,而且能增强鱼苗对弧菌病菌的抵抗能力,用饲料酵母替代部分鱼粉可以提高鱼的产量并且可以降低饲养成本,但在应用时要注意各种必需氨基酸的搭配平衡^[18]。

其次,饵料中添加酵母菌可以增强水产动物的免疫机能。酵母菌中能刺激机体免疫增强的主要是酵母细胞壁,酵母细胞壁的这一作用已经用于各种动物饲料,特别是在水产动物中效果显著。研究表明,饲料中酵母细胞壁的刺激可以使鱼类免疫器官的发育加快,T、B 淋巴细胞的数量增多,一方面增强鱼虾的非特异性免疫;另一方面又能够激发机体体液免疫的产生。在饲料中加入酵母细胞壁能减少甚至防止疾病的暴发,降低死亡率并促进生长。

再次,酵母菌还有改善养殖水体质量的作用。酵母菌在有氧和无氧的条件下都能够生长繁殖,添加到水体中的酵母菌能够利用水体中的糖类、有机酸、氨态氮、硫化氢等物质作为自身生长繁殖的营养^[19]。有效地降低水体中有机物和有毒有害物质的含量,防止水体富营养化,从而净化水质,改善水生动物的生长环境。酵母菌的大量生长繁殖使其在与有害菌的生存竞争中成为优势群,抑制了有害菌的生长,降低了动物患病的几率,能够使其发挥出最大的生产潜力,获得最大的收益。

3 酵母类饲料的作用机理

酵母类饲料对动物主要有两类有益效果,一是对动物营养方面的作用;二是对动物免疫抗病方面的作用。

3.1 对动物营养调控效果的作用机理

酵母菌不是家畜固有的微生物区系,它不能附着在肠粘膜上,而是以活菌状态沿单胃动物的消化道运行,同时释放消化酶或其它有益的生物因子,促进胃肠道对饲料的消化。酵母类产品对单胃动物的作用主要在十二指肠、小肠、盲肠完成,而对反刍动物的作用主要在瘤胃完成。但其对动物的作用机理目前研究的不是十分清楚,一般认为有以下两个方面,一是酵母细胞在动物消化道内可以产生或胞体裂解后释放各种消化酶,如 α -淀粉酶、蛋白酶、纤维素酶、半纤维素酶等,这些酶类可以有效的帮助动物消化饲料;此外,酵母还含有未知促生长因子,具有促生长作用。二是可以通过改善胃肠环境和菌群结构,从而调控胃肠发酵,提高动物的生产性能。这方面的研究在反刍动物上比较多,应用也比较广泛。在反刍动物饲料中添加酵母及其培养物,可以调控瘤胃发酵,减少乳酸盐的产生,稳定 pH 值,从而促进瘤胃内酵母菌、乳酸菌、纤维菌等有益菌的繁殖,提高其浓度及活力,使微生物

合成蛋白质增加,进而促进了动物对营养物质的消化、吸收和利用,提高了饲料的转化效率。

3.2 对动物免疫调节效果的作用机理

酵母菌中刺激动物免疫机能的主要是酵母菌的细胞壁,酵母细胞壁的活性成分主要由 β -葡聚糖(57.0%)、甘露寡糖(MOS,6.6%)、糖蛋白(22.0%)和几丁质组成^[20]。这些活性成分中发挥主要作用的是 β -葡聚糖和甘露寡糖。

3.2.1 β -葡聚糖的作用机理

β -葡聚糖通常有10~20个单糖组成,是一种具有特殊结构的多糖,相对分子质量为6 500~7 500,大多数为不溶于水的胶质颗粒。 β -葡聚糖中的单糖之间以 β -1,3键和 β -1,6键相连,特殊的键结合方式和分子氢键的存在使 β -葡聚糖呈螺旋形的分子结构,这种分子的结构就决定 β -葡聚糖具有刺激动物免疫系统的功能^[21]。通常,大多数动物体内的网状内皮系统存在着大量的不具活性的巨噬细胞, β -葡聚糖与巨噬细胞通过其表面的糖蛋白的结合可以激活巨噬细胞。巨噬细胞能对动物体内的病原微生物、病毒、自身衰变成分及其它异物进行吞噬消除。在免疫应答的初期阶段,巨噬细胞可以处理抗原并呈递给淋巴细胞,启动淋巴细胞发生免疫应答。巨噬细胞还能够分泌溶酶体酶,并在不同物质的刺激下可以产生50多种不同的生物活性物质,如白细胞介素I、干扰素、多种补体、凝血因子、肿瘤生长抑制因子等。 β -葡聚糖对巨噬细胞的激活作用使得动物的免疫机能得到了增强,故又将 β -葡聚糖称为免疫多糖。

3.2.2 甘露寡糖(MOS)的作用机理

甘露寡糖是由甘露糖和葡萄糖组成的寡糖,一般由2~10个单糖组成,单糖之间以 α -1,2、 α -1,3及 α -1,6键相连,多为碱溶性。甘露寡糖因为含有大量不能被消化酶切断的化学键而几乎不能在小肠中被消化利用,在消化道后段被乳酸杆菌和双歧杆菌等有益菌选择性发酵,产生有机酸、甲烷、二氧化碳和氢气。发酵产物中的酸性物质会使整个肠道的pH值下降,从而抑制有害菌的生长。此外,甘露寡糖还能竞争性的阻止病原菌在肠壁上的定植。许多病原菌的细胞表面均含有一种特殊的用于细胞识别的蛋白质,称为外源凝集素,它们能与肠内壁细胞表面上的受体结合而粘附在肠上皮上繁殖,而肠内壁细胞表面的受体其结构就是短链带分支的糖类物质,甘露寡糖能够提供病原菌的附着源,从而减少了肠道病原菌的数量。因此,甘露寡糖又被称为“病原菌吸附剂”或“病原菌清除剂”^[22]。

4 小结

综上所述,酵母类饲料在畜牧业生产中能有效地

提高动物的生产性能,并通过它对动物机体免疫机能的促进作用而减少动物养殖中抗生素的使用量,使生产出来的畜产品更加安全,从而满足人们对食品安全日益增长的要求。酵母类饲料生产简单,成本低廉,营养丰富,故而具有广泛的应用前景和巨大的开发潜力。

参考文献

- [1] 黄青云.畜牧微生物学[M].北京:中国农业出版社,2003:20-30.
- [2] 曾虹.酵母类饲料的分类和品质[J].中国水产,2001(5):86.
- [3] 安琪酵母股份有限公司研发中心动物营养研究室.酵母源生物饲料的应用及其发展趋势[J].养殖与饲料,2006(6):25-27.
- [4] 徐丽梅.饲料酵母代替鱼粉饲喂肉鸡、蛋鸡、蛋鸭效益显著[J].湖南农业大学学报,2003(1):24-27.
- [5] A. W. Zhang, B. D. Lee, S.K.Lee, et al. Effects of Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) Cell Components on Growth Performance, Meat Quality, and Ileal Mucosa Development of Broiler Chicks[J]. Poultry Science, 2005(84):1 015-1 021.
- [6] A.A. Onifade, G.M. Babahmde. Supplemental value of dried yeast in a high-fibre diet for broiler chicks [J]. Animal Feed Science Technology, 1996(62):91-96.
- [7] 倪建平,顾彩菊,黄启忠,等.不同饲料酵母在肉鸡生产上的应用试验[J].上海畜牧兽医通讯,1999(5):7.
- [8] 陈平洁,陈庄,林勇,等.饲料酵母在畜禽饲养上的运用及作用机理的探讨[J].广东畜牧兽医科技,1999,24(2):35-38.
- [9] P.L.Utterback, C.M.Parsons, Yoon, and J. Butler. Effect of Supplementing Selenium Yeast in Diets of Laying Hens on Egg Selenium Content[J]. Poultry Science, 2005(84):1 900-1 901.
- [10] 刘观忠,安胜英,姜国均,等.酵母培养物对蛋雏鸡肠壁结构及免疫机能的影响[J].中国畜牧兽医,2005,32(2):10-12.
- [11] 刘学剑.酵母培养物在养殖生产中的应用研究进展[J].兽药与饲料添加剂,2005,10(5):13-16.
- [12] J. ERICLINE, J. STAN BAILEY, NELSON A. COX, and NORMAN J. STERN. Yeast Treatment to Reduce Salmonella and Campylobacter Populations Associated with Broiler Chickens Subjected to Transport Stress[J]. Poultry Science, 1997(76):1 227-1 231.
- [13] 刘静,刘聚祥.酵母菌的营养特性及在畜牧业中的应用[J].动物医学进展,2007,28(5):98-100.
- [14] 雷宏俊译,覃矜校.活酵母在母猪围产期的作用[J]. Pig Progress, 2006,22(5):24-25.
- [15] 郭雁君.活性酵母菌对怀孕母猪及其仔猪生产性能的影响[J].黑龙江畜牧兽医,2007(8):68-69.
- [16] Schingoethe D J, et al. Feed Efficiency of Mid-Lactation Dairy Cows Fed Yeast Culture During Summer[J]. J Dairy Sci, 2004,87:4 178-4 181.
- [17] 成立新,那日苏.酵母培养物对反刍动物的营养作用[J].畜牧与饲料科学,2005(1):14-16.
- [18] 陈琴,黄钧,黎子兰.饲料酵母在水产养殖业中的应用[J].饲料博览,2001(7):47-48.
- [19] 李豫红,高峰.浅谈水产养殖中的微生物活菌制剂[J].河北渔业,2003(1):6-7.
- [20] 储晨亮,孙伟.酵母在饲料业中的研究和应用[J].饲料博览,2007(3):19-22.
- [21] 张国辉,何瑞国,高红梅.酵母细胞壁及其在水产中的应用[J].中国饲料,2005(10):30-32.
- [22] 郑凯迪.酵母细胞壁及其在水产养殖中的应用[J].饲料工业,2006,27(10):14-16.

(编辑:王芳,xfang2005@163.com)

细菌素的研究与应用

张建飞 李巧贤

我国是一个畜牧业大国,也是畜产品消费大国。近年来,在抗生素的使用上面临的药物残留问题已成为畜牧业发展的瓶颈。由于食品中抗生素、药物残留及防腐剂添加超标而导致的出口损失,引起了广泛的关注。人们迫切需要探寻一种能取代抗生素的抗菌剂,于是细菌素成为了近年来研究的热点。细菌素(Bacteriocins)是某些细菌在代谢过程中通过核糖体合成机制产生的一类具有抑菌活性的多肽、蛋白质或蛋白质复合物,具有高效、无毒、耐高温、无残留、无抗药性等优点。细菌素不同于青霉素等抗生素,为多肽或蛋白。此外,传统的多肽抗生素是由细胞多酶复合体催化形成的,不存在结构基因;而细菌素由基因编码,可以通过基因工程的手段加以改造。1988年,乳酸链球菌素(Nisin)首次作为食品添加剂得到FDA的认可,已有52个国家和地区在使用Nisin作为食品防腐剂,从而促进了其它种类细菌素及在其它领域的研究。目前细菌素在分子遗传、基因工程、蛋白质工程、食品添加剂和微生态制剂等方面有很好的应用前景,特别是在饲料工业的快速发展和规模化的养殖模式上的推广,人们对其安全水平更加关注。抗生素在未来的畜牧业的发展会逐步退出,细菌素由于具有各种优点会成为取代抗生素的首要选择。

1 细菌素的研究进展

1.1 细菌素的定义

细菌素是20世纪中期Gratia(1946)对大肠杆菌V菌株抑制 ϕ 菌株现象进行研究时发现的,以后Gratia和Frederieq对V菌株产生的抑制物质进行分离,发现这种物质类似于噬菌体,但不能自主复制,Frederieq(1957)将其称为大肠杆菌素。由于许多细菌能够产生类似的物质,Jacob(1953)将这类物质称为细菌素。细菌素一般定义为:由细菌产生的通常只作用于与产生菌同种的其它菌株或亲缘关系很近的一种

蛋白类抗菌物质。它是一种多肽或多肽与糖和脂的复合物,但许多广谱细菌素的发现,使得细菌素的概念得到了扩大。

1.2 细菌素的分类

根据化学结构,细菌素通常分为4类:第一类定义为羊毛硫细菌素(Lantibiotics)。在乳酸菌的核糖体中合成,显著的特点是在分子活性部位含有大量的稀有氨基酸,如羊毛硫氨酸、脱氢丙氨酸和脱氢丁氨酸。Nisin是典型代表,这一类含有19~50个氨基酸残基。Lantibiotics又可再细分为两个亚类,一种是带正电荷与疏水基团的肽类,它可以在细胞膜上形成通道;另一种是球状的肽类,它不带电荷或带负电荷。第二类是小分子的热稳定肽(SHSP),这是一类分子量小于10k、疏水、具有膜活性的肽,又可以分为2个亚类:①N-末端氨基酸序列为Tyr-Gly-Asn-Gly-Val,并由2个半胱氨酸所构成的S-S桥,对李斯特氏杆菌有活性;②能被硫醇激活,活性基团要求有还原性半胱氨酸残基。第三类是大分子热不稳定肽(LHLP)。LHLP的分子量大于10k,对热不稳定。第四类是复合细菌素。由细菌素和蛋白质、碳水化合物或内酯基团组成的大分子复合物。其中第一、二类细菌素由于抑菌的高活性和专一性而作为食品防腐保鲜剂研究的较多。目前,国内外对细菌素的研究较深入,已经发现了几十种细菌素,被鉴定的细菌素有Nisin、Laetacin、Laeloein、Helveticin、Fermenticin、Sakeicin、Laeticin、Plantaein、Subticin(杨洁彬等,1996)等,其中已被广泛应用的是Nisin,也称尼生素。

2 细菌素产生菌的种类及抗菌谱

对细菌素产生菌的研究,目前主要集中在乳酸菌,乳酸菌几乎每个属中的每个种,甚至每一株菌都能产生几种细菌素。乳酸乳球菌产生的Nisin对链球菌、葡萄球菌、芽孢杆菌中的一些种,梭菌及其它乳酸菌有抑制作用;嗜酸乳杆菌和发酵乳杆菌产生的细菌素对乳杆菌、片球菌、明串球菌、乳球菌和嗜热链球菌有抑制作用。Honso(1977)报道了嗜酸乳杆菌产生的细菌素能抑制大肠杆菌的DNA合成;从枯草芽孢杆菌中提取出枯草菌素(subticin),它是一种环多肽,能抑制真菌但对细菌作用很小。Torri等分离的粪肠球菌

张建飞, 内蒙古农业大学动物科学与医学学院, 010030, 呼和浩特。

李巧贤, 内蒙古畜牧科学院。

收稿日期: 2007-12-24

(*E. faecium*)和粪肠球菌(*E. faecium*)产生的细菌素能抑制单胞增生李斯特菌(*L. monocytogenes*)和酪丁酸梭菌(*Clostridium tyrobutyricum*)等病原菌和污染菌,在饲料中也具有一定的应用前景。

细菌素除含一些拮抗物质外,也包含一些有益的物质,但目前对这些并不是十分清楚,未来应当对细菌素产生的机理、影响因素等方面进行深入研究。

3 细菌素与抗生素

细菌素与抗生素都由微生物产生,用量都很小,都具有一定的抗菌谱,能较强地抑制甚至杀死其它微生物,如在食品中加入十万分之几到万分之几的Nisin,就足以抑制许多革兰氏阳性菌的生长和繁殖。因为细菌素具有与抗生素相似的一些性质和作用,因此细菌素最初甚至被认为就是抗生素。

但是细菌素和抗生素是有区别的。抗生素是某些微生物通过酶促反应将初级代谢物转变为结构性的次级代谢物,诸如短杆菌肽S等,通过酶促反应把氨基酸转变为结构复杂的化合物;而Nisin等细菌素则需要通过核糖体来合成,从而是真正的蛋白类物质。细菌素与抗生素的根本差别是:大部分细菌素只对近缘关系的细菌有损害作用,且具有无毒、无副作用、无残留、无抗药性,同时也不污染环境等优点。因此,细菌素的使用可以在部分情况下减少甚至取代抗生素的使用。

4 细菌素在饲料中的应用及展望

细菌素目前广泛使用于食品中,饲料中应用较少。细菌素在饲料中要广泛使用,必须具有安全性和有效性。Bhunja等(1991)用细菌素Pe-diocin AcH对小鼠和兔子分别进行皮下注射、静脉注射和腹腔注射进行免疫研究时发现,Pe-diocin AcH没有产生任何不良反应和致死作用。细菌素在食品上的直接使用,也说明了细菌素对动物和人类是安全的。

细菌素作为饲料添加剂可以有两个方面的作用:一是防止饲料本身被沙门氏菌等致病菌污染。随着我国饲料工业的迅猛发展,畜禽生产越来越多地依赖于饲料,因此,有效地防止饲料被致病菌污染,在很大程度上就切断了致病菌对动物的危害。二是防止致病菌对动物肠道的影响。由于细菌素大多抗菌谱比较窄,选择适当的细菌素,就可以有效防止动物受某些肠道致病菌的影响,而不致于影响动物肠道的其它有益微生物。但由于许多种细菌素易被消化道中的一些蛋白酶(如胰蛋白酶)所降解,而这一点,正是细菌素的优点所在,细菌素在肠道中的直接作用,还有待进一步

探讨。

产生细菌素的乳酸菌,尤其乳杆菌是动物肠道中的优势菌,因而可以利用它们研制益生菌,进行宿主动物胃肠的生态调节。随着益生菌在动物(如猪、狗、牛)胃肠疾病防治方面研究的深入,益生菌的作用已被越来越多的人所接受。美国饲料益生菌销售额已超过3 000万美元,主要菌种为嗜酸乳杆菌和双歧杆菌。但是益生菌的作用效果并不是预期的那样理想,这主要是对益生菌的作用机理不太清楚,从而在选择菌种方面存在一定的盲目性。因此决定肠道优势菌的因素不仅取决于菌种的产酸能力,而且还与菌种是否产生细菌素等因素有关,尤其与菌种的宿主专一性有很大关系。研究肠道微生物类群与细菌素的关系,可以更好地选择益生菌菌种,使它们能更好地定植于肠道系统中,发挥出更好的功效。我国于1994年批准使用的益生菌有6种,即芽孢杆菌、乳酸杆菌、粪链球菌、酵母菌、黑曲霉菌、米曲霉菌。其中,乳酸杆菌和粪链球菌为肠道正常微生物,芽孢杆菌具有较高的蛋白酶、脂肪酶和淀粉酶的活性,可明显提高动物生长速度和饲料利用率,于是许多生产厂家将这些菌配合起来进行使用,但是配合以后菌体活性是否受影响却并没有作深入研究。据报道(Rogers, 1928),乳酸乳杆菌产生的细菌素Nisin的抗菌谱中就包括链球菌和芽孢杆菌中的一些种,特别是它抑制芽孢的形成。因此,在乳酸球菌与一些链球菌和芽孢杆菌联合使用时,非常有可能产生拮抗作用。因此,研究细菌素对研究益生菌之间的关系也很有帮助。

由于细菌素本身具有许多优良性质:具有较好的选择性杀菌效果,因而不仅适用于一般性饲料,也可适用于生物饲料等;易被人体消化道中的一些蛋白酶(如胰蛋白酶)所降解,不会在动物体内蓄积而引起不良反应,无副作用、无残留、无抗药性,同时也不污染环境;具有热稳定性,并耐酸、耐低温贮藏;对饲料的口感、口味等无不良影响;同时它的使用可以降低饲料的杀菌温度,减少热处理时间,从而保持饲料原有的营养价值和风味。总之细菌素不仅具有与抗生素饲料添加剂相似的有益作用,而且无毒、无副作用、无残留、无抗药性,并具有良好的扩散性,同时也不污染环境,所以细菌素必将逐步发展,并在饲料中得到广泛的应用。

(参考文献 11 篇,刊略,需者可函索)

(编辑:王芳,xfang2005@163.com)

在玉米—豆粕型日粮中添加 α -半乳糖苷酶对生长猪生产性能的影响

许尧兴 许少春 李艳丽 柳永 王洪斌 顾其根

摘要 试验研究了玉米—豆粕型日粮中添加 α -半乳糖苷酶对生长猪生产性能的影响。选择128头平均体重为26 kg左右的杜大长三元杂交仔猪,按体重和性别随机分成2个处理组,每处理4个重复,对照组饲喂基础日粮,试验组饲喂在基础日粮中添加0.15%含250 U/g的 α -半乳糖苷酶复合酶的日粮,进行为期66 d的试验。结果表明,与对照组相比,玉米—豆粕型日粮中添加 α -半乳糖苷酶的试验组,日增重提高9.59%,料重比降低9.03%,每千克增重饲料成本降低0.45元,经济效益提高8.06%。说明在玉米—豆粕型日粮中添加 α -半乳糖苷酶可显著提高生长猪的生产性能。

关键词 α -半乳糖苷酶;生长猪;玉米—豆粕型日粮;生产性能

中图分类号 S828

我国饲料类型大多以玉米—豆粕型为主,大豆粕中含有高达10%~20%的果胶质和 α -半乳糖苷类物质等抗营养因子,这些抗营养因子可以降低动物对饲料中营养物质的消化吸收,影响了大豆粕营养价值的充分发挥。 α -半乳糖苷具有良好的热稳定性,即使在很高的温度下也不会分解,因此,普通的饲料调制加工过程不会使其失活。由于动物体内缺乏分解 α -半乳糖苷的酶,饲料中的 α -半乳糖苷往往不能被动物消化吸收。 α -半乳糖苷的存在,一方面增加了小肠内容物的持水力和渗透性;另一方面, α -半乳糖苷在消化道后段被厌氧菌所代谢,产生二氧化碳、氢气及少量的甲烷气体,引起动物消化不良。特别是在仔猪中,将导致肠道胀气,消化不良,使动物的胰腺增大,引发下痢等疾病(于旭华,2002)。

α -半乳糖苷酶是一种能催化 α -半乳糖苷物质分解为低聚寡糖、蔗糖及果糖等单糖的酶,该酶是用以分解豆科籽实及其加工副产品中含有 α -半乳糖苷键的胀气因子的专用酶制剂。作为一种特异性的外源酶,添加于含大豆粕的饲料中可有效促进饼粕类饲料原料中 α -半乳糖苷物质的分解,提高饲料利用率,消除由 α -半乳糖苷物质引起的抗营养作用,具有广泛的应用前途(陆文清等,2000)。本试验利用含 α -半乳糖苷酶为主的复合酶在生长猪日粮中的应用效果进行研究,以验证该酶在玉米—豆粕型日粮中对生长猪

生产性能的影响。

1 材料与方法

1.1 试验动物与管理

本试验在浙江安吉浙北畜禽公司猪场进行。试验选用日龄相近、体重大小基本一致、生长发育正常的杜大长三元转群仔猪128头,随机分为2个处理,每个处理4个重复,每个重复16头仔猪(公母各半),各重复组初始个体体重和总体重无显著差异($P>0.05$)。

饲养栏舍为封闭式猪舍,猪自由采食和饮水。试验于11月23日开始,预试期7 d,正试期66 d。试验由专人负责,并按常规饲养操作过程和免疫程序进行饲养与免疫。

1.2 试验设计与日粮配方

表1 基础日粮组成及营养水平

项目	仔猪料	中猪料
原料组成(%)		
玉米	58	58
豆粕	22	21
膨化大豆	5	
麸皮	5	9
四号粉	5	8
磷酸氢钙	1	
预混料	4	4
营养水平		
代谢能(MJ/kg)	13.18	12.93
粗蛋白(%)	17.89	16.66
粗纤维(%)	3.64	3.72
赖氨酸(%)	1.06	0.96
钙(%)	0.86	0.69
磷(%)	0.65	0.61

注:4%的预混料提供VA 80万IU、VD₃ 18万IU、VE 2 400 IU、VK 3 250 mg、VB₁ 36 mg、VB₂ 700 mg、泛酸钙 1 500 mg、烟酸 3 600 mg、VB₆ 600 mg、VB₁₂ 3.0 mg、叶酸 9 mg、VH 12 mg、胆碱 20 g、CuSO₄·5H₂O 72 g、FeSO₄·7H₂O 52 g、ZnSO₄·7H₂O 52 g、MnSO₄·H₂O 12 g、Na₂SeO₃ 0.08 g、KI 0.036 g。

许尧兴,浙江省农业科学院,副研究员,310021,浙江杭州市石桥路198号。

许少春、李艳丽、柳永,单位及地址同第一作者。

王洪斌、顾其根,浙江省安吉县农业局畜牧兽医站。

收稿日期:2007-11-05

本次试验分为2个处理组,即加酶试验组和对照组,其中加酶试验组在对照组日粮基础上,添加0.15%的含 α -半乳糖苷酶的复合酶。因本次试验周期较长,根据试验场的管理模式,试验猪的日粮分为两个阶段,即第一阶段(仔猪阶段)饲喂该场自配的仔猪料,第二阶段(中猪阶段)饲喂该场自配的中猪料,所喂饲料均为粉料。基础日粮组成及营养水平见表1。

1.3 试验用酶制剂

本次试验所用含 α -半乳糖苷酶的复合酶由浙江省农科院研制,浙江长兴蓝鑫生物技术有限公司中试生产,其中 α -半乳糖苷酶的酶活为250 U/g(α -半乳糖苷酶活力单位定义为:40℃、pH值4.0的条件下,水解浓度为5 μmol 的对硝基苯- α -半乳糖苷,产生

1 μmol 对硝基苯酚所需要的酶量为一个酶活单位)。

1.4 测定指标及方法

在正式期开始时对参试猪逐个进行空腹称重获得初始重,于试验结束后再次以同样方法称重获试验末重。两个阶段只进行饲料转换,期间不进行称重。以整个试验期的体重增加情况计算平均日增重。用清箱底法记录各处理猪饲料消耗量,由此计算日采食量和料重比。试验数据经Excel 2003初步处理后,用STATISTICA软件进行统计分析和Duncan's法多重比较,结果用平均值 \pm 标准差表示。

2 结果与分析

2.1 添加含 α -半乳糖苷酶的复合酶对试验猪日增重的影响(见表2)

表2 添加含 α -半乳糖苷酶的复合酶对生长猪生产性能的影响

组别	重复	初重(kg)	末重(kg)	采食量(kg/d)	日增重(kg/d)	料重比
试验组	1	28.13 \pm 0.52	65.44 \pm 1.25	1.42	0.565 \pm 0.012	2.51 \pm 0.05
	2	27.19 \pm 0.43	65.25 \pm 1.20	1.47	0.577 \pm 0.015	2.55 \pm 0.03
	3	25.06 \pm 0.75	61.50 \pm 0.67	1.33	0.552 \pm 0.016	2.41 \pm 0.03
	4	26.56 \pm 0.24	62.50 \pm 0.61	1.43	0.545 \pm 0.011	2.61 \pm 0.05
	平均	26.74 \pm 1.23 ^a	63.67 \pm 1.25 ^a	1.41	0.560 \pm 0.015 ^a	2.52 \pm 0.08 ^a
对照组	1	27.25 \pm 0.61	61.69 \pm 0.66	1.42	0.522 \pm 0.015	2.73 \pm 0.08
	2	26.19 \pm 0.97	59.75 \pm 0.68	1.42	0.509 \pm 0.013	2.80 \pm 0.07
	3	26.13 \pm 0.32	58.75 \pm 0.41	1.36	0.496 \pm 0.007	2.74 \pm 0.04
	4	26.19 \pm 0.55	60.38 \pm 0.66	1.47	0.518 \pm 0.011	2.84 \pm 0.06
	平均	26.44 \pm 0.76 ^a	60.14 \pm 1.23 ^b	1.41	0.511 \pm 0.011 ^b	2.77 \pm 0.07 ^b

注:同列数据肩标上相同小写字母表示差异不显著($P>0.05$),不同小写字母表示差异极显著($P<0.01$)。

从表2结果可以看出,在两组试验猪初始体重基本一致情况($P>0.05$)下,经66 d的试验,试验组比对照组的平均日增重提高9.59%,达到极显著水平($P<0.01$)。因此,在玉米—豆粕型日粮中添加含有 α -半乳糖苷酶的复合酶制剂,可显著提高生长猪的增重性能。

2.2 添加含 α -半乳糖苷酶的复合酶对试验猪料重比的影响(见表2)

从表2可以看出,在整个试期中,试验组比对照组的平均料重比降低9.03%,也达到极显著水平($P<0.01$)。

2.3 综合经济效益分析(见表3)

从表3可知,试验期间,加酶试验组每千克增重的饲料成本为5.13元,而对照组每千克增重的饲料成本为5.58元。在相同饲养条件下,试验组每千克增重饲料成本比对照组降低0.45元,经济效益提高8.06%。在整个试验期间,加酶组平均头增重36.93 kg,以每千克增重比对照组节约饲料成本0.45元计,试验组每头猪仅饲料成本就节约16.62元。

表3 每千克增重饲料成本分析

项目	试验组	对照组
饲料价格(元/kg)	2.035	2.02
头采食量(kg)	93.06	93.06
头饲料成本(元)	189.38	187.98
头增重(kg)	36.93	33.70
每千克增重饲料成本(元/kg)	5.13	5.58
比较(%)	100	108.80

注:饲料价格为仔猪料2.17元/kg,中猪料1.98元/kg,根据两期料的采食量,经加权平均后的基础日粮价格为2.02元/kg,加酶试验组的饲料平均价格为2.035元/kg(酶添加0.15%,酶价格为10元/kg)。

3 讨论

玉米—豆粕型日粮通常作为典型日粮或标准日粮,一般认为添加酶制剂效果不明显,使用酶制剂意义不大。然而,随着对饲用酶制剂研究的深入和新酶种的开发,已有越来越多的证据表明,这种所谓的“黄金日粮”也可以通过酶制剂而改善其营养价值。 α -半乳糖苷酶被认为是改善这种类型日粮营养价值最有

角蛋白酶在饲料行业的应用

李静 井婧 李绍钰

角蛋白(keratin)为一种坚硬的不溶性蛋白,分为 α -角蛋白和 β -角蛋白, α -角蛋白是蹄、脚、鼻、爪的主要成分, β -角蛋白则主要存在于鸟类和昆虫中。角蛋白含较多的胱氨酸(14%~15%),由于胱氨酸残基二硫键的高度交联和分子间疏水作用及氢键作用,角蛋白难以被普通的酶降解。角蛋白酶(Keratinase)的发现解决了这个难题。Daniels(1953)研究发现微生物中的某种物质可以对人的头发进行酶解。随后,研究人员又发现很多微生物中都存在着某种酶可以对动物羽毛以及毛发进行酶解。Shin.J等(1992)研究发现了角蛋白有水解作用的物质正是角蛋白酶。角蛋白酶有能力分解羽毛、爪、喙、蹄、角以及脑灰质、脊髓和视网膜神

经的角蛋白。在我国,羽毛类角蛋白资源丰富且价格低廉,每年由家禽加工产生的羽毛废弃物高达数百万吨,如按其所含蛋白量对比,相当于每年丢弃几百万吨的优质豆粕,这无疑是巨大的浪费。同时这些废弃物也会对环境造成了严重的污染。在饲料中添加角蛋白酶,利用角蛋白酶对角蛋白的特异酶解反应对羽毛粉进行加工,可以有效解决这些问题^[1]。

1 角蛋白酶的生物学特点

1.1 分子量

不同的来源菌产生的角蛋白酶分子量不同。单体角蛋白酶分子量一般为几万,酶复合物的分子量比较大,如嗜热厌氧菌(*Fervidobacterium islandicum*)AW-1,其所产膜结合角蛋白酶分子量在 200 k 以上^[2-4]。

1.2 最适 pH 值和最适温度

角蛋白酶以中性和碱性蛋白酶居多,也有少数是酸性,中性和碱性的最适 pH 值多在 7.5 以上。角蛋白酶的最适反应温度一般在 30~60 °C 之间,但也有例外,如嗜热厌氧菌 AW-1 所产的膜结合角蛋白酶的最

李静,河南工业大学生物工程学院,450052,郑州。

井婧,单位及通讯地址同第一作者。

李绍钰(通讯作者),河南省农业科学院畜牧兽医研究所。

收稿日期:2007-11-26

效的酶。研究表明,在玉米—豆粕型日粮中添加 α -半乳糖苷酶,可以明显提高代谢能和氮的消化率。Veldaman等(1993)研究发现,玉米—豆粕型日粮中添加 α -半乳糖苷酶后, α -半乳糖苷的消化率从 57% 提高到 93%。Baucells等(2000)报道,在含豆粕的生长猪日粮中添加 α -半乳糖苷酶(0.08 U/kg),料肉比降低 6%;而在含豆粕的肥育猪日粮中添加相同的酶增重提高 16%,料肉比降低 9%,干物质和蛋白质的消化率分别改善 2.8% 和 12.5%。研究还证明,猪日粮中添加 α -半乳糖苷酶可以降低食糜粘度、改善营养物质的消化。冒高伟等(2005)利用含 α -半乳糖苷酶的复合酶添加于玉米—豆粕型日粮和玉米—豆粕—棉籽粕日粮中饲喂生长猪,结果表明,日增重提高了 4.0%~7.93%,料重比下降了 2.01%~4.93%。本试验研究结果表明,在玉米—豆粕型日粮中添加含 α -半乳糖苷酶的复合酶,可显著促进猪的生长,降低饲料消耗,并能产生较好的经济效益,这一结果与前人研究结果一致。本次

试验仅为单因子对比试验,有关 α -半乳糖苷酶的合适添加水平及对动物代谢能和有关物质的消化率测定等,有待进一步研究。

4 小结

在玉米—豆粕型日粮中添加含 α -半乳糖苷酶的复合酶,可显著提高试验猪的生长速度,平均日增重提高幅度达 9.59%;可以提高该类日粮的饲料报酬,降低饲料成本,平均料重比可降低 9.03%。

玉米—豆粕型日粮中添加含 α -半乳糖苷酶的复合酶,促进了试验猪的生长,降低饲料消耗,最终反映为养殖效益显著提高。在相同饲养条件下,试验组每千克增重饲料成本比对照组降低 0.45 元,经济效益提高 8.06%。在整个试验期间,试验组每头猪仅饲料成本就节约 16.62 元。

(编辑:高雁, snowyan78@tom.com)

适温度高达 100 ℃。

1.3 自身水解性

角蛋白酶在溶解状态下可发生自身水解引起其酶活力的下降。溶解的角蛋白酶样品在 -20 ℃活性损失 7%,而在 4 ℃保存 19 d 损失 20%,在室温下(20~25 ℃)其活性的半衰期是 4~5 d。

1.4 底物特异性

角蛋白酶的底物范围一般比较广泛,除角蛋白外,还可水解多种可溶性和不溶性蛋白质底物,如牛血清白蛋白、酪蛋白、胶原蛋白、弹性蛋白、血红蛋白、明胶和卵蛋白等^{5,6},且对胶原蛋白和弹性蛋白的水解能力较高。但也有例外,如鸡禽毛癣菌的角蛋白酶底物范围很窄,只能利用鸟类羽毛。

1.5 酶解高效性

角蛋白酶分解角蛋白的能力比其它蛋白酶高,如海岛闪烁杆菌 Aw-1 分泌的角蛋白酶对角蛋白显示出较高的比活性,与碱性蛋白酶和枯草杆菌蛋白酶 Carlsberg 相比,角蛋白酶对羽毛粉和角蛋白的水解作用强约 3~4 倍⁷。

2 角蛋白酶的来源

早在 19 世纪初,人们就发现一些生物含有角蛋白酶,能降解含有角蛋白的羽毛和动物毛发,并开始进行这些菌株的分离工作,目前已知的可降解角蛋白的微生物已有 30 多种。其中主要有细菌、放线菌和真菌⁸(见表 1)。

2.1 细菌

表 1 可降解角蛋白的微生物所分泌的角蛋白酶的种类

种类	分子量(k)	PI	最适 pH 值	最适温度(℃)	物质	文献来源
链霉菌	30	8.5	7-10	40-75	Keratin azure feather, BSA	Bockle 等, 1995
地衣芽孢杆菌	33	7.25	7.5	50	Feather, Collagen, casein, BSA	Lin 等, 1992
<i>Cryosporium keratinophilum</i>	69	-	7-10	90	Keratin only, No activity on casein, BSA, gelatin	Dozie 等, 1994
烟曲霉	-	-	6.5-9	45	Autoclaved and native feather, casein	Santos 等, 1994
须癣毛癣菌	48	-	-	-	Guinea Pig, Hair	Yu 等, 1968
红色毛癣菌	27, 35, 93, 71	-	8	-	-	Apodaca 等, 1989; Asahi 等, 1985
鸡禽毛癣菌	85	-	8	-	Chicken feather only	Wawrzekiewicz 等, 1987
<i>Graphium penicilloideus</i>	24	-	-	30	Hair	Malviya et al., 1993
链霉菌 sp.A11	49	-	7.5	40	Human hair, Chicken feather, wool, etc.	Mukhopadhyay 等, 1990
<i>Streptomyces brevicaulis</i>	50~452, 4~29	7.8	-	35	BSA, human hair	Malviya 等, 1992

注:文献参考自 Onifade 等, 1998。

地衣芽孢杆菌 PWD-1 (*Bacillus licheniformis* PWD-1)是目前研究较深入的细菌,PWD-1 能在以羽毛为唯一的有机底物的培养条件下生长,以羽毛作为碳源、硫源和能量的来源。但 PWD-1 不能降解未用高温蒸煮的羽毛。该细菌所产生的角蛋白酶已经被纯化,其角蛋白酶基因 *kerA* 也已克隆得到并在多种宿主中表达成功¹⁰。此外,*Fervidobacterium islandicum* AW-1、*Flavobacterium* sp.、*Chryseobacterium* sp.kr6、*B.licheniformis* S21、*B.licheniformis* S23、*Bacillus* sp.krl6 等细菌也都含有角蛋白酶,具有降解角蛋白的能力⁹。

2.2 放线菌

Noval 等(1959)从土壤中分离到一株可降解羊毛和

鸡羽毛的弗氏链霉菌(*Streptomyces fradiae*)。Ignatova 等(1999)将从土壤中分离得到的纯白高温放线菌(*Thermooactinomyces candidus*)用于羊毛分解试验发现,以羊毛作为唯一碳源和氮源时能诱导角蛋白酶的合成。Chitte 等(1999)分离到一株链霉菌(*Streptomyces thermoviolaceus* SD8),可降解羽毛角蛋白¹⁰⁻¹²。

2.3 真菌

Ward(1899)报道了真菌马爪甲团囊菌(*Onygena equina*)能分解角蛋白,此后陆续发现许多真菌能够分泌角蛋白酶,降解毛发、羽毛、蹄、角等角蛋白。Muhsin 等(2002)从污泥中分离到能降解鸡毛、人发和羊毛的 4 种真菌,包括 2 种皮肤真菌和 2 种腐生真菌¹³。

3 在饲料行业的应用

3.1 酶解羽毛

在现代农业中,每年家禽加工业要产生数百万吨羽毛废弃物,对环境造成了严重的污染。如果能将羽毛加以妥善处理,可使之转化成很好的资源。目前常用的羽毛处理方法是采用高温、高压的工艺条件将其软化,加工成动物饲料添加剂,是对其利用的有效途径,但处理过程中耗能大,蛋氨酸、赖氨酸及色氨酸等必需氨基酸被破坏,消化性差,营养性不稳定。而利用角蛋白酶对角蛋白的特异酶解反应对羽毛粉进行加工,使其结构构象改变,改善了消化性和营养性,从而有效解决这些问题。研究表明,角蛋白酶能够有效分解角蛋白,在以羽毛粉为唯一蛋白源的饲料中添加角蛋白酶,能够极大提高羽毛蛋白的利用效率,使之达到或超过豆粕,使羽毛成为高营养价值的蛋白源。

3.2 增加饲料利用率

角蛋白酶能将饲料中的蛋白质水解成氨基酸或多肽,提高动物对其的消化和吸收率,从而有效提高饲料利用率。研究表明,角蛋白酶不仅可以对角蛋白这类难以降解的蛋白质进行酶解,还可以水解其它常见的蛋白质。所以将角蛋白酶作为添加剂加入到饲料中,不仅可以提高添加了高比例羽毛粉饲料的利用率,对一般饲料的利用率也有极大的提高。Odetallah N.H.等(2003)在肉仔鸡饲料中分别添加0.05%、0.1%和0.15%的PWD-1角蛋白酶,试验结果表明,在21日龄和26日龄时肉鸡的增重和饲料转化率都有大幅度提高($P<0.05$);在22日龄和27日龄时肉鸡的空肠粘性也有显著降低($P<0.05$)^[4]。Odetallah等(2005)另一个试验中在肉仔鸡饲料中添加1%的角蛋白酶,结果表明:肉鸡在21日龄和42日龄时饲料转化率都有所提高。

4 前景展望

角蛋白酶在饲料行业中的作用引起了人们的广泛兴趣,以上特点更使其成为近年来的焦点,应用和研究价值巨大。筛选优秀的产酶菌并通过基因调控提高产酶量,开发出降解效率高、加工工艺简单且成本低的产品,合理优化角蛋白酶在饲料中的添加方式和剂量是今后的研究重点。

参考文献

[1] Williams C M, Richter C S, Mackenzie J M, et al. Isolation, Identification, and Characterization of a Feather-De-grading Bacterium[J].

