

中国期刊方阵双效期刊
辽宁省优秀期刊
《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20期
(总第329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
编辑二室(024)86391925(传真)
编辑一室(024)86391926(传真)

投稿邮箱:slyq@vip.163.com
网站:www.feedindustry.com.cn
英文网站:www.chinafeedindustry.com
副总编辑:张广鹏

责任编辑:崔成德
责任编校:王芳
广告金代理:沈阳同兴广告有限责任公司
总经理:林勇
副总经理:林立南

地址:沈阳市金沙江街16号6门
邮编:110036
电话:(024)86276137
传真:(024)86276127
邮箱:slyq@163.com

印: 建: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
公司地址:北京399信箱
国外代号:SN4290

函授代号:8—163
发行范围:国内外公开发行
广告许可证:辽工商广字01—82号
开户行:中行银行沈阳分行皇姑支行
帐号:722141018260054849
每期定价:6.00元

国际标准连续出版物号:ISSN1001-991X
国内统一连续出版物号:CN21-1169/S

复方中草药对凡纳滨对虾生长、肌肉营养成分和抗病力的影响
汤菊芬 陈建 周兴华等
彭卫正等

添加剂粗负离子粉对吉富罗非鱼生长性能及免疫功能的影响
袁能 张胜利 薛敏等

复方中草药对凡纳滨对虾生长、肌肉营养成分和抗病力的影响
刘准德 王雷 王宝杰等

毛细管气相色谱法测试瘤胃液VFA可行性的研究
曹秀青 刘立成

应用PCR-DGGE分析南美白对虾肠道微生物多样性
周安国 张继杰

丁酸对动物体内酶的作用
蒋小丰 方热军

苏氨酸在猪肠道及PDV组织中的代谢
王正萍 潘晓亮 徐奇等

不同蛋白日粮对山羊瘤胃环境参数的影响
霍振华 方热军 李四元等

抗铜桂胺盐纳米微粒对不同品种断奶仔猪饲养中微生物菌群影响
胡家澄 邹晓庭 曹德瑞等

中草药替代抗生素对肉鸡营养物质消化代谢的影响
胡家澄 邹晓庭 曹德瑞等

SILIAO GONGYE

目 次

专家论坛

■1 淡水鱼类饲料模式化配方分析

■2 饲料添加剂

■3 复合免疫增强剂对断奶仔猪生长性能、血浆生化及免疫指标的影响

■4 γ -氨基丁酸对夏季牛生长肥育猪血清生化指标的影响

■5 中草药替代抗生素对肉鸡营养物质消化代谢的影响

■6 中草药替代抗球虫素对肉鸡营养物质消化代谢的影响

■7 γ -氨基丁酸对夏季牛生长肥育猪血清生化指标的影响

■8 中草药替代抗生素对肉鸡生产性能的影响

■9 中草药替代抗球虫素对肉鸡营养物质消化代谢的影响

■10 中草药替代抗球虫素对肉鸡生产性能的影响

■11 中性蛋白酶制剂包埋研究

■12 中草药替代抗生素对肉鸡生产性能的影响

■13 中性蛋白酶制剂包埋研究

■14 中性蛋白酶制剂包埋研究

■15 小麦型饲粮中代謝能水平和木质酶酶对肉鸡生产性能的影响

■16 小麦型饲粮中代謝能水平和木质酶酶对肉鸡生产性能的影响

■17 小麦型饲粮中代謝能水平和木质酶酶对肉鸡生产性能的影响

■18 小麦型蛋白酶制剂包埋研究

■19 小麦型饲粮中代謝能水平和木质酶酶对肉鸡生产性能的影响

■20 饲料中脂肪含量对超嗜红细胞生长的影响

■21 复方中草药对凡纳滨对虾生长、肌肉营养成分和抗病力的影响

■22 添加粗负离子粉对吉富罗非鱼生长性能及免疫功能的影响

■23 复方中草药对凡纳滨对虾生长、肌肉营养成分和抗病力的影响

■24 毛细管气相色谱法测试瘤胃液VFA可行性的研究

■25 应用PCR-DGGE分析南美白对虾肠道微生物多样性

■26 复方中草药对凡纳滨对虾生长、肌肉营养成分和抗病力的影响

■27 添加粗负离子粉对吉富罗非鱼生长性能及免疫功能的影响

■28 酵母培养物

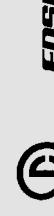
■29 酵母培养物对生长猪的生产性能、饲料消化率及肠道微生物区系影响的研究

■30 酵母培养物的生物学功能及其在畜牧业中的应用

企业标识展示



辽宁北方
通化生田 (0412)33443018
(024)88086922



江苏牧羊 (028)51388888
(0519)87348888



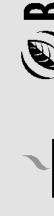
FDSPL
辽宁北方
通化生田 (0412)33443018
(024)88086922



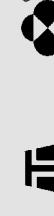
BUEHLER
布勒常州 (0519)87396666
正昌人保工程 (0319)87309867



K-N-G
杭州集德权
桥边机械 (0571)86433311



J.D. Adams Control
摩山金斯托拉 (01)560373412
上海益普 (021)64197116



Applied Nature™
新泰发那机械 (0538)7427566
上海傲拓仪 (021)57687881



LDN
康地恩生物
山东迎春钢板仓 (0546)81057585
(0522)88966607

如需转载本刊文稿及图片,请注明
摘自《饲料工业》杂志,并寄样刊。

淡水鱼类饲料模式化配方分析

叶元土

我国的淡水鱼类营养与饲料技术从20世纪70年代开始至今,已经经历了30多年的发展历程,目前水产饲料的总产量已超过1000万吨,在饲料总量中的比例超过了10%。总体分析,我国淡水鱼类营养与饲料学的基础研究和技术研究还处于一个发展的初级阶段,研究的力量也非常薄弱,主要表现为基础研究成果对应用技术研究和生产技术的支撑作用还较为有限,目前我国淡水养殖有近100个种类,重要养殖种类有20多个,而制定出营养标准的种类还不到10个。但是,水

产饲料生产的发展速度则非常快,饲料原料的价格波动对水产饲料技术的发展既提出了许多新的课题,也起到了重要的推动作用。水产饲料,尤其是淡水鱼类饲料技术已经进入一个新的发展时期,这个时期的重要内容应该是水产动物的营养需求逐步标准化、水产饲料生产技术逐步规范化和标准化。根据我国水产饲料企业发展的现实情况和生产中技术、经验的积累,我们提出一套淡水鱼类饲料模式化配方技术(见表1),希望能够为新时期水产饲料生产提供一定的参考。

表1 淡水鱼类模式化饲料配方

原料(kg)	单价(元/kg)	饲料蛋白水平(%)																
		42	40	38	36	34	33	32	31	30	29	28	27	26	25	24	23	22
次粉	1.45																	
米糠	1.50																	
膨化大豆	5.00	30	30	30														
豆粕	3.60	180	180	180	160	110	100	95	70	70	65	60	55	35	30	20		
菜粕	2.30	150	150	150	170	200	200	214	225	220	230	220	220	220	210	210	200	
棉粕	4.30	150	150	150	170	200	200	225	220	230	235	235	230	230	220	210	200	
进口鱼粉	7.80	280	260	240	200	160	120	90	80	70	60	50	45	35	25	20	20	20
进口肉骨粉	4.50																	
磷酸二氢钙	5.50	18	19	19	20	20	19	19	19	19	20	21	21	21	21	21	22	22
沸石粉	0.30	12	16	16	18	15	20	14	14	14	13	12	12	17	17	16	15	15
膨润土	0.26	10	15	20	20	20	21	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
豆油	12.00	30	30	25	25	20	18	18	15	15	15	13	10	10	10	8	5	5
小麦	1.70	130	140	140	157	150	160	165	165	165	165	165	165	165	165	165	165	165
米糠粕	1.30																	
预混料	12.00	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
合计		1 000	1 000	1 000	1 000	1 000	1 000	1 000	1 000	1 000	1 000	1 000	1 000	1 000	1 000	1 000	1 000	1 000
成本	饲料成本(元/t)	4 478	4 347	4 163	3 801	3 441	3 234	3 069	2 925	2 806	2 716	2 615	2 535	2 421	2 346	2 256	2 173	2 155
	蛋白成本(元/%蛋白)	11.07	11.07	10.89	10.64	10.20	9.97	9.67	9.55	9.50	9.49	9.53	9.46	9.51	9.48	9.52	9.67	9.86
蛋白质和氨基酸	粗蛋白(%)	42.45	40.26	39.21	36.72	34.72	33.45	32.72	31.63	30.54	29.61	28.44	27.81	26.47	25.76	24.70	23.48	22.86
	赖氨酸(%)	2.32	2.23	2.15	1.93	1.74	1.60	1.50	1.42	1.35	1.29	1.22	1.18	1.09	1.04	0.98	0.92	0.90
	蛋氨酸(%)	0.78	0.75	0.72	0.65	0.60	0.55	0.52	0.49	0.48	0.46	0.43	0.42	0.39	0.38	0.36	0.34	0.33
	蛋氨酸+胱氨酸(%)	1.33	1.29	1.26	1.18	1.13	1.06	1.04	1.02	1.00	0.98	0.94	0.92	0.88	0.85	0.82	0.79	0.77
	赖氨酸/蛋氨酸	2.99	2.99	3.00	2.95	2.90	2.92	2.87	2.85	2.82	2.82	2.81	2.77	2.76	2.74	2.69	2.69	2.69
	蛋白质/脂肪	6.91	6.81	7.02	6.89	6.69	6.53	6.58	6.79	6.64	6.65	6.61	6.98	6.65	6.44	6.48	6.75	6.57
常规营养	粗灰分(%)	12.29	12.97	13.28	13.18	12.63	13.63	12.59	12.37	11.58	12.91	14.90	15.77	17.23	17.37	17.54	20.36	21.24
	粗纤维(%)	4.67	4.68	4.78	5.17	5.78	5.84	6.22	6.25	6.34	6.42	6.32	6.27	6.21	6.23	6.05	5.86	5.67
	粗脂肪(%)	5.86	5.77	5.45	5.19	5.04	4.97	4.82	4.51	4.45	4.30	4.15	3.84	3.83	3.85	3.66	3.33	3.33
磷	原料磷含量(%)	1.29	1.23	1.20	1.16	1.14	1.22	1.15	1.13	1.00	0.92	0.89	0.87	0.84	0.82	0.79	0.77	0.76
	总磷(%)	1.66	1.63	1.60	1.58	1.55	1.61	1.55	1.53	1.40	1.35	1.34	1.32	1.29	1.27	1.24	1.24	1.23
	磷酸二氢钙磷(%)	0.37	0.39	0.39	0.42	0.42	0.39	0.40	0.40	0.40	0.42	0.45	0.45	0.45	0.45	0.47	0.47	0.47
	有效磷(%)	0.76	0.76	0.75	0.77	0.76	0.76	0.74	0.74	0.70	0.70	0.71	0.71	0.70	0.69	0.69	0.70	0.70

叶元土,苏州大学医学部基础医学与生物科学学院,教授,215123,江苏苏州工业园区高等教育区。

收稿日期:2008-05-23

1 模式化配方设计说明

提出水产饲料模式化配方是希望在现有形势、现有各项条件下,对我国主要养殖的淡水鱼类饲料配方

技术提供一个较为通用的参考模式。由于养殖品种非常多,不能对不同的品种分别提出模式化配方,因此,我们主要设计不同蛋白、饲料配方成本梯度差异的系列配方,不同养殖种类、同种类不同生长阶段、不同地区的饲料企业可以根据具体条件选择不同营养水平、不同配方成本的饲料配方模式。

1.1 模式化配方的建立

模式化配方首先必须是饲料原料的规范化,其基本思路是:以饲料原料质量的稳定性和安全性保障配合饲料质量的稳定性和安全性;以配合饲料质量的稳定性和安全性保障养殖鱼类的生产性能良好、稳定,同时保障养殖鱼类的生理健康;以养殖鱼类的生理健康保障鱼体生长速度、对各类应激因素和病害的抵抗力、免疫防御力,减少病害的发生,同时保障养殖鱼体对人类的食用安全性。饲料原料的规范化主要技术手段包括以下几个方面:①在饲料原料的选择上具有共通性;②注重饲料原料的资源量、质量的相对稳定性;③注重饲料原料对养殖鱼类的安全性,尽量避免含氧化脂肪量高、含有毒有害成分、质量不稳定、资源量小的原料。

其次是主要营养指标与饲料配方成本的协调问题。在不同配方成本下,对鱼类生产性能产生重大影响的营养指标包括粗蛋白质量及有效性、氨基酸的平衡性、蛋白质与脂肪比、脂肪含量及脂肪氧化酸败程度、有效磷含量、可利用淀粉含量等。蛋白质是饲料配方成本的主要构成部分,饲料粗蛋白含量与配方成本的协调性主要依据不同蛋白水平配合饲料的单位蛋白含量(%)所需要的成本进行调整,如饲料粗蛋白在36%~44%的单位蛋白成本(元/%蛋白)基本维持在11元左右,而粗蛋白含量34%以下的饲料单位蛋白成本(元/%蛋白)基本维持在9.5~10元左右。氨基酸平衡性主要依据养殖鱼类肌肉氨基酸组成模式与饲料氨基酸组成模式的相关性,计算两者的相关系数,计算了模式化配方中不同饲料配方对鲤鱼、草鱼、鲫鱼、斑点叉尾鮰、罗非鱼等氨基酸相关系数均在0.76~0.88之间;赖氨酸与蛋氨酸比维持在2.7~3.0之间;粗脂肪基本维持在3.3%~5.8%之间;蛋白质与脂肪比维持在6.5~7.0之间;有效磷对于特种养殖种类、苗种阶段鱼类的饲料供给量维持在0.75%,而大多数种类和生产阶段鱼类的饲料供给量维持在0.70%。根据我们的经验,这些参数条件下我国主要淡水养殖鱼类可以获得较好的生产性能。

再次,使用模式化配方饲料可以实现的养殖效果,如我国重要养殖鱼类鲤鱼、鲫鱼、斑点叉尾鮰、罗非鱼、青鱼等使用模式化配方表中29%~34%蛋白的饲料,其饲料系数可以保持在1.6~1.8;对草鱼、团头鲂等草食性鱼类使用模式化配方表中25%~28%蛋白的饲料,其饲料系数可以保持在1.7~1.9。

1.2 关于模式化配方设计的几点说明

1.2.1 蛋白质水平与适应的养殖对象

38%、40%、42%蛋白质水平的饲料主要适用于乌鳢、黄鳝、黄颡鱼、翘嘴红鲌等蛋白质需求量高的特种养殖对象。34%、36%蛋白水平的饲料主要作为一般养殖鱼类如鲫鱼、鲤鱼的鱼种饲料,或北方地区的高蛋白水平的鲫鱼饲料。29%~34%蛋白水平的饲料是主要养殖种类如鲤鱼、鲫鱼、斑点叉尾鮰、罗非鱼、青鱼等的饲料。28%以下蛋白水平的饲料主要用于草鱼、团头鲂等草食性鱼类的饲料。

1.2.2 鱼粉

鱼粉作为保障鱼的生长速度、饲料效率、鱼体生理机能的重要饲料因素,在不同蛋白水平日粮的用量主要是根据实际养殖效果和饲料配方成本的保障来确定,其饲料系数一般都能够达到1.6~1.8的水平。鱼粉种类一般为进口直火干燥鱼粉,但如果使用蒸汽鱼粉效果会好一些。国产鱼粉由于质量不稳定、掺假、新鲜度等因素,其养殖效果难以预计。

1.2.3 植物蛋白

豆粕根据不同蛋白水平其使用量有变化,但与以前的饲料配方相比较,豆粕的使用量明显的减少。棉粕、菜粕按照接近于1:1的比例配合使用,但单种饲料原料的使用量以不超过30%作为一个基本原则来确定棉粕、菜粕的量。

1.2.4 淀粉类原料

以小麦为主要原料,其基本使用量为14%~16.5%,主要是基于碳水化合物能量、颗粒粘接性能的保障要求。如果生产膨化饲料,则小麦的用量需在18%~22%。次粉(或麦麸)和米糠粕是作为饲料填充物,单种原料控制在10%以下为使用的基本原则。

1.2.5 油脂水平与油脂原料

以豆油为模式化配方原料,主要是基于养殖效果、油脂氧化酸败的安全性、原料供给保障等因素。油脂水平一般保持在4%以上,草食性鱼类3%以上。

1.2.6 有效磷

主要使用磷酸二氢钙提供无机磷,饲料原料中的

磷以30%的利用率计算有效磷,两者之和为饲料的有效磷。对多数鱼类需要的有效磷以保持在0.7%以上作为基准。

2 模式化配方原料质量分析

2.1 鱼粉

2.1.1 鱼粉用量是养殖效果的重要保证

根据多数试验和实际生产的结果可以表明,鱼粉的用量是保证养殖鱼类快速生长的重要条件,饲料中鱼粉量与养殖鱼类的生长性能之间的关系具有明显的正相关关系,同时,饲料中鱼粉的使用量对于维持养殖鱼类正常生理机能具有重要的作用。因此,结合实际生产中的实际养殖效果,在模式化饲料配方中,根据不同的饲料蛋白质水平,设计了不同的鱼粉用量。依据不同饲料蛋白水平与鱼粉的使用量之间的关系,得到模式化配方表。模式化系列配方中,鱼粉在饲料中使用量确定的基本原则是:①在饲料配方成本允许的范围内,优先、最大限度地使用进口鱼粉量;②养殖鱼类在正常生长条件下饲料系数维持在1.6~1.8;③维持鱼体正常生理状态;④依据饲料原料价格和水产饲料配方成本进行配方编制。

作为模式化配方考虑,希望能够根据饲料蛋白水平、饲料配方成本可以大致计算出鱼粉的使用量,这对于不同饲料企业在水产饲料配方编制时具有一定的参考价值。为此,我们根据表1中饲料蛋白水平与鱼粉使用量之间的关系作图(见图1),并利用Excel工具得到回归方程: $Y=7\times10^{-6}\times X^{4.7553}$ ($R^2=0.9804$)。由回归曲线与趋势线的拟合程度看,在饲料蛋白22%~34%之间的拟合程度很好,这也是目前我国淡水鱼类饲料中常用的饲料蛋白水平范围;按照这个关系式计算,当饲料蛋白为25%时,鱼粉的使用量为31.1 kg/t;当饲料蛋白为30%时,鱼粉的使用量为74 kg/t;当饲料蛋白为35%时,鱼粉的使用量为154 kg/t;当饲料蛋白为40%时,鱼粉的使用量为290 kg/t。这与实际情况中要保证饲料系数在1.6~1.8(鲤鱼、团头鲂、罗非鱼)的饲料中鱼粉的使用量非常接近,草鱼的养殖效果会更好一些。由于饲料原料、尤其是鱼粉的价格波动很大,图1的结果也是在特定的原料价格和配方成本下得到的饲料蛋白水平与鱼粉用量的关系,对不同饲料企业、不同时间该结果只能作为参考而非固定不变的模式。

关于饲料配方成本与鱼粉使用量的关系见图2,并利用Excel工具得到回归方程: $Y=1\times10^{-5}\times X^2+0.0227X-102.71$ ($R^2=0.9943$)。

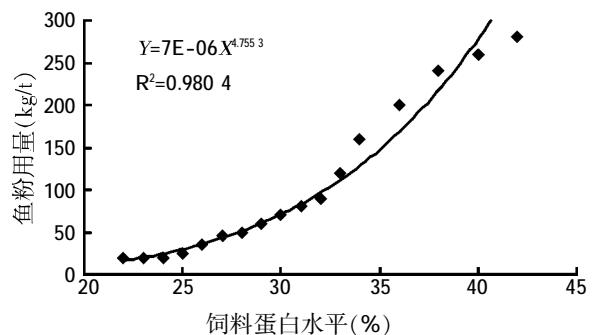


图1 饲料蛋白水平与鱼粉用量关系

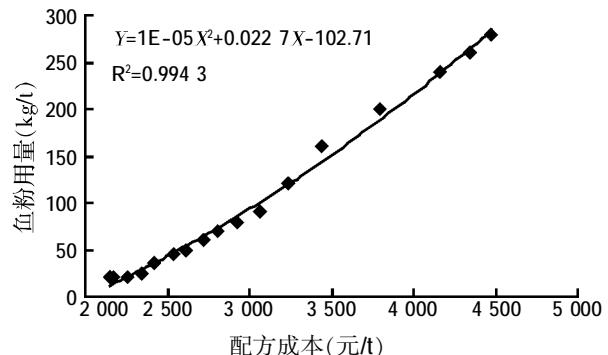


图2 饲料配方成本与鱼粉用量关系

鱼粉质量控制的关键是新鲜度和是否掺有三聚氰胺类非蛋白氮的问题。新鲜度可以参照鱼粉质量标准,重点控制酸价、挥发性盐基氮、组胺等指标。三聚氰胺类非蛋白氮的问题较为复杂,在一些高蛋白原料(包括玉米DDGS)中发现有掺三聚氰胺类非蛋白氮的案例。目前还没有很有效的检测和控制手段,较为有效的方法是检测蛋白原料的17种氨基酸含量,其综合值必须大于蛋白质含量的90%。

2.1.2 备选方案

单一饲料原料的养殖效果均不如鱼粉,但是,在鱼粉价格过高的情况下,如何保障饲料的养殖效果是非常值得关注的问题。在以前的文章中我们已经提出可以适当降低鱼粉的使用量,同时使用部分进口肉骨粉,适当增加1%左右的油脂水平。

2.2 小麦

2.2.1 小麦使用量

根据实际生产效果,建议使用130~165 kg/t的小麦,这是保证养殖效果、保障饲料颗粒粘接性能的重要因素。小麦与次粉比较,如果每吨的价格差在250元以内时,优先选择使用小麦。因为小麦的面粉有效含量可以达到70%以上,次粉中的面粉不足20%,同时,小麦的新鲜度要好于次粉,也不容易掺假。

在使用小麦后,次粉(或麦麸)可作为一般填充原料使用。

2.2.2 备选方案

① 小麦与玉米可以相互替代使用,养殖效果没有显著性差异,只是使用玉米后鱼体沉积的脂肪量要高于小麦。因此,在不同的地区,根据小麦和玉米的价格选择使用即可。

② 其它高淀粉原料的选择使用也是可以考虑的方案。淀粉原料必定是价格较低的饲料原料,在小麦、玉米因为作为粮食性原料,当价格或其它因素受到控制时,可以选择木薯片、土豆片、红薯片等原料。

2.3 豆粕

豆粕是植物蛋白中氨基酸平衡性最好的原料之一,但也是价格波动最大的原料之一,另外在淡水鱼饲料中菜粕、棉粕的使用量可以在 30%左右,所以,在模式化配方中豆粕的使用量不高,居于被控制使用的地位。同时,在实际生产和部分试验中也发现,养殖效果并不与饲料中豆粕用量成正相关关系,反而是高用量的豆粕饲料其养殖效果成下降趋势,但较低用量的豆粕,尤其是与棉粕、菜粕混合使用时可以取得更好的养殖效果。

2.4 棉粕

棉粕的蛋白质含量有 36%、40%、43% 和 46% 等级,虽然目前还不知道不同蛋白棉粕的养殖效果有何差异,但考虑到棉酚、环丙烯脂肪酸等抗营养因子含量,以及棉壳、棉绒等的影响,在模式化配方中优先选择 43% 蛋白的棉粕,这是在实际生产中广泛使用的棉粕。

有经过脱酚、脱绒的棉籽蛋白,这是一种优质的高蛋白原料,其性价比优于豆粕。另外,将 43% 的棉粕经过再次脱绒、脱壳后,其蛋白质含量也可以达到 46%。因此,这两种棉粕如果价格合适,可以在实际配方中选择使用。

2.5 菜粕

目前的菜粕种类较多,在模式化配方中使用的是 37% 的普通菜粕。菜粕中有双低油菜籽加工的菜粕,也有普通的菜粕,从抗营养因子方面分析,当然优先选择双低菜粕。但目前真正的双低菜粕主要为加拿大进口菜籽加工的菜粕,其蛋白含量一般在 35.5%~37%。对于印度进口菜粕,由于适口性较差,最好限量使用,或与普通菜粕按照 1:2 的比例混合使用。

至于菜饼或 95 型菜粕,由于含有的抗营养因子较多,一般用量控制在 7%以下较为安全。

2.6 米糠和米糠粕

根据氨基酸平衡性、脂肪含量(16%)、B 族维生素含量、肌醇含量(米糠也是提取肌醇的原料)等方面分析,米糠是性价比最高的饲料原料,应该作为主要饲料原料使用。但是,由于米糠油脂中不饱和脂肪酸含量高,极易氧化酸败,米糠也成为原料质量最难控制的饲料原料。我们在模式化配方中使用的米糠量较高,成为模式化配方中主要的不稳定因素。因此,必须保证米糠的新鲜度,在原料采购、原料质量控制中均应该作为重点对象进行采购和监控。或者,在饲料中使用 200 g/t 的鱼虾 4 号来保障养殖效果。

米糠粕中油脂被提取了,但其它营养成分还在,可以作为一般的饲料填充料使用。

2.7 沸石粉和膨润土

2.7.1 沸石粉

沸石粉因为其结构特征而具有很好的吸附能力,可以改善鱼体肠道生理条件,如可以吸附肠道内产生的氨氮、饲料原料中的黄曲霉素 B₁ 等毒素,也是肠道细菌生存的载体之一。同时,沸石粉随粪便进入水体后,对水质的改善也有很好的作用。因此,根据实际情况在模式化配方中保持了一定量的沸石粉。如果使用麦饭石替代沸石粉是可行的。

2.7.2 膨润土

膨润土主要是作为粘接剂保证颗粒的稳定性而使用,同时,也能够提供部分微量元素。

2.8 油脂

2.8.1 豆油、菜籽油、猪油

油脂是保证养殖效果的重要营养因素,在一般淡水鱼饲料中要保证 4%以上的油脂水平。饲料中油脂的使用量与养殖效果具有正相关关系,饲料油脂含量越高、养殖效果越好。但是,油脂因为氧化酸败也是饲料中最不稳定的营养因素。防止氧化油脂的毒副作用成为饲料养殖效果保证、饲料安全性保证最为关键的技术手段。主动防止方法是选择非氧化酸败的饲料油脂如豆油、猪油、菜籽油等,在模式化配方中使用的是豆油。被动防止方法中,使用 200 g/t 的鱼虾 4 号是非常有效的技术手段,鱼虾 4 号中的肉碱可以有效促进脂肪的氧化供能,而其中的几种微量成分则可以有效引导肝胰脏等内脏器官组织中的脂肪氧化而减少氧化油脂对内脏器官组织的伤害作用,同时,还具有增强鱼体免疫防御能力的作用。鱼虾 4 号的作用效果是一般的肉碱难以达到的。

2.8.2 备选方案

油脂也是价格很高的饲料原料之一,可以有多种

选择方案。

① 膨化大豆：膨化大豆的营养作用主要依赖其中的油脂、磷脂和蛋白质，如果大豆或膨化大豆价格适宜，可以作为油脂原料使用。

② 油菜籽：国产油菜籽一般含油 36%~38%、蛋白 28%，加拿大油菜籽含油 40%、蛋白 26%，是一种很好的油脂原料。根据含油量，使用油菜籽与等量油脂水平的菜籽油相比较，其养殖效果更好。可能是油菜籽的新鲜度好的原因。如果使用油菜籽其使用量必须控制在 3%，如果使用膨化处理后的油菜籽，其使用量可以控制在 5%。油菜籽与 200 g/t 的鱼虾 4 号配合使用效果更好。

③ 油葵：带壳的油葵含有 40% 的油脂和 25% 的蛋白质，是一种很好的油脂原料，其养殖效果较等油脂水平的豆油好，在原料有保障的地区可以作为一种优质的油脂原料使用。

2.9 磷酸二氢钙

磷酸二氢钙是水产饲料中无机磷的主要来源，如果在原料供应或价格方面存在一定难度的情况下，可以混合使用磷酸二氢钙和磷酸氢钙的方法来保障有效磷的供给量。其计算方法如下：

① 多数淡水饲料原料中总磷在 0.95%~1.00%，按照 30% 为可利用磷计算为 0.29%~0.30%。

② 如果使用 1.8% 的磷酸二氢钙(含磷 22%)提供的磷为 0.396%，合计有效磷为 0.686%~0.696%，基本符合有效磷的最低保障量(0.7%)。

③ 使用 1.3% 的磷酸二氢钙(含磷 22%)+1.0% 的磷酸氢钙(含磷 16.5%，利用率 60%)计算，可以提供 0.385% 的有效磷，再加上原料可利用磷为 0.29%~0.30%，总有效磷可以达到 0.685%，基本符合有效磷的最低保障量(0.7%)。

3 小结

水产动物的营养需求标准目前存在的问题较多，除了很多种类动物没有标准外，即使已经制定出的营养标准也还存在不合理、不科学的问题，从而导致饲料企业难以执行水产养殖动物的营养标准，出现按照水产养殖市场、饲料原料市场和配合饲料市场的变化而调整营养标准的市场营养学现象。

而水产饲料生产技术规范化和标准化的主要内容应该包括饲料原料选择要逐步规范化、饲料配方技术要逐渐模式化、饲料加工技术要实现标准化、水产饲料质量管理与质量控制要系统化和规范化，这是水产饲料市场发展形势提出的迫切要求。虽然水产动物营养需求标准化目前还存在很多问题，但这项工作必须逐步推进，以保障水产饲料行业的健康、稳步发展。

(编辑：徐世良，fi-xu@163.com)



帝斯曼鼎力支持国际食品安全

与质量控制会议

中国国家质检总局(AQSIQ)主办的 2008 中国国际食品安全与质量控制大会于 2008 年 9 月 24 日在北京召开，旨在研究探讨食品安全预防策略和标准一致性以及倡导更多的国际间的协作。在食品安全领域拥有丰富国际经验的生命科学和材料科学专业公司帝斯曼作为黄金赞助商鼎力支持并积极参与了该会。帝斯曼全球副总裁，中国区总裁蒋惟明先生应邀与国际食品保护协会主席等共同主持题为“全球食品安全遇到的新问题和解决方案”的圆桌讨论大会，帝斯曼营养产品全球市场经理 Martjin Adorf 就“为食品配料制定全球可持续的质量标准”的话题，介绍了帝斯曼在该领域的先进经验。

近年来，一系列食品安全问题相继发生，食品安全受到社会各方面的广泛关注，而且随着食品供应日益全球化，食品安全越来越是一个世界性的问题。帝斯曼全球副总裁，中国区总裁蒋惟明先生在会上提到：“积极支持此次会议，充分表明了帝斯曼在中国食品安全领域可持续发展的承诺，食品安全的问题关系着千家万户，作为在生产高质量的食品和饲料营养添加剂产品方面有丰富经验的跨国企业，我们非常乐意能跟大家分享我们在食品安全领域可持续发展的理念和政策，我们也有责任跟中国各地的政府部门，非政府组织等通力合作，为推动食品安全可持续的解决方案和统一标准的实施作出积极的贡献。”

作为世界领先的食品、药品、饲料以及个人护理品的维生素营养添加成分的生产商，食品安全一直是帝斯曼十分关注的问题，在 2007 年，帝斯曼公司就和《中国食品报》、《中国医药报》共同发起主办了食品安全研讨会，旨在集合行业、政府以及媒体的多方力量，合力推进食品安全产业的健康发展。2008 年 9 月帝斯曼与上海食品药品监督管理局继续深化合作，签署了食品安全备忘录，在今后双方在食品安全政策的交流和合作方面达成了意向。

复合免疫增强剂对断奶仔猪生长性能、血浆生化及免疫指标的影响

肖华丽 侯永清 丁斌鹰 刘玉兰 胡泉舟

断奶仔猪由于生理机能未发育成熟,环境、饲料等的突然改变,容易引起以生长迟缓、免疫力低下和腹泻等为主要症状的断奶仔猪综合征,生产中需要采取有效措施解决这一问题。日粮中添加具有提高动物免疫功能的物质,如植物多糖或皂甙,对克服仔猪断奶综合症有一定效果,但应用不普遍^[1]。关于黄芪多糖、牛膝多糖和刺五加皂甙的联合使用的报道更是少见。为此,本试验研究黄芪多糖、牛膝多糖和刺五加皂甙的不同配伍使用对断奶仔猪生长性能、免疫机能和血液生化指标的影响,为几种免疫增强剂的开发及应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

黄芪多糖(50%)与刺五加皂甙(B+E型,1%)均由西安三江生物工程有限公司提供,牛膝多糖(40%)购自南通四海植物精华有限公司。分别将黄芪多糖、刺五加皂甙与牛膝多糖根据质量百分比按照1:1:0和1:1:1的比例精制成复方A免疫增强剂和复方B免疫增强剂。

1.2 试验动物与管理

选用胎次、日龄(31±3)d及平均体重(9.29±0.53)kg相近的健康大约克仔猪32头,按随机分为4个处理,每个处理4个重复(栏),每个重复2头仔猪,公母各半。

试验在保育舍内进行。饲养栏舍为半开放式,圈舍通风良好,不锈钢食槽,漏缝地板。按照猪场常规饲养规程和免疫程序进行饲养与免疫。猪只自由采食,自由饮水。

肖华丽,武汉工业学院动物营养与饲料科学系,430023,湖北省武汉市汉口常青花园中环西路特1号。

侯永清(通讯作者)、丁斌鹰、刘玉兰、胡泉舟,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2008-07-28

★ 湖北省科技攻关项目(项目编号:2004AA201C07),武汉市青年科技晨光计划项目(项目编号:20055003059-46),国家“十一五”科技支撑计划(项目编号:2006BAD12B07)

1.3 试验日粮

试验分为4种日粮。对照组饲喂不添加抗生素的基础日粮+0.05%的滑石粉,黄芪多糖组饲喂基础日粮+0.05%的黄芪多糖,复方A组饲喂基础日粮+0.05%的复方A免疫增强剂,复方B组饲喂基础日粮+0.05%的复方B免疫增强剂。基础日粮组成及营养水平见表1。

表1 基础日粮组成与营养水平

原料	配比(%)	营养水平
玉米	56.91	消化能(MJ/kg) 14.65
豆粕	15.00	粗蛋白质(%) 19.50
鱼粉(进口)	5.00	钙(%) 0.80
低蛋白乳清粉	5.00	磷(%) 0.78
大豆浓缩蛋白	4.73	赖氨酸(%) 1.50
蛋能宝	3.00	蛋氨酸(%) 0.42
大豆油	2.62	蛋氨酸+胱氨酸(%) 0.83
葡萄糖	2.00	食盐(%) 0.68
血浆蛋白粉	2.00	
磷酸氢钙	1.75	
石粉	0.26	
预混料	1.00	
酸化剂	0.30	
赖氨酸盐酸盐	0.20	
苏氨酸	0.12	
DL-蛋氨酸	0.11	

注:1. 预混料为每千克日粮提供:铁100mg、铜150mg、锰40mg、锌100mg、碘0.5mg、硒0.3mg、VA1800IU、VD₃4000IU、VE40IU、VK₃4mg、硫胺素6mg、核黄素12mg、吡哆醇6mg、氰钴胺素0.05mg、生物素0.2mg、叶酸2mg、烟酸50mg、泛酸钙D25mg。

2. 蛋能宝为荷兰SLOTEN公司产品,主要成分为乳制品。

1.4 测定指标及方法

1.4.1 生长性能的测定

记录试验期间各组总耗料,并于试验第1d和第14d清晨对试验猪空腹称重(称重前试验猪禁食12h、禁水2h),以此来计算试验期间各试验组的平均日增重、平均日采食量和料重比。

1.4.2 血浆生化指标及免疫指标的测定

于第14d称重后,对所有试验猪进行前腔静脉无菌抗凝采血8ml,3000r/min离心10min分离血浆,-20℃冰箱保存待测。所有血浆生化指标均由武汉市第七医院检验科应用日立7020全自动生化分析仪

测定。血浆免疫球蛋白(IgG)采用北京华英生物技术研究所提供的免疫比浊试剂盒及方法测定;一氧化氮(NO)、一氧化氮合酶(NOS)和诱导型一氧化氮合酶(iNOS)的测定采用南京建成生物工程研究所提供的试剂盒及方法。

1.5 数据统计与分析

采用 SPSS13.0 统计软件进行单因素方差分析,均值的多重比较采用 Duncan's 法进行,所有数据均以平均值±标准差表示。

2 结果与分析

2.1 复合免疫增强剂对断奶仔猪生长性能的影响(见表 2)

表 2 复合免疫增强剂对断奶仔猪生长性能的影响

项目	对照组	黄芪多糖组	复方 A 组	复方 B 组
平均日采食量(ADFI, kg/d)	0.576±0.076 ^b	0.545±0.048 ^b	0.594±0.052 ^a	0.553±0.079 ^b
平均日增重(ADG, kg/d)	0.356±0.067 ^b	0.360±0.081 ^b	0.418±0.072 ^a	0.359±0.109 ^b
料重比(F/G)	1.622±0.122 ^a	1.619±0.144 ^a	1.466±0.102 ^b	1.541±0.123 ^{ab}

注:1. 表中数据均为平均值±标准差;

2. 同行数据肩注小写字母不同者表示差异显著($P<0.05$),大写字母不同者表示差异极显著($P<0.01$),同行数据无肩注或同行数据肩注字母相同者表示差异不显著($P>0.05$)。下表同。

由表 2 可以看出,与黄芪多糖组和复方 B 组相比,复方 A 组的平均日采食量(ADFI)分别显著增加了 8.99% 和 7.41% ($P<0.05$),与对照组相比差异不显著($P>0.05$);复方 A 组与对照组、黄芪多糖组、复方 B 组相比,平均日增重(ADG)显著提高 17.42%、16.11%、16.43% ($P<0.05$);在料重比(F/G)方面,复方

A 组显著低于对照组和黄芪多糖组($P<0.05$),与复方 B 组相比无显著性差异($P>0.05$)。综上所述,日粮中添加复方 A 免疫增强剂能显著提高断奶仔猪的生长性能。

2.2 复合免疫增强剂对断奶仔猪血液生化指标的影响(见表 3)

表 3 复合免疫增强剂对断奶仔猪血浆生化指标的影响

项目	对照组	黄芪多糖组	复方 A 组	复方 B 组
天门冬氨酸转氨酶(AST, U/l)	72.00±18.11	85.19±22.86	95.29±29.83	90.80±46.44
丙氨酸转氨酶(ALT, U/l)	51.14±5.93	44.83±4.22	48.71±5.56	46.33±11.99
碱性磷酸酶(AKP, U/l)	329.14±107.69 ^b	378.57±57.09 ^{ab}	398.25±48.95 ^a	448.40±77.76 ^a
γ-谷氨酰转肽酶(GGT, U/l)	50.00±7.46 ^b	64.00±20.60 ^{ab}	82.63±24.07 ^a	73.00±23.22 ^{ab}
尿素氮(BUN, mmol/l)	3.77±2.67	3.39±0.66	2.39±0.41	2.73±1.22
乳酸脱氢酶(LDH, U/l)	970.29±188.21	1100.29±158.34	1056.43±132.59	1112.80±280.89

表 3 中结果表明,在断奶仔猪日粮中添加复合免疫增强剂对仔猪血浆中 ALT、AST 和 LDH 的活性及 BUN 的含量无显著性影响($P>0.05$)。与对照组相比,复方 B 可显著提高仔猪血浆中 AKP 的活性 ($P<0.05$),与其它试验组相比差异不显著,复方 A 比对照组显著提高仔猪血浆中 GGT 的活性($P<0.05$)。

2.3 复合免疫增强剂对断奶仔猪血浆免疫指标的影响(见表 4)

表 4 复合免疫增强剂对断奶仔猪血浆免疫指标的影响

项目	对照组	黄芪多糖组	复方 A 组	复方 B 组
IgG(g/l)	6.72±1.16 ^b	7.24±1.12 ^{ab}	8.04±0.68 ^a	7.52±0.36 ^{ab}
NO(μmol/l)	50.32±27.30	55.77±23.10	57.79±4.94	55.04±14.23
NOS(U/ml)	28.78±6.18 ^b	30.10±3.32 ^b	35.14±4.82 ^a	33.26±5.25 ^{ab}
iNOS(U/ml)	7.66±3.87	9.68±4.47	9.65±3.22	9.66±5.29

表 4 结果表明,复合免疫增强剂可以提高血浆中

IgG 的含量和 NOS 的活性。复方 A 组比对照组显著提高了血浆中 IgG 的含量 19.64% ($P<0.05$),与黄芪多糖组和复方 B 组差异不显著($P>0.05$);复方 A 和 B 组分别比对照组提高血浆中 NOS 活性 22.10% ($P<0.05$) 和 15.57% ($P>0.05$),而两组之间差异不显著($P>0.05$),复方 A 组比黄芪多糖组显著提高血浆中 NOS 活性 16.74% ($P<0.05$)。以上结果显示,复方 A 具有较好提高断奶仔猪免疫机能的作用。

3 讨论

3.1 复合免疫增强剂对断奶仔猪免疫机能的影响

植物活性多糖及皂甙是重要的天然活性成分,能促进免疫器官发育,抗体生成;激活淋巴细胞,提高机体免疫功能,对防治细菌及病毒传染性疾病,促进动物健康具有显著性意义^[2]。刺五加皂甙具有扶正固本,增强免疫及抗炎作用;牛膝多糖能增强小鼠 T、B 淋巴

细胞和巨噬细胞的功能,并可使血清总 IgG 和 IgM 水平显著提高^[3]; 黄芪多糖具有较强的免疫活性,能提高动物的抗病能力,降低发病率。

近年来研究表明,植物多糖及皂甙之间通过合适的剂量配伍,可进一步提高动物免疫功能。本试验研究表明,日粮中添加黄芪多糖和刺五加皂甙的复合物后仔猪血浆中免疫球蛋白(IgG)的含量显著性上升,这与王建文等(1990)^[4]的报道相似。

一氧化氮(NO)是一种非常重要的生理性的细胞内及细胞间的信号分子,在免疫、神经及循环等系统中起着重要作用。多糖促进 NO 合成的机制可能是通过激活淋巴细胞,促进诱导型一氧化氮合酶(iNOS)的基因表达,使 iNOS 合成增加,进而促进 NO 的合成与分泌^[5]。被释放的 NO 通过抑制靶细胞的线粒体中的三羧酸循环、电子传递和细胞 DNA 合成而提高动物体免疫能力。本试验发现,复合免疫增强剂可提高血浆中 NOS 的活性,增加了 NO 的含量,其原因可能与上述机制相关,其结果与牛膝多糖或黄芪多糖促进巨噬细胞产生 NO 和激活 NO 合成酶的报道相类似^[6-7]。

3.2 复合免疫增强剂对断奶仔猪生长性能的影响

仔猪的免疫力提高,也能促进动物健康生长。本试验结果表明,断奶仔猪日粮中添加复方 A 免疫增强剂显著提高了仔猪的日增重和饲料转化效率。这与许多学者研究中草药免疫增强剂的饲喂结果相似。曾庆国等(2006)^[8]的研究表明,日粮中添加 0.1% 的中药免疫增强剂能提高断奶仔猪 14~21 d 以及全期(0~21 d)的平均日增重,说明其能改善断奶仔猪的生长速度。张挺(2003)^[9]报道,在 35 日龄仔猪日粮中添加中草药复方 1 和复方 2,进行 25 d 的饲养试验,结果表明,中草药添加剂能明显改善仔猪的生长性能和饲料利用效率,日增重和日采食量分别较抗菌药组提高了 21.43%、23.81% 和 30.00%、20.00%,复方 1 的料重比降低了 2.11%,复方 2 的料重比增加了 7.75%。

3.3 复合免疫增强剂对断奶仔猪血浆生化指标的影响

动物生长性能的改善与组织中的代谢是分不开的。血浆生化指标的改变是组织细胞通透性发生改变和机体新陈代谢机能发生改变的反映。GGT 在蛋白质消化吸收中起关键作用:氨基酸的吸收机制是通过谷胱甘肽的活动而实现,它与谷胱甘肽受到细胞膜上的 GGT 催化后,开始 γ -谷氨酰循环,进而促进氨基酸的吸收和蛋白质的合成。本试验结果表明,复方 A 组血浆 GGT 的活性较对照组显著提高。

血液中 ALT 和 AST 是氨基酸之间的转氨酶,也是

蛋白质代谢过程中的重要酶,ALT 和 AST 活性的提高表明机体转氨效果提高,促进了氨基酸代谢。AKP 是生物体内的一种重要的代谢调控酶,其功能之一是加速营养物质的摄取和转运,可以催化水解磷酸单脂、磷酸核苷以及 6-磷酸糖等类似化合物。AKP 活性的提高,可以促进仔猪体内蛋白质的合成,提高日增重,从而提高动物的生长速度,改善饲料的转化率。据研究,ALT、AST 及 AKP 的活性与猪的日增重呈正相关^[10]。血浆 BUN 值的大小反映了血液中氨基酸合成蛋白质效率的高低,BUN 含量的降低表明氮的体内沉积增加,饲料中蛋白质利用率提高。LDH 是糖代谢中重要的酶,催化乳酸脱氢成为丙酮酸或丙酮酸还原为乳酸,即参与了能量物质的有氧氧化与无氧酵解。本试验结果表明,复方 A 组血浆 AST、AKP 和 LDH 的活性均有所提高,同时 BUN 的含量有所下降,但未见有显著性影响,这反映了仔猪生长性能与血液生化指标之间的变化关系。

4 小结

在本次试验条件下,日粮中添加复方 A 提高了仔猪的日增重,改善了日采食量和饲料利用率;提高了血浆 γ -谷氨酰转肽酶、天门冬氨酸转氨酶、碱性磷酸酶和乳酸脱氢酶的活性;同时也促进了免疫球蛋白(IgG)的生成和提高了血浆一氧化氮合酶活性。

参考文献

- [1] Ma Y F, Zhang Z Q, Huang Y F. Effects of weaning stress in piglet on physiological functions and present condition of preventing or curing weaning stress using Chinese herbs[J]. Fujian Journal of Animal Husbandry and Veterinary, 2004, 26(5):14-15.
- [2] Dritz S S, Shi J, Kielian T L, et al. Influence of dietary β -glucan on growth performance, nonspecific immunity, and resistance to *Streptococcus suis* infection in weanling pigs [J]. Journal of Animal Science, 1995, 73 (11) : 3 341-3 350.
- [3] 向道斌,蒋超.牛膝多糖对 T 淋巴细胞和天然杀伤细胞功能的影响[J].中国药理学与毒理学杂志,1994,8(3): 209-212.
- [4] 王建文,牟其芸.部分中草药复方的免疫增强作用和兽医临床应用[J].中兽医学杂志,1990,61:36-38.
- [5] 陈洪亮.植物多糖的制备及对肉仔鸡免疫功能影响的研究[D].北京:中国农业科学院,2002.
- [6] 田庚元.中药免疫调节剂的研究和开发[J].中国新药杂志,1999 (8):721-724.
- [7] 姚金凤,王志新,张晓勇,等.黄芪多糖对小鼠腹腔巨噬细胞免疫功能的调节作用研究[J].河南大学学报:医学版,2005,24(1):34-36.
- [8] 曾庆国,胡锦文,涂杨梅.中药免疫增强剂对断奶仔猪生长性能和免疫功能的影响[J].江西畜牧兽医杂志,2006(5):7-8.
- [9] 张挺.中草药提取物的提取工艺及在仔猪日粮中的应用研究[D].武汉:华中农业大学,2003.
- [10] 易国华,柳小春.猪的血浆酶活性和蛋白酶型与日增重的关系研究[J].中国畜牧杂志,1999,35(3):3.