Applied and Environmental Microbiology,1990(6):1 509-1 505.

- [2] Lee H, Sub DB, Hwang JH, Sub HJ. Characterization of a Keratinolytic Metalloprotease from *Bacillus* sp.SCB-3 [J].Applied Biochemistry and Biotechnology,2002,97(2):123-133.
- [3] Lin X, Kelemen D W, Miller E S, Shih J C H.Purification and characterization of a keratinase from a feather-degrading *Bacillus licheniformis* strain [J].Applied and Environmental Microbiology, 1992,58(10):3 271-3 275.
- [4] Nam G W, Lee D W, Lee H S, Lee N J, Kim B C, Choe E A, Hwang JK,Suhartono MI, Pyun YR, Native-feather degradation by *Fervidobacterium islandicum* AK-1, a newly isolated keratinase-producing thermophilic anaerobe[J]. Archives of Microbiology,2002, 178(6):538-547.
- [5] Tsuboi R, Ko I J, Takamori K, et al.Isolation of a keratinolytic proteinase from *Trichophyton mentagrophytes* with enzymatic activity at acidic pH[J]. Infect Immun, 1989, 57:3 479.
- [6] Yu R J, Ragot J, Blank F. Hydrolysis of keratinous substrates by three enzymes of *Trichophyton mentagrophytes*[J].Experimentia,1972, 28:1 512.
- [7] Porres J M,Benito M J,Lei X G.Functional expression of keratinase (kerA)gene from *Bacillus licheniformis* in *Pichia pastoris* [J]. Biotechnology Letters,2002,24(8):631-636.
- [8] Macedo A J,da Silva W O,Gava R,et al.Novel keratinase from *Bacillus subtilis* S14 exhibiting remarkable dehairing capabilities [J].Appl Environ Microbiol,2005,71(1):594.
- [9] Riffd A, Brandelli A. Characterization of a new keratinolytic bacterium that completely degrades native feather keratin[J]. Arch Microbio1, 2003, 179:258-265.
- [10] Joseph J N, Walter J N.Decomposition of native keratin by *Streptomyces fradiae* [J].Bacterio1, 1959, 77:251.
- [11] Ignatova Z, Gousterova A, Spassov G, Nedkov P.Isolation and partial characterization of extracellular keratinase from a wool de-grading thermophilic actinomycete strain *Thermoactinoc atinomyces candidus* [J].Canadian Microbiol, 1999, 45(3):217-222.
- [12] Chitte R R, et al. Keratinolytic activity from the broth of a feather-degrading thermophilic *Streptomyces thermoviolaceus* strain SD8 [J]. Letters in Applied Microbiology, 1999, 28(2):131-136.
- [13] Muhsin, T M., Hadi R B. Degradation of keratin substrates by fungi isolated from sewage sludge[J]. Mycopathologia, 2002, 154(4): 185-189.
- [14] Odetallah N H, Wang J J, Garlich J D, Shih J C H.Keratinase in Starter Diets Improves Growth of Broiler Chicks [J]. Poultry Science, 2003, 82:664-670.
- [15] Odetallah N H, Wang J J,Garlich J D, Shih J C H. Versazyme Supplementation of Broiler Diets Improves Market Growth Performance[J]. Poultry Science, 2005,84:858-864.

(编辑:沈桂宇,guiyu62@tom.com)

外源纤维复合酶对绵羊瘤胃代谢的影响

杨永明 卢德勋 赵秀英

摘要 试验研究在精粗比3:7的日粮条件下,纤维复合酶对绵羊瘤胃代谢的影响。结果发现,在精粗比3:7日粮中添加纤维复合酶,对挥发性脂肪酸(VFA)、pH值等瘤胃代谢指标的影响不显著;但对整个消化道内纤维物质消化率的影响还有待于做进一步研究。

关键词 纤维复合酶;代谢;消化率

中图分类号 S826

日粮类型是影响纤维复合酶作用效果的主要因素之一。因此,本试验主要研究在精粗比3:7日粮条件下,添加纤维复合酶对绵羊瘤胃代谢的影响。

1 试验材料和方法

1.1 试验动物

选用12只体重在30~33 kg、装有永久性瘤胃瘘管的内蒙古半细毛羯羊,随机分成4组,3个试验组,1个对照组。

1.2 试验设计

试验研究在精粗比3:7的日粮条件下,添加不同水平的纤维复合酶对绵羊瘤胃代谢的影响。纤维复合酶添加量分别为0.25%、0.5%和1% 3个水平。

1.3 配制日粮

试验日粮配方及营养成分见表1。

表1 精粗比3:7日粮配方及营养水平

日粮	组成(%)	营养水平	
玉米秸	70.0	DM(%)	91.30
玉米	18.0	ME(MJ/kg)	8.65
豆粕	8.0	CP(%)	12.23
胡麻饼	2.0	NDF(%)	48.03
石粉	0.6	ADF(%)	28.09
尿素	0.6	ADL(%)	3.32
食盐	0.4	Ca(%)	0.46
添加剂预混料	0.4	P(%)	0.24

注:每千克预混料含FeSO₄·7H₂O 31 200 mg、CuSO₄·5H₂O 1 500 mg、ZnSO₄·7H₂O 17 500 mg、MnSO₄·5H₂O 7 800 mg、碘钙粉(含1% KI) 17 000 mg、Na₂SeO₃ 4.3 mg、CoCl₂·6H₂O 1 030 mg、VA 5 400万IU、VD₃ 1 080万IU、VE 1 800 IU、VK₃ 5 g、VB₁ 2 g、VB₂ 15 g、VB₁₂ 0.03 g、VB₅ 35 g、泛酸钙 25 g、叶酸 0.5 g和抗氧化剂 0.2 g,载体为沸石粉。ME数据引自内蒙古细毛羊饲养标准。

杨永明,青海省大通县农牧局,高级畜牧师,810100,青海省大通县桥头镇人民路72号。

卢德勋、赵秀英,内蒙古畜牧科学院。

收稿日期:2007-08-27

1.4 酶制剂

复合酶制剂的主要酶组成:纤维素酶、半纤维素酶、果胶酶等,由唐山某生物技术有限责任公司提供。

1.5 动物的饲养管理

试验动物在7:00和19:00分2次饲喂,每头日喂量900 g。单笼饲养,自由饮水。预饲期10 d,正试期7 d。

1.6 瘤胃液的采集时间

瘤胃液的采集时间:7:00、8:00、9:00、10:00、11:00、13:00、16:00、19:00、20:00、21:00、22:00、23:00、1:00、4:00。

1.7 测试指标

1.7.1 VFA(挥发性脂肪酸)

用日本岛津GC-7A气相色谱仪内标法进行测定。内标物为巴豆酸。测定过程:取双层纱布过滤后的培养液10 ml,在4 000 r/min条件下离心15 min,取4 ml上清液,加入1 ml 25%偏磷酸与甲酸混合液(3:1),摇匀,静置30 min以上,取该混合液1 ml加入预先装有2 g酸性吸附剂的离心管内,再加入31.25 mmol/l的巴豆酸溶液,摇匀,离心10 min,取1 ml上机测。

色谱条件:柱温150℃,汽化室温度为230℃,担体为10%的H₃PO₄的ChromsorbW(AW),上涂20 M PEG,空气流量为0.35 kg/cm²,氢气流量为1.2 kg/cm²,氮气流量为1.75 kg/cm²。

酸性吸附剂:每100 g酸性吸附剂含无水硫酸钠60 g、50%硫酸2 ml、硅藻土40 g。

1.7.2 pH值

用25型酸度计(上海第二分析仪器厂,甘汞电极)测定。

1.8 数据统计与分析

试验数据统计利用SAS(SAS for Windows, Release 6.12)软件包中的ANOVA程序进行。

2 结果与讨论

2.1 对 VFA 的影响(见表 2)

表 2 饲喂精粗比为 3:7 日粮的条件下纤维复合酶对绵羊瘤胃内 VFA 的影响(mmol/l)

取样时间	酶量(%)			
	0	0.25	0.5	1
7:00	48.52±5.13	44.01±0.72	47.03±0.84	45.75±3.58
8:00	42.57±4.60	47.71±8.95	43.95±3.82	42.41±0.55
9:00	49.28±7.31	51.54±1.99	51.33±1.78	52.18±1.73
10:00	53.76±4.41	50.74±1.97	56.41±4.16	56.34±7.17
11:00	50.11±1.34	54.13±2.46	55.06±6.09	55.12±2.79
13:00	53.48±6.45	48.97±3.59	51.71±3.92	48.45±6.63
16:00	48.06±1.38	45.22±0.27	49.97±1.53	46.82±3.42
19:00	47.74±2.56	46.74±4.49	43.37±5.95	50.30±2.47
20:00	50.80±1.23	54.59±1.59	51.34±4.59	50.09±5.63
21:00	58.50±4.07	60.64±4.92	57.20±5.15	60.49±8.38
22:00	59.06±2.92	63.33±5.62	61.76±4.96	65.65±11.33
23:00	67.03±5.30	55.26±7.37	60.99±3.98	61.87±7.18
1:00	54.21±7.98	53.65±3.74	53.21±7.27	53.47±1.14
4:00	53.40±2.93	47.76±1.18	54.22±3.41	46.33±7.65

从表 2 可知,VFA 产量在各时间点均未能达到显著水平,添加纤维复合酶在此时未能提高 VFA 浓度。

2.2 对 pH 值的影响(见表 3)

表 3 在饲喂精粗比为 3:7 日粮条件下纤维复合酶对绵羊瘤胃液 pH 值的影响

取样时间	酶量(%)			
	0	0.25	0.5	1
7:00	6.35	6.45	6.33	6.30
8:00	6.47	6.40	6.40	6.33
9:00	6.37	6.37	6.30	6.30
10:00	6.23	6.06	6.06	6.06
11:00	6.11	5.93	5.83	5.90
13:00	5.63	5.50	5.30	5.50
16:00	6.20	6.20	6.20	6.16
19:00	6.67	6.60	6.60	6.63
20:00	6.82	6.75	6.53	6.64
21:00	6.77	6.70	6.66	6.58
22:00	6.53	6.75	6.30	6.31
23:00	6.30	6.46	6.11	6.10
1:00	6.16	6.10	5.96	6.10
4:00	6.10	6.20	6.20	6.36

从表 3 可知,pH 值在 14 个时间点均未能显著降低($P>0.05$)。

从上述试验结果可以看出,在饲喂精粗比为 3:7 日粮的情况下,添加纤维复合酶对绵羊瘤胃内环境指标,如 VFA 和 pH 值均无显著影响。此结果与史占全等、K.A.Beauchemin 等的研究结果相一致。史占全研究了添加纤维复合酶对绵羊瘤胃代谢的影响,纤维复合酶主要含有纤维素酶、半纤维素酶。试验设 4 个重复,分别添加酶制剂 0、500、750、1 000 ml/t 原料(DM),用装有永久性瘤胃瘘管的青年湖羊,按 4×4 拉丁方设计进行试验,试验日粮精粗比为 3:7,由青贮玉米秸和混合精料组成,试验结果表明,添加纤维复

合酶对瘤胃液的各项参数无显著影响。尹清强等研究了添加纤维复合酶对绵羊瘤胃代谢的影响,结果表明添加纤维复合酶对瘤胃 CMC 酶活及 VFA 产量无显著影响。K.A.Beauchemin 等添加纤维复合酶对牛瘤胃内的发酵性状和对照组无显著差异。K.A.Beauchemin 等(1999)在精粗比为 3:7 的肉牛日粮中添加具有纤维素酶和半纤维素酶活性的复合酶,对瘤胃代谢无显著影响;但整个消化道内纤维物质的消化率提高,育肥期(120 d)的体重增加 10%。所以,有待于进一步研究纤维复合酶对整个消化道纤维物质消化作用的影响。

3 结语

在本试验饲喂精粗比为 3:7 日粮条件下,添加纤维复合酶对绵羊瘤胃内环境指标,如 VFA、pH 值等瘤胃代谢指标无显著影响。但对整个消化道内纤维物质消化率的影响还有待于做进一步研究。

参考文献

- [1] 卢庆萍.用体内、体外法研究纤维素酶酵母培养基对瘤胃代谢的影响[J].中国草食动物,1999,1(5):3-5.
- [2] 韩正康.三种饲养制度下水牛瘤胃内纤维素消化率、挥发性脂肪酸及其组成的变化[J].南京农业大学学报,1984(1):103-108.
- [3] 尹清强.纤维素酶制剂对绵羊瘤胃内蛋白酶、CMC 酶活及挥发性脂肪酸产量影响[J].草与畜杂志,1998(2):9-10.
- [4] 史占全.添加纤维素复合酶提高玉米青贮和黄贮饲用价值的研究[J].中国畜牧杂志,1999(3):3-4.

(编辑:沈桂宇,guiyush@126.com)

征订启事

欢迎订阅 2008 年《饲料工业》

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

地址:沈阳市金沙江街 16 号 6 门

邮编:110036

发行部电话:024-86391237

传真:024-86391925

投稿邮箱:tg@feedindustry.com.cn

Http://www.feedindustry.com.cn

日粮中添加不同形式赖氨酸 对南美白对虾生长及肌肉成分影响的研究

朱选 曹俊明 蓝汉冰 陈水春 陈平洁 赵红霞 马利

摘要 在低盐度5‰~6‰和水温21~26℃条件下,以每尾初重0.7g左右的南美白对虾为试验对象,分别投饲对照饲料和添加3种不同形式外源游离赖氨酸(按赖氨酸计添加量均为0.2%)试验饲料进行为期42d的试验,比较外源赖氨酸对生长效果的影响。结果表明,赖氨酸盐酸盐,赖氨酸硫酸盐对生长性能及饲料系数均无显著影响($P>0.05$),包膜赖氨酸盐酸盐显著提高特定生长率15%($P<0.05$),但对饲料系数无显著影响。添加各种形式外源赖氨酸对对虾肌肉常规组成无显著影响($P>0.05$)。

关键词 游离赖氨酸;南美白对虾;生长性能;肌肉成分

中图分类号 S963.73

鱼粉资源的短缺是水产养殖业可持续健康发展的瓶颈,替代技术的开发成为人们关注的焦点。生产实践表明,植物蛋白源对鱼粉的不科学替代易导致水产动物生长性能下降,其根本原因在于配方中鱼粉用量的降低所引起的饲料质量问题,如氨基酸不平衡、诱食性下降、抗营养因子增加等。日粮中氨基酸平衡是研究水产动物最基础的关键问题,人们对水产动物补充外源游离氨基酸(晶体氨基酸)的可利用性争议较大,主要焦点在于晶体氨基酸的水溶失以及体内同步吸收这两个方面。通过改变晶体氨基酸的溶解特性或吸收速度,可能会有利于其利用率的提高和改善。本文探讨在南美白对虾饲料中补充不同形式外源赖氨酸对南美白对虾生长的影响,对在对虾饲料中合理补充外源性氨基酸提供一些参考。

1 材料与方法

1.1 试验饲料

以鱼粉、豆粕等为主要蛋白源,鱼油及磷脂油为主要脂肪源配制等氮等能的试验基础饲料,降低基础饲料鱼粉用量后分别补充3种不同形式赖氨酸(赖氨酸盐酸盐中赖氨酸含量按78%,赖氨酸硫酸盐赖氨酸含量按50%计算,均购自长春大成实业集团有限公司;包膜赖氨酸中赖氨酸含量20%,由广东省农业科学院

畜牧研究所水产研究室提供),同时以玉米蛋白粉补充蛋白质及蛋氨酸,配成5种试验饲料,配方如表1所示。饲料原料经过40目筛粉碎,混合均匀后用SLX-80型挤压机制成直径为1.0mm的饲料,在50℃烘干冷却后放入密封袋中于-20℃冰箱中保存待用。

表1 试验饲料配方及营养水平(%)

项目	对照组	1组	2组	3组	4组
原料					
鱼粉	27	21	21	21	21
花生粕	10	9	9	9	9
酵母	3	1.5	1.5	1.5	1.5
高筋面粉	20	20	20	19.56	19.56
玉米蛋白粉	0	8	8	8	8
其它	37.96	37.96	37.96	37.96	37.96
磷酸二氢钙	1	1.35	1.35	1.35	1.35
纤维素	1.04	1.19	0.76	0	0
赖氨酸盐酸盐	0	0	0.28	0	0
包膜赖氨酸	0	0	0	1.05	0
赖氨酸硫酸盐	0	0	0	0	0.42
营养水平					
水分	9.46	8.66	8.74	8.51	7.50
灰分	9.57	10.93	9.54	9.87	9.47
粗蛋白	40.14	40.11	42.29	42.78	43.05
粗脂肪	6.26	6.11	6.26	6.45	6.58

注:其它包括豆粕23%、乌贼内脏粉5.0%、虾壳粉4.0%、鱼油1.0%、磷脂油2.0%、维生素预混物0.1%、矿物质预混物0.5%、胆碱0.3%、VC酯0.06%、粘合剂2.0%。

1.2 试验虾及饲料管理

南美白对虾虾苗购自广东新会苗种场,试验虾先在室外水泥池中暂养至体重0.7g左右,选用600尾健康均匀的虾苗随机分组于20个容积为300L的循环流水过滤水族箱中进行养殖试验。每组饲料设4个重复,每个重复30尾。试验水源为经沙滤、消毒后的天然海水,盐度5‰~6‰,养殖全过程不断充氧曝气,保持溶氧浓度>6mg/l,氨氮浓度<0.2mg/l,试验期间水温18~30℃,pH值控制在7.5~8.5。每天分别在8:30、

朱选,广东省农业科学院畜牧研究所,博士,510640,广州市天河五山大夫一街1号。

曹俊明、蓝汉冰、陈水春、陈平洁、赵红霞、马利,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-11-26

★ 广州市科技攻关重点项目(2007Z2-E0241)

15:30 和 20:30 分 3 次定量投喂,日投喂量(以饲料干物质计算)为体重的 6%~9%。每周换水 1 次,每次占总水量的 20%左右,每天观察对虾的摄食、游动、蜕壳及死亡情况。试验期为 6 周,试验结束停饲 24 h 后称重,计算存活率、相对增重率、饲料效率。

特定增长率(%/d)=100×[(Ln 末均重 - Ln 初均重)/试验天数];

存活率(%)=试验结束时虾尾数/试验开始时虾尾数×100;

饵料系数(FE)=消耗饲料总量/虾体增重。

1.3 样品分析

饲料及对虾肌肉的水分、粗蛋白、粗脂肪、粗灰分含量分别采用烘干失重法(105 ℃)、半微量凯氏定氮法、索氏抽提法和高温灼烧法(550 ℃)等国家标准方法测定。

1.4 数据分析

采用 SPSS11.5 统计软件进行统计分析。试验结果采用平均数±标准误(n=4)表示,经方差分析后再进

行 Duncan's 多重比较,进行组间显著性差异的两两比较,显著性水平采用 0.05。

2 试验结果

补充不同外源游离氨基酸对对虾生长性能的影响如表 2 所示。试验虾经过 8 周饲养,和对照组以及不补充外源赖氨酸的试验组(1 组)相比,补充包膜赖氨酸及赖氨酸硫酸盐组的存活率有增高趋势,各组间无显著性差异(P>0.05)。和对照组相比,减少鱼粉用量、降低了配方中赖氨酸后,饵料系数有增加趋势,通过补充外源赖氨酸盐酸盐、包膜赖氨酸或赖氨酸硫酸盐等提高配方赖氨酸含量,饵料系数有降低趋势,各组间无显著性差异(P>0.05)。生长性能方面,配方赖氨酸含量降低后,特定增长率有降低趋势,但差异不显著(P>0.05);以赖氨酸盐酸盐或赖氨酸硫酸盐形式补充外源赖氨酸,有提高特定生长率的趋势,但在统计上无显著性差异(P>0.05),而补充包膜形式的赖氨酸与不补充外源赖氨酸或补充晶体氨基酸的其它试验组相比,则显著提高了对虾特定增长率(P<0.05)。

表 2 补充外源游离赖氨酸对对虾生长性能的影响

项目	初重(g)	末重(g)	饵料系数	特定增长率(%/d)	存活率(%)
对照组	0.75±0.01	2.73±0.19 ^{abc}	2.51±0.3	2.29±0.13 ^b	76.67±5.27
1 组	0.74±0.03	2.63±0.49 ^{ab}	2.99±1.49	2.24±0.33 ^{ab}	74.17±8.65
2 组	0.73±0.03	2.78±0.25 ^{bc}	2.35±0.33	2.40±0.13 ^b	78.33±4.41
3 组	0.72±0.02	3.18±0.25 ^c	1.78±0.19	2.66±0.12 ^c	85.00±2.15
4 组	0.74±0.03	2.71±0.16 ^{abc}	2.19±0.23	2.32±0.06 ^b	85.83±3.44

注:表中同列数据右上角标有不同英文字母表示具有显著差异(P<0.05),下表同。

研究对虾肌肉组成的试验结果见表 3。从试验结果可以发现,各试验组及对照组之间的对虾肌肉水分、灰分、蛋白、脂肪含量差异不显著。在本试验条件下,降低赖氨酸含量或补充外源赖氨酸对对虾肌肉常规组成没有显著影响。

表 3 补充外源游离赖氨酸对对虾肌肉组成的影响(%)

项目	水分	灰分	蛋白	脂肪
对照组	79.01±0.60	5.89±0.34	85.59±1.87	2.90±0.14
1 组	79.65±0.45	6.17±0.29	87.09±1.67	2.89±0.14
2 组	79.00±0.51	6.02±0.59	84.72±0.36	2.94±0.08
3 组	79.00±0.58	6.07±0.14	84.96±1.43	2.96±0.11
4 组	78.40±0.44	6.04±0.17	85.36±2.37	2.97±0.82

注:灰分、蛋白、脂肪含量为占肌肉干重的百分含量。

3 讨论

饵料中赖氨酸含量不足,容易降低真鲷、鲤鱼、鲈鱼、对虾肌肉中的氮沉积水平,增加氨基酸分解供能,对生长不利;饵料赖氨酸的缺乏还易引起采食量的降低。因此在采用植物蛋白源部分替代鱼粉时,赖氨酸等限制性氨基酸的补充显得非常重要,但对于水产动

物来说,作为一种平衡或补充氨基酸水平的手段,晶体氨基酸的利用效果还和添加量、添加形式以及添加的对象有关。

3.1 补充晶体形式赖氨酸的效果

有关研究表明,当日粮中氮源主要由晶体氨基酸组成时,一些水产动物,如罗非鱼^[1]、鲤鱼^[2]、沟鲈^[3]、对虾^[4]、日本沼虾^[5]等几乎不能利用它们来合成体蛋白,这可能和晶体氨基酸的溶失、吸收速度等方面的因素有关^[6]。本研究降低配方中鱼粉用量后,针对赖氨酸水平的降低,分别在试验组中添加赖氨酸盐酸盐和赖氨酸硫酸盐 2 种形式的晶体赖氨酸,均对南美白对虾无显著的促生长作用,没有起到相应的补充效果。Teshima^[6]在日本对虾日粮中添加不同梯度的晶体精氨酸以补充日粮精氨酸水平的不足,但在各种添加量水平下(0.1%、6%),87%以上的精氨酸不能参与体蛋白的合成,随精氨酸添加水平的提高,精氨酸在体组织中的沉积率从 64.4%下降至 39.9%,在蛋白质中的沉积率从 6.4%下降至 2.4%,而以氨形式的排泄率从

34.5%增加到 60.1%。Peres^[7]以大菱鲂为试验对象,以晶体氨基酸混合物部分替代日粮中鱼粉蛋白后发现,添加晶体氨基酸几乎不能被有效利用。但也有文献报道了晶体氨基酸可以有效补充水产动物日粮氨基酸水平不足。葛莉莉^[8]的试验表明,赖氨酸硫酸盐可以作为南美白对虾日粮赖氨酸的补充形式,这可能和试验所用的赖氨酸硫酸盐经过一定的加工有关。Cheng^[9]以虹鳟为试验对象的研究发现,豆粕和玉米蛋白粉替代 50%鱼粉后,在日粮中补充晶体赖氨酸盐酸盐和蛋氨酸可显著提高增重率,但对饵料系数影响不显著。晶体氨基酸利用在一定程度上有相当的不确定性,除了和其自身的性质有关外,还和应用的对象、添加的剂量、配方的营养水平(如蛋白质水平、能量水平、氨基酸模式等)等因素有关,需要进一步进行相关的工作。

3.2 包膜赖氨酸的效果

采用包膜的方法降低晶体赖氨酸溶失和吸收速度已有很多研究。Peres^[10]将晶体氨基酸混合物以琼脂包膜后添加到舌齿鲈日粮中,部分替代鱼粉蛋白,结果表明,和晶体氨基酸不同,包膜晶体氨基酸可以被舌齿鲈有效利用。Pradyut^[11]以 CMC 包被晶体赖氨酸后添加到以豆粕为主要蛋白源的斑节对虾日粮中,对虾的特定生长率从 2.35%提高到 2.75%,蛋白质效率从 1.16%提高至 1.39%。Chen^[12]在斑节对虾日粮中补充包膜精氨酸,和晶体精氨酸相比极显著促进了对虾的生长。Alam^[13]比较了晶体及包膜赖氨酸和蛋氨酸在以豆粕为主的日本对虾日粮中的应用效果,同时补充包膜赖氨酸和蛋氨酸可显著促进对虾生长,特定生长率从 1.91%提高至 2.66%,而补充晶体赖氨酸和蛋氨酸则没有效果。本研究中晶体赖氨酸盐酸盐经包膜后有效补充了日粮中赖氨酸不足,显著促进了对虾的生长,这主要和经包膜后晶体氨基酸在水中的溶失及吸收均受到有效调控有关。而本研究中的赖氨酸包膜技术不同以往的包膜工艺,它是采用了一种完全可产业化生产的喷雾干燥技术进行制备,可以极其方便的应用到饲料厂的日常生产中,因此可能更具备一定的实用性。

3.3 补充外源氨基酸对常规体成分的影响

本研究中添加外源赖氨酸对对虾体蛋白及脂肪含量无显著影响。Bai^[14]在沟鲶日粮中添加赖氨酸对鱼体成分无显著影响,但 Munsiri^[15]以及 Zarate^[16]在沟鲶日粮中补充赖氨酸后则显著提高鱼体蛋白及脂肪的含量,这可能和日粮中赖氨酸的缺乏情况有关。Pradyut^[11]的研究则表明,斑节对虾日粮添加外源赖氨酸对体组成中蛋白含量没有影响,但显著降低脂肪含量。Alam^[13]在日本对虾日粮中同时补充赖氨酸及蛋氨酸没有发现对脂肪及蛋白含量有显著性影响,这可能

和基础日粮中蛋白及脂肪水平的高低有关。

参考文献

- [1] Mazid, M. A., Tanaka, Y., Katayama, T., Metabolism of amino acid in aquatic animals-III. Indispensable amino acids for Tilapia. Bull [J]. Jpn. Soc. Sci. Fish. 1978,44:739-742.
- [2] Plakas, S. M., Katayama, T., Apparent digestibilities of amino acids from three regions of gastrointestinal tract of carp (*Cyprinus carpio*) after ingestion of a protein and a corresponding free amino acid diet[J]. Aquaculture 1981 24:309-341.
- [3] Dupree, H. K., Halver, J. E. Amino acid essential for growth of channel catfish, *Ictalurus punctatus*[J]. Trans. Am. Fish. Soc. 1970 (99):90-92.
- [4] Cowey, C. B., Forster, R. M. The essential amino acid requirement of prawn *Palaemon serratus*. The growth of prawns on diets containing proteins of different amino acid composition [J]. Mar. Biol 1971,10:770.
- [5] Deshimaru, O., Kuroki, K. studies on a purified diet for prawn:III. A feeding experiment with amino acid test diets [J]. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish 1974,41:101-103.
- [6] Teshima, S., Ishikawa, M., Alam, M. S. Supplement effects and metabolic fate of crystalline arginine in juvenile shrimp *Marsupenaeus japonicus*[J]. Comp. Biochem. Physiol 2004,137(B):207-217.
- [7] Peres, H., Oliva-Teles, A. The effect of dietary protein replacement by crystalline amino acid on growth and nitrogen utilization of turbot *Scophthalmus maximus* juveniles [J]. Aquaculture 2005, 250: 395-402.
- [8] 葛莉莉,赵文艳,蔡亚军,等. L-赖氨酸硫酸盐对南美白对虾生长和消化的影响[J]. 饲料研究, 2006(9): 48-50.
- [9] Zongjia J cheng, Rondald W. Hardy Plant protein ingredient with lysine supplementation reduce dietary protein level in rainbow trout(*Oncorhynchus mykiss*)diets, and reduce ammonia nitrogen and soluble phosphorus excretion[J]. Aquaculture 2003,218:553-565.
- [10] Peres, H., Oliva-Teles, A. Effect of the dietary essential to non-essential amino acid ratio on growth, feed utilization and nitrogen metabolism of European sea bass(*Dicentrarchus labrax*)[J]. Aquaculture 2006,256:295-402.
- [11] Pradyut Biswas., A. K. Pal., N. P. Sahu. A. K. Reddy lysine and/or phytase supplementation in the diet of penaeus mondon(*Fabricsius*)juveniles:Effect on growth,body composition and lipid profile.
- [12] Chen, H. Y., Leu, Y. T., Roelants, I. Quantification of arginine requirements of juvenile marine shrimp, *Penaeus monodon*, using microencapsulated arginine[J]. Mar. Biol. 1992,114:229-233.
- [13] Md. Shah. Alam., Shin-ichi Teshima. Supplemental effects of coated methionine and/or lysine to soy protein isolate diet for juvenile kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicus*[J]. Aquaculture 2005,(248): 1-4,13-19.
- [14] Bai, S. C., Galtin, D. M. Effect of L-lysine supplementation of diets with different protein levels and sources on channel catfish *Ictalurus punctatus* (*Rafinesqus*) [J]. Aquac. Fish. Manage. 1994,25: 465-474.
- [15] Munsiri, P., Lovell, R. T. Comparison of satiate and restricted feeding of channel catfish with diets of varying protein quality in production ponds[J]. J. World Aquac. Soc. 1993,24:459-465.
- [16] Zarate, D. D., Lovell, R. T. Free lysine (L-lysine HCL) is utilized for growth less efficiently than protein-bound lysine (soybean meal) in practical diets by young channel catfish(*Ictalurus punctatus*) [J]. Aquaculture. 1997(159):87-100.