(编辑:王 芳,xfang2005@163.com)

γ-氨基丁酸对夏季生长肥育猪血清生化指标的影响

胡家澄 邹晓庭 曹德瑞 董金格 孙科

摘要 将48头体重43 kg左右的“杜×长×大”三元杂交猪随机分成两组,饲喂在基础日粮中添加0、10 mg/kg GABA的日粮。结果表明:添加GABA使血清中钙、磷、钾、氯4种无机离子浓度提高,差异不显著($P>0.05$);总蛋白、白蛋白、尿素氮水平有提高趋势,差异不显著($P>0.05$),葡萄糖水平提高13.29%,差异显著($P<0.05$);丙氨酸转氨酶、天门冬氨酸转氨酶活性上升,差异不显著($P>0.05$),乳酸脱氢酶、肌酸磷酸激酶活性分别下降16.93%($P<0.05$)、38.22%($P<0.01$);谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、超氧化物歧化酶(SOD)活性均有上升,其中GSH-Px差异极显著($P<0.01$),丙二醛含量下降($P>0.05$)。

关键词 GABA;生长肥育猪;血清生化指标

中图分类号 S828

Effect of gamma-aminobutyric acid on serum biochemical parameter of finishing hogs in summer

Hu Jiacheng, Zou Xiaoting, Cao Derui, Dong Jinge, Sun Ke

Abstract 48 Duroc ×(Landrace ×Large White) finishing hogs that weighed about 43 kilograms were randomly divided into two groups, one was fed with basal diet, and the other was fed with basal diet added 10 mg/kg GABA. The results showed that in 10 mg/kg GABA group, serum calcium, phosphorus, potassium, chloride concentrations were increased respectively, all the differences were not significant ($P>0.05$); so were the serum total protein, albumin, urea nitrogen concentrations have the improvements uptrend, but the differences were not significant ($P>0.05$); glucose was significantly increased by 13.29% ($P<0.05$); GPT, GOT activity were both not significantly increased, while LDH and CPK were decreased by 16.93% ($P<0.05$), 38.22% ($P<0.01$); GSH-Px, SOD activity were increased, while MDA concentration was decreased.

Key words GABA;finishing hog;serum biochemical parameter

γ-氨基丁酸(gamma-aminobutyric acid, GABA)在医药与食品工业中已有广泛应用,除具有镇静、降血压和抗惊厥等生理作用外^[1],作为神经中枢重要的抑制性神经递质,在促进动物采食、调节内分泌、减轻应激等方面也表现出良好效果^[2-7],目前在畜禽日粮中的应用已成为研究热点。本试验探讨了GABA对生长肥育猪血清生化指标的影响,希望为新型生物饲料添加剂GABA的广泛应用提供理论参考。

1 材料和方法

1.1 试验动物及分组

GABA由浙江大学饲料科学研究所提供。选取48头体重43 kg左右的“杜长大”三元杂交猪(由浙江省嘉兴市欣欣养殖场提供),按试验要求分为2组,每组3个重复,每重复8头(公母各半)。2个组分别在基础日粮中添加0(对照组)、10 mg/kg GABA(试验组)。试验从试猪43 kg左右时开始,至80 kg左右时结束,试验期48 d,自由采食及饮水,试验期间每天定时(6:00、14:00、20:00)测定舍内温度、湿度和当天最高、最低温度。试验结束时从对照组与试验组每重复中随机抽取2头(公母各半)共12头,前腔静脉采血制备血清以测定生化指标。

1.2 试验日粮

参照美国NRC(1998版)肥育猪营养需要配合而成的粉状配合饲料,其日粮组成及营养水平见表1。

1.3 血清生化指标测定

血清生化指标均采用试剂盒测定,试剂盒由南京建成生物工程研究所购买,试剂配制和操作步骤按说明书进行。

所有数据以 $\bar{X} \pm S$ 表示,差异显著性分析采用SAS

胡家澄,浙江大学饲料科学研究所,310029,杭州市秋涛北路164号。

邹晓庭、曹德瑞、董金格、孙科,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2008-07-15

★ 浙江省重大农业科技攻关项目(农业生物技术专项,G20060719)

(6.03)t 检验。

表 1 试验基础日粮组成及主要营养水平

日粮组成	配比(%)	营养水平
玉米	66.8	消化能(MJ/kg) 13.40
四号粉	3.0	粗蛋白(%) 17.0
豆粕	20.4	赖氨酸(%) 1.0
进口鱼粉	1.0	蛋氨酸+胱氨酸(%) 0.55
沸石粉	2.0	总磷(%) 0.65
味精渣	1.0	有效磷(%) 0.3
磷脂豆粕	1.0	钙(%) 0.70~1.20
石粉	0.8	
预混料	4.0	
合计	100	

注: 预混料组成为: VA 6 000 IU/kg、VD₃ 1 200 IU/kg、VE 20 IU/kg、VK₃ 1.5 mg/kg、VB₁ 1.5 mg/kg、VB₂ 3 mg/kg、VB₆ 1.6 mg/kg、泛酸 15 mg/kg、烟酸 8 mg/kg、锰 0.06 g/kg、铁 0.15 g/kg、锌 0.12 g/kg、铜 0.2 g/kg、钴 0.3 mg/kg、硒 0.3 mg/kg。

2 结果

2.1 GABA 对生长肥育猪血清电解质平衡及酶活性的影响(见表 2)

表 2 GABA 对生长肥育猪血清电解质离子水平及酶活性的影响

项目	对照组	试验组
钙(mmol/l)	1.86±0.19	2.21±0.23
磷(mmol/l)	1.25±0.03	1.42±0.20
钾(mmol/l)	6.94±0.08	7.22±0.10
氯(mmol/l)	98.48±3.12	101.92±2.58
AST(IU/l)	9.16±2.06	10.36±1.47
ALT(IU/l)	10.77±2.82	11.86±1.96
LDH(IU/l)	3 845.83±230.45 ^b	3 194.86±146.46 ^a
CPK(IU/l)	2 552.97±196.57 ^b	1 577.14±140.81 ^a

注: 同行肩标不同小写字母者差异显著($P<0.05$); 肩标不同大写字母者差异极显著($P<0.01$)。下表同。

与对照组相比, 试验组猪只血清中的钙、磷、钾、氯等无机离子浓度均有上升趋势, 但变化不明显, 未达显著水平($P>0.05$)。天门冬氨酸转氨酶(AST)、丙氨酸转氨酶(ALT)酶活均上升, 但差异不显著($P>0.05$); 乳酸脱氢酶(LDH)活性显著下降 16.93% ($P<0.05$); 肌酸磷酸激酶(CPK)活性极显著下降 38.22% ($P<0.01$)。

2.2 GABA 对生长肥育猪血清蛋白及葡萄糖水平的影响(见表 3)

表 3 GABA 对生长肥育猪血清总蛋白、白蛋白、尿素氮和葡萄糖的影响

项目	对照组	试验组
总蛋白(g/l)	68.79±1.35	72.20±1.73
白蛋白(g/l)	32.39±0.72	34.42±1.21
尿素氮(mmol/l)	5.75±0.61	6.17±0.58
葡萄糖(mmol/l)	4.29±0.23 ^b	4.86±0.17 ^a

与对照组相比, 试验组提高了总蛋白、白蛋白、尿素氮水平, 差异不显著($P>0.05$); 而葡萄糖较对照组提高了 13.29%, 差异显著($P<0.05$)。

2.3 GABA 对生长肥育猪血清自由基代谢的影响(见表 4)

表 4 GABA 对生长肥育猪血清 MDA、GSH-Px、SOD 的影响

项目	对照组	试验组
MDA(nmol/ml)	3.52±0.24	3.15±0.18
GSH-Px(μmol/l)	456.92±5.03 ^b	485.77±6.92 ^a
SOD(U/ml)	90.39±4.22	95.26±8.95

与对照组相比, GABA 使血清丙二醛(MDA)水平下降, 但差异不显著($P>0.05$); 谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和超氧化物歧化酶(SOD)活性均有上升, 其中 GSH-Px 上升 6.31%, 差异极显著($P<0.01$)。

3 讨论

3.1 GABA 对夏季生长肥育猪血清电解质平衡等影响

血清生化指标是反映机体代谢的最灵敏的指标之一, 同时也是反映抗热应激性能的重要指标之一, 它主要包括电解质离子、酶、激素以及代谢物。联系本试验进行的时间与地点(5月下旬至 7 月中旬, 嘉兴)不难发现, 试验猪在整个试验过程中都处于一种高温、高湿的热应激状态下, 笔者注意到对照组猪只在上午 11:00 后至下午 15:00 的时区内明显不愿采食及饮水, 精神萎靡, 呼吸频率加快。热应激会造成动物体内血液电解质和酸碱平衡失调, 呼吸次数增加, 血液中 CO₂ 排出过多, pH 值升高。为了保持平衡, 通过肾脏排出血液中的钠、钾等离子来降低血液 pH 值, 引起血液中钠、钾等离子浓度下降^[9]。血清酶活性的变化亦是热应激所致的酸碱平衡及电解质平衡紊乱的表现。许多研究表明^[9~13], 动物热应激时, 血清钙、磷、钾、钠、氯等电解质离子浓度水平平均会出现不同程度的下降; 血清 AST、ALT、碱性磷酸酶(ALP)等酶活性下降, 相反, LDH、CPK 等酶活性上升, 这是由于热应激过程中, 肌肉组织中的糖元大量酵解以及蛋白质代谢产物对肌肉组织的毒害, 引起肌纤维变性、坏死、CPK 释放进入血液, 导致血清 CPK 活性成倍增加, 同时血细胞中的 LDH 释放以及血清 LDH 活性的显著升高^[14]。本研究试验组猪只出现了与动物热应激时相反的血清生化指标变化, 与对照组相比, 血清钙、磷、钾、氯等电解质离子浓度及 AST、ALT 等酶活性上升, LDH、CPK 等酶活性下降, 说明试验组猪受到的热应激水平较低, GABA 具有一定的抗热应激功能, 这与陈忠等^[9]、范志勇等^[15]的报道一致。

3.2 GABA 对夏季生长肥育猪血清蛋白等含量的影响

血清蛋白含量反映猪只生长发育、生理状况及饲料情况,尿素氮是蛋白质与氨基酸分解代谢的终末产物。当机体无法通过糖、脂肪代谢获得足够能量时,蛋白质和氨基酸分解代谢加强,产生大量尿素氮,使血中尿素氮增加。研究证明^[10-11,16],高温时动物血清总蛋白、白蛋白水平下降,尿素氮水平上升。笔者认为这可能与高温抑制动物采食,导致摄入营养中能量不足,最终体蛋白被分解供能不足有关,另一方面抑制采食的同时本身也降低了蛋白的摄入。本研究试验组与对照组相比血清中总蛋白和白蛋白浓度上升但不明显,尿素氮水平升高也不明显,两者共同说明热应激条件下机体的能量供应以糖和脂肪分解为主,此时蛋白质与氨基酸几乎不参与或很少参与能量的供应。

血糖的来源主要是饲料中的糖类被消化进入血液,并通过对神经和激素的调节维持血糖浓度的恒定,以保证机体对葡萄糖的需要量。本试验中试验组与对照组相比血清葡萄糖水平显著升高,说明添加GABA可以使肝糖原分解加强,抑制组织对糖的清除,降低脂肪组织对胰岛素的敏感性,增强机体动用血糖,维持机体热应激状态下新陈代谢所需的血糖。

3.3 GABA 对夏季生长肥育猪血清自由基代谢的影响

动物机体内存在氧化和抗氧化两大系统,正常情况下二者处于平衡状态。当畜禽处于高温状态下,体内生理代谢紊乱,抗氧化酶和非酶系统功能下降,自由基大量生成。自由基产生过多,就使机体许多重要的生物大分子发生不可逆转的氧化损伤,如使核酸、蛋白质、膜多不饱和脂肪酸(PUFA)等出现交联或断裂,导致细胞结构和功能的破坏。范石军等^[17]研究表明,肉鸡在热应激状态下自由基产生量增加,机体内的SOD和GSH-Px活力降低,MDA含量增加。刘凤华等^[18]报道热应激同时降低蛋鸡血液红细胞及肝脏SOD活性。这些研究表明热应激可导致自由基大量生成,同时还说明SOD、GSH-Px、MDA等指标的变化能反映机体自由基代谢的状况,检测血液SOD和GSH-Px的活性和MDA含量是研究机体抗氧化能力的有效方法。本试验中,试验组血清MDA含量较对照组降低,同时抗氧化酶GSH-Px活性较对照组显著升高,SOD活性升高但未达显著水平,表明10 mg/kg GABA可增强肥育猪在高温环境中的抗氧化能力,促进其健康生长。

4 小结

生长肥育猪日粮中添加10 mg/kg GABA在一定程度上降低夏季高温应激对生长肥育猪造成的危害,改善了生长肥育猪在高温条件下抗氧化能力。

参考文献

- [1] 谢启文.现代神经内分泌学[M].上海:上海医科大学出版社,1999:9.
- [2] 陈忠,王婷,黄丽明,等.GABA对热应激仔鸡的影响[J].动物学研究,2002,23(4):341-344.
- [3] 李爱学. γ -氨基丁酸和氟安定对产蛋高峰期母鸡摄食行为以及有关内分泌的影响[D].南京农业大学,2003.
- [4] 韦习会,漆兴桂,夏东,等.日粮添加 γ -氨基丁酸对育肥猪生长和饲料利用的影响[J].家畜生态,2004,25(2):10-12.
- [5] 吴常信.中国家禽研究[A],四川科学技术出版社,2005:354-355.
- [6] 曹德瑞,邹晓庭. γ -氨基丁酸对生长肥育猪生长性能和胴体品质的影响[J].饲料工业,2007,28(23):31-34.
- [7] Fan Zhi-yong, Deng Jin-ping, Liu Guo-hua, et al. Study on the Effect of γ - Aminobutyric Acid on the Reproduction Performance and Internal Hormone Levels in Growing Pigs [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2007, 19(4):350-356.
- [8] Deyhim F, Teeter R G. Effect of heat stress and drinking water salt supplements on plasma electrolytes and aldosterone concentration in broiler chickens [J]. J Biometeorol, 1995, 38(4):216-217.
- [9] 刘风华,谢仲权,孙朝龙.高温对蛋鸡血液生化指标及生产性能的影响[J].中国畜牧杂志,1997,33(5):23-25.
- [10] 刘铀,林红英,罗东君,等.热应激对肉鸡血液生化指标及内分泌机能的影响[J].湛江海洋大学学报,1999,19(1):61-64.
- [11] 余德谦,林映才,蒋宗勇,等.热应激对肥育猪的影响及添加抗应激剂的效果[J].养猪,1999(2):21-22.
- [12] Borges S A, Fischer da silva A V, Majorka A, et al. Physiological responses of broiler chickens to heat stress and dietary electrolyte balance[J]. Poultry Science, 2004, 83(9):1551-1558.
- [13] 刘庆华,王根林.热应激对奶牛血液流变学指标及血清无机离子浓度和酶活性的影响[J].福建农林大学学报(自然科学版),2007,36(3):284-287.
- [14] 韩博,高得仪,王清兰.复方氯化钠散防治仔猪高气温运输应激的机理研究[J].畜牧兽医学报,1995,26(3):261-267.
- [15] 范志勇,邓近平,贺建华,等. γ -氨基丁酸及其在母猪养殖中的应用[J].饲料工业,2007,28(18):58-61.
- [16] 刘思当,宁章勇,谭勋,等.热应激对肉仔鸡血液生化指标影响的观察[J].中国兽医杂志,2003,39(9):21-23.
- [17] 范石军,韩友文,李德发,等.雏鸡高温应激与超氧化物酶含量及活性的影响[J].中国饲料,2001(10):11-13.
- [18] 刘凤华,于同泉,吴国娟,等.热应激中蛋鸡血液和肝脏SOD活性的动态变化[J].北京农学院学报,2003,18(2):112-114.

(编辑:王芳,xfang2005@163.com)

中草药替代抗生素对肉鸡营养物质消化代谢的影响

霍振华 方热军 李四元 陈彩辉

抗生素作为饲料添加剂在饲料工业及家禽养殖中的应用已经有几十年的历史,饲料中添加抗菌药物已成为提高养殖效益的“有效手段”。但近年来的研究表明,在饲料中长期添加使用抗生素将导致药物残留,从而对人类健康造成不利影响。因此,寻找抗生素的替代品,一直以来都是科研工作者的努力方向,A-pak Lino等(2006)认为,当前克服全球性抗生素抗药性问题的方法包括从植物中研究发现新的和具有创新性的抗菌剂。中草药具有缓解各种慢性疾病之效,而中草药添加剂则以其治疗作用兼营养作用,且无害、低残留、低抗药性得到了更快发展。本研究选用白头翁、马齿苋、大青叶、秦皮4种中草药,在饲养试验基础上,进行代谢试验,以探索中草药配伍对饲料养分利用率的影响,进一步验证饲养试验结果,初步阐明其作用机理,为中草药添加剂产品的定型开发提供试验依据。

1 试验材料与方法

1.1 中草药添加剂配伍

中草药添加剂I(下称方1),中草药添加剂II(下称方2)按照王向荣(2008)设计。

1.2 试验动物及分组设计

试验采用单因素完全随机分组设计。选用健康的成年长沙黄鸡24羽,随机分为6组,I、II、III、IV组为中草药饲料添加剂组,I组和II组在基础日粮中分别添加0.3%和0.6%的方1,III组和IV组在基础日粮中分别添加0.3%和0.6%的方2;V组为抗生素对照组,在基础日粮的基础上添加150 mg/kg的金霉素;VI组为基础日粮组。具体设计见表1。基础日粮参照中国

三黄鸡营养需要配制,其组成及主要营养水平见表2。

表1 试验设计

组别	处理
I组	基础日粮+方1(0.3%)
II组	基础日粮+方1(0.6%)
III组	基础日粮+方2(0.3%)
IV组	基础日粮+方2(0.6%)
V组	基础日粮+金霉素
VI组	基础日粮

表2 饲料配方及营养水平

饲粮成分	配比(%)
玉米	58.54
豆粕	33.14
鱼粉	1.00
蛋氨酸	0.05
盐	0.30
磷酸氢钙	1.43
植物油	3.53
石粉	1.01
预混料	1.00
合计	100
营养水平	
代谢能(MJ/kg)	12.54
粗蛋白(%)	20
钙(%)	0.90
有效磷(%)	0.35
蛋氨酸(%)	0.38
赖氨酸(%)	0.90

注:预混料为每千克配合饲料提供:VA 12 000 IU、VD₃ 2 500 IU、VE 20 mg、VK₃ 3 mg、VB₁ 3 mg、VB₂ 8 mg、VB₆ 7 mg、VB₁₂ 0.03 mg、泛酸 20 mg、烟酸 50 mg、生物素 0.1 mg、叶酸 1.5 mg、氯化胆碱 1 000 mg、Cu 9 mg、Zn 110 mg、Fe 100 mg、Mn 100 mg、Se 0.16 mg、I 0.6 mg。

1.3 代谢试验

将试验动物置于代谢笼中,单笼饲养,自由采食饮水,预试一周后,正式期开始前一天18:00时停食停水。试验第1 d 6:00时,称取试验鸡空腹体重,再立即在代谢笼下铺有清洁塑料布的瓷盘,以收集粪尿,随即喂料喂水,试验期间每天加料加水各4次(7:00、10:00、14:00、18:00),并精确的记录每只鸡的采食量。

1.3.1 饲养管理

正式期第1 d 16:00时收集第一次粪尿,以后每天收集两次(上午6:00和下午16:00)。第4 d下午18:00饲喂结束后,取下水槽和饲槽,停食和停水。第5 d上

霍振华,湖南农业大学动物科技学院,410128,长沙。

方热军(通讯作者)、李四元,单位及通讯地址同第一作者。

陈彩辉,湖南农业大学校医院。

收稿日期:2008-08-27

★ 湖南省教育厅重点项目(08A030),湖南省畜牧局资助项目“安全饲料增效剂与功能家禽规模化饲养关键技术研究”(XMY200607)内容之一

午 6:00 收集最后一次粪尿,后再称鸡的空腹体重,饲喂阶段结束。

1.3.2 粪尿处理

每次收集粪尿时滴加少量的 10% H₂SO₄ 于粪样中,搅拌均匀。并滴加数滴甲苯防腐,于冰箱中保存。代谢试验结束,将 4 d 收集的粪样混匀,按一定比例进行取样,并保存。试验结束后,将粪样 60~65 ℃烘干,粉碎过 40 目筛制成风干样品,分析备用。

1.4 测定指标与方法

养分表观消化率(%)=(食入养分的量-粪中该养分的量)/食入养分的量×100。

干物质、粗蛋白、粗灰分、粗纤维、钙、磷的测定参

照杨胜《饲料分析及饲料质量检测技术》(1991)。

1.5 数据统计

试验数据用 EXCEL 初步整理后使用统计分析软件 SAS6.12 进行处理和方差分析,各组数据采用平均值±标准差表示。

2 结果与分析

各处理对饲料营养成分的利用影响情况见表 3,由表 3 可以看出,粗蛋白的消化率以中草药Ⅲ组最高,且与中草药Ⅰ、Ⅱ、Ⅳ组、抗生素组相比差异显著($P<0.01$),与基础日粮组相比差异极显著($P<0.001$),其中粗蛋白表观消化率比抗生素及基础日粮组分别提高 25.74%($P<0.01$)和 70.68%($P<0.001$)。

表 3 各处理组对营养物质消化率的影响(%)

项目	I 组	II 组	III 组	IV 组	V 组	VI 组
粗蛋白	35.5±8.34 ^b	32.9±5.04 ^b	42.5±4.38 ^a	32.7±3.76 ^b	33.8±2.97 ^b	24.9±2.83 ^c
粗脂肪	61.3±10.0 ^c	62.7±7.02 ^c	75.1±3.39 ^a	76.4±7.39 ^a	72.2±6.12 ^a	59.3±7.40 ^c
粗纤维	57.9±3.51 ^b	58.1±3.26 ^b	55.9±1.90 ^b	64.4±2.99 ^a	52.1±4.92 ^c	45.1±1.91 ^d
干物质	59.9±3.07 ^c	59.4±1.80 ^c	70.5±1.21 ^a	69.7±2.01 ^a	67.4±1.22 ^b	65.5±2.99 ^b
钙	25.1±2.48 ^c	27.5±4.44 ^c	51.2±4.81 ^a	48.2±5.17 ^a	37.7±59.7 ^b	54.2±7.95 ^a
磷	29.0±1.76 ^b	34.1±2.89 ^b	45.3±5.78 ^a	44.5±6.03 ^a	14.5±7.00 ^c	19.4±1.04 ^c

注:同行肩标字母相邻表示差异显著($P<0.01$),相隔表示差异极显著($P<0.001$)。

干物质的消化率以中草药Ⅲ组最高,且与抗生素组、基础日粮组相比差异显著($P<0.01$)。中草药Ⅲ组比抗生素及组基础日粮组分别提高 4.60%($P<0.01$)和 7.63%($P<0.01$)。

粗脂肪消化率以中药Ⅳ最高,并与基础日粮组、中草药Ⅰ、Ⅱ组相比差异极显著($P<0.001$),比抗生素组及中草药Ⅲ高,但差异不显著,粗脂肪的消化率比基础日粮组提高 28.84%($P<0.001$);粗纤维消化率以中草药Ⅳ组最高,比抗生素组及基础日粮组提高 23.60% 和 42.79%,差异极显著($P<0.001$);钙的消化率,以中草药Ⅲ组最高,比抗生素组提高 35.81%($P<0.01$),但比基础日粮组要低但差异不显著,并且较其它中草药试验组高且差异显著;磷的消化率以中草药Ⅲ组最高,且与抗生素组、基础日粮组相比差异极显著($P<0.001$)。从试验结果可以看出,中草药添加组可以明显的提高蛋白质、粗脂肪、粗纤维等养分的消化率。

3 讨论

本研究结果显示,中草药组比抗生素组日粮中的干物质、粗蛋白、粗脂肪、粗纤维、钙以及磷的表观消化率有所提高。很多文献也都证实,中草药添加到家禽日粮中能够提高家禽对营养物质的消化率和利用

率,增强新陈代谢,促进血液循环,提高生长速度。方热军(2000)等报道,肉鸡日粮中添加中草药添加剂与抗生素相比,干物质消化率提高 2.28%,提高饲料转化率,中草药中含有的营养物质可以弥补饲料中一些营养成分的不足。康萍(2004)用马齿苋饲喂仔鸡,其采食量增加,增重快,饲料报酬高。此外,樊平(2003)试验证实,给 25 日龄商品代 AA 肉仔鸡添加鲜马齿苋 28 d 后,肉仔鸡增重提高 8.3%,发病率降低 2.5%,提高饲料利用率 5.8%,提高经济效益 16.9%,这些都从不同方面证实了中草药在添加到肉鸡日粮中对其生长性能及养分吸收都有积极促进的作用。瞿明仁等(2004)通过在乌骨鸡中添加中草药等添加剂的试验证明:中草药等各替代品添加剂组均比对照组显著提高对氮的表观消化率;且提高干物质消化率的趋势($P>0.05$)。张敏等(2007)将中草药混合合生素添加到肉鸡日粮中进行代谢试验证实,中草药试验 3 组干物质代谢率显著高于对照组;金霉素组、中草药试验 1 组、中草药试验 2 组粗脂肪代谢率极显著高于对照组,中草药试验 1 组粗纤维代谢率极显著高于金霉素和对照组;中草药试验 2 组粗纤维代谢率极显著高于对照组,显著高于金霉素组;中草药试验 1、2、3 组粗纤

维代谢率分别比金霉素和对照组高 23.64%、13.71%、6.31% 和 32.04%、21.44%、13.53%。该试验采用的与本研究同一抗生素(金霉素),得到的结论除了粗脂肪消化率与本研究试验结果有差异之外,其它指标与本研究结果大体相同。

中草药方剂添加到肉鸡日粮中,在消化道内代谢吸收,当中草药进入消化道后势必接触到消化道微生物,将影响消化道微生物区系,从而影响动物的消化代谢及生理健康状况。Guo 等(2003)通过基于 16S rDNA 的 DGGE (denaturing gradientgel electrophoresis, 变性梯度凝胶电泳) 技术用肉鸡盲肠食糜作为接种物与香菇、银耳和黄芪体外共培养发现,培养后微生物区系发生了明显的改变,这 3 种物质均能明显促进某些微生物的生长。刘红柏等(2004)将 5 种常用中草药板兰根等作为饲料添加剂饲喂鲤鱼,使得鲤鱼肠内细菌数增加,并对其组成产生影响,试验组出现了对照组所没有的芽孢杆菌属及棒杆菌属细菌,并且使优势菌群的组成发生了改变,芽孢杆菌属所占的比率也在 10% 以上,而气单胞菌属、弧菌属及肠杆菌科细菌数量则明显下降。本研究表明,饲料中添加中草药可明显改变肠道细菌组成及数量,使有益菌类增加,并抑制大部分条件致病菌的生长。因此,我们可以认为该中草药组方对营养物质消化率的提高可能与其添加改善了肉鸡微生物区系,提高了消化代谢能力,进而影响肉鸡对养分的吸收有关。

相关研究也表明,复方中药有效成分提取物,在体外能有效抑制对多种肠道疾患的致病菌,如大肠杆菌、沙门氏杆菌等细菌;同时改善家禽肠道内环境;并且促进有益菌的增殖,抑制有害菌的繁殖。本研究中草药方剂的提取物活性成分很复杂,其作用机制也不是很清楚,但是其富含氨基酸、果糖等物质,《中药大词典》记载马齿苋含有谷氨酸、天冬氨酸、丙氨酸、葡萄糖、果糖。这些物质都是能够促进有益菌的增殖。江志杰等(2005)选用芦根、马齿苋等 8 种中草药,检测其对双歧杆菌生长的影响,结果发现,浓度为 2% 的 8 种中草药均对双歧杆菌菌株 A04 具有一定的增殖作用,这可能是因为一般的植物药中广泛存在有多糖、寡糖及氨基酸类等物质。白头翁在临幊上能有效治疗慢性腹泻(刘竹凤等,2005),但唐燕红(2005)的研究表明,在体外,大肠杆菌、沙门氏菌对其并不敏感,因此白头翁在体内可能是通过别的途径间接作用于大

肠杆菌、沙门氏菌而不是直接作用的,或者是白头翁本身所含的活性物质并无药理活性,需在体内经过代谢后才能发挥药效。本研究的中草药方剂 1(白头翁、马齿苋、秦皮、大青叶)也根据其提取物对大肠杆菌体外试验的最低抑菌浓度的配制最佳比例,方剂 2 是根据对沙门氏菌体外试验的最低抑菌浓度配制最佳比例(王向荣等,2008),该中草药方剂含有多种天然植物有效成分能够改善家禽体内的环境、调整肠道微生物区系平衡、抑制有害菌种,因此,我们可以推断中草药组分消化率的提高与此有密不可分的联系。

本研究中草药方剂的提取物活性成分很复杂,其作用机制不是很清楚,对于它们的成分分析及药理作用很早就有研究,而其添加到日粮中对家禽营养物质消化代谢的影响及其它方面的影响报道甚少。马齿苋的化学成分研究始于 60 年代,有研究发现,马齿苋中主要含有生物碱、酚类、萜类以及有机酸等化合物,许多文献证实这些成分对于提高机体免疫、抑制细菌繁殖都起到一定的作用。肖培根等(2002)、刘丽梅等(2003)试验证明,正品秦皮中主要成分为香豆素类(秦皮甲素、秦皮乙素、秦皮苷、秦皮素等)。Sylvia H. 等(1998)通过试验证明秦皮甲素和乙素对内脏器官细菌具有抑制活性。肖培根等(2002)经过研究发现,秦皮煎剂对痢疾杆菌、绿脓杆菌、金黄色葡萄球杆菌、大肠杆菌均有抑制作用,秦皮乙素为其抗菌有效成分。

4 结论

从研究结果可以看出,中草药组无论是方剂 1、方剂 2,对粗蛋白、粗纤维、粗脂肪、干物质、钙、磷的消化率都较高,抗生素组次之,空白对照组最低。表明添加中草药添加剂能明显提高家禽日粮营养物质的消化率,其中方剂 2 对于提高肉鸡的营养物质消化率的影响效果最好。方剂 2 的添加能够显著提高肉鸡磷的消化率,从而减少粪磷的排放量,对于保障人们身体健康、改善生态环境也有积极的意义。在我国,本研究 4 种中草药(白头翁、马齿苋、秦皮、大青叶)资源极其丰富,价格低廉,但总的说来,开发的还很少,资源还未充分利用;全面认识它们的化学成分,研究其在家禽生产中的应用,为进一步开发及其质量控制提供依据。

(参考文献 12 篇, 列略, 需者可函索)

(编辑:王 芳, xfang2005@163.com)

小麦型饲粮中代谢能水平和木聚糖酶对肉鸡生产性能的影响

谭 权 张克英

研究表明,家禽日粮中添加木聚糖酶可提高日增重与饲料转化效率^[1-3]。木聚糖酶的作用效果受很多因素的影响,导致其应用中的差异很大。其中能量水平是影响木聚糖酶作用效果的重要因素之一。日粮营养水平不同,则木聚糖酶对日粮的改善幅度不同(周桂莲,2004;李昕,2006)^[4-5]。关于木聚糖酶的应用研究很多,但大都是基于特定日粮类型和特定营养水平下的研究,而对于能量水平、木聚糖酶之间交互作用对肉鸡生长性能影响的研究很少。本试验通过考查能量水平和木聚糖酶对肉鸡生长性能的影响,探讨它们之间的相互关系,为饲料配方中木聚糖酶的合理应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验采用 2×2 设计(见表1),即两种能量水平和两种木聚糖酶水平,试验共4个处理,每个处理6个重复,每个重复20只艾维茵肉公鸡。

表1 试验设计

项目	木聚糖酶水平(IU/kg)	处理分组
低代谢能	0	T1
	2 450	T2
高代谢能	0	T3
	2 450	T4

1.2 试验饲粮

基础饲粮按1~21、22~42 d两阶段配制。用小麦、豆粕为原料,配制低代谢能和高代谢能(低代谢能+0.418 4 MJ/kg)的两种饲粮,在每种饲粮中添加2个木聚糖水平(0、2 450 IU/kg)。营养水平参照NRC(1994)家禽营养需要并结合实际配制(见表2)。

1.3 试验动物及饲养管理

从温江正大畜禽公司购进1日龄艾维茵肉公鸡500只,从中选择480只随机分配到各重复。采用平

养,饲喂粉料,常规饲养管理。

1.4 酶制剂

试验用酶制剂为单一的木聚糖酶,由武汉新华扬生物有限公司提供,酶活为10 000 IU/g。酶活单位定义为:在40 °C、pH值5.0条件下,每分钟产生1 μmol还原糖所需酶量定义为1个酶活单位。

表2 饲粮配方及营养水平

项目	低代谢能饲粮		高代谢能饲粮	
	1~21 d	22~42 d	1~21 d	22~42 d
饲粮组成(%)				
小麦	69.54	75.72	64.32	70.93
豆粕	24.17	17.87	27.42	20.78
菜籽油	2.37	3.03	4.35	4.95
磷酸氢钙	1.71	1.39	1.72	1.40
碳酸钙	0.77	0.67	0.76	0.66
赖氨酸盐(78.8%)	0.33	0.39	0.30	0.35
蛋氨酸	0.15	0.07	0.17	0.07
食盐	0.40	0.30	0.40	0.30
多维	0.03	0.03	0.03	0.03
矿添	0.30	0.30	0.30	0.30
氯化胆碱	0.15	0.15	0.15	0.15
盐霉素(12%)	0.06	0.06	0.06	0.06
乙氧喹(30%)	0.03	0.03	0.03	0.03
营养水平				
代谢能(MJ/kg)	12.13	12.55	12.55	12.97
粗蛋白(%)	20.30	18.39	21.00	19.00
钙(%)	0.88	0.76	0.88	0.76
有效磷(%)	0.44	0.38	0.44	0.38
赖氨酸(%)	1.06	0.97	1.10	1.00
蛋氨酸(%)	0.48	0.37	0.50	0.38

注:1. 每千克饲粮中提供的微量元素和维生素为:Cu 10 mg、Fe 100 mg、

Mn 100 mg、Zn 100 mg、Se 0.2 mg、I 0.4 mg、VA 12 500 IU、

VD₃ 2 500 IU、VE 18.75 mg、VK 5 mg、VB₁ 2.5 mg、VB₂ 7.5 mg、

VB₆ 5 mg、叶酸 1.25 mg、VB₁₂ 0.025 mg、泛酸 15 mg、烟酸 50 mg;

2. 各饲粮 AME、粗蛋白、钙、有效磷、氨基酸含量均为计算值。

1.5 考察指标

日增重:分别在1、21、42日龄按重复称重,计算阶段增重。

采食量:按阶段记录各重复的采食量。

料肉比:根据各阶段增重和饲料消耗量计算各阶段料肉比。

1.6 数据处理与分析

使用Excel 2003和SPSS11.5分析软件进行T检

谭权,四川农业大学动物营养研究所,625014,雅安。

张克英,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2008-07-15

验和析因分析,结果用平均数±标准差表示。

2 结果

2.1 木聚糖酶对饲喂小麦型饲粮肉鸡生产性能的影响(见表3、表4)