(编辑:徐世良, fx-xu@163.com)

多糖类免疫增强剂对海参肠道菌群的影响

汪婷婷 孙永欣 徐永平 金礼吉 薛继鹏 李淑英 刘钢 刘荟祺

海参(Sea cucumbers, holothurians)属于无脊椎动物中的棘皮动物门(Echi-nodermata)、海参纲(Holothuroidea),全世界约有900余种,均为海洋种类(常亚青,2004)。我国海域分布有140多种,其中刺参(*Apostichopus japonicus*)是我国北方重要的水产养殖品种之一,具有很高的营养价值、药用价值和经济价值(Hamel,2004)。

近年来,市场需求的增加导致自然刺参资源过度开发,海参的人工养殖随之产生。但高密度养殖、种质退化以及水环境污染等因素使其感染疾病的机率大大增加(王印庚,2005)。疾病防治过程中抗生素的添加产生了新的致病菌,进而导致了肠道菌群的紊乱(Gardiner,1993),对于肠道微生物区系的深入研究及对抗生素所产生的耐药性和药物残留的关注使人们开始寻求新的替代物,如益生菌、益生菌及其它饲料添加剂。

应用天然活性成分代替抗生素是抑制病原微生物生长的一个有效途径。天然多糖是一类对免疫系统

具有重要作用的高分子化合物,可以作为免疫增强剂应用于临床(Tzianabos,2000)。多糖类免疫增强剂的作用机制之一是与消化道中的菌群发生相互作用,进而提高动物的免疫力(孙永欣等,2006)。深入研究海参肠道菌群的组成及免疫增强剂的作用机理,对于在海参养殖中进行疾病的预防和治疗,以及开发新型免疫增强剂具有重要的作用。

1 海参肠道细菌的组成与功能

目前对海参肠道菌群的研究还比较少。孙奕等(1989)对新鲜刺参及人工条件下饥饿培养的刺参的消化道、体腔液和表皮所分离到的359株细菌进行分离,经鉴定其分别属于Vibro(弧菌属)、Pseudomonas(假单胞菌属)等11个主要菌属,刺参栖居地泥沙中还有Bacillus(芽胞杆菌属)和Achromobacter(无色杆菌属)(见表1)。Rainey(1996)研究表明,海参肠道中大约有43种细菌,优势菌群为弧菌属和假单胞菌属,其次是杆菌和放线菌等革兰氏阳性菌。

表1 刺参及泥样中细菌属的分布

细菌属	饥饿刺参肠道和腔液		新鲜刺参肠道和腔液		表皮		栖居底泥	
	数量	P(%)	数量	P(%)	数量	P(%)	数量	P(%)
弧菌属	47	27.8	69	83.1	35	30.2	-	-
假单胞菌属	66	39.1	8	9.6	14	12.1	3	7.3
节杆菌属	7	4.1	-	-	6	5.2	-	-
棒状杆菌属	1	0.6	-	-	1	0.8	1	2.4
不动杆菌属	10	5.9	-	-	10	8.6	1	2.4
微球菌属	4	2.4	-	-	8	6.9	-	-
奈瑟菌属	2	1.2	-	-	26	22.4	1	2.4
黄杆菌属	7	4.0	3	3.6	3	2.6	1	2.4
黄单胞菌属	4	2.4	-	-	1	0.8	1	2.4
柄杆菌属	15	8.9	-	-	-	-	-	-
产碱菌属	-	-	-	-	1	0.8	1	2.4
无色杆菌属	-	-	-	-	-	-	12	29.3
芽胞杆菌属	-	-	1	1.2	10	8.6	20	48.3
未定	7	3.6	2	2.4	1	0.8	-	-q
合计	170	100	83	100	116	100	41	100

注:资料来源孙奕等(1989)。

汪婷婷,大连理工大学环境与生命学院生物工程系,116024,大连理工大学环境与生命学院生物工程系303房间。

孙永欣、徐永平、金礼吉、薛继鹏,单位及通讯地址同第一作者。

李淑英、刘钢、刘荟祺,大连格林佰欧纳米生物技术有限公司。

收稿日期:2007-11-05

★ 国家高技术研究发展计划(863计划)专题课题《微切变-助剂互作技术生产植物型刺参免疫调节剂和水体修复剂》,项目编号:2006AA10Z412

海参肠道菌群具有其特定的生理功能,海参前肠大量的微生物来源于食物中的藻类碎屑,在前肠中见到的大量弧菌和假单胞菌也是海藻和海泥中常见的类群(孙奕,1989),这些微生物能够分泌胞外酶,协助海参肠道中的胞内酶进行消化(Clifford,1982),海参的前肠是进行酶消化的主要场所,从海藻和海泥中摄取的细菌在前肠的消化作用下数量会减少,但有一部分细菌会存活下来,在后肠定植并繁殖,形成特定的菌

群,在营养吸收、排斥其它菌群方面起重要作用。此外,海参肠道菌还能为宿主提供特定的必需氨基酸(Barlocher, 1978; Phillips, 1984),其作用方式类似于反刍动物的瘤胃微生物(Bach, 2005)。

肠道菌群的稳定对海参抵御肠道中病原菌的感染具有重要的作用(陈孝焯等,2005)。某些弧菌种(*V. harveyi*、*V. alginolyticus*、*V. splendidus*)是海水养殖业公认的重要病原菌之一,在海参养殖中曾引起巨大损失(Becker,2004;张春云,2006)。对于哺乳动物来说,弧菌感染的发病机制起源于肠道感染(Ring,2003),我们有理由怀疑海参的发病也有可能是由肠道中肠道菌群的失调引起的。

2 多糖类免疫增强剂

肠道菌群很容易受到外界因素的影响,如压力、抗生素、饵料等(Ring, 1999; Austin, 1999)。在我国,很早就能从真菌和中草药中获得天然活性成分并将其作为饲料添加剂应用于动物养殖中,显示出抗菌、促进免疫及缓解压力的作用(Wang, 1998)。这些产品中的生物活性成分非常复杂,但多糖被认为是最重要的一种免疫增强剂(Xue, 1996)。目前,从黄芪、香菇、银耳、灵芝、人参等植物体中提取的多糖已被作为免疫增强剂应用于动物养殖,并且表现出了抗菌(Yuan, 1993)、抗病毒(Liu, 1999b; Yu, 2000)、抗寄生虫(Pang, 2000)的作用。

多糖具有类似益生菌的作用(Cummings, 2002),益生菌是一种不消化的食物成分,可促进有益菌生长并抑制病原菌的繁殖(Gibson, 1995)。碳水化合物中的寡糖和多糖,已被作为益生菌添加到饲料中,调节动物肠道菌群的组成(Rycroft, 2001; Zimmermann, 2001; Korakli, 2002)。

3 多糖类免疫增强剂对海参肠道菌群作用

3.1 优化肠道微生物区系

肠道菌群是肠粘膜屏障重要的组成部分。肠道菌群既能发挥有益作用,又具致病潜力(Fuller, 1997)。当肠道菌群发生失调时,病原菌可以穿过肠道迁移到其它组织,弧菌等病原菌可以粘附在肠道上皮细胞进而导致微绒毛的严重破坏,感染区的细胞通常遭到严重破坏而失去完整性(Sugita, 1996)。

多糖经口服进入肠道后,同肠道菌群接触,影响肠道菌群的状态。肠道菌群中包含许多的化合物,可以激活动物的免疫反应,从肠道菌群获得的长时间的免疫激活作用可以引发炎症反应、免疫应答等

(Tlaskalová, 2004)。通常使用的多糖类免疫增强剂,其代谢产物可以被有益菌利用,而不能被致病菌利用,从而促进肠道有益菌的增殖,抑制有害微生物的生长。通过调节这两种微生物菌群的平衡来实现肠道微生物区系的优化(张红梅等, 2003)。

正常肠道菌群的形成为被认为是消化系统建立的有利补充,在试验过程中发现,饲料中添加 0.3% 黄芪多糖可以提高刺参肠道中产褐藻酸酶菌的数量,其分泌的褐藻酸酶有助于协助海参消化食物中的藻类碎屑。

3.2 减少肠道疾病的发生

病原菌与肠上皮细胞之间的粘附是其定植、产生毒素并最终导致肠道疾病所必需。海参病原菌通过其菌体表面的糖结合蛋白来寻找靶细胞,并使之染病,因此在海参的疾病防治中,可以用特定的外源凝集素来结合细菌的糖结构或用特定的多糖来结合肠粘膜上皮细胞表面糖受体,从而阻止减少病原菌与肠粘膜上皮细胞的结合,进而减少肠道疾病的发生(熊川男, 2005)。

多糖不仅可以阻止肠道病原菌与肠上皮细胞间的粘附,而且还可以将已经粘附在肠上皮细胞上的病原菌置换下来。外源加入的多糖可与肠上皮细胞的多糖受体结合,当多糖达一定浓度时,可使肠道上皮的多糖受体位点饱和,使已经粘附在肠粘膜上皮细胞上的病原菌解离。

从细菌中提取的一些成分,如脂多糖(LPS)等可用作佐剂,提高动物的免疫力(Rodriguez, 2005),但因其往往具有一定的毒性,从而限制了应用。中药黄芪中的黄芪多糖(APS)可以与脂多糖(LPS)竞争性结合受体细胞上的抗原决定部位,从而发挥其免疫增强作用,APS发挥其免疫增强作用可能是和机体受体细胞上的TLR4有关,是通过膜上TLR4依赖性的Ig发挥作用(Shao, 2004)。

4 小结

海参肠道菌群对宿主具有重要生理功能,天然多糖能够通过调节肠道菌群发挥其免疫机制,在海参养殖中具有重要的应用前景,深入研究免疫增强剂对海参的作用机理,对于我们彻底揭示海参的防御机制、更好的指导科研和生产具有重要的意义。

(参考文献 36 篇,刊略,需者可函索)

(编辑:徐世良, fx-xu@163.com)

方斑东风螺营养特征及促生长剂对其的影响

王冬梅 李春强 刘志昕 王维娜 彭明

摘要 试验配制了 D1~D9 9 种不同营养水平的基础饵料,用以研究方斑东风螺的营养特征,然后在 D5 饵料中分别添加了 2 种促生长剂,用以探讨促生长剂对其的影响。基础饵料营养水平对增重率、壳增长率、饵料系数、肌肉粗蛋白和粗脂肪含量有显著影响($P<0.05$),对成活率、含肉率、腹足/螺体、肌肉的粗灰分和水分无显著差异($P>0.05$)。综合生长效果和品质各项指标,D8 饵料效果最好,增重率和壳增长率与其它试验组差异显著($P<0.05$),含肉率和腹足肌肉营养成分与各试验组无显著差异($P>0.05$)。促生长剂 B 有显著的促生长作用,增重率和壳增长率显著高于对照组(D5)($P<0.05$),与 D8 的效果无显著差异($P>0.05$)。说明添加 0.2% 的促生长剂 B 能够降低 10% 的蛋白需求量,大幅度降低了鱼粉的用量,为研制方斑东风螺人工配合饵料提供参考。

关键词 方斑东风螺;营养特征;促生长剂;生长效果

中图分类号 S926.28

方斑东风螺(*Babylonia areolata*)是一种暖水性海洋贝类,生长速度快,肉味鲜美,营养丰富,耐干运,可出口创汇,经济价值高,在广东、海南、广西掀起了养殖热潮,养殖规模逐年扩大。方斑东风螺附着变态后由植食性变为肉食性,最佳饵料是蟹类,其次是虾,然后是鱼^[1],通常情况下多采用冰鲜杂鱼作为饵料。但小杂鱼一方面受资源限制,不能保证供应;另一方面饵料成本高,且易产生病原菌,因此人工配合饵料的研究迫在眉睫。对于方斑东风螺的研究,目前大多集中

在繁殖生物学、人工育苗和养殖技术等方面,在营养与饲料方面多是对天然饵料的养殖效果进行比较,缺乏系统研究^[2]。本试验首先配制了 9 种不同营养水平的人工配合饵料投喂方斑东风螺,根据生长指标、品质、肌肉营养成分分析其营养特征,并在此基础上初步探讨了促生长剂的影响和效果,为系统研究方斑东风螺人工配合饵料和专用添加剂提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验饵料的配制

表 1 基础饵料配方及营养水平(%)

项目	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	对照组
原料组成										
鱼粉	20	20	20	40	40	40	68	68	68	
豆粕	28.5	28.5	28.5	20.5	20.5	20.5	0	0	0	
α -淀粉	17	21	25	21	25	17	25	17	21	
鱼油	1	3	5	1	3	5	1	3	5	
营养水平										
粗蛋白	25.86	25.58	26.28	35.57	35.59	35.86	45.65	45.66	45.97	83.43
粗脂肪	3.41	5.36	7.55	5.28	7.86	9.19	7.83	9.76	11.98	6.9
灰分	9.36	9.83	9.44	11.45	12.02	12.15	14.36	14.26	14.74	6.11
水分	11.38	11.12	11.13	11.32	11.03	11.27	11.44	11.93	11.81	

注:1. 各个配方的其它营养成分均按酵母 2%、矿物质 0.5%、混合维生素 0.2%、磷酸二氢钙 2.7%、胆碱 0.5%、诱食剂 0.1%,不足部分用玉米淀粉调整;

2. 对照组成成分分析以去头、去壳、60℃烘干的南美白对虾肌肉为材料。

王冬梅,中国热带农业科学院热带生物技术研究所,571101,海南海口市城西学院路 4 号。

李春强、刘志昕、彭明,单位及通讯地址同第一作者。

王维娜,华南师范大学生命科学学院。

收稿日期:2007-12-03

★ 中央级公益性科研院所基本科研业务费:方斑东风螺抗病饲料添加剂的研发,海南省自然科学基金资助项目(编号 30517)

以饲喂对虾肉为对照组,试验组 9 种基础饵料以蛋白含量(25%、35%、45% 3 个梯度)、鱼油(1%、3%、5%)、粘合剂 α -淀粉(17%、21%、25%)为变化因子建立正交试验配方,配方及营养成分见表 1。原料粉碎后大部分过 80 目筛。

以不同免疫多糖、中草药、植物促生长因子、有机元素、维生素等混合制成促生长剂 A 和促生长剂 B,在 D5 中分别添加 0.2% 作为试验饵料,不添加任何促生长剂的 D5 饵料为对照,比较不同促生长剂对方斑东风螺的影响。

1.2 试验饵料及组织营养成分分析

饵料及方斑东风螺腹足肌肉的营养成分分析方法:水分含量采用 60 °C 烘干恒重法,粗蛋白的测定采用凯氏定氮法,粗脂肪的测定采用索氏抽提法,粗灰分测定采用马福炉 550 °C 灰化法。肌肉的粗蛋白、粗脂肪和粗灰分以 60 °C 烘干恒重的肌肉为材料测定。

1.3 养殖试验管理

试验于 2007 年 4 月 16 日至 6 月 16 日在海南省定利种苗有限公司进行。试验用螺为同一批苗,体重为 1.15~1.39 g,壳长为 1.80~1.92 cm。每个试验组和对照组设 3 个平行。养殖试验在 43.5 cm×43.5 cm×24 cm 的泡沫箱中进行,放入 3~4 cm 厚度的细沙,水深 16 cm,每箱放养 50 只幼螺。养殖期间,盐度 25~29,水温 19.1~30 °C, pH 值 8.0~8.5,每天下午 6:00 投饵,1 h 后收集残饵,每天上午 6:00、下午 2:00 测定水温,每 2 d 换水并测定盐度。每 15 d 测体重。

1.4 试验数据计算与统计

饵料系数=饵料摄食量/增重量;

成活率(%)=(总螺数-死亡螺数/总螺数)×100;

含肉率(%)=软体重/螺重×100;

增重率(%)= $\frac{W_t - W_o}{W_o} \times 100$;

壳增长率(%)= $\frac{L_t - L_o}{L_o} \times 100$ 。

式中: W_t ——为试验结束时的体重;

L_t ——为试验结束时的壳高;

W_o ——为试验开始时的体重;

L_o ——为试验开始时的壳高。

试验组之间指标的差异用 SPSS11.0 软件 Tukey 进行显著性分析。

2 结果

2.1 营养需求特征试验

用 9 种试验饵料和对虾肉投喂方斑东风螺的生长效果见表 2。不同营养水平的饵料对方斑东风螺的增重率、壳增长率有显著影响。所有试验组之间增重率差异显著 ($P < 0.05$); D3 和 D4 壳增长率未出现差异,其它各组间差异显著 ($P < 0.05$)。各试验组以 D8 饵料的增重率、壳增长率最高,分别为 93.09% 和 15.08%,与其它 8 个饵料组的差异显著 ($P < 0.05$)。饵料的不同营养水平对方斑东风螺成活率无显著影响 ($P > 0.05$),试验期间,只有 D1 组死亡 1 只螺,其它饵料组成活率均为 100%。根据增重率这一指标,饵料效果由好到差的顺序为 D8>D9>D5>D7>D6>D4>D3>D2>D1。

表 2 不同饵料对方斑东风螺生长的影响

项目	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	对照组
初体重(g)	1.17±0.17	1.29±0.15	1.29±0.25	1.28±0.12	1.26±0.18	1.26±0.16	1.37±0.15	1.19±0.16	1.23±0.19	1.36±0.13
终体重(g)	1.77±0.52	2.01±0.61	2.03±0.63	2.05±0.62	2.29±0.83	2.13±0.66	2.43±0.80	2.29±0.59	2.30±0.65	3.14±0.85
增重率(%)	51.18±0.39 ^a	55.10±0.41 ^a	56.29±0.84 ^b	59.81±0.43 ^b	81.75±0.31 ^a	69.75±0.52 ^c	76.71±0.75 ^c	93.09±0.69 ^b	86.83±0.77 ^c	130.84±0.99 ^a
初壳长(cm)	1.84±0.12	1.87±0.10	1.87±0.11	1.87±0.12	1.87±0.10	1.87±0.14	1.88±0.14	1.86±0.13	1.86±0.11	1.88±0.09
终壳长(cm)	1.98±0.24	2.02±0.27	2.04±0.23	2.04±0.21	2.11±0.26	2.08±0.24	2.15±0.27	2.14±0.20	2.13±0.19	2.42±0.26
壳增长率(%)	7.63±0.14 ^d	8.04±0.12 ^b	9.11±0.18 ^b	9.11±0.41 ^b	12.86±0.21 ^c	11.21±0.29 ^c	14.33±0.50 ^d	15.08±0.45 ^b	14.50±0.43 ^c	28.69±0.71 ^a
饵料系数	1.54±0.08 ^a	1.44±0.06 ^{ab}	1.04±0.1 ^c	1.11±0.04 ^{bc}	1.00±0.12 ^c	0.98±0.04 ^c	1.04±0.08 ^c	1.11±0.07 ^{bc}	0.99±0.13 ^c	
存活率(%)	99.00±1.4 ^a	100.00±0.0 ^a	100.00±0.0 ^a	100.00±0.0 ^a	100.00±0.0 ^a	100.00±0.0 ^a	100.00±0.0 ^a	100.00±0.0 ^a	100.00±0.0 ^a	100.00±0.0 ^a

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

养殖螺的品质和肌肉营养成分见表 3,各试验组间含肉率和腹足/螺体的比值均无显著差异 ($P > 0.05$)。D1、D2、D3 的腹足/螺体之比与对照组差异显著 ($P < 0.05$),而 D4~D9 6 个试验组与对照组差异不显著 ($P > 0.05$)。饵料营养水平对腹足肌肉粗蛋白和粗脂肪含量有不同程度影响,腹足肌肉粗蛋白含量在 70.33%~72.64%之间,D4、D5、D7、D8 与对照组之间无显著差异 ($P > 0.05$),

其余组与对照组相互之间差异显著 ($P < 0.05$)。粗脂肪含量在 10.78%~12.92%,D2 粗脂肪含量最高,与 D3、D4、D5、D7、D8 组及对照组差异显著 ($P < 0.05$),其余组与对照组相互之间无显著差异 ($P > 0.05$)。腹足肌肉的粗灰分在 12.04%~13.54%之间,水分在 71.82%~73.83%之间,各试验组之间及与对照组之间差异不显著 ($P > 0.05$)。

2.2 不同促生长剂的影响(见表 4、表 5)

表 3 饵料对东风螺品质及腹足肌肉成分的影响

项目	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	对照组
含肉率(%)	28±2 ^b	29±2 ^b	29±4 ^b	30±07 ^b	32±3 ^b	32±8 ^b	28±3 ^b	32±2 ^b	28±5 ^b	40±9 ^a
腹足/螺体	0.16±0.01 ^b	0.16±0.02 ^b	0.16±0.01 ^b	0.18±0.01 ^{ab}	0.18±0.01 ^{ab}	0.18±0.02 ^{ab}	0.18±0.03 ^{ab}	0.20±0.04 ^{ab}	0.18±0.02 ^{ab}	0.25±0.03 ^a
水分(%)	72.32±2.58 ^a	73.26±3.12 ^a	73.83±2.25 ^a	72.11±2.88 ^a	71.82±2.08 ^a	73.43±3.18 ^{ab}	72.01±2.97 ^a	72.71±3.08 ^a	72.65±2.93 ^a	71.99±3.16 ^a
粗蛋白(%)	70.33±0.62 ^a	71.21±0.20 ^{bc}	70.43±0.62 ^a	72.64±0.28 ^b	71.71±0.13 ^{ab}	71.74±0.14 ^{cd}	72.00±0.25 ^{ab}	72.05±0.17 ^{ab}	71.11±0.11 ^{bc}	72.51±0.57 ^a
粗脂肪(%)	11.36±0.47 ^{ab}	12.92±0.58 ^a	10.92±0.25 ^b	11.05±0.23 ^b	10.95±0.57 ^b	11.18±0.77 ^{ab}	11.08±0.18 ^b	10.78±0.59 ^b	11.27±0.22 ^{ab}	11.03±0.27 ^b
粗灰分(%)	12.40±2.01 ^a	12.93±1.01 ^a	12.62±1.49 ^a	13.31±1.20 ^a	12.33±1.18 ^a	13.54±1.00 ^a	12.96±0.67 ^a	12.41±1.34 ^a	12.04±0.35 ^a	11.49±1.29 ^a

注:粗蛋白、粗脂肪和粗灰分以 60 °C 烘干恒重的腹足肌肉为材料的分析结果。

表4 不同促生长剂的饵料对方斑东风螺生长的影响

项目	初体重(g)	终体重(g)	增重率(%)	初壳长(cm)	终壳长(cm)	壳增长率(%)	成活率(%)	饵料系数
D8	1.23±0.11	2.29±0.79	93.09±0.69 ^a	1.86±0.16	2.14±0.20	14.97±0.23 ^a	100.00±0.0	1.16±0.14 ^a
D5	1.26±0.19	2.29±0.93	81.75±0.31 ^b	1.87±0.18	2.11±0.26	12.86±0.28 ^b	100.00±0.0	1.08±0.17 ^a
促生长剂 A	1.24±0.18	2.15±0.65	80.07±0.53 ^b	1.86±0.15	2.11±0.25	13.46±0.19 ^b	100.00±0.0	1.12±0.16 ^a
促生长剂 B	1.22±0.18	2.34±0.79	92.28±0.63 ^a	1.86±0.10	2.13±0.16	14.61±0.18 ^a	100.00±0.0	1.03±0.10 ^a

表5 不同促生长剂的方斑东风螺品质和腹足肌肉营养成分

项目	含肉率(%)	腹足/螺体	腹足水分(%)	粗蛋白(%)	粗脂肪(%)	粗灰分(%)
D8	32±2 ^a	0.20±0.04 ^a	72.71±3.08 ^a	72.05±0.17 ^a	10.78±0.59 ^a	12.41±1.34 ^a
D5	32±3 ^a	0.18±0.01 ^a	71.82±2.08 ^a	71.71±0.13 ^a	10.95±0.57 ^a	12.33±1.18 ^a
促生长剂 A	31±4 ^a	0.17±0.02 ^a	72.34±2.27 ^a	73.08±0.48 ^a	10.53±0.21 ^{ab}	11.87±0.52 ^a
促生长剂 B	31±2 ^a	0.18±0.01 ^a	71.71±2.09 ^a	72.34±0.57 ^{ab}	10.40±0.24 ^a	12.70±1.04 ^a

由表4和表5可见,添加了促生长剂的试验组不仅与对照组(D5)进行了比较,还与饵料效果最好的D8进行了比较。由试验结果可知,促生长剂A对饵料效果无显著影响($P>0.05$),促生长剂B有显著的促长作用,增重率和壳增长率与对照组差异极显著($P<0.05$),与最好的D8饵料相同。促生长剂对成活率、饵料系数和方斑东风螺的品质和腹足肌肉营养成分与对照组和D8均无显著差异($P>0.05$)。

3 讨论

3.1 方斑东风螺的营养需求特征

本试验结果表明,不同营养水平对方斑东风螺的生长影响显著。以增重率、壳增长率、成活率、饵料系数为主要指标,参考方斑东风螺品质和组织营养成分,在本试验范围内,总的趋势是低蛋白、低脂肪的饵料养殖效果差,高蛋白、高脂肪的饵料养殖效果较好,符合肉食性水产动物的一般规律。9种饵料中D8饵料效果最好,其粗蛋白含量45.66%、粗脂肪含量9.76%,说明肉食性的方斑东风螺幼螺的营养需求特征是高蛋白、高脂肪;当蛋白含量相同时,脂肪含量显著影响方斑东风螺的生长和饵料效果。本试验的粗蛋白需求量与许贻斌等^[9]报道的36.47%~43.10%最适蛋白需求量上限接近。东风螺是用食管吸食,螺不能很好摄取粘度低、易散的饲料,而粘度太大的饲料,螺吸食费力,而且饲料可消化性降低。

饲料营养水平影响水产动物的生化组成和含量^[6],本试验也印证了这一结论。不同饵料显著影响了方斑东风螺腹足肌肉的粗蛋白、粗脂肪含量,但对水分和粗灰分无显著影响。然而李广丽等^[7]用不同蛋白水平的饲料投喂南美白对虾、潘英^[8]检验了海水和淡水中用不同饵料投喂的南美白对虾,虾体组分均没有显著变化。

3.2 促生长剂的影响

配合饲料的效果不仅取决于主要营养成分的合理搭配,还取决于是否加添加剂以及添加剂的质量^[9]。

促生长剂是一类重要的添加剂,为提高配合饲料效果、促进动物健康生长,国内外都在积极开展促生长剂的研究,但几乎都集中在鱼虾类,有关贝类促生长剂的研究还未见报道。本试验的方斑东风螺促生长剂是由对虾促生长剂配方改进而成,促生长剂A的促生长效果不明显,促生长剂B具有显著促进方斑东风螺生长的作用。D5饵料粗蛋白35.59%、粗脂肪7.86%,添加0.2%的促生长剂B,增重率、壳增长率显著高于对照组。为了缓解鱼粉的供求矛盾,从养殖试验的结果来看,促生长剂B组与D8的生长效果、含肉率、肌肉营养成分无显著差异,说明在饲料中添加0.2%的促生长剂,可节约10%的蛋白,而且通过使用20.5%的豆粕可节约28%的鱼粉。随着养殖业在我国的迅速发展,饲料原料如鱼粉等蛋白质原料资源匮乏,价格居高不下成为制约养殖业的一个重要瓶颈问题,加强诱食剂和促生长剂的研究具有重要的理论和实际意义。

参考文献

- [1] 罗杰,杜涛,梁飞龙,等.方斑东风螺养殖方式的初步研究[J].海洋科学,2004(7):39-43,75.
- [2] 王冬梅,钱家英,王维娜,等.东风螺营养与饵料研究[J].水利渔业,2007(2):39-40,65.
- [3] 许贻斌,柯才煊,王德祥,等.方斑东风螺对饲料蛋白质需求量的研究[J].厦门大学学报(自然科学版),2006(增刊):216-219.
- [4] 艾春香.海水养殖鱼类营养及其配合饲料研发[J].饲料广角,2004(10):39-44.
- [5] 艾春香,李少菁,王桂忠.饲料营养对水产品品质的影响[J].台湾海峡,2003(增刊):43-51.
- [6] Ruey-Liang Chou, Mao-Sen Su. 军曹鱼稚鱼饲料蛋白质和脂肪的最适含量[J].福建水产,2002(4):80-84.
- [7] 李广丽,朱春华,周歧存.不同蛋白质水平的饲料对南美白对虾生长的影响[J].海洋科学,2001(4):1-4.
- [8] 潘英,王如才,罗永巨,等.海水和淡水养殖南美白对虾肌肉营养成分的分析比较[J].青岛海洋大学学报,2001(6):828-834.
- [9] 李爱杰.水产动物营养与饲料学[M].北京:国农业出版社,1996:140.

(编辑:徐世良, fi-xu@163.com)

微量元素添加剂烘干温度试验研究

邓援超 赖晓桦 舒莲梅

作为饲料微量元素添加剂,硫酸铜($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)、硫酸亚铁($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)、硫酸锌($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)和硫酸锰($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)都含有结晶水,其原料中还常常含有游离水。结晶水和游离水的存在将导致饲料的流动性变差、不易粉碎、结块和亚铁氧化等问题。为避免这些问题,需要除去这些硫酸盐的全部游离水和部分结晶水,需要对其进行烘干处理。而在烘干处理中,合适的烘干温度和烘干机类型是十分重要的,为此笔者对其进行了试验研究。

1 微量元素添加剂烘干试验

一水硫酸锰作为饲料微量元素锰的添加剂,其化学性质稳定,不易结块,容易粉碎,一般不需要进行烘干处理。而五水硫酸铜、七水硫酸亚铁、七水硫酸锌则都需要烘干。

据资料介绍,五水硫酸铜在30℃时成为三水硫酸铜,110℃时成为一水硫酸铜,150℃时成为无水硫酸铜;七水硫酸亚铁在57℃时成为四水硫酸亚铁,65℃时成为一水硫酸亚铁,约300℃时成为无水硫酸亚铁;

七水硫酸锌在30℃成为六水硫酸锌,70℃成为一水硫酸锌,280℃时成为无水硫酸锌。

然而这些数据都是在特定的试验条件和方法下测出来的,在工厂里进行批量处理时,一般采用烘干方式除去水分,受加热速度、烘干时间和烘干温度等因素的影响,其情况将会发生变化,所以有必要对这些硫酸盐的烘干温度进行研究。

1.1 硫酸盐烘干温度试验

为探讨这些硫酸盐的烘干温度,笔者对五水硫酸铜、七水硫酸亚铁、七水硫酸锌按不同的温度段进行了试验,并在不同的时间段进行了检测。为保证数据的准确性,原料采用分析纯。

每份样品取200g,在不同的温度下烘干,在烘干后1、2和4h称其重量,重量减少量即为失水量,称重设备为分析天平,取小数点后两位,烘干设备为普通试验烘箱,通风情况为烘箱的常规通风。试验结果见表1、表2、表3。

表1 硫酸铜烘干试验(g)

项目	30℃	35℃	40℃	45℃	50℃	60℃	70℃	80℃	100℃	120℃
1 h	198.79	198.67	198.06	191.28	178.00	168.06	154.41	140.88	140.70	140.45
2 h	198.79	198.18	197.16	188.44	171.66	163.76	-	140.86	-	-
4 h	198.73	198.18	195.24	183.69	170.00	159.38	145.56	140.82	140.70	140.40

表2 硫酸亚铁烘干试验(g)

项目	30℃	35℃	40℃	45℃	50℃	60℃	70℃	80℃	100℃	120℃
1 h	199.62	195.60	180.55	164.23	159.85	155.20	142.47	127.33	126.71	126.30
2 h	199.16	192.98	174.11	162.62	158.42	152.31	-	127.18	-	-
4 h	197.96	188.12	169.33	161.22	157.01	148.32	131.92	127.05	126.71	126.06

表3 硫酸锌烘干试验(g)

项目	30℃	35℃	40℃	45℃	50℃	60℃	70℃	80℃	100℃	120℃
1 h	199.69	195.07	186.94	173.50	161.83	146.84	125.85	125.61	125.56	125.22
2 h	199.01	192.85	183.50	168.91	157.28	137.87	-	125.69	-	-
4 h	197.20	189.87	179.16	164.98	152.43	130.35	125.85	125.85	125.54	125.15

1.2 试验结果分析

1.2.1 硫酸盐的失水量随烘干温度的不同而不同

以烘干4h后的试验为例,硫酸盐的失水量的百

分比见表4,折算成结晶水数量见表5。

从上述试验可见,采用普通烘箱烘干硫酸盐,硫酸盐在不同的烘干温度下失去的水分是不同的。五水硫酸铜主要失水温度为45~80℃左右,在这个温度段五水硫酸铜约失去4个结晶水;七水硫酸亚铁主要失水温度为35~80℃左右,在这个温度段七水硫酸亚铁约失去6个结晶水;七水硫酸锌主要失水温度为35~70℃左右,在这个温度段七水硫酸锌约失去6个结晶水。

受试验条件所限,上述数据虽有少量的误差,但总体说来,试验的结论是成立的。

邓援超,湖北工业大学机械工程学院,副教授,430068,湖北武汉。

赖晓桦,广西工业职业技术学院。

舒莲梅,中粮集团武汉科学研究设计院。

收稿日期:2007-11-12

表4 硫酸铜、硫酸亚铁、硫酸锌在不同烘干温度下的失水量(%)

项目	30 ℃	35 ℃	40 ℃	45 ℃	50 ℃	60 ℃	70 ℃	80 ℃	100 ℃	120 ℃
硫酸铜	0.64	0.91	2.38	8.15	15.00	20.31	27.22	29.58	29.65	29.80
硫酸亚铁	1.02	5.91	15.33	19.39	21.50	25.84	34.04	36.47	36.64	36.97
硫酸锌	1.40	5.02	10.42	17.51	23.78	34.82	37.08	37.08	37.23	37.42

表5 硫酸铜、硫酸亚铁、硫酸锌在不同烘干温度下的失水量折算成结晶水数量(个)

项目	30 ℃	35 ℃	40 ℃	45 ℃	50 ℃	60 ℃	70 ℃	80 ℃	100 ℃	120 ℃
硫酸铜	0.09	0.13	0.33	1.13	2.08	2.82	3.77	4.10	4.11	4.13
硫酸亚铁	0.16	0.91	2.37	2.99	3.32	3.99	5.25	5.62	5.65	5.70
硫酸锌	0.22	0.80	1.66	2.79	3.80	5.56	5.92	5.92	5.94	5.99

1.2.2 采用普通烘箱烘干硫酸盐,随烘干的时间不同,硫酸盐的失水量也不同

从表1、2、3可以看出,五水硫酸铜在45~70℃,七水硫酸亚铁在35~40℃和60~70℃,七水硫酸锌在35~60℃,烘干1h和烘干4h,其失水量是明显不同的,结果见表6。

表6 硫酸铜、硫酸亚铁、硫酸锌在不同烘干温度下的失水量(%)

项目	35 ℃	40 ℃	45 ℃	50 ℃	60 ℃	70 ℃
硫酸铜	1 h		4.36	11.00	15.67	22.80
	4 h		8.15	15.00	20.31	27.22
硫酸亚铁	1 h	2.20	9.73		22.40	28.78
	4 h	5.91	15.33		25.84	34.04
硫酸锌	1 h	2.49	6.53	13.25	19.08	26.58
	4 h	5.02	10.42	17.51	23.78	34.82

从表6可见,五水硫酸铜在烘干温度为60℃时,

烘干1h与烘干4h,失水量差值可达4.64个百分点;七水硫酸亚铁在烘干温度为40℃时,烘干1h与烘干4h,失水量差值可达5.60个百分点;七水硫酸锌在烘干温度为60℃时,烘干1h与烘干4h,失水量差值可达8.24个百分点。由此可见,烘干的时间对硫酸盐的含水量有较大的影响。

上述试验是在静态下做出来的,实际生产中硫酸盐是逐步加热的,且加热时间较短,为此笔者做了如下试验,以探讨逐步增热和时间较短时对硫酸盐失水量情况。

1.3 匀速增热和短时间对硫酸盐烘干试验

以每分钟10℃的增温速度对五水硫酸铜、七水硫酸亚铁、七水硫酸锌加热,测量其失水量的情况,为防止氧化,采取惰性气体保护。试验结果见表7。

表7 硫酸铜、硫酸亚铁、硫酸锌匀速加热时的失水量

项目	温度段与失水量				
五水硫酸铜	20~60 ℃	60~150 ℃	150~240 ℃	240~280 ℃	280~600 ℃
	1.5%	24.5%	1.5%	5%	3%
七水硫酸亚铁	20~30 ℃	30~75 ℃	75~115 ℃	115~265 ℃	265~350 ℃
	1%	14%	17.5%	3.5%	0
七水硫酸锌	20~35 ℃	35~105 ℃	105~230 ℃	230~285 ℃	285~300 ℃
	5%	29%	2%	6%	0

由表7可见:五水硫酸铜被加热到600℃时,总失水量为35.5%,折合结晶水数目约为5个,此时五水硫酸铜成为无水硫酸铜;主要失水量的温度段是20~150℃,失水量为26%,折合结晶水数目约为3.6个,此时加热时间为13min。七水硫酸亚铁被加热到265℃时,总失水量为36%,折合结晶水数目约为6个,此时七水硫酸亚铁基本变成一水硫酸亚铁是;主要失水量的温度段是20~115℃,失水量为32.5%,折合结晶水数目约为5个,此时加热时间约为10min。七水硫酸锌被加热到285℃时,总失水量为42%,折合结晶水数目约为7个,此时七水硫酸锌基本变成无水硫酸锌;主要失水量的温度段是20~105℃,失水量为34%,折合结晶水数目约为5.4个,此时加热时间约为9min。

2 试验总结

综合上述试验可知,硫酸盐的含水量与其烘干温

度和烘干时间都有关系,如采用烘房类设备进行五水硫酸铜、七水硫酸亚铁、七水硫酸锌的烘干,其烘干时间可以较长,如1h以上,此时五水硫酸铜和七水硫酸亚铁的合理烘干温度不低于80℃,七水硫酸锌不低于70℃;采用烘干机对五水硫酸铜、七水硫酸亚铁、七水硫酸锌进行连续烘干,一般烘干时间较短,几分钟至十几分钟,此时五水硫酸铜的合理烘干温度不低于150℃,七水硫酸亚铁和七水硫酸锌的合理烘干温度不低于110℃。

上述结论和数据可供饲料界广大同仁参考,当烘干时间有变化时,烘干温度也应该做相应的调整。另外硫酸盐的烘干不仅仅是温度问题,在设计处理工艺时,还需考虑诸如原料流动性和亚铁氧化等问题。

(编辑:高雁, snowyan78@tom.com)

不同饲料铜源体外溶解度的研究

刘 强 董宽虎 王 聪 黄应祥 裴 华 刘 曦

摘 要 选取硫酸铜、富铜酵母、赖氨酸铜、蛋氨酸铜和包被铜作为牛的饲料铜源,选用去离子水、稀酸溶液和缓冲液分别模拟牛消化道内的不同环境,进行体外溶解性试验,试验结果表明,硫酸铜、赖氨酸铜和蛋氨酸铜在各种溶剂中均有较高的溶解度,富铜酵母在缓冲液中的溶解度低,但在稀酸中的溶解度较高。包被铜在去离子水和缓冲液中的溶解度低,但在稀酸中的溶解度高。因此,包被铜是饲料无机铜源,蛋氨酸铜、赖氨酸铜是适宜有机铜源。

关键词 铜源;溶解度;溶解性试验

中图分类号 S816.79

铜是牛体内铜蓝蛋白、超氧化物歧化酶等多种酶的成分和激活剂,参与血红蛋白的形成、骨骼的构成及被毛色素的沉着等。铜不足或过量均会引起体内代谢紊乱,造成生产性能降低。目前在牛饲料中添加的铜源主要是硫酸铜,在瘤胃内溶解为铜离子和硫酸根离子,铜离子与饲料中的硫酸盐或含硫氨基酸经瘤胃微生物作用转化产生的硫离子及饲料中钼形成的钼离子相互作用形成氧硫钼酸铜或硫代钼酸铜,使铜的利用率低下,粪铜排泄增多,对环境造成污染。而有机铜可避免与钼、硫互作形成难溶解的盐,排除铜离子对瘤胃微生物抑制作用,提高铜的生物学利用率,减少对环境的污染。因此,研究不同饲料铜源体外溶解度有着重要意义。为此,本试验选择无机铜和有机铜共5种铜源,通过体外模拟牛消化道内环境,测定各种铜源在不同环境下的溶解度,比较将其作为牛饲料铜源的性能。

1 材料与方法

1.1 试验材料

硫酸铜($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$),分析纯化学试剂;富铜酵母(Copper-enriched yeast)(含铜10%),课题组自行研制;赖氨酸铜(Copper lysine)(饲料级,含铜8%、氨基酸45.5%),为广州某科技有限公司提供的L-赖氨酸螯合铜;蛋氨酸铜(Copper methionine)(饲料级,含铜17%、氨基酸80%),为广州某科技有限公司提供的

DL-蛋氨酸螯合铜;包被铜(Rumen by-pass copper)(含铜7.10%),本课题组自行研制的过瘤胃铜。

模拟真胃酸性溶剂:用0.1%的盐酸(pH值2.3)溶液模拟真胃内环境。

模拟瘤胃缓冲溶液:在早晨饲喂后2h采集瘤胃液1L,用4层纱布过滤,在39℃水浴放置45min,然后1500 r/min离心2min,取上清液,8500 r/min离心20min,将其沉淀全部置于0.5L CO_2 饱和的磷酸盐缓冲溶液中,取该溶液与pH值7.3的缓冲液以1:1的比例混合模拟瘤胃内环境(Martinez,1970)。缓冲液的配制方法如下: NaHCO_3 1.75 g、 Na_2HPO_4 0.6 g、 KH_2PO_4 0.30 g、 NaCl 2.00 g、 KCl 2.00 g、 MgSO_4 0.075 g、 CaCl_2 0.25 g、尿素 1.00 g、葡萄糖 0.05 g、 VB_{12} 125 μg 、生物素 5 μg ,加去离子水1000 ml溶解,预热到39℃通入 CO_2 直至澄清为止。

1.2 试验方法

按每100 ml溶剂加入铜50 mg分别计算并准确称取各种铜源,再分别加入到100 ml去离子水、模拟真胃酸性溶液和模拟瘤胃缓冲溶液中,然后在保持39℃水浴振荡(WMK-10型恒温温度控制器)的条件下,在去离子水中溶解24 h,在缓冲液和0.1%的盐酸中各自分别溶解1、3和24 h。每种溶剂不同时间点各做5个重复。溶解结束后,定量滤纸过滤。滤液采用AA-2610型原子吸收分光光度计测定其中的铜浓度。

1.3 数据统计分析

试验数据应用SPSS10.0统计分析软件的One-way-Anova进行方差分析和LSD多重比较。

2 结果与分析

不同铜源溶解度见表1。在去离子水中24 h,硫酸铜、赖氨酸铜和蛋氨酸铜溶解度显著高于富铜酵母($P<0.05$),包被铜显著低于富铜酵母($P<0.05$)。在模拟瘤胃缓冲液中,1 h时,硫酸铜溶解度显著高于其它铜

刘强,山西农业大学动物科技学院,博士,030801,山西太谷。

董宽虎、王聪(通讯作者)、黄应祥、裴华、刘曦,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-12-10

★ 山西省科技攻关项目(2007031054),山西省青年科技研究基金(2007021034)项目资助

源,赖氨酸铜和蛋氨酸铜显著高于富铜酵母和包被铜,包被铜显著低于其它铜源($P<0.05$);3 h时,溶解度大小顺序依次为硫酸铜、赖氨酸铜、蛋氨酸铜、富铜酵母和包被铜;24 h时,硫酸铜、赖氨酸铜和蛋氨酸铜之间无显著差异($P>0.05$),但均高于富铜酵母,包被

铜显著低于富铜酵母($P<0.05$)。在模拟真胃环境酸性溶剂中,1 h时,硫酸铜、赖氨酸铜和蛋氨酸铜无显著差异($P>0.05$),但均显著高于富铜酵母和包被铜;在3 h和24 h时,各种铜源的溶解度无显著差异($P>0.05$),但赖氨酸铜和蛋氨酸铜全部溶解。

表1 各种铜源在去离子水、稀酸溶液与缓冲液中的溶解度

溶剂	铜源					SE	P
	硫酸铜(%)	富铜酵母(%)	赖氨酸铜(%)	蛋氨酸铜(%)	包被铜(%)		
去离子水							
24 h	96.34 ^a	87.82 ^b	94.35 ^a	92.68 ^a	16.56 ^c	8.19	0.024
瘤胃缓冲液(pH值7.3)							
1 h	91.78 ^a	21.68 ^c	84.63 ^b	82.54 ^b	8.25 ^d	9.46	0.036
3 h	95.87 ^a	25.79 ^c	92.54 ^{ab}	91.64 ^b	15.42 ^d	9.58	0.029
24 h	99.65 ^a	76.56 ^b	99.79 ^a	99.87 ^a	21.65 ^c	8.11	0.041
稀酸溶液(pH值2.3)							
1 h	96.23 ^a	94.46 ^b	100.00 ^a	100.00 ^a	92.65 ^b	0.92	0.003
3 h	98.56	99.62	100.00	100.00	96.54	0.56	0.245
24 h	99.97	99.98	100.00	100.00	98.53	0.45	0.524

注:同行数据肩标相同字母表示差异不显著($P>0.05$),不同字母表示差异显著($P<0.05$)。

3 讨论与结论

硫酸铜、赖氨酸铜和蛋氨酸铜在各种溶剂中均有很高的溶解度。富铜酵母在模拟瘤胃缓冲溶液中溶解度较低,但在模拟真胃酸性溶液中溶解度较高。包被铜在去离子水和缓冲液中的溶解性差,但在酸性溶液中的溶解性很好。Kegley等(1994)利用硫酸铜、氧化铜及赖氨酸铜作为铜源,分别测定其在去离子水、稀酸溶液以及人工模拟瘤胃液中的溶解性,试验结果与本试验一致。Ward等(1996)的试验结果表明,硫酸铜在去离子水和0.1%的盐酸中都有很高的溶解度,铜蛋白盐在去离子水和稀酸中的溶解度与本试验的结果相似。Ledoux等(1995)通过试验测定发现,硫酸铜在去离子水中的相对溶解度为98.9%,在中性柠檬酸铵溶液中的溶解度为98.8%,在0.4%的盐酸中溶解度为95.5%,与本试验结果相一致。

反刍动物的瘤胃将饲料中的有机硫或无机硫都转化为硫化物,一方面硫化物与瘤胃中游离的铜离子形成难溶的硫化铜;另一方面硫又与钼一起和铜发生拮抗作用,生成难以被溶解利用的复合物,降低铜的消化吸收率。牛吸收铜的主要部位在小肠和大肠,铜主要以稳定的可溶性复合物(如氨基酸形式的复合物)形式吸收,这就要求饲料铜源在后肠道必须有较高的溶解度。从本试验结果可以看出,硫酸铜虽然在后胃肠道环境中的溶解度很高,但由于其在瘤胃环境下的溶解度也较高,易与硫、钼发生拮抗作用。相比之下,包被铜在瘤胃环境中的溶解度较低,而在真胃及后肠

道的溶解度较高,这样可以减少拮抗作用的发生,也可避免铜对瘤胃微生物的负面影响(Martinez, 1970),从而提高了铜的消化利用率。

试验采用的赖氨酸铜和蛋氨酸铜是螯合铜,是铜离子(螯合物形成体)和赖氨酸或蛋氨酸(配位体)配合而成的一种稳定的、电中性的、具有环状结构的配合物。富铜酵母为铜蛋白盐,是一种稳定的化合物。Heinrich等研究报道,蛋氨酸锌中的蛋氨酸部分在很大程度上不被瘤胃微生物所降解,在模拟瘤胃环境条件下蛋氨酸锌在96 h后仍不能被微生物利用。美国Zinpro公司曾用体外法评定其产品Availa-Zn(蛋氨酸锌)和Availa-Cu(赖氨酸铜)在瘤胃中的稳定性,所做的5个试验都表明氨基酸螯合物在模拟瘤胃环境下是稳定的,通过瘤胃率都达到90%以上。本试验的结果表明赖氨酸铜和蛋氨酸铜在各种溶剂中均有较高的溶解度;富铜酵母在瘤胃中的溶解度较低,但在真胃环境下的溶解度很高。根据以上结果表明,赖氨酸铜、蛋氨酸铜和铜蛋白盐都能避开瘤胃中硫、钼元素对铜元素的拮抗作用,并且在后胃肠道的溶解性好,有利于铜的吸收与利用,并可避免对微生物的影响。

根据溶解性分析认为,包被铜是较好的饲料无机铜源,赖氨酸螯合铜、蛋氨酸螯合铜和富铜酵母是适宜的有机铜源。

(参考文献10篇,刊略,需者可函索)

(编辑:王芳,xfang2005@163.com)

布拉酵母菌活菌制剂制备方法的比较研究

楚杰 张大伟 郝永任 毕春元 王凤山

摘要 通过对布拉酵母菌生长特性的试验,确定了制备布拉酵母菌活菌制剂的最佳生长条件,并进行了活菌制剂的制备,与喷雾干燥法相比,确定了冷冻干燥法为最佳工艺。在此工艺基础上,做了3批次冻干试验,菌种存活率达到85%以上,室温及37℃贮存3个月存活率分别为78%、54%,其肠衣微囊在模拟肠环境中50 min达到完全释放。

关键词 布拉酵母菌;制备工艺;存活率

中图分类号 S816.3

布拉酵母菌作为微生态制剂的一种,在疾病防治方面有着特殊的作用机制,包括直接拮抗肠道病原菌、抑制毒素及细菌毒素的产生、降解毒素及毒素受体、中和毒素、增强肠道粘膜的免疫功能等作用^[1]。最新研究表明,布拉酵母菌能抑制大肠杆菌内毒素的毒性^[2],降低肠道内大肠杆菌数量^[3]。但是,作为微生态生物制剂,要想保证其生物疗效作用,必须在肠道内活菌数达到一定水平^[4]。因此,为了制备出高活性的菌剂,本文对布拉酵母菌的活菌制剂的制备方法做了比较研究。

1 材料与方法

1.1 菌种

布拉酵母菌,本实验室保藏。

1.2 培养基

沙氏葡萄糖斜面及沙氏葡萄糖摇瓶^[5]培养基。

1.3 最适生长特性试验

活菌制剂的制备需要高浓度的、处于对数期的菌体,因此本研究首先对布拉酵母菌液体培养最适生长温度、最适生长pH值及其培养基组成进行了优化筛选实验,并绘制了菌体生长曲线。

1.4 冷冻干燥法制备布拉酵母菌制剂

保护剂



菌种活化→液体培养→离心收集菌体→制备细胞悬浮液(浓缩10倍)→平衡一段时间→冷冻48 h→溶化→检验

1.5 喷雾干燥法制备布拉酵母菌制剂

胶液



菌种活化→液体培养→离心收集菌体→制备细胞悬浮液→匀浆→喷雾干燥→收集菌粉→检测

1.6 布拉酵母菌冻干粉与菌液的贮存存活率比较

将经冷冻干燥制备的菌剂放入玻璃瓶中,密封,分别在室温和加速实验37℃(1个月相当于常温3个月)下贮存,每隔一定时间取样,分别测定活菌数,与发酵菌液在室温下的存活率比较。

1.7 布拉酵母菌微囊模拟肠环境释放试验

将冷冻干燥菌粉与一定浓度淀粉乳混合,加入少许微晶纤维素与乳糖,制成颗粒,再用肠溶性丙烯酸树脂溶液将其喷雾,在表面形成肠衣膜,制成肠溶颗粒或直接将制成的颗粒装入肠溶性胶囊中。

取肠溶性微囊1 g,放入100 ml模拟肠液中^[6],在37℃恒温摇床中,180 r/min振荡观察,活菌计数。

2 结果与分析

2.1 最适生长特性试验

试验结果表明,布拉酵母菌的最适生长温度为30℃,最佳发酵初始pH值5.5,最适生长培养基为沙氏葡萄糖或麦芽汁,考虑到麦芽汁培养基中的固形物残渣难以除去,可能会影响后期的菌剂制备工作,因此我们选择沙氏葡萄糖培养基为最适生长培养基,根据绘制的生长曲线,确定最适菌体收集时间为18~20 h。为了得到高质量、高数量的活菌,以便于菌剂制备,我们在以上得出的最佳培养条件下收集菌体,来做以下活菌制剂制备试验,并就喷雾干燥法和冷却干燥法进行比较选取最优的制备工艺。

2.2 喷雾干燥法制备布拉酵母菌制剂

2.2.1 进风温度对布拉酵母菌活性的影响

在喷雾干燥试验过程中,进风温度的高低对布拉酵母菌的存活率有很大影响,本试验采用了3种不同的进风温度,实际进风温度和出口温度如表1所示。

楚杰,山东省科学院生物研究所,250014,济南市经十路科院路。

张大伟、郝永任、毕春元,单位及通讯地址同第一作者。

王凤山,山东大学药学院生化与生物技术药物研究所。

收稿日期:2007-08-27

表1 喷雾干燥进风温度和出口温度(°C)

序号	进风温度	出口温度
1	114	60~70
2	125	76~80
3	135	80~85

以样品活菌数为纵坐标,进风温度为横坐标作最适进风温度图。比较进风温度对菌体活性的影响。结果见图1。

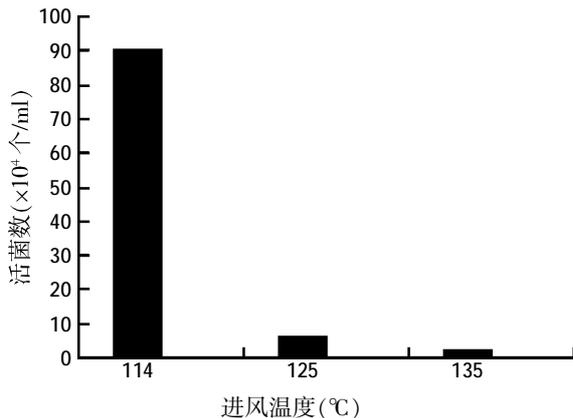


图1 喷雾干燥进风温度对布拉酵母菌活菌数的影响

通过图1可以看出,进风温度对布拉酵母菌的存活率有着巨大影响,114 °C时活菌数明显地较125 °C和135 °C高,如果温度低于114 °C时喷雾样品湿度很大,且粘壁严重,不易收集,所以确定最适进风温度为114 °C。

2.2.2 高压匀浆对细胞活性的影响

本试验采用沙氏葡萄糖培养基,接种后30 °C恒温振荡培养18~20 h,5 000 r/min离心10 min,收集菌体,以5%阿拉伯胶、5%麦芽糊精、3%大豆蛋白为胶液,与菌泥混合后,加入高压均质机中瞬间匀浆,用平板计数法测定匀浆前后胶液活菌数。比较匀浆前后布拉酵母菌的活菌数,结果见图2。

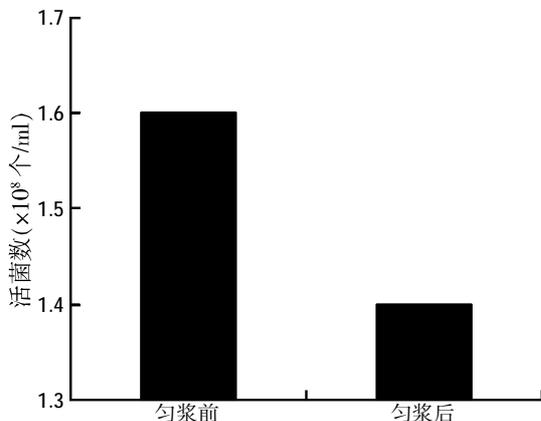


图2 匀浆前后布拉酵母菌的活菌数

从图2可以看出,高压匀浆瞬间对菌体的活性有一定影响,因高压均浆本身对细胞有破碎作用因此本试验以不匀浆为宜。采用旋涡混均达到混匀的目的。

2.2.3 脱脂乳、麦芽糊精和含菌量3因素2水平正交试验

在单因子试验的基础上,我们在进风温度为114 °C,出风温度为60~70°C的条件下,设计了以下正交试验,结果见表2。

表2 正交试验

项目	因素			存活率(%)
	A 脱脂乳(%)	B 麦芽糊精(%)	C 含菌量(ml)	
1	8	5	50	9.30
2	8	8	100	10.72
3	10	5	100	40.56
4	10	8	50	41.52
K ₁	20.02	49.86	50.82	
K ₂	82.08	52.24	51.28	
k ₁	10.01	24.93	25.41	
k ₂	41.04	26.12	25.64	
R	31.03	1.19	0.23	
最优方案	A ₂	B ₂	C ₂	

注:包埋剂体积为200 ml,含菌量意为200 ml包埋剂加入相当于原发酵液(1.95×10⁸个/ml)体积的菌量。

结果表明,喷雾干燥法制备布拉酵母菌制剂,损伤程度较大,菌种成活率低,因此,本试验对此方法包埋菌体不再作进一步工艺探讨。

2.3 冷冻干燥法制备布拉酵母菌制剂

本试验经单因子及正交试验得出了冷冻干燥的优化试验条件^[7],即4%甘油、10%脱脂乳的生理盐水溶液、pH值5.5、平衡时间60 min、含菌量为13~15亿。进行了3批冻干制备微囊的重复试验。结果见表3。

表3 优化条件下的稳定性试验

项目	1	2	3
胶液含菌量(cfu/ml)	1.42×10 ⁹	1.30×10 ⁹	1.39×10 ⁹
冻干粉含菌量(cfu/ml)	1.28×10 ⁹	1.16×10 ⁹	1.18×10 ⁹
存活率(%)	90.13	89.37	85.12

表3结果可以看出,在试验得出的优化条件下所进行的3批重复试验,其存活率都在85%以上,说明了冷冻干燥制备活菌制剂的工艺稳定、可行。

冻干燥制备布拉酵母制剂,存活率高、贮存期长的关键在于有效保护剂的使用,我们选择了甘油与脱脂乳为保护剂,甘油具有多个羟基,可以与菌表面自由基联结起来,避免菌体暴露在介质中,还可与蛋白质形成氢键以取代水,保证了蛋白质的稳定性;在溶液中它们易结合水分子,发生水合作用,减少了游

离水的含量并增加了溶液的粘性,从而减缓晶核的生长过程,使形成的冰晶较细小,达到保护细胞的目的。脱脂奶粉能溶于水,溶液可呈过冷状态,即在冰点以下的相同温度下该溶液中的溶质(电解质)浓度较小,蛋白质的盐析变性也较少,另外,它们能减少细胞暴露于氧气和介质中的面积,同时在菌体表面形成保护层,减少由于细胞壁损坏而引起的胞内物质泄漏,从而起到保护作用^①。而在喷雾干燥中,存活力下降的主要原因是因为热失活。Charpentier 等^②扫描电镜下观察微粒发现:脱脂乳微球表面呈现出明显可见的裂缝,这些裂缝有利于干燥后颗粒内部热量的排出,减少热对内部微生物的伤害。但因布拉酵母菌对热敏感度高,在颗粒内部热量的排出过程中死亡率较大,故制备过程活菌数少,因此,我们选择冷冻干燥工艺制备活菌制剂,并在此基础上,做了以下试验。

2.4 布拉酵母菌冻干粉与菌液的贮存存活率比较(见表 4)

表 4 贮存实验中活菌数的变化(cfu/g)

日期	2005.7.7	2005.7.12	2005.8.3	2005.9.7	2005.10.21
冻干样(室温)	1.5×10 ⁹	1.47×10 ⁹	1.38×10 ⁹	1.34×10 ⁹	1.17×10 ⁹
发酵菌液(室温)	1.5×10 ⁹	6×10 ⁷	2×10 ⁶	1.9×10 ⁵	3.1×10 ⁴
冻干样(37℃)	1.5×10 ⁹	1.4×10 ⁹	1.1×10 ⁹	8.9×10 ⁸	8.1×10 ⁸

从表 4 中可以看出,经不同温度贮存存活率分别为:布拉酵母菌发酵菌液在室温下贮存活菌数呈指数下降,而布拉酵母菌冻干粉在常温下贮存 3 个月的存活率为 78%,在 37℃下贮存 3 个月存活率为 54%。因此,布拉酵母菌冻干粉在存贮过程中存活率比菌液有很大提高。

2.5 布拉酵母菌微囊模拟肠环境释放试验(见表 5)

表 5 布拉酵母菌微囊在模拟肠环境菌体释放情况

释放时间(min)	10	20	30	40	50
活菌数(cfu/ml)	1.05×10 ⁹	3.69×10 ⁸	9.1×10 ⁸	1.2×10 ⁹	1.26×10 ⁹

从表 5 中可以看出,随着时间延长,菌体逐渐从微囊中释放出,菌体从 10 min 开始释放,到 50 min 溶出率达到 100%。

3 结论及前景

布拉酵母菌是一种适温的、非毒性酵母菌,它具有耐热性,最适生长温度为 30℃,能在 37℃下生长,但长时间培养存活性较差。布拉酵母菌形态椭圆,个体比一般酵母大,在摇瓶发酵培养基中培养时,8 h 进

入对数生长期,18~20 h 达到稳定前期,此时菌体量最大,活性较强,收集菌体为最佳。布拉酵母菌生长特性为:最佳初始 pH 值 5.5,最适生长温度为 30℃。

在布拉酵母菌冷冻干燥优化工艺的条件下,进行了 3 批次冻干试验,存活率均达到 85%以上,室温及 37℃条件下分别贮存 3 个月存活率为 78%和 54%,经肠衣材料二次包被后,模拟肠环境活菌释放试验,50 min 释放率达到 100%,本研究同时进行了喷雾干燥工艺的摸索,两者相比,冷冻干燥工艺技术作用条件温和,对细胞损伤程度小,加上保护剂的作用,因此包埋率高,是一种可行的工艺,这也是目前生产其它生物活菌制剂最有效的手段。

布拉酵母菌做为微生态制剂的一种,既有其它微生态制剂所具有的作用,又具有降解和抑制毒素的作用,它属于真菌,对抗生素存在天然抗性,不能被抗生素所抑制或杀灭,能与抗生素同时使用,在畜禽生产中长期应用不易产生毒副作用。本文对布拉酵母菌活菌制剂制备方法做了初步比较研究,随着人们对健康和生态环境的高度重视及在畜禽养殖中的进一步研究,布拉酵母菌在畜禽养殖业中将有广阔的应用前景。

参考文献

- [1] 楚杰,王凤山,张大伟.布拉酵母菌的生物学作用及防治疾病应用研究进展[J].药物生物技术,2006,13(1):71-73.
- [2] Buts JP, De Keyser N. Saccharomyces boulardii Produces in Rat Small Intestine a Novel Protein Phosphatase that Inhibits Escherichia coli Endotoxin by Dephosphorylation [J]. Pediatr Res, 2006, 60(1):24-29.
- [3] akil.I.yilmaz O. Influence of oral intake of Saccharomyces boulardii on Escherichia coli in enteric flora[J]. Pediatr Nephrol,2006, 21(6): 807-10.
- [4] 刘吉成,王惠艳,刘伯阳.双歧杆菌模拟胃肠环境中抗性的研究[J].中国微生态学杂志, 2003,15(3):147-149.
- [5] 陈天寿主编.微生物培养基的制造与应用[M].中国农业出版社.
- [6] 蒋爱民,阳晖,曹稳.肠溶性嗜酸乳杆菌微胶囊工艺研究[J].中国食品学报,2006,6(1):253-257.
- [7] 楚杰,张大伟,郝永任.布拉酵母菌冻干保护剂的研究[J].饲料工业,2005,26(18):19-21.
- [8] 曹永梅,张灏,许时婴.保护剂在冷冻干燥双歧杆菌中的作用[J].食品与发酵工业,2000,26(2):40-45.
- [9] Charpentier, C. A. Gadille, P. Micro-encapsulation of rhizobacteria by spray-drying:formulation and survival studies [J]. Microencapsulation,1998(15):639-659.

(编辑:沈桂宇,guiyush@126.com)

营养基因组学研究及其在动物营养中的应用前景

李宗付 张天伟 邓雪娟

随着生物科学和现代生物技术的发展,促进了动物营养学与分子生物学结合,在细胞和分子水平上研究动物的营养代谢规律,通过预测营养过程、调控营养途径来提高动物产品质量成为当今动物营养学研究的热点(李德发,2004)。近年来,基因组学和生物信息学在生物技术领域的研究获得了巨大进展,为在营养学领域研究营养素与基因的交互作用打下了良好的基础。在此背景下,营养基因组学(Nutrigenomics)应运而生,并迅速成为营养学研究的新前沿(Della Penna,1999)。营养基因组学研究将以分子生物学技术为基础,应用DNA芯片和蛋白质组学等技术阐明营养素和基因的相互作用。本文综述了营养基因组学的形成、发展、研究内容与应用,并对其在动物营养与饲料科学研究中的应用前景进行了展望。

1 营养基因组学的形成和发展

1953年,DNA双螺旋结构的发现标志着分子生物学的开始。1961年,DNA中碱基对序列转录基因密码的破译成功,标志着基因时代的到来。进入21世纪后,人类及模式生物的基因组草图和基因组序列图相继绘制完成。人类基因组测序完成后,研究的重点已由测序与辨识基因深入到探察基因的功能,营养科学也由营养素对单个基因表达及作用的分析,开始向基因组及表达产物在代谢调节中的作用研究,即向营养基因组研究方向发展(Elliott等,2002)。以人类基因组“工作框架图”完成为标志,生命科学已进入了后基因组时代。

1986年,美国科学家Thomas Rodefick提出了功能基因组学(Functional Genomics),从而使生命科学研究的重心从揭示生命的所有遗传信息,转移到了在分子整体水平对功能的研究上。基因组学是指对所有基因进行基因组作图(包括遗传图谱、物理图谱和转录图谱)、核苷酸序列分析、基因定位和基因功能分析的一门科学。但是,基因仅是遗传信息的携带者,而生命功能的真正执行者是蛋白质。基因组学由于自身的局限性,

它不能回答诸如蛋白质的表达水平和表达时间、翻译后修饰及蛋白质之间或与其它生物分子的相互作用等问题。后基因组时代生命科学的中心任务就是阐明基因组所表达的真正执行生命活动的全部蛋白质的表达规律和生物功能,由此产生了一门新兴学科——蛋白质组学(Proteomics),它与基因组学共同从整体水平解析生命现象,功能性基因组学和其它学科研究交叉,促进了一些学科的诞生,如营养基因组学。

2 营养基因组学的概念和研究内容

营养基因组学研究日粮或营养物质在基因学范畴中在某个特定时刻对细胞、组织或生物体的转录组、蛋白质组和代谢组的影响的一门学科,是利用基因组学研究成果及方法技术来发现与营养的合成、积累、吸收、转运及代谢等有关基因的综合方法。它有助于解决日粮中的物质对基因组的影响和增加对日粮成分如何影响代谢的理解(Muller等,2003;Mutch等,2005)。营养基因组学实际上包括4门组学,①转录组学,或微阵列技术,监控整个基因组在mRNA水平上的变化(Scheel等,2002);②蛋白质组学,包括蛋白质结构的检测、表达和分子互作(Kusmann等,2005);③代谢组学,鉴定和量化细胞或生物液中大量的代谢物及这些物质如何调节生理紊乱的学科;④表观基因组学,从空间和时间上检测和鉴定DNA的甲基化类型、DNA的遗传和DNA的包装(Reck等,1999)。

3 基因组学在营养素作用机制研究中的应用

将基因组学应用于营养学领域,通过基因表达的变化可以研究能量限制、微量营养素缺乏、葡萄糖代谢等许多问题。通过研究,可以检测营养素对整个细胞、组织或系统及作用通路上所有已知和未知分子的影响,因此,这种高通量、大规模的监测无疑将使得研究者能够真正全面地了解营养素的作用机制。

通过应用分子生物学技术,科学家能够测定单一营养素对某种细胞或组织基因表达谱(Gene Expression Profile)的影响。Blanchard(2000)应用mRNA差异显示技术比较了缺锌与常锌大鼠小肠基因表达的变化,结果发现,因缺锌所致的小肠中两种肽类激素、小肠脂肪酸结合蛋白、小肠碱性磷酸酶II等的mRNA均发生显著变化;而且缺锌组动物小肠Uroguanylin mRNA表达较常锌组增高了2.5倍。Uroguanylin是一种肽类激素,与肠道液体平衡的维持及腹泻的发生有关。研究结果提示,缺锌可能存在诱导小肠Uroguanylin表达水

李宗付,中国农业科学院饲料研究所,100081,北京海淀中关村南大街12号。

张天伟,河南省南阳农业学校。

邓雪娟,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-12-03

平升高的机制,且与腹泻的发病有关。Moore 等(2001)应用 cDNA 阵列技术对缺锌小鼠进行差异表达基因的筛选,得到髓样细胞白细胞过多症序列 21、DNA 损伤修复及结合蛋白 23B、小鼠层粘连蛋白受体、淋巴细胞特异性酪氨酸蛋白激酶(the lymphocyte-specific protein tyrosine kinase, LCK)等 4 条差异表达基因,并进一步对 LCK 在信号转导中的作用进行了验证。龙建纲等(2004)应用基因芯片技术检测了缺锌仔鼠脑中差异表达基因。初步确认缺锌仔鼠脑中有 8 条差异表达基因,其中 5 条锌上调序列、3 条锌下调序列,该研究结果为缺锌致脑功能异常机制的研究提供了重要线索。目前,营养基因组学的研究多侧重于多基因表达的分析,即转录组学研究。Mariadason 等(2000)比较了两种短链脂肪酸和两种药物作用于结肠癌细胞系 SW620 后转录组的变化。由于丁酸盐和姜黄素两种短链脂肪酸与 trichostain A 和 sulindac 两种药物在转录组反应上的相似,因而作者认为其作用机制可能类似。通过比较丁酸盐和 trichostain A 的作用后发现,二者均可抑制组蛋白乙酰化酶活性。而组蛋白乙酰化酶的改变似乎可对组蛋白乙酰化的基因表达及其动力学产生协同调节,相关的诱导与抑制基因也已得到鉴定。另一项蛋白质组学研究表明,用丁酸盐处

理结肠癌细胞 HT29, 可影响 ubiquitin-proteasome 系统及细胞凋亡信号途径相关蛋白的表达,结果提示丁酸盐除可通过组蛋白乙酰化途径调节基因表达外,还能通过蛋白水解调节细胞周期、凋亡及分化过程中关键蛋白的表达(Tan, 2002)。同样,利用胰岛 β 细胞发现姜黄素也能诱导基因表达(Xiao, 2001)。可见,借助功能基因组方法,不仅可在分子水平开展营养素与药物的比较研究;而且为阐明营养素作用机制提供了新的工具。

4 营养基因组学在动物营养和饲料研究中的应用

4.1 建立畜禽对营养素需要量的分子生物标志物

应用含有畜禽全部基因的 cDNA 芯片来研究在营养素缺乏、适宜和过剩等状况下的基因表达图谱,将发现更多的、能用来评价营养状况的分子生物标志物,这将为制定更准确、更合理的营养需要量提供分子基础。目前已有的饲养标准中营养推荐量(RDA)都不是根据基因表达来制定的,而且也只有极少数是根据生化指标来制定的。如果借助于功能基因组学的技术手段,营养素可通过对从 DNA 和 RNA 到蛋白质等不同阶段基因表达的调控及从细胞到整体等不同层次的研究来寻找、发现适宜的分子标记物,作为评价动物营养素需要量的新指标,见图 1。

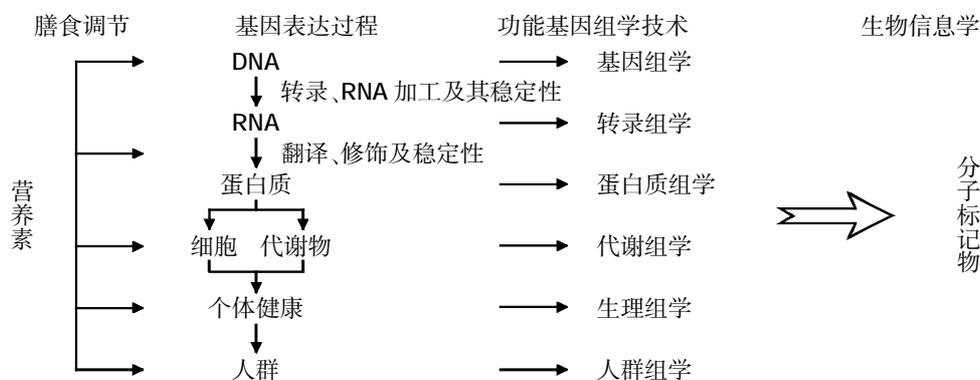


图 1 营养基因组学与分子标记物的发现(郭富存等, 2006)

4.2 动物营养学研究将从群体营养趋向个体营养

应用基因组学技术将阐明与营养相关的单核苷酸多态性(SNPs), 并用来研究畜禽个体对某些疾病的易感性以及对营养素需求的个体间差异。营养素的推荐供给量或参考量都是对群体而言的,然而畜禽个体之间的基因是有差异的, 畜禽个体基因的单核苷酸多态性可能是个体对营养素需求及响应差异的重要分子基础。因此,将来的动物营养学研究将逐渐趋向个体化, 通过对基因构成以及代谢型的鉴定(Peregrin, 2001), 列出不同生理阶段畜禽个体的最佳营养需要量, 提供能满足群体或个体营养需要的最佳日粮,即

为日粮定制提供参考。

4.3 鉴定饲料生物活性物质和评定营养价值

应用 DNA 芯片、蛋白质组学技术以及代谢组学技术来筛选和鉴定具有生物学活性的饲料化学物质或植物提取物并应用于养殖生产中。结合药物基因组学、免疫基因组学以及营养基因组学研究,将确认出一批极有价值的饲料添加剂生物基因指标,并可以以这些指标为基础全面和更好地评定畜禽饲料的营养价值。中国科学院已经启动“天然化合物基因库”,这将有助于饲料中具有生物活性物质的研究以及提出更合理的营养供给和疾病预防措施。另外,应用植物

基因组学技术,可以阐明营养素和生物活性物质的生物合成途径,并能生产出富含营养素和具有生物活性植物化学物质的绿色环保优质的功能性饲料添加剂(Della Penna,1999)。针对个体基因片段的差异,也可确定或预见某些畜群对某种疾病具高发的风险性。因此,应用营养基因组学技术将有助于开发出一些对畜群针对性强、功效明显、科技含量高的动物保健品。

4.4 构建畜禽营养基因组学数据库

基因组学研究耗资巨大,为避免重复研究,应构建营养基因组学数据库。基本营养素与基因表达的数据库从理论上讲应是人类共享,但由于个体及种族对食物营养素需求以及相互作用的个体差异,使得他国的数据库不可能完全替代本国的营养基因组学数据库。因此,一个国家应有自己的营养基因表达数据库,这样就可使营养学以及相关领域的研究人员(尤其是没有条件进行基因营养学研究的)查询或使用与营养有关的基因表达数据。

4.5 动物营养基因组学与食品安全

营养对健康的危害不仅是对营养素摄入的不足和不平衡,也有可能是来自饲料中的抗营养因子、过敏物质以及饲料中的有毒、有害因素。基因组学技术也将为饲料质量以及畜产品的安全性评价,包括饲料、畜产品中病原菌检测,饲料原料掺杂、识伪的鉴别以及资源环境保护起到推动作用(Van der,2001)。

5 动物营养基因组学的应用前景及展望

营养基因组学是由人类基因组学催生出药物基因组学后,掀起的第二轮个性化医学浪潮,营养基因组学也正越来越被科学界重视。随着人类基因组计划的完成及正在开展的家畜基因组测序工作的顺利进行,必将为营养基因组学在家畜营养与饲料科学研究领域的应用提供宽广的平台。营养基因组学研究的深入发展可进一步阐明营养代谢的分子机制,为新的营养调控理论的建立提供基础,利用强有力的生物学技术,科学家能够测单一营养素对细胞或组织基因谱表达的影响。未来营养基因组研究的重点主要有以下几个方面:营养物质代谢和免疫调节效应的分子机制;基因型对营养利用与动物健康的影响;营养物质对动物繁殖、组织发育和生长发育等性状基因表达调控的分子机制;营养物质对肉质相关性状基因表达调控的影响;在不同营养水平与饲料组成条件下对调控饲料摄入、代谢基因表达水平的影响。大量的基因信息和新颖的研究技术,为营养基因组学的深入发展提供了有力的保障。在未来的10年里,营养基因组学领域将快速的发展,这个领域将结合基因组学、蛋白质组学、基因型鉴定、转录组学和代谢组学,必将对动物

营养与饲料科学研究乃至对整个畜牧业生产都会产生深远的影响。

参考文献

- [1] 暴永平. 后基因组时代的营养学研究 [J]. 中国科学院院刊, 2002 (4):264-266.
- [2] 郭福存,赵兴绪. 营养基因组学研究最新进展[J]. 饲料研究,2007 (2):14-18.
- [3] 蒋与刚,刘静.营养基因组学的研究进展[J].生理科学进展,2006,37 (1):22-26.
- [4] 李德发.营养调控肉品质量的研究现状及发展趋势.动物营养研究进展论文集[C],2004:7-14.
- [5] 龙建纲,张燕琴,沈慧,等.基因芯片技术筛选孕期缺锌仔鼠脑中差异表达基因[J].营养学报,2004(26):89-93.
- [6] Beck AM, Ovesen L. Modification of the nutrition questionnaire for elderly to increase its ability to detect elderly people with inadequate intake of energy, calcium, vitamin C and vitamin D[J]. Eur J Clin Nutr 1999,53:560-569.
- [7] Blanchard RK & Cousins RJ. Regulation of Intestinal Gene Expression by Dietary Zinc: Induction of U roguanylin mRNA by Zinc Deficiency[J]. J Nutr, 2000, 130: S1 393~S1 3q97.
- [8] Della Penna D. Nutritional genomics; manipulating plant micronutrients to improve humanhealth [J]. Science, 1999, 285:375-379.
- [9] Elliott R, Ong T J. Nutritional genomics[J]. British Medical Journal. 2002,324:1 438-1 442.
- German JB,Roberts MA,Fay L,et al.Metabolomics and individual metabolic assessment:the next great challenge for nutrition[J].J Nutr,2002,132(9):2 486-2 487
- [10] Kussmann M, Raymond F,Affolter M. OMICS -driven biomarker discovery in nutrition and health [J]. J Biotechnol, 2006, 124(4): 758-787.
- [11] Mariadason JM, Corner GA, Augenlicht LH. Genetic reprogramming in pathways of colonic cell maturation induced by short chain fatty acids: comparison with trichostatin A, sulin-dac, and curcumin and implications for chemop revention of colon cancer [J]. Cancer Res, 2000, 60:4 561-4 572.
- [12] Moore JB,Blanchard RK,McCormackWT, et al. cDNA array analysis identifies thymic LCK as up regulated in moderate murine zinc deficiency before T-lymphocyte population changes[J]. J Nutr, 2001, 131: 3 189-3 196.
- [13] Müller M, Kersten S. Nutrigenomics:goals and strategies [J]. Nat Rev Genet, 2003,4(4):315-322
- [14] Mutch, D.M., Wahli, W., Williamson, G. Nutrigenomics and nutrigenetics: the emerging faces of nutrition [J].Faseb J ,2005,19,1 602-1 608.
- [15] Peregrin T. The new frontier of nutrition science : Nutrigenomics [J]. J . Am. Dietetic Assoc., 2001, (101), 1 306-1 306.
- [16] Scheel, J., Von Brevem, M. C., Horlein, A., Fischer, A., Schneider, A. & Bach, A. Yellow pages to the transcriptome[J]. Pharmacogenomics ,2002,3:791-807.
- [17] Tan S, Seow TK, L iang RC, et al. Proteome analysis of butyrate treated human colon cancer cells [J] (HT229). Int J Cancer,2002, 98: 523-531.
- [18] Van der Werf M J, Schuren F H J, Bijlsma S et al. Nutrigenomics: Application of genomics technologies in nutritional sciences and food technology[J]. J . Food Science, 2001,(66): 772-780.
- [19] Xiao J, Gregersen S, Kruhoffer M, et al. The effect of chronic exposure to fatty acids on gene exp- resion in clonal insulin-producing cells: studies using high density oligonucleotide microarray[J]. Endocrinology, 2001, 142:4 777-4 784.