表3 木聚糖酶对低代谢能小麦型饲粮肉鸡生长性能的影响

项目	前期(1~21 d)			后期(22~42 d)			全期(1~42 d)		
	F/G	WG(g/d)	FI(g/d)	F/G	WG(g/d)	FI(g/d)	F/G	WG(g/d)	FI(g/d)
T1	1.87±0.12 ^a	22.66±1.85 ^a	42.27±2.82 ^a	2.38±0.14 ^b	55.36±2.60 ^A	131.72±9.68 ^a	2.22±0.13 ^b	39.02±2.21 ^A	86.67±5.95 ^a
T2	1.75±0.13 ^a	25.60±2.51 ^b	44.65±3.35 ^a	2.21±0.10 ^a	61.59±2.89 ^b	135.73±7.25 ^a	2.06±0.09 ^a	43.68±1.32 ^b	89.98±4.57 ^a

注:同列肩注不同小写字母者表示差异显著($P<0.05$),不同大写字母者表示差异极显著($P<0.01$);下表同。

从表3可知,对于低代谢能小麦型饲粮,添加木聚糖酶使肉鸡前期、后期和全期的料肉比分别降低6.42%($P>0.05$)、7.14%($P<0.05$)和7.21%($P<0.05$),使

前期、后期和全期的日增重分别提高12.97%($P<0.05$)、11.25%($P<0.01$)和11.95%($P<0.01$),对前期、后期和全期日采食量没有显著影响,但有提高的趋势。

表4 木聚糖酶对高代谢能小麦型饲粮肉鸡生长性能的影响

项目	前期(1~21 d)			后期(22~42 d)			全期(1~42 d)		
	F/G	WG(g/d)	FI(g/d)	F/G	WG(g/d)	FI(g/d)	F/G	WG(g/d)	FI(g/d)
T3	1.80±0.05 ^b	24.44±1.13 ^a	44.06±2.48 ^a	2.18±0.05 ^a	57.02±3.04 ^A	123.93±6.13 ^a	2.06±0.03 ^a	40.73±1.59 ^A	83.93±2.93 ^a
T4	1.70±0.08 ^a	26.16±1.23 ^b	44.57±3.18 ^a	2.13±0.11 ^a	62.41±2.60 ^B	132.29±3.43 ^b	2.00±0.09 ^a	44.29±1.73 ^B	88.32±2.84 ^b

从表4可知,对于高代谢能的小麦型饲粮,添加木聚糖酶使肉鸡前期、后期和全期的料肉比分别降低5.56%($P<0.05$)、2.29%($P>0.05$)和2.91%($P>0.05$),使前期、后期和全期的日增重分别提高7.04%($P<0.05$)、9.45%($P<0.01$)和8.74%($P<0.01$),使前期、后期和全期日采食量分别提高1.16%($P>0.05$)、6.75%($P<0.05$)和5.23%($P<0.05$)。

2.2 能量水平和木聚糖酶对肉鸡生产性能的影响(见

表5)

从表5的分析结果可知,与低代谢能对照组相比,随着代谢能水平提高,肉鸡生产性能也提高,使前期、后期和全期的料肉比分别降低3.32%($P>0.05$)、6.11%($P<0.01$)和5.14%($P<0.01$),使前期、后期和全期日增重分别增加4.85%($P>0.05$)、2.12%($P>0.05$)和2.81%($P>0.05$),使后期和全期的采食量分别降低4.2%($P>0.05$)和2.5%($P>0.05$)。

表5 能量水平和木聚糖酶对肉鸡生长性能的影响

项目	前期(1~21 d)			后期(22~42 d)			全期(1~42 d)		
	F/G	WG(g/d)	FI(g/d)	F/G	WG(g/d)	FI(g/d)	F/G	WG(g/d)	FI(g/d)
低代谢能	1.81±0.13	24.13±2.60	43.46±3.2	2.29±0.15	58.47±4.18	133.72±8.42	2.14±0.14	41.35±2.99	88.33±5.34
高代谢能	1.75±0.08	25.30±1.44	44.31±2.73	2.15±0.08	59.71±3.9	128.11±6.44	2.03±0.07	42.51±2.44	86.13±3.58
不加酶	1.84±0.09	23.55±1.73	43.16±2.70	2.28±0.15	56.19±2.83	127.83±8.73	2.14±0.12	39.87±2.04	85.30±4.69
加酶	1.73±0.11	25.88±1.91	44.61±3.11	2.16±0.11	62.00±2.66	134.01±5.70	2.03±0.09	43.98±1.50	89.15±3.73
析因分析值	P	P	P	P	P	P	P	P	P
代谢能水平	0.176	0.121	0.492	0.003	0.288	0.063	0.007	0.119	0.222
木聚糖酶	0.015	0.004	0.247	0.014	0.000	0.042	0.006	0.000	0.039
代谢能×酶	0.812	0.409	0.452	0.160	0.716	0.456	0.203	0.449	0.761

2.3 能量水平和木聚糖酶的交互作用

从表5的析因分析结果可知,能量水平极显著影响后期和全期的料肉比($P<0.01$),木聚糖酶除了对肉鸡前期日采食量没有显著影响外,均显著($P<0.05$)或极显著($P<0.01$)影响肉鸡各阶段的料肉比、日增重和日采食量。交互效应分析表明,能量水平和木聚糖酶对肉鸡各阶段的生产性能指标没有显著的交互效应($P>0.05$)。

3 讨论

3.1 木聚糖酶对肉鸡生长性能的影响

相对玉米而言,小麦的代谢能值低,且变异较大,因此饲喂效果差且不稳定^[3]。究其根本原因是由于小麦含有大量的非淀粉多糖(主要是木聚糖)。木聚糖通过阻止胞内养分释放,增加食糜粘度,阻碍饲料营养物质与消化液的接触,增加肠道不动水层厚度,使消化器官代偿性增大,增加内源损失,影响消化道生理

活性物质的活性,改变肠道正常结构,破坏微生态平衡等,最终影响养分的消化吸收和动物的生长性能(谭权,2008)^[6]。

木聚糖酶通过降解饲粮中木聚糖从而消除木聚糖的抗营养作用,提高动物的生产性能。木聚糖酶在家禽养殖中的应用研究很多,主要集中于小麦型肉鸡日粮中。Brenes等(1993)^[7]研究表明,小麦基础饲粮中添加木聚糖酶和 β -葡聚糖酶的复合酶制剂使肉鸡日增重提高了32.8%,饲料转化效率提高了7%。程伟(1996)^[8]于小麦型饲粮中添加0.1%木聚糖酶,提高了0~4周龄肉鸡日增重10.9%(P<0.01)和饲料转化率3.18%(P<0.05)。高峰等(2000)^[9]于肉鸡小麦基础饲粮中添加主要含木聚糖酶的粗酶制剂0.05%~0.5%,使肉鸡增重提高6.7%~9.1%(P<0.01),料重比降低2.9%~9.9%(P<0.01)。王金全(2004)^[10]报道,小麦日粮加木聚糖酶后平均日增重提高9.12%(P<0.05),饲料转化效率提高10.87%(P<0.05)。谭权等(2008)^[11]向小麦基础饲粮中添加1 224、2 449、3 673 IU/kg木聚糖酶,使肉鸡全期料肉比分别降低7.67%(P<0.01)、7.21%(P<0.01)、4.05%(P>0.05),全期日增重分别提高10.23%(P<0.01)、11.94%(P<0.01)、10.38%(P<0.01),对全期日采食量没有显著影响。本试验表明,木聚糖酶除了对肉鸡前期日采食量没有显著影响外,均显著(P<0.05)或极显著(P<0.01)影响肉鸡各阶段的料肉比、日增重和日采食量。

3.2 能量水平对肉鸡生长性能的影响

一般来讲,肉鸡生长性能随饲粮能量水平的提高而提高。周桂莲等(2004)^[12]研究表明,随饲粮代谢能升高,试鸡平均日增重有增加趋势,平均日采食量有降低趋势,而饲料转化率得到极显著改善(P<0.01)。李昕等(2006)^[13]研究表明,低能饲料显著降低0~3周和全期肉鸡体增重,料肉比显著高于高能量对照组。本试验表明,能量水平提高,肉鸡生长性能也提高。与低能对照组相比,提高饲粮代谢能水平,肉鸡前期、后期和全期的料肉比分别降低3.32%(P>0.05)、6.11%(P<0.01)和5.14%(P<0.01),各阶段的日增重也有所提高(P>0.05)。

3.3 代谢能水平对木聚糖酶作用效果的影响

日粮营养水平也是影响酶制剂作用效果的因素,一般来说,日粮营养水平越高,加酶效果越差。关于代谢能水平对木聚糖酶作用效果的影响的报道不多,很多研究都是设置一个高能对照组,并未设置高能加酶组。本试验表明,木聚糖酶对低能饲粮组肉鸡生产性能提高幅度大于高能组。木聚糖酶使低、高能量水平组肉鸡全期日增重分别提高11.95%(P<0.01)、8.74%(P<

0.01)。木聚糖酶能提高饲粮的表观代谢能值,但这并不意味着高能饲粮就不需要添加木聚糖酶,尤其是在饲粮中能量水平和木聚糖含量很高的情况下,添加木聚糖酶显得尤为重要,因为木聚糖酶对脂肪消化吸收有重要的影响(Vahouny, 1981)^[12]。Danicke(1999b)^[13]研究表明,脂肪类型对木聚糖酶作用效果具有显著的影响。本试验条件下,木聚糖酶和能量水平之间没有显著的交互效应。

4 结论

能量水平极显著影响后期和全期的料肉比(P<0.01);木聚糖酶除了对肉鸡前期日采食量没有显著影响外,均显著(P<0.05)或极显著(P<0.01)影响肉鸡各阶段的料肉比、日增重和日采食量;能量水平与木聚糖酶对肉鸡各阶段生产性能指标的影响没有显著的交互效应(P>0.05)。

参考文献

- [1] 彭玉麟.木聚糖酶在肉仔鸡小麦日粮中的应用及其作用机理的研究[D].北京:中国农业大学,2003.
- [2] Marquardt R R, Brenes A, Zhang Z, et al. The use of enzymes to improve nutrient availability in poultry feed stuffs [J]. Animal Feed Science Technology, 1996, 60: 321-330.
- [3] 明根·朝格图,汪敬.非淀粉多糖及其对家禽的抗营养作用[J].动物营养学报,1996,8(2):1-13.
- [4] 周桂莲,林映才,蒋守群,等.饲粮代谢能水平对22~42日龄黄羽肉鸡生长性能、胴体品质以及部分血液生化指标影响的研究[J].饲料工业,2004(3):35-38.
- [5] 李昕,呙于明.日粮能量和L-肉碱水平对肉鸡生长性能和腹水综合症敏感性指标的影响[J].中国畜牧杂志,2006,42(19):36-37.
- [6] 谭权.木聚糖的抗营养作用[J].中国家禽,2008,30(12).
- [7] Brenes A, M. Smith, W. Guenter, et al. Effect of enzyme supplementation on the performance and digestive tract size of broiler chickens fed wheat-and barley-based diets[J]. Poult. Sci., 1993,72: 1 731-1 739.
- [8] 程伟.玉米-小麦型饲料添加戊聚糖酶对肉鸡生产性能的影响[J].河南农业科学,1996(2):33-35.
- [9] 高峰,周光宏,韩正康.小麦基础日粮添加酶制剂对肉仔鸡生产性能和血液某些指标的影响[J].南京农业大学学报,2000,23(4): 71-75.
- [10] 王金全.小麦非淀粉多糖的抗营养机理及木聚糖酶在肉仔鸡小麦日粮中的应用研究[D].中国农业科学院,2004.
- [11] 谭权,张克英.木聚糖酶水平与肉鸡生产性能的关系[J].饲料工业,2008,29(14):17-19
- [12] Vahouny G, R. Tombes, M. M. Cassidy, et al. Dietary fibers. VI. Binding of fatty acids and monolein from mixed micelles containing bile salts and lecithin[J]. Proc. Soc. Exp. Biol. Med, 1981,166 (1): 12-16.
- [13] Danicke S, Jeroch H, Böttcher W, et al. Effects of dietary fat type, pentosan level and xylanases on digestibility of fatty acids, liver lipids and vitamin E in broilers[J]. Fett/Lipid, 1999b,101:90-100.

(编辑:沈桂宇,guiyush@126.com)

中性蛋白酶制剂包埋研究

胡云红 张强 马齐

摘要 用海藻酸钠、单硬脂酸甘油酯作壳材料,氯化钙作固化剂,对中性蛋白酶制剂进行了包埋研究,结果表明,在100 ml、0.7%的海藻酸钠溶液中加入0.5 g单硬脂酸甘油酯,10 g中性蛋白酶粉,滴入1%的氯化钙溶液中固化5 min,经干燥、涂膜能明显提高抗胃蛋白酶分解能力和耐胃酸能力。

关键词 中性蛋白酶;包埋;能力

中图分类号 Q814.2

研究表明添加酶制剂可以提高家禽生产性能,降低饲料成本,减少环境污染,提高蛋品质等。酶制剂作为绿色饲料添加剂,使用越来越广泛,国外甚至已将酶作为家禽日粮的常用成分。但饲用酶制剂本质是蛋白质,pH值苛刻,酶易失活,易被胃内蛋白酶分解。将酶制剂进行包埋后,能提高酶制剂的抗酸性和耐高温能力。

在pH值小于4.0时中性蛋白酶基本上不表达活性,而家禽的腺胃和肌胃内pH值在2.5~4.0之间。为提高中性蛋白酶在饲喂过程中的利用率,我们对饲用中性蛋白酶包埋进行了研究。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 中性蛋白酶来源及缓冲溶液的配制

中性蛋白酶是陕西省科学院酶工程研究所的发酵液经喷雾干燥产品(100 000 U/g)。磷酸缓冲溶液(pH值7.5):称取6.02 g磷酸氢二钠(Na₂HPO₄·12H₂O)和0.5 g磷酸二氢钠(NaH₂PO₄·2H₂O),加蒸馏水溶解并定容至1 000 ml。

1.1.2 显色剂制备

于500 ml回流装置中加入钨酸钠(Na₂WO₄·2H₂O)10 g、钼酸钠(Na₂MoO₄·2H₂O)2.5 g、水70 ml、85%磷酸5 ml、浓盐酸10 ml,小火沸联回流10 h,取下回流冷却器,在通风橱中加入硫酸锂(Li₂SO₄)5 g、水5 ml和数滴浓溴水(99%),再微沸15 min,以除去多余的溴,冷却,加水定容至100 ml。混匀,过滤。制得的试剂应

呈金黄色。

使用时,应将上述溶液与两份水混合,摇匀后再使用。

1.2 试验方法

1.2.1 酶活性检测方法

取试管A(空白)、试管B(3个平行样)。在试管A中加入酶液1.00 ml,(30±0.2)℃水浴2 min后加三氯乙酸2.00 ml(摇匀),(30±0.2)℃水浴10 min后加1%酪素溶液1.00 ml,静置10 min;取滤液1.00 ml,加0.4 mol/l碳酸钠溶液5.00 ml、显色剂1.00 ml,(30±0.2)℃水浴显色20 min,于680 nm波长处测其吸光度。在试管B中加入酶液1.00 ml,(30±0.2)℃水浴2 min后加1%酪素溶液1.00 ml,(30±0.2)℃水浴10 min后加三氯乙酸2.00 ml(摇匀),静置10 min,取滤液1.00 ml,加0.4 mol/l碳酸钠溶液5.00 ml、显色剂1.00 ml,(30±0.2)℃水浴显色20 min,于680 nm波长处测其吸光度。

1.2.2 酪氨酸标准曲线的制作

精确称取干燥至恒重的L-酪氨酸0.100 0 g,用盐酸溶解定容至100 ml。取6支试管,用0.1 mol/l盐酸配制出的20、30、40、50、60、70 μl/ml的L-酪氨酸标准液。各取1.00 ml上述标准液,各加0.4 mol/l碳酸钠溶液5.00 ml、显色剂1.00 ml,置于(40±0.2)℃水浴中显色20 min。分光光度计680 nm处显色。

1.2.3 酶制剂的包埋方法

A:取1%的海藻酸钠溶液100 ml,加入10 g蛋白酶,搅匀,用注射器滴入2%氯化钙溶液中固化5 min,取出晾干。

B:取1%的海藻酸钠溶液100 ml,加入0.7%的单硬脂酸甘油酯,溶解,加入10 g蛋白酶,搅匀,用注射器滴入2%氯化钙溶液中固化5 min,取出晾干。

C:取1%的海藻酸钠溶液100 ml,加入0.7%的单硬脂酸甘油酯,溶解,加入10 g蛋白酶,搅匀,用注射器滴入2%氯化钙溶液中固化5 min,取出晾干,涂肠溶膜。

胡云红,陕西省科学院酶工程研究所,710600,西安市临潼区人民东路16号。

张强,陕西省酿造发酵产品质量监督检验站。

马齐,陕西省酶工程技术中心。

收稿日期:2008-09-08

★ 国家星火计划项目《4PCA 饲料添加剂生产性示范》编号:2007EA850003

1.2.4 酶制剂的活性评价方法

由于包埋方法不一样,制得酶样品单位重量的原酶含量不一样。为统一标准,先计算每种方法的原酶制剂百分含量 a , 每次检测称取样品的质量计为 m , 每次样品检测总活力计为 U 。单位比活力(U/g)= $U/(m \times a)$ 。

2 结果与分析

2.1 包埋方法对酶活性影响试验

用 3 种方法制得的包埋样品与原酶样活性分析结果如图 1。酶经过包埋后,活性均下降了 20%左右。而 3 种包埋法对酶的损失率相差不大,其中 B、C 法略大。酶活性损失主要在海藻酸钠-蛋白酶混合物在氯化钙溶液固化过程中,酶分子溶入氯化钙溶液,因而在生产中应缩短固化时间。从 A、B、C 3 种方法制得的包埋酶活性相当来看,海藻酸钠加单硬脂酸甘油酯作壳材并不影响酶的活性;涂肠溶膜亦不太影响酶的活性。

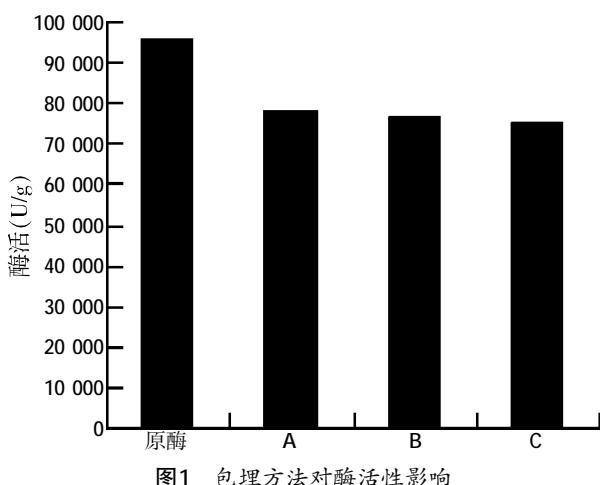


图 1 包埋方法对酶活性影响

2.2 不同包埋方法的酶制剂对抗酸性、抗分解性的影响(见图2)

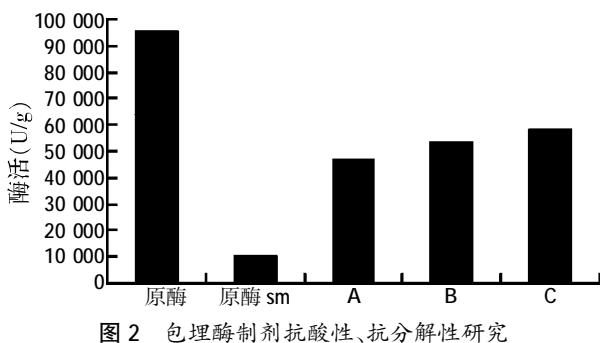
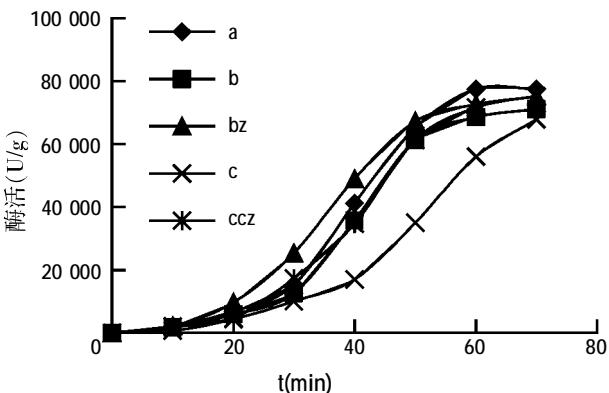


图 2 包埋酶制剂对抗酸性、抗分解性研究

将酶制剂加至 95 ml 0.01 mol/l 盐酸溶液中,同时加入 100 U/ml 的胃蛋白酶 5.00 ml,保持 60 min,检测酶活力如图 2。原酶经加有胃蛋白酶的盐酸溶液浸泡

60 min 后,酶活力下降至原来的 10%左右。而经过包埋的酶活力是原酶的 50%~60%。C 法经涂肠溶膜虽在图 1 中显示的活性最低,但经过加有盐酸胃蛋白酶的盐酸溶液浸泡 60 min 后,活力最高。

2.3 包埋方法对酶活性释放的影响(见图 3)



注: a 为方法 A 得到的样品在缓冲液中的释放曲线; b 为方法 B 得到的样品在缓冲液中的释放曲线; bz 为方法 B 得到的样品在缓冲液中添加胰脂肪酶的释放曲线; c 为方法 C 得到的样品在缓冲液中的释放曲线; ccz 为方法 C 得到的样品在缓冲液中添加肠液和胰脂肪酶的释放曲线。

图 3 不同包埋方法对酶活性释放的影响

从图 3 可看出,3 种包埋方法得到的样品在缓冲溶液中轻轻搅拌,在 60 min 后基本上能达到最大释放量。方法 B 得到的样品在缓冲液中添加胰脂肪酶的释放速度比不添加胰脂肪酶的速度略有提高。这说明胰脂肪酶能部分分解壳材中的单硬脂酸甘油酯,加快壳材崩解,从而加快酶的释放。C 法得到的样品加入肠液和胰脂肪酶的释放速度明显提高,这表明肠液能明显溶解肠溶膜,使壳材裸露于缓冲液中,再加上胰脂肪酶的作用,60 min 后基本能接近最大释放量。

3 结论

经初步研究得出:100 ml 0.7% 的海藻酸钠溶液中加入 0.5 g 单硬脂酸甘油酯、10 g 中性蛋白酶粉,滴入 1% 的氯化钙溶液中固化 5 min,晾干得到的包埋酶抗胃蛋白酶分解能力明显增强,耐酸能力也明显增强。在试验操作过程中发现,在氯化钙溶液中固化时间不宜过长,以免酶分子扩散到溶液中过多,影响包埋率。

参考文献

- [1] 姚建国,周岩民,李如治.外源酶对家禽内源消化酶活性影响的研究进展[J].粮食与饲料工业,2002(7):32-34.
- [2] 尹清强,张书锋,冯华,等.植酸酶包埋后酶活和热稳定性变化规律研究[J].饲料研究,2006(11):4-6.
- [3] 郑腾,李昂.家禽消化道酶发育及分泌规律的研究进展[J].饲料工业,2004,25(11):41-44. (编辑:沈桂宇,guiyush@126.com)

饲料中脂肪含量对翘嘴红鲌幼鱼生长的影响

向泉 陈建 周兴华 段彪

摘要 试验设计6种等氮、等能饲料,研究不同脂肪水平对翘嘴红鲌生长、饲料利用及体组成成分的影响。试验选用平均初始体重为(19.36 ± 2.17)g的翘嘴红鲌,随机分为6个处理组,每组设3个重复每组30尾。试验采用单因素设计,以鱼油为脂肪源,用添加不同水平鱼油(添加量分别为0%、2%、4%、6%、8%、10%)的饲料喂养翘嘴红鲌,试验期60d。结果表明,饲料中脂肪含量为7.14%时,试验鱼的特定生长率最大(1.34%/d)、饵料系数最低(1.25),均与饲料脂肪含量为9.26%,但与其余各试验组的差异显著($P<0.05$);蛋白效率在饲料中脂肪含量为9.26%时最大,与饲料中脂肪含量为7.14%时无明显差异($P>0.05$),而与其余各试验组的差异显著($P<0.05$);饲料脂肪含量对翘嘴红鲌体脂肪、蛋白质含量的影响显著($P<0.05$),对翘嘴红鲌体水分和灰分含量无显著影响($P>0.05$)。用折线回归模型分析饲料脂肪添加量与翘嘴红鲌特定生长率、饲料蛋白效率及饵料系数的变化关系表明,本试验中翘嘴红鲌饲料中脂肪的适宜含量为7.14%~9.26%。

关键词 翘嘴红鲌;脂肪;生长;饵料系数

中图分类号 S965.123

翘嘴红鲌(*Erythrocultur ilishaformis*)属鲤形目,鲤科,鮈亚科,是“太湖三白”之一。陈建明等测定表明,翘嘴红鲌肌肉蛋白质、氨基酸含量丰富,为鱼中上品。近年来,由于人工繁殖和育苗技术的成熟,人们已开始翘嘴红鲌成鱼的养殖。王桂芹等、陈建明等对不同规格的翘嘴红鲌饲料中所需要的适宜蛋白质含量进行了研究,但关于翘嘴红鲌对饲料脂肪需要量的报道较少。脂肪是水产动物维持生命活动的主要能源物质,它既是脂溶性维生素的载体,也是构成其机体组织的要素。脂肪在消化器官内被消化酶分解为脂肪酸和甘油而被吸收。一部分脂肪酸和甘油吸收后合成为体脂肪保存于组织中,一部分变为热能供给机体活动的需求。添加适量脂肪既能增加水产动物的能量来源;也可满足水产动物对脂肪酸的需要,改善饲料的适口性。本试验采用梯度法,研究了翘嘴红鲌饲料中最适的脂肪水平,为确定其营养标准和饲料配方提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验鱼

翘嘴红鲌(*Erythrocultur ilishaformis*)为黑水渔场当年孵化的同一批鱼苗。体重为(19.36 ± 2.17)g/尾。体

长为(11.04 ± 0.52)cm。选择体质健壮的鱼种600尾,用5%的食盐水消毒后暂养备用。

1.2 试验饲料

参照NRC(1994)鱼类营养需要设计配方(见表1),以鱼粉、豆粕等为蛋白源,鱼油为脂肪源,饲料原料均过40目筛,鱼油的添加水平分别为0%、2%、4%、6%、8%和10%(Diet1~Diet6)。配制成6种为等氮(蛋白质含量为40%)、等能量(16.21 MJ/kg)试验饲料。经充分混合后加工成2mm的硬颗粒饲料,烘干并保存于冰箱中备用。

表1 试验饲料配方及营养水平(风干基础)

项目	Diet1	Diet2	Diet3	Diet4	Diet5	Diet6
原料(%)						
鱼粉	30	30	30	30	30	30
豆粕	28	28	28	28	28	28
菜粕	25	25	25	25	25	25
面粉	13	11	9	7	5	3
鱼油	0	2	4	6	8	10
维生素添加剂	1	1	1	1	1	1
矿物质添加剂	2	2	2	2	2	2
磷酸二氢钙	1	1	1	1	1	1
营养水平						
粗蛋白(%)	40.37	40.09	40.26	40.41	40.66	40.57
粗脂肪(%)	2.07	4.28	7.14	9.26	11.17	15.32
能量(MJ/kg)	15.84	16.16	16.09	16.41	16.33	16.15

注:1. 每千克饲料含:VA 8 000 IU、VD 900 IU、VE 2 IU、VK 4 mg、VB₁ 4 mg、尼克酸 20 mg、氯化胆碱 160 mg、泛酸 7 mg、VB₆ 0.2 mg、VB₁₂ 5 mg;

2. 每千克饲料含:Mn 70 mg、Zn 60 mg、Fe 60 mg、Cu 2 mg、I 1 mg。

1.3 试验设计

暂养7d后,选择健康无伤病的翘嘴红鲌随机分

向泉,西南大学荣昌校区水产系,副教授,402460,重庆荣昌。

陈建、周兴华、段彪,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2008-08-04

★ 西南大学青年基金项目

为 18 个组,每组 30 尾,分别投入 1~18 号试验鱼池($1 \times 1 \text{ m}^3$)中。分为 6 个试验组,分别投喂不同脂肪添加水平的试验饲料,每个试验组设 3 个平行组。养殖时间为 60 d,试验期间水温为 15~20 °C,每天坚持“定点、定时、定质、定量”投喂饲料,并保持微流水;各试验池水体每天的交换量为 30%。试验结束时停食 1 d,对各组的试验鱼进行常规测定。试验结束时,每组随机抽出 5 尾鱼,用纱布擦干鱼体表水分,分别标记。称重后用保鲜膜密封置于-20 °C 的冰箱内,保存 24 h 后取出于常温下解冻,解冻之后用纱布擦干分别称重。且在各试验池中随机抽取 10 尾试验鱼进行解剖,进行生化分析。

1.4 试验指标计算

鱼体生长及饵料效率的测定分析

$$\text{特定生长率(}SGR\text{)(%/d)} = (\ln W_t - \ln W_0) / t \times 100;$$

$$\text{饵料系数(}FCR\text{)} = F / (W_t - W_0);$$

$$\text{蛋白质效率(}PER\text{)(\%)} = (W_t - W_0) / F \cdot P \times 100;$$

$$\text{肌肉渗出性损失(}EML\text{)(\%)} = (W_1 - W_2) / W_1 \times 100.$$

其中: W_0 —试验开始时鱼体重(g); W_t —试验结束时鱼体重(g); F —饲料摄入量(g); P —饲料中粗蛋白含量(%); t —养殖试验天数(d); W_1 —试验结束后所抽取的鱼冰冻前的鱼体重(g); W_2 —试验结束后所抽取的鱼在-20 °C 下冰冻后再在常温下解冻后的鱼体重(g)。

1.5 统计分析

采用 SPSS 13.0 for windows 对数据进行单因素方差分析(One-way ANOVA),若达到显著差异,则进行 Duncan's 多重比较,显著水平为 $P < 0.05$ 。以 3 次多项式来拟合特定生长率(SGR)、饵料系数(FCR)、蛋白效率(PER)与饲料中脂肪含量之间的相关关系。

2 结果与分析

2.1 脂肪含量对翘嘴红鲌鱼体生长的影响(见表 2)

表 2 不同脂肪含量对翘嘴红鲌的生长效果的影响(平均数±标准误差)

组别	初始尾重(g)	终末尾重(g)	特定生长率(%/d)	饵料系数	蛋白质效率(%)	肌肉渗出性损失(%)
Diet1	19.64±0.29	36.64±0.64 ^c	1.04±0.04 ^a	2.67±0.04 ^a	1.32±0.03 ^d	4.52±0.04 ^c
Diet2	19.44±0.62	38.59±1.10 ^{bcd}	1.15±0.04 ^c	2.26±0.06 ^b	1.59±0.08 ^c	4.78±0.03 ^c
Diet3	19.20±0.67	42.88±1.30 ^a	1.34±0.02 ^a	1.25±0.09 ^d	1.86±0.06 ^{ab}	5.19±0.03 ^b
Diet4	18.62±0.44	40.22±0.62 ^{ab}	1.29±0.04 ^{ab}	1.38±0.08 ^d	2.02±0.07 ^a	5.26±0.02 ^b
Diet5	19.11±0.46	39.58±0.87 ^b	1.21±0.03 ^b	1.95±0.07 ^c	1.73±0.08 ^{bc}	5.35±0.18 ^b
Diet6	19.15±0.43	37.68±0.82 ^{bcd}	1.13±0.05 ^c	2.42±0.07 ^b	1.19±0.04 ^d	5.72±0.20 ^a

注:同一列数据中肩标不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

由表 2 可知,Diet3(脂肪含量为 7.14%)中试验鱼特定生长率最大,为 1.34 %/d,饵料系数最低(1.25),与 Diet4(脂肪含量为 9.26%)中试验鱼的特定生长率(1.29%/d)、饵料系数(1.38)差异不显著($P > 0.05$),但均与其余各试验组差异显著($P < 0.05$);而蛋白效率则在 Diet4(脂肪含量为 9.26%)时最高(2.02%),与 Diet3(脂肪含量为 7.14%)中试验鱼的蛋白效率(1.86%)相比差异不显著($P > 0.05$),但显著高于其余各试验组($P < 0.05$);试验鱼体中的肌肉渗出性损失则随着饲料中脂

肪含量的增加而逐渐增大。

2.2 脂肪含量对翘嘴红鲌鱼体组成的影响(见表 3)

由表 3 可知,Diet3 中试验鱼体粗蛋白含量为 17.19%,与 Diet2 中鱼体粗蛋白含量 17.06% 差异不显著($P > 0.05$),但显著高于其余各试验组($P < 0.05$)。试验鱼体中粗脂肪含量随饲料中脂肪含量的增加而上升,但在 Diet1、Diet2、Diet3 之间差异不显著($P > 0.05$),且显著的低于其余各试验组($P < 0.05$),饲料脂肪的含量对试验鱼体中水分和粗灰分含量均无显著的影响($P > 0.05$)。

表 3 不同脂肪含量对翘嘴红鲌鱼体组成的影响(平均数±标准误差)(%)

项目	初始鱼体	组别					
		Diet1	Diet2	Diet3	Diet4	Diet5	Diet6
水分	81.06±0.10 ^a	80.97±0.14 ^a	80.85±0.25 ^a	80.78±0.07 ^a	81.12±0.13 ^a	80.91±0.14 ^a	80.73±0.04 ^a
粗蛋白	16.84±0.02 ^{de}	16.97±0.11 ^{bcd}	17.06±0.04 ^{ab}	17.19±0.07 ^a	17.02±0.02 ^{bc}	16.88±0.14 ^{cde}	16.81±0.10 ^e
粗脂肪	2.34±0.07 ^e	2.43±0.05 ^{de}	2.49±0.03 ^{de}	2.54±0.02 ^d	2.87±0.04 ^c	3.15±0.03 ^b	3.42±0.03 ^a
灰分	1.19±0.01 ^a	1.13±0.01 ^b	1.10±0.03 ^b	1.09±0.02 ^b	1.06±0.01 ^b	1.08±0.04 ^b	1.05±0.02 ^b

注:同行数据中肩标不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

2.3 翘嘴红鲌主要生长指标与饲料中脂肪含量的回归关系

分别以试验过程中翘嘴红鲌的特定生长率、饵料系数、饲料蛋白质效率为因变量(Y),以饲料中脂肪含

量作为自变量(X)的回归方程分别为:

特定生长率与饲料脂肪含量的回归方程:

$$Y=0.400 \times 10^{-3} X^3 - 0.015 X^2 + 0.162 X + 0.744 (r=0.936, P<0.05);$$

饲料系数与饲料脂肪含量的回归方程:

$$Y=-1.500 \times 10^{-3} X^3 + 0.064 X^2 - 0.743 X + 4.066 (r=0.923, P<0.05);$$

蛋白质效率与饲料脂肪含量的回归方程:

$$Y=-0.200 \times 10^{-3} X^3 - 0.009 X^2 + 0.216 X + 0.902 (r=0.978, P<0.05)。$$

其回归曲线见图1、2、3。

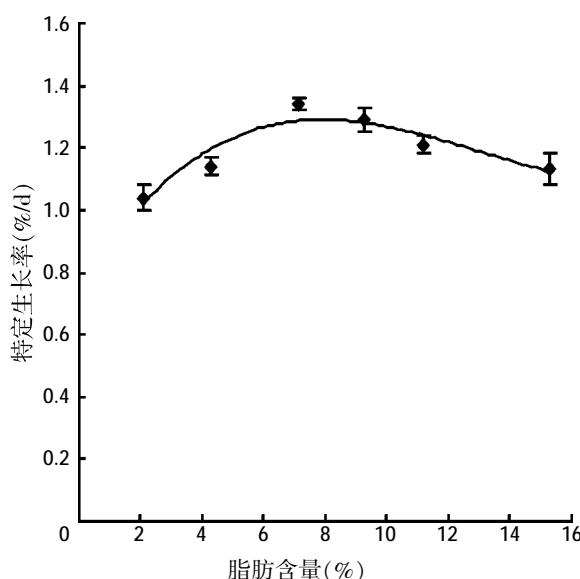


图1 翘嘴红鲌特定生长率与饲料脂肪含量的关系

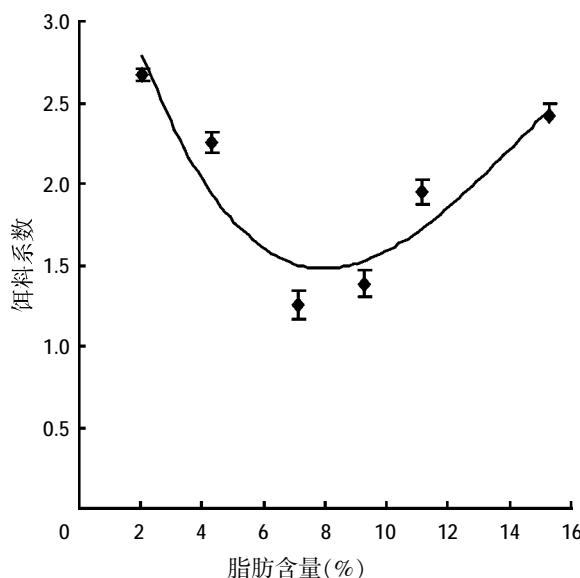


图2 翘嘴红鲌饲料系数与饲料脂肪含量的关系

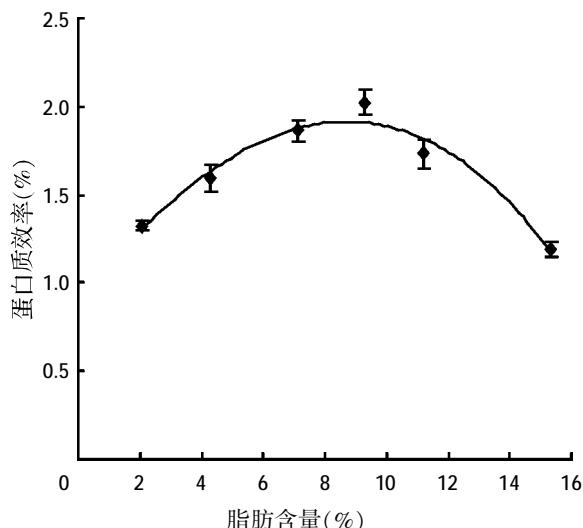


图3 翘嘴红鲌饲料的蛋白质效率与饲料脂肪含量的关系

3 讨论

脂肪是维持机体正常生长和发育的重要能量和脂肪酸来源。当机体需要时,贮存在脂肪细胞中的脂肪被脂肪酶逐步水解为游离脂肪酸和甘油,并释放入血液而被其它组织氧化利用。与陆生动物相比,水产动物有将近一半的能量需求是从饲料蛋白中获取的。当饲料中脂肪含量不足时,用于其生长的蛋白质将被用作能源以维持鱼类的生存。因此,在饲料中添加适量油脂以提高脂肪含量,将有助于提高蛋白质的利用效率,促进鱼类的生长,具有节约蛋白质,增加摄食量,提高饲料效率等效果。Takeuchi等发现,真鲷饲料中的脂肪含量从15%增加到20%,那么蛋白质的含量从48%下降到35%,对鱼类的生长没有任何影响。海水鱼对饲料中含有0.8%~2.0%的EPA和DHA时有良好的生长反映。本试验中在饲料蛋白含量一定的情况下,当饲料中脂肪含量从2.07%增加7.14%时,不但试验鱼的特定生长率逐渐增大,各试验组中鱼体肌肉中粗蛋白的含量也从16.97%增加到17.19%,且差异显著($P<0.05$),而此时试验鱼体粗脂肪的含量虽也呈增加趋势,但差异不显著($P>0.05$),这说明饲料脂肪在一定范围内增加时,使饲料脂肪作为能量释放供给鱼体活动需要,而饲料脂肪则最大限度地参与机体的合成代谢,增加体蛋白。

虽然脂肪是水产动物体内重要的贮能物质,但饲料中脂肪含量过高会引起消化能和粗蛋白之间比例的不平衡,以及脂肪在肝脏和组织中的积累而使鱼体肌肉质量下降,还导致鱼体生长减慢和饲料利用率降低。且饲料中的脂肪含量过高也会增加加工、贮存的

复方中草药对凡纳滨对虾生长、肌肉营养成分和抗病力的影响

汤菊芬 陆志款 彭卫正 汤燕萍

摘要 试验在饲料中添加0.05%、1%、1.5%、2%的自制复方中草药制剂,饲养体重为(1.21±0.08)g的凡纳滨对虾7周,以研究不同添加量对凡纳滨对虾生长、肌肉营养组分和抗病力的影响。试验结果表明,试验组凡纳滨对虾的增重率、成活率、饲料系数、蛋白质效率、抗病力等指标均优于对照组。本复方中草药制剂对凡纳滨对虾肌肉的常规营养成分和总氨基酸含量无显著影响,但能提高对虾肌肉中鲜味氨基酸的含量。从凡纳滨对虾的生长和抗病力等方面综合考虑,以添加1.5%较为适宜。

关键词 中草药;凡纳滨对虾;生长;肌肉营养组成;抗病力

中图分类号 S985.2·1

中草药具有资源丰富、加工方便、成本低、无抗药性、毒副作用小、效果显著等优点受到人们的关注。近几年来,中草药已广泛用于水产动物养殖中,在预防疾病、加速生长、提高生产性能和改善水产品品质等方面,具有西药难以达到的某些综合效应。

汤菊芬,广东海洋大学,高级工程师,524025,广东省湛江市霞山区解放东路40号。

陆志款,单位及通讯地址同第一作者。

彭卫正,湛江粤海饲料集团有限公司。

汤燕萍,湛江粤华水产饲料有限公司。

收稿日期:2008-06-02

★ 广东省农业科技攻关项目(2007A020200006-10)