(编辑:王 芳,xfang2005@163.com)

鱼类营养性脂肪肝的研究进展

王菊花 薛敏 丁建中 任泽林

近年来集约化水产养殖业中因饲料营养不平衡,添加受细菌、病毒污染或霉变原料,添加违禁物质(如某些激素和抗生素等),投喂不当等因素引起的营养性疾病日趋严重。这些疾病不仅症状复杂,而且容易继发传染性疾病,临床上难于诊治,往往造成鱼类肝、肾、脾严重受损。其中以脂肪肝,尤其以营养性脂肪肝最为常见,已成为严重困扰水产养殖业持续健康发展的难题之一。营养性脂肪肝可导致鱼类生长缓慢,饵料系数升高,抗应激能力下降,在高温季节还会引起鱼类暴发性死亡。目前国内外针对营养性脂肪肝已做了大量研究,本文就营养性脂肪肝的症状及诱因、鱼类肝脏脂肪代谢的调控机制、抗营养性脂肪肝因子等方面的研究加以综述,以期对鱼类营养性脂肪肝的防治和更进一步深入研究提供参考。

1 营养性脂肪肝的症状及诱因

Philips(1948)研究发现,虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)摄食碳水化合物含量高的饲料后,腹壁、肠壁及肝脏内中性脂肪过量沉积,严重者表现出脂肪肝病变。此后,许多学者研究发现,大多数养殖鱼类尤其是海水养殖鱼类摄食高脂肪、高蛋白或高糖类饲料之后,鱼类往往出现食欲不振、游动无力、生长缓慢、抗病力降低、饵料报酬降低等不易察觉的现象,无明显表现症状。病理解剖见肝脏组织表面有脂肪沉积,肠管表面脂肪覆盖明显,肝组织脂肪变性明显,组织空泡化,细胞核偏位,细胞体积增大,肝组织淤血等症状。

王菊花,北京英惠尔生物技术有限公司,100081,北京市海淀区中关村南大街12号农科院科海福林大厦二层。

薛敏,中国农业科学院饲料研究所水产动物营养与饲料研究室。

丁建中、任泽林,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-12-03

★ 国家十一五支撑计划项目(2006BAD12B06;2006BAD12B08-02),北京市科委农业科技成果转化资金项目(BJLH2005090)支持

诱发鱼类营养性脂肪肝的因素很多,包括养殖环境、生长发育阶段、饲料品质、营养物质组配不平衡及抗脂肪肝因子缺乏等,而营养物质组配不平衡及抗脂肪肝因子的缺乏是最主要的因素。Lie等(1988)研究指出,大西洋鳕(*Gadus morhua*)肝脏中大量蓄积的脂肪主要来源于饲料中脂肪在鱼体内的直接积累以及饵料中糖类和蛋白质在机体代谢过程中的转化合成。Deplano等(1989)认为,饲料脂肪过量(和)营养组配失衡以及缺少抗脂肪肝因子是舌齿鲈(*Dicentrarchus labrax*)肝脏脂肪化病变的重要原因。Lin等(1990)在草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)营养性脂肪肝的病理发生和发展过程研究中也得出相似的结论。肝脏中的脂肪若不能及时转运出去,就会引起肝脏脂肪代谢紊乱,形成营养性脂肪肝,而诱发营养性脂肪肝的营养因素主要包括脂肪、蛋白质和碳水化合物几个方面。

1.1 脂肪

饲料中脂肪的含量和来源与鱼体脂肪含量和组成及脂肪肝的形成关系密切。饲料中脂肪含量不足或缺乏,可导致鱼类代谢紊乱,饲料蛋白质利用率下降,同时还可引起脂溶性维生素和必需脂肪酸缺乏症。但饲料中脂肪含量过高,则会转化成能量以脂肪的形式沉积在肝脏、肠系膜和肌肉中,其中以肝脏储存的能量最多。Gaylord等(2000)研究发现,杂交条纹鲈(*Morone chrysops*×*M.saxatilis*)鱼体脂肪含量与饲料中脂肪含量存在正相关,当饲料中脂肪含量超过20%时,肝脂含量显著增加;在相同蛋白水平下,肝体比(HSI)随着日粮脂肪水平的增加而显著增加。有研究发现,日粮脂肪水平与HSI之间存在极强的线性关系。红姑鱼(*Sciaenops ocellatus*)肝胰脏脂肪含量与日粮脂肪水平成正比,红姑鱼均发生不同程度的营养性脂肪肝病,其病变程度与日粮脂肪水平成正相关。

饲料脂肪来源不同,其所含不饱和脂肪酸的组成也不同。在鱼类中不饱和脂肪酸(UFA),特别是n-3和n-6高度不饱和脂肪酸(HUFA)是鱼类维持生长和机体代谢所必需的。n-3和n-6 HUFA缺乏或不平衡

可使鱼肝细胞膜对脂肪的交换能力减弱,脂肪在肝脏中的沉积速度加快,肝脂含量升高,继而诱发脂肪肝病。Bell等(2001)采用以10%和25%菜籽油+鱼油为脂肪源的饲料饲喂大西洋鲑,HSI约为3.61和3.59;而摄食以菜籽油为唯一脂肪源的饲料,HSI为4.40,较前者明显升高。在蛋白质、脂肪和糖类等主要营养素配比基本不变的情况下,饲料中n-3 HUFA含量的多少显著影响金头鲷(*Sparus aurata*)肝脂含量和肝体比。摄食n-3 HUFA低的饲料,金头鲷肝脂含量比摄食前增加;而当摄食n-3 HUFA高的饲料后,其肝脂含量比摄食前略低,表明n-3 HUFA具有降低肝脏脂肪积累的作用。

1.2 蛋白质

肝脏脂肪一部分由饲料中的脂肪转化而来,而其余由蛋白质和碳水化合物转化而来。与其它脊椎动物相似,蛋白质转化在鱼类脂肪积累中占有重要地位,当饲料中蛋白含量超过鱼类需要量时,过剩的蛋白质则通过一系列转化合成脂肪并储存起来。有研究指出,团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)脂肪肝的发生与饲料中蛋白质添加水平有密切关系。曹俊明等(1997a)研究指出,摄食高蛋白饲料也使草鱼肝脏的脂质含量显著升高,特别是使中性脂质的积累大幅度增加;但低蛋白质和中蛋白质饲料对肝脏脂质积累的影响差异并不显著,说明草鱼能够将多余的蛋白质转化合成脂肪并储存在肝脏中。当饲料蛋白质含量过高时则导致中性脂质不能被有效地转运到肝外器官,而使肝脏脂质积累大量增加,严重时发生脂肪肝。

1.3 碳水化合物

碳水化合物(糖类)是动物生长能量供给源中最经济的一种。但是对于大部分水生动物而言,对碳水化合物的利用能力都非常低。碳水化合物含量和来源均会影响鱼类肝脏脂肪的积累,当其摄入量不足,则饲料蛋白质利用率下降,但长期摄入过量碳水化合物,糖类则经过一系列转化会导致脂肪在肝脏和肠系膜大量沉积,发生脂肪肝。Dias等(1998)研究发现,随着淀粉摄入量增多,葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G-6-PD)、苹果酸酶(ME)和乙酰辅酶A羧化酶(ACoAC)活性增强,表明淀粉不仅可以通过能量的蓄积影响脂肪肝形成,而且也可通过调节脂肪合成与转化过程中关键酶的活性而影响脂肪肝的形成。谭肖英等(2005)研究指

出,随着饲料碳水化合物水平的下降,大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)的脏体比(VSI)、肝体比(HSI)和肝脂含量都呈下降趋势。Catacutan等(1997)研究发现,尖吻鲈(*Lates calcarifer*)摄食等蛋等脂饲料时,HSI随着饲料中糖类含量升高而升高。

鱼类对不同种类的碳水化合物的利用效率存在一定的差异,由碳水化合物转化成脂肪的能力存在一定的差异。田丽霞等(2002)分别以玉米淀粉、小麦淀粉、水稻淀粉为糖源配制3种试验饲料,饲养草鱼80 d,结果发现,尽管草鱼对糖的表观消化率以小麦淀粉组最高,但是小麦淀粉组和玉米淀粉组的内脏比、肝胰脏脂肪含量、血浆甘油三酯(TG)水平以及肠系膜脂肪占鱼体的百分比显著高于水稻淀粉组($P<0.05$)。这表明小麦淀粉和玉米淀粉比水稻淀粉更容易造成草鱼肝胰脏和肠系膜脂肪的沉积。

2 鱼类肝脏脂肪代谢的调控机制

鱼类的肝脏脂肪主要来自对饲料中脂肪的直接吸收以及饲料中过量蛋白质和糖类的转化合成。当这些脂肪运至肝脏后,若不能及时转运出去,则会堆积于肝脏中引起肝脏代谢紊乱。因此,可以通过调节和控制肝脏中脂肪的来源和去路,实现对脂肪肝的预防和治疗。鱼类体内脂肪合成需要还原型辅酶II(NADPH)的参与,而NADPH的浓度受到G-6-PD、6PGDH以及ME的控制,同时ACoAC和脂肪酸合成酶(FAS)是脂肪合成过程的关键酶。因此,凡是影响这几种酶活性的因素都会影响肝脏脂肪的合成。随着脂肪摄入量的增多,G-6-PD、ME、ACoAC和FAS活性降低;而随着淀粉摄入量增多,G-6-PD、ME和ACoAC活性增强,表明脂肪和淀粉不仅可以通过能量的蓄积影响脂肪肝形成,而且也可通过调节脂肪合成与转化过程中关键酶的活性而影响脂肪肝的形成。碳水化合物摄入量显著影响塞内加尔鲷(*Solea senegalensis*, Kaup)G-6-PD,而对ME和FAS无影响,而脂肪摄入量却显著降低了G-6-PD、ME和FAS的活性,表明日粮脂肪水平能抑制脂肪的生物合成(Dias等,2004)。给军曹鱼(*Rachycentron canadum*)幼鱼摄食不同脂肪的日粮后,随着日粮脂肪水平的增加,脏体比、腹脂率(IPF)和体脂含量显著增加;而G-6-PD和ME的活性随着脂肪摄入量的增加而降低(Wang等,2005)。然而,日粮脂肪却对大菱鲆(*Psetta maxima*)G-6-PD、ME、ACoAC活性无显著影响。虹鳟幼鱼摄

食不同水平 CLA 的饲料对 HSI 和 VSI、ME、G-6-PD 和 FAS 无显著影响。由于鱼的种类之间生理活动与代谢机能存在差异,从而决定各营养物质对脂肪合成过程中的关键酶活性的调节存在一定的差异,最终导致脂肪肝的形成存在差异。

鱼类肝脏组织中动员的游离脂肪酸是与血浆清蛋白结合运输的,其余各类脂类是以脂蛋白的形式输送到血液,然后转运至其它组织中再利用或在脂肪组织中储存。作为脂类载体,脂蛋白在这个过程中发挥着重要作用。Deplano(1989)研究指出,在鱼类血浆脂蛋白对肝脏脂肪(主要是 TG)的转运中发挥着重要作用,肝脏脂肪可通过极低密度脂蛋白(VLDL)的形式向肝外转运,而脂蛋白合成减少会导致脂肪以油滴形式蓄积。脂蛋白在肝细胞粗糙内质网上合成,与肝脂结合,然后通过高尔基体分泌到细胞质中,随血液运至肝脏。当脂蛋白的合成量不足时,肝细胞中的脂肪不能及时运出,就会造成脂肪在肝脏中积聚,导致肝脏脂肪含量升高,血浆脂肪含量降低。曹俊明等(1999)研究指出,草鱼肝脏脂质中所占的相对比值随总脂含量的减少而降低,而血清总脂含量则与肝脏总脂含量 TAG 之间存在显著的负相关关系。饲料中极性脂的增加或极性脂中 n-3 HUFA 含量的增加有利于金头鲷肝脏脂肪向血液 n-3 HUFA 中转运,其原因可能是乳糜微粒(CM)合成增加造成的。这些结果说明,草鱼肝脏脂质含量的升高与肝脏中脂质向血液中的转运有关。

3 抗营养性脂肪肝因子

目前研究发现,高度不饱和脂肪酸、磷脂、蛋氨酸、甜菜碱、肉碱、赖氨酸和维生素有利于促进鱼类的脂肪代谢,降低肝脂含量和肝体比,是较理想的抗营养性脂肪肝因子。

3.1 高度不饱和脂肪酸

HUFA 是鱼类生物膜的重要组成部分,也是肝脏中脂肪酸和甘油三酯(TAG)合成的强效抑制剂。它能抑制与葡萄糖代谢和脂肪酸生物合成有关的酶(葡萄糖激酶、丙酮酸激酶、G-6-PD、柠檬酸裂合酶、ACoAC 和 FAS)的活力,从而降低了肝脏脂肪的合成。向饲料中添加亚油酸或(和)亚麻酸以及 n-3 HUFA 能不同程度地降低草鱼肝胰脏的脂质含量,特别是同时添加 1% 亚油酸和 1% 亚麻酸或 1% 亚油酸和 0.5% n-3 HUFA 降低脂质积累作用最为明显。Twibell(2000)研究表明,

杂交条纹鲈摄食不同水平亚油酸(LA)的饲料,虽然 HSI 随着 LA 含量的增加显著增加,但鱼类肝脏总脂含量显著降低。然而,给虹鳟分别饲喂不同水平的共轭亚油酸(CLA),并不显著影响 HSI 或 VSI 以及肌肉和肝脏总脂含量,这与在斑点叉尾鲷(Ictalurus punctatus Rafinesque)和大西洋鲑上的研究结果相似。因此, HUFA 抗脂肪肝效应可能还具有个体差异性,这可能是由于鱼类自身的脂肪代谢机能存在一定的差异。

3.2 肉碱和赖氨酸

L-肉碱是长链脂肪酸转运到线粒体进行 β -氧化的唯一载体,它通过调解辅酶 A 与乙酰辅酶 A 的比例来影响碳水化合物、脂类代谢和三羧酸循环。大量研究表明,水产动物饲料中添加 L-肉碱具有促生长、抗脂肪肝、加速脂肪酸氧化和减少脂肪沉积等功效。钱国英等(2000)研究发现,在中华幼鳖日粮中添加不同水平的 L-肉碱后,肝脂含量和腹脂率显著降低。Ji 等(1996)报道,大西洋鲑摄食 3 700 mg/kg 肉碱后,增加了肝脏中脂肪酸的氧化,同时降低了肌肉和肝脏的脂肪含量。Chatzifotis 等(1996)在真鲷(Papus major)日粮中添加肉碱并没有降低白肌和肝脏中粗脂肪含量,但是添加肉碱后却降低了肝脏脂肪中 EPA、DHA 和含二十碳至二十四碳长链脂肪酸的含量,这表明肉碱能促进这些长链脂肪酸的利用。然而,也有研究者发现,虹鳟、杂交罗非鱼(Oreochromis niloticus×Oreochromis aureus)、杂交条纹鲈摄食肉碱后并未引起其组织中脂肪含量的显著变化。舌齿鲈摄食含肉碱的日粮后并没有显著影响鱼的营养组成,也没有显著影响血浆 TG 的含量和胆固醇水平和组织中的总脂含量,相反,添加 L-肉碱后却增加了 ACoAC 的活性,显示出肝脏中脂肪合成率更高。因此,肉碱对鱼类脂肪含量的调节作用具有种间特异性,其作用机制尚待进一步研究。

赖氨酸可为肉碱合成提供碳原子和氮原子。Burtle 等(1994)研究发现,肉碱虽未对斑点叉尾鲷生长率有显著影响,但肉碱和赖氨酸共同添加却降低了内脏和肝脏的脂肪含量。

3.3 磷脂

磷脂对脂肪起乳化作用,有助于脂肪的消化和吸收;可构建细胞膜,提高肝细胞的脂交换能力;可参与脂蛋白的合成,促进肝脏中脂肪的转运。大量研究表明,对于鱼类和甲壳类,在孵化后迅速生长、发育或在

非自然条件下(高密度或病理状态下),机体合成的磷脂有限,远远不能满足机体合成脂蛋白的需要,因此需从饲料中补充极性脂。金头鲷摄食极性脂含量低的饲料后,肠道里积累了大量的脂滴,肝细胞含有大量核移动的脂泡,表明日粮中极性脂是脂肪转运所必需的,当极性脂含量不足,将影响机体脂蛋白的合成,影响脂肪从肝脏向肝外组织的转运,形成脂肪肝。磷脂酰胆碱,能合成和分泌 CM 或 VLDL,有利于脂肪向血液运输,同时 VLDL 在肠道吸收中性脂肪中起着重要作用。当饲料中的中性脂肪含量增加时,鱼体含脂量上升。在草鱼饲料中添加一定量的大豆卵磷脂,肝脏中脂质的含量大幅度降低。然而,杂交条纹鲈摄食含卵磷脂的饲料后对肝体比、血浆和肝脏的脂种类并没有显著影响,而眼斑拟石首鱼(*Sciaenops ocellatus*)摄食含 4%的卵磷脂的饲料后反而提高了肝脂含量。因此,磷脂抗脂肪肝效应具有一定的种间特异性,具体作用尚需进一步研究。

3.4 胆碱、甜菜碱和蛋氨酸

胆碱作为卵磷脂的组成成分,参与肝脏脂肪代谢,维持组织正常结构功能。同时胆碱又是合成脂蛋白的重要原料。由于肝脏中的脂肪转运必需通过脂蛋白进行,因此,胆碱可促进肝脏脂肪的转运,防止脂肪的过度积累,避免脂肪肝的形成。胆碱缺乏能使合成脂蛋白的重要原料——磷脂酰胆碱的合成量不足,进而引起肝脏脂蛋白合成减少,影响脂肪向血液中转运,导致肝脏中脂肪积累和向血液运输的脂肪减少。Zhang 等(1999)发现,在饲料中添加胆碱生物合成强效抑制剂后,添加不同水平胆碱时,极显著影响斑点叉尾鲷肝脏中胆碱和肝脂含量,且随着胆碱水平的增加,肝脂含量显著降低,而胆碱含量显著增加。当不添加胆碱生物合成强效抑制剂时,添加 200 和 400 mg/kg 胆碱时,肝脏中胆碱含量和肝脂含量也受日粮胆碱水平的影响,且呈类似的变化规律。但对鱼类而言,胆碱的抗脂肪肝作用具有明显的种间差异。胆碱可以显著降低杂交条纹鲈和罗非鱼(*Oreochromis niloticus*×*O. aureus*)幼鱼肝脂含量,而黑鲈(*Lateolabrax japonicus*)和黄鲈(*Perca flavescens*)的肝脂含量则不受饲料中胆碱含量的影响。

甜菜碱是一种高效的甲基供体,可参与胆碱的中间代谢,促进肝脏脂肪转运,降低肝脏脂肪含量。王锐等(2004)研究指出,在鲫鱼(*Carassius sp.*)日粮中添加

0.3%的甜菜碱可显著降低鲫鱼肝、胰脏脂肪含量。短盖巨脂鲤(*Colossoma brachypomum*)摄食不同水平的盐酸甜菜碱后,肝脂含量下降,表明甜菜碱有一定的抗脂肪肝效应。但是就胆碱与甜菜碱之间在降低肝脏脂肪含量之间是否存在交互作用,目前尚存在争议。王锐等(2004)发现,日粮中添加 0.3%的胆碱和 0.3%的甜菜碱可显著降低鲫鱼肝、胰脏脂肪含量;添加 0.15%的胆碱和 0.15%的甜菜碱的试验组与空白组的鲫鱼肝、胰脏脂肪含量差异不显著,推测胆碱和甜菜碱之间可能无互补作用,而有人却发现盐酸甜菜碱与氯化胆碱之间存在协同作用。

蛋氨酸和胆碱之间在某些鱼类体内可相互转化,通过不同的代谢途径合成卵磷脂,而卵磷脂又是脂蛋白的主要组成成分。王道尊等(1995)研究指出,当饲料中胆碱含量达 0.3%以上时,草鱼肝脂含量下降;而无胆碱但添加蛋氨酸 0.4%的饲料组比对照组肝脂含量低,说明草鱼具有利用蛋氨酸提供甲基来改善其胆碱营养状况的能力。

3.5 维生素

维生素主要是通过作为酶的辅酶而调节脂肪代谢。在配合饲料中添加一定剂量的维生素 B₆能够改善草鱼脂肪代谢,避免脂肪肝的发生。在精制饲料中添加维生素 B₆ 投饲团头鲂 8 周后,能显著降低团头鲂血清甘油三酯、总胆固醇和葡萄糖含量和增加血清高密度脂蛋白胆固醇和白蛋白水平及 α-淀粉酶活性。这表明,饲料中添加维生素能促进团头鲂的血清脂质代谢及其转运,从而避免了血脂积累及营养性脂肪肝的发生。

4 小结

饲料中营养素的不平衡以及抗脂肪肝因子的缺乏是养殖鱼类诱发营养性脂肪肝最主要的因素。饲料中营养素的组配不平衡对鱼类肝脏脂肪积累和营养性脂肪肝的影响机制尚待进一步深入研究,并且有必要进一步深入研究鱼类肝脏脂肪的调控机制,寻找高效的抗脂肪肝物质,最终达到通过营养调控的方式来预防鱼类营养性脂肪肝的发生,以便更好地促进水产养殖业的健康可持续发展。

(参考文献 53 篇,刊略,需者可函索)

(编辑:徐世良,fi-xu@163.com)

钙蛋白酶抑制蛋白对猪肉品质的影响

李方方 张 勇 王红艳

摘 要 钙蛋白酶蛋白系统是影响肌肉生长和宰后肉嫩化的一个重要因素,主要由钙蛋白酶(μ -calpain 和 m-calpain)、钙蛋白酶抑制蛋白(calpastatin, CAST)及骨骼肌特异性钙蛋白酶组成,钙蛋白酶抑制蛋白是一种内源性专一抑制钙蛋白酶活性的蛋白,参与了调控肌原纤维蛋白的降解并在其中发挥了关键作用。本文概述了钙蛋白酶抑制蛋白的结构、功能及其对肌肉蛋白质的增加、提高肉嫩度的作用。

关键词 钙蛋白酶抑制蛋白;肌肉蛋白质的增加;肉嫩度

中图分类号 S879.2

随着科技的发展,改善猪肉品质已经不再局限于依靠传统的饲养模式,而是向着分子营养水平发展。通过研究影响肉品质的蛋白质基因,来寻求改善肉品质的新途径。

钙蛋白酶蛋白水解系统在细胞内普遍存在,参与机体生长与代谢过程^[1],钙蛋白酶蛋白水解系统主要是由钙蛋白酶(calpain, CAPN)和钙蛋白酶抑制蛋白(calpastatin, CAST)组成,它们参与机体生长与代谢过程,还在肌原纤维更新和屠宰后肉嫩化过程中扮演重要角色^[2]。CAST是一种内源性的、需Ca²⁺激活的钙蛋白酶抑制剂,可抑制肌肉内蛋白质降解,降低肌细胞生长速度;屠宰后可抑制钙蛋白酶的活性,降低蛋白质水解^[2]。CAST基因的产物参与猪肌肉生长过程中蛋白质的更新^[3];在其它肉畜中则已发现CAST基因的产物显著影响肉的嫩度。

1 钙蛋白酶抑制蛋白对猪肉品质的作用

肌肉蛋白质的增加取决于肌肉蛋白合成速度和降解速度。研究发现,钙蛋白酶过量表达可引起成肌细胞肌原纤维的降解,而钙蛋白酶抑制蛋白表达量的增加会抑制肌肉蛋白质水解。骨骼肌蛋白降解有3条途径,即溶酶体组织蛋白酶途径、依赖钙的蛋白酶途

径和依赖ATP的蛋白质途径。在肌肉组织中,钙蛋白酶系统控制着肌纤维蛋白的降解,是肌肉蛋白质降解的限速步骤^[4]。因此,钙蛋白酶抑制蛋白有可能在肌肉发育、瘦肉率提高中起着调控作用。

肉的嫩度是肉品质的一个重要方面。影响肌肉嫩度的主要因素有肌节的长度、结缔组织的含量及肌肉结构蛋白的水解敏感性^[5]。目前研究主要集中在第3个因素,即屠宰后肌肉嫩度与肌肉蛋白质的降解量密切相关。除此之外,嫩度还与畜禽的遗传因素和肉的种类等因素有关。研究发现,钙蛋白酶系统在肉的嫩化,改善肉质中起着重要的作用。

2 钙蛋白酶抑制蛋白作用机理

2.1 在肌肉生长中的作用

骨骼肌生长速度最终取决于3个因素:即骨骼肌细胞的数量、肌肉蛋白合成速度和降解速度。激素注射、营养状况和饲养管理等都能通过调节以上3个基本因素而影响肌肉生长速度。骨骼肌蛋白降解速度相对降低会导致肌肉生长速度的增加,也会提高摄入营养物质的肌肉转化效率。肌原纤维蛋白占成熟骨骼肌蛋白总量的50%~60%。哺乳动物骨骼肌肌原纤维呈圆柱状,直径1~3 nm,长约1~40 nm,而溶酶体或胞质蛋白酶的直径约16 nm,长约11 nm,因此肌原纤维不能进入溶酶体。因此,肌原纤维蛋白质降解的第一步是肌原纤维降解装配成肌丝,这一步可能是肌原纤维蛋白质降解过程中限速的一步。大量的研究表明钙蛋白酶系统参与这一降解装配过程。

骨骼肌钙蛋白酶存在于肌细胞内部,Z线中浓度最高。Doumit等(1999)认为钙蛋白酶可能通过对肌原

李方方,沈阳农业大学畜牧兽医学院,110161,沈阳市东陵路120号沈阳农业大学99信箱。

张勇,单位及通讯地址同第一作者。

王红艳,沈阳双良饲料有限公司。

收稿日期:2007-11-26

纤维蛋白进行特异的局部降解而对其结构、功能进行调控^[6]。大量的研究表明,钙蛋白酶系统参与了肌原纤维降解并装配成肌丝的过程。钙蛋白酶引发肌原纤维蛋白降解的可能机制是:钙蛋白酶使Z线(使细肌丝固着于肌原纤维)和肌连蛋白伴肌动蛋白(使粗肌丝和细肌丝固着于肌原纤维)降解,Z线安全消失肌原纤维释放出肌丝。然后细肌丝和粗肌丝分别解离出肌球蛋白和肌动蛋白。**Richard**等(1995)研究表明,肌原纤维被钙蛋白酶降解释放出的粗肌丝和细肌丝可与母体或其它肌原纤维重新装配,也可被胞质蛋白酶或溶酶体降解^[7]。在钙蛋白酶抑制蛋白存在下,释放出的肌丝比率下降。

钙蛋白酶抑制蛋白是高效、专一的钙蛋白酶活性抑制剂,并且在大多数组织中,钙蛋白酶抑制蛋白的浓度可抑制钙蛋白酶的活性,当钙蛋白酶被Ca²⁺激活后,如果附近有钙蛋白酶抑制蛋白存在,将迅速与之结合,影响其自溶稳定性,抑制钙蛋白酶的活性,从而保证钙蛋白酶只进行局部的特定位点的水解。而自溶是钙蛋白酶表现活性的重要步骤,由此可见,钙蛋白酶抑制蛋白是通过抑制钙蛋白酶的自溶而发挥作用的(**Roman**等,1999)^[8]。钙蛋白酶抑制蛋白抑制钙蛋白酶的大致过程为:钙蛋白酶抑制蛋白的第II到第V结构域中的A和C保守区,与钙蛋白酶的IV和VI结构域紧密结合,然后B保守区与钙蛋白酶的II结构域结合而发挥作用^[9](**Bice**等,2003)。

我们可以利用DNA超表达技术,超表达钙蛋白酶抑制蛋白或有缺陷的钙蛋白酶,达到控制肌原纤维蛋白的降解以加快蛋白质沉积。

2.2 在屠宰后肉嫩化过程中的作用

肉的嫩度是评价肉品质的一个重要指标。影响嫩度的因素很多,包括肌节的长度、结缔组织的含量、肌肉结构蛋白的水解敏感性、pH值等。大量的试验表明,钙蛋白酶系统是重要的蛋白降解酶体系,在肉的成熟嫩化过程中发挥着决定性的作用。

动物机体在正常状态时大部分钙离子存在于肌质网中,细胞质中的钙离子浓度约10⁻² M。屠宰后的肌肉冷却时,肌肉受到刺激,肌质网被激活,钙离子被释放入细胞质,引起肌纤维细胞质中游离钙离子的浓度升高。**Yoshikawa**等(2000)研究发现,Ca²⁺激活钙蛋白酶后,大小亚基分离,小亚基可能主要起调节作用,大亚基起催化调节作用^[10]。当大小亚基相结合时,钙蛋

白酶不具有活性。分离后30 k的小亚基迅速降解为17 k,这一变化可能是钙蛋白酶发挥水解特性的前提。80 k的大亚基一般不具有活性,当其先转化为78 k,再变为76 k的自溶形式时方具有活性,且迅速降解而失去酶活性,钙蛋白酶活性下降是其发挥水解作用的体现。也就是说,钙蛋白酶表达减少以及钙蛋白酶抑制蛋白表达量的增加都会导致肌肉蛋白水解率及屠宰后肉嫩度的下降,这表明钙蛋白酶水解作用是导致肉嫩化的主要因素。 μ -calpain和m-calpain都能水解肌原纤维,但在宰后成熟的过程中m-calpain的活性几乎不变,而 μ -calpain的活性则显著下降。钙蛋白酶活性下降,则是其发挥水解作用的体现,因此人们普遍接受 μ -calpain而不是m-calpain参与了肉的嫩化,这可能是因为在活体细胞内的Ca²⁺浓度太低不足以激活m-calpain^[11]。同时钙蛋白酶抑制蛋白也参与了肌肉嫩化过程,其活性也随时间的增加而降低。

3 钙蛋白酶抑制蛋白的结构

钙蛋白酶抑制蛋白是胞内专一性抑制钙蛋白酶活性的蛋白质,分子质量约为120 k,它可以识别钙蛋白酶与钙结合引起的构象变化并与之特异性结合。不同哺乳动物间钙蛋白酶抑制蛋白的保守性较差^[12],钙蛋白酶抑制蛋白含有5个结构域,见图1。N端第一个结构域即L结构域,其功能还不太清楚,此结构域在某些细胞的钙蛋白酶抑制蛋白中不存在,如红血球中的CAST。第2到第5个结构域是4个相似的重复单位^[13],每个重复单位含有3个保守区,分别为A、B、C。保守区B含有30个氨基酸,其中,Lhr-Ile-Pro-X-Tyr-Arg组成的七肽序列十分保守,可能是钙蛋白酶抑制蛋白起抑制作用的关键部位,X代表不同的氨基酸。保守区A和C决定着钙蛋白酶抑制蛋白与钙蛋白酶中的钙调蛋白(CaM)类似结构域DIV和DVI的结合,B与钙蛋白酶的DII结构域结合,A和C能够形成 α -螺旋(**Takano**等,1995)^[14]。

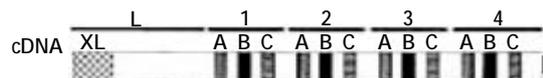


图1 钙蛋白酶抑制蛋白结构域图

猪肉嫩度等肉品质性状的数量性状位点(QTL)定位于2号染色体^[15],**Rettenberger**等将钙蛋白酶抑制蛋白定位于猪2号染色体上^[16]。**Ernst**等进一步将其定位于2q2.1-2.4,并发现了3个PCR-RFLP多态性位

点^[7]。因此钙蛋白酶抑制蛋白已被认为是猪肉嫩度的候选基因^[18]。

4 钙蛋白酶抑制蛋白基因的其它作用

4.1 疾病防治

国内外的科学家们已经开始了从基因水平上来研究疾病产生的原因以及治疗方法。在生理状态下,激活的钙蛋白酶可被钙蛋白酶抑制蛋白抑制而保持平衡,对细胞的结构及功能的维持起着重要的作用。钙蛋白酶参与一系列的生理过程,如裂解许多膜蛋白和膜相关的蛋白,参与血小板的聚合;修饰受体蛋白和细胞骨架蛋白等。钙蛋白酶的过度活化,引起胞内大量蛋白和酶的降解,从而导致一系列疾病的发生,如脑缺血、创伤性脑损伤、脊髓损伤、白内障、脱髓鞘性疾病、糖尿病等。钙蛋白酶的激活在氧化性白内障的发生中有一定的作用,它通过水解晶状体蛋白和激活半胱氨酸蛋白酶诱发白内障。有人已经发现可以用不同的 CAST/CAPN 蛋白酶来治疗肌肉萎缩、坏死症,并取得了一定疗效。

4.2 遗传育种

由 CAST/CAPN 系统的分析可以发现,钙蛋白酶抑制蛋白的表达与肉的嫩度和风味关系密切,国际上也认定其可以作为肉质研究的一个候选基因。目前关于钙蛋白酶抑制蛋白的内含子研究甚少,我们可以先测出钙蛋白酶抑制蛋白的内含子序列,找到遗传标记,并以此来指导遗传育种工作。

4.3 生物进化

CAST/CAPN 系统在动物体内广泛存在,并且由其同源性可以确定亲缘关系,从 CAST/CAPN 突变位点的变化也可提供很多遗传信息,因此 CAST/CAPN 系统也可以作为研究生物进化的一个手段。

参考文献

- [1] Croall DE, Demartino GN. Calcium-activated natural protease (calpain) system: structure, function, and regulation [J]. *Physiological Review*, 1991, 71:813.
- [2] Koohmaraie M. Biochemical factors regulation the toughening and tenderization process of meat [J]. *Meat Sci*, 1996, 43:193.
- [3] Goll D E, Thompson V F, Taylor R G, et al. The calpain system and skeletal muscle growth [J]. *The Canadian Journal of Animal Science*.1998, (78):503-512.
- [4] Hopkins DL, Thompson JM. Inhibition of protease activity.Part 1. The effect on tenderness and indicators of proteolysis in ovine muscle [J].*Meat Science*, 2001, 59:175-185.
- [5] Ilian MA, Morton JD, Kent MP, et al. Intermuscular variation in tenderness: Association with the ubiquitous and muscle-specific calpains [J]. *J Anim Sci*, 2001, 79:122-132.
- [6] Doumit M E, Koohmaraie M.Immunoblot analysis of calpastatin degradation: evidence for cleavage by calpain in postmortem muscle [J].*J Anim Sci*, 1999,77:1 467-1 473.
- [7] Richard I,Broux O,Allamand V,et al.Mutations in the proteolytic enzyme calpain 3 cause limb-girdle muscular dystrophy type 2A[J]. *Cell*,1995,81:27-40.
- [8] Roman L, Hruska U S.Effect of calpastatin on degradation of myofibrillar proteins by μ -calpain under postmortem conditions [J]. *Journal of Animal Science*, 1999, 77:2 685-2 692.
- [9] Bice T,Dwight M,Champion C S,et al.A structural model for the inhibition of calpain by calpastatin:crystal structures of the native domain VI of calpain and its complexes with calpastatin peptide and a small molecule inhibitor[J].*J Mol Biol*, 2003, 328:131-146.
- [10] Yoshikawa Y, Mukai H, Hino F, et al. Isolation of two nove genes, down-regulated in gastric cancer [J]. *Jpn J Cancer Res*, 2000, 91: 459-463.
- [11] Whipple G, Koohmaraie M. Caclium chloride marination effects on beef steak tenderness and calpain proteolytic activity [J].*Meat Sci*, 1993, 33:265-275.
- [12] Lee W J, Hatanaka M, Maki M. Multiple forms of rat calpastatin cDNA in the region of functionally unknown amino-terminal domain [J]. *Biochim Biophys Acta*,1992, 1129(2):215-254.
- [13] Emori Y, Kawasaki H, Imajoh S, et al. Endogenous inhibitor for calcium-dependent cysteine protease contains four internal repeats that could be responsible for its multiple reactive sites[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987, 84(1):3 590-3 594.
- [14] Takano E, Ma H, Yang H Q, et al. Preference of calcium-dependent interactions between calmodulin-like domains of calpain and calpastatin subdomains [J]. *FEBS Letters*, 1995, 362:93-97.
- [15] Malek M, Dekkers J C M, Lee H K, et al. A molecular genome scan analysis to identify chromosomal regions influencing economic traits in the pig. II .Meat and muscle composition [J]. *Mamm Genome*, 2001, 12:637-645.
- [16] Rettenberger C, Bruch J, Fries R, et al. Assignment of 19porcien type I loci by somatic cell hybrid analysis detects new regions of conserved synteny between human and pig [J]. *Mamm Genome*. 1996, 7:275.
- [17] Ernst CW. Robic A, Yerle M. et al. Mapping of alpastatin and three microsatellites to porcine chromosome 2q2.1-2.4 [J]. *Anim Gene*. 1998, 29:212.
- [18] Pagan M, Raney NE, Koohmaraie M, et al. Identification of novel polymorphism at the bovine calpastatin and insulin-like growth factor binding proteun2 loci[J]. *J Anim Sci*. 2000,78(Suppl.2):27.