难度。马平等在饲料中添加0~15%的精制鳕鱼肝油饲喂赤点石斑鱼幼鱼发现,不添加鳕鱼肝油生长较快,且幼鱼肝脏脂肪量无明显增加。添加鳕鱼肝油都出现脂肪大量蓄积,添加量为10%~15%时部分鱼肝脏出现脂肪肝。肌肉渗出性损失是反映动物机体健康的重要指标。肌肉渗出性损失的改变是以机体细胞完整性的改变为基础的。脂肪的添加导致肌肉渗出性损失的增加,证明了机体细胞完整性受到了破坏。任泽林等认为,不添加抗氧化剂时,将使油脂在饲料制作和储存过程中易于发生氧化。当试验用油以较高水平添加时势必导致肌肉营养不良症的发生和导致肌肉渗出性损失的增加。本试验中,当饲料脂肪含量大于9.26%时,试验鱼的特定生长率逐渐降低,饵料系数增大,且鱼体肌肉中粗蛋白含量也随之降低,肌肉中粗脂肪含量和肌肉渗出性损失则增大。说明饲料中脂肪含量过

本试验在饲料中添加黄芪、当归、陈皮、金银花、板蓝根、连翘等6味富含多糖、生物碱和氨基酸等成分的中草药,依据其对凡纳滨对虾生长、饲料利用和肌肉营养组成的影响,探讨中草药作为饲料添加剂的有效性,以期为对虾健康养殖提供参考。

1 材料与方法

1.1 复方中草药制剂及饲料配制

试验用中草药购自湛江市麻章某药店,各种药材分别粉碎过筛后,按一定比例混匀为复方中草药制剂,于-20℃冰箱保存备用。

以鱼粉、豆粕、花生粕和啤酒酵母等为蛋白源,鱼油为脂肪源,面粉为糖源,配制成5种等氮等能饲料(见表1)。试验共设5个组,复方中草药制剂的添加量分别为0(对照组)、0.5%、1.0%、1.5%、2.0%。各种饲料

量后不但会在一定程度上抑制鱼类生长,还会损伤鱼体机体,降低商品鱼的品质。

4 小结

由本试验中可看出,翘嘴红鲌的特定生长率的高低与饲料脂肪添加量的多少有关。当饲料中脂肪含量在2.07%~7.14%时,翘嘴红鲌的特定生长率、蛋白质效率成上升趋势,饵料系数则呈下降的趋势。结合本试验中各试验组中鱼体的特定生长率、饵料系数及鱼体肌肉生化组成,翘嘴红鲌饲料脂肪的适宜含量为7.14%~9.26%。但翘嘴红鲌对哪种脂肪源的利用率高,对动植物脂肪源的配比饲料中是否能够通过添加一定量的抗氧化剂来消除或降低在添加较多油脂时所带来的副作用等问题还有待于进一步的研究。

(参考文献11篇,刊略,需者可函索)

(编辑:徐世良,f-xu@163.com)

原料粉碎过 60 目筛,微量成分采取逐级扩大法添加,与大原料混合均匀后,用双螺杆制粒机挤压成 1.2 mm 和 1.5 mm 两种粒径的颗粒饲料,风干后放入 -20 ℃ 冰箱中保存备用。

表 1 试验饲料配方组成及营养水平

项目	饲料 1	饲料 2	饲料 3	饲料 4	饲料 5
原料(%)					
鱼粉	30	30	30	30	30
豆粕	17	17	17	17	17
花生麸	10	10	10	10	10
啤酒酵母	5	5	5	5	5
虾壳粉	5	5	5	5	5
鱿鱼肝脏粉	5	5	5	5	5
面粉	22.5	22	21.5	21	20.5
鱼油	1	1	1	1	1
卵磷脂	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
磷酸二氢钙	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
氯化胆碱	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
多维	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
多矿	1	1	1	1	1
复方中草药制剂	0	0.5	1	1.5	2
营养水平(%)					
水分	10.82	10.43	10.58	10.39	10.25
粗蛋白	41.59	41.68	41.25	41.07	41.32
粗脂肪	9.61	9.73	9.83	9.54	9.25
粗灰分	11.28	11.15	11.16	11.23	11.65

1.2 试验用对虾及饲养管理

挑选外观正常,体质健壮,尾均体重为 (1.21±0.08) g 左右的凡纳滨对虾作为试验用虾。每个处理设 3 个重复,每个玻璃钢桶放养凡纳滨对虾 40 尾,玻璃钢桶水容量为 0.3 m³。试验用虾先暂养 7 d 后,称初始体重,然后平均分组,采用定量投喂,投喂率前期按体重的 8%~10%,后期按 6%~7%。每天投喂 4 次,投饲时间分别为 6:00、10:00、19:00 和 23:00,早晚的投喂量占日投喂量的 60%~70%。每周根据对虾的生长状况,相应地调节投饲量,称终末体重前 24 h 停止投喂。试验全过程不间断充气增氧,每天换水 1 次,换水

量为 2/3。水温为 (28.5±1.5) ℃,盐度为 0.2%,养殖试验持续 7 周。

1.3 样品的采集分析

试验结束时,对每个桶中的对虾进行称重并计数,每桶随机抽取 15 尾对虾,用于虾肌肉体营养成分分析,样品的水分含量测定用 105 ℃ 常压干燥法,灰分含量测定采用 550 ℃ 高温炉灼烧法,粗脂肪含量用索氏抽提法测定,粗蛋白的测定采用微量凯氏定氮法,氨基酸含量用 HP1100 高效液相色谱法测定。

$$\text{增重率}(\%) = (\text{终末体重} - \text{初始体重}) / \text{初始体重} \times 100;$$

$$\text{成活率}(\%) = \text{试验结束时收虾尾数} / \text{试验开始时放虾尾数} \times 100;$$

$$\text{饲料系数(FCR)} = \text{摄食量} / (\text{终末体重} - \text{初始体重});$$

$$\text{蛋白质效率}(\%) = (\text{终末体重} - \text{初始体重}) / (\text{摄入饲料量} \times \text{饲料蛋白质含量}) \times 100.$$

1.4 攻毒试验

按曹剑香等^[1]的方法稍改进进行。试验结束后,每组随机抽取 15 尾用本实验室分离保存的溶藻弧菌对试验组和对照组的对虾进行肌肉注射攻毒,注射剂量 0.1 ml,感染菌悬液浓度为 1.24×10⁷ 个/ml。攻毒后,将对虾分别养殖于充气玻璃钢桶中,试验周期为 10 d,观察并记录对虾死亡情况。按下列公式计算相对免疫保护率。

$$\text{免疫保护率}(\%) = (1 - \text{免疫组死亡率}) / \text{对照组死亡率} \times 100.$$

1.5 试验数据的统计分析

采用 SPSS 11.5 软件对数据进行统计学分析,先对数据作单因素方差分析(ANOVA),并进行 Duncan's 多重比较法分析平均数的差异显著性($P<0.05$)。

2 结果

2.1 中草药对凡纳滨对虾的生长、成活率和对饲料系数的影响(见表 2)

表 2 复方中草药制剂对凡纳滨对虾增重率、成活率和饲料系数的影响

组别	初始体重(g)	增重率(%)	成活率(%)	饲料系数	蛋白质效率(%)
饲料 1	1.21±0.03	588.15±52.23 ^a	77.50±5.00 ^a	1.99±0.08 ^a	1.21±0.05
饲料 2	1.21±0.05	621.86±26.53 ^{ab}	85.83±3.00 ^{ab}	1.93±0.05 ^a	1.25±0.04
饲料 3	1.20±0.09	649.84±10.64 ^{ab}	90.00±1.44 ^b	1.94±0.03 ^a	1.24±0.03
饲料 4	1.22±0.01	700.34±22.33 ^b	91.67±2.20 ^b	1.82±0.05 ^a	1.33±0.04
饲料 5	1.20±0.08	700.62±34.26 ^b	87.5±2.50 ^b	1.87±0.06 ^a	1.33±0.04

注:表中的数值为平均值±标准误(n=3);同列数据字母不同表示差异显著($P<0.05$),下表同。

从表 2 可以看出,与对照组相比,饲料中添加复方中草药制剂可以提高凡纳滨对虾的增重率和成活率,降低饲料系数,提高蛋白质效率。与对照组相比,

投喂饲料 4 的凡纳滨对虾的增重率和成活率分别提高了 19.08% 和 18.28% ($P<0.05$),饲料系数降了 8.54%,蛋白质效率提高 9.92%。

2.2 中草药对凡纳滨对虾肌肉营养和氨基酸组成的影响(见表3、表4)

从表3、表4可看出,复方中草药制剂对凡纳滨对虾肌肉的营养成分和总氨基酸含量等无显著影响($P>0.05$),对凡纳滨对虾的肌肉氨基酸组成有影响,随着添加量的增加,鲜味氨基酸的含量呈上升趋势,本复方中草药制剂可以显著提高鲜味氨基酸的含量($P<0.05$)。

表3 复方中草药制剂对凡纳滨对虾肌肉营养成分的影响(以干样计)(%)

组别	蛋白质	脂肪	灰分
饲料1	88.20±0.23	3.02±0.08	5.12±0.08
饲料2	87.53±0.28	3.01±0.07	5.10±0.12
饲料3	87.51±0.26	2.90±0.07	5.00±0.10
饲料4	88.16±0.21	2.88±0.04	5.15±0.08
饲料5	87.83±0.26	2.85±0.01	5.26±0.04

表4 复方中草药制剂对凡纳滨对虾肌肉氨基酸组成的影响(g/100g,以干样计)

氨基酸名称	饲料1	饲料2	饲料3	饲料4	饲料5
天门冬氨酸	7.77±0.08 ^a	8.59±0.02 ^c	8.59±0.03 ^c	8.53±0.02 ^c	8.22±0.05 ^b
谷氨酸	11.59±0.07 ^a	12.37±0.03 ^c	12.20±0.12 ^c	11.94±0.04 ^b	12.38±0.05 ^c
丝氨酸	3.22±0.06 ^c	3.09±0.03 ^b	2.86±0.04 ^a	2.88±0.03 ^a	3.01±0.01 ^b
组氨酸	1.41±0.04	1.34±0.02	1.31±0.05	1.32±0.07	1.34±0.02
甘氨酸	4.57±0.02 ^b	4.29±0.02 ^a	4.89±0.05 ^{cd}	4.79±0.03 ^{bcd}	5.08±0.02 ^d
苏氨酸	3.58±0.02 ^c	3.25±0.02 ^b	3.12±0.02 ^a	3.29±0.04 ^a	3.15±0.02 ^a
精氨酸	6.75±0.03 ^c	6.18±0.02 ^b	6.13±0.03 ^b	6.07±0.06 ^a	6.44±0.03 ^b
丙氨酸	5.38±0.07 ^b	5.24±0.02 ^a	5.39±0.02 ^b	5.36±0.04 ^{ab}	5.35±0.03 ^{ab}
酪氨酸	2.87±0.03 ^a	3.15±0.02 ^c	3.09±0.03 ^{bc}	3.05±0.01 ^b	3.09±0.05 ^{bc}
缬氨酸	3.98±0.02 ^a	4.11±0.02 ^c	4.05±0.02 ^{abc}	4.02±0.02 ^{ab}	4.07±0.04 ^{bc}
蛋氨酸	2.32±0.03 ^c	2.22±0.02 ^{ab}	2.15±0.02 ^a	2.23±0.01 ^b	2.19±0.03 ^{ab}
苯丙氨酸	2.70±0.03 ^a	2.84±0.02 ^c	2.94±0.02 ^d	2.72±0.01 ^a	2.74±0.02 ^b
异亮氨酸	5.37±0.03 ^c	5.23±0.07 ^b	5.04±0.02 ^a	4.97±0.03 ^a	5.05±0.02 ^a
亮氨酸	6.35±0.02 ^c	6.32±0.02 ^c	6.14±0.02 ^a	6.15±0.02 ^a	6.22±0.03 ^b
赖氨酸	6.65±0.02 ^{bc}	6.75±0.02 ^d	6.59±0.02 ^{ab}	6.55±0.02 ^a	6.67±0.01 ^c
脯氨酸	3.95±0.02 ^b	3.98±0.02 ^b	4.02±0.02 ^b	4.10±0.02 ^c	3.48±0.02 ^a
总氨基酸含量	78.67±0.14	78.95±0.12	78.50±0.09	78.64±0.21	78.49±0.27
鲜味氨基酸含量	29.31±0.19 ^a	30.49±0.09 ^b	31.07±0.14 ^c	30.80±0.17 ^{bc}	31.04±0.15 ^c

注:鲜味氨基酸包括天门冬氨酸、谷氨酸、甘氨酸、丙氨酸。

2.3 复方中草药制剂对凡纳滨对虾抗病力的影响

经溶藻弧菌攻毒后,各试验组凡纳滨对虾的免疫保护率见图1,复方中草药制剂对凡纳滨对虾的免疫保护率随添加量的增加呈上升趋势,以添加1.5%效果最为显著。

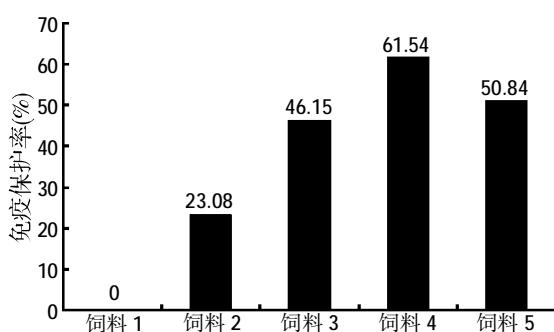


图1 复方中草药制剂对凡纳滨对虾免疫保护率的影响

3 讨论

3.1 复方中草药制剂对凡纳滨对虾生长性能的影响

中草药含有多种生物活性物质和天然营养物质,

能促进动物的机体代谢和蛋白质以及酶的合成,进而促进动物的生长,提高营养物质的利用率,降低饲料系数。吴文等^[2](1998)在饲料中添加0.3%绞股蓝饲喂草鱼,增重率可提高31.25%。王永玲^[3](2002)在饲料中添加1%的大蒜也能提高鲫鱼增重率7.99%,同时可降低饲料系数10.37%。段铭等^[4]在鱼饵料中添加1%由党参、黄芪等8味复方中草药组成的添加剂,鲫鱼增长率提高21.5%。周歧存^[5]、江湧等^[6]在凡纳滨对虾饵料中添加复合中草药制剂,对虾的增重率及对饲料的利用率均比对照组有显著提高,表明复合中草药制剂具有明显的促生长效果。李卓佳等^[7]在斑节对虾饲料中添加1.0%~2.0%的中草药制剂,对虾的增重率和饲料的利用率显著优于对照组。对本试验的结果表明,在饲料中添加1.5%的复方中草药制剂,可显著提高凡纳滨对虾的增重率,降低饲料系数,说明本复方中草药作为饲料添加剂可显著促进水产动物的生长,降低养殖成本。

3.2 复方中草药制剂对凡纳滨对虾肌肉营养成分的

影响

中草药饲料添加剂能改善水产品的风味,提高水产品的品质^[9]。邱小琮等(2003)^[9]将复方中草药添加到基础饲料中饲喂异育银鲫,结果表明,中草药对异育银鲫肌肉的营养价值和氨基酸的含量无不良影响,2%添加量可显著地提高异育银鲫鱼肉的脂肪含量,从而改善鱼的肉质。罗庆华等^[10]用杜仲叶粉饲喂鲤鱼,结果表明,6%杜仲叶粉组鲤鱼肌肉所含氨基酸总量、必需氨基酸含量及鲜味氨基酸含量均高于对照组,效果最好。孟晓林^[11]将4%杜仲叶粉添加到草鱼成鱼饲料中进行饲喂,显著提高草鱼肌肉所含呈味氨基酸及总氨基酸含量。李卓佳等^[12]用添加中草药的饲料饲喂斑节对虾,结果表明中草药对斑节对虾的肌肉氨基酸组成有影响。本试验结果也表明,复方中草药制剂对凡纳滨对虾的肌肉常规营养成分和总氨基酸含量没有显著影响,但对氨基酸的组成有影响,随着添加量的增加,鲜味氨基酸(天门冬氨酸、谷氨酸、甘氨酸、丙氨酸等)^[12-13]的含量呈上升趋势,说明本试验所用复方中草药制剂具有增强凡纳滨对虾鲜味的作用。

3.3 复方中草药制剂对凡纳滨对虾成活率和抗病力的影响

目前,国内许多学者的研究表明,某些维生素、多糖、中草药制剂能够增强对虾、罗氏沼虾等甲壳动物的非特异性免疫力,从而提高其抗病力。Jian等^[14-16]研究了饲料中添加复合中草药制剂(黄芪:当归=5:1)对大黄鱼和建鲤非特异性免疫指标的影响,结果表明,饲料中添加1.0%的复合中草药制剂可显著提高大黄鱼和建鲤血液中氮蓝四唑(NBT)阳性细胞数量及溶菌酶活力,并提高攻毒试验后大黄鱼和建鲤的成活率。杜爱芳^[17]在中国对虾饲料中添加0.2%的复方大蒜油添加剂,结果表明对虾血细胞吞噬率、杀伤率、吞噬指数和对虾血淋巴中的溶菌活力、酚氧化酶活力显著提高;溶藻弧菌攻毒后,对虾免疫保护率提高86%。李义等^[18]在饲料中添加2%的复方中草药添加剂,饲喂罗氏沼虾14 d后,试验组的血细胞吞噬百分比和吞噬指数、血清溶菌酶活性及酚氧化酶活性均显著提高;经嗜水气单胞菌攻毒后,试验组的免疫保护率也明显提高。江湧等^[19]在饲料中添加1.0%~1.5%的中草药添加剂,喂养凡纳滨对虾60 d,然后用白斑病毒粗提液感染攻毒,证实复合中草药制剂有抗病毒和提高成活率的作用。本试验的研究结果也证明,饲料中添加1.5%的复方中草药制剂可以显著提高凡纳滨对虾的

成活率及其对溶藻弧菌的免疫保护率,本复方中草药制剂具有增强凡纳滨对虾抗溶藻弧菌感染的作用。

参考文献

- [1] 曹剑香,简纪常,吴灶和.注射溶藻弧菌疫苗对南美白对虾免疫功能的影响[J].水产科学,2006,25(7):330-333.
- [2] 吴文,叶金云,陆清尔,等.绞股兰作为鱼饲料添加剂的探讨[J].上海水产大学学报,1998,7(8):367-370.
- [3] 王永玲.中草药免疫增强剂对银鲫促生长效果的研究[J].水利渔业,2002,22(4):42-43.
- [4] 段铭,冯现伟.复方中草药添加剂饲喂卿鱼试验[J].1999,20(10):32-32.
- [5] 周歧存,罗从彦,韩兆红.复合中草药对凡纳滨对虾生长及抗病力的影响[J].饲料研究,2006(9):53-56.
- [6] 江湧,王广军,余德光.中草药添加剂对凡纳滨对虾生长和抗病力影响的研究[J].渔业现代化,2005(4):53-54.
- [7] 李卓佳,林黑着,郭志勋,等.中草药对斑节对虾生长、饲料利用和肌肉营养成分的影响[J].南方水产科学,2007,3(2):20-24.
- [8] 冯全英,周永灿,谢珍玉,等.中草药及其在水产养殖中的应用[J].水产科技情报,2006,33(6):251-254.
- [9] 邱小琮,周洪琪,横山雅仁,等.中草药添加剂对异育银鲫肌肉生化成分的影响[J].上海水产大学学报,2003,12(1):24-28.
- [10] 罗庆华,卢向阳,李文芳.杜仲叶粉对鲤鱼肌肉品质的影响[J].湖南农业大学学报,2002,28(3):224-226.
- [11] 孟晓林.杜仲对草鱼生长、肉质和免疫功能的影响[D].上海水产大学硕士学位论文,2006.
- [12] 刘纯洁,张娟婷.食品添加剂手册[M].北京:中国展望出版社,1988:157-160.
- [13] 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,2001,3(6):828-834.
- [14] Jichang Jian, Zaohe Wu. Effects of traditional Chinese medicine on nonspecific immunity and disease resistance of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*(Richardson)[J]. Aquac.,2003,218(1/4):1-9.
- [15] Jichang Jian, Zaohe Wu. Influences of traditional Chinese medicine on nonspecific immunity of Jian carp(*Cyprinus carpio* var. *Jian*) [J]. Fish & Shellfish Immunol., 2004,16(2): 185-191.
- [16] 简纪常,吴灶和.中草药对建鲤非特异性免疫功能的影响[J].大连水产学院学报,2002,17(2):114-119.
- [17] 杜爱芳.复方大蒜油添加剂对中国对虾免疫机能的增强作用[J].浙江大学学报(农业与生命科学版),1997,23(3):317-320.
- [18] 李义,宋学宏,蔡春芳,等.复方中草药添加剂对罗氏沼虾免疫功能的影响[J].饲料工业,2002,23(7):45-47.

(编辑:徐世良,fi-xu@163.com)

添加固相负离子粉对吉富罗非鱼生长性能及免疫功能的影响

负彪 张胜利 薛敏 吴秀峰 刘海燕 赵维香 张爱忠

摘要 试验以(15.90 ± 0.1)g的吉富罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)为试验对象,在等氮(33%)等能(17.2 MJ/kg)的基础上,在其日粮中分别添加0、0.5%、1%、2%和3%的固相负离子粉,在循环水养殖系统中进行8周的生长试验。每种饲料设计3个重复,每桶放鱼30尾。结果显示:用添加不同剂量的固相负离子粉饲喂吉富罗非鱼,各组间罗非鱼的生长性能、饲料利用率没有显著差异($P<0.05$),同时血清中的SOD、LZM、MDA、ALT和AST组间差异均不显著($P>0.05$)。

关键词 吉富罗非鱼;固相负离子粉;生长性能;免疫功能

中图分类号 S816.7

Effet of tourmaline on growth performance and immunological function of GIFT strain of Nile tilapia

Yun Biao, Zhang Shengli, Xue Min, Wu Xiufeng, Liu Haiyan, Zhao Weixiang, Zhang Aizhong

Abstract A 8-week growth experiment was conducted to estimate the quantitative requirement of tourmaline for GIFT strain of Nile tilapia [initial body weight (15.90 ± 0.1) g] by feeding five isonitrogenous (33%) and isoenergetic(17.2 MJ/kg) diets containing five levels of tourmaline at 0, 0.5%, 1%, 2% and 3%, respectively. The results showed that there were no significant differences in growth performance, feed utilization efficiency and plasma SOD,LZM,MDA and AST for the tilapia among dietary treatments($P>0.05$).

Key words GIFT strain of Nile tilapia;tourmaline;growth performance;immunological function

固相负离子粉是由电气石经特殊工艺粉碎至超微细的一种添加剂。电气石是我国云南、新疆等地区特有的宝石级矿藏,是一种复合晶体硅酸盐,含有铝、硼和其它元素。它有一种特殊的功能,即热电效应。在接受周围能量时,它能够和周围环境进行能量交换,电离周围空气,激发空气中电子的放出,从而产生负离子,即空气负离子。空气负离子被喻为空气维生素或生长素,是人类提神醒脑的保健空气,负离子对人

体健康具有极大的作用。

固相负离子粉可以在环境保护、给水排水、石油化工、医疗卫生、食品酿造等很多领域可作为净化剂、脱色剂、除臭剂、离子交换剂和催化剂载体等广泛应用于饮用水净化、废水处理、空气干燥、气体除臭、尾气净化、油水分离、有害离子去除和酒类过滤等很多方面,它的独特性质和功能可以替代很多的吸附材料,因此固相负离子粉的应用前景十分广泛。但在饲料业中的应用还很少见,本试验旨在探讨添加一定量的固相负离子粉能否促进罗非鱼的生长和提高免疫力,为固相负离子粉在水产养殖中的应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验饲料

试验共设5个处理,分别添加0、0.5%、1%、2%和3%的固相负离子粉。饲料原料全部过40目筛,严格按照配料程序配料、混匀后经挤压熟化制成直径1.0 mm的浮性饲料,晾干,置-20℃冰箱备用。试验饲料配方和营养水平见表1。

1.2 试验鱼选择

试验鱼购于北京市水产技术推广站海南基地,选

负彪,黑龙江八一农垦大学动物科技学院,163319,黑龙江省大庆市。

张胜利,北京奶牛中心。

薛敏(通讯作者)、吴秀峰、刘海燕,中国农业科学院饲料研究所国家水产饲料安全评价基地。

赵维香,北京英惠尔生物技术有限公司。

张爱忠,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2008-06-28

★ 国家十一五科技支撑计划资助项目(2006BAD12B08-02、2006BAD12B06)

择体重为(15.90±0.1) g 的健康罗非鱼 450 尾,试验鱼放养于中国农业科学院饲料研究所国家水产饲料安全评价基地室内循环流水养殖系统中(每桶容积 256 L),5 组饲料,每组 3 个重复,每桶放鱼 30 尾。

表 1 试验饲料配方及营养水平

原料(%)	对照组	0.5%组	1%组	2%组	3%组
大豆粕	32	32	32	32	32
次粉	21.25	21.25	21.25	21.25	21.25
面粉	20	20	20	20	20
棉籽蛋白	12	12	12	12	12
进口鱼粉	6	6	6	6	6
沸石粉	3	2.5	2	1	0
固相负离子粉	0	0.5	1	2	3
大豆油	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
磷酸二氢钙	2	2	2	2	2
罗非鱼预混料	1	1	1	1	1
胆碱(50%)	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
营养水平					
粗蛋白(%)	32.89	33.13	33.12	33.39	33.23
灰分(%)	9.54	9.56	9.55	9.38	9.63
总能(MJ/kg)	17.14	17.25	17.23	17.32	17.27

注:每千克预混料提供:矿物预混 150 g、维生素预混 150 g、抗氧化剂 2 g、沸石粉 698 g。其中 150 g 矿物质预混包括 MgSO₄·5H₂O 50 g、MnSO₄·H₂O 10 g、ZnSO₄·H₂O 30 g、CuSO₄·H₂O 1 g、FeSO₄·H₂O 40 g、Na₂SeO₃ 0.5 g、CoCl₂ 0.25 g、KI 0.5 g、沸石粉 17.75 g;150 g 维生素预混包括 VA 140 万 IU/g、VD 70 万 IU/g、VE 1.4 g、VB₁ 0.8 g、VB₂ 0.8 g、VB₆ 1.4 g、烟酰胺 8 g、VC 磷酸酯(35%)60 g、泛酸钙 10 g、VK 31.5 g、生物素 0.04 g、B₁₂ 0.02 g、叶酸 0.3 g、玉米蛋白粉 32.94 g。

1.3 饲养管理

正式试验前对试验鱼进行 2 周的驯养,期间投喂商品饲料。驯养结束后,停喂饵料 1 d。正式试验开始

前,准确称量试验鱼的初始体重。每天分别在 9:00 和 16:00 表观饱食投喂 2 次,收集残饵;饲养时间为 55 d。试验期间水温控制在 26~30 °C,pH 值范围为 8.30~8.60,溶氧为 7.0 mg/l 左右,日光灯控制照明时间 12 h。

1.4 样品采集和分析

生长试验结束时,以桶为单位称重,每桶随机取 3 尾鱼用三氯叔丁醇麻醉后,采集血清及肝脏、内脏组织样品。

1.5 评定指标

测定指标包括相对增重率、特定生长率、成活率、饲料系数以及饲料粗蛋白、能量、水分、血清溶菌酶(LZM)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、血清丙氨酸转氨酶(ALT)和天门冬氨酸转氨酶(AST)含量的检测。

$$\text{相对增重率}(\text{WGR}, \%) = (W_t - W_0)/W_0 \times 100;$$

$$\text{特定生长率}(\text{SGR}, \%/\text{d}) = [\ln(W_t) - \ln(W_0)]/t;$$

$$\text{饲料系数}(\text{FCR}) = (R_1 - R_2)/(G_1 + G_2 - G_0)。$$

其中:W₀、W_t 为初重及鱼体末重;t 为试验天数;R₁、R₂ 分别为投饵量和残饵量,G₁、G₂ 和 G₀ 为死亡个体重、鱼体末重和初重;

$$\text{成活率}(\text{SR}, \%) = \text{成活鱼量}/\text{投放鱼量} \times 100。$$

1.6 试验结果统计分析

试验结果用平均数±标准误差表示,对数据进行单因素方差分析(ANOVA),并结合 Duncan's 法进行多重比较,检验处理间的差异显著性(P<0.05)。

2 试验结果与分析

2.1 固相负离子粉对罗非鱼生长性能和饲料利用率的影响(见表 2)

表 2 不同剂量的固相负离子粉对罗非鱼生长和饲料利用率的影响(平均数±标准误差)

项目	初重(g/尾)	末重(g/尾)	相对增重率(%)	特定生长率(%/d)	成活率(%)	饲料系数
对照组	15.89±0.04	91.84±1.26	478.16±8.98	3.19±0.03	100±0.00	1.01±0.02
0.5%组	15.92±0.03	92.31±0.87	479.82±6.13	3.20±0.02	100±0.00	1.02±0.01
1%组	15.97±0.00	92.311±0.92	478.19±5.83	3.19±0.02	100±0.00	1.02±0.01
2%组	15.95±0.02	94.42±0.13	491.86±1.31	3.23±0.01	98.89±1.11	1.00±0.02
3%组	15.96±0.02	93.47±1.67	485.78±9.93	3.21±0.03	100±0.00	1.00±0.00

注:同列数据肩标字母不同表示差异显著(P<0.05)。下表同。

添加不同剂量的固相负离子粉对罗非鱼生长性能和饲料利用率的影响见表 2。在本试验中,各组罗非鱼均增重较高,添加不同剂量的固相负离子粉,罗非鱼的末重、相对增重率、特定生长率、成活率和饲料系数间差异均不显著(P>0.05);同时表明固相负离子粉的效果与使用沸石粉对罗非鱼生长性能和饲料利用率的影响也无显著差异(P>0.05)。

2.2 固相负离子粉对罗非鱼血液生理生化指标的影响

(见表 3)

从表 3 中可知,除 1% 和 3% 两个剂量组罗非鱼血清中 AST 与对照组相比提高外,添加不同剂量的固相负离子粉,罗非鱼血清中 SOD、LZM、MDA、ALT 和 AST 组间差异不显著(P>0.05),结果偏高可能主要是由于血清样轻微溶血所致,这说明与对照组相比,固相负离子粉对罗非鱼的转氨酶活性和免疫力没有显著影响。

表3 添加不同剂量的固相负离子粉对罗非鱼血液生理生化指标的影响(平均数±标准误差)

项目	SOD(U/ml)	LZM(U/ml)	MDA(mol/ml)	ALT(U/l)	AST(U/l)
对照组	128.17±3.01	121.76±15.64	11.85±0.76	8.9±2.08	76.13±16.70 ^a
0.5%组	129.07±12.33	111.88±4.86	11.30±0.26	5.3±1.31	83.13±58.08 ^b
1%组	122±5.23	128.29±2.73	11.62±0.25	11.57±4.62	279.07±60.84 ^b
2%组	126.63±8.70	133.71±22.27	11.64±1.16	7.33±2.05	83.7±49.79 ^a
3%组	130.5±5.74	131.09±16.16	12.79±0.97	9.47±3.65	179.63±84.46 ^b

3 讨论

来源于天然矿石资源的饲料原料,如稀土、沸石粉、蒙脱石及固相负离子粉等在水产饲料中的合理添加,不但可以促进动物生长发育,增强机体免疫力,而且能提高饲料的利用率,净化水质,达到环保养殖的效果。稀土在水产方面的研究主要集中在稀土对鱼类生产性能方面的影响,效果主要表现为提高成活率,增加体重,提高产量和饲料的转化效率。韩希福等(1998)报道,硝酸稀土对鲤鱼蛋白酶的活性有促进作用,认为稀土可能是一种酶激活剂。而大量的报道认为稀土元素氧化物(Rare-earth oxide)对于鱼类来说是可以作为惰性标记物,用于消化率实验的测定。大量研究表明,沸石粉能够提高其鱼类生长性能和增强水产动物的免疫力(刘晓明,1990;陈多序,1991)。沸石粉是一种含碱金属和碱土金属的硅酸盐矿物质,养殖业中应用的主要是斜发沸石粉。由于沸石粉具有独特的离子交换性、吸附性和催化性,可以被作为霉菌吸附剂使用,也能吸附水生动物体内的病毒素,促进新陈代谢,提高机体的抗病力和免疫力。另有胡彩虹(2005)对罗非鱼的研究指出,载铜蒙脱石在鱼体内具有较强的抗菌活性,能有效抑制肠道病原菌的增殖,使肠粘膜免受病原菌的侵袭,使肠粘膜始终处于健康状态,以利于消化酶的分泌和饲料养分的消化。由于蒙脱石是一种双八面体层状结构的天然纳米铝硅酸盐矿物质,在由硅氧四面体和八面体组成的结构层之间,是易于被取代的水合阳离子层,易于被其它阳离子或功能团所置换。另一方面,蒙脱石具有巨大的比表面积及其缓释效应。

固相负离子粉与稀土、沸石粉和蒙脱石在物理特性方面有很多相似之处,由此推测固相负离子粉也可能具有类似稀土、沸石粉和蒙脱石的部分功能,具有霉菌吸附、提高机体免疫力的功能,但本试验结果并未表现出明显的免疫促进作用。试验是在室内循环流水养殖系统中进行的,试验期间水温和水质条件均控制在罗非鱼最适生长范围内,因此试验鱼不存在潜在

的应激;在此条件下,固相负离子粉在饲料中潜在的功能性可能没有被激发体现。但从另外一个角度也说明高剂量的固相负离子粉的使用(3%),并没有影响吉富罗非鱼的正常生长和免疫功能。因为固相负离子粉本身价格较为低廉,在配方中适量添加可以降低饲料成本。关于固相负离子粉对罗非鱼的免疫功能是否具有保护和促进作用,需进行病菌感染攻毒实验进一步验证。

参考文献

- [1] 刘莹峰,顾晓华,李青山.超细蛋白石制备及其性能研究[J].齐齐哈尔大学学报,2003,19(3):82-83.
- [2] 赵小峰,何晨燕,李兴隆.新型吸附材料固相负离子粉页岩[J].北方环境,2005,30(2):62.
- [3] 李振.环保型饲料添加剂在水产养殖中的应用[J].北京水产,2006(5):45-48.
- [4] 唐豫顺,夏重志,王立华,等.不同稀土配合物对鲤鱼促生长的比较研究[J].水产学杂志,1998,11(1):47-49.
- [5] 齐宏涛,汪东风,杜德红,等.稀土在水产养殖中的应用研究进展[J].水产学杂志,2003,16(2):77-82.
- [6] 韩希福,李德尚,李爱杰.硝酸稀土对鲤蛋白酶活性的影响[J].上海水产大学报,1998,7(增刊):283-287.
- [7] 刘晓明,童岩,徐学华.新型鱼用添加剂实验初报[J].水力渔业,1990(6):5-7.
- [8] 陈多序,杜秀华,岳金妹,等.斜发沸石作鲤饲料矿物添加剂的研究[J].水利渔业,1991(5):3-7.
- [9] 郭松林.沸石粉的特性及其在水产养殖中的应用[J].饲料广角,2004(10):31-32.
- [10] 胡彩虹.纳米载铜硅酸盐对水产病原菌的吸附、杀菌活性及其在罗非鱼上的应用效果与机理研究[D].浙江大学,2005.
- [11] 胡彩虹,夏枚生.载铜蒙脱石对水产病原菌的抗菌活性及其机理[J].硅酸盐学报,2005,31:375-379.
- [12] Hu C H, Xu Z R, Xia M S. Antibacterial effect of Cu²⁺-exchanged montmorillonite on Aeromonas hydrophila and discussion on its mechanism[J]. Vet Microbiol.,2005,109:83-88.