(编辑:徐世良, fi-xu@163.com)

纳米氧化锌对断奶仔猪血液指标及表观性状的影响研究

喻兵权 张宏福 陆伟 唐湘芳 邢方军 卢庆萍

摘要 试验通过研究纳米氧化锌对断奶仔猪血液指标及表观性状的影响,旨在进一步探寻锌促生长机制及低剂量的纳米氧化锌替代高锌来解决由高锌造成的仔猪不良表观性状的可行性。将135头23日龄断奶仔猪按照体重相似、遗传基础相似的原则分为5个处理组,每处理组3个重复,每重复9头,用纳米氧化锌和高剂量氧化锌进行饲养试验比较,试验期24d。其中,第1组为对照组(0 mg/kg),第2、3、4组分别为200、400、600 mg/kg 纳米氧化锌组,第5组为高锌组(3 000 mg/kg ZnO)。结果表明:较处理1组(0 mg/kg)而言,无论是纳米氧化锌(200、400、600 mg/kg)还是3 000 mg/kg 高锌组在血清IgG、ALP、Zn均有较大程度地提高,达到极显著性差异($P<0.01$);较高锌组(3 000 mg/kg)而言,纳米氧化锌(200、400、600 mg/kg)组在改善仔猪皮毛光泽方面达到极显著性差异($P<0.01$)。

关键词 纳米氧化锌;仔猪;血液指标;表观性状

中图分类号 S816.7

锌成为继铜、硒之后,开发微量元素促生长作用的又一研究热点。众多研究证实,高剂量氧化锌对仔猪具有显著的促生长作用。但是锌促生长机制尚不明确,本文从锌对仔猪血液生理生化指标影响方面进一步探讨锌促生长机制。另外,长期使用高剂量氧化锌会影响仔猪皮肤、被毛状况,出现被毛粗长乱、皮肤无光泽等现象以及影响仔猪生长发育。纳米材料的一些特性,应用于动物生产中有许多优势,试验探讨较低剂量的纳米氧化锌替代高锌来解决由高锌造成的仔猪不良表观性状的可行性。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验锌源

纳米 ZnO(Nano-ZnO),由陕西中科纳米材料股份有限公司提供,饲料级,纯度>95%,粒径30~50nm,通过均匀沉淀法制备,通过X-射线衍射仪、透射电镜、静态氮气吸附法进行纳米特征表征测定,经原子吸收测定Zn含量为76.3%;普通 ZnO(ZnO),饲料级,由北

京益农饲料中心提供,纯度>99%,含Zn量72%。

1.1.2 试验动物及试验基地

杜长大三元杂交断奶仔猪由天津世纪兴种养业股份有限公司提供并在此猪场进行试验。

1.1.3 试验基础日粮

试验基础日粮为玉米—豆粕型,营养水平参考美国NRC(1998)仔猪营养需要,基础日粮配方及营养水平见表1。

表1 基础日粮配方及营养水平

饲料	组成(%)	营养水平	
玉米	30.00	消化能(MJ/kg)	12.90
膨化玉米	20.00	干物质(%)	89.49
豆粕(43% CP)	22.50	粗蛋白(%) ^①	19.84
次粉(NY/T 2级)	3.00	蛋氨酸(%)	0.31
肉粉(68%)	5.00	赖氨酸(%)	1.30
鱼粉(进口)	2.00	苏氨酸(%)	0.82
生物鱼粉	1.00	色氨酸(%)	0.19
食盐	0.30	钙(%)	0.73
自制酵母	1.00	有效磷(%)	0.32
一水葡萄糖	2.00		
磷酸氢钙	0.90		
石粉	0.80		
脂肪粉	3.00		
胆碱	0.10		
酸性蛋白酶	0.10		
赖氨酸	0.25		
苏氨酸	0.10		
可可粉	1.00		
白沙糖	1.00		
乳清粉	4.00		
鱼腥香	0.01		
L5208P 预混料 ^②	2.00		

注:①表示实测值;

②每千克L5208P预混料中含微量元素:Cu 11 500 mg、Fe 8 500 mg、Mn 1 980 mg、Zn 6 400 mg、I 25 mg、Se 12 mg、VA 780 000 IU、VD 98 000 IU、VE 1 180 mg、VK₃ 185 mg、VB₁ 115 mg、VB₂ 450 mg、VB₆ 305 mg、VB₁₂ 1.5 mg、烟酸 1 540 mg、泛酸 578 mg、叶酸 38 mg。

喻兵权,中国农业科学院北京畜牧兽医研究所动物营养国家重点实验室,100094,北京。

张宏福(通讯作者)、唐湘芳、卢庆萍,单位及通讯地址同第一作者。

陆伟,江西农业大学动物科学技术学院。

邢方军,天津世纪兴种养业股份有限公司。

收稿日期:2007-12-10

★ 国家公益性研究项目(2004DIB4J152)及国家支撑计划项目(2006BAD14B03)

1.1.4 试验日粮组成

分别在基础日粮中添加 0、200、400、600 mg/kg 纳米 ZnO 组成处理 1、2、3、4 组日粮;在基础日粮中添加 3 000 mg/kg 普通级 ZnO 组成处理 5 日粮。

1.2 试验方法

1.2.1 饲养管理

试验猪饲喂干粉料,人工加料,自由采食(日饲 3 次),自由饮水(乳头式饮水器)。免疫消毒程序按猪场常规方法进行。试验前对猪舍进行消毒,预试期 6 d,正试期 24 d。

1.2.2 试验设计

选择平均体重为 8~9 kg 左右健康断奶仔猪 135 头(23 日龄断奶),按照体重相似、遗传基础相似的原则,采用单因子试验设计,分 5 个处理组,每个处理组 3 个重复,每重复 9 头。

1.2.3 测试指标及方法

血样制备:试验结束时,每个重复选 2 头(公母各 1 头),每处理组 6 头,共 30 头,于前腔静脉采取血样于采血管中,置 37 °C 下水浴静置至析出血清,吸取血清于离心管中,3 000 r/min 离心 10 min,得浅黄色血清样品,分装于 1.5 ml 安培管中,-20 °C 低温冰箱中保存待测。

血清免疫球蛋白 G(IgG):利用美国贝克曼特种蛋白仪(IMMANGE)和免疫球蛋白检测试剂盒,采用免疫比浊法进行测定。

血清碱性磷酸酶(ALP):利用日立生化仪(7600-020)和罗氏诊断试剂盒,采用速率法进行测定。

血清锌(Zn):利用日立生化仪(7600-020)和金斯尔血清锌检测试剂盒,采用终点法测定。

皮毛光泽评定:皮毛光泽分数=皮肤红润程度分数+毛色亮度分数+毛卷曲程度分数。评分标准见表 2。

表 2 评分标准

等级	标准分	皮肤红润程度评分标准	毛色亮度评分标准	毛卷曲程度评分标准
A	1	苍白	无光泽	明显凌乱
B	2	微红	有微弱光泽	轻微凌乱
C	3	明显红润	有明显光泽	明显柔顺

1.2.4 数据统计分析

试验数据以 Mean±SD 表示,试验数据统计利用 SASS9.0 软件包中的方差分析过程(ANOVA)进行,均值的多重比较采用 LSD 法进行。

2 结论与分析

不同处理组对断奶仔猪 IgG、ALP、Zn 及皮毛光泽指标影响结果(见表 3)。

较处理 1 组(0 mg/kg)而言,无论是纳米氧化锌(200、400、600 mg/kg) 还是 3 000 mg/kg 高锌组 IgG 均

有较大程度地提高,达到极显著性差异(P<0.01);其中 400、600 mg/kg 纳米氧化锌组与 3 000 mg/kg 氧化锌组差异不显著(P>0.05),而三者较 200 mg/kg 纳米氧化锌组差异极显著(P<0.01)。

较处理 1 组(0 mg/kg)而言,无论是纳米氧化锌(200、400、600 mg/kg)还是 3 000 mg/kg 高锌组 ALP 均有较大程度地提高,除 200 和 600 mg/kg 纳米氧化锌组之间差异显著(P<0.05)外,其余均达到极显著性差异(P<0.01);以 3 000 mg/kg 高锌组提高幅度最大。

表 3 不同处理组对断奶仔猪 IgG、ALP、Zn 及皮毛光泽指标影响

处理组别	添加剂(mg/kg)	血清免疫球蛋白(mg/dl)	血清碱性磷酸酶(U/l)	血清锌(μmol/l)	皮毛光泽(分)
1	0	287.50±6.54 ^{Cc}	162.78±4.81 ^{Dc}	15.55±2.66 ^{Cc}	5.29±0.17 ^{Cd}
2	Nano-ZnO 200	355.63±5.56 ^{Bb}	190.03±6.40 ^{Dd}	23.97±1.86 ^{Bb}	6.52±0.07 ^{Bb}
3	Nano-ZnO 400	395.67±3.79 ^{Aa}	227.60±9.73 ^{Bb}	26.05±1.79 ^{ABb}	7.03±0.06 ^{Aa}
4	Nano-ZnO 600	403.83±6.03 ^{Aa}	208.63±7.85 ^{Cc}	18.47±0.83 ^{Cc}	6.73±0.14 ^{ABb}
5	ZnO 3 000	395.00±3.91 ^{Aa}	251.13±6.77 ^{Aa}	29.60±1.28 ^{Aa}	5.59±0.13 ^{Cc}

注:同列数据肩标不同小写字母表示差异显著(P<0.05),不同大写字母表示差异极显著(P<0.01)。

较处理 1 组(0 mg/kg)而言,200、400 mg/kg 纳米氧化锌组和 3 000 mg/kg 高锌组血清 Zn 均有较大程

度地提高,达到极显著性差异(P<0.01),以 3 000 mg/kg 高锌组提高幅度最大,且与 400 mg/kg 纳米氧化锌组

差异显著($P<0.05$);600 mg/kg 组纳米氧化锌组与处理 1 组(0 mg/kg)差异不显著($P>0.05$)。

较处理 1 组(0 mg/kg)而言,纳米氧化锌(200、400、600 mg/kg)在改善仔猪皮毛光泽方面达到极显著性差异($P<0.01$),但 3 000 mg/kg 高锌组只达到显著性差异($P<0.05$)。其中纳米氧化锌(200、400、600 mg/kg)较 3 000 mg/kg 高锌组均达到极显著性差异($P<0.01$)。

3 讨论

3.1 不同处理组对断奶仔猪 IgG 的影响

IgG 是血清中含量最高的 Ig,它在抗体介导的防卫机理中占主要地位,因为 IgG 相对较小,比其它免疫球蛋白(IgS)更易逸出血管,所以易于参加体表组织间的防卫。很多研究发现,锌与机体的免疫功能密切相关。IgG 是血清中主要的一种免疫球蛋白,其含量反映机体的免疫状况,缺锌导致动物免疫机能下降。据 Cheng J 等(1998)报道,仔猪的免疫应答不受锌源影响;同样,方络云等(2005)试验研究发现,在日粮中添加不同锌源对血清中免疫球蛋白 IgG 的含量无明显影响,但高剂量氧化锌(3 000 mg/kg)和纳米氧化锌(300 mg/kg)组提高了血清中 IgM 含量($P<0.05$, $P<0.01$)。本试验中,较处理 1 组(0 mg/kg)而言,无论是纳米氧化锌(200、400、600 mg/kg)还是 3 000 mg/kg 高锌组均能较大程度地提高血清中 IgG 含量,达到极显著性差异($P<0.01$)。与前人结论不一致。可能与试验猪本身体内抗体水平有关。本试验猪断奶时间相对较短,体内抗体相对较高,高锌和纳米氧化锌对仔猪血清 IgG 水平影响较大。

仔猪吸收免疫球蛋白的能力存在时间限制,在其刚初生时吸收能力最强,以后逐渐减弱,在 48 h 后即由于肠关闭(gut closure)而不再吸收免疫球蛋白。因此断奶后对仔猪的免疫机能的提高至关重要。在本试验中,饲喂纳米氧化锌与高锌组较处理 1 组仔猪的 IgG 均得到不同程度地提高,达到极显著性差异($P<0.01$),使腹泻率均得以不同程度的降低。腹泻头次的降低,说明仔猪保持了良好的体况,消化吸收功能良好,因此增重良好。相反,对照组仔猪 IgG 相对较低,仔猪腹泻情况严重。Shipp T E(2001)指出这种腹泻导致仔猪不同程度的脱水,电解质耗竭,酸碱平衡改变,从而降低了生长率和饲料转化率,并增加了死亡率,对照组仔猪日增重低也是在情理之中的。因此,笔者认为,高锌和纳米氧化锌组正是通过提高

仔猪 IgG 水平,从而增强和促进机体非特异性免疫功能,提高动物机体的防病抗病能力,发挥其抗腹泻和促生长的作用。

3.2 不同处理组对断奶仔猪 ALP 的影响

血清碱性磷酸酶(ALP)是动物机体内具有较高活性的酶,在机体内各组织和血清中有着广泛的分布。因为锌原子作为 ALP 的辅基,所以可以通过测定血清 ALP 来判断机体对锌元素的吸收利用情况,ALP 活性的提高意味着机体对锌的利用率较高。ALP 活性是反映单胃动物锌营养状况比较理想的指标。动物缺锌时,ALP 活性下降,补锌后活性上升。同时,ALP 活性随饲料锌含量上升到一定水平时趋于平稳。关于纳米氧化锌对断奶仔猪血清 ALP 活性的影响研究未见有报道。本试验研究发现,较处理 1 组(0 mg/kg)而言,无论是纳米氧化锌(200、400、600 mg/kg)还是 3 000 mg/kg 高锌组均有较大程度地提高,达到极显著性差异($P<0.01$);以 3 000 mg/kg 高锌组提高幅度最大。

刘剑锋等(2004)试验结果表明,仔猪血清碱性磷酸酶活性高低与仔猪的增重速度高低相一致,仔猪增重速度高时碱性磷酸酶的活性也较高。碱性磷酸酶在其它动物的体内也表现出与本试验相同的规律。杨丽娥等(1993)报道肉鸡血清碱性磷酸酶活性与其增重速度一致。王旭辉等(1997)报道肉鸭血清碱性磷酸酶的活性也存在相同的变化规律。血清中碱性磷酸酶还与蛋白、核酸的合成有关,在机体修复和愈合期其活性升高。在仔猪因感染病原而导致的腹泻过程中,也存在机体的修复愈合,在本试验中腹泻率高的处理 1 组血清碱性磷酸酶却不高,因此认为影响仔猪血清碱性磷酸酶活性的关键因素是仔猪的生长速度而不是外界的损伤刺激,而仔猪的生长速度又与健康状况有关,使用高锌和纳米氧化锌提高仔猪的抗病力,使仔猪保持健康,所以提高仔猪增重的同时也提高了仔猪的血清碱性磷酸酶的活性。

3.3 不同处理组对断奶仔猪血清 Zn 的影响

当猪缺锌时,血清锌含量下降;当日粮补锌后,血清锌含量升高。高锌对仔猪血清锌浓度有极显著的提升作用,但在低锌日粮中没有这种现象。Hahn 等(1993)认为,动物对锌的衡稳性调控有一个阈值,只有日粮无机锌超过 1 000 mg/kg 时,血清锌含量才会出现上升。Hill 等(2000)也发现,添加 500 mg/kg 无机锌时,血清锌也没有发生明显变化。结合本试验可以

看出,只需添加 200 mg/kg 纳米氧化锌就已经达到甚至超过该阈值(1 000 mg/kg 无机锌)。陈艳珍等(2001)报道,锌为许多酶的组成成分,参与蛋白质、糖、脂肪的代谢,血清锌浓度高可促进蛋白的生物合成。本研究表明,日粮锌水平与血清锌含量有一定的联系,处理 1 组血清锌浓度为 15.55 $\mu\text{mol/l}$,明显的偏低。日粮加高锌及纳米氧化锌(除 600 mg/kg 组外),其血清锌水平比处理 1 组极显著提高($P<0.01$)。400 mg/kg 纳米氧化锌组与 3 000 mg/kg 高锌组血清锌最接近,也暗示了纳米氧化锌生物利用率高的部分原因。可以认为,高剂量氧化锌与纳米氧化锌可能是通过提高血清锌的含量,进而促进仔猪的生长发育。

3.4 不同处理组对断奶仔猪皮毛光泽的影响

如今,使用高剂量氧化锌能促进仔猪生长已成为养殖业中一致公认的观点,但若长期使用会影响仔猪皮肤、被毛状况,出现被毛粗长乱、皮肤无光泽及影响生长发育。该试验结果表明,较 3 000 mg/kg 高锌组而言,纳米氧化锌(200、400、600 mg/kg)在改善仔猪皮毛光泽方面达到极显著性差异($P<0.01$),很好地解决了长期使用高锌饲喂仔猪出现的不良表现症状。廖三赛等(2003)针对纳米氧化锌的研究也得到了该结论。

4 结论

① 高锌和纳米氧化锌组通过提高仔猪 IgG 水平,从而增强和促进机体非特异性免疫功能,提高动物机体的防病抗病能力,发挥其抗腹泻和促生长的作用。

② 使用高锌和纳米氧化锌提高仔猪的抗病力,使仔猪保持健康,所以在提高仔猪增重的同时也提高仔猪的血清碱性磷酸酶的活性。

③ 高剂量氧化锌与纳米氧化锌可能是通过提高血清锌的含量,进而促进仔猪的生长发育。

④ 较高锌组(3 000 mg/kg)而言,纳米氧化锌(200、400、600 mg/kg)组在改善仔猪皮毛光泽方面达到极显著性差异($P<0.01$),很好地解决了长期使用高锌饲喂仔猪出现的不良表现症状。

参与文献

- [1] 陈艳珍,李其凤,肖翠红,等.氧化锌对仔猪生长、生化指标和消化的影响[J].黑龙江八一农垦大学学报,2001,13(4):66-70.
- [2] 方络云,邹晓庭,蒋林树,等.不同锌源对断奶仔猪免疫和抗氧化作用的影响[J].中国兽医学报,2005,25(2):201-202.

- [3] 刘剑锋,曹永春,王立贤,等.注射不同剂量 IgG 对仔猪生产性能及血液指标的影响[J].北京农学院学报,2004,19(4):59-62.
- [4] 廖三赛,郑宗林.晶锌蓓(纳米氧化锌)与高剂量氧化锌对早期断奶仔猪饲养试验的比较[J].养殖与饲料,2003(8):9-10.
- [5] 王旭辉,倪士澄.肉鸭生长与血清碱性磷酸酶活性、无机磷、蛋白质水平的相互关系[J].生物技术杂志,1997,14(1):18-20.
- [6] 许宗祥,张健,林敬东,等.纳米 ZnO 粉体的制备及其影响因素[J].厦门大学学报(自然科学版),2002,41(4):472-474.
- [7] 杨丽娥,张占芳,程美蓉,等.球蛋白制剂对仔猪血清碱性磷酸酶(ALP)活性的影响[J].上海农学院学报,1993,11(3):232-236.
- [8] 赵昕红,李德发.高铜和高锌对仔猪生长性能、免疫功能和抗氧化酶活性的影响[J].中国农业大学学报,1999,4(1):91-96.
- [9] Cheng J, E T Kornegay, T Schell. Influence of the sources and levels of supplemental zinc from zinc sulphate and zinc lysine complex by young pigs[J]. J Anim Sci, 1998, 76: 1 064-1 074.
- [10] Hill G M, Cromwell G L, Crenshaw T D, et al. Impact of pharmacological intakes of zinc and copper on performance of weanling pigs[J]. Journal of Animal Science, 1996, 74(Suppl. 1): 181.
- [11] Hill G M, Cromwell G L. Growth promotion effects and plasma change from feeding high dietary concentrations of zinc and copper to weanling pigs[J]. J. Anim. Sci, 2000: 78: 1 010-1 016.
- [12] Joseph D Hahn and David H Baker. Growth and plasma zinc responses of young pigs fed pharmacologic levels of zinc[J]. J Anim Sci, 1993, 71: 3 020-3 024.
- [13] Lecce JG. Effect of dietary regimen on cessation of uptake of macromolecules by piglet intestinal epithelium (closure) and transport to the blood[J]. J of Nutrition, 1973, 103: 751-756.
- [14] Muirhead, Sarah. Feeding of high levels of zinc oxide found benefited to weanling pigs[J]. Feedstuff, 1992, 9: 22.
- [15] NRC Nutrient requirement of swine. 10th Rev. Ed. Washington D. C.: National Academy press, 1998.
- [16] Poulsen H D. Zinc oxide for weaned pigs[c]. In: Proc 40th Annu Mtg Eur Assoc Anim Prod, 1989, 8-10.
- [17] Shipp TE. Dietary immunoglobulins improves pig performance[J]. Feedstuffs, 2001, 3: 16-17.

(编辑:沈桂宇, guiyush@126.com)

·一句话新闻·

唐人神集团与美国威特先公司正式签订协议,联合成立生猪育种公司,培育国内领先的“五元”种猪,加快全省生猪品种改良。这标志着唐人神集团的“千万头生猪工程”正式启动。

美国阿肯色州立大学科研人员近日宣布,以超临界甲醇法能将鸡肉脂肪转化成生物柴油燃料。这一发现将使替代燃料更为丰富易得,并将大幅缩减原料及其它农副产品的成本。

在降低代谢能日粮中添加生态制剂 对肉鸡生产性能的影响

王允超 岳寿松 彭虹旋 任小亮 刘华阳

摘要 试验采用玉米—豆粕—杂粕型肉鸡日粮添加 KDN 生态制剂饲喂肉鸡,研究添加不同生态制剂日粮对肉鸡生产性能的影响。试验结果表明,在正常日粮基础上降低 125.6 kJ/kg 代谢能再添加 KDN 生态制剂组日耗料量与正、负对照组差异不显著($P>0.05$);日增重在正、负对照组基础上可以显著提高 11.7%、12.2%($P<0.05$);料肉比在正、负对照组基础上降低 0.13、0.11($P<0.05$)。在降低代谢能的日粮添加生态制剂可以提高肉鸡的生长性能。

关键词 生态制剂;肉鸡;生产性能

中图分类号 S816.3

生态制剂是根据生态理论研制的含有有益微生物及其代谢产物的活菌制剂,通过维持肠道内微生物平衡而发挥作用,具有防治疾病、增强机体免疫力、促进生长、增加体重等多种功能,且无污染、无残留、不产生抗药性。生态制剂可在数量或种类上补充肠道内缺少的正常微生物,调整或维持肠道内微生物平衡,促进有益菌增殖,抑制致病菌生长。有益微生物能产生各种消化酶,降解饲料中的某些抗营养因子,从而提高饲料转化率。

本试验选用 AA 肉鸡作为试验对象进行试验,研究和验证 KDN 生态制剂对畜禽生产性能的影响及作用,为 KDN 生态在畜禽生产中的推广应用提供数据支持。

1 材料与方法

1.1 生态制剂的种类及测定方法

试验所用 KDN 生态制剂(通用型)由青岛康地恩生物集团提供,有效活菌含量 $\geq 10 \times 10^9$ CFU/g。

1.2 基础日粮组成及营养水平

本试验选用玉米—豆粕—杂粕型肉鸡日粮,基础日粮配制标准参照中华人民共和国农业部 2004 年发布的鸡饲养标准(NY/T 33—2004),基础日粮组成及营养水平见表 1。

1.3 试验设计及管理

试验日粮均为颗粒饲料,A 组为正对照组,即基础日粮组;B 组为负对照组,即在 A 组日粮基础上降低 125.6 kJ/kg 代谢能;C 组在 B 组(负对照组)日粮基础上添加 1 000 g/t 的 KDN 生态制剂,且添加生态制剂试验组的日粮配方和营养水平与负对照组一致。

表 1 基础日粮组成及营养水平

项目	510(1~21d)		511(22~42 d)	
	正对照	负对照	正对照	负对照
玉米(%)	60.22	61.33	64.10	64.92
玉米酒精糟(%)	3.00	3.00	4.00	4.00
豆粕(%)	22.00	21.58	14.40	14.26
棉粕(%)	2.00	2.00	3.00	3.00
花生粕(%)	5.00	5.00	5.00	5.00
玉米蛋白粉(%)	3.00	3.00	3.50	3.50
猪油(%)	0.90	0.21	2.10	1.42
预混料(%)	3.88	3.88	3.90	3.90
营养水平				
粗蛋白(%)	21.12	21.01	19.00	19.00
ME(MJ/kg)	12.14	12.01	12.62	12.48
钙(%)	0.92	0.92	0.89	0.89
有效磷(%)	0.45	0.45	0.41	0.42
总赖氨酸(%)	1.12	1.11	1.03	1.02

注:1. 肉鸡预混料由山东六和集团提供(主要成分为赖氨酸、蛋氨酸、磷酸氢钙、石粉、食盐、复合多微和复合微矿);

2. 生态制剂具有耐高温的性质,因此采取在外配方中直接添加后经过制粒而成。

本试验采用单因子随机设计,将 432 只 1 日龄 AA 肉鸡,按照公母各半、体重一致的原则随机分为 3 个处理组,每个处理设 12 个重复,每个重复 12 只鸡,试验时间 2007 年 6 月 22 日至 2007 年 7 月 27 日。

试验期间记录每日耗料量,测定 1~3 周龄、4~5 周龄及 1~5 周龄的各阶段平均个体日增重、个体日耗料量、料肉比。

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

王允超,山东康地恩集团,266061,山东青岛高科园苗岭路 29 号澳柯玛大厦 6 楼 0607 室。

岳寿松、彭虹旋、任小亮,单位及通讯地址同第一作者。

刘华阳,山东省饲料监察所。

收稿日期:2007-12-03

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

试验在青岛康地恩生物集团生物代谢试验室进行。

2 试验结果与分析

2.1 日粮添加 KDN 微生物制剂对 1~21 日龄肉鸡生产性能的影响(见表 2)

表 2 日粮添加 KDN 微生物制剂对 1~21 日龄肉鸡生产性能的影响

组别	21 d 平均个体重(g)	日耗料量(g/只)	日增重(g/只)	料肉比
正对照组	658.2±12.5 ^{ab}	44.7±0.8	28.6±0.6 ^b	1.55±0.02 ^a
负对照组	631.1±14.0 ^b	44.9±0.8	28.5±0.7 ^b	1.57±0.02 ^a
试验组	683.1±4.6 ^a	45.6±0.3	30.5±0.2 ^a	1.49±0.01 ^b

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

1~21 日龄阶段的生产性能试验结果表明,添加 KDN 微生物制剂试验组,21 日龄平均个体重在正、负对照组基础上分别提高 3.8%(P>0.05)和 8.2%(P<0.05),试验组日增重在正、负对照组基础上分别提高 6.6%

(P<0.05)和 7.0%(P<0.05);料肉比在正、负对照组基础上分别降低 0.06(P<0.05)和 0.08(P<0.05)。

2.2 日粮添加不同 KDN 微生物制剂对 22~35 日龄肉鸡生产性能的影响(见表 3)

表 3 日粮添加 KDN 微生物制剂对 22~35 日龄肉鸡生产性能的影响

组别	35 d 平均个体重(g)	日耗料量(g/只)	日增重(g/只)	料肉比
正对照组	1 536.7±36.5 ^b	120.1±3.2 ^b	63.3±2.0 ^c	1.91±0.01 ^a
负对照组	1 528.2±31.1 ^b	124.4±2.7 ^{ab}	66.3±1.7 ^{bc}	1.89±0.01 ^a
试验组	1 696.6±21.3 ^a	131.3±2.4 ^a	73.0±1.1 ^a	1.76±0.01 ^b

试验结果表明,添加 KDN 微生物制剂试验组 35 日龄平均个体重在负对照组基础上提高 11.0%(P<0.05),日增重提高 10.1%(P<0.05),料肉比降低 0.13(P<0.05),这一阶段生产性能两个对照组试验结果较差,原因可能是试验期间因高温酷暑,肉鸡热应激造成,由于 KDN 微生物制剂减缓了肉鸡热应激,因而试验组生产性能基本没有受到影响。

2.3 日粮添加不同 KDN 微生物制剂对 1~35 日龄肉鸡生产性能的影响(见表 4)

表 4 日粮添加 KDN 微生物制剂对 1~35 日龄肉鸡生产性能的影响

组别	日耗料量(g/只)	日增重(g/只)	料肉比
正对照组	76.4±2.3	42.7±1.0 ^b	1.79±0.03 ^a
负对照组	76.0±2.0	42.5±0.9 ^b	1.77±0.02 ^a
试验组	79.0±2.0	47.7±0.5 ^a	1.66±0.03 ^b

试验结果表明,KDN 微生物试验组的个体日耗料量在正、负对照组基础上分别提高 3.4%、3.9%,差异不显著(P>0.05),日增重提高 11.7%、12.2%(P<0.05),料肉比降低了 0.13、0.11(P<0.05)。

3 小结与讨论

试验全期的生产性能结果表明,添加 KDN 微生物制剂组在日增重指标上比正、负对照组分别提高 11.7%、12.2%差异均显著(P<0.05),表示日粮在降低 125.6 kJ/kg 代谢能基础上添加 KDN 微生物制剂可

以提高肉鸡的日增重,改善肉鸡的生长性能;添加 KDN 微生物制剂组在料肉比指标上比正、负对照组分别降低 0.13、0.11(P<0.05),差异显著,表示日粮在降低 125.6 kJ/kg 代谢能基础上添加 KDN 微生物制剂可以提高肉鸡对日粮的利用效率。

大量研究结果表明,饲料中添加微生物制剂可不同程度地改善肉鸡日粮的利用率,提高增重、降低死亡率等。本试验在正常日粮基础上降低 125.6 kJ/kg 代谢能,添加 KDN 微生物制剂,试验组鸡只平均末体重、平均日增重、料肉比指标与降能量日粮组相比有明显的优势,特别是试验后期天气持续高温,肉鸡生长受到热应激的影响,正、负对照组肉鸡生长受到明显影响,而 KDN 微生物试验组肉鸡生长正常,因此生产性能显著好于对照组。

本试验正、负对照组各个阶段的生产性能差异不显著(P>0.05),原因是肉鸡具有“因能而食”的生理调节能力,肉鸡日粮即使有 125.6 kJ/kg 能量变异,单就日粮能量而言对肉鸡实际生长影响很小,因此降低日粮代谢能 125.6 kJ/kg 后,可以为添加 KDN 微生物制剂开辟了利用空间,不仅降低了饲料生产成本,而且可以提高肉鸡的生产性能和饲养经济效益。因此 KDN 微生物制剂在饲料中有一定应用前景。

(编辑:王 芳,xfang2005@163.com)

高效液相色谱-四极杆质谱联用 测定饲料中三聚氰胺含量

赖碧清 郑晓航 韩银涛

摘要 试验采用自动固相萃取装置,建立合适的过柱程序;运用 Agilent HP1100 高效液相色谱-四极杆质谱联用仪,优化质谱条件,建立饲料中三聚氰胺残留检测方法。方法的线性范围为 0.010~0.500 $\mu\text{g/ml}$,相对标准偏差在 3.2%~7.7%之间,回收率在 72.4%~91.2%之间,具有较好的准确度和精密度。

关键词 三聚氰胺;高效液相色谱-四极杆质谱联用;饲料

中图分类号 S816.17

三聚氰胺(melamine)简称三胺,学名三氨三嗪,是一种重要的氮杂环有机化工原料,在饲料工业中作为粘合剂使用。在饲料中少量添加三聚氰胺即可大大提高蛋白含量,因为每个三聚氰胺分子中都含有 6 个氮原子,而在原料的粗蛋白检测过程中,用浓硫酸消化这一过程可以将三聚氰胺分解掉,这样在最后的计算中,三聚氰胺中的氮原子即可提高粗蛋白的比率,造成蛋白含量虚假增高。

动物食入三聚氰胺可发生肾衰竭并导致死亡,所以农业部“关于严厉打击非法生产经营和使用‘蛋白精’违法行为的通知”(农牧发[2007]8号)中明确规定,以三聚氰胺等为原料的“蛋白精”已经被列为我国明令禁止的非法添加物,禁止在任何饲料中使用。本试验在借鉴国内外方法的基础上,运用 Agilent HP1100 高效液相色谱-四极杆质谱联用仪,优化质谱条件,建立了饲料中三聚氰胺残留检测方法,并对方法进行了验证。

1 材料和方法

1.1 方法原理

用乙腈:水(1:1)为提取剂提取饲料中三聚氰胺,提取后过强阳离子交换柱富集和净化,用质谱在电喷雾选择反应监测离子的模式下,进行质谱定量和确证,外标法定量。

1.2 仪器和设备

Agilent HP1100 高效液相色谱-四极杆质谱联用仪、AG204 分析天平、Gilson ASPEC XL4 自动固相萃取仪、Universal 32R 高速离心机、涡旋振荡混合器、N-EVAP24 氮吹仪、OasisMCX 固相萃取小柱(6 ml/150 mg)。

1.3 试剂和材料

三聚氰胺标准品:纯度 $\geq 99.0\%$,Sigma 公司;甲醇:HPLC 级;乙腈:HPLC 级;氨水:36%分析纯;提取液:乙腈:水=1:1;液氮。

1.4 标准溶液的配制

精密称取三聚氰胺标准品 100 mg(精确到 0.1 mg),用甲醇:水=7:3(v:v)溶解并定容于 100 ml 容量瓶中,制成浓度为 1 000 $\mu\text{g/ml}$ 标准贮备液,可冷藏保存 3 个月。标准工作液按照需要用流动相逐级进行稀释配制。

1.5 样品预处理

称取 5 g(精确到 0.01 g)均质样品到 50 ml 塑料离心管,加入 25 ml 提取液,旋涡混匀 30 s,充分震荡 1 min,以 4 000 r/min 离心 5 min,吸取 5 ml 上清液转移入 15 ml 离心管中,加入 10 ml 二氯甲烷,充分震荡 2 min,以 4 000 r/min 离心 5 min,吸取上清液转移入玻璃离心管中备用。分别用 5 ml 甲醇、5 ml 水活化 MCX 柱,将样品溶液上柱,再用 5 ml 水和 5 ml 甲醇洗涤 MCX 柱,抽干 1 min 后,用 5 ml 5%氨水甲醇溶液洗脱。洗脱液于 50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴氮吹至干,用 1 ml 流动相溶解,混匀,过 0.2 μm 滤膜,上机测定。

1.6 仪器分析条件

1.6.1 色谱条件

色谱柱:ZORBAX SB-C18 柱,2.1 mm \times 150 mm,粒径 5 μm ,或相当者;柱温:25 $^{\circ}\text{C}$;流动相:50 mmol/l 乙酸铵水溶液-甲醇(90:10),用前过滤膜;流速:0.25 ml/min;进样量:25 μl 。

1.6.2 质谱条件

电离方式:电喷雾电离源(ESI⁺);干燥气温度:350 $^{\circ}\text{C}$;雾化气压力:35 psig;碎裂电压:100 V;干燥气流速:12 L/min;毛细管电压:3 500 V;选择离子检测(SIR)质荷比(m/z):127,85,60。

赖碧清,深圳市肉品卫生检验所,518000,深圳。

郑晓航、韩银涛,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2008-01-07

2 结果与讨论

2.1 仪器条件的优化

根据三聚氰胺总离子扫描质谱图,选择特征离子 m/z 127,85,60。本实验选用 50 mmol/l 乙酸铵溶液-甲醇作为流动相,有助于 ESI⁺正离子的形成;通过调整配比,当 50 mmol/l 乙酸铵溶液与甲醇体积比为 90:10 时,三聚氰胺的保留时间 $T=1.425$ min,避免了杂质峰的干扰,有利于基体中复杂成分的色谱分离。分别摸索不同的碎裂电压、毛细管电压下可以得到不同比例

的三聚氰胺碎片离子,在碎裂电压 100 V、毛细管电压 3 500 V 时, m/z 127 的 $[M+H]^+$ 基峰的丰度较高,定量重现性好。

2.2 不同固相萃取小柱净化效果的比较

本实验对 C18、MCX 2 种 SPE 净化柱进行除杂及过柱回收率比较,结果见表 1(添加量为 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$)。经过回收结果比较,选择 MCX 型 SPE 净化柱作为饲料中三聚氰胺残留测定净化柱,可以达到较好的净化目的,且过柱回收率较高。

表 1 不同固相萃取柱的效果比较

固相萃取柱	回收率(%)	效果
MCX	74-95	回收率较高,重现性好,且除杂效果好,净化后目标峰附近干扰少
C18	42-58	回收率低,除杂效果稍差,净化后目标峰附近干扰峰较多。

2.3 过柱流速的控制

实验过程中发现,净化过程中流速的控制对净化效果和回收率的影响很大。本实验采用自动固相萃取仪,针对影响净化效果和回收率的 3 大因素:柱子活化速度、样液上柱速度和洗脱速度进行一系列的实验摸索,首先是固定样液上柱速度和洗脱速度,改变柱子活化速度分别为 1.5、1.2、1.0 ml/min,比较不同柱子活化速度下的回收率和质谱图。按上述方法优化样液上柱速度和洗脱速度。实验结果表明,当设置活化速度为 1.2 ml/min,样液上柱速度为 1 ml/min,洗脱速度为 1 ml/min 时,回收率较高且稳定。同时自动固相萃取仪的使用,不仅避免了以前手工过柱的手忙脚乱,而且检测结果平行性好,重现性好。

2.4 线性范围

配制一系列浓度的标准工作液。待仪器基线稳定后进行测定,用峰面积(Y)对标准浓度(X)进行线性回归,线性系数 $R=0.9994$,回归方程为 $Y=2.37 \times 10^5 X + 4\ 748.05$ 。实验结果表明,三聚氰胺浓度在 0.010~0.500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 范围内,质谱均有着良好的线性响应。

2.5 方法的加标回收实验

取一份饲料样品作为空白样品,将其制成加标浓度分别为 25、50 和 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的加标试样。将空白样品与加标试样进行同样的预处理后,上机测定。加标回收实验结果见表 2。实验结果表明此方法的加标回收率在 72.4%~91.2%之间,具有较好的准确度,满足检测要求。

表 2 不同添加浓度样品回收实验

加标浓度($\mu\text{g}/\text{kg}$)	测定结果($\mu\text{g}/\text{kg}$)	平均值($\mu\text{g}/\text{kg}$)	变异系数(%)	回收率(%)
25	18.1, 20.7, 20.1, 21.8, 22.8, 21.2	20.8	7.7	72.4~91.2
50	37.8, 39.6, 38.9, 36.2, 40.1, 38.2	38.5	3.6	72.4~80.2
100	75.4, 75.5, 75.0, 80.4, 74.9, 73.1	75.7	3.2	73.1~80.4

3 小结

经过上述实验验证,本方法用于测定动物尿液中的三聚氰胺残留量,相对标准偏差在 3.2%~7.7%之间,回收率在 72.4%~91.2%之间,具有较好的准确度和精密性。

参考文献

[1] W. C. Andersen, S. B. Turnipseed, Determination of Melamine Residues in Catfish Tissue by Triple Quadrupole LC-MS-MS with HILIC Chromatography[J]. Laboratory Information Bulletin. 2007,23: 4396.

[2] D.W. Hamilton, P. A. O'Neal, Analytical methods for the quantification of free melamine and cyanuric acid in Nylon 6/6,6 copolymer[J]. J. Sep. Sci., 2003,26:510-514.
 [3] J. V. Sancho, M. Ibanez, Residue determination of cyromazine and its metabolite melamine in chard samples by ion-pair liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry[J]. Analytica Chimica Acta. 2005, 530: 237-243.
 [4] 栾伟.液相色谱串联质谱法(LC-MS/MS)分析宠物食品中三聚氰胺[J]. 分析测试学报, 2007, 26(1): 285-286.
 [5] SANCHO J V, IBAÑEZ M, GRIMALT S, et al. Anal Chim Acta, 2005, 30(5): 237-243.