(编辑:徐世良,fi-xu@163.com)

本栏目由美国达农威公司协办



美国达农威公司

达农威益康XP™

自1943年起为全球畜禽养殖提供附加价值

酵母培养物对生长猪的生产性能、饲料消化率及肠道微生物区系影响的研究

刘希颖 郭文信

酵母培养物(Yeast Culture)是一种复杂的发酵产品。它是由选定的酵母菌在特制的培养基上进行发酵后所产生的细胞外代谢产物和经发酵后变性了的培养基以及在酵母培养物的制造过程中作为生产代谢产物工具的酵母菌共同组成的混合物。其主要作用成分是含有寡糖、肽类、有机酸、各种维生素、矿物质、氨基酸、消化酶以及众多未知的具有生物活性的促生长因子等所组成的代谢产物。酵母培养物是一种纯天然的功能性饲料成分,被用来向动物胃肠道内的寄生微生物提供代谢营养底物。通过滋养微生物和刺激它们的代谢活性维持和改善动物胃肠道内的微生态环境,显著提高动物机体的抗应激能力、改善饲料的适口性和可消化性,提高饲料利用效率,促进畜禽的健康水平和生产性能。酵母培养物可以提高幼龄动物的生长性能,提高免疫力及抗应激能力,但有关其在生长猪阶段的饲喂效果报道较少。因此,本试验希望通过饲养试验和消化代谢试验来评定酵母培养物对生长猪的生产性能、饲料消化率及肠道微生物区系影响,为酵母培养物适宜添加量的确定提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 试验日粮

试验用基础日粮组成及其营养水平见表1。

表1 基础日粮组成及营养水平

日粮成分	组成(%)	营养水平
玉米	66.31	消化能(MJ/kg) 13.00
豆粕	18	粗蛋白(%) 15.34
麸皮	13	粗纤维(%) 3.18
石粉	0.3	赖氨酸(%) 0.95
磷酸氢钙	1.2	钙(%) 0.81
食盐	0.4	磷(%) 0.62
赖氨酸	0.25	
微量元素预混料	0.5	
多维	0.04	

刘希颖,沈阳农业大学畜牧兽医学院,博士,110161,沈阳市东陵路120号。

郭文信,吉林省扶余县三岔河镇畜牧兽医工作站。

收稿日期:2008-09-26

1.2 饲养试验

采用单因子试验设计,选用35 kg左右的杜长大三元杂交猪16头,随机分为2组,每组4个重复,每个重复2头猪。对照组和试验组仔猪分别饲喂添加0%和0.15%酵母培养物的基础日粮。本次试验所使用的酵母培养物是益康XP,由达农威生物发酵工程技术(深圳)有限公司提供。

1.3 消化试验

采用单因子试验设计,选用35 kg左右的杜长大三元杂交猪5窝,每窝2头,随机装入2个代谢笼内(笼号为1、2号),试验重复进行5次,每个重复试验期为12 d,其中预试期7 d,正试期5 d。1号笼子处理为对照组(未添加益康XP),2号笼子处理为试验组(添加0.15%的益康XP)。

1.4 饲养管理

试验自8月10日~9月10日在沈阳农业大学科研种猪场进行,试验猪只饲养于封闭、半漏缝地板式猪舍。饲喂试验中,每个处理的试验猪饲养于一栏。自由采食、饮水。

在消化试验中,实行定时饲喂(分别在8:00、12:00、16:00、20:00时各饲喂1次),每次定量供料,每千克代谢体重喂料105 g,并进行粪尿全部收集。粪样收集后,每100 g加5.0 ml的10%硫酸,再加少量甲苯,存于冰柜中。全部粪样在65 ℃烘箱中烘干制样后取样。尿液收集后按10%取样,每100 ml尿样加2.0 ml 10%的硫酸,再加少量甲苯,置于冰柜中保存。

1.5 测定指标

1.5.1 日增重、料重比测定

以栏为单位测定采食量,于试验开始、试验结束测定个体空腹体重,计算平均日增重。根据采食量及日增重计算料重比。

1.5.2 绒毛长度测定

试验结束时每个处理屠宰1头猪,取结肠中段约1 cm长度,立即置于含甲醛3.8%的福尔马林溶液中,经脱水、包蜡、切片、染色、显微镜观察镜下取图和拍照,用目镜测微尺测每个视野最长绒毛长度。

1.5.3 肠内微生物区系测定

试验结束时,取结肠内容物 15 g/头。所取盲肠内容物经均质后在超净工作台无菌取样 0.5 g 左右,加入到装有 4.5 ml 无菌生理盐水的试管中,在微型震荡器上震荡 20 min, 然后再取 0.5 ml 放于第二管震荡 5 min, 依次稀释到 10⁻⁶, 检验方法参照《动物性食品微生物学检验》(甘肃农业大学主编)和《兽医微生物学试验指导》(乌尼主编)。

1.5.4 表观消化率的测定

粗蛋白质、粗脂肪、粗纤维、粗灰分、无氮浸出物和总能表观消化率的测定:参照《家畜饲养学实验指导》(杨胜主编.农业出版社,1979)和《饲料分析及饲料质量检测技术》(杨胜主编. 北京农业大学出版社, 1993)提供的方法进行测定。

1.6 统计分析

采用 SPSS11.5 统计软件对数据进行检验。试验结果采用平均数±标准差表示。

2 结果与讨论

2.1 酵母培养物对生长猪生产性能的影响

表 2 试验猪初始体重、终末体重及日增重、料重比

项目	对照组	试验组
初始体重(kg)	33.7±0.69	34.20±0.96
终末体重(kg)	50.2±1.63	52.5±2.92 ^a
日增重(g)	550±25.1	610±50.0 ^a
料重比	2.84±0.09	2.93±0.16

注:同行肩标字母相同为差异显著($P<0.05$)。下表同。

由表 2 可知, 两组试验猪初始体重差异不显著。而在试验结束时, 与对照组相比, 试验组终末体重提高 4.6%, 差异显著($P<0.05$); 日增重提高 11%, 差异显著($P<0.05$)。

在猪的高纤维日粮中添加酵母培养物后, 不仅生长率和饲料报酬提高, 而且能量和一些纤维成分也获得更高的消化利用率(Wen 等,1990)。这是由于在生长猪饲粮中添加酵母培养物, 能刺激后肠的发酵, 从而导致挥发性脂肪酸产量和细菌发酵终产物增加, 这样可为猪多提供 30%的能量需要, 结果提高了猪的养分利用率(Williams,1987)。

2.2 酵母培养物对生长猪肠道微生物区系及小肠绒毛的影响

健康的猪肠道内存在大量细菌, 它们构成猪肠道的微生态系统。这个系统的平衡与否, 直接影响着猪肠道的正常生理功能及猪的健康状况。养猪生产中的

各种应激因素会引起猪肠道内微生物菌群的变化, 一旦微生态平衡受到破坏, 就必定导致胃肠道疾病的发生, 进一步会影响猪的健康状况和生产水平。

大肠杆菌(有条件致病菌)、乳酸杆菌和双歧杆菌(通常被视为有益菌)作为猪胃肠道内具有代表性的菌种, 对保持猪胃肠道菌群平衡及猪的免疫、健康水平起着重要的作用。由表 3 可以看出, 与对照组相比, 试验组仔猪肠道内这 3 种菌群的数量都有一定的增加, 但大肠杆菌与乳酸杆菌加双歧杆菌之和的比值却基本相同, 这一方面验证了猪胃肠道内菌群之间比例保持平衡的现实, 另一方面, 各种菌群数目的提高有可能是动物机体免疫力和生产性能提高的重要原因, 这同本试验所取得的结果是相印证的。

表 3 试验猪结肠微生物区系及小肠绒毛长度

项目	对照组	试验组
大肠杆菌($\times 10^9$)	7.78±1.31	9.10±0.81
乳酸杆菌($\times 10^9$)	9.57±0.58	9.84±0.61
双歧杆菌($\times 10^9$)	4.32±0.29	5.08±0.38
大肠杆菌/(乳酸杆菌+双歧杆菌)	0.56	0.60
小肠绒毛长度(μm)	378±4.51	403±13.56

试验组仔猪小肠绒毛长度有一定程度的增加, 这可能同试验组猪只肠道健康水平的改善有一定的相关性。

2.3 酵母培养物对生长猪日粮中营养消化率的影响

表 4 饲料营养成分的表观消化率(%)

项目	对照组	试验组
粗蛋白表观消化率	78.51±4.64	78.32±2.87
粗脂肪表观消化率	79.48±3.12	78.97±3.04
粗纤维表观消化率	54.12±5.19	59.05±1.74 ^a
粗灰分表观消化率	38.30±7.04	41.61±10.08
无氮浸出物表观消化率	87.98±1.97	86.63±1.83
总能表观消化率	82.19±2.83	86.88±1.77

由表 4 可以看出, 酵母培养物添加组的粗蛋白表观消化率、粗脂肪表观消化率、粗灰分表观消化率和无氮浸出物表观消化率与对照组差异不显著; 酵母培养物添加 0.15% 可以提高粗纤维表观消化率 9%, 且差异显著 ($P<0.05$); 总能表观消化率比对照组提高 6%, 但差异不显著。

酵母培养物可影响动物后肠的微生物发酵。据报道, 在马的基础日粮中添加 8 g/(头·d) 酵母培养物, 结果显著提高了日粮中中性洗涤纤维(NDF)、半纤维素和氮的消化率, 并认为这是由于酵母培养物影响马的后肠发酵, 增加了氮的再循环利用(Kglade 等,1987)。

微生物源性抗氧化剂对高不饱和脂肪酸饲料致大鼠自由基损伤模型的影响

龚灵芝 陈小连 徐建雄

摘要 探讨微生物源性抗氧化剂对高不饱和脂肪酸饲料致大鼠自由基损伤和血清抗氧化指标的影响。将40只SD大鼠随机分为对照组、高不饱和脂肪酸组、微生物源性抗氧化剂组和高不饱和脂肪酸+微生物源性抗氧化剂组,试验共42d,分别在正试期的第21、42d的时候,取血并测试各项指标。结果:与对照组相比,高不饱和脂肪酸组大鼠血清的SOD和GSH-Px活力下降,且NO和MDA含量升高;添加微生物源性抗氧化剂后大鼠血清的SOD和GSH-Px活力提高,且NO和MDA含量降低。因此,微生物源性抗氧化剂对高不饱和脂肪酸饲料致大鼠自由基损伤有一定的保护作用。

关键词 微生物源性抗氧化剂;不饱和脂肪酸;自由基损伤;大鼠

中图分类号 S816.3

近年来寻找高效、价廉、无毒的抗氧化剂一直是人们所关心的问题。但是各种抗氧化剂单独使用往往存在不足,因此研制高效复合自由基清除剂和抗氧化剂成为现代自由基生物学的重点研究课题。多不饱和脂肪酸很不稳定,在机体内容易被氧化,发生过氧化反应,产生对机体有害的自由基,在抗氧化剂不足情况下,当长期过多摄入不饱和脂肪酸时,会引起体内脂质过氧化反应上升和抗氧化酶活性降低,导致负面影响。本试验旨在通过高不饱和脂肪酸诱导大鼠产生自由基损伤,再在日粮中添加微生物源性抗氧化剂,测定抗氧化指标的变化,研究其对动物体内自由基代谢和机体损伤修复的影响。

1 试验材料与方法

1.1 试验动物及分组

试验选用40只70日龄雄性SD大鼠,购自上海

西普尔-毕凯实验动物有限公司,SPF级,体重(300±30)g,随机分成4组:对照组饲喂基础日粮(由上海市莱克生物科技有限公司提供),在基础日粮的基础上,试验A组在日粮中添加葵花籽油(每千克饲料添加200g),试验B组在日粮中添加一定量的微生物源性抗氧化剂(每千克饲料添加20g),试验C组日粮中同时添加葵花籽油和微生物复合自由基清除剂,每组10只大鼠,试验共42d。

1.2 微生物源性抗氧化剂

微生物源性抗氧化剂由上海创博生态工程有限公司提供。

1.3 试验药品

葵花籽油购自超市;SOD检测试剂盒、MDA检测试剂盒、NO检测试剂盒和谷胱甘肽过氧化物酶活性(GSH-Px)测定试剂盒均购自南京建成生物工程研究所;无水乙醇、乙酸等均为分析纯AR,购自上海生工生物工程有限公司。

1.4 试验仪器和设备

紫外-可见分光光度计(Range of UV-Visible Spectrophotometers),英国Thermo公司生产;离心机(Centrifuge),德国eppendorf公司生产,型号Centrifuge 5804R;

龚灵芝,上海交通大学,200240,上海闵行区东川路800号上海交通大学农业与生物学院3区304。

陈小连、徐建雄(通讯作者),单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2008-09-01

酵母培养物影响后肠发酵为动物增加养分供应的机制,与对瘤胃发酵影响的机制相同(李淑敏,2000)。

3 结论

3.1 与对照组相比,含有酵母培养物的试验组猪只终末体重提高4.6%,差异显著($P<0.05$);日增重提高11%,差异显著($P<0.05$)。

3.2 与对照组相比,试验组仔猪肠道内这3种菌群

的数量都有一定的增加,但大肠杆菌与另两种菌群总和的比值基本保持相同。试验组仔猪小肠绒毛长度有一定程度的增加,但增幅并不显著。

3.3 在生长猪的日粮中添加0.15%酵母培养物(益康XP),可使粗纤维表观消化率比对照组提高9%,且差异显著($P<0.05$),在总能表观消化率方面有提高的趋势。
(编辑:王芳,xfang2005@163.com)

电子天平,德国 Sartorius 公司生产,型号 BA110S;电热恒温水浴锅,上海精宏实验设备有限公司生产,型号 DK-S24。

1.5 试验方法

试验预试期 7 d,分别在正式试验期的第 21、42 d 的时候,每组取 5 只处死,每只取血 5 ml,室温静置 1~2 h,然后 3 500~4 000 r/min 低温离心 20 min,取上清液并转入 EP 管内密封,置于 -70 ℃ 低温冰箱内保存,待测。测定动物血清中超氧化物歧化酶(SOD)活力、谷

胱昔肽过氧化物酶(GSH-Px)活力和一氧化氮自由基(NO)和丙二醛(MDA)含量等各项测试指标均采用南京建成试剂盒进行测试,操作方法严格按照试剂盒说明书进行。

1.6 数据处理

采用 Excel 软件对所测数据进行组间单尾 t 检验,结果均以平均数±标准差表示。

2 结果

2.1 大鼠血清 SOD、GSH-Px 活力(见表 1)

表 1 血清中 SOD 和 GSH-Px 活力(U/ml)

项目	SOD		GSH-Px	
	试验第 21 d	试验第 42 d	试验第 21 d	试验第 42 d
对照组	224.66±8.32 ^{ab}	222.59±10.12 ^a	2 956.88±50.75 ^a	3 525.31±105.29 ^b
试验 A 组	216.57±11.08 ^a	205.33±14.51 ^b	2 800.22±164.42 ^b	3 244.57±214.71 ^a
试验 B 组	235.53±13.81 ^b	234.46±7.52 ^c	3 097.10±204.34 ^a	3 861.72±131.14 ^c
试验 C 组	220.52±16.44 ^{ab}	219.77±8.63 ^a	2 883.45±234.28 ^{ab}	3 540.77±139.58 ^b

注:字母不相同表示差异显著($P<0.05$),下同。

从表 1 中可以看出,试验第 21 d 对照组大鼠血清中 SOD 活力和各组相比差异均不显著,其中试验 B 组高于对照组 4.84%($P>0.05$),试验 A 组和试验 C 组分别比对照组低 3.61% 和 1.84%($P>0.05$);试验 A 组比试验 B 组低 8.05% 差异显著($P<0.05$)。试验第 42 d 大鼠血清中 SOD 活力试验 A 组显著低于其它各组,试验 B 组显著高于其它各组,试验 C 组比对照组略低。

试验第 21 d 对照组和试验 B 组大鼠血清中 GSH-Px 活力显著高于试验 A 组,其中试验 B 组比对照组高 4.76%($P>0.05$);试验 C 组比试验 A 组略高。试验第 42 d 试验 B 组大鼠血清中 GSH-Px 活力显著高于其它各组($P<0.05$),试验 C 组比试验 A 组高 9.13%,试验 C 组与对照组相当。

2.2 大鼠血清 NO 和 MDA 的含量

表 2 血清中 NO 和 MDA 的含量

项目	NO(μmol/l)		MDA(nmol/l)	
	试验第 21 d	试验第 42 d	试验第 21 d	试验第 42 d
对照组	28.73±5.83 ^a	25.03±6.68 ^a	7.47±1.49 ^{ab}	8.4±0.69 ^a
试验 A 组	30.65±3.56 ^a	31.78±4.46 ^b	8.48±1.51 ^b	11.29±1.76 ^b
试验 B 组	21.53±2.09 ^b	21.25±5.41 ^c	6.12±1.47 ^a	7.19±0.72 ^a
试验 C 组	25.81±6.14 ^{ab}	22.55±7.63 ^{ac}	7.03±1.92 ^{ab}	8.55±1.22 ^a

从表 2 中可以看出,试验第 21 d 大鼠血清中 NO 的含量试验 B 组显著低于对照组和试验 A 组,其中对照组比试验 A 组低 6.26%($P>0.05$);试验 C 组比对照组低 10.16%($P>0.05$)。试验第 42 d 试验 A 组大鼠

血清中 NO 的含量显著高于其它各组,对照组和试验 C 组分别比试验 B 组高 17.79%($P<0.05$)和 6.12%($P>0.05$),试验 C 组稍低于对照组($P>0.05$)。

试验第 21 d 试验 B 组大鼠血清中 MDA 的含量显著低于试验 A 组,其它各组差异不显著。试验第 42 d 试验 A 组大鼠血清中 MDA 的含量显著高于其它各组,对照组和试验 C 组分别比试验 B 组比高 16.83%($P<0.05$)和 18.92%($P<0.05$),试验 C 组稍高于对照组($P>0.05$)。

3 讨论

3.1 高不饱和脂肪酸日粮对大鼠自由基代谢的影响

不饱和脂肪酸根据双键个数的不同,可分为具有一个双键的单不饱和脂肪酸(Monounsaturated Fatty Acid, MFA)和带有两个和两个以上双键的多不饱和脂肪酸(Polyunsaturated Fatty Acid, PUFA)。单不饱和脂肪酸主要是油酸,多不饱和脂肪酸有亚油酸、共轭亚油酸(CLA)、亚麻酸、花生四烯酸等。葵花籽油中的不饱和脂肪酸含量很高,其中油酸约 65%,亚油酸约 20%。自由基学说认为,自由基产生于细胞和组织的氧化代谢反应过程中,自由基的不可逆累积可导致诸多损害,引发许多病变,其中一个重要危害主要表现在活性氧自由基能攻击生物膜上的多不饱和脂肪酸(PUFA),引发膜脂质过氧化链式反应(chainreaction),导致自由基的扩增和膜脂质过氧化(LPO)加深,过氧化脂质(LPO)经过氧化物酶分解,生成丙二醛(MDA),MDA 与蛋白质、肽类或脂类聚合、交联形成脂褐质,从而引

起膜结构和功能的改变,加剧细胞的损伤。由于多不饱和脂肪酸(PUFA)易于被自由基和其它的活性氧种类氧化。因此摄入高的 PUFA 可能会使机体对脂质过氧化反应更加敏感^[1]。

饲喂高脂饲料会引起机体 MDA 含量增加,SOD 酶的活力下降^[2]。本试验通过在日粮中添加 20% 的葵花籽油制造大鼠机体自由基损伤模型,结果显示试验第 21 d 大鼠血清中 SOD 活力高不饱和脂肪酸组比对照组低 3.61%(P>0.05), GSH-Px 活力比对照组低 5.30%(P<0.05),且 NO 和 MDA 含量均比对照组提高,但差异不显著;试验第 42 d 大鼠血清中 SOD 和 GSH-Px 活力高不饱和脂肪酸组显著低于对照组,NO 和 MDA 含量均比对照组升高,且差异显著,表明模型建立成功。认为当长期过多摄入不饱和脂肪酸时,会引起体内脂质过氧化反应上升和抗氧化酶活性降低,造成大鼠自由基代谢损伤,丰富了人们对不饱和脂肪酸的认识。在畜牧业中,畜禽日粮中添加多不饱和脂肪酸,要充分考虑到种类和剂量才能取得较好的生产效果和经济效益。

3.2 微生物源性抗氧化剂对大鼠自由基代谢的影响

试验用微生物源性抗氧化剂由光合菌和酵母菌等发酵生产,含有来源于光合菌、酵母菌及其培养物的胡萝卜素、VB₁、VB₂、VB₁₂、还原型 VC、槲皮酮-3-D 吡喃葡萄糖(栎素)、槲皮酮(类黄酮)、肌醇和多种微量元素的金属衍生物。最新研究结果显示,类黄酮能清除体内自由基,具抗脂质过氧化作用^[3-4]。胡萝卜素、VE、VC 等均为抗氧化维生素,作为脂质过氧化自由基的清除剂,参与构成体内氧化系统,保护生物膜上的多不饱和脂肪酸及其它蛋白质巯基免受自由基攻击,从而维持细胞膜的完整及细胞内巯基化合物的正常功能^[5]。它们的单独使用具有一定的自由基清除作用,而抗氧化维生素的联用,显示出协同效果,即可使其在较小剂量情况下产生较强的清除自由基功能^[6]。

经研究发现,与对照组相比,试验 B 组 SOD 和 GSH-Px 酶活力最高,试验 C 组比试验 A 组有明显的增加,说明它们清除氧自由基的能力相对较强,即微生物源性抗氧化剂发挥了它的抗氧化作用。且随着试验时间的延长,微生物源性抗氧化剂的抗氧化作用逐渐增强,试验第 42 d,试验 C 组 SOD 和 GSH-Px 酶活力已经接近对照组的水平,机体损伤逐渐减轻。

测定 MDA 能够间接地反映机体内氧自由基代谢状况、机体组织细胞受自由基攻击的程度及脂质过氧化的程度^[7-8]。本试验中,试验 B 组 MDA 含量最少,试

验 C 组 MDA 含量与对照组相当,说明微生物源性抗氧化剂可以在一定程度上减轻机体的脂质过氧化反应。这与大量文献报道的补充抗氧化营养素后,脂质过氧化产物 MDA 的含量降低的结果一致^[6,9]。

有研究表明,给大鼠饲喂高饱和脂肪酸饲料增加了其肝和结肠中 iNOS(一氧化氮合酶)的活性,刺激整个机体和骨骼肌线粒体自由基的产生和损害 DNA 的氧化^[10-11]。本研究结果显示,试验 B 组的 NO 含量分别比相应的对照组低,试验 C 组比相应的试验 A 组低。随着试验时间的推移,差异显著。提示微生物源性抗氧化剂对高不饱和脂肪酸致大鼠组织的氧化损伤具有明显的拮抗作用。由此可推测其可能通过抑制自由基形成和脂质过氧化作用来修复其损伤。微生物源性抗氧化剂作为复合自由基清除剂,可在一定程度上提高动物的抗氧化能力,从而增强其生产性能。

参考文献

- [1] 陶新,许梓荣,汪以真.营养物质对生物自由基产生及清除影响的研究进展[J].中国畜牧杂志,2005,41(10):61-64
- [2] 成龙,梁日欣,杨滨,等.红花提取物对高脂血症大鼠降脂和抗氧化的实验研究[J].中国实验方剂学杂志,2006,12(9):25-27
- [3] 鲁文胜.超氧化物歧化酶的测定方法及其应用[J].六安师专学报,1999(15):62-65.
- [4] Esterbauer H J, Gebicki H P. The Role of Lipid Peroxidation and Antioxidants on Oxidative Modification of LDL[J]. Free Radical Biology and Medicine, 1992,13:341-390.
- [5] Mates J M. Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology [J]. Toxicology, 2000, 153(13): 83-104.
- [6] Zahl P A, Bjerknes C. Induction of decidual-placental hemorrhage in mice by the endotoxins of certain gram negative bacteria[J]. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 1943, 54:329-332.
- [7] 薛丽英,李杰,王更新,等.脂多糖诱导的非特异性炎症对大鼠睾丸功能的影响[J].生殖与避孕, 2006,26(2):77-80.
- [8] Cai X Q, Marik J J. Improving penetrating capacity of spermatozoa with poor motility of caffeine at coincubation with zona-free hamster ova[J]. Fertil Steril., 1989, 51:719-721.
- [9] Rieder R T, Thomas L. Studies of the mechanism involved in the production of abortion by endotoxin[J]. Immunol., 1960,84:189-193.
- [10] Wan G H, Ohnomi S, Kato N. Increased hepatic activity of inducible nitric oxide synthase in rats fed on a highfat diet[J]. Biotechnology and Biochemistry, 2000,64:555-561
- [11] Haegele A D, Briggs S P, Thompson H J. Antioxidant status and dietary lipid unsaturation modulate oxidative DNA damage [J]. Free Radical Biology and Medicine, 1994,16:111-115.

(编辑:沈桂宇,guiyush@126.com)

不同粉碎粒度对大豆分离蛋白(SPI) 及棉粕分离蛋白(CPI)提取率的影响

李宝山 王际英 张利民 王世信 黄炳山 孟宪菊 段培昌

摘要 采用传统的碱溶酸沉法提取了大豆粕及棉籽粕中大豆分离蛋白(SPI)及棉粕分离蛋白(CPI),并分别测定了棉籽粕,60目棉粕分离蛋白和80目棉粕分离蛋白中游离棉酚的含量,结果显示,60目及80目大豆粕中大豆分离蛋白的提取率分别为39.82%和44.95%(P<0.05),粗蛋白含量分别为81.07%和71.35%;60目及80目棉籽粕中棉粕分离蛋白的提取率分别为23.22%和35.39%(P<0.05),粗蛋白含量分别为76.03%和82.44%;棉籽粕、60目棉粕分离蛋白及80目棉粕分离蛋白中游离棉酚的含量分别为2 182.54、522.79和503.87 mg/kg(P<0.01)。综上所述,不同的粉碎粒度对大豆分离蛋白和棉粕分离蛋白的提取率有显著的影响,碱溶酸沉法显著降低了棉粕分离蛋白中游离棉酚的含量。

关键词 大豆分离蛋白;棉粕分离蛋白;提取率

中图分类号 S816.34

Effect of different grinding particle sizes on the extraction rates of soybean protein isolated (SPI)
and cottonseed meal protein isolated (CPI)

Li Baoshan, Wang Jiying, Zhang Limin, Wang Shixin, Huang Bingshan, Meng Xianju, Duan Peichang
Abstract Extract the SPI and CPI from soybean meal and cottonseed meal by traditional base-dissolve and acid-deposit, and determined the free gossypol of CPI. The results illustrated that the extraction of SPI from 60 or 80 meshes comminuted soybean meal were 39.82% and 44.95%(P<0.05), crude protein were 81.07% and 71.35%, respectively; the extraction of 60 or 80 meshes comminuted cottonseed meal were 23.22% and 35.39%(P<0.05), crude protein contents were 76.03% and 82.44%, respectively; the free gossypol of cottonseed meal, 60 or 80 meshes comminuted cottonseed meal were 2 182.54 mg/kg, 522.79 mg/kg and 503.87 mg/kg (P<0.01). It can be concluded that the extraction of SPI or CPI were significantly effected by different comminute granularity, the content of free gossypol were significantly decreased by base-dissolve and acid-deposit.

Key words soybean protein isolated;cottonseed meal protein isolated;extraction rates

豆粕是优质的蛋白原料,是替代鱼粉的最佳选择,但是与鱼粉相比豆粕中的蛋白含量较低(43%左右),限制了豆粕在饲料的用量。为了弥补这个缺点,工业上一般采用碱溶酸沉法将大豆分离蛋白从豆粕中提取出来,大豆分离蛋白的粗蛋白含量一般在90%以上,可以有效提高饲料的蛋白含量。但是碱溶酸沉

法提取大豆分离蛋白要求原料采用低温豆粕,而目前国内90%以上的浸油工业采用的是高温脱脂工艺。此外,近年来豆粕的价格不断上涨,这些因素都大大提高了大豆分离蛋白的成本,限制了其在饲料中的应用。棉籽粕是棉籽浸油的副产物,其氨基酸组成较为平衡,但是蛋白含量较低(40%左右),且棉籽粕中含有游离棉酚,限制了其在饲料中的应用。因此,本实验采用传统的碱溶酸沉法提取了不同粉碎粒度的高温大豆粕和棉籽粕中的大豆分离蛋白和棉粕分离蛋白,并测定了棉粕分离蛋白中游离棉酚的含量,希望能为高温豆粕及棉粕的开发利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

李宝山,山东海洋水产研究所,264006,山东烟台开发区长江路216号710。

王际英、张利民、王世信、黄炳山,单位及通讯地址同第一作者。

孟宪菊、段培昌,上海海洋大学。

收稿日期:2008-08-27

高温大豆粕和一浸棉籽粕(购自市场)、氢氧化钠、盐酸、异丙醇、正己烷、苯胺、冰乙酸、3-氨基-1-丙醇、蒸馏水、纯水。实验所用药品均为分析纯。

1.2 实验仪器

高速万能饲料粉碎机(天津,泰斯特)、分析天平(HR-200)、恒温磁力搅拌器(江苏国胜,79-1)、恒温水浴锅(HH.S21-4)、离心机(Hitachi,CR-21G)、pH计(雷磁,PHS-3E)、凯氏定氮仪(Foss,2100)、分光光度计(Hitachi,u-2010)、恒温水浴振荡器(科协,SHA-

B)、冷冻干燥机(ZDGX5)。

1.3 实验方法

实验分为4个处理,分别为60目豆粕组、60目棉粕组、80目豆粕组、80目棉粕组。每处理3个重复。取部分豆粕、棉粕用高速万能粉碎机粉碎,全部过60目或80目。

半微量凯氏定氮法测定豆粕(或棉粕)中粗蛋白的含量,105℃恒重法测定豆粕(或棉粕)中水分的含量。

SPI或CPI的提取过程见图1。

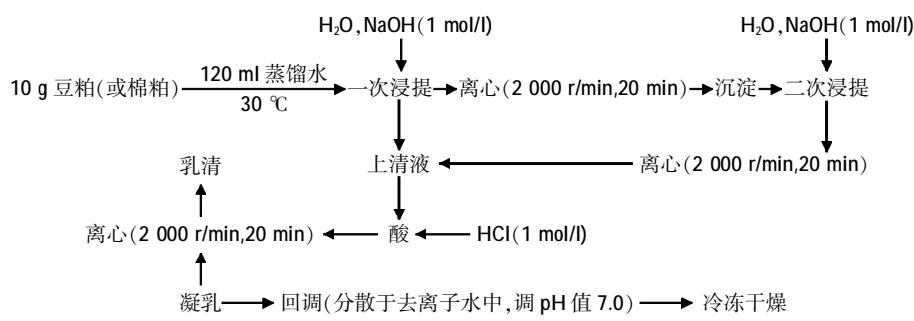


图1 SPI或CPI的提取过程

提取条件如下:第一次浸提料液比1:12,充分混匀,1 mol/l NaOH调pH值至9.0,搅拌15 min后,静置30 min。第二次浸提料液比1:8,充分混匀,1 mol/l NaOH调pH值至9.0,搅拌15 min后,静置30 min。酸沉用1 mol/l HCl调pH值4.5,停止搅拌,静置30 min。回调液-40℃冷冻,ZDGX5型真空干燥机55℃干燥15 h。

半微量凯氏定氮法测定分离蛋白中粗蛋白的含量。

$$\text{SPI 提取率}(\%) = P_1/P_0 \times 100$$

式中:P₀—豆粕中粗蛋白含量(g);

P₁—分离蛋白中粗蛋白含量(g)。

1.4 游离棉酚的测定

采用饲料中游离棉酚的测定方法(GB 13086—91)测定。苯胺加入锌粉蒸馏后,置于棕色瓶中,4℃贮存。

1.5 结果处理

实验所得数据采用SPSS 11.5 for windows进行Independent-samples T test分析,结果以平均值±标准差(mean±SD)表示;当P<0.05时,视为差异显著,当P<0.01时,视为差异极显著。

2 结果

2.1 实验所用大豆粕及棉籽粕中粗蛋白的含量(见表1)

表1 大豆粕及棉籽粕中水分及粗蛋白的含量(%)

项目	水分	粗蛋白
大豆粕	9.12±0.06	44.47±0.19
棉籽粕	10.92±0.31	41.02±0.13

2.2 大豆分离蛋白及棉粕分离蛋白的提取率(见表2)

表2 SPI及CPI的提取率(%)

项目	SPI 提取率	粗蛋白含量
60目豆粕组	39.82±0.56 ^c	81.07±1.55
80目豆粕组	44.95±2.11 ^d	78.35±0.32
60目棉粕组	23.22±1.78 ^a	76.03±2.01
80目棉粕组	35.39±1.84 ^b	82.44±2.91

注:同列数据肩标大写字母不同表示二者之间有极显著性差异(P<0.01)。

由表2可见,60目及80目豆粕组大豆分离蛋白的提取率分别为39.82%和44.95%,两者差异极显著(P<0.05),分离蛋白中粗蛋白的含量分别为81.07%和78.35%;60目及80目棉粕组棉粕分离蛋白的提取率分别为23.22%和35.39%,两者差异极显著(P<0.01),分离蛋白中粗蛋白的含量分别为76.03%和82.44%。可见,不同的粉碎粒度显著改变了大豆分离蛋白及棉粕分离蛋白的提取率,但是对其粗蛋白含量改变不显著。

2.3 棉籽粕及棉粕分离蛋白中游离棉酚的含量(见表3)

表3 棉籽粕及棉粕分离蛋白中游离棉酚的含量(mg/kg)

项目	棉籽粕	60目棉粕分离蛋白	80目棉粕分离蛋白
棉酚含量	2 182.54±103.33 ^{bc}	889.13±113.69 ^{ab}	503.87±36.57 ^a

注:同行数据肩标小写字母不同,表示二者之间有显著性差异($P<0.05$),大写字母不同表示二者之间有极显著性差异($P<0.01$)。

由表3可见,棉籽粕与60目棉粕分离蛋白、80目棉粕分离蛋白中游离棉酚的含量分别为2 182.54、889.13和503.87 mg/kg,各组之间存在不同差异。碱溶酸沉显著降低了棉粕分离蛋白中游离棉酚的含量。

3 讨论

3.1 不同粉碎粒度对大豆分离蛋白及棉粕分离蛋白提取率的影响

碱溶酸沉法是利用蛋白质在酸碱条件下溶解度不同的性质将蛋白质提取出来的。大部分的蛋白质在碱性条件下(pH值8.5左右)溶解度较大,而在酸性条件下(pH值4.5左右)溶解度较小,因此在原料一定的前提下,提取方法对分离蛋白的提取率影响不大。本实验中,60目及80目豆粕的分离蛋白提取率分别为39.82%和44.95%,而杨晓泉等(2003)实验证明,200目豆粕的分离蛋白提取率为49.58%,可见不同的粉碎粒度对分离蛋白的提取率有显著影响,粒度越小,提取率越高,这是因为相同质量的物质中包含的颗粒越多,其比表面积越大,比表面积越大,底物与提取溶剂接触的面积越大。此外,粉碎粒度越小,原料细胞壁被破坏的越严重,越有利于提取溶剂跟细胞内容物接触。

本实验中棉粕分离蛋白的提取率显著低于大豆分离蛋白,这可能由棉粕蛋白与大豆蛋白之间的差异导致的。此外,本实验所采用的是大豆分离蛋白的提取方法,pH值9.0与pH值4.5对棉粕分离蛋白不一定是最合适的,这些都有待于进一步研究。

3.2 提取工艺对棉粕分离蛋白中游离棉酚含量的影响

棉酚是一种黄色化合物,具有抑制精子发生和活动的作用。棉籽粕中的棉酚有结合棉酚和游离棉酚两种形式,具有毒性活性的是游离棉酚。工业生产中用蒸煮法、硫酸亚铁法、膨化法等去除棉粕中的游离棉酚,用碱炼法去除棉籽油中游离棉酚。本实验中,采用碱溶酸沉处理之后,棉粕分离蛋白中游离棉酚的含量有了显著降低,这是由于棉酚易溶于有机溶剂,而碱溶酸沉中应用的全是无机试剂,棉酚在其中的溶解度较小,可能是大部分棉酚残留在提取残渣中之故。

3.3 生产中存在的问题

工业生产中用低温豆粕提取大豆分离蛋白,提取率较高,而国内90%以上的浸油工业的副产物是高温豆粕,此外还由于特殊的生产工艺和原料的涨价,这些都大大提高了大豆分离蛋白的成本,限制了其在饲料工业中的应用。棉粕分离蛋白的生产需要低温棉粕和适合棉籽蛋白的提取条件,低温棉粕需要改进棉籽的榨油工艺,而适合棉籽蛋白的提取条件需要进一步的探索。

4 结论

不同的粉碎粒度对大豆分离蛋白和棉粕分离蛋白的提取率有显著影响。碱溶酸沉显著降低了棉粕分离蛋白中游离棉酚的含量。

参考文献

- [1] 姜光丽.大豆分离蛋白和去皮豆粕对幼建鲤体蛋白沉积的影响[J].大连水产学院学报,2005,20(3):198-202.
- [2] 黄友如,华欲飞,袁爱泳.醇洗豆粕对大豆分离蛋白功能性质的影响(I)-凝胶性能[J].中国油脂,2003,28(10):54-57.
- [3] 李宝山,王际英,张利民,等.超声波对大豆分离蛋白(SPI)提取率及性质的影响[J].饲料研究,2008,5:1-3.
- [4] 褚弘斌,薛桂婷.大豆分离蛋白主要生产工艺、设备参数的选择[J].食品与发酵工业,1997,23(4):44-48.
- [5] 左进华,董海洲,侯汉学.大豆蛋白生产与应用现状[J].粮食与油脂,2007(5):12-15.
- [6] 吴波,闫中一,李永明.棉籽蛋白粉的生物脱毒研究[J].中国油脂,1996,21(6):28-29.
- [7] 刘长林.无毒高蛋白质棉仁粉的研究[J].北京工业大学学报,1996,22(2):119.
- [8] 仲明,高庆华.新疆塔里木垦区棉粕几种脱毒方法及效果分析[J].饲料研究,1998(1):27-28.
- [9] 王曙光.棉籽饼粕脱毒技术经济分析[J].中国油脂,1995,20(4):38-39.
- [10] 崔志芹.从双液相棉粕中制备浓缩蛋白和分离蛋白[D].南京工业大学博士论文,2004: 6.
- [11] 杨晓泉,熊健,陈中,等.低频超声对豆粕蛋白浸出率及SPI功能特性的影响[J].华南理工大学学报(自然科学版),2003,31(11):30-33.

(编辑:沈桂宇,guiyush@126.com)

不同培养温度对嗜酸乳杆菌 BL-A1 生物学特性的影响

李孝辉 叶琪明 李艳丽

摘要 采用 MRS 培养基对嗜酸乳杆菌 BL-A1 菌株在 30 ℃和 37 ℃不同培养温度下的生长、产酸、耐盐、耐胆酸盐及培养物抗菌性等部分生物学特性进行了研究。结果表明,该菌在 37 ℃培养时具有繁殖速度快、产酸能力强的特点,而在 30 ℃培养时具有更强的耐盐、耐胆酸盐能力。两个不同温度培养下的嗜酸乳杆菌的代谢物对大肠杆菌和枯草芽孢杆菌都具有很强的抑制作用。

关键词 嗜酸乳杆菌;培养温度;生物学特性

中图分类号 S816.3

Effects of culture temperature on biological properties of *Lactobacillus acidophilus* BL-A1

Li Xiaohui, Ye Qiming, Li yanli

Abstract Some biological properties such as growth, acid production, tolerance to NaCl and bile salt, antimicrobial ability of *Lactobacillus acidophilus* BL-A1 was studied by using MRS medium at culture temperature 30 ℃and 37 ℃. Result indicated at 37 ℃ the strain grow faster and produce more acid, but culture at 30 ℃ the tolerance to NaCl and bile salt was better. At two different temperature the culture metabolite were strongly restrict the growth of *E. coli* and *bacillus subtilis*

Key Words *Lactobacillus acidophilus*;culture temperature;biological properties

饲用微生物活菌制剂能维持、调整动物肠道内微生态平衡,直接或间接对病原菌起干扰、排除、拮抗作用,从而提高抗病能力,提高动物生产水平。由于其具有无抗药性、无残留,且还有提高动物生产性能和预防疾病的作用,可克服长期大量使用抗生素造成的一些不良后果,被认为是抗生素潜在的、天然的、对环境和健康无害的替代物。嗜酸乳杆菌具有较强的耐酸、耐盐和耐胆酸盐能力,不用任何处理就能顺利通过胃肠道环境而有效定植于动物肠道内形成优势种群,而且其代谢产生的乳酸和乳酸菌素等可直接作用于病源细菌。这是其它饲用微生物活菌剂无法比拟的。嗜酸乳杆菌这种独特的生理、生化特性被认为是最理想的促生长替代抗生素的活菌剂,具有广阔的发展应用前景^[1-2]。

作为饲用微生物菌剂,嗜酸乳杆菌在单独发酵生产中,一般采用 37 ℃左右的培养温度,在与酵母等真

菌混合发酵时,一般采用 30 ℃左右的培养温度;在与双歧杆菌等其它类细菌混合发酵时,一般采用 37 ℃左右的培养温度^[3-5]。对微生物来说,虽然是同一菌株,但在不同的培养温度条件下,对其培养物的特性可能有不同的影响。本文主要研究了以 MRS 培养基为发酵培养基,嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)BL-A1 在 30 ℃和 37 ℃培养条件下的发酵物的不同生物学特性。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种

嗜酸乳杆菌 (*Lactobacillus acidophilus*)BL-A1 菌株、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)CMCC63501、大肠杆菌 (*Escherichia coli*)CMCC 44103 均由本研究室保藏。

1.1.2 培养基

嗜酸乳杆菌培养采用 MRS 培养基,枯草芽孢杆菌和大肠杆菌培养均采用 LB 培养基。

1.1.3 主要设备仪器

手提式高压灭菌锅、生化培养箱、超净工作台、精密 pH 计。

1.2 方法

李孝辉,浙江省农业科学院植物保护与微生物研究所,副研究员,310021,浙江杭州市石桥路 198 号。

叶琪明、李艳丽,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2008-08-11

1.2.1 活菌菌数测定

参照 GB/T20191—2006,采用 MRS 培养基混菌法平板测定。

1.2.2 发酵液的酸度测定

采用精密 pH 计。

1.2.3 耐胆酸盐测定

在 MRS 培养基中加入猪胆酸盐,使其质量数分别为 0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%,分装于 100 ml 小三角瓶中,每瓶 75 ml,每个浓度 3 瓶,加入数滴 1.6% 溴钾酚紫溶液为指示剂。接种已活化好的嗜酸乳杆菌(5%)到分装好的无菌培养基中,恒温培养 3 d,观察其颜色的变化,当溶液由紫变黄时,说明嗜酸乳杆菌在生长、产酸。

1.2.4 耐盐测定

在 MRS 培养基中加入 NaCl,使其质量数分别为 5%、6%、7%、8%、9%、10%,以下步骤同上耐胆酸盐测定。

1.2.5 代谢物抑菌效果的测定

本试验采用纸片扩散法^[6]。将活化后的大肠杆菌、枯草芽孢杆菌分别接种 LB 试管斜面,37 ℃培养 18~20 h。用灭菌的生理盐水将斜面上的菌体洗脱下来,菌体浓度调整为 10^6 个/ml 左右,取 1 ml 与熔化的固体 LB 培养基混合,分别制成平板。取经 37 ℃培养 12 h、30 ℃培养 20 h 的嗜酸乳杆菌发酵液,发酵培养液经 4 000 r/min 离心 10 min,取上清液,用 1 N 的 NaOH 调 pH 值至 6.5~7.0 之间,备用待测。用直径 10 mm 的灭菌滤纸圆片在备用待测的嗜酸乳杆菌发酵上清液浸一下,稍凉干,然后放置于平板中。37 ℃培养 18~24 h 后,用游标卡尺测量抑菌圈直径。

2 结果与讨论

2.1 不同培养温度对嗜酸乳杆菌生长产酸特性的影响

取 24 个 100 ml 的三角瓶,各装入 75 ml MRS 培养基,121 ℃、15 min 灭菌。每只三角瓶接入培养好的新鲜种子液 4 ml,各 12 瓶置于 30 ℃和 37 ℃恒温条件下静止培养。不同的培养温度下,每隔 2 h 取出一瓶,摇匀取样,用精密 pH 计测定酸度,混菌法平板计数测定其活菌数。其产酸和活菌数随时间变化情况见图 1 和图 2。

由图 1 和图 2 可以看出,嗜酸乳杆菌 BL-A1 在 30 ℃培养条件下,20 h 达到生长、产酸高峰,pH 值稳

定在 3.5 左右。37 ℃培养时 12 h 达到生长、产酸高峰,pH 值稳定在 3.2 左右。在 30 ℃培养条件下,其产酸速度和生长速度比在 37 ℃培养时的慢,而且在 30 ℃培养时产酸能力和繁殖能力要比在 37 ℃培养时要弱。这说明培养温度不同,嗜酸乳杆菌 BL-A1 生长特性也不同,生长及产酸达到高峰后,在较高温度及低 pH 值条件下活菌数下降较快,在 20 h 后,37 ℃培养条件下的活菌数少于 30 ℃培养条件下的活菌数,而且呈连续下降势态。30 ℃培养条件下,在活菌数达到最高点后保持平稳势态。

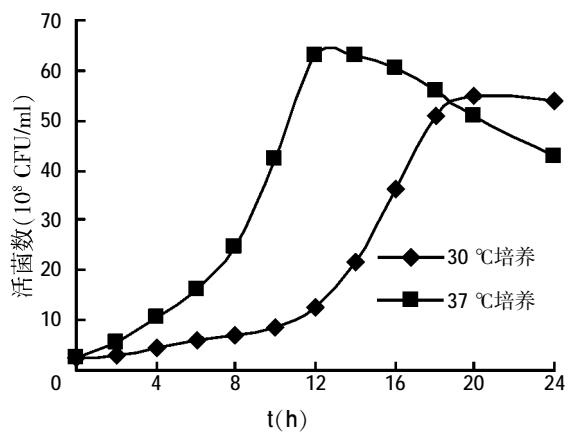


图 1 BL-A1 在 MRS 培养基中的生长曲线

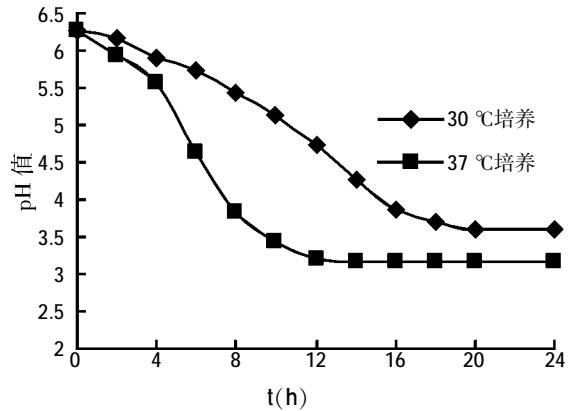


图 2 BL-A1 在 MRS 培养基中的产酸曲线

2.2 嗜酸乳杆菌耐胆酸盐和盐的能力测定

嗜酸乳杆菌耐胆酸盐及盐能力是其重要特征,其值的高低则意味着其在动物肠道中的存活能力的高低。嗜酸乳杆菌 BL-A1 耐胆酸盐及盐能力测试结果见表 1 和表 2。

从表 1、表 2 可以看出,嗜酸乳杆菌 BL-A1 耐胆酸盐能力较强,而在 30 ℃培养条件下,要比 37 ℃培

养条件下耐胆酸盐能力更强。在能耐胆酸盐浓度达0.3%~0.4%的情况下,嗜酸乳杆菌BL-A1是可以承受动物消化道中胆酸盐的考验而存活下来的。

表1 不同温度培养的BL-A1耐胆酸盐能力的测定

猪胆酸盐质量分数(%)	显色结果	
	30 ℃	37 ℃
0.1	+	+
0.2	+	+
0.3	+	+
0.4	+	-
0.5	-	-

注:“+”为嗜酸乳杆菌生长;“-”为不生长;下表同。

表2 不同温度培养的BL-A1耐NaCl能力的测定

NaCl质量分数(%)	显色结果	
	30 ℃	37 ℃
5	+	+
6	+	+
7	+	+
8	+	+
9	+	-
10	+	-

嗜酸乳杆菌BL-A1在37℃培养条件下,能在8%的盐中能生长,表现出强的耐盐的能力。而30℃培养条件下能在10%的盐中生长,说明该菌株具有优良的耐盐能力。

2.3 不同培养温度的嗜酸乳杆菌发酵代谢物抗菌能力的测定

以枯草芽孢杆菌为革兰氏阳性菌指示菌,以大肠杆菌为革兰氏阴性菌指示菌,观察不同培养温度下,嗜酸乳杆菌BL-A1发酵代谢物对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌的抑制能力。由于微生物活菌剂发酵一般采用对数生长期结束就停止继续发酵的工艺,所以嗜酸乳杆菌BL-A1在37℃和30℃不同的培养温度下培养,在达到各自的对数生长期结束时取样,37℃培养为12 h取样,30℃培养为20 h取样,样品经处理后用纸片扩散法进行抗菌测定。抑菌圈大小测定数据如图3所示。

由图3可以看出,嗜酸乳杆菌BL-A1对革兰氏阳性菌枯草芽孢杆菌、革兰氏阴性菌大肠杆菌均具有较强的抑制作用。对革兰氏阳性菌枯草芽孢杆菌来说,30℃培养产生的代谢物要比在37℃培养时产生的代谢物对其抑制作用要强;对革兰氏阴性菌大肠杆菌来说,30℃培养产生的代谢物要比在37℃培养时产生的代谢物对其抑制作用稍弱。

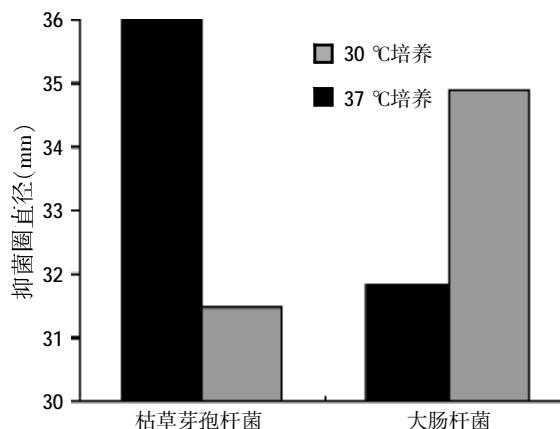


图3 不同温度培养代谢物抑菌作用

3 结论

虽然嗜酸乳杆菌的生长温度范围较大,在15~45℃均能生长,而在30℃和37℃均能生长良好。但不同的培养温度条件对菌体的一些生物学特性及代谢产物有着不同的影响。在37℃的培养条件下,其生长繁殖能力、繁殖速度和产酸能力较30℃培养的强,但菌体抗胆酸盐和盐的能力不如30℃培养的高。在代谢产物抗菌能力方面,两个培养温度下的代谢产物均具有较强的抗菌能力,37℃培养的代谢产物对大肠杆菌的抗性相对强一些,而30℃培养的代谢产物对枯草芽孢杆菌的抗性要强。

参考文献

- [1] 王丽娟.益生菌的研究及应用进展[J].饲料博览,1999,11(1):15-18.
- [2] 蒋文泓.一种新型药物和饲料添加剂——动物微生态制剂[J].兽药与饲料添加剂,2000,5(1):18-20.
- [3] 蒋长苗,刘旭光,丁建平.微生态血粉研制与应用[J].中国微生态学杂志,1999,11(4):233-235.
- [4] 张帆,王建华,杨雅麟,等.嗜酸乳杆菌和乳酸链球菌混合培养及产物分析[J].食品与发酵工业,2007(6):53-56.
- [5] 张庆华,王艳华,赵新海.双菌种固态发酵生产新型活菌制剂的研究[J].饲料工业,2003,24(2):7-8.
- [6] 刘志恒.现代微生物学[M].北京:科学出版社,2003.