(编辑:徐世良, fi-xu@163.com)

酶联免疫法检测饲料中莱克多巴胺的探讨

贾涛 魏秀莲 王有月

近年来全社会对“瘦肉精”猪非常关注,政府出台了一系列相关法律法规,加大了对生产、销售以及在猪饲料、饮水中添加“瘦肉精”等违禁药物的打击力度,同时对猪的饲料、尿样、内脏中“瘦肉精”残留量的检测水平和检测频率也有了很大的提高,对不法分子起了较大的震慑作用。但由于利益的驱使,加之对“瘦肉精”替代品的检测仍处于起步阶段,违法活动并没有停止。现有证据表明,莱克多巴胺作为“瘦肉精”替代品已在养猪生产中被使用。本试验用 ELISA 方法对生长育肥猪配合饲料进行莱克多巴胺含量检测,以摸索有效、快速的莱克多巴胺检测方法。

1 莱克多巴胺

盐酸莱克多巴胺,化学名称为 4-[3-[2-羟基-2-(4-羟基苯基)-乙基]氨基丁基]苯酚盐酸盐,分子式 $C_{18}H_{23}NO_3 \cdot HCl$,分子量为 337.85。理化特性为白色或类白色的结晶粉末,无嗅、味苦,熔点 165~167℃。

2 试验材料

2.1 试样制备

按 GB/T 14699.1 抽取有代表性的饲料样品,用四分法缩减取约 200 g,粉碎至过 0.45 mm 孔径的分析筛,混匀,装入磨口瓶中备用。

2.2 试剂盒和溶液的准备

除非另有说明,本法所用试剂均为分析纯,水为去离子水,符合 GB/T 6682 二级水的规定。

2.2.1 试剂盒

已包被抗原的酶标板(96孔)、标准溶液(0、0.05、0.15、0.5、1.5、4.5 ng/ml)、盐酸克伦特罗一抗体(15 ml)、100倍浓缩偶联酶标记二抗体(250 μ l)、酶标记二抗体稀释液(20 ml)、20倍浓缩工作液(28 ml)、终止液(20 ml)、TMB 底物溶液(12 ml)、200倍浓缩样品提取液(25 ml)、10倍浓缩 PBS 溶液(25 ml)。

试剂盒应当在 2~8℃ 的温度下储存,有效期为 1 年,如果超过 3 个月不使用试剂盒,应将一抗和二抗

溶液放置在 -20℃ 的温度下储存。

本测定方法是酶联免疫法中的竞争性测定法,试剂盒主要原理是:吸附在孔内的莱克多巴胺与标准或样品中的莱克多巴胺竞争性地与莱克多巴胺抗体相结合,与标准品或样品相结合的莱克多巴胺抗体被洗涤去除后,只剩下与微孔内药物相结合的抗体,其再与加入的酶标记的第二抗体相结合,酶底物在酶作用下产生蓝色产物,吸光度的高低与样品中莱克多巴胺的含量成反比。

2.2.2 试剂溶液使用前的准备

所有的试剂在使用之前应将其回温至室温(约半小时),并在使用试剂前轻微摇动几下,以保证合理的浓度。

① 样品提取液的准备:按 1:199 的比例配置样品提取浓缩液和蒸馏水。

② PBS 溶液的准备:按 1:9 的比例配置 PBS 浓缩液和蒸馏水。

③ 二抗工作液的准备:按 1:99 的比例配制二抗浓缩液和二抗稀释液,避光保存。

④ 工作洗液的准备:按 1:19 的比例配置洗涤浓缩液和蒸馏水。

2.2.3 碳酸盐缓冲液

称取 4.3 g 碳酸钠($Na_2CO_3 \cdot 10H_2O$)、2.9 g 碳酸氢钠($NaHCO_3$),加水至 1 000 ml,摇匀,调节 pH 值至 9.5。

2.2.4 提取液

取 10 ml 甲醇,加 90 ml 稀释后的 PBS 缓冲液,摇匀。

2.2.5 甲醇和乙酸乙酯

甲醇和乙酸乙酯均为分析纯。

2.3 仪器与设备

微孔板酶标仪(带 450 nm 滤光片);振荡器;冷冻离心机;微量加样器(移液枪)及配套吸头:20、50、100、300 μ l;冰箱;洗板机;生化培养箱;氮吹仪;分析天平:感量 0.000 1 g。

3 试验方法

3.1 试样处理

取 2 g 生长育肥猪配合饲料试样于 50 ml 离心管中,加入 6 ml 提取液,上下手摇数次,加入 6 ml 碳

贾涛,北京市饲料监察所,100107,北京市朝阳区安外北苑路甲 15 号。

魏秀莲、王有月,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-12-10

酸盐缓冲液,再加入 8 ml 乙酸乙酯,振荡 30 min;以 4 000 r/min 的转速离心 5 min,移取 2.0 ml 上层有机相至另一新试管中,氮风吹干。加入 50 μ l 甲醇溶解残余物后,再加入 450 μ l PBS 缓冲液,即为供试溶液,取 50 μ l 进行 ELISA 测定。

3.2 测试程序

① 根据所测定样品及标准数,计算出所需微孔条数,将微孔条插入微孔架,标准和样品做两个孔的平行重复,记录标准和样品的位置。

② 加入 50 μ l 的标准品和处理好的样品到各自的微孔中,标准和样品做两个平行重复。

③ 加入 100 μ l 第一抗体溶液到每一个微孔中,在 37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min 后倒出孔中的液体,将微孔架倒置在吸水纸上拍打(每轮拍打 3 次),以保证完全除去孔中的液体,再加入工作洗液 250 μ l,重复操作两遍。最后用吸水纸吸干。

④ 加入 150 μ l 稀释的酶标记的第二抗体到每一个微孔中,37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min 后倒出孔中的液体,将微孔架倒置在吸水纸上拍打(每轮拍打 3 次)以保证完全除去孔中的液体,再加入工作洗液 250 μ l,重复操作两遍。最后用吸水纸吸干。

⑤ 加入 100 μ l 酶底物液到微孔中,充分混合并在室温孵育 15 min。

⑥ 加入 100 μ l 反应终止液到微孔中,混合后在 450 nm 处测量吸光度值。

4 结果

4.1 检测结果

以空白(浓度为 0 的标准溶液)吸光度值为 100% 计算,折算出各标准和样品的相对吸光度值。

相对吸光度值(%)=标准的吸光度值(或样品)/空白的吸光度值 \times 100。

计算出的标准相对吸光度值绘成为 1 个对应浓度(ng/ml)的半对数坐标系统曲线图,校正曲线在 0~25 ng/ml 范围内应当成为线性。相对应每一个样品的含量(μ g/kg)可以从校正曲线上读出(见图 1、表 1)。

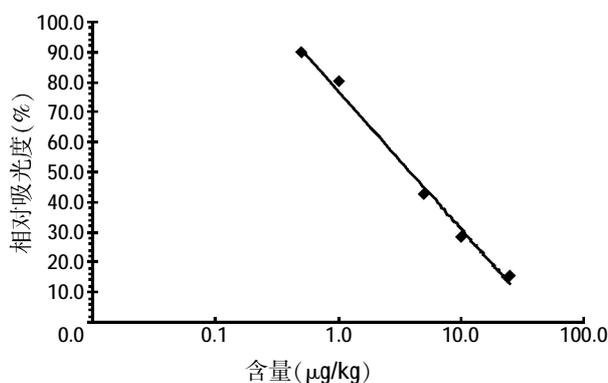


图 1 样品含量与相对吸光度标准曲线

表 1 标准曲线

标准浓度(ng/ml)	浓度对数	OD450-1	OD450-2	平均 OD	相对吸光度(%)
0.00	-	2.122	2.163	2.143	100.0
0.50	0.30	1.938	1.914	1.926	89.9
1.00	0.00	1.726	1.706	1.716	80.1
5.00	0.70	0.909	0.921	0.915	42.7
10.00	1.00	0.583	0.640	0.612	28.5
25.00	1.40	0.335	0.339	0.337	15.7
$r=0.9964$		斜率=45.8722		截距=77.0439	

4.2 检测数据分析(见表 2、表 3、表 4)

表 2 离散系数

标准浓度(ng/ml)	检测个数	离散系数(%)
0.00	8	2.6
0.50	8	3.4
1.00	8	2.8
5.00	8	2.4
10.00	8	2.8
25.00	8	2.1

依据国家标准所指定的方法“GB/T20189—2006

饲料中莱克多巴胺的测定”中规定,测定结果小于 0.1 μ g/g 时,判定为“阴性”,检测结果按“未检出”计,反之按“GB/T20189—2006”处理。

把 0.1 μ g/g 换算成以 μ g/kg 为单位是 100 μ g/kg。饲料在前处理过程中被稀释 20 倍,表 4 所列出的浓度值(conc)是经过酶联免疫分析检测软件处理后的最终浓度值,表中所列出的数值是已经乘以稀释倍数后的浓度值。

通过表 4 可以看出,对检测的饲料样品均小于

表3 阳性添加回收率

标准浓度(ng/ml)	OD450-1	OD450-2	平均 OD	相对吸光度(%)	浓度(ng/ml)	回收率(%)
0.50	1.958	1.934	1.946	90.8	0.501	100.2
1.00	1.668	1.658	1.663	77.6	0.972	97.2
5.00	0.952	0.946	0.949	44.3	5.175	103.5
25.00	0.286	0.303	0.295	13.7	23.982	95.9
						平均回收率(%)=99.2

“GB/T20189—2006”所规定的 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 检测结果均按未检出计。可以反应出, 目前市场上的生长育肥猪饲料中没有添加莱克多巴胺, 饲料质量安全可靠。通过表 1 可知标准曲线的 r 值达到 0.996 4, 高于规定的 0.98; 表 2 可以看出离散系数(CV 值)不高于 3.4%; 表 3 可以看出阳性添加回收率平均达到 99.2%, 高于试剂盒中所规定的 95% 的回收率数值; 这些数据表明此次检测准确可靠。

表4 饲料样品检测结果

样品编号	样品质量(g)	OD-1	OD-2	相对吸光度(%)	浓度($\mu\text{g}/\text{kg}$)
1	2.003 6	2.452	2.384	112.9	3.313
2	2.006 0	2.604	2.547	120.2	2.291
3	2.001 2	2.564	2.672	122.2	2.074
4	2.000 6	2.736	2.683	126.5	1.647
5	2.006 7	2.607	2.692	123.7	1.926
6	2.001 6	2.010	2.031	94.3	8.409
7	2.001 1	2.661	2.766	126.7	1.658
8	2.000 4	2.644	2.724	125.3	1.777
9	2.002 5	2.565	2.681	122.4	2.050
10	2.002 6	2.567	2.479	117.8	2.591
11	2.001 0	2.633	2.698	124.4	1.855
12	2.001 2	2.644	2.724	125.3	1.777
13	2.002 3	1.998	2.015	93.7	8.689
14	2.003 2	2.540	2.442	116.3	2.793
15	2.001 5	2.644	2.768	126.3	1.687
16	2.002 6	2.676	2.666	124.7	1.832
17	2.001 8	2.655	2.588	122.4	2.057
18	2.000 6	2.606	2.563	120.6	2.243
19	2.002 1	2.471	2.634	119.1	2.418
20	2.001 9	2.703	2.524	122.0	2.096
21	2.002 5	2.756	2.714	127.7	1.577
22	2.000 7	2.597	2.538	119.8	2.334
23	2.001 2	2.541	2.664	121.5	2.151
24	2.002 2	2.768	2.652	126.5	1.672
25	2.001 7	2.706	2.672	125.5	1.756
26	2.001 4	1.980	1.963	92.0	9.432
27	2.001 3	2.325	2.825	120.2	2.294
28	2.002 5	2.925	2.930	136.6	1.004
29	2.001 4	2.454	2.558	117.0	2.696
30	2.001 0	2.610	2.532	120.0	2.315
31	2.002 1	2.568	2.764	124.4	1.853
32	2.002 3	2.913	2.936	136.5	1.011
33	2.001 8	2.784	3.099	137.3	0.972
34	2.002 2	2.955	2.871	136.0	1.039
35	2.001 5	2.585	2.764	124.8	1.817
36	2.002 8	2.660	2.692	124.9	1.810
37	2.002 9	2.494	2.566	118.1	2.549
38	2.002 2	2.735	2.642	125.5	1.758

5 结果讨论

① 在 ELISA 分析中的重现性, 很大程度上取决于洗板的一致性, 仔细按照推荐的洗板顺序操作是 ELISA 测定程序中的要点。在洗板过程中如果出现板孔干燥的情况, 则会伴随着出现标准曲线不成线性, 重复性不好的现象。所以洗板排干后应立即进行下一步操作。

② 在所有恒温孵育过程中, 避免光线照射, 用盖板膜封住微孔板, 孵育时间的计算越规范越好, 保持添加标准品的一致性, 先添加标准品后添加样品, 有利于检测结果的准确性。在孵育期间, 如果工作台温度过低, 应适当铺垫若干纸巾或其它物料。

③ 室温低于 20 $^{\circ}\text{C}$ 或试剂及样本没有回到室温 (20~25 $^{\circ}\text{C}$) 会导致所有标准品的 OD 值偏低。

④ 试剂混合要均匀, 否则会出现重复性不好的现象。

⑤ 不要使用过了有效日期的试剂盒, 稀释或搀杂使用会引起灵敏度、OD 值的变化。不要交换使用不同批号的盒中试剂。保存试剂盒于 2~8 $^{\circ}\text{C}$, 不要冷冻; 将不用的微孔板放进自封袋重新密封; 标准物质和无色的发色剂对光敏感, 因此要避免直接暴露在光线下。

⑥ 水质对检测结果的影响很重要, 应确保使用蒸馏水或者去离子水。

⑦ 加入样品或者试剂到微孔板时, 吸嘴靠于微孔板壁, 尽量接近微孔底部, 但不应接触到底部, 以免划伤吸附在微孔内的抗原。

⑧ 从低浓度到高浓度地添加标准品, 可降低影响标准曲线质量的风险。

(编辑: 徐世良, fi-xu@163.com)

·一句话新闻·

农业部加强对饲料生产企业的监督检查, 各地共检查饲料生产企业 15 833 家, 查处违法违规企业 140 家, 检测饲料中违禁药品 2002 批次, 合格率达 98.9%。开展了兽药清查活动, 加大了对兽药违法案件的督办力度。各地检查了兽药生产使用单位 30 103 家, 兽药抽检合格率提高了 2 个百分点。

霉菌毒素及其作用机理

徐运杰 方热军

广义上讲,霉菌毒素是指产毒霉菌在基质上生长繁殖时产生的有毒次级代谢产物,以及某些霉菌使其基质发霉变质后形成的有毒化学物质。狭义上的霉菌毒素主要指霉菌在污染基质的过程中产生的有毒代谢产物。由于霉菌种类的多样性,其有毒代谢产物也多种多样,现已知的霉菌毒素有200多种。本文就主要的几种霉菌毒素进行详细介绍。

1 霉菌毒素的起源及其分类

霉菌毒素这个词最早出现是在1962年。当年,英国伦敦发生了一场大灾难,大约有十万只火鸡死亡。经检验分析,这个神秘的火鸡“X”病与饲喂了滋生有黄曲霉次级代谢产物的花生粉有关(Blout W.P., 1961; Forgacs J., 1962)。不久,麦角生物碱和棒曲霉毒素等霉菌次级代谢产物也归类于霉菌毒素,同时研究也发现了如赭曲霉毒素等新的霉菌毒素。1962年到1975年,对霉菌毒素的研究非常火热(Maggon等, 1977)。要注意的是,霉菌毒素是由霉菌产生的次级代谢产物,但并不是霉菌产生的所有有毒化合物都可称为霉菌毒素,这要看次级代谢物的用途和引起中毒症所需的浓度。如果产物主要用来杀死其它微生物,像盘尼西林,则称为抗生素;如果对植物产生毒性,则被植物病理学家称为植物毒素(注意要与由植物产生的毒素进行区别);而由霉菌产生的低分子次级代谢产物如果在低浓度下就能够对畜禽和人类产生毒性,则可称为霉菌毒素。其它低分子代谢产物,如乙醇,只有在较高浓度时才有毒性,就不能称其为霉菌毒素(Bennett J.W., 1987)。

对于霉菌毒素的分类,不同的学者有不同的分类方法。临床工作人员常通过霉菌毒素影响的器官进行分类,因此有肝毒素、肾毒素、神经毒素、免疫毒素、致皮炎毒素、血液毒素等;细胞生物学家则把霉菌毒素

分为致畸毒素、致诱变毒素、致癌毒素和致变态反应毒素;有机化学家依结构的差别将霉菌毒素划分为内酯环类、二咪喃环类、醌类、环氧类、有卤素原子类、甾基质环类等;生物化学家根据霉菌毒素合成途径进行分类,如通过聚酮途径产生毒素,通过氨基酸衍生(amino acid-derived)产生的毒素等;霉菌学者则根据产生毒素的霉菌名称进行分类,这种分类方法已被广大学者承认和接受。

2 主要的霉菌毒素

在饲料中常见的产毒素霉菌主要有曲霉属(*Aspergillus*)中的黄曲霉(*A. flavus*)、赭曲霉(*A. ochraceus*)、杂色曲霉(*A. versicolor*)、构曲霉(*A. nidulans*)、寄生曲霉(*A. parasiticus*)和烟曲霉(*A. fumigatus*)等。青霉属(*Penicillium*)中的岛青霉(*P. isandicum*)、桔青霉(*P. citrinum*)、黄绿青霉(*P. citreoviride*)、红色青霉(*P. rubrum*)、扩展青霉(*P. expansum*)、圆弧青霉(*P. cyclopium*)、纯绿青霉(*P. viridicatum*)和斜卧青霉(*P. decumbens*)等。镰刀菌属(*Fusarium*)中的禾谷镰刀菌(*F. graminearum*)、三隔镰刀菌(*F. tritinctum*)、玉米赤霉菌(*Gibberellaceae*)、梨孢镰刀菌(*F. poae*)、尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*)、雪腐镰刀菌(*F. nivale*)、串珠镰刀菌(*F. manlib-orme*)、拟枝孢镰刀菌(*F. sporotrium*)、木镰刀菌(*F. equisti*)、茄病镰刀菌(*F. solani*)、粉红镰刀菌(*F. roseum*)等。另外,麦角菌属(*Claviceps*)、鹅膏菌属(*Amanita*)、马鞍菌属(*Helvella*)和链格孢菌(*Alternaria*)等也是较为常见的产毒霉菌。

2.1 黄曲霉毒素

黄曲霉毒素(Aflatoxins, AF)是由黄曲霉和寄生曲霉通过聚酮途径所产生的一种对人类和畜禽危害最大、最常见的霉菌毒素。黄曲霉毒素在1961年首次从霉变花生粉中发现(Blout, W.P. 1961, Goldblatt等, 1969),后来进一步研究发现,许多黄曲霉毒素的衍生物和相似物,所以它是指一类结构类似的化合物的总称。

黄曲霉毒素的基本结构单位是含有一个双氢咪喃环和一个氧杂萘邻酮。天然产生的黄曲霉毒素根据

徐运杰,湖南农业大学动物科学技术学院,410128,湖南长沙湖南农业大学1879号信箱。

方热军,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-12-17

其在蓝色(Blue)或绿色(Green)紫外光下所产生的荧光以及在薄层色谱法过程中的相对迁移率不同,主要有 B₁、B₂、G₁、G₂ 四种。另外还有多种黄曲霉毒素的代谢产物、异构物和相似物,如 P₁、Q₁、B_{2a}、G_{2a} 等,其中毒性最大、研究的最多的是 AFB₁(如图 1),是已知致癌毒性最强的霉菌毒素(Squire,1981)。通常所说的黄曲霉毒素主要是指 AFB₁。黄曲霉毒素分子量是 312~346,难溶于水、己烷和石油醚,可溶于甲醇、乙醇、氯仿、丙酮等。对热稳定,在 280 °C 才开始分解。

黄曲霉毒素对动物的主要影响是致肿瘤、免疫抑制、致突变和致畸。影响的主要靶器官是肝脏,可引起肝脏出血、肝脏脂肪变性、胆管增生等,并可导致肝癌的发生。不同动物对黄曲霉毒素的敏感程度不同,禽类对黄曲霉毒素特别敏感(Klein 等,2000)。Schuller 等(1986)报道,饲料中允许的 AFB₁ 含量是 10~300 μg/kg。饲喂奶牛的玉米中 AFB₁ 含量不得超过 20 μg/kg;饲喂肥育牛与猪的玉米中不得超过 300 μg/kg;饲喂繁殖家畜的玉米中不得超过 100 μg/kg(Ezzell,C.,1988)。饲用棉籽中 AFB₁ 的含量不得超过 300 μg/kg(Park,D.L.等,1986)。美国食品与药物管理局规定,牛奶中 AFB₁ 的代谢物 AFM₁ 的含量最大允许量是 0.5 μg/kg。

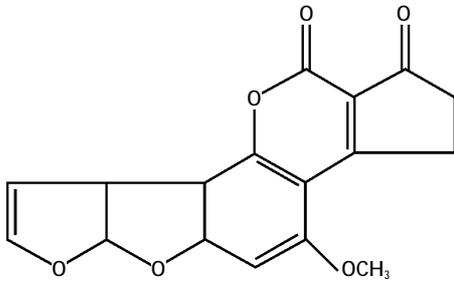


图1 黄曲霉毒素 B₁

2.2 桔青霉素

桔青霉素(Citrinin, 如图 2)早在第二次世界大战之前就从桔青霉(Penicillium citrinum)中分离出来(Hetherington,A.C. 和 H.Raistrick,1931)。随后研究发现,包括常用来生产干酪的 Penicillium camemberti 在内的十几种青霉和几种曲霉,如 Aspergillus terreus、Aspergillus niveus、Aspergillus oryzae 等都可代谢产生桔青霉素(Manabe,2001)。Blance P.J.等(1995)从工业上常用来生产红色素的红曲霉(Monascus ruber)和紫色曲霉(Monascus purpureus)的代谢产物中也分离出了桔青霉素。

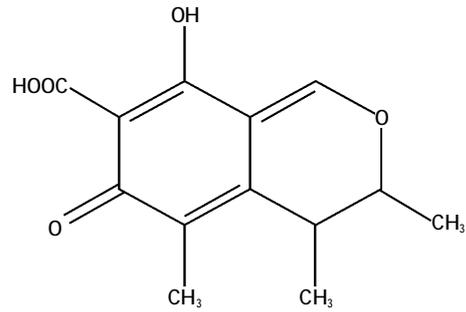


图2 桔青霉素

桔青霉素不易溶于水,在酸性及碱性溶液中对热均敏感,易分解。Carlton,W.W.等(1977)研究报道,桔青霉素几乎对所有的动物都有肾毒性,但急性毒性在不同的品种之间有所差异。对鸭来说,半致死剂量是 57 mg/kg;鸡是 95 mg/kg;兔子是 134 mg/kg(Hanika 等,1994)。桔青霉素与赭曲霉毒素 A 有协同作用,可抑制鼠科动物肾脏 RNA 的合成(Sanging 等,1976)。小麦、燕麦、黑麦、大麦、玉米、稻谷等都可生长桔青霉素(Abramson 等,2001)。

2.3 麦角

麦角又叫麦角菌、小麦角,寄生在小麦、黑麦、拂子茅、大叶章、披碱草、老芒麦等多种禾本科植物上。化学成分主要是含麦角生物碱、胺类麦角红及脂肪油等,麦角生物碱约 0.1%~0.4%、脂肪油 30%~40%。在真菌的次级代谢产物中,麦角生物碱的外表比较漂亮,是“最迷人”的一种霉菌毒素。麦角生物碱有麦角新碱和麦角异新碱,其中麦角异新碱的结构图见图 3。

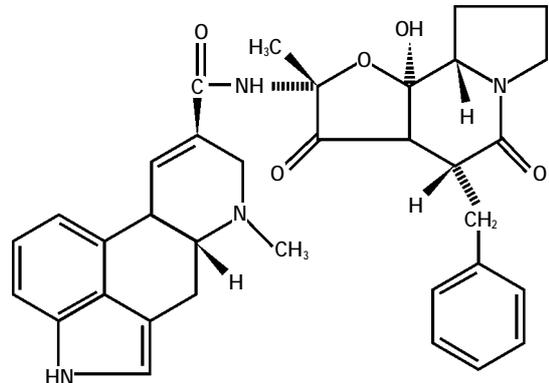


图3 麦角异新碱

人较少发生麦角碱中毒,畜禽特别是牛、羊、猪、鸡发生较多。临床症状是坏疽、流产、抽搐、过敏、共济失调等,以坏疽和抽搐两种症状最常见。坏疽影响机

体血液流动与供应,抽搐影响中枢神经系统(Bennett等,1999)。要注意的是,药物与毒物有时只是在量上的差别。麦角生物碱就是这样。经观察,当孕畜采食了长有麦角菌的牧草后常发生流产,从而表明麦角生物碱能够诱导平滑肌收缩。从这一特征来说,麦角也是一种中药,在合理使用的情况下,可用其来坠胎和助产(Riddle等,1997)。

2.4 伏马毒素

Gelderblom, W. C. A.等(1988)首次对伏马毒素(Fumonisin)进行了阐述,其中以伏马毒素B₁最常见(如图4)。许多镰刀菌可产生伏马毒素,其中以串珠镰刀菌(*Fusarium verticillioides*)和层出镰刀菌(*Fusarium proliferatum*)为主,常污染玉米。高浓度(50~500 mg/kg)的伏马毒素B₁对畜禽和实验动物可引起各种具有种属特异性的毒理作用,如马(Marasas等,1988)、兔(Bucci等,1996)的脑白质软化症,猪的肺水肿和水胸(Harrison等,1994),鼠、羔羊、小牛的肝细胞凋亡和肾毒性(Pozzi等,2000; Haschek等,2001),还有肝毒性和致癌效应(Gelderblom等,1988、1991、1996),给畜牧业带来严重经济损失。与大多数其它真菌毒素不同的是,伏马毒素是亲水性的,不溶于有机溶剂,这就给研究带来了很大困难(Blackwell等,1996)。

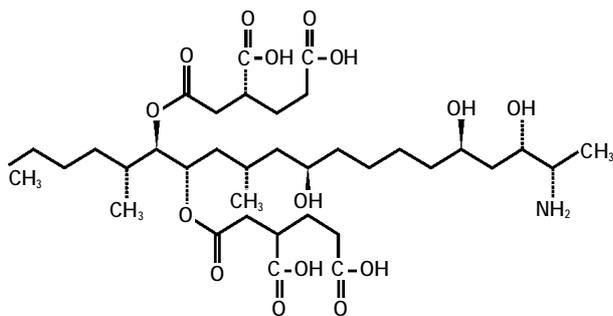


图4 伏马毒素B₁

2.5 赭曲霉毒素

赭曲霉毒素(Ochratoxin)是由曲霉属及青霉属中的某些菌种产生的一类结构相似的有毒次级代谢产物,其中以赭曲霉毒素A的毒性最强(Creppy等,1995)。Van der Merwe, K.J.等(1965)从赭曲霉(*Aspergillus ochraceus*)的次级代谢产物中最先发现了赭曲霉毒素A(如图5),其可溶于极性有机溶剂,微溶于水,对热的稳定性好。

赭曲霉毒素A可感染大麦、燕麦、黑麦、小麦和其

它植物产品,以大麦的可能性最大。赭曲霉毒素A的毒性与黄曲霉毒素相当。肾是其主要的靶器官,赭曲霉毒素A几乎对所有的动物都有肾毒性,尤其是人类;除肾毒性外,还有肝毒性、抑制免疫、致畸和致癌性;低摄入量时可造成生殖性能下降。最新研究表明,赭曲霉毒素A还具有遗传毒性,可使细胞中染色体断裂增加(Lioi等,2004)。赭曲霉毒素A通过多种方式干扰细胞正常生理功能,这主要与苯基丙氨酸代谢的酶有关,能抑制参与苯基丙氨酸-tRNA复合物合成的酶的活性(Buuge等,1979; Marquardt等,1992)。同时还抑制线粒体中ATP的产生(Meisner等,1981)和促进脂质过氧化(Rahimtula等,1988)。赭曲霉毒素可代谢到动物的血液、乳汁和其它组织中(Marquardt等,1992),因而可间接通过生物链效应威胁人类健康。据报道,一种名叫地方性巴尔干肾病的人类疾病就与赭曲霉毒素有关(Hult等,1982; Krogh, 1987)。

另外要注意,尽管青霉菌也可产生赭曲霉毒素,但Chu(1974)和Pitt(1987)研究表明,常生长在大麦上的*Penicillium verrucosum*是青霉属中唯一能产生赭曲霉毒素的青霉菌。

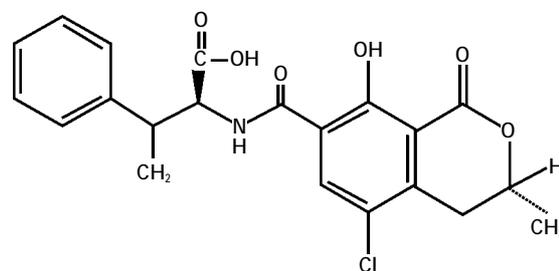


图5 赭曲霉毒素A

2.6 棒曲霉毒素

棒曲霉毒素(Patulin)是由青霉、曲霉和丝衣霉等不同霉菌产生的一类有毒次级代谢产物。1940年首次从青霉菌*Penicillium patulum*(后来叫*Penicillium urticae*,称为*Penicillium griseofulvum*)中分离出来,最初作为抗生素用来抗革兰氏阳性菌。正因如此,许多早期研究主要是针对它的药用功能,例如,可用它喷雾治疗普通感冒或作为膏药来治疗皮肤真菌感染(Ciegler, 1971和1977)。其化学结构如图6。然而,1950~1960年研究发现,棒曲霉毒素除了有抗细菌、抗病毒、抗原虫等作用外,对动植物也有毒性作用。1960年,将其重新归类于霉菌毒素。

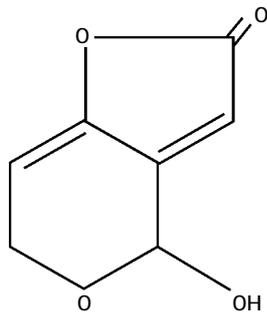


图6 棒曲霉毒素

霉变的水果,如苹果、梨、樱桃等最有可能产生棒曲霉毒素。用霉变的水果研究表明,蓝色的霉菌-扩展青霉(*Penicillium expansum*)出现的概率最高。Tapia 等(2005)每天给瘤胃连续培养物中添加 0、20、40、80 mg 棒曲霉毒素,结果降低了挥发性脂肪酸的产生、纤维的消化以及瘤胃中细菌数量。Sabater-Vilar 等(2004)报道,棒曲霉毒素对家畜的毒性较低。

2.7 单端孢霉烯毒素

单端孢霉烯毒素(trichothecenes)是由镰刀菌产生的结构相似的一类化合物的总称,种类超过 148 种,其中以 T-2 毒素(T-2 toxin,图 7)、雪腐烯醇(nivalenol,图 8)和脱氧雪腐烯醇(deoxyvalenol, DON,图 9)为主。

Hulan 等(1982)、Kubena 等(1997)实验表明,鸡和火鸡等家禽对脱氧雪腐烯醇的敏感性较低。然而, Huff 等(1986)、Kubena 等(1989)、Harvey 等(1991)、Swamy 等(2004)报道,日粮中脱氧雪腐烯醇含量 16~18 mg/kg 就使肉鸡生产性能明显降低,免疫功能减退,血清生化指标发生改变,特别对小鸡影响较大,中成鸡敏感性较低。家畜低量采食感染有脱氧雪腐烯醇的饲料或牧草后表现生长减慢、拒食等;而大量采食后,则出现反胃、呕吐、腹泻等症状,所以脱氧雪腐烯醇又叫呕吐毒素。其主要由禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum*)和大刀镰刀菌(*Fusarium culmorum*)产生。T-2 毒素、镰刀菌毒素与呕吐毒素之间具有协同作用,能够强化呕吐毒素的毒性(Kubena 等 1989;Smith 等, 1997)。但 Rotter 等(1992)报道它们没有协同作用。

家畜采食了感染单端孢霉烯毒素的饲料后所出现的食欲减退或丧失、肌肉失调和呕吐等是通过中枢神经系统和脑中的神经化学物来调控的。其中很重要的一种神经递质是 5-羟色胺,它能降低采食量,其前体物是色氨酸。当畜禽发生单端孢霉烯毒素中毒后,脑和中枢神经受到损伤,大量的色氨酸可通过血脑屏

障进入脑内,增加了脑内 5-羟色胺的合成。这是单端孢霉烯毒素使动物厌食与呕吐的原因之一。MacDonal 等(1988)和 Cavan 等(1988)用鼠、Prelusky 等(1992)用猪、Swamy 等(2004)用仔猪和肉鸡进行实验证实了这个观点。Chung 等(1991)用高色氨酸日粮对猪实验观察到呕吐现象的发生。

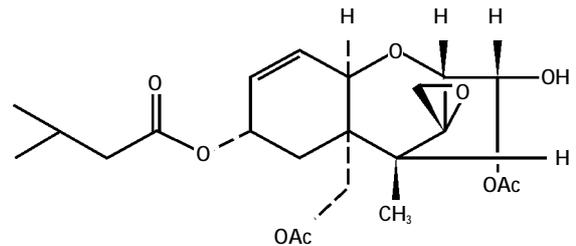


图7 T-2 毒素

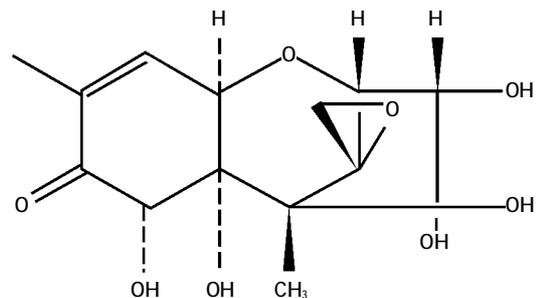


图8 雪腐烯醇

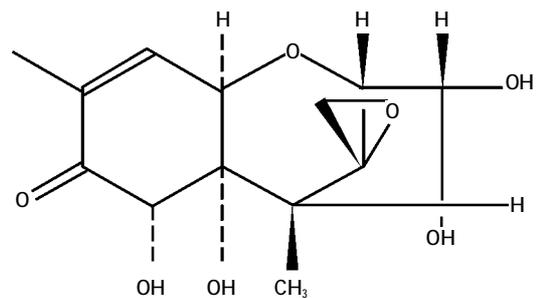


图9 脱氧雪腐烯醇

2.8 玉米赤霉烯酮

玉米赤霉烯酮(Zearalenone)是 *Fusarium graminearum*、*Fusarium culmorum*、*Fusarium equiseti* 和 *Fusarium crookwellense* 等镰刀菌通过聚酮途径合成的对哺乳动物具有雌激素样效应的一类次级代谢产物。适宜的条件下,所有的谷物类作物或饲料产品都能受到玉米赤霉烯酮的污染(Hagler 等,2001)。猪对玉米赤霉烯酮最敏感,早在 1920 年就发现猪食用了感染有玉米赤霉烯酮的饲料后出现雌激素过多综合

症。Kurtz等(1978)报道,日粮中玉米赤霉烯酮的浓度达到1 mg/kg就可致使猪发生雌激素过多综合症,母猪表现为子宫扩张、乳房与阴户肿胀、排卵量减少、发情周期延长,公猪表现为雌性化(Newberne等,1987),甚至低至0.1 mg/kg就有相关症状出现(Mirocha等1977);高浓度的可导致不孕、假孕、流产等。儿童食用了激素较多的畜产品出现早熟现象(Szuetz,P等,1997)。因而,玉米赤霉烯酮又叫霉菌雌激素,其还有 α 和 β 两种异构体。除猪外,对牛、羊等反刍动物的生殖健康(EI-Nezami等,1998)以及家禽的生产性能同样有不良影响(Branton等,1989)

从化学特性而言,玉米赤霉烯酮是一种二羟基苯甲酸内酯,属非甾类化合物,没有真正的致死毒性,其结构式如图10。Hidy, P. H.等(1977)报道,雌鼠的半致死剂量大于10 000 mg/kg;几内亚母猪的半致死剂量是5 000 mg/kg。由于在微量情况下就可导致相关症状的出现以及半致死剂量高,所以有学者建议,将玉米赤霉烯酮称为霉菌雌激素似乎更加合适。

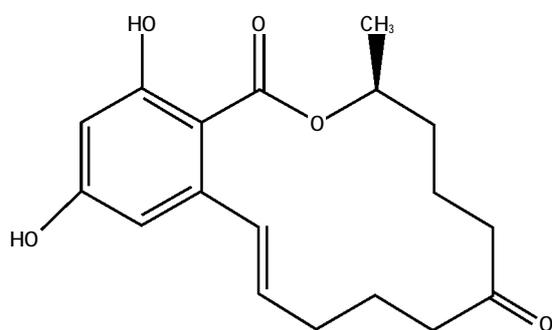


图10 玉米赤霉烯酮

3 霉菌毒素的产生条件

霉菌产生毒素的先决条件是霉菌污染基质并生长繁殖,其它条件包括基质的种类、水分、相对湿度、温度以及空气流通情况等。

3.1 适宜的基质

霉菌生长所需的基质因其种类不同而各异,如黄曲霉最宜在花生、玉米、水稻、麦类等植物上生长,而镰刀菌则易在小麦秸秆上大量繁殖,T-2毒素则易污染玉米,黑斑病霉菌最适的基质是甘薯等。

3.2 适宜的温度

各种霉菌最适宜的产毒温度不尽相同,如黄曲霉产毒温度在12~41℃之间,当低于12℃或高于41℃时,其产毒能力明显下降。镰刀菌在8~16℃之间产毒

能力最强。

3.3 适宜的湿度

霉菌繁殖和产毒时所需的湿度也不相同,但当基质的含水量在10%~15%之间、环境相对湿度在70%~80%之间时,各种霉菌繁殖能力高,产生毒素也相对较多。

3.4 通风和透气条件

各种霉菌产毒时所需的氧气相对浓度不一样。当空气中的氧气含量在1%以下,CO₂浓度增加到100%时,黄曲霉产毒能力明显下降。

4 霉菌毒素的作用机理

霉菌毒素是一个十分庞大的家族,作用机理十分复杂。学者们主要就霉菌毒素对蛋白质等大分子的合成、细胞膜功能等几个方面做了相关研究。

4.1 抑制蛋白质、DNA和RNA的合成

早在1973年,Ueno,Y.等就研究报道,单端孢霉烯酮毒素在真核细胞中能够抑制蛋白质的合成。木霉菌素(Trichodermin)是第一个被发现能抑制肽转移酶活性的单端孢霉烯酮毒素(Stafford等,1973;Wei等,1974)。随后研究证明,所有的单端孢霉烯酮毒素都能够通过60S-核糖体亚基结合位点而抑制肽转移酶活性进而阻止蛋白质合成(Feinberg等,1989)。Bondy等(2000)同样研究报道,单端孢霉烯酮毒素是蛋白质合成强有力的抑制剂。在完整的核糖体中,它能够抑制蛋白质合成的起始、延伸、终止(Cundliffe等,1977)。通过结构与功能的关系研究表明,T-2毒素的C-4与C-5位置或C-8位置的异戊酰基对其抑制蛋白质的合成起非常重要的作用(Thompson等,1986)。但Kubena等(1989)研究发现,如果C-3位置的异戊酰基被乙酰基取代,则对蛋白质合成的抑制作用减弱。可见C-3位置上的异戊酰基对T-2毒素也很重要。而12,13-环氧基团是单端孢霉烯酮毒素抑制蛋白质合成的必需基团(McLaughlin等,1977)。Middlebrook等(1989)报道,T-2毒素对核糖体的键合具有特异性与可饱和性,每个核糖体键合一个毒素分子。Marc Maresca等(2002)用呕吐毒素对人小肠上皮细胞进行实验,结论是抑制蛋白质的合成是其发生毒理作用的主要机制。棒曲霉毒素能够抑制外周淋巴细胞DNA的合成,而半胱氨酸可减轻其对DNA合成的抑制作用。这表明,巯基对棒曲霉毒素诱导的DNA合成抑制具有调节作用(Corray等,1982)。黄曲霉毒素、玉米赤霉烯酮毒素等都能够

抑制蛋白质、DNA 和 RNA 的合成,从而导致细胞周期紊乱,使丙二醛的浓度增加。黄曲霉毒素还可直接作用于核酸合成酶,抑制 mRNA 的合成,进一步抑制 DNA 的合成。

4.2 改变细胞膜结构,诱导细胞凋亡

因为 T-2 毒素是亲脂性的,它能够嵌入细胞质膜的脂质与蛋白质,干扰正常膜功能 (Pritchard 等, 1979)。Bunner 等(1988)用 8.5×10^{-12} M 的 T-2 毒素处理 L-6 成肌细胞,结果表明:细胞膜对钙、葡萄糖、亮氨酸和色氨酸的吸收能力十分钟之内就显著减弱。用 T-2 毒素对红血球细胞处理也得到同样的结论,但所需浓度稍高 (Gyonggyossy-Issa 等, 1986)。Suneja 等(1989)用小白鼠口服 T-2 毒素实验发现, NADPH-细胞色素 C 还原酶和 NADH-细胞色素 b5 还原酶活性降低,谷胱甘肽过氧化物酶和谷胱甘肽还原酶活性增加,机体发生脂质过氧化,导致细胞大量死亡。T-2 毒素还可抑制线粒体中电子的转运 (Pace, 1983)。Marc Maresca 等(2002)实验报道,肠道粘膜吸收功能减弱的主要机理是霉菌毒素抑制了蛋白质合成和诱导肠道细胞凋亡。

4.3 竞争受体的结合位点

Klang 等(1978)、Kawabata 等(1982)用鼠研究证明,玉米赤霉烯酮和其代谢产物的作用机制就是与雌激素竞争受体。玉米赤霉烯酮对子宫以及输卵管中雌激素受体的亲和力强度因动物品种不同而各异。Fitzpatrick 等(1989)用猪、鼠和鸡进行玉米赤霉烯酮对雌激素受体的亲和力实验,结果表明,对猪体内雌

激素受体的亲合力最强,鼠次之,鸡最小。这就是为什么猪对玉米赤霉烯酮最为敏感的原因。

麦角生物碱的毒性作用主要在于神经受体,基本效应是刺激平滑肌,与 α -肾上腺素受体结合,抑制 β -肾上腺素受体,导致子宫和血管收缩。另外,麦角生物碱可刺激多巴胺受体,抑制动物和人催乳素分泌,降低产奶量。麦角生物碱与生物胺相似,可作用于生物胺受体,影响神经递质。

4.4 影响鞘脂的代谢

伏马毒素的作用机制很复杂,涉及到几个分子作用位点 (Riley 等, 1998)。但最主要的机制是影响鞘脂的代谢,打破血清、肝、肾中二氢鞘氨醇 (Sa) 与鞘氨醇 (So) 之间的平衡。目前认为, Sa/So 是对伏马毒素 B₁ 中毒最为敏感的生化指标之一 (Ledoux 等, 1996; Henry 等, 2000; Tardieu 等, 2004)。Tran 等(2005)用含伏马毒素分别是 0、2、8、32、128 mg/kg 的日粮对鸭实验表明:伏马毒素 B₁ 抑制了神经酰胺合酶的活性,诱导鞘脂代谢的中断,而且在低剂量 2 mg/kg 时就表现出来。这与 Voss 等(1999)用鼠实验、Zomborszky-kovacs 等(2002)用猪实验的结果一致。

5 结语

总之,饲料或农产品中霉菌毒素的污染是不可忽视的大问题,它牵涉到饲料工业与畜牧业的稳定发展,涉及到畜产品安全,影响到人类的健康,所以防止霉菌毒素的污染是一个永久性、世界性的课题。

(参考文献 98 篇,刊略,需者可函索)

(编辑:沈桂宇, guiyush@126.com)

· 信息采撷 ·

辨别饲料真伪只看“指纹”信息

中国农业科学院饲料所张萍研究员带领的研究团队最近成功地开发出饲料添加剂产品近红外指纹图谱鉴别技术。目前已开发的这种图谱比较法建立的氯化胆碱等 25 种添加剂产品的图谱比较分析系统,对掺假含量 5% 以上的假冒产品的鉴别准确率为 100%;用新研发的模型判别法可以对产品进行快速的定性定量分析,对掺假含量超过 1% 的样品的鉴别准确率,也达到 100%。

目前我国的饲料相关检测技术大多为化学法,不仅比较费时,分析设备使用费用高,检测结果可靠性也差,不能满足快速鉴别的需要,而且所用试剂废弃后污染环境。近红外光谱分析技术以前主要作为一种快速的定量分析技术,用于饲料常规品质(如水分、蛋白质、脂肪、氨基酸等指标)的检测。张萍研究员带领的研究团队发明的该技术采用化学和计量学的方法,能够提取出产品近红外光谱的“指纹”特征,并确定合格产品的特征指纹图谱,或进一步建立判定模型,从而通过图谱比较或模型识别,对添加剂产品进行真伪鉴别或进一步判断产品是否合格。利用该技术判定时间短,检测结果直观,鉴别准确率高。

专家认为,该项鉴定技术可用于添加剂产品指纹备案管理和市场溯源监管,有利于实现从饲料原料加工、到市场、养殖户等多个环节的监督和快速检验,对解决目前我国饲料添加剂市场中伪劣产品带来的安全隐患具有重要意义,有广阔的应用前景。

鱼类体色的色素评价及人工调控

张晓红 吴锐全 王海英 欧阳冰

在养殖生产中,人们通过捕捞、驯养、杂交等培育出各种体态优美、色泽鲜艳的鱼类以满足生活需求,提高养殖产品的经济价值。但养殖鱼类很难达到野生鱼那样鲜艳的体色。如人工养殖的虹鳟,其肌肉就很难达到野生鱼肌肉的粉红色^[1]。人们对如何改善鱼类体色进行了长期的研究,已经研究出一些方法,如用激光照射和药物浸泡可使观赏鱼体色变得鲜艳,但其持续时间比较短,而且对鱼伤害较大;在饲料中添加着色剂或雄性激素等可使鱼体色慢慢加深,这是使鱼体着色较为安全、可靠的方法。本文综述了鱼类体色的生物学、鱼类体色的定量评价和鱼类体色的人工调控。

1 鱼类体色生物学

1.1 鱼类的色素组成

鱼类的体色是由无数色素细胞控制的,它们主要分布于真皮的疏松层上方和致密层下方,还有神经和血管周围。色素细胞有4种,分别是黑色素细胞、黄色素细胞、红色素细胞和光彩细胞,它们是受神经和激素控制的,其数量、分布、细胞的形状、细胞中色素分布等控制着鱼类的颜色和深浅。而从化学结构上来说,鱼类体表和肌肉的颜色是由类胡萝卜素群、胆汁色素群、 α -萘醌系色素群、黑色素、喋啶系色素群等色素群组成的。其中,体色和肉色的红色系色素主要来自类胡萝卜素群的色素^[2],这是目前主要的研究对象。类胡萝卜素很不稳定,易降解,所以构成鱼体色和肉色的类胡萝卜素大都以类胡萝卜素-蛋白质复合体的形式存在。对金鱼色素进行HPLC分析发现,虾青素在中国金鱼体内以酯化形式沉积^[4]。

1.2 鱼类的色素吸收

鱼类自身并不能合成类胡萝卜素^[2],只能从食物中吸收、沉淀和转化成自身的色素。野生鱼类可以通过摄食从食物链中获取所需要的用于着色的物质,而

人工养殖的鱼类如果所食的配合饲料中未添加着色剂或含量很低,就不足以满足其需要,从而使体色变浅。养殖与野生胡子鲶体色的差异主要来源于食物中叶黄素含量的不同,在饲料中添加叶黄素类产品可有效改善养殖胡子鲶体色^[5]。

食物中的类胡萝卜素在消化道中被水解^[6],消化的类胡萝卜素在小肠中以游离形式被吸收,通过与脂蛋白复合在血液中运转,由脂蛋白携带被运送到靶细胞。运输类胡萝卜素的载体可被饱和,因此,增加载体数量或提高类胡萝卜素与载体的亲和力将有助于类胡萝卜素的运转。由于磷脂和胆固醇是脂蛋白的重要组成部分,因此,提高饵料中磷脂或胆固醇的含量,对于脂蛋白的合成将会起到促进作用。

肝脏是类胡萝卜素代谢的主要器官^[7],肌肉是储藏类胡萝卜素的主要组织,其次是皮肤、肝脏和生殖腺^[8],但在性成熟过程中,鱼类可将肌肉中的类胡萝卜素转移到皮肤和生殖腺中^[9,10]。

1.3 鱼类的色素代谢

鱼类对类胡萝卜素的代谢分为两类,为红鲤型和鲷鱼型。红鲤型(red carp type)包括大多数淡水鱼类,如金鱼、红鲤和锦鲤,可将黄体素、玉米黄质转变成虾青素,也可将食物中的虾青素直接贮藏于体内,虽然具有将 β -胡萝卜素转化为虾青素的能力,但这种能力极弱,因为 β -胡萝卜素不是形成虾青素的主要前体物质。该类动物可将 β -紫罗酮环的4,4-C氧化,而难以将3,3-C氧化,故难以形成虾青素。鲷鱼型(sea bream type)包括大部分具有经济价值的海水鱼类,如鲷、大麻哈鱼和鲑鳟鱼类等。以¹⁴C标记的 β -胡萝卜素、黄体素、玉米黄质直接导入虹鳟胃中,24 h后,可在皮肤、肝、肌肉等处相对应的色素中找到¹⁴C的分布,但在虾青素中则检测不到¹⁴C的活性。以虹鳟为代表的该类鱼不能将 β -胡萝卜素、黄体素、玉米黄质转变成虾青素,但可将上述色素直接吸收而贮存于体内^[11]。Hate等曾提出由玉米黄质合成虾青素的代谢途径假说:玉米黄质 \rightarrow β -胡萝卜素三醇 \rightarrow 4-氧代玉米黄素 \rightarrow 虾青素^[12]。

鱼体中酶促氧化反应是由脂氧合酶(lipoxygenase)催化的,它直接作用于多不饱和脂肪酸,使其形成氢过氧化物,分解产生的游离基、醛能使类胡萝卜素氧

张晓红,中国水产科学研究院珠江水产研究所,510380,广州。

吴锐全(通讯作者)、王海英、欧阳冰,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2007-11-12

化,所以给鱼添加维生素 C 等抗氧化剂有利于体色的形成和维持。

鱼类有将类胡萝卜素转化为维生素 A 的能力。现已发现,鱼虾类具有在哺乳动物中不具有的将维生素 A 原活性的类胡萝卜素转化为维生素 A 原的能力。当饲料中维生素 A 供应不足时,鱼类可将某些类胡萝卜素转化为维生素 A,以满足生理需要,从而使肌肉和皮肤中的类胡萝卜素含量降低。

2 鱼类体色的定量评价方法

2.1 鱼鳞黑色素细胞计数法

利用显微镜对相同大小视野区域内分布的黑色素细胞进行计数,同时对色素细胞的形态进行观察,主要包括色素细胞的大小、色素细胞的树突状分支状态、黑色素颗粒在色素细胞内的分布等。正常的色素细胞树突状分支多,黑色素颗粒在分支和细胞中央部分分布均匀,鱼体颜色较深;如果树突分支少或消失,黑色素颗粒集中在细胞中央,此时鱼体颜色会较浅^[3]。

2.2 分光光度法测定类胡萝卜素

2.2.1 材料的破碎

将选取的新鲜材料称重、切碎、研磨,在研磨过程中为防止类胡萝卜素的降解,可在样品中加一些抗氧化剂,研磨过程中样品温度会升高,所以要在冰盘上进行。

2.2.2 萃取

类胡萝卜素是脂溶性化合物,可以用有机溶剂萃取,含氧的类胡萝卜素(叶黄素)用极性强的有机溶剂萃取;只由碳氢组成的类胡萝卜素(胡萝卜素)用非极性的有机溶剂萃取;若样品中两者都有,可用极性的有机溶剂萃取达到完全萃取的目的;若对胡萝卜素的组成不了解,可采用分步萃取的方法。若是含水量多的新鲜材料,第一次萃取只能是水溶性的,应重复萃取,直至残渣和滤液无色,在萃取过程中还可加入 NaHCO_3 和 MgCO_3 等以中和生物组织释放出的有机酸。何培民等(1999)在测量鳞片中的色素含量时,取 20 片鳞片用 0.04 g Na_2SO_4 研磨,用丙酮抽提并离心,定容 5 ml^[4]。陈晓明等(2004)在测金鱼的鱼头、鱼尾、鱼体及鱼鳞中类胡萝卜素总量时,选用的材料是干燥样,先研细,用定量丙酮萃取,萃取液进行光谱扫描,再确定最大吸收波长,测吸光值^[4]。冷向军等(2003)在测胡子鲶皮肤、肌肉中叶黄素量时,以己烷:丙酮:无水乙醇:甲苯=10:7:6:7 为提取液,再加 40%

KOH-甲醇溶液,最后用硫酸钠定容^[4]。

2.2.3 定量分析

利用分光光度计在一定波长下测定样品的吸光值,被分析的样品必须是真溶液,选择的波长通常是被检测化合物的最大吸收波长。用“参比样品”制作标准曲线(吸光值最好控制在 0.3~0.7 之间),然后就可根据标准曲线或回归方程计算出样品中类胡萝卜素的含量,或用摩尔消光系数来计算。

该法可测肌肉、皮肤、鳞片等各种组织器官中类胡萝卜素的含量,既可以测总的类胡萝卜素^[4]的含量,也可以测某种类胡萝卜素(如虾青素、叶黄素等)的含量,但此时萃取物应基本只含一种类胡萝卜素,各种色素的吸收波长是不同,应加以注意。冷向军等(2003)测叶黄素时选 474 nm 波长^[4];向泉等(2000)在测胡萝卜素含量时选 450 nm 波长^[4]。

2.3 层析法

2.3.1 高效液相色谱分析

液相色谱法是层析法的一种,是对样品中类胡萝卜素的含量与组成最准确、最灵敏和可重复的定量分析方法,可以分别测定萃取物中每一种类胡萝卜素的含量,是类胡萝卜素光谱和色谱的完美结合。

陈晓明等(2004)^[4]用液相色谱对金鱼色素成分进行初步分析时,选用的 HPLC 色谱条件是:symmetry C8 柱,担体粒度 5 μm , 2.1 mm \times 150 mm,进样量 2 μl ,流动相为:A 液,甲醇:水(ml/ml)=85:15;B 液,甲醇。梯度洗脱,洗脱方法为 0~25 min B 液,25~40 min A 液,流速均为 0.3 ml/min;二级管阵列检测器(PDA),检测波长 $\lambda=480$ nm。Torrissen 等(1990)^[10]对虹鳟食物和粪便中类胡萝卜素测定时,采用 4.6 mm \times 250 mm,粒度为 5 μm ,流动相为 76%己烷、17%乙酸异丙酯、7%丙酮,检测波长 $\lambda=470$ nm。

2.3.2 柱层析法

用柱层析法也可对萃取的类胡萝卜素进行分离,但在水产上用的没有高效液相色谱法普遍。何培民等(1999)曾用此法分析螺旋藻中的 β -胡萝卜素,将称取的 0.5 g 螺旋藻加 0.5 g 无水 Na_2SO_4 和 MgCO_3 在研钵内研磨充分,倒入吸附柱里。吸附柱由直径为 25 mm 色层分析柱装置而成。装上 10 g 经研磨的草酸钠与滑石粉混合物,然后压紧粉末,把螺旋藻倒入其中,用棉花塞塞其口,用汽油洗涤研钵,并以每分钟 50~60 滴的速度抽吸,一直到螺旋藻下层橙黄色胡萝卜素带

完全被浸提而处于圆柱前缘。在 450 nm 下测胡萝卜素液的光密度^[14]。

3 鱼类体色的调控

影响鱼类体色的因素有很多,有遗传因素、饲料营养、自身的生理状态、外界环境等,它们共同作用于鱼体,任何一方面的变化都有可能使鱼体颜色发生改变。

3.1 遗传因素的调控

不同种类的鱼有着不同的体型和体色,体色是受遗传基因控制的,这是对自然界长期适应的结果。目前,人们可以利用生物技术和杂交选育来从基因水平上改变鱼类的体色,得到具有优良遗传形状的品种,如锦鲤、荷包红鲤、金鱼等都是长期定向选育的观赏鱼品种,血鸚鵡是红魔鬼父本和紫红火口母本杂交所得的 F1 子代;利用生物技术,改变青鳉鱼体色,使其带上红色荧光和绿色荧光^[17]。

3.2 营养因素的调控

在设计饲料配方时应尽量满足鱼类对各种营养因素的需求,尽量消除不利因子的影响,并符合鱼类的摄食习性。饲料中较高含量的脂肪、维生素 A、维生素 E 等有利于鱼类的着色,这主要是因为鱼体中的类胡萝卜素是脂溶性的,它必须与脂蛋白复合才能被转运,适量的高脂肪含量有利于饲料中色素的吸收利用;类胡萝卜素可作为鱼类的维生素 A 原,当饲料中维生素 A 供应不足时,鱼类可将某些类胡萝卜素转化为维生素 A,从而使体色下降,然而当维生素 A 过量时,分子结构相似的化合物又会产生竞争性吸收,不利于鱼体着色;维生素 E 的强抗氧化性有助于保护饲料中的类胡萝卜素,增加食物中维生素 E 的含量,可使虹鳟对虾青素沉淀增加^[18]。Barbosa 等(1999)研究发现,当饲料中脂肪含量升高时,虹鳟血浆中类胡萝卜素的含量升高^[6]。饲料中的植物蛋白源如豆饼(粕)、菜籽饼(粕)等含有诸多抗营养因子,可影响鱼虾对营养物质的消化利用;脂肪氧化酶也会破坏饲料中的类胡萝卜素,应尽量消除。

3.3 着色物质的调控

3.3.1 色素的调控

饲料中添加着色剂可有效的增加鱼类的体色,水产上添加的一般都是类胡萝卜素类着色剂,如虾青素、叶黄素、螺旋藻等。有试验表明,在饲料中添加富含虾青素的法夫酵母喂养金鱼可有效的增加其体色^[4]。在

相同水温、光照和投喂量的条件下,给锦鲤投喂螺旋藻含量不同的配合饲料发现,随着螺旋藻干粉投喂量的增加,锦鲤体色越鲜艳^[14]。

3.3.2 激素的调控

鱼饲料中添加雄性激素也可增加鱼体色,但必须在性腺发育成熟以前进行,虽然鱼类摄食雄性激素并不能直接使类胡萝卜素增加,但在性腺发育时,投喂一定量的雄性激素,可使鱼类对类胡萝卜素的沉积发生改变,使类胡萝卜素主要沉积于其体表及肌肉中而不是生殖腺中,从而增加鱼体色^[19]。在饲料中添加 10 μg/g 的甲基睾酮饲养 50 多天,能使 3 月龄红剑尾鱼全雄化,群体色调加深^[20]。

3.4 环境控制

鱼类受多种环境因子的影响,环境因子的变化同样影响着鱼类的体色,水温、盐度、光照和背景等的变化会影响鱼类对类胡萝卜素的吸收、沉淀和聚集,影响色素的利用和体色的形成,剧烈的变化还有可能使鱼类体色在短时间内发生改变。

3.4.1 水温

水温是影响鱼类生存的重要因子,同时也影响着鱼体的体色,影响鱼类对食物中着色剂的利用率。合适的水温不仅有利于鱼类的生长健康,也有利于体色的形成。对金鱼投喂虾青素、小球藻的试验表明,水温 26~30 ℃时的着色效果优于 22 ℃或 24 ℃^[21]。No 等(1991)研究发现,水温对虹鳟总虾青素的保留无显著影响,但皮肤中类胡萝卜素的积累在 5 ℃时高于 15 ℃^[22]。

3.4.2 盐度

盐度也是影响鱼类生存的重要因子,剧烈的盐度变化会导致鱼类自身平衡的打破,使体色在短时间内发生改变。生活在不同盐度环境中的鱼类对色素的利用可能不同,盐度与类胡萝卜素累积间的关系比较复杂。在不同盐度(0 和 30)中分别以含 50 mg/kg 虾青素和 100 mg/kg 角黄素的饲料饲养虹鳟,6 周后发现,投喂虾青素的组,在淡水中生活的虹鳟肌肉中类胡萝卜素的含量高于咸水中的,而喂角黄素的组,在肝脏中的含量则与之相反;12 周后,两种水体中投喂两种饲料的虹鳟其肌肉中类胡萝卜素的含量无显著差异,对于投喂虾青素的组,咸水中的虹鳟皮肤和内脏中类胡萝卜素的含量高于淡水中的^[23]。

3.4.3 光照

不同鱼类对环境的要求不同,生活在不同环境中

的鱼类对光照的要求也不同,如大菱鲆等底层鱼类就喜欢在较黑暗的环境中生活。黑龙睛金鱼苗在自然光照下生长最快,体色转变明显;在黑暗中生活的生长最慢,体色转变最不明显;日照 5~10 h 的介于两者之间^[24]。

3.4.4 背景色

在建造鱼池和设计鱼缸时要选择适合鱼类生活的背景色。经研究表明,用含玉米黄质 75 mg/kg 的饵料在绿、蓝、红、白、黄色 5 种不同的背景中分别饲养金鱼 6 d 发现,绿、蓝池较其它池着色效果好($P<0.05$),并且绿池中的鱼比其它池的鱼生长快($P<0.05$)^[25]。

4 结语

对鱼类着色的研究,主要是通过投喂添加着色剂的饲料或改变其生活的环境来观察体色和肉色的变化,研究在不同脂肪含量和维生素含量时对着色剂利用的影响,研究影响色素沉积的内外因素和着色机理等,但对调控因子和机理方面的研究还比较肤浅。体色和肉色的变化多以类胡萝卜素含量的变化来表示,通常用分光光度法或高效液相色谱法来检测,也有利用色素细胞数目的变化来表示的^[13],不过该方法只能针对于体表鳞片。多年来,人们在配合饲料的研发,外界环境条件的调控和生物技术的利用等方面做了很大的努力,以期改变或加强鱼类体色,取得了显著的成效,但仍存在一些问题,如鱼体着色的不稳定性 and 添加色素的高成本等。希望这些问题能在今后的研究中得以解决,来满足人们生产生活的需要。

参考文献

- [1] Smith B E, Hardy R W, Torrissen O J. Synthetic astaxanthin deposition in pan-size coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) [J]. *Aquaculture*, 1992, 104:105-119.
- [2] Goodwin T W. The Biochemistry of the carotenoids [J]. Chapman and Hall, London, 1985, 64-96.
- [3] 丘生译. 改善养殖动物的体色和肉色的组成物 [J]. 特许公报, 5-328909.
- [4] 陈晓明, 徐学明, 金征宇. 富含虾青素的法夫酵母对金鱼体色的影响 [J]. *中国水产科学*, 2004, 11(1):70-73.
- [5] 冷向军, 李小勤, 吴世林, 等. 饲料中添加叶黄素对胡子鲶体色的影响 [J]. *水产学报*, 2003, 27(1):38-42.
- [6] Barbosa M J, Morais R, Choubert G. Effect of carotenoid source and dietary lipid content on blood astaxanthin concentration in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Aquaculture*, 1999, 15. 176 (3-4):331-341.
- [7] Hardy R W. Absorption and distribution of C-labeled canthaxanthin in rainbow trout [J]. *Aquaculture*, 1990, 87: 331-340.
- [8] Hata M, Hata M. Carotenoid pigments in rainbow trout, *Salmo gairdneri irideus*. *Tohoku, J. Agric. Res.*, 1975, 26: 35-40.
- [9] Crozier G F. Tissue carotenoids in prespawning and spawning sock-eye salmon (*Oncorhynchus nerka*) [J]. *Fish. Res. Board Can.* 1970, 27: 973-975.
- [10] Storebakken T, No H K. Pigmentation of rainbow trout [J]. *Aquaculture*, 1992, 101:123-134.
- [11] 冷向军, 李小勤. 水产动物着色的研究进展 [J]. *水产学报*, 2006, 30(1):138-143.
- [12] 刘金海, 王安利, 王维娜, 等. 水产动物体色色素组分及着色剂研究进展 [J]. *动物学杂志*, 2002, 37(2):92-96.
- [13] 叶元土, 郭建林, 萧培珍, 等. 养殖武昌鱼体色与鳞片黑色素细胞初步观察 [J]. *饲料工业*, 2006, 27(22):25-26.
- [14] 何培民, 张饮江, 何文辉. 螺旋藻对锦鲤生长和体色的影响 [J]. *水产学报*, 1999, 23(2):162-168.
- [15] 向泉, 曾学润, 李晋平, 等. 类胡萝卜素对花玛丽鱼体色影响的最适量研究 [J]. *北京水产*, 2000(1):52-53.
- [16] Torrissen O J, Hardy R W, Shearer K D, et al. Effects of dietary canthaxanthin level and lipid level on apparent digestibility coefficients for canthaxanthin in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Aquaculture*, 1990, 88:351-362.
- [17] Masato K. Transgenic medaka with brilliant fluorescence in skeletal muscle under normal light [J]. *Fisheries science*, 2004, 70:645-649.
- [18] Pozo R. The role of dietary VE in stabilizing the canthaxanthin and lipids of rainbow trout muscle [J]. *Aquaculture*, 1988, 73:165-175.
- [19] 李云, 李英文, 向泉, 等. 类胡萝卜素甲基萘酮对观赏鱼体色的影响 [J]. *西南农业大学学报*, 1999, 21(3): 270-273.
- [20] 向泉, 周兴华, 王进文. 17a-甲基萘酮对珍珠玛丽鱼及红剑尾鱼体色影响的初步研究 [J]. *四川畜牧兽医学院学报*, 1999, 13(2): 10-13.
- [21] Gouveia L, Rema P. Effect of microalgal biomass concentration and temperature on ornamental goldfish (*Carassius auratus*) skin pigmentation [J]. *Aquac Nutrition*, 2005, 11(1):19-25.
- [22] No H K, Storebakken T. Pigmentation of rainbow trout with astaxanthin at different water temperatures [J]. *Aquaculture*, 1991, 97: 203-216.
- [23] No H K, Storebakken T. Pigmentation of rainbow trout with astaxanthin and canthaxanthin in freshwater and saltwater. *Aquaculture*, 1992, 101:123-134.
- [24] 王吉桥, 赵睿, 高峰, 等. 不同食物和光照时间对黑龙睛金鱼体色和生长的影响 [J]. *中国观赏鱼*, 2002(2):24-26.
- [25] Yanar M, Tekelioglu N. The effect of zeaxanthin and tank color on pigmentation and growth of goldfish (*Carassius auratus*) [J]. *Turkish-Journal-of-Biology*, 1999(b), 23(3):303-307.

(编辑:徐世良, fi-xu@163.com)

编者按:28年前,奥特奇的诞生源自一个信念产生,那就是为饲料行业提供创新和天然的营养解决方案。他们将可追溯性作为首要条件,如今分布在全球的14家工厂践行着他们的创新理念,全球饲料企业25强中已有24家选择与奥特奇合作就是最好的例证。在奥特奇第21届亚太地区巡回演讲的沈阳站,本刊应邀将对Lyons博士进行专访,由于天降大雾,Lyons博士私人飞机未能顺利降落,后来在奥特奇中国区有关人员的大力协助下,通过网络完成了对Lyons博士的专访,虽没有面对面交流,稍有遗憾,但他尊重事实的研发理念,对我们应该有所启发,有所借鉴。

■本刊记者:高雁



记者: Lyons博士,据了解,您以前是从事酿酒行业的,曾先后在爱尔兰、英国和美国的酿酒行业供职,是什么促使您从酿酒行业涉足动物保健行业?

Lyons: 其实这更像在问:为什么我们要从酒精这个可再生资源业务转到动物保健行业?

1980年当我们出版第一本关于燃料酒精的书时,我能看到酒精行业非常光明的未来。但日趋明显的是,这个光明的未来可能只是短暂的。认识到了这个问题,我们必须扩展其他分支业务,因此我们选择了饲料工业和动物保健行业,因为它们同属一个领域。

记者: 自1981年奥特奇第一个动物产品益生酵母1026是在什么基础上由来并投放市场的?

Lyons: 对它略有了解,也询问过企业都面临什么问题?他们的反馈主要集中在反刍动物方面,这正是作为生化专家,我可以有所作为的领域。我们可以开发一些帮助瘤胃发酵的产品来帮助他们:①创造更好的厌氧环境,使纤维素、青贮可以被严格厌氧菌充分降解。②去除瘤胃中的干扰发酵的糖分。什么物质能有此作用呢?一个具有高去除氧能力的特殊酵母菌株-1026。因此,从英语“酵母(Yeast)”一词中取“Yea”,从拉丁文“酵母菌属(saccharomyces)”取“sacc”,就是益生酵母“Yea-Sacc”这一产品名称的由来。

记者: 创新的科技理念及应对业内挑战的解决方案,天然的解决方案是奥特奇一贯坚持阐述的核心价值,我们是怎么践行这一理念的呢?

Lyons: 奥特奇的方式就是“对症下药”:根据实际问题去定制解决方案。我们就是这样做的,用科学的态度,从提出问题,理论化,验证理论,再回顾问题,得出解决问题的方法。

记者: 奥特奇公司作为唯一的动物保健公司参加了首届夏季达沃斯年会——新领军者年会,这是一

种荣誉,贵公司的产品与行业内同类产品相比较,您认为奥特奇公司产品的高端体现在哪里?

Lyons: 参加在大连举办的夏季达沃斯是一个巨大的荣誉。想象一下,唯一应邀参加的动物保健公司,事实上,据我所知是唯一的动物饲料和畜牧行业公司。为什么我们会被邀请?因为我们所作的革新工作,因为我们真正努力地去解决全部可追溯系统、绿色产品、保护环境给行业带来的挑战。我们能做到吗?绝对可以。

记者: 中国刚刚召开过的党的十七大对环境问题非常重视,一贯倡导ACE原则的奥特奇公司,在中国建厂会给当地的环境带来哪些影响?贵公司是如何处理这一问题的?

Lyons: 关于环境,我们有一些产品:减少来自于矿物质的污染;不依赖抗生素的情况下改善动物的生产性能;提高性能,完全的可追溯性。

记者: 奥特奇进入中国市场已有十几年的历史了,在中国取得了怎样的成绩?作为领军型企业的创建者,Lyons博士您想对中国的企业提点什么建议?

Lyons: 我们涉足中国市场已十三年,见证了市场的快速增长及日益多元化,我们对行业内人士建议:接受现实,接受完全可追溯系统,要认识到我们正在和国际市场打交道,不仅是中国市场;因此我们要符合国际标准。

记者: 据了解,奥特奇公司是2010年国际马术联合会世界马术大赛独家冠名赞助商,意味着奥特奇已为迎接挑战作着准备,2008





年北京奥运会马上就要到了, 奥特奇作为领军型企业有没有考虑过搭载奥运的快车进一步扩大品牌影响?

Lyons: 奥特奇国际马术联合会世界马术大赛——在这个方面, 为了推广奥特奇这一品牌, 我们非常希望参与奥运会。请记住, 奥特奇是一个超级品牌, 所以我们要创造形象, 并拥有自己的特质。

记者: 您全球巡讲的焦点是全球能源供应问题, 以及食品安全和可追溯性, 目前生物燃料已成为全世界增长最快的一个领域, Lyons 博士您是怎样看待燃料—饲料—畜牧—消费者之间的这一矛盾? 在解决这一矛盾问题上是否会对中国的消费者产生影响?

Lyons: 在美国这个玉米种植大国, 解决方案是不用玉米大豆日粮饲喂动物, 这是一种美国的方式。如今玉米数量并不充裕, 今天我们不得不着眼纤维。这就是为什么纤维蛋白模式成为新型饲喂模式的原因。这个方面对中国消费者也许尚无影响; 但当中国肉类及饲料生产者认识到纤维的使用已成为现实, 成为中心时, 就会对中国的消费者产生影响。纤维就是未来。

记者: 奥特奇创建 27 年来, 可以说是 Lyons 博士您的幻想变成了现实, 用天然的方法来应对动物饲料业的挑战, 那么您认为在这一过程中最令您骄傲的事情是什么?

Lyons: 奥特奇的优点是: 它非常接近市场, 当然我们不仅仅生产酵母, 我们还生产高附加值酵母, 即我们放眼未来, 不断探求如何利用这一独特的微生物来创造一整套全新的解决方案。

记者: 全世界酵母生产厂家大约有 300 多家, 奥特奇作为全球最大

的酵母生产企业其特质体现何处?

Lyons: 奥特奇的工厂遍布世界各地, 但其选址极其严格。原因为如前所述, 我们与市场息息相关, 我们关心的是当地的市场需求。这就是我们领先竞争者的原因。你可以在很多地方发现奥特奇, 可能在中国北京、爱尔兰都柏林、法国巴黎、巴西库里提巴, 我们所选的每一个地方都有自己的特性, 我们都通过略微不同途径, 甚至利用稍有不同的产品进行本土化的发展。

记者: 奥特奇很重视产品的研发, 奥特奇每年用于研发的投入是多少?

Lyons: 我们的研究理念很简单。无论我们赚多少钱, 都会再次投资到公司, 无论是用于研究、产品开发、用于营销, 或是用于教育或培训我们的员工, 单就研究这一项, 我们的投入约为 14.5%。

记者: 酵母发酵是奥特奇的核心竞争力, 在酵母衍生物的应用研究上不断推陈出新, 并且已致力于营养基因组学和基因芯片技术的研究, Lyons 博士您认为这项技术真正应用于生产将会给全球的饲料养殖业带来怎样的经济效益和社会效益?

Lyons: 营养基因组学及基因芯片技术将改变我们看待问题的角度。我刚参加一个会议, 会议上公布一些以前从未发表的数字。数字清楚显示: 通过基因能很好地解释老年痴呆症、癌症、糖尿病及开发一些独特的诊断手段。这些手段不仅适用于动物, 也适用于人, 最终将使人们意识到一句老话: 我们不取决于我们所吃的, 而是取决于动物所吃的。当我们懂得营养对基本分子水平影响之后, 就具备了改善我们这一产业, 甚至整条生物链的能力。

Pearse Lyons 博士, 奥特奇公司总裁。

Pearse Lyons 博士是奥特奇公司的创办人及总裁。Lyons 博士在爱尔兰都柏林大学 (University College Dublin) 取得了学士及硕士学位, 随后在英国伯明翰大学 (University of Birmingham) 获博士学位。之后他分别在爱尔兰、英国及美国的酒精行业工作。Lyons 博士于 1980 年创办奥特奇公司, 今天这家公司已跻身世界动物保健公司前 20 强, 总销售额达 2 亿 5 千万美金。他撰写过 20 余本书籍并在学术期刊上发表过多篇研究论文。2004 年 Lyons 博士被爱尔兰都柏林大学及苏格兰爱丁堡的赫里欧-瓦特 (Herriot-Watt) 大学授予荣誉博士的殊荣。



第一个水产疫苗与中试基地通过认证

具有病毒活疫苗、病毒灭活疫苗、细菌灭活疫苗和亚单位疫苗 4 条生产线的水产疫苗生产基地,于 2007 年 12 月 29 日在中国水产科学研究院珠江水产研究所通过了农业部兽药 GMP 专家组认证,成为我国第一个水产疫苗生产与中试基地。珠江所为此注册了“广州普麟生物制品有限公司”作为疫苗基地运作单位,该公司是目前我国符合国家政策法规合法生产的第一家水产疫苗生产企业。

“鲟鳇类全雌苗种大规模培育技术研究”项目启动会召开

2007 年 12 月 29 日,由水科院黄海所主持的农业公益性行业科研专项“鲟鳇类全雌苗种大规模培育技术研究”项目启动会在黄海所召开。该项目的主要承担单位黄海所、北戴河站、渔机所、华东理工大学、国家水产品质量监督检验中心、中国海洋大学、山东省海洋水产研究所等科研单位的专家和参与合作的企业代表共 50 余人参加了会议。该项目首席科学家、黄海所雷霖院士,农业部渔业局科技处副处长黄建光、水科院科技处处长刘英杰和烟台市海洋渔业局局长商志强等出席了会议。

“鲟鳇类全雌苗种大规模培育技术研究”重大专项的实施,标志着我国的海水鱼类产业化研究已经纳入国家科技项目的支撑体系,同时体现了国家对鲟鳇类产业的高度重视。该项目在国家“十一五”期间的实施,将建立起以企业为主体、市场为导向、产学研密切结合的鲟鳇类现代产业技术体系。

农业部渔业局组织实施的渔业项目达标

为充分发挥科技对渔业产业发展的支撑作用,在科技部的大力支持下,农业部渔业局组织国内 60 余家科研教学单位,着力实施了“十一五”国家科技支撑计划“优质高效淡水养殖技术与示范”重点项目和“农林动植物新品种培育”重大项目中的 2 个水产育种课题。项目实施以来,经过各项目承担单位的共同努力,较好地完成了阶段性研究任务,达到了预期阶段性目标,取得了重大研究进展。

2007 年十大水产典型事件回顾

①水产饲料原料暴涨暴跌;②小龙虾热持续升温;③真假阳澄湖大闸蟹之谜以及明年大闸蟹涨价;④多宝鱼解禁,但目前没有任何市场前景可言;⑤美国 FDA 禁止从中国进口水产养殖产品;⑥南美白对虾的“灾难年”;⑦斑点叉尾鲷出口举步维艰;⑧鳊鱼产业缓慢转好;⑨罗非鱼产业陷入“阵痛期”;⑩水产品“健康安全”成为老百姓关注的重要内容

燃料乙醇对全球玉米供应产生较大影响

一些分析家认为,美国的谷物农作物去年有多达 30%用于生产乙醇,是 2006 年的 2 倍、2000 年的 3 倍。目前美国已有上百家工厂生产乙醇燃料,预计 2008 年这些厂家将耗费大约 1.3 亿吨玉米,相当于其全国玉米产量的一半。

美国玉米产量和出口量分别占世界的 40%和 70%。因此,全球玉米价格对美国玉米出口量的波动非常敏感。

猪肉生产和贸易情况

2007 年全球猪肉产量预计为 1.058 亿吨,比 2006 年减少 1.0%。其中,巴西和智利等南美国家由于大豆、玉米作物获得丰收而保证了猪肉生产的饲料来源,猪肉产量有所增长;保加利亚和罗马尼亚两国最近爆发的猪瘟以及不断上涨的饲料价格导致欧盟猪肉产量停滞不前;加拿大猪肉产量仍受汇率影响可能持续减少。

2007 年全球猪肉贸易量预计为 500 万吨,比上年略微增长 0.7%。猪肉进口方面,主要猪肉进口国日本,2007 年进口量与 2006 年相比变动不大;朝鲜猪肉进口量有所增加。猪肉出口方面,巴西和加拿大猪肉出口量有所增加;美国国内猪肉市场需求增加,出口量减少;欧盟猪肉出口受欧元升值影响,情况不很乐观。

美称克隆牛、猪和山羊可安全食用

美国食品和药物管理局 1 月 15 日宣布,经过克隆的牛、猪和山羊以及它们的后代均可以安全食用,克隆牛产的奶也可安全食用。但同时宣布,对于克隆绵羊等其它克隆动物,科学家尚没有掌握足够证据证明来自这些动物的产品可以安全食用。此决定遭到了美国部分人士的批评。美参议员米库尔斯基认为,食品和药物管理局应该对克隆动物的安全性做更进一步研究。

农业生产继续稳定发展,粮食再获丰收

全年粮食总产量达到 50 150 万吨,比上年增产 350 万吨,增长 0.7%,成为历史上第 4 个高产年,这是 1985 年以来我国粮食生产首次实现连续 4 年增产。其中,夏粮产量 11 534 万吨,比上年增长 1.3%;早稻 3 196 万吨,与上年基本持平;秋粮 35 420 万吨,比上年增长 0.6%。

GDP 突破 24 万亿

初步核算,全年国内生产总值 246 619 亿元,比上年增长 11.4%,加快 0.3 个百分点,连续 5 年增速达到或超过 10%。