(编辑:沈桂宇,guiyush@126.com)

载铜硅酸盐纳米微粒对不同品种断奶仔猪粪便中微生物菌群影响的研究

关正萍 潘晓亮 徐奇 杨武 孙敬礼 孙雪雪

仔猪腹泻是一种由多种病原因素引起的疾病,常见的有仔猪黄痢、白痢及早期断奶腹泻综合症等,发病率高,严重影响仔猪的生长发育,甚至引起死亡,给畜牧业造成巨大损失。病原性细菌感染是引起仔猪下痢的主要原因之一。一般认为,腹泻影响肠道菌群的构成;肠道菌群异常也容易引起腹泻。众所周知,抗生素是治疗腹泻的有力武器。但长期使用抗生素,会对肠道有益菌和有害菌不加区别的施加影响,肠道内的有益菌也可遭到破坏,导致微生态失衡;而长期使用会导致某些菌产生耐药性、药物残留以及耐药性传递问题。

本试验研究不同铜剂且重点探讨纳米铜对不同品种断奶猪在试验结束后粪便中微生物菌群(大肠杆菌和沙门氏菌)的影响,为探索纳米铜在生产实践中能更快更好地代替高铜等抗生素提供指导;进而为保障人类健康及其尽可能的开发绿色无污染食品做贡献。

1 材料与方法

1.1 试验动物与分组

选择(35 ± 2)日龄的“杜大”和“杜斯”断奶猪共两个品种48头,每一品种24头,按照体重相近、公母各半、同一圈中每头仔猪尽可能来自不同母猪的原则,采用完全随机化区组设计,分3组(每组8头)。设1组为对照组(基础日粮,含Cu 10 mg/kg,以CuSO₄的形式添加);2组为CSN组[基础日粮+Cu 10 mg/kg,以载铜硅酸盐纳米微粒(CSN)的形式添加];3组为高铜组(基础日粮+Cu 180 mg/kg,以CuSO₄的形式添加)。试验猪采用群饲,自由采食和饮水,试验前对猪舍进行消毒,预试期6 d,正试期45 d。平均体重差异不显著($P>0.05$)。试验的基础日粮组成和营养水平见表1、表2。

表1 试验基础日粮组成和营养水平

原料	组成(%)	营养水平
玉米	63	消化能(MJ/kg) 13.17
大豆粕	17	粗蛋白(%) 18.48
小麦麸	10	粗脂肪(%) 3.67
棉籽粕	6	钙(%) 0.84
复合预混料	4	磷(%) 0.61
		赖氨酸(%) 1.07
		蛋氨酸(%) 0.26

表2 4%复合预混料组成(g)

项目	对照组	试验组I	试验组II
成分			
膨化大豆	75.07	75.07	75.07
秘鲁鱼粉	250	250	250
粉状石粉	95.07	95.07	95.07
磷酸氢钙	225.07	225.07	225.07
食盐	50	50	50
L-赖氨酸盐酸盐	35.07	35.07	35.07
多维	7.6	7.6	7.6
矿物质添加剂I	250	-	-
矿物质添加剂II	-	250	-
矿物质添加剂III	-	-	250
氯化胆碱	12.53	12.53	12.53

- 注:1. 每千克矿物质添加剂I提供:FeSO₄·H₂O 48.04 g,CuSO₄·5H₂O 4 g,ZnSO₄·H₂O 40.46 g,MnSO₄·H₂O 11.51 g,KI 3.94 g,Na₂SeO₃ 7.69 g,碳酸钙 884.4 g;
 2. 每千克矿物质添加剂II提供:FeSO₄·H₂O 48.04 g,纳米铜 25 g,ZnSO₄·H₂O 40.46 g,MnSO₄·H₂O 11.51 g,KI 3.94 g,Na₂SeO₃ 7.69 g,碳酸钙 863.3 g;
 3. 每千克矿物质添加剂III提供:FeSO₄·H₂O 48.04 g,CuSO₄·5H₂O 72.04 g,ZnSO₄·H₂O 40.46 g,MnSO₄·H₂O 11.51 g,KI 3.94 g,Na₂SeO₃ 7.69 g,碳酸钙 816.3 g。

1.2 饲养管理

试验期,仔猪于克拉玛依试验场代谢实验室饲养。试验前,实验室和代谢笼经反复冲洗,用碱水和白毒杀消毒,最后对圈舍熏蒸消毒(每立方米用25 ml甲醛和25 g高锰酸钾加水12.5 ml,密闭门窗,熏蒸24 h)。

仔猪35~40日龄采用母猪带仔基础料诱饲;仔猪于40日龄转入代谢笼中,每个代谢笼饲喂8头。自由饮水和自由采食。前两周每天定时饲喂3次(10:00、14:00、20:00),以后每天饲喂2次(10:00、20:00),每次以吃饱后略有剩余为度。同时室温应保持在26~28℃,并保持猪舍内清洁卫生和空气流通,定期消毒。试验期间,每天仔细观察并记录仔猪的采食情况、精神状

关正萍,新疆石河子大学动科院,832003,新疆石河子。

潘晓亮(通讯作者)、孙敬礼、孙雪雪,单位及通讯地址同第一作者。

徐奇、杨武,新疆克拉玛依绿成农业开发有限责任公司种猪场。

收稿日期:2008-06-28

况及腹泻,如发现腹泻立即治疗。

1.3 试验样品采集

在试验猪场试验结束称重前分别随机采集各组健康的试验仔猪(每组3头)的粪便,然后在4℃冰箱冷冻放置待测。然后在无菌操作台上进行粪便中微生物(大肠杆菌和沙门氏菌)检测。

1.4 试验器材

生物显微镜 OLYMPUS CX21、4℃冰箱、KW-1型控温仪、电热恒温培养箱 64-5、电子天平 JA3003N、手提式压力蒸汽灭菌器 YXQSG46.280、培养皿、载玻片、酒精灯、接种针、电热套。

1.5 培养基

伊红美蓝琼脂和 S.S 琼脂自备(调制参考李健强等主编的兽医微生物学试验实习指导,1999)。

① 伊红美蓝琼脂配制:蛋白胨 1 g、2%伊红-Y 水溶液 2 ml、磷酸氢二钾 2 g、乳糖 1 g、1%美蓝水溶液 0.65 ml、琼脂 1.8 g、蒸馏水 100 ml, pH 值 7.1~7.3。

② S.S 琼脂配制:牛肉膏 0.5 g、蛋白胨 0.5 g、琼脂 1.3 g、乳糖 1 g、胆盐 1 g、柠檬酸钠 0.85 g、硫代硫酸钠 0.85 g、柠檬酸铁 0.1 g、1%中性红水溶液 0.25 ml、0.1%黄绿水溶液 0.033 ml、蒸馏水 100 ml, pH 值 7.2。

1.6 试验方法

1.6.1 试验步骤

分别从各组的试验猪中采集粪便,然后在实验室进行细菌培养。步骤如下:在超净工作台中立即分别取粪便内容物各 1 g 放入无菌试管中,加入灭菌稀释液(0.9%生理盐水)9 ml,用玻璃棒搅拌 5 min,连续两次,使样品充分摇匀,此液为 10⁻¹ 稀释液,然后再吸取 1 ml 于盛有 9 ml 无菌试管中进行 10⁻² 稀释,搅拌 5 min 后,再依次进行 10⁻³ 倍稀释。分别将不同稀释度的稀释液涂抹于各培养基上(各培养基及灭菌稀释液的调制方法见李健强,1999)。需氧菌 37℃ 有氧培养 18~24 h 后进行菌落计数。采用平板计数法进行菌落计数,并换算成 log₁₀CFU/ml 菌液。即用每毫升原菌液活菌数表示;各稀释度设 3 个重复。

每毫升原菌液活菌数=同一稀释液 3 个以上重复平皿菌落平均数×稀释倍数×10(0.1 ml 加入培养基中)。

1.6.2 细菌鉴定的方法

根据菌群和细胞形态、革兰氏染色、耗氧性来鉴定这两种细菌。

大肠杆菌在伊红美蓝琼脂培养基(EMB)上呈黑色隆起带金属闪光的菌落,表面光滑,边缘整齐,有光泽。革兰氏染色为阴性。显微镜下呈两端钝圆的短杆

状。需氧菌。

沙门氏菌在志贺氏-沙门氏琼脂培养基(SS)上呈乳黄色隆起的中等大菌落,表面光滑,边缘整齐。革兰氏染色为阴性。显微镜下呈短杆状,菌端多发尖。需氧菌。

同时将上述粪便菌液进行 pH 值测定,直接用精确 pH 试纸检测。

2 数据分析及统计

运用统计软件 SPSS11.5 对各项数据进行单因素分析,取 LSD 值对各组间平均数进行多重比较,以 P<0.05(差异显著)作为差异显著性判断标准。

3 试验结果与分析

3.1 纳米载铜硅酸盐对杜洛克×大白猪粪便中大肠杆菌和沙门氏菌及菌液 pH 值的影响(见表 3)

表 3 纳米载铜硅酸盐对杜洛克×大白猪粪便中大肠杆菌和沙门氏菌及其菌液中 pH 值的影响

项目	大肠杆菌 (log ₁₀ CFU/ml 菌液)	沙门氏菌 (log ₁₀ CFU/ml 菌液)	菌液中的 pH 值
对照组	6.03±0.02 ^a	5.99±0.02 ^a	5.94±0.05 ^a
纳米铜组	6.09±0.01 ^a	6.04±0.01 ^a	6.12±0.02 ^b
高铜组	5.88±0.04 ^b	5.83±0.04 ^b	6.44±0.02 ^c

从表 3 可以看出,与对照组相比,纳米铜组大肠杆菌菌落数增加了 1%(P>0.05),差异不显著;高铜组大肠杆菌菌落数降低了 2.49%(P<0.05),差异显著。高铜组与纳米铜组相比,大肠杆菌菌落数降低了 3.45%(P<0.05),差异显著。

与对照组相比,纳米铜组沙门氏菌菌落数增加了 0.84%(P>0.05),差异不显著;高铜组沙门氏菌菌落数降低了 2.67%(P<0.05),差异显著。高铜组与纳米铜组相比,沙门氏菌菌落数降低了 3.48%(P<0.05),差异显著。

与对照组相比,纳米铜组菌液中 pH 值增加了 3.03%(P<0.05),差异显著;高铜组与对照组和纳米组相比,菌液中 pH 值分别增加了 8.42% 和 5.23%(P<0.05),差异显著。

3.2 纳米载铜硅酸盐对杜洛克×斯格猪粪便中大肠杆菌和沙门氏菌及菌液 pH 值的影响(见表 4)

表 4 纳米载铜硅酸盐对杜洛克×斯格猪粪便中和大肠杆菌沙门氏菌及其菌液中 pH 值的影响

项目	大肠杆菌 (log ₁₀ CFU/ml 菌液)	沙门氏菌 (log ₁₀ CFU/ml 菌液)	菌液中的 pH 值
对照组	6.48±0.03 ^a	6.41±0.01 ^a	6.41±0.01 ^a
纳米铜组	5.96±0.03 ^b	5.79±0.01 ^b	5.79±0.01 ^b
高铜组	6.23±0.02 ^c	6.13±0.03 ^c	6.13±0.03 ^c

与对照组相比,纳米铜组大肠杆菌菌落数降低了8.02%($P<0.05$),差异显著;高铜组大肠杆菌菌落数降低了3.85%。高铜组与纳米铜组相比,大肠杆菌菌落数增加了4.53%($P<0.05$),差异显著。

与对照组相比,纳米铜组沙门氏菌菌落数降低了9.67%($P<0.05$),差异显著;高铜组沙门氏菌菌落数降低了4.37%($P<0.05$)。高铜组与纳米铜组相比,沙门氏菌菌落数增加了5.87%($P<0.05$),差异显著。

与对照组相比,纳米铜组菌液中pH值降低了9.67%($P<0.05$),差异显著;高铜组菌液中pH值降低了4.37%($P<0.05$)。与纳米铜组相比,高铜组菌液中pH值增加了5.87%($P<0.05$),差异显著。

4 讨论

铜有抑制肠道不良微生物菌群而促进有益微生物菌群的生长来改变肠道微生物群落的特征。本试验的研究结果表明:高铜对杜洛克×大白猪的影响效果比杜洛克×斯格猪好,笔者认为这可能与猪的品种及其对营养物质的利用程度有关,具体原因还有待进一步研究。

一般来说,猪肠道菌群是相当稳定的,应激能破坏菌群的平衡,总的的趋势是使乳酸菌减少,大肠杆菌的数量增加,进而引起腹泻。仔猪断奶后胃酸的分泌不足以酶系统的发育不健全阻碍了仔猪对日粮蛋白的消化,进入肠道的饲料蛋白是细菌的营养物质,病原菌如大肠杆菌利用其大量繁殖,使病原性腹泻发生。笔者认为,纳米铜的抗腹泻作用在于其生物利用率的提高,以及能被粘膜很好吸收利用,保护粘膜,进而使肠道内环境发生改变,有益菌数量增加。

郭彤(2004)体外杀菌试验表明,CSN本身不具有杀菌、抑菌功能;但将具有杀菌、抑菌功能的金属Cu²⁺离子交换到层间晶格内,构建出的CSN具有强大的灭病原菌的功能。随Cu²⁺浓度的增加,杀菌效果增强。对E. coli K88和S. choleraesuis的MIC(最小抑菌浓度)分别为64 μg/ml和128 μg/ml;对L. acidophilus和B. bifidum的MIC分别为1 024 μg/ml和1 024 μg/ml,可见,对病原菌的杀菌效果显著优于有益菌。而且CSN中的Cu²⁺离子在杀菌过程中具有缓释作用,可在较长的时间内保持某一杀菌浓度,从而达到长时间的杀菌效果。本试验研究的结果表明:纳米铜组对杜洛克×斯格猪而言效果好于杜洛克×大白猪,笔者认为,主要原因是杜洛克×斯格猪吸收营养的水平及其对病原菌的抵抗力要好于杜洛克×大白猪,具体详细的机理还有待进一步研究证实。

此外,因菌液中的pH值处于中性偏酸,它相对于中性环境下细菌的生存能力较弱些。然后,因杜洛克×斯格猪较杜洛克×大白猪在生长性能方面有其独特的优点,即生长发育快,饲料报酬高,发病率低,因而对病原菌的抵抗力较高。但是,笔者认为,对于杜洛克×斯格猪粪便中大肠杆菌和沙门氏菌含量较少,不仅与猪的品种及其对营养价值的利用有关,而且还与猪所处的环境密不可分,具体确切的原因还有待进一步研究。

参考文献

- [1] 陈聪敏,王协宁.胃肠病学[M].上海:上海科学技术出版社,2001:115-116.
- [2] 程伶摘译,韩文越校.家畜肠道细菌与生产性能的关系(上)[J].国外畜牧科技,1999,22(2):13-15.
- [3] 王艳华.纳米铜和硫酸铜对断奶仔猪生长、腹泻和消化的影响及作用机理探讨[D].浙江大学,2002.
- [4] Cardamone M, Puri NK, Brandon M R. Comparing the refolding and reoxidation of recombinant porcine growth hormone from a urea denatured state and from Escherichia coli inclusion bodies[J]. Biochemistry, 1995,34: 5 773-5 794.
- [5] 张供领,柴家前,牛钟相.正常菌群对免疫系统功能影响的研究进展[J].黑龙江畜牧兽医,2001(2):24-25.
- [6] 赵刚.益生菌应用于菌群调节及免疫调节的研究现状[J].中国微生态学杂志,1998,10(2):120-121.
- [7] Damge C, Aprahamian M, et al. Intestinal absorption of PLAGA microspHERes in the rat[J]. J Anat., 1996(189):491-501.
- [8] Aarestrup F M, Seyfarth A E, Emborg H D, et al. Antibiotic use in food-animal in Denmark[J]. APUA News, 2000, 18:13.
- [9] 郭贵海,王崇文.肠道菌群调节剂的研究进展[J].临床内科杂志,2002,19(2):88-90
- [10] 李键强,李六金主编.兽医微生物学实验实习指导[M].陕西科学技术出版社,1999.
- [11] Beveridge T J, Koval S F. Binding of metals to cell envelopes of Escherichia coli K-12 [J]. Appl. And Environ. Microbiol., 1981,42: 325-335.
- [12] Dupont C, Moreno J L, Barau E, et al. Effect of diosmctite on intestinal permeability changes-in-acute-diarrhea:-A double-blind placebo-controlled trial[J]. Pedia Gastroenterol Nutr., 1992, 14(4): 413-419.
- [13] 李同州,藏素敏.猪营养与饲料[M].黑龙江人民出版社,1999.
- [14] 马梦琳,赵德明.仔猪断奶期间腹泻及肠道酶、肠道菌群的变化[J].中国畜牧杂志,2000,26(10):39-40.
- [15] 南京农业大学主编.家畜生理学[M].农业出版社,1980.

(编辑:沈桂宇,guiyush@126.com)

不同蛋白日粮对山羊瘤胃环境参数的影响

王滩波 赵国琦 王瑞龙 王雅倩

摘要 试验采用 4×3 拉丁方试验设计,研究豆粕、棉籽粕、菜籽粕、玉米酒糟4种不同蛋白质日粮对3只徐淮白山羊瘤胃发酵参数的影响。结果表明,4种不同蛋白源日粮对山羊瘤胃内环境有显著的影响,玉米酒糟组pH值最高;豆粕和棉籽粕组氨氮浓度与玉米酒糟组相比差异显著($P<0.05$),与菜籽粕组相比差异极显著($P<0.01$);4种蛋白源的瘤胃总VFA浓度分别为87.44、66.67、80.63、82.73 mmol/l,其中以豆粕组最高,显著高于菜籽粕组($P<0.05$),极显著高于棉籽粕组($P<0.01$);以棉籽粕组最低,极显著低于其它3组。

关键词 蛋白质日粮;pH值;氨氮;挥发性脂肪酸

中图分类号 S816.4

Effect of different protein diets on rumen fermentation of goats

Wang Weibo, Zhao Guoqi, Wang Rui long, Wang Yaqian

Abstract The study comprised four different samples of protein diets [A: soybean treatment, B: cotton-seed treatment, C: rapeseed treatment, D: dried distillers grain with soluble (DDGS) treatment]. The main objective were to determine the effects of different protein diets on rumen fermentation by 4×3 Latin square. The result indicated that four different protein diets might significantly affect rumen fermentation. The highest index of pH was in D; The ammonia nitrogen density of A and B was significantly different from D ($P<0.05$), was striking significantly different from group C ($P<0.01$); The total VFA density of rumen were 87.44, 66.67, 80.63, 82.73 mmol/l respectively, but A was the highest, it was significantly higher than C($P<0.05$), striking significantly higher than group B($P<0.01$). B was lowest in the four treatments and striking significantly lower than the others.

Key words protein diets;pH;ammonia nitrogen;VFA

从2001年3月起,国家禁止在反刍动物饲料中添加肉骨粉等动物性饲料原料。动物性蛋白饲料的限制使用,使得原本就供应不足的蛋白质资源更加缺乏。因此,如何提高反刍动物对植物性蛋白饲料的利用率便成为众多学者十分关心的问题。在我国,豆粕、棉籽粕、菜籽粕和玉米酒糟(DDGS)都是优质的植物性蛋白饲料,其粗蛋白含量都在30%左右,并且各蛋白源都有其各自特点,比如豆粕,除含硫氨基酸外,其余氨基酸含量适中,平衡性好,适合动物生长和生产的要求;而菜籽粕由于含有多种抗营养物质,在单

胃动物中使用受到多种限制,而反刍动物则受限小,可在一定范围内直接饲喂。目前,这些蛋白质饲料已被广泛应用于各反刍动物饲料中,成为非常重要的蛋白来源。饲料进入瘤胃后,饲料蛋白质降解成肽、氨基酸,而肽和氨基酸可被微生物利用合成微生物蛋白,并释放出挥发性脂肪酸(VFA)和氨;适宜的pH值、氨浓度又会为微生物提供最佳生存环境。本试验通过对不同蛋白源日粮条件下山羊瘤胃中pH值、氨氮、VFA的研究,探讨含豆粕、棉籽粕、菜籽粕、玉米酒糟4种蛋白质日粮处理组对它们的影响,为山羊瘤胃内环境提供相关的数据参考。

1 材料与方法

1.1 试验动物及饲养管理

3只体重为(30 ± 2.5)kg的徐淮白山羊,安装永久性瘤胃瘘管,代谢架饲养,每日8:00和18:00两次等量饲喂,自由饮水。

1.2 试验日粮

试验日粮按山羊饲养标准配制日粮精料,粗料由羊草与苜蓿干草混合组成(羊草与苜蓿粉碎长度

王滩波,扬州大学动物科学与技术学院,225009,江苏扬州文汇路校区。

赵国琦(通讯作者)、王瑞龙、王雅倩,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2008-06-09

★ 国家科技资助基金项目“奶牛高效饲养关键技术研究及开发”(2006BAD04A03-07)

为5 cm),精料由玉米和4种蛋白饲料组成。饲料原料营养组成见表1,再按蛋白质含量13%左右配制而成4种日粮,日粮组成及营养水平见表2。其中精料中添加1.5%的常量、微量元素和矿物质。试验各组日粮饲喂比例见表3。

表1 饲料原料营养成分

营养组成	DM(%)	DE(MJ/kg)	CP(%)	CF(%)
羊草	89.14	8.80	9.56	32.10
苜蓿干草	89.26	9.27	14.33	21.55
玉米	86.84	14.20	7.61	2.88
豆粕	88.54	15.67	43.24	4.77
棉籽粕	90.32	13.73	33.11	16.89
菜籽粕	90.06	15.41	37.19	11.10
玉米酒糟	92.11	13.69	27.42	7.43

表2 4种不同蛋白日粮组成及营养水平

日粮	豆粕组 (A组)	棉籽粕组 (B组)	菜籽粕组 (C组)	玉米酒糟组 (D组)
原料(%)				
羊草	60.00	53.00	56.00	55.00
苜蓿干草	14.00	14.00	15.00	13.00
玉米	12.50	14.50	13.50	10.50
豆粕	12.00	-	-	-
棉籽粕	-	17.00	-	-
菜籽粕	-	-	14.00	-
玉米酒糟	-	-	-	20.00
营养水平				
DM(%)	87.46	87.69	87.64	88.17
DE(MJ/kg)	10.23	10.36	10.39	10.28
CP(%)	13.88	13.81	13.74	13.41
CF(%)	23.21	23.32	23.15	22.24

表3 试验日粮饲喂量(g/kg)

日粮	A组	B组	C组	D组
羊草	12.0	10.6	11.2	11.0
苜蓿干草	2.8	2.8	3.0	2.6
玉米	2.5	2.9	2.7	2.1
豆粕	2.4	-	-	-
棉籽粕	-	3.4	-	-
菜籽粕	-	-	2.8	-
玉米酒糟	-	-	-	4.0

注:按每千克体重计算。

1.3 试验设计

4种不同日粮和3只山羊按4×3拉丁方试验设计方案,每期分别饲喂不同日粮,每个试验期共17 d,预试期10 d,正试期7 d。

1.4 瘤胃样品采集

正试期第7 d开始采集瘤胃液样本,采样时间点分别为8:00(喂前)、9:00、10:00、12:00、16:00。每个时间点采瘤胃液20 ml。采集后样品立即测pH值,然后-20℃保存待析。

1.5 主要测定指标与方法

pH值用PHS-3C精密pH计测定。氨氮浓度采用

酚-次氯酸钠比色法^[1]测定。

挥发性脂肪酸(VFA)浓度采用日本岛津GC-9A气相色谱仪测定^[2]:毛细管柱CP-WAX(长30 m,内径0.53 mm,膜厚1 μm),气化室温度200℃,FID监测器温度200℃,柱温采用程序升温法,初温为100℃,末温150℃,升温速率3℃/min,灵敏度为101,衰减为25。

1.6 计算方法与统计分析

试验数据采用Excel软件进行整理,利用SPSS软件进行统计分析,采用Duncan's法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 不同蛋白日粮下山羊瘤胃液pH值的变化

饲料在瘤胃内代谢分解产生各种挥发性脂肪酸及乳酸,形成弱酸环境,适宜的pH值可以提高微生物的活性,当pH值低于正常变化范围时,微生物的活性降低、数量减少,对动物机体生理状况产生很大影响;较高的pH值可促进瘤胃内蛋白质的消化。它是反映瘤胃发酵水平的一项重要指标,是瘤胃发酵过程的综合反应。它受VFA及其它有机酸等诸多因素的影响,但其根本原因是日粮的影响。4种蛋白源日粮条件下,山羊瘤胃液pH值变化规律见表4、图1。

从表4、图1可以看出,A、B、C和D组的pH值变动范围为6.15~6.50、6.34~6.60、6.23~6.64、6.23~6.78,平均值为6.30、6.44、6.35、6.45,属正常范围。

表4 不同时间点不同蛋白日粮对瘤胃液pH值的影响

时间	A组	B组	C组	D组
8:00	6.50±0.06 ^{aA}	6.60±0.12 ^{abA}	6.64±0.09 ^{abcA}	6.78±0.06 ^{aA}
9:00	6.37±0.02 ^{cC}	6.49±0.10 ^{abAB}	6.37±0.10 ^{abcC}	6.53±0.12 ^{bBC}
10:00	6.21±0.45 ^{eEZ}	6.38±0.16 ^{abAB}	6.28±0.17 ^{aC}	6.40±0.08 ^{bDE}
12:00	6.15±0.03 ^{aZ}	6.34±0.13 ^{abB}	6.23±0.13 ^{abC}	6.30±0.08 ^{bDE}
16:00	6.29±0.05 ^{cE}	6.41±0.10 ^{AB}	6.25±0.09 ^c	6.23±0.18 ^E
平均值	6.30±0.02 ^a	6.44±0.09 ^b	6.35±0.11 ^{ab}	6.45±0.05 ^b

注:同行数据小写字母、同列大写字母相同表示差异不显著($P>0.05$)。

相邻表示差异显著($P<0.05$),相隔表示差异极显著($P<0.01$)。

下表同。

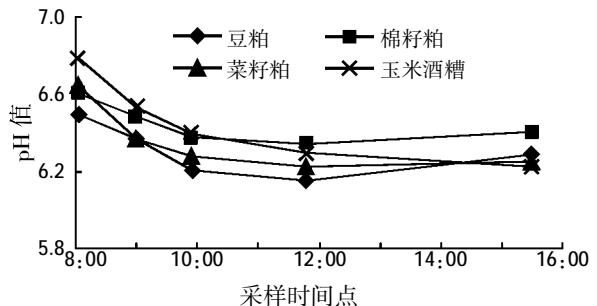


图1 不同蛋白日粮对瘤胃液pH值的日內动态变化的影响

蛋白质的水解和氨基酸的去氨基作用均受瘤胃

液 pH 值的影响,当 pH 值为 6~7 时,最有利于饲料蛋白质的降解。山羊在采食后 pH 值迅速下降,除 A 组 pH 值在食后 1 h 有极显著性下降外($P<0.01$),C 组和 D 组呈显著性下降($P<0.05$),但 B 组下降不显著($P>0.05$)。其中 A 组和 B 组在采食后 4 h 降至最低,然后上升;而 C 组虽有所上升,但上升趋势明显小于前两组;D 组 pH 值则一直下降,但下降趋势越来越小。组间比较,食后 1 h,A 组 pH 值与 D 组差异显著($P<0.05$);食后 2~4 h,A 组 pH 值与 B 和 D 组差异极显著($P<0.05$)。pH 值平均值由大到小依次为 D、B、C、A 组;其中 A 组与 B 和 D 组差异显著($P<0.05$)。这些差异与试验羊采食的日粮种类和瘤胃的吸收代谢能力有很大关系。

2.2 不同蛋白日粮下瘤胃氨氮浓度的变化

氨氮浓度在一定程度上表明了瘤胃微生物利用含氮物质产生氨的速度及对氨的摄取利用情况,反映了蛋白质降解和合成之间的平衡关系。同时,它也是影响微生物活性的一个重要指标,是微生物蛋白合成效率的重要因素。外界因素对氨氮的影响主要包括氮的采食量、饲料蛋白降解速度等。通过本试验可以了解不同蛋白日粮对氨氮的影响(见表 5、图 2)。

表 5 不同时间点不同蛋白日粮对瘤胃液氨氮浓度的影响(mg/100 ml)

时间	A 组	B 组	C 组	D 组
8:00	10.55±0.76 ^{bCE}	10.64±0.54 ^{aEF}	8.88±0.21 ^{abC}	8.54±0.82 ^{bCE}
9:00	13.48±0.25 ^{abAC}	14.46±0.49 ^{aA}	10.09±0.50 ^{cc}	12.90±1.38 ^{abA}
10:00	15.13±0.84 ^{aA}	13.71±1.12 ^{abAB}	12.96±0.16 ^{abcA}	10.57±0.82 ^{cAC}
12:00	9.14±1.16 ^{adE}	12.27±0.39 ^{bBE}	6.955±0.56 ^{dE}	8.78±0.45 ^{bCE}
16:00	8.17±0.70 ^{abE}	9.36±0.41 ^{af}	6.20±0.44 ^{ef}	6.12±0.41 ^{cE}
平均值	11.63±0.50 ^{ab}	12.08±0.49 ^{ab}	9.02±0.24 ^d	9.38±0.36 ^{cd}

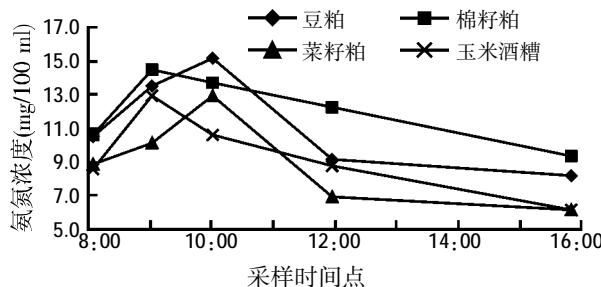


图 2 不同蛋白日粮对瘤胃液氨氮浓度日内动态变化的影响

瘤胃液氨氮浓度变动较大,反刍动物在饲喂后一般 2 h 内达最高峰,大体上可以反映饲料含氮物的可溶性和分解速度。从图 2 可以看出,氨氮浓度都是在食后有所上升,然后下降。A 组和 C 组在采食后 2 h 达最高峰,且采食前和采食后 2 h 差异极显著($P<0.01$);而 B 组和 D 组则是食后 1 h 达最高峰,并且与采食前也

有极显著性差异($P<0.01$)。从表 5 可以看出,A、B、C、D 组的氨氮浓度变化范围分别为 8.17~15.13、9.36~14.46、6.20~12.96、6.12~12.90 mg/100 ml。A 组和 B 组与 C 组存在极显著性差异($P<0.01$),A 组和 D 组存在显著差异($P<0.05$)。这说明 A 和 B 组的瘤胃发酵水平要高于后两组。

2.3 不同蛋白日粮下瘤胃液 VFA 浓度变化

VFA 是反刍动物维持正常生理和生产的主要能源,可以提供反刍动物所需总能量的 70%~80%。乙酸是由微生物慢速发酵饲料纤维物质生成的,可以反映微生物降解纤维的活性。它在泌乳前期又是乳脂合成的主要前体,丙酸是重要的葡萄糖前体,利于家畜的育肥,同时乙酸/丙酸比也明显影响能量利用率。丙酸发酵型是肥育牛羊较为理想的瘤胃发酵类型,目前普遍采用的是提高日粮粗精比例来提高丙酸产量,但精料过多则会引起一系列的问题。

表 6 不同时间点不同蛋白日粮对瘤胃液 VFA 浓度的影响

时间	A 组	B 组	C 组	D 组
乙酸(mmol/l)				
8:00	66.03±3.60	49.53±2.32	59.10±1.85	59.45±2.38
9:00	71.64±1.92	52.72±1.57	60.33±2.06	70.73±2.12
10:00	71.80±1.52	61.72±1.18	66.48±1.73	72.69±2.26
12:00	66.58±1.51	47.59±1.64	68.46±1.4	67.36±2.22
16:00	60.32±2.32	42.92±1.10	54.23±1.07	54.39±0.89
平均值	67.27±2.02 ^a	58.89±1.56 ^e	61.72±1.61 ^{cd}	64.92±1.77 ^c
丙酸(mmol/l)				
8:00	11.89±0.97	10.00±0.56	9.74±0.16	9.82±0.38
9:00	14.15±0.30	13.13±0.61	14.26±0.56	13.69±0.96
10:00	14.02±0.24	11.48±0.30	13.80±0.33	14.13±1.14
12:00	13.72±0.34	8.91±0.48	13.42±0.41	12.23±0.87
16:00	11.79±0.91	7.64±0.68	9.89±0.31	8.55±0.96
平均值	13.11±0.55 ^a	10.23±0.52 ^d	12.22±0.34 ^{ab}	11.69±0.84 ^{bc}
丁酸(mmol/l)				
8:00	5.80±0.26	6.24±0.16	5.77±0.21	5.45±0.51
9:00	7.85±0.13	6.64±0.15	7.47±0.15	7.27±0.57
10:00	7.68±0.19	5.75±0.15	7.48±0.16	7.34±0.58
12:00	7.50±0.17	4.81±0.20	7.23±0.18	5.99±0.37
16:00	6.45±0.23	4.24±0.15	5.50±0.28	4.55±0.49
平均值	7.06±0.19 ^a	5.53±0.16 ^d	6.69±0.19 ^{ab}	6.12±0.50 ^c
乙酸/丙酸				
8:00	5.56±0.17	4.96±0.07	6.07±0.09	6.05±0.03
9:00	5.06±0.04	4.02±0.07	4.23±0.03	5.18±0.21
10:00	5.12±0.06	5.38±0.04	4.82±0.03	5.16±0.26
12:00	4.85±0.06	5.35±0.13	5.10±0.05	5.52±0.22
16:00	5.12±0.22	5.64±0.38	5.48±0.17	6.42±0.79
平均值	5.14±0.07 ^a	5.07±0.13 ^a	5.14±0.03 ^a	5.67±0.28 ^c
总 VFA(mmol/l)	87.44±2.76 ^a	66.67±2.21 ^d	80.63±2.13 ^b	82.73±3.11 ^{ab}

由表 6 和图 3 可以看出 A、B、C、D 组的瘤胃乙酸浓度变化范围为 60.32~71.80、42.92~61.72、54.23~68.46、54.39~72.69 mmol/l, 平均值为 67.27、58.89、61.72、64.92 mmol/l。其中 A 组的乙酸浓度极显著高于 B 组

和 C 组($P<0.01$),B 组乙酸极显著低于 D 组($P<0.01$),显著低于 C 组($P<0.05$)。瘤胃乙酸浓度除 C 组是在食后 4 h 内达到最大值外,其它 3 组都是在食后 2 h 内达到最大值。

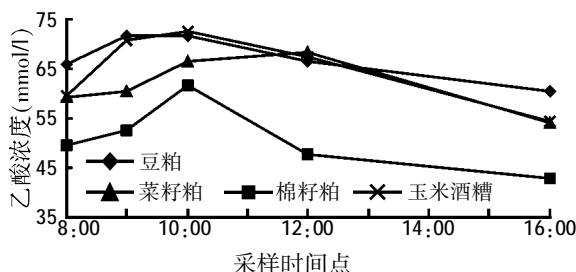


图 3 不同蛋白日粮对瘤胃乙酸浓度日内动态变化的影响

A、B、C、D 组的瘤胃丙酸浓度变化范围为 11.79~14.15、7.64~13.13、9.74~14.26、8.55~14.13 mmol/l, 平均值分别为 13.11、10.23、12.22、11.69 mmol/l。组间比较, A 组丙酸浓度与 D 组差异显著($P<0.05$), 与 B 组差异极显著($P<0.01$); B 组与 C 组差异极显著($P<0.01$), 与 D 差异显著($P<0.05$)。丙酸浓度 A、B、C 3 组是在食后 1 h 达最大值, 而 D 组在食后 2 h 达最大值, 然后持续下降直到相对稳定。

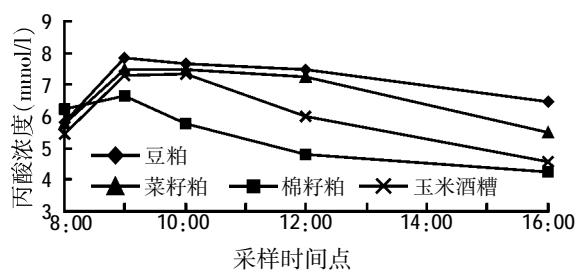


图 4 不同蛋白日粮对瘤胃液丙酸浓度日内动态变化的影响

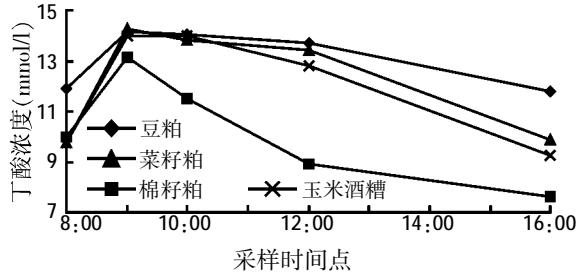


图 5 不同蛋白日粮对瘤胃丁酸浓度日内动态变化的影响

A、B、C、D 组的瘤胃丁酸浓度平均值分别为 7.06、5.53、6.69、6.12 mmol/l。A 组与 B、D 组差异极显著($P<0.01$), C 组与 B 组差异极显著($P<0.01$), 与 D 组差异显著($P<0.05$)。A、B 两组在食后 1 h 达最大值, 而 C、D 组在食后 2 h 达最大值, 然后持续下降。

从乙酸/丙酸比来看,A、B、C 3 组之间差异不显著, 均与 D 组差异极显著($P<0.01$), 可见,D 组对瘤胃发酵最为显著。

A、B、C、D 组的瘤胃总 VFA 浓度分别为 87.44、66.67、80.63、82.73 mmol/l。其中以 A 组最高, 显著高于 C 组($P<0.05$), 极显著高于 B 组($P<0.01$); 以 B 组最低, 极显著低于其它 3 组。其日内动态变化见图 6, 各组 VFA 都是在食后开始升高,A 组在食后 1 h 达最大值,C 组在食后 4 h 达最大值, 其它两组都是在食后 2 h 达最大值。

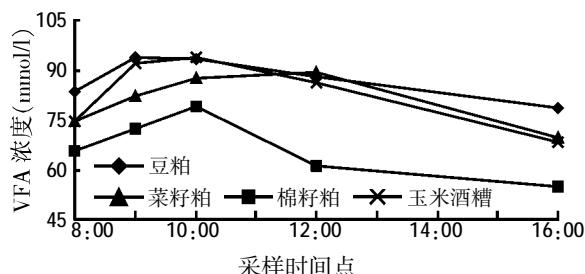


图 6 不同蛋白日粮对瘤胃总 VFA 浓度日内动态变化的影响

3 讨论

瘤胃的 pH 值、氨氮和 VFA 浓度及组成是瘤胃发酵的主要内环境指标, 基本可以反映出瘤胃内环境状况及饲料在瘤胃内的发酵状况。

瘤胃 pH 值可以作为瘤胃发酵水平的一项重要指标, 蛋白质的水解和氨基酸的去氨基作用均受 pH 值的影响,pH 值在 6~7 之间最有利于饲料蛋白的降解。本试验 pH 值中, 以 A 组 pH 值最低,D 组最高。pH 值受唾液、VFA 及其它有机酸、氨氮等因素的影响, 但最根本的原因是日粮组成因素。pH 值较低可能是由于微生物快速发酵产生较多 VFA 所致, 而过低的 pH 值又会反作用于微生物, 使得发酵速度减慢,VFA 吸收利用, 以及唾液分泌的增加。一般说来, 纤维含量高的饲料会造成瘤胃较高的 pH 值, 而本试验中,D 组的粗纤维含量与其它组间差异显著,D 组 pH 值较高的原因应该是 D 组在瘤胃内微生物发酵程度较低造成的。

氨氮是瘤胃微生物发酵的主要氮源, 是影响微生物活性的重要指标, 适宜的氨氮浓度是保证微生物蛋白合成效率的首要条件^[3]。Chen(1987)^[4]用 14.4%、16.9%、19.3% 3 个豆粕粗蛋白水平的饲料饲喂初产奶牛发现, 食后 2 h 瘤胃氨氮浓度分别为 4.9、8.8、9.6 mg/100 ml; Kim(1998)^[5]以豆粕为主要蛋白源日粮(CP=16%)饲喂犊牛, 瘤胃氨氮浓度在喂后 2 h 达到峰值, 浓度为 11.39 mg/100 ml。Satter 等(1974)试验表明, NH₃-N 浓度小

于 $2.50\text{ mg}/100\text{ ml}$ 时,发酵的“解偶联”作用引起微生物产量降低,生产效率下降^[6],该值被广泛用做瘤胃最低 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度标准;关于微生物生长的最大氨浓度,体外试验为 $2.50\sim 4.00\text{ mg}/100\text{ ml}$ (Satter 等,1974)^[6],体内试验为 $5.00\text{ mg}/100\text{ ml}$ 和 $3.50\text{ mg}/100\text{ ml}$ 。另外,有研究报道,干物质消失的最佳氨氮浓度是 $11.74\text{ mg}/100\text{ ml}$ 。Preston(1987)^[7]提出微生物对氨氮浓度耐受的临界范围为 $6\sim 30\text{ mg}/100\text{ ml}$ 。Hsu 等(1991)^[8]报道,饲喂给绵羊粗精比为 $65:35$ 的粗蛋白为 15% 豆粕日粮时,瘤胃氨氮浓度为 $19\sim 26\text{ mg}/100\text{ ml}$ 。本试验氨氮浓度范围是 $6.12\sim 15.13\text{ mg}/100\text{ ml}$,与部分文献报道范围有所不同,但在微生物对氨氮浓度耐受的临界范围内。本试验 A 组粗蛋白水平为 13.88% ,食后 2 h 的瘤胃氨氮浓度为 $15.13\text{ mg}/100\text{ ml}$ 。这种差异是由饲料种类和试验动物的不同造成的。其中以 A 组氨氮平均值与前人提出的最佳氨氮浓度相接近,以 C 组氨氮浓度最低。其原因可能是因为微生物对不同发酵底物发酵所要求的氨氮浓度不同有关,另一方面,也与蛋白质在瘤胃中降解程度的不同有关。

采食对瘤胃氨氮浓度变化有显著影响。从试验结果看,采食前和食后氨氮浓度有极显著性的差异。原因应该是采食为微生物提供营养,微生物活性增强,使得饲料中蛋白氮不断降解释放,引起食后氨氮浓度的迅速升高,而后,微生物利用氨氮合成微生物蛋白以及瘤胃壁的吸收,以及内容物进入后段消化道,引起氨氮浓度又逐渐下降。其中以 A 组氨氮浓度升至最大值后又下降最快,说明微生物利用氨氮合成菌体蛋白的能力也是最大的。

氨氮是瘤胃微生物合成菌体蛋白的重要前体物质,尽管目前对氨的需要量仍存在争议,但氨的供给量必须超过微生物的需要量,才能达到最佳的瘤胃发酵效果。动物食后瘤胃氨沉积的快慢与蛋白质饲料的瘤胃降解性有直接关系^[9],因此,适宜的氨浓度是瘤胃氮代谢的重要中间环节。

VFA 是反刍动物能量的主要来源,可提供总能量需要量的 $70\%\sim 80\%$,也是瘤胃微生物发酵的重要指标。Hespell 等(1988)^[10]发现,瘤胃蛋白酶活性最适宜的 pH 值为 6.0 ,而本试验中,以 A 组最接近此值,因此瘤胃微生物的活性最大,发酵水平应该最高。同时,乙酸的生成是微生物慢速发酵饲料中的纤维物质产生的,从乙酸含量的高低也可以看出微生物降解纤维的活性,而又以 A 组乙酸水平最高,这与前面 pH 值所反映的现象一致。

乙酸是反刍动物代谢所需的主要能源,而丙酸是重要的葡萄糖前体,因此,乙酸/丙酸比值明显影响能量的利用率,同时,也会影响瘤胃内物质的发酵与降解。本试验中,以 D 组最高,其它 3 组差异不显著。其它 3 组乙酸/丙酸的比值虽然较低,但并不属于明显的丙酸型。丙酸发酵型是育肥牛、羊理想的瘤胃发酵类型,当前主要采用增加精料比例来提高丙酸产量,但会引起一系列问题,因此,如何提高丙酸水平,除了在日粮中添加一定量的过瘤胃淀粉外,我们还可以从饲料因素考虑,在本试验中,A、B 和 C 组的乙酸/丙酸极显著低于 D 组。

4 结论

本试验中 4 种不同蛋白源日粮对山羊瘤胃内环境有显著的影响。4 组 pH 值平均值为 6.30 、 6.44 、 6.35 、 6.45 ;氨氮浓度分别为 11.63 、 12.08 、 9.02 和 $9.38\text{ mg}/100\text{ ml}$;总 VFA 浓度分别为 87.44 、 66.67 、 80.63 、 82.73 mmol/l 。不同日粮对乙酸、丙酸、丁酸、乙酸/丙酸都有不同程度的影响。

参考文献

- [1] 王继贵.临床生化检验(第二版)[M].湖南科学技术出版社,1996.
- [2] 熊本海,卢德勋,等.绵羊瘤胃 VFA 吸收效率及模型参数的研究[J].动物营养学报,1991,11(增刊):248-255.
- [3] Satter L D, Roffler R E. Nitrogen requirements and utilization in dairy cattle. J. Dairy Sci., 1975,58:1 219.
- [4] Chen G, Russell J B, Sniffen C J. A procedure for measuring peptides in rumen fluid and evidence that peptide uptake can be a rate-limiting step in ruminal protein degradation[J]. J. Dairy Sci., 1987, 70:1 222-1 219.
- [5] Kim H D, Ha J K, et al. Effects of popped soybean on concentration of ruminal peptide and blood amino acids in Holstein calves [J]. Asia-australia J. Anim. Sci., 1998,11:155-161.
- [6] Satter L D, Slyter L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro[J]. Br.J.Nutr,1974,32:199-208.
- [7] Preston T R, Leng K A. Matching ruminant production system with available resources in the tropics and sub-tropics [J]. Penambul Books. Armidale,1987.
- [8] Hsu J T, Fahey G C, Berger L L, et al. Manipulation of nitrogen digestion by sheep using defaunation and various nitrogen supplementation regimens[J]. J. Anim. Sci., 1991,69(3):1 290-1 299.
- [9] Broderick G A, Wallace R J. Effects of dietary nitrogen source on concentrations of ammonia, free amino acids and fluorescamine reactive peptides in the sheep rumen[J]. J.Anim.Sci.,1988,66:2 233-2 238.
- [10] Hespell R B, Cotta. Microbial digestion of hemicelluloses in the rumen[J]. Microbiol. Sci., 1988,5: 362-372.

(编辑:王芳,xfang2005@163.com)

苏氨酸在猪肠道及 PDV 组织中的代谢

张继杰 周安国

日粮必需氨基酸在肠道中的代谢及其利用率对动物整体生长的影响是近年来动物营养研究的热门课题,其中最主要的一个问题是在食入蛋白质完全消化的前提下,对日粮必需氨基酸在肠道消失和在门脉循环中出现量的差异的研究。Rerat 等(1992)的研究表明,必需氨基酸在肠腔中的吸收量高估了其在宿主其它组织中的利用率。关于氨基酸在肠道中利用的研究大多来源于对仔猪 PDV(partial-drained viscera)组织氨基酸代谢的测定(Burrin 等,2005)。PDV 组织是胃、小肠、大肠、胰脏及脾脏等实体组织集合的总称,大约占猪体重的 5%,然而其蛋白质周转和能量消耗占整体的 20%~35%。PDV 组织代谢所占比例之大是由其功能决定的。营养物质在肠道中高比率的吸收和利用决定了肠道蛋白质增殖、分泌及细胞死亡的高比率。仔猪肠道上皮细胞生命周期大约为 3~10 d,这种上皮细胞由肠上皮增殖隐窝处干细胞增殖分化的四种细胞混合组成,分别是吸收性肠上皮细胞、杯状细胞、潘氏细胞和内分泌细胞。体外试验研究发现,这些细胞存在高比率的蛋白质合成和谷氨酰胺代谢。粘蛋白是结肠发酵过程主要的内源分泌物,杯状细胞利用大量氨基酸合成粘蛋白。由于肠道具有营养素吸收、细胞增殖和防御等多种功能,其代谢能力较其它组织强。因此肠道组织对日粮必需氨基酸的代谢对必需氨基酸需要量及动物生长的利用率有极其重要的影响。对苏氨酸、赖氨酸和蛋氨酸来说,因为它们是谷物类饲料中对生长猪的第一限制性氨基酸,显得尤其重要。

1 苏氨酸的理化性质及其生物学功能

苏氨酸的化学名称为 α -氨基- β -羟丁酸,因其结构类似于苏糖,故命名为苏氨酸,是最晚发现的必需氨基酸。其分子式为 $C_4H_9NO_3$,相对分子质量为 119.18。从结构式可以看出,苏氨酸分子中具有 2 个不对称碳原子,有 4 种异构体,其中 D-苏氨酸不能被动物吸收

利用。天然存在的 L-苏氨酸为无色或微黄色晶体,无臭、微甜,可溶于水,20 ℃时溶解度为 9 g/100 ml,难溶于有机溶剂,熔点为 253~257 ℃。苏氨酸在体内分解代谢过程中,不经过脱氨基作用和转氨基作用,而是直接通过苏氨酸醛缩酶、苏氨酸脱氢酶(TDG)和苏氨酸脱水酶(TDH)催化转变为代谢产物。苏氨酸可促进体蛋白的合成,节约日粮蛋白质,日粮苏氨酸不足就会降低赖氨酸利用率,破坏氨基酸平衡造成浪费,苏氨酸还可以影响脂肪代谢,参与机体免疫等。目前养猪生产上日粮苏氨酸含量及其与赖氨酸的比例是影响配合饲料品质、动物生产性能和胴体品质的重要因素,苏氨酸还可以调节动物采食量(岳涛等,2007)。

2 日粮苏氨酸在肠道级 PDV 组织中的代谢

肠道组织吸收的氨基酸主要有以下 3 种用途:①合成蛋白质;②通过转氨基酸作用转变成其它氨基酸;③完全氧化成二氧化碳。在前两个途径中氨基酸可以被机体储存或循环再利用,用于动物蛋白质或其它生物功能。对于苏氨酸和半胱氨酸来说,通过大肠发酵成为内源分泌物是营养素的损失。同样,如果氨基酸尤其是必需氨基酸被粘膜细胞完全氧化成二氧化碳也是营养素的损失。

2.1 净肝门平衡

净肝门平衡技术包括肝脏动脉、门静脉血液中氨基酸浓度和肝脏血流量的测定。此技术被广泛应用在测定门脉循环中日粮氨基酸的量(Stoll 等,1998)。因而日粮吸收和门脉循环中的量的差值被认为是日粮氨基酸被 PDV 组织利用的部分。对猪和狗的试验研究表明,日粮必需氨基酸的 50% 在第一次循环时就被 PDV 组织利用,苏氨酸更是占到了大约 60%~80%,其中它们至少 20% 的部分用于蛋白质的合成 (Stoll 等,1998;van Goudoever 等,2000;Van der Schoor 等,2002)。因此认为苏氨酸是 PDV 组织利用效率最高的一种必需氨基酸。Bertolo 等(1998)研究发现,饲喂苏氨酸不足的日粮,小猪肠道肥大细胞、杯状细胞和粘蛋白的含量显著下降,这种抑制不能由静脉补充的苏氨酸完全弥补。

2.2 苏氨酸的代谢

虽然已知一些必需氨基酸在 PDV 组织中被氧化,但是分解代谢可能不是它们在肠道组织中的主要代谢途径。Schaart 等(2005)研究发现,通过 L-苏氨酸-3-脱氢酶途径代谢的苏氨酸在内脏组织中只占一

张继杰,四川农业大学动物营养所,625014,四川雅安 9-5
信箱。

周安国,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2008-05-12

★ 教育部长江学者和创新团队发展计划(项目编号:IRT0555-1)资助项目

小部分,而肠道组中几乎没有这一途径,标记¹³C 苏氨酸后,测定肠道中¹³CO₂的产量,其中肠道只占苏氨酸代谢总量的 2%,而其它组织也只占苏氨酸代谢的 13%。说明肠道组织中苏氨酸主要用于蛋白质的合成,主要是合成粘蛋白。粘蛋白是一种多聚糖蛋白,是粘膜层的重要组成部分,覆盖在哺乳动物胃肠道上皮组织上(Montagne 等,2004)。分泌型粘蛋白在粘膜的先天免疫应答过程中起重要作用,而肠道粘蛋白的核心部分含有大量的苏氨酸。

在仔猪的回肠食糜中有 11% 的粘蛋白来源于内源蛋白质,粘蛋白占 30%(Lien 等,1997)。内源分泌的蛋白质氨基酸到达大肠后被损失掉。然而,粘蛋白分泌物等物质受日粮多种因素的影响,如纤维素、蛋白质、抗营养因子等。因此粘蛋白的分泌再循环及其回肠损失对氨基酸的需要量有重要影响,还有可能与能量需要有关。Van der Schoor 等(2002)对仔猪每天 12 h 饲喂、12 h 禁食的试验研究发现,肠道分泌性蛋白质的氨基酸循环对日粮氨基酸的利用率有重要的调节机制,然而门脉循环却检测不到显著的来自于粘膜蛋白质的苏氨酸循环,表明这些蛋白质可能对消化酶有抗性,或者进入再循环的苏氨酸又立即用于粘膜蛋白质的合成。

2.3 苏氨酸缺乏和对疾病的影响

近来的研究已经证明苏氨酸对肠道健康和营养素需要量有重要作用。Schaart 等(2005)研究发现,仔猪等热量蛋白质缺乏 40% 日粮降低体增重,而小肠的器官指数却没有变化。蛋白质缺乏组日粮 PDV 组织苏氨酸吸收的绝对量减少,但与对照组相比,PDV 组织利用的日粮苏氨酸的量却无变化。低蛋白日粮和对照组苏氨酸在肠道中的利用率分别为 86% 和 57%;低蛋白日粮没有影响苏氨酸在肠道中的氧化,但是整体的苏氨酸氧化比率降低了 50%。因此肠道氧化比率分别占整体的 50% 和 13%。Faure 等(2005)在大鼠上的实验证明,添加 70% 需要量的异硝基苏氨酸特异性降低了各段小肠粘蛋白的蛋白质合成率,其中十二指肠降低 40% 最显著,肠道粘蛋白的氨基酸组成没有变化,其中苏氨酸所占比例最大达到 29%。

Faure 等(2003)以大鼠慢性结肠炎为模型测定了大、小肠粘蛋白产物,与对照组相比,肠道各段粘蛋白中苏氨酸的含量显著降低,这说明粘膜凝胶层理化性质的改变可能是由其完整性和保护机能损伤引起的。

3 小结

PDV 组织和肝脏氨基酸代谢对外周组织氨基酸利用率乃至整个个体的生长有重要作用。苏氨酸、赖

氨酸和蛋氨酸是采食谷物类饲料生长猪的第一限制性氨基酸。已经证明必需和非必需氨基酸在肠道中广泛的用于产能、蛋白质合成及其它生物合成过程。日粮中 60%~80% 的苏氨酸在第一次代谢过程中就应用于 PDV 组织中,是 PDV 组织利用最多的单个必需氨基酸。苏氨酸主要用于粘蛋白的合成,粘蛋白的分泌再循环及其损失对苏氨酸的需要量有重要作用。目前关于苏氨酸在养猪业上的研究取得了一定的进展,但还有许多问题还需要进一步研究,如苏氨酸和其它氨基酸的关系,猪的不同生长阶段苏氨酸的适宜添加量等。

参考文献

- [1] 岳涛,郝荣超.猪苏氨酸营养的研究与应用[J].中国饲料,2007(4): 8-10.
- [2] Rerat A, J Jung, J Kande. Absorption kinetics of dietary hydrolysis products in conscious pigs given diets with different amounts of fish protein[J]. Br. J. Nutr., 1988, 60:105-120.
- [3] Rerat A, C Simoes-Nunes, F Mendy, et al. Splanchnic fluxes of amino acids after duodenal infusion of carbohydrate solutions containing free amino acids or oligopeptides in the non-anaesthetized pig[J]. Br. J. Nutr., 1992, 68:111-138.
- [4] Burrin D G,B Stoll.Splanchnic protein and amino acid metabolism in growing animals[M]. Biology of Metabolism in Growing Animals// Eds. D.G. Burrin and H. J. Mersmann. Elsevier, Edinburgh, London, New York, Oxford, Philadelphia, St. Louis, Sydney, Toronto, 2005: 157-196.
- [5] Stoll B, J Henry, P J Reeds, et al. Catabolism dominates the first-pass intestinal metabolism of dietary essential amino acids in milk protein-fed piglets[J]. J. Nutr., 1998, 128:606-614.
- [6] van Goudoever J B, B Stoll, J F Henry, et al. Adaptive regulation of intestinal lysine metabolism [J]. Proc Natl Acad Sci U. S. A, 2000, 97:11 620-11 625.
- [7] Van der Schoor S R, J B van Goudoever, B Stoll, et al. The high metabolic cost of a functional gut[J]. Gastroenterology, 2002, 123: 1 931-1 940.
- [8] Bertolo R F, C Z Chen, G Law, et al. Threonine requirement of neonatal piglets receiving total parenteral nutrition is considerably lower than that of piglets receiving an identical diet intragastrically [J]. J. Nutr., 1998, 128:1 752-1 759.
- [9] Schaat M W, H Schierbeck, S R van der Schoor, et al. Threonine utilization is high in the intestine of piglets[J]. J. Nutr., 2005, 135: 765-770.
- [10] Montagne L,C Piel,J P Lalles.Effect of diet on mucin kinetics and composition: nutrition and health implications[J]. Nutr. Rev., 2004, 62:105-114.
- [11] Lien K A,W C Sauer,M Fenton.Mucin output in ileal digesta of pigs fed a protein-free diet[J]. Z Ernahrungswiss, 1997, 36: 182-190.
- [12] Faure M, D Moennoz, F Montigon, et al. Dietary threonine restriction specifically reduces intestinal mucin synthesis in rats [J]. J Nutr., 2005, 135:486-491.
- [13] Faure M, D Moennoz, F Montigon, et al. Mucin production and composition is altered in dextran sulfate sodium-induced colitis in rats[J]. Dig. Dis. Sci., 2003, 48:1 366-1 373.

(编辑:徐世良,fi-xu@163.com)

丁酸在动物体内的作用

蒋小丰 方热军

丁酸是反刍动物瘤胃和杂食动物结肠中微生物发酵碳水化合物的产物^[1],被认为是抗生素的潜在替代物。Dierick 等(2002)^[2]把短链脂肪酸作为猪日粮中抗生素的替代物而加以使用。丁酸具有较强的杀菌作用,和其它短链脂肪酸相比,丁酸未被分解时的杀菌活力最好。Kwan 等(1998)^[3]发现,当把沙门氏菌属暴露于短链脂肪酸中时,丁酸对其有很大的杀伤能力。许多学者都表示在病原体的控制和盲肠中未分解的丁酸水平之间有相关性。丁酸还可以供能,影响内分泌,促进上皮组织生长发育,抗炎症等,丁酸还有许多其它潜在的功能,如影响蛋白质合成(Kruh 等,1982)^[4]、基因表达(Miller 等,1998)^[5]和细胞分化(Pouillart 等,1992)^[6]。

1 丁酸的吸收与代谢

瘤胃中的微生物主要包括瘤胃原虫、瘤胃真菌和厌氧真菌,还有少数噬菌体。微生物能够将粗纤维、淀粉和可溶性糖等复杂的碳水化合物在各种酶的作用下降解成为简单的糖类,然后这些简单的糖类迅速被微生物利用转化成丙酮酸,最后丙酮酸通过不同的代谢途径分别生成不同的挥发性脂肪酸(乙酸、丙酸、丁酸等),蛋白质和脂肪也能够生成少量的挥发性脂肪酸。瘤胃内生成的丁酸大部分经瘤胃和网胃壁吸收,在瘤胃 pH 值<7 时,丁酸的吸收速度最快。在单胃动物中,进入肠后段的碳水化合物在微生物的发酵分解作用下生成各种有机酸,其中包括有乙酸、丙酸、丁酸、乳酸等。细菌如梭菌属、大肠杆菌等是通过乙酰 CoA 转移酶合成丁酸^[7]。乳酸菌产生的乳酸有可能会成为丁酸产生菌大量增殖的营养保障,进而促进丁酸的产生。同时有试验发现,在仔猪后肠甘露寡糖显著降低乙酸含量,而显著提高丁酸含量;甜菜汁组乙酸比例随剂量增加而下降,而丁酸则随之显著上升,因此可能存在明显的乙酸转化为丁酸的过程^[8]。丁酸以非离子弥散性吸收为主要吸收方式,小肠的空肠和回肠段是其主要的吸收部位。另外,丁酸水脂两亲,偏重于亲脂,在 pH 值 4~6 时不容易被分解,这就使丁酸能

避过酸性环境的小肠而被盲肠和结肠吸收。Bolton 等^[9]发现,自由的丁酸在消化道的上段会很快被吸收。丁酸在吸收过程中主要转化为酮体,有试验表明,33%~78% 的瘤胃内丁酸在吸收过程中由门静脉引流内脏组织转化产生酮体。由丁酸生成酮体一般认为可能有两个机制:一个是直接氧化 β -C 原子,而不需要分裂分子;另一个是 β -氧化为 2 碳中间产物,然后再重新结合形成酮体。通过肝脏组织分解用 ¹³C 标记的丁酸,发现丁酸转化为酮体主要是通过裂解成为 2 碳链,然后再合成为酮体。少数是通过直接 β -氧化。丁酸在瘤胃上皮组织中快速转化为乙酰乙酸和 β -羟丁酸。丁酸对血液乙酰乙酸有直接的影响,但是不会影响动物的采食量。丁酸对血液乙酰乙酸的影响,尤其在奶牛的泌乳期影响显著。另外,血浆乙酰乙酸的水平有可能反映出能量的平衡与饲料中酮体物质浓度之间的关系。这种关系通过在高泌乳奶牛日粮中添加丁酸引起的血浆乙酰乙酸浓度的增加而被证实。丁酸被认为是乳糖和蛋白质的前体物质^[10]。丁酸还是合成乳脂和体脂的前体物质。丁酸以 β -羟丁酸的形式合成体脂与乳脂,但是其合成的效率要低于长链脂肪酸合成的效率,当动物体内存在大量的长链脂肪酸时,动物就首先利用长链脂肪酸。

2 丁酸的功能

2.1 为组织细胞供能

丁酸以 β -羟基丁酸的形式进入肝脏和乳腺组织参与体内物质代谢,合成乳脂和体脂,同时丁酸可为动物机体及其组织细胞提供快速且易于吸收的能量来源。它尤其是肠细胞(盲肠和结肠细胞)偏爱的能量,且极易在肠腔内吸收。肠道对能量的要求比其它组织高得多。杨丽杰^[11]报道,肠体对氧气的消耗量占机体总耗氧量的 25%,远高于机体的平均水平 6%。动物结肠离体试验表明,结肠上皮细胞 70%以上的能量来自丁酸的供应。体外研究表明,当葡萄糖、酮体、谷氨酰胺等作为呼吸能源时,结肠上皮细胞首先利用丁酸^[12]。丁酸作为肠粘膜上皮细胞首选的能源底物,促进胃肠道细胞的增殖和成熟^[13]。结合丁酸非离子弥散性吸收为主的特点,丁酸无需经过肝胆吸收和复杂的三羧循环系统,可以直接为肠上皮细胞提供能量,是肠上皮细胞的快速能量源^[14]。

蒋小丰,湖南农业大学动物科技学院 1879 信箱,410128,湖南长沙。

方热军,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2008-08-18

2.2 促进水、钠吸收

丁酸氧化供能生成酮体和 CO_2 , 增加了细胞内 CO_2 经碳酸酐酶作用产生的 H^+ 数量, 进而促进 Na^+/H^+ 交换; Na^+ 的吸收又刺激了丁酸的吸收。瘤胃上皮细胞对 Na^+ 吸收增加, 继之增加水的吸收。

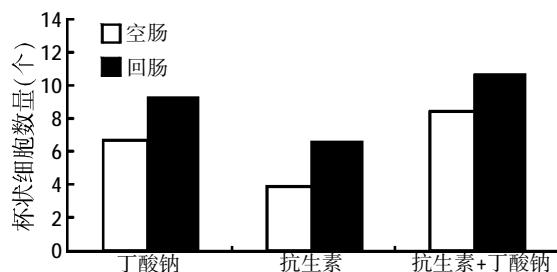
2.3 对内分泌的影响

胃动素与胃泌素是与胃活动生理调控相关的两种胃肠道激素。胃动素是一种脑肠肽, 与胃运动的生理调控有关, 是饥饿狗胃运动的强有力的刺激物^[19]。它可以促进胃的排空, 刺激胃蛋白酶、胰液分泌, 胆囊收缩, 增大胃粘膜血流量。有试验显示, 当通过瘤胃瘘管、皱胃瘘管向山羊体内输注 VFA(挥发性脂肪酸)时发现, 输注 VFA 可提高山羊血浆胃动素水平, 其中瘤胃内输注乙酸、丙酸、丁酸后胃动素水平都升高且与对照组差异极显著, 这可能是由于从瘤胃输注挥发性脂肪酸时刺激了瘤胃壁上的大量张力感受器, 引起迷走神经的兴奋, 从而使血浆中胃动素的释放增加。而皱胃内输注乙酸、丙酸、丁酸, 除乙酸外、丙酸、丁酸与对照组差异显著。另有研究表明, 胃肠腔的 pH 值对胃动素释放有重要影响, 十二指肠的酸化刺激可促进胃动素的释放^[16]。当用 3 种挥发性脂肪酸盐溶液灌注皱胃发现, 向皱胃内注入乙酸钠、丙酸钠、丁酸钠后, 血清中胃泌素水平也显著升高。可见丁酸能促进胃动素和胃泌素的分泌, 调节胃的排空速度, 调控胃的生理功能, 最终促进胃对营养物质的消化吸收与利用, 提高饲料的消化率和利用率。

2.4 促进上皮组织的发育和增殖

丁酸能够刺激瘤胃上皮发育, 随着采食量的增加, 瘤胃上皮组织的代谢加强, 但是其中的乙酸、丙酸代谢量无显著变化, 仅有丁酸代谢量增加接近显著水平。因此, 有学者认为采食量增加引起的丁酸产量增加可能刺激了瘤胃上皮代谢, 使瘤胃乳头增生和瘤胃组织重量增加。Pryde 等(2002)^[17]发现, 丁酸作为微生物发酵抗性淀粉的副产物, 对上皮细胞的正常发育有重要的作用。另外, 有试验表明, 当给大鼠结肠灌注乙酸、丙酸、丁酸混合液后, 能增加空肠、近端结肠粘膜 DNA 含量, 刺激肠上皮细胞增殖, 其中丁酸对结肠上皮细胞增殖与粘膜生长起主要作用。Sakata 等(1987)^[18]试验显示, 通过瘘管向鼠灌注丁酸能促进小肠和大肠的上皮细胞的增殖。对隐窝上皮细胞增殖的剂量依赖性刺激作用顺序是丁酸>丙酸>乙酸。丁酸激活了细胞内 mRNA 蛋白质合成, 是提高肠绒毛增殖和隐窝增深的激活剂。因此, 丁酸能维持瘤胃上皮细胞和肠粘膜

上皮细胞的结构完整性, 促进消化道对营养物质的消化和吸收, 提高生产性能。意大利学者 Piva^[19]等用每吨添加 0.8 kg 丁酸钠的日粮饲喂断奶仔猪 2 周发现, 丁酸钠能提高日增重达 20% ($P<0.05$), 提高日采食量达 16% ($P<0.05$)。另外, 肠粘膜上皮结构的完整性与肠粘膜机械屏障功能乃至整个机体的免疫功能都有密切的关系。Waechter-shaeuser 等指出, 短链脂肪酸, 主要是丁酸, 帮助动物机体维持肠道粘膜的屏障作用, 缺乏这些有机酸是溃疡性结肠炎和其它炎症的原因之一。Haring 等(1989)^[20]发现, 过量或者缺乏乙酸、丁酸或其它短链脂肪酸会引起结肠粘膜损伤或引起炎症。王继凤等(2005)^[21]试验表明, 断奶仔猪饲喂 1 g/kg 丁酸钠能促进小肠杯状细胞增殖, 维持肠道粘膜上皮细胞的正常形态, 维持肠粘膜的正常机械屏障作用, 同时在这些方面丁酸钠的作用均优于抗生素(见图 1)。



注:该图引自王继凤等《丁酸钠对断奶仔猪小肠粘膜形态杯状细胞的影响》。

图 1 不同试验组断奶仔猪空肠和回肠每 100 个

柱状细胞间杯状细胞的数量比较

2.5 维持胃肠道内微生态平衡

动物的肠道中栖息着多种细菌, 这些微生物与胃肠道食糜及其胃肠道组织构成了一个复杂的菌群系统。正常胃肠道的一个非常重要的特征是内部细菌的协调平衡, 尤其是幼畜。肠道后段发酵产生的丁酸是一种有机酸, 能够降低肠道后段内容物的 pH 值, 抑制大肠杆菌、沙门氏菌等一些病原微生物的生长。从而减少病原菌与动物机体争夺营养物质, 减少其它消化道疾病的发生。

Vander Wielen 等(2000)^[22]发现, 在小家禽的盲肠中未分解的丁酸水平与病原体的控制有相关性。仔猪消化道(特别是结肠、盲肠、直肠)中的大量微生物能发酵碳水化合物产生多种 VFA(主要有甲酸、乙酸、丙酸、丁酸等)这些小分子酸对仔猪后肠的健康起重要作用, 特别是丁酸很容易被结肠上皮细胞吸收并作为能源利用, 而且还能减少结肠疾病的发生^[23]。但是,

Vander Wielen 等(2000)^[22]发现,在小鸡的远端小肠和盲肠中含有极少量的短链脂肪酸,随着日龄增加短链脂肪酸数量也在增加,大约到 15 日龄时水平保持不变。因此,在小家禽中添加适量的丁酸可以收到很好的效益。同时丁酸能促进一些有益菌(如乳酸杆菌等)的生长,能够调节肠道中有益菌和有害菌处于一个动态的平衡过程,具有类似于抗生素的作用。丁酸能降低盲肠中沙门氏菌的附植,对沙门氏菌有很强的杀伤力。Vander Wielen 等(2002)^[24]发现,细菌细胞吸取未分解的脂肪酸,一旦脂肪酸分解,细胞内的 pH 值将发生改变,从而起到杀菌的作用。Cox 等(1994)^[25]发现,丁酸对于减少沙门氏菌在小肠的附植有很好的效果。Lawhon 等(2002)^[26]研究表明,丁酸可以降低毒性基因的表达和降低沙门氏菌对上皮细胞的攻击;乙酸的作用却刚好相反。有试验显示,饲喂含 0.17% 丁酸钠日粮的猪,肠段越往后,有益菌和有害菌之间的比值就越大。同时饲喂丁酸盐的肉鸡能有效地抵抗 21 日龄由于球虫引起的应激反应,并且在幼龄鸡的盲肠中存在未离解丁酸盐与病原体控制相关。与抗生素对胃肠道粘膜发育有副作用不同,丁酸盐有助于保持肠绒毛的结构,有助于维持肉鸡的性能和胴体的质量,特别是在受到球虫病攻击的球虫疫苗接种鸡。Leeson 等(2005)^[27]设置空白组、50 mg/kg 杆菌肽组、0.1% 丁酸组、0.2% 丁酸组,发现各处理组不影响鸡的生产性能,但是,0.2% 丁酸组的胴体重和胸肌重明显提高($P<0.01$)。因此,丁酸可以作为一些抗生素的替代品。并且,丁酸的利用减少了腹泻排泄物中病原体对环境的影响,降低对环境的污染等优势。

2.6 抗炎症作用

丁酸可以促进肠粘膜的修复及其功能恢复,并且能够抑制炎症细胞因子的产生和释放,从而起抗炎症作用。并且丁酸对动物结肠非转化细胞有抗凋亡作用。因此,丁酸能够促进结肠炎的愈合,减少病原菌的感染率,减少肠道疾病的发生。通过肠道灌注,丁酸钠可促进三硝基苯磺酸实验室结肠炎的愈合^[28]。

2.7 预防结肠癌发生

结肠发酵纤维可能抑制结肠癌变的进程。Hassig 等(1997)^[29]研究表明,丁酸对细胞周期有一定影响,它可以诱导结肠腺体瘤和癌细胞的分化。原因可能是丁酸可以抑制组氨酸脱乙酰酶的活性。Hague 等(1997)^[30]发现,在结肠腺瘤或癌细胞上,丁酸可以导致细胞凋亡。

此外,丁酸还可以影响胆汁降解;丁酸可能通过

降低细胞凋亡率间接地减少了结肠粪臭素的产生;丁酸能增加细胞葡萄糖转运载体蛋白的表达,促进细胞对葡萄糖的利用。

3 丁酸在动物生产中的应用

3.1 单胃动物

比利时农业部动物营养与饲养部门于 2002 年 7 月用 144 头刚断奶的仔猪进行饲养试验以观察丁酸钠对断奶后一周龄仔猪生产性能的影响。试验分 2 个处理:①对照组:仅饲喂基础日粮。②添加组:基础日粮+1 kg/t 丁酸钠。断奶日龄为 26~27 d。6 头仔猪(公、母各半)一栏,于刚断奶和断奶后 14 d 分别称重并记录饲料消耗,结果表明:日粮添加丁酸钠可提高日增重 17%,提高采食量 7.3%,料重比降低 8.3%。因此,可以看出,在饲料中添加丁酸钠可以明显改善日增重和饲料报酬,并改善了一些性能参数,提高了仔猪均匀度,缩短了出栏时间^[31]。罗海祥研究发现,除第 1 周外,在断奶仔猪日粮中添加 0.1% 丁酸钠可显著提高断奶仔猪的平均日增重($P<0.05$);第 2、第 3 周,试验组比对照组分别提高 15.17%、15.65%。在试验前 2 周,添加 0.1% 丁酸钠对断奶仔猪采食量没有显著影响($P>0.05$),而在第 3 周,试验组显著高于对照组 6.56%($P<0.05$)。在降低料重比方面,试验组的料重比在每个阶段均比对照组低 13.11%、9.34%、8.54%,但均没有达到显著差异($P>0.05$)。另外,在断奶仔猪日粮中添加 0.1% 丁酸钠可以显著减少仔猪断奶后 7 d 内的腹泻发生率($P<0.05$),比对照组减少了 40.99%^[32]。农业部饲料工业中心郭小华等发现,在仔猪日粮中添加丁酸钠,可以提高生长性能,改善饲料转化效率,提高营养物质的表观消化率,结果见表 1。

表 1 丁酸钠对仔猪营养物质消化率的影响

项目	丁酸钠	抗生素	复合	P 值		
	组 I (%)	组 II (%)	组 III (%)	I vs. II	I vs. III	II vs. III
能量	83.24 ^{ab}	80.85 ^b	84.50 ^a	0.101	0.375	0.018
干物质	95.21 ^a	94.16 ^b	95.11 ^a	0.017	0.811	0.027
粗蛋白质	82.95	81.98	84.47	0.528	0.330	0.119
磷	45.25	44.11	46.47	0.583	0.557	0.263
钙	47.74	46.80	50.91	0.631	0.121	0.049

3.2 反刍动物

Iriki 等(2007)给哺乳小牛瘤胃内注射不同剂量(0、22、44 g)的丁酸,观察其对血浆中血管加压素和酮体浓度的影响发现,丁酸组增加了血浆中酮体浓度并成剂量依赖性,且其持续时间长达 4 h。同时丁酸组的血管加压素浓度也显著增加,且在 15 min~2 h 内 44 g 剂量组血浆中血管加压素的浓度显著高于 22 g 剂量

组($P<0.05$)。这说明丁酸可能有助于提高肝的生酮作用。有报道显示瘤胃灌注丁酸对泌乳量没有影响,但增加了乳脂含量。Senel^[33]报道,丁酸钙对泌乳量没有影响,但是降低了乳脂含量。另外,当乙酸钙与丁酸钙一起使用时却提高了泌乳量和乳脂含量。添加丁酸对牛奶成分没有显著的影响。

4 结语

丁酸具有促进动物生长、增强动物机体免疫力、调节肠道微生物等功能,正逐渐以丁酸盐的形式被广泛应用于动物生产中。但对丁酸盐的添加剂量、丁酸盐对机体免疫功能的调节、对肠道粘膜的作用机理等方面还需进一步的研究。

参考文献

- [1] Annison E F, Armstrong D G. Volatile fatty acid metabolism and energy supply[J]. Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant, 1970, 5:422-437.
- [2] Dierick N A, Decuyper J A, Molly K. The combined use of triacylglycerols containing medium-chain fatty acids and exogenous lipolytic enzymes as an alternative for nutritional antibiotics in piglet nutrition[J]. Livest. Prod. Sci., 2002, 75:129-142.
- [3] Kwan Y M, Ricke S C. Induction of acid resistance of salmonella typhimurium by exposure to short chain fatty acids[J]. Appl. Environ. Microbiol., 1998, 64:3 458-3 463.
- [4] Kruch J. Effects of sodium butyrate, a new pharmacological agent, on cells in culture [M]. Mol. Cell Biochem., 1982, 42:65-82.
- [5] Miller S J, Hoggatt A M, Fanlik W P. Induction of endothelial intercellular adhesion molecule-1 expression by butyrate [J]. FASEB J., 1998, 12:84.
- [6] Pouillart P, Cerutti I, Ronco G. Protective activity of mono-acetone glucoses-butyrates, prodrug of n-butyric acid, against the fatal effect of on cephalomyocarditis virus in mice[J]. C. R. Acad. Sci. III, 1992, 314:49-54.
- [7] Sramek S J, Freeman F E. Escherichia coli coenzyme A-trans-ferase. Kinetics, Catalytic Pathway and Structure[J]. Arch. Biochem. Biophys., 1975a, 171:27-35.
- [8] 于卓腾,杭苏琴,姚文,等.肠道产丁酸细菌及其丁酸产生机制的研究进展[J].世界华人消化杂志,2006,14(25):2 531-2 534.
- [9] Bolton W, Dewar W A. The digestibility of acetic, propionic and butyric acids by the fowl[J]. Br. Poult. Sci., 1965, 6:103-105.
- [10] Iizuka M, Shimbayashi K, Miyao N. Volatile Fatty Acids as precursors of Milk constituents in the Lactating Goat[J]. National Inst. Animal Health Quart., 1964, 4:51-57.
- [11] 杨丽杰.VFA 和粘蛋白对肠道微生物和肠道疾病的影响[J].畜禽生产,2006,6:36-37.
- [12] 李富伟,唐春祥.新型饲料添加剂——丁酸钠[J].中国猪业,2006, 6:34-35.
- [13] 李可洲,李宁,黎介寿,等.短链脂肪酸对大鼠移植小肠作用的研究[J].肠外与肠内营养,2000,7(3):159-161.
- [14] 张军,黄佳佳.丁酸盐在动物营养中的应用[J].饲料广角,2006,21: 45-50.
- [15] Itoh Z. Motilin-induced mechanical activity in alimentary tract sand[J]. J. Gastroenterol., 1976, 39:93-110.
- [16] Dryburgh T R, Brown J C. Radioimmunoassay for Motilin [J]. Gastroenterol., 1975, 88:1 169-1 176.
- [17] Pryde S E, Duncan S H, Hold G L. The microbiology of butyrate formation in the human colon[J]. FEMS Microbiol. Lett., 2002, 217: 133-139.
- [18] Sakata T. Stimulatory effect of short-chain fatty acids on epithelial cell proliferation in the rat intestine: A possible explanation for trophic effects of fermentable fiber, gut microbes and luminal trophic factors[J]. Br. J. Nutr., 1987, 58:95-103.
- [19] Piva A, Morlacchini M. Sodium butyrate improves growth performance of weaned piglets during the first period after weaning[J]. Italian Journal of Animal Science, 2002, 1(1):35-41.
- [20] Harig J M, Soergel K H. Treatment of diversion colitis with short-chain-fatty irrigation[J]. N. Engl. J. Med., 1989, 320:23-28.
- [21] 王继凤,陈耀星,王子旭,等.丁酸钠对断奶仔猪小肠粘膜形态结构的影响[J].中国兽医科技,2005,35(4):298-301.
- [22] Vander Wielen P W, Biesterveld J J, Notermans S H. Role of volatile fatty acids in development of the cecal microflora in broiler chickens during growth[J]. Appl. Env. Microbiol., 2000, 66: 2 536-2 540.
- [23] Pryde S E, Duncan S H, Hold G L. The microbiology of butyrate formation in the human colon[J]. FEMS Microbiology Letters, 2002, 217(2):133-139.
- [24] Vander Wielen P W. Dietary strategies to influence the gastrointestinal microflora of young animals and its potential to improve intestinal health [J]. Nutrition and Health of the Gastrointestinal Tract, 2002:37-60.
- [25] Cox N A, Bailey J S. Effect of butyric or lactic acid on the invitro Colonization of salmonella typhimurium[J]. Appl. Poult. Res., 1994, 3:315-318.
- [26] Lawhon S D, Maurer R, Altier C. Intestinal short-chain fatty acids alter salmonella typhimurium invasion gene expression and virulence through BarA/SirA[M]. Mol. Microbiol., 2002, 46:1 451-1 461.
- [27] Leeson S, Namkung H, Lee E H. Effect of butyric acid on the performance and carcass yield of broiler chickens[J]. Poultry Science Association, 2005, 2:1 418-1 422.
- [28] 胡仁伟,欧阳钦,王皓. 丁酸钠对三硝基苯磺酸实验室结肠炎的疗效研究[J].四川大学学报,2003,34:562-564.
- [29] Hassig C A, Tong J K, Schreiber S L. Fiber-derived butyrate and the prevention of colon cancer[J]. Chem. Biol., 1997, 4:783-789.
- [30] Hague A, Singh B, Paraskeva C. Butyrate acts as a survival factor for colonic epithelial cell: Further fuel for the in vivo versus in-vitro debate[J]. Gastroenterology, 1997b, 112:1 036-1 040.
- [31] 陈小兵,许毅,陶正国.丁酸钠的研究进展[J].新饲料,2007(3): 33-34.
- [32] 罗海祥.丁酸钠对断奶仔猪生长性能和小肠形态的影响[J].畜禽业, 2006(7): 14-16.
- [33] Senel S H, Owen F G. Relation of dietary acetic and butyric acids to intake, digestibility, lactation performance, and ruminal and blood levels of certain metabolites[J]. Dairy Science Vol., 1966, 50 (3):327-333.

(编辑:王芳,xfang2005@163.com)

应用 PCR-DGGE 分析南美白对虾肠道微生物多样性

刘淮德 王雷 王宝杰 刘梅 蒋克勇 张国范

摘要 从南美白对虾肠道中提取微生物基因组总DNA,以细菌16S rRNA基因通用引物341F/534R进行V3高变异区域PCR扩增,长约200bp的PCR产物纯化后经变性梯度凝胶电泳(DGGE)分离,获得微生物群落的特征DNA指纹图谱。通过DGGE图谱的半定量分析,发现样品的优势群落明显。结果表明,PCR-DGGE是研究水产动物肠道微生物多样性的可行方法。

关键词 南美白对虾;肠道微生物多样性;PCR-DGGE

中图分类号 S816.3

随着水产养殖业的迅猛发展,集约化和规模化养殖导致大规模病害的频繁发生。大量抗生素和化学药物的滥用不仅使水产动物免疫力下降,肠道正常菌群遭到破坏,而且造成生态环境的污染^[1]。近年来,为了促进无公害水产养殖业的发展,减少病害的发生,人们开始尝试使用微生态制剂(Probiotics)来调节肠道菌群,改善生态环境^[2-4]。而当前微生态制剂的基础研究比较薄弱,水产养殖中多为应用效果方面,缺乏系统性的深层次研究。因此,对水产动物肠道微生物多样性的研究是微生态制剂开发和应用的首要条件。

DGGE(denaturing gradient gel electrophoresis,变性梯度凝胶电泳)是20世纪80年代初期由Lerman等发明^[5-8],起初主要用来检测DNA中的点突变。Muyzer等(1993)^[9]首次将其应用于微生物群落结构的研究。此后,逐渐被应用到微生物分子生态学的各个领域,包括土壤^[10]、植物根系^[11]、活性污泥^[12]、淡水湖^[13]、海洋^[14]、油藏^[15]、温泉^[16]、人体和动物肠道^[17-18]等,目前已经成为微生物分子生态学研究的主要方法之一^[19-20]。

南美白对虾作为我国重要的水产养殖品种,肠道微生物多样性的研究多集中在可培养细菌的研究上,但是自然界中99%以上的微生物是不可培养的,而且在分子微生物方面的研究也不够系统全面^[21]。我们对于水产动物肠道微生物区系组成的了解还远远不够,对对虾肠道微生物的多样性更是没有弄清楚。为了克

服传统微生物培养技术的缺陷,更全面深入地了解对虾肠道的微生物群落结构,本文利用直接提取的肠道微生物基因组DNA,采用PCR-DGGE方法,建立了研究南美白对虾肠道微生物组成的分子方法。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品的采集与处理

健康成年南美白对虾(购自南山市场),于超净台下取肠道,无菌操作。

1.1.2 主要仪器

PCR仪,DGGE电泳仪(BioRad)。

1.2 DNA的提取

取200mg肠道样品,液氮研磨,加入1mlPBS(pH值7.4,0.1mol/l磷酸钠缓冲液)和20μl20%PVPP(聚乙烯聚吡咯烷酮),充分均质化后200×g离心6min,取上清液;沉淀中再加入1mlPBS,离心,取上清液;合并两次上清液,再次300×g离心6min,取上清液;再以12000×g离心6min收集菌体,并用PBS洗涤。在得到的菌体中加入300μl裂解液I(150mMNaCl,100mM EDTA-Na₂,pH值8.0)、10%溶菌酶100μl和1%RNaseA20μl,混匀后37℃保温30min。加入300μl裂解液II(100mM NaCl,500mM Tris-HCl,pH值8.0)及50μl20%SDS(十二烷基磺酸钠)和50μl20%PVPP,混匀后冰浴5min。加入等体积Tris饱和酚:氯仿:异戊醇(2:24:1),13000×g离心8min,取上清液;再加入等体积氯仿:异戊醇(24:1),13000×g离心8min,取上清液(重复操作一次)。加入1/10体积3M醋酸钠及2倍体积乙醇,-20℃沉淀2h以上。15000×g离心15min,70%乙醇洗涤一次,超净台下干燥沉淀。沉淀用40μlTE(100mmol/l Tris-HCl,1mmol/l EDTA, pH值8.0)溶解,-20℃冷冻保存备用。

1.3 PCR扩增

1.3.1 PCR引物

刘淮德,中国科学院海洋研究所海洋生物技术研究与发展中心,266071,山东省青岛市南海路7号中国科学院海洋研究所水族楼301。

王雷(通讯作者)、王宝杰、刘梅、蒋克勇、张国范,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2008-08-04

341F(5' 端连接 GC 夹^①): CGCCCGCCGCGCGCG
GCAGGCAGGGCGGGGCACGGGGGCCTACGGGAG
GCAGCAG

534R: 5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3'

1.3.2 PCR 体系

无菌双蒸水 34.5 μl, 10×PCR 缓冲液 5 μl, 2.5 mmol/l dNTP 4 μl, 2.5 μmol/l PCR 引物各 2 μl, Taq 酶 0.5 μl, 模板 DNA 2 μl。采用降落 PCR 进行扩增: 94 °C 预变性 4 min; 94 °C 1 min, 65 °C 45 s, 72 °C 45 s, 退火温度每个循环降低 1 °C, 当退火温度降至 55 °C 后, 再以该温度扩增 25 个循环; 最后 72 °C 补平 10 min。PCR 产物用 1.5% 的琼脂糖凝胶进行电泳, 切下条带, 上海生工胶回收试剂盒回收。

1.4 变性梯度凝胶电泳(DGGE)

纯化产物上样于 8% 的 DGGE (变性梯度 40%~65%) 进行电泳, 恒压 200 V、10 min, 然后 65 V、10 h, Gene Finder 染色, 0.5×TAE 中脱色 15 min。蓝盾可见光透射仪下进行拍照。

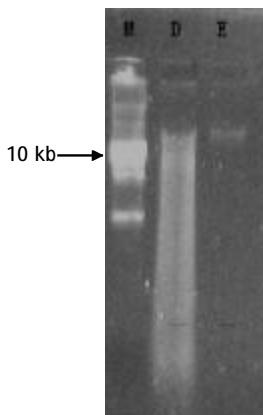
1.5 DGGE 图谱分析

应用 Band Scan 5.0 软件对 DGGE 图谱进行分析。

2 结果和分析

2.1 总 DNA 的抽提

总 DNA 经 0.8% 的琼脂糖凝胶电泳, 在大于 10 kb 处出现条带, 电泳结果如图 1 所示。



注:M, 1 kb DNA Ladder; D, 南美白对虾肠道样品; E, 大肠杆菌。

图 1 基因组 DNA 提取电泳图

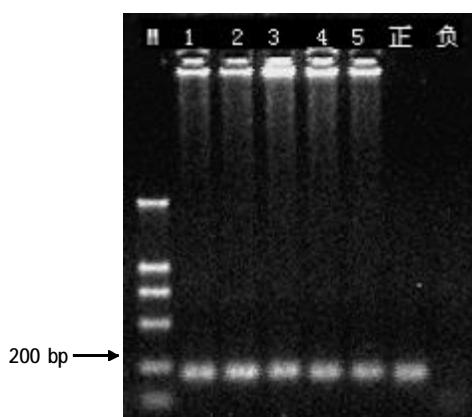
2.2 16S rDNA 片段的扩增

总 DNA 的 PCR 产物用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测, 发现均获得了特异性扩增片段(见图 2)。从图 2 中可以看出, 片段大小在 200 bp 左右。

2.3 DGGE 分离 PCR 产物

图谱中条带的数量、位置及条带的亮度可以反

映样品中微生物的种类和相对数量。



注:M, DL2000; 1~5 为南美白对虾肠道样品平行样; 正, 大肠杆菌阳性对照; 负, 阴性对照。

图 2 南美白对虾肠道样品 PCR 扩增结果

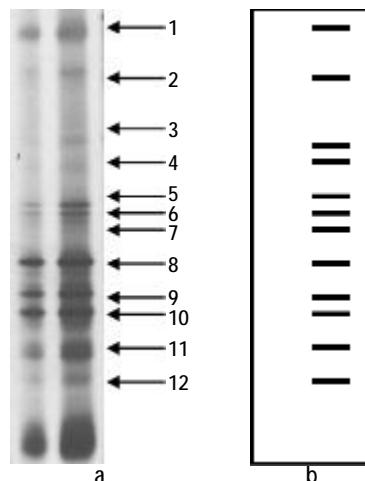


图 3 南美白对虾肠道微生物 DGGE 图谱(a)和电泳模式图(b)

2.4 DGGE 图谱分析

通过 Band Scan 5.0 软件对 16S rDNA DGGE 指纹图谱进行分析, 样品微生物优势条带百分比见表 1。由表 1 可知, 应用 DGGE 检测到南美白对虾肠道中共有 12 种微生物, 而且存在明显的主带与次带之分, 其中 Band 5 和 8 为优势带, 含量分别为 17.1% 和 20.5%; Band 9、10、11 为次优势带, 含量分别为 11.5%、10.2%、8.3%, 优势带与次优势带共占 67.6%。

表 1 南美白对虾肠道样品 DGGE 指纹图谱中各条带的百分含量

条带	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
百分含量(%)	3.0	4.4	4.2	3.1	17.1	8.4	5.4	20.5	11.5	10.2	8.3	4.0

3 讨论

3.1 DNA 的提取

应用 DGGE 法分析肠道菌群,DNA 的提取是关键。本文采用液氮研磨法和化学裂解法提取基因组总 DNA。通过机械法(液氮研磨)、化学法(SDS)和酶法(溶菌酶)的结合,尽可能使全部菌体裂解,使 DNA 最大限度地释放,从而保证获得全部细菌基因组 DNA,并增加 DNA 的提取率,保证 DNA 的产量和纯度。由图 1 可见,样品的条带很清晰,亮度高。采用过夜培养的大肠杆菌做阳性对照,同样方法提取,以此为参照可以证明得到的是基因组 DNA。样品的拖带可能是由于物理作用产生的碎片,但从后续的 PCR 及 DGGE 来看,对结果是没有影响的。

3.2 16S rDNA 片段的扩增

以肠道微生物基因组总 DNA 为模板,采用对大多数细菌和古细菌的 16S rRNA 基因 V3 区通用引物(341F/534 R)对肠道样品的基因组总 DNA 进行扩增,在引物 341F 的 5' 端添加 GC 夹以提高扩增片断的分离效果。采用降落 PCR 扩增,提高了样品的扩增特异性,降低了 DGGE 分析的误差,能够达到分离和鉴别样品中微生物种类的目的。图 2 中各平行样之间以及与大肠杆菌基因组 DNA 阳性对照扩增产物的亮度均一致,没有其它非特异性条带。

3.3 DGGE 分离 PCR 产物

不同的双链 DNA 片段因为其序列组成不一样,所以其解链区域及各解链区域的解链温度也是不一样的。同样长度但序列不同的 DNA 片段会在胶中不同位置处达到各自最低解链区域的解链温度,因此它们会在胶中的不同位置处发生部分解链导致迁移速率大大下降,从而在胶中被区分开来^[5]。由图 3 可见,各条带清晰可见,条带之间可明显区分开来,达到了较好的分离效果。

3.4 DGGE 图谱分析

经过变性梯度凝胶电泳(DGGE)都可以分离出数目不等的电泳条带,且各个条带的信号强度和迁移位置不同。根据变性梯度凝胶电泳(DGGE)对具有相同大小而不同 DNA 序列的片段分离,每个独立分离的 DNA 片段在原理上可以代表一个微生物种属。电泳条带越多说明微生物多样性丰富,条带信号越强,表示该种属的数量越多,从而确定样品所含有的微生物的种类和数量关系,得出其中微生物多样性的信息。通过 Band Scan 5.0 软件分析得到 DGGE 分离到 12 种微生物之间的相对数量关系,并从中发现 2 种为优势菌,3 种为次优势菌。

对虾肠道微生物的早期研究主要是传统的培养法,近年来分子方法被大多数人采用。Yasuda 等^[22]发现,幼虾中弧菌属占优势,而成年虾中假单胞菌属占优势; Dempsey 等^[23]发现,弧菌属、产碱菌属、气单胞菌属、发光杆菌属和假单胞菌属为虾肠道优势种群。王祥红等^[24]发现,弧菌属和发光杆菌属在野生中国对虾肠道中为优势菌属。这些研究都是采用传统的培养方法鉴定得到优势种群。李志勇等^[25]发现,不同对虾及同一种对虾的鳃部与肠道内的细菌组成差异性非常大;而罗鹏等^[26]经比较研究发现,凡纳滨对虾养殖系统内不同环境的优势种群十分明显。两者采用的都是 PCR-DGGE 方法,但比较不同对虾之间的肠道微生物组成差异,并没有比较分析对虾肠道微生物中各种群之间的关系。本文通过 Band Scan 5.0 软件对 16S rDNA DGGE 指纹图谱进行半定量分析得出,对虾肠道微生物中各种群之间的相对关系。李可等^[27]用 16S rDNA 克隆文库方法分析得到 12 种的南美白对虾肠道微生物,与本文应用 DGGE 方法得到 12 种微生物的结果一致。

DGGE 方法有不需要培养、分辨率高、结果准确可靠、重复性好、检测速度快、可同时检测多种微生物等优点,但也存在通常只能分析 500 bp 以下的 DNA 片段、只能反映总 DNA 中占 1% 以上的菌群、可能对微生物群落结构组成造成高估的缺陷。可以通过使用类群特异性引物扩增基因组总 DNA、使用软件进行嵌合体分析以及优化 DNA 提取、PCR 及电泳条件等方法进行改进,还可以与其它技术方法结合使用,如纯培养、直接形态观察、克隆、核酸探针检测技术及原位杂交等,增加 DGGE 方法的灵敏度和准确性。

在水产养殖中,应用 PCR-DGGE 技术可建立一种不依传统分离培养技术而能原位揭示对虾体内细菌种群组成的分子诊断技术和病原菌分子诊断技术。通过检测水产动物肠道正态微生物区系组成,建立基于机体内优势菌群结构的健康水产动物评价技术。还可检测水产动物肠道微生物的动态变化和病害后微生物区系组成的差异,以及使用微生态制剂前后微生物区系组成的差异,为水产动物健康养殖提供参考。通过对虾肠道内细菌群落结构的揭示为新的水产微生物制剂菌株的开发和应用提供候选菌株和理论基础。若结合切胶、克隆和测序等方法,还可测定微生物的种类,为肠道微生物区系组成提供更全面的信息。

4 结论

采用液氮研磨法和化学裂解法提取得到质量较好的南美白对虾肠道微生物基因组 DNA, 降落 PCR 扩增得到 200 bp 左右的 V3 区 16S rDNA 片段, 产物经试剂盒纯化后通过变性梯度凝胶电泳将其分离, 应用 Band Scan 5.0 软件对 16S rDNA DGGE 指纹图谱进行半定量分析发现, 南美白对虾肠道 12 种微生物中有 2 种为优势种群, 3 种次优势种群。研究表明, PCR-DGGE 方法能够反映对虾肠道微生物中种群的组成关系, 是研究水产动物肠道微生物区系组成的可行方法。

参考文献

- [1] Weston D. Environmental considerations in the use of antibacterial drugs in aquaculture[J]. Aquaculture and Water Resource Management, 1996: 140-165.
- [2] Gatesoupe F J. The use of probiotics in aquaculture [J]. Aquaculture, 1999, 180(1/2): 147-165.
- [3] Verschueren L, et al., Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture[J]. Microbiol. Mol. Biol. Rev., 2000, 64(4): 655-671.
- [4] Devaraja T N, F.M. Yusoff, M. Shariff. Changes in bacterial populations and shrimp production in ponds treated with commercial microbial products[J]. Aquaculture, 2002, 206(3/4): 245-256.
- [5] Fischer S G, L.S. Lerman. DNA fragments differing by single base-pair substitutions are separated in denaturing gradient gels: correspondence with melting theory[J]. Proc.Natl.Acad. Sci. U S A, 1983, 80(6): 1 579-1 583.
- [6] Lerman L S, et al. Sequence-determined DNA separations[J]. Annu. Rev. Biophys. Bioeng., 1984, 13: 399-423.
- [7] Myers R M, et al. Nearly all single base substitutions in DNA fragments joined to a GC-clamp can be detected by denaturing gradient gel electrophoresis[J]. Nucleic Acids Res., 1985, 13(9): 3 131-3 145.
- [8] Myers R M, et al. Modification of the melting properties of duplex DNA by attachment of a GC-rich DNA sequence as determined by denaturing gradient gel electrophoresis[J]. Nucleic Acids Res., 1985, 13(9): 3 111-3 129.
- [9] Muyzer G, E.C. de Waal, A.G. Uitterlinden, Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction -amplified genes coding for 16S rRNA[J]. Appl. Environ. Microbiol., 1993, 59(3): 695-700.
- [10] Gomes N C, et al. Dynamics of fungal communities in bulk and maize rhizosphere soil in the tropics[J]. Appl. Environ. Microbiol., 2003, 69(7): 3 758-3 766.
- [11] Smalla K, et al. Bulk and rhizosphere soil bacterial communities studied by denaturing gradient gel electrophoresis: plant-dependent enrichment and seasonal shifts revealed[J]. Appl. Environ. Microbiol., 2001, 67(10): 4 742-4 751.
- [12] Eichner C A, et al. Thermal gradient gel electrophoresis analysis of bioprotection from pollutant shocks in the activated sludge microbial community[J]. Appl. Environ. Microbiol., 1999, 65(1): 102-109.
- [13] Sekiguchi H, et al. Succession of bacterial community structure along the Changjiang River determined by denaturing gradient gel electrophoresis and clone library analysis[J]. Appl. Environ. Microbiol., 2002, 68(10): 5 142-5 150.
- [14] Teske A, et al. Distribution of sulfate-reducing bacteria in a stratified fjord (Mariager Fjord, Denmark) as evaluated by most-probable-number counts and denaturing gradient gel electrophoresis of PCR-amplified ribosomal DNA fragments[J]. Appl. Environ. Microbiol., 1996, 62(4): 1 405-1 415.
- [15] Watanabe K, et al. Molecular characterization of bacterial populations in petroleum-contaminated groundwater discharged from underground crude oil storage cavities[J]. Appl. Environ. Microbiol., 2000, 66(11): 4 803-4 809.
- [16] Ferris M J, G. Muyzer, D. M. Ward. Denaturing gradient gel electrophoresis profiles of 16S rRNA-defined populations inhabiting a hot spring microbial mat community[J]. Appl. Environ. Microbiol., 1996, 62(2): 340-346.
- [17] Simpson J M, et al. Application of denaturant gradient gel electrophoresis for the analysis of the porcine gastrointestinal microbiota[J]. J. Microbiol. Methods., 1999, 36(3): 167-179.
- [18] Wang G C, Y.Wang. Frequency of formation of chimeric molecules as a consequence of PCR coamplification of 16S rRNA genes from mixed bacterial genomes[J]. Appl. Environ. Microbiol., 1997, 63(12): 4 645-4 650.
- [19] Muyzer G, DGGE/TGGE a method for identifying genes from natural ecosystems[J]. Curr Opin Microbiol, 1999, 2(3): 317-322.
- [20] Muyzer G, K. Smalla, Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in microbial ecology[J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 1998, 73(1): 127-141.
- [21] Torsvik V, J. Goksoyr, F.L. Daee. High diversity in DNA of soil bacteria[J]. Appl. Environ. Microbiol., 1990, 56(3): 782-787.
- [22] Yasuda K.T. Kitao. Bacterial flora in the digestive tract of prawns, Penaeus japonicus Bate[J]. Aquaculture, 1980, 19(3): 229-234.
- [23] Dempsey A C, C.L. Kitting, R. A. Rosson. Bacterial Variability Among Individual Penaeid Shrimp Digestive Tracts[J]. Crustaceana, 1989, 56: 267-278.
- [24] 王祥红,李会荣. 中国对虾成虾肠道微生物区系[J]. 青岛海洋大学学报(自然科学版),2000,30(3): 493-498.
- [25] 李志勇,何丽明,吴杰,等. 基于 PCR-DGGE 基因指纹的对虾体内优势细菌组成分析[J]. 微生物学通报,2005,32(3): 82-86.
- [26] 罗鹏,胡超群,谢珍玉,等. 凡纳滨对虾咸淡水养殖系统内细菌群落组成的 PCR-DGGE 分析[J]. 热带海洋学报,2006,25(2): 49-53.
- [27] 李可,郑天凌,田蕴,等. 南美白对虾肠道微生物群落的分子分析[J]. 微生物学报,2007,47(4): 649-653.

(编辑:徐世良, f1-xu@163.com)

毛细管气相色谱法测试瘤胃液 VFA 可行性的研究

刘立成 曹秀青 刘大森

摘要 以羊瘤胃液为样品,选择极性 FFAP 毛细管柱,利用气相色谱外标法测定瘤胃液中 VFA 的含量。结果表明,程序升温初始柱温 110 ℃,升温速率为 10 ℃/min 至 150 ℃保持 5 min,可以有效的分离乙酸、丙酸和正丁酸,重复性好,平行样间偏差低于 3 %,测试快速准确,是测定反刍动物瘤胃 VFA 较为理想的方法。

关键词 瘤胃液;VFA;气相色谱;毛细管柱

中图分类号 S816.17

挥发性脂肪酸(VFA)是碳水化合物在瘤胃内经多种微生物发酵的主要产物,它提供的能量几乎占反刍动物所吸收利用的营养物质总能的 2/3^[1],因此,VFA 的测定对研究反刍动物瘤胃发酵具有重要意义。目前对瘤胃 VFA 的测定主要采用气相色谱法^[2-3],色谱柱大多选择经济耐用的填充柱。而对于毛细管柱测试 VFA 的说法不一,马蕙等^[4]认为,用毛细管柱不能将发酵液中的乙酸和丙酸分离开,且毛细管色谱柱不能进含水样品;而曹庆云等^[5]认为,毛细管气相色谱法测试瘤胃液中 VFA 是可行有效的方法。因此,笔者利用气相色谱仪结合程序升温条件来探讨毛细管柱测试瘤胃液中 VFA 含量的可行性。

1 材料与方法

1.1 试剂

乙酸、丙酸和正丁酸(色谱纯)均为购于 Sigma 公司,偏磷酸为分析纯。

1.2 试验仪器

日本岛津 GC-2010 气相色谱仪;AT.FFAP 毛细管柱(30 m×0.32 mm×0.5 μm);氢火焰离子化检测器(FID),并配有空气压缩机;氢气和氮气(高纯氮 99.999%);低温高速离心机;0.22 μm 水系滤膜;10 μl 微量进样器。

1.3 试验方法

1.3.1 标准品的制备

准确量取 330 μl 乙酸、400 μl 丙酸和 160 μl 正丁酸置于 100 ml 容量瓶中,蒸馏水定容至刻度,即乙酸浓度为 57.65 mmol/l (3.46 g/l)、丙酸浓度为 53.63 mmol/l (3.97 g/l) 和正丁酸浓度为 17.45 mmol/l (1.53 g/l) 的混合标准溶液。在 5 个 1.5 ml 离心管中分别加入 1.0、0.8、0.6、0.4 和 0.2 ml 混合标准溶液,以及 0、0.2、0.4、0.6 和 0.8 ml 蒸馏水,即配制成 5 个不同梯度的 VFA 标准液,用于做标准曲线。

1.3.2 样品的处理

羊瘤胃液用 4 层纱布过滤,取 5 ml 滤液 3 500 r/min 离心 15 min,再取上清液 1 ml 于 1.5 ml 的离心管中,加入 0.2 ml 25% 偏磷酸溶液(按照 5:1 比例),用涡旋振荡器混合均匀,以 10 000 r/min 离心 15 min,上清液用 0.22 μm 水系滤膜过滤,滤液用微量进样器取 1 μl 上机分析,得到 VFA 样品色谱图,采用峰面积归一法计算样品中 VFA 的含量。

1.3.3 色谱参数

柱温箱:采用程序升温,初始温度为 110 ℃,以 10 ℃/min 升温至 150 ℃,保持 5 min。检测器参数:FID,温度为 230 ℃,H₂ 流量 40 ml/min,空气流量 450 ml/min,尾吹流量 45 ml/min。进样口参数:温度 200 ℃,载气高纯氮气,分流比 40:1,进样量 1 μl。

2 结果与讨论

2.1 色谱柱的选择

瘤胃液中发酵产物乙酸、丙酸和丁酸为水相中存在的低分子有机酸,均为强极性物质,AT.FFAP 柱是强极性聚乙二醇硝基对苯二甲酸改性,键合交联毛细管柱,因此可以采用 AT.FFAP 进行瘤胃液中 VFA 的分析。

2.2 柱温的选择

刘立成,东北农业大学动物科技学院,博士,150030,黑龙江哈尔滨。

曹秀青、刘大森(通讯作者),单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2008-08-11

由于瘤胃液挥发性脂肪酸沸点均较低,乙酸沸点为118℃,丙酸141℃,正丁酸163.5℃,且分子量差别不大,试验最初采用恒温法分析,在柱温分别为140、150、160和170℃条件下进行样品分析,结果发现,在恒温条件下色谱峰型重叠,分离效果不好,其原因为样品中水分等杂质引起的杂峰。因此本试验采用程序升温,初始温度110℃,以10℃/min升温速率升至150℃,保持5min,在升温的过程中可以有效地排除杂峰,能够较好地实现对VFA的分离效果。

2.3 标准曲线的制备

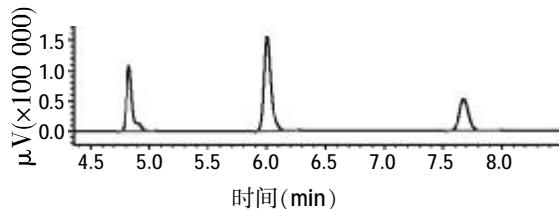
将5个VFA梯度标品按照样品的方法处理,用微量进样器取上清液1μl注入进样口,进行分析,记录峰面积,以峰面积(Y)和标品的浓度(X)做标准曲线,见表1。结果表明,乙酸、丙酸和正丁酸峰面积与浓度呈良好的线性关系。

表1 标准曲线及线性回归方程

项目	线性方程	R ² 值
乙酸	$Y=7.429.3X+12.876$	0.995 6
丙酸	$Y=13.631X+25.118$	0.998 6
丁酸	$Y=17.537X+20.933$	0.996 1

2.4 定性分析

在上述试验条件下,对标准品和瘤胃液样品处理后上机分析,得到相应的色谱图,见图1和图2。由图1可知,混合标样中乙酸、丙酸和正丁酸的保留时间分别为4.821、6.003和7.674 min;而在图2中前4 min所出现的峰均为程序升温过程中所出现的杂峰,其后在4.827、6.009和7.681 min出现的峰对应着标准品峰保留时间依次为瘤胃液样品中的乙酸、丙酸和正丁酸,测试一个样品仅需9~10 min。



注:从左到右依次是乙酸、丙酸和正丁酸。
图1 乙酸、丙酸和正丁酸标准品色谱图

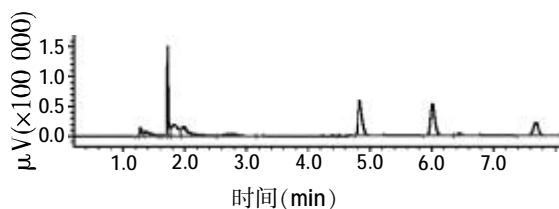


图2 瘤胃液样品VFA色谱图

2.5 精密度

取羊瘤胃液样品一份,进行相应的处理,用于气相分析,每个样品手动进样3次,计算乙酸、丙酸和正丁酸的样品含量,结果见表2。通过3次进样得出乙酸、丙酸和正丁酸的相对偏差在0.58%~2.49%之间,说明采用毛细管柱气相色谱法测试瘤胃液中乙酸、丙酸和正丁酸的含量精密度较高。

表2 VFA精密度的结果(mmol/l)

项目	一次进样	二次进样	三次进样	相对偏差
乙酸	53.286 94	52.543 07	52.632 85	0.58%
丙酸	13.412 82	13.141 22	13.625 59	1.25%
正丁酸	7.493 95	7.918 401	7.943 656	2.49%

2.6 样品分析

瘤胃液样品经处理后准确量取1μl上机分析,根据保留时间、峰面积和标准曲线,计算出羊瘤胃液中乙酸、丙酸和正丁酸的浓度分别为52.82、13.39和7.78 mmol/l。

3 小结

关于气相色谱法测试挥发性脂肪酸的方法有很多,通常根据所用的仪器及色谱柱的填充材料来摸索试验所需色谱条件,无论是程序升温还是恒温方法,都是将所测组分出峰时间分离开,避免重叠峰出现。本试验采用FFAP极性毛细管柱,结合程序升温能够很好地将水分等杂质在升温过程中排除,减少了杂峰对所测试组分的干扰,且方法重复性好,相对偏差都小于3%,精密度高,每个样品仅需9~10 min,能够准确快速地测定瘤胃液中乙酸、丙酸和正丁酸含量。

参考文献

- [1] 卢德勋.反刍动物营养调控理论及其应用[M].内蒙古畜牧科学,1993.
- [2] 黄小兰,陈云华.发酵液中酸性物质的气相色谱测定法[J].食品与发酵工业,2001,27(7):12-14.
- [3] Jaroslav J, Stranska E, Francisci E P, et al. Blood culytres evaluation by gas chromatography of volatile fatty acids[J].Med.Sci.Monit., 2000,6:605-610.
- [4] 马蕙,仪宏,王丽丽.气相色谱法测定发酵液中丙酸和乙酸的含量[J].饲料工业,2008,29(9):48-50.
- [5] 曹庆云,周武艺,朱贵钊,等.气相色谱测定羊瘤胃液中挥发性脂肪酸方法研究[J].2006,24:26-28.

(编辑:徐世良,fi-xu@163.com)

蜂胶黄酮的生物学功能及其在畜牧业中的应用

许合金 张军民 王修启 赵青余

蜂胶(Propolis)是工蜂将从植物新生枝条、叶或芽孢等部位采集的树脂状分泌物混入其上颚腺等腺体，再和蜂蜡等混合加工转化而形成的芳香性胶状物，是一类具有生物学活性的天然化合物，因其含有70余种黄酮化合物而被誉为“黄酮化合物宝库”之称。近几年来，国内外许多学者研究发现，蜂胶黄酮具有抗氧化、抗菌、调节血脂、增强免疫等生物学功能，因此掀起了蜂胶黄酮的研究、开发与应用的热潮。

1 蜂胶的主要成分与结构

1.1 蜂胶的主要成分

蜂胶是由50%树脂(黄酮类和酚类化合物)、30%蜂蜡、10%必需脂肪酸、5%花粉和5%有机化合物组成

(Pietta等,2002)。目前，已鉴定出305个化合物，其中黄酮类化合物71种，芳香酸与芳香酸酯59种，氨基酸25种，醛与酮类化合物17种，脂肪酸与脂肪酸酯50种，萜类化合物19种，甾体化合物6种，糖类化合物9种，烃类化合物25种，醇、酚类和其它化合物24种。另外，蜂胶富含有酶、维生素、矿物质等多种成分。

不同产地的蜂胶黄酮类产品在动物机体中使用的效果是各异的。这是因为蜂场周边所分布植物分泌的树脂成分不一样，造成蜂胶的活性成分也不一样。因此，了解蜂胶黄酮的产品和它具有的活性成分对动物生产和研究是个重要的前提条件(见表1)。

表1 不同蜂胶产地具有的生物活性化合物

蜂胶产地	抗菌成分	抗炎成分	抗癌成分	护肝成分	抗氧化成分	致敏成分
欧洲	黄烷酮	黄烷酮			类黄酮	
	黄酮	黄酮	咖啡酸	咖啡酸	石碳酸	3,3-二甲基丙基-
	石碳酸	石碳酸	苯乙基酯	阿魏酸	石碳酸酯	咖啡酸酯
	石碳酸酯	石碳酸酯				
巴西	劳丹脂 二萜烯类	未确定	异戌烯苯丙类 二萜烯类 香豆酮	类黄酮	类黄酮	未检测
古巴	异戌烯苯丙类 苯甲酸苯酯	未检测	异戌烯苯丙类 苯甲酸苯酯	未确认	苯甲酸苯酯 异戌烯苯丙类	未检测
台湾	未检测	未检测	黄烷酮 异戌烯苯丙类	未检测	异戌烯苯丙类 黄烷酮	未检测

1.2 蜂胶黄酮类化合物的分类与结构

蜂胶黄酮不仅是蜂胶的组成部分，而且是蜂胶发挥生物活性作用的重要组分。蜂胶黄酮类化合物的结构一般是由两个苯环通过中央三碳链相互连接而成

的具有C₆-C₃-C₆基本碳骨架的系列化合物，根据官能团和取代的位置不同，可以将黄酮类化合物分为黄酮、黄酮醇、双氢黄酮、双氢黄酮醇、异黄酮、双氢异黄酮等几种类型，一些黄酮类化合物结构上的-OH与糖昔元结合生成黄酮苷。目前，常见的蜂胶黄酮类化合物包括芦丁、杨梅酮、槲皮素、茨菲醇、芹菜素、松属素、苛因、高良姜素、山奈素、木樨草素、蜜桔黄素、福桔黄素、乔松素、柚木杨素和良姜素等71种。

2 蜂胶黄酮的生物学功能

2.1 抗氧化功能

在蜂胶黄酮中含有一类氧化还原电位很低、可充当还原剂的黄酮类物质，具有供氢能力，可以提供氢

许合金，中国农业科学院北京畜牧兽医研究所 动物营养学国家重点实验室，100193，北京。

张军民(通讯作者)、赵青余，单位及通讯地址同第一作者。

王修启，华南农业大学动物科学学院。

收稿日期：2008-08-27

★ 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目

质子与脂肪产生的自由基相结合,及时中止了自由基的连锁反应,从而保护机体。Scheller 等(1990)利用电子顺磁共振的方法研究蜂胶乙醇提取液对自由基的作用,结果发现,蜂胶中黄酮化合物对 2,2-二甲基-1-1 苦基肼基游离基有强烈的抑制作用,可以有效地清除自由基。Pascual 等(1994)、Krol 等(1996)研究表明,蜂胶黄酮在体外试验同样具有抗氧化的功能。Nieva Moreno 等(2000)研究表明,阿根廷蜂胶黄酮化合物可以减少自由基的生成,以至于对血清脂质起抗氧化的作用。Sun 等(2000)通过动物体内试验证明蜂胶提取物具有抗氧化功能。Nagai 等(2003)体外研究表明,蜂胶水提取液浓度为 50、100 mg/ml 完全可以抑制过氧化物及氢氧根离子的产生。Fuliang 等(2004)研究表明,蜂胶乙醇提取液和水溶液均能降低小鼠血清中血糖、果糖胺、丙二醛、氧化亚氮、一氧化氮合成酶、总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白、极低密度脂蛋白的水平,提高血清中高密度脂蛋白、SOD 的水平。但 Isla 等(2001)研究表明,蜂胶乙醇提取液能够有效地防止血清脂质氧化而改变形态,而且预示蜂胶中具有抗氧化功能不只是黄酮化合物。

也有研究表明,体内的许多氧化过程是在过渡金属离子的参与下进行的,许多黄酮化合物都具有 3-羟基-4-羰基、5-羟基-4-羰基或连二酚基的结构,此结构可通过与溶液中金属离子螯合而具有抗氧化性,从而减少油脂自动氧化。已经证实槲皮素、芦丁等的抗氧化功效与此有关。

2.2 抗菌功能

蜂胶能抑制多种细菌和某些病毒的生长,具有天然广谱抗生素作用。蜜蜂的巢穴一直处于 34 ℃左右的高温,湿度为 80%,蜂蜜甜浆却可以抵御各类细菌的干扰保持新鲜,正是因为蜂胶具有抗菌的能力(Bosio 等,2000)。国外许多学者对蜂胶的药效作用进行的大量研究表明,蜂胶对细菌、真菌、病原、线虫有杀灭或抑制作用,包括幼虫芽孢杆菌、枯草杆菌、杆状菌、葡萄球菌、金黄色葡萄杆菌、链球菌、链霉菌、发面酵母、大肠杆菌、沙门氏菌、112 种厌氧菌品系、拟杆菌、克氏杆菌等细菌、白假丝酵母、黑曲霉、灰葡萄孢霉、蜜蜂球囊菌、6 种人类传染的真菌、疱疹、马铃薯病毒、流行性感冒、新城疫等病毒以及蛔虫等。Bankova 等(1983)及 Marcucci 等(1995)研究均表明,在蜂胶成分中起药物功效的是树脂中黄酮类、石碳酸和石碳酸

酯类。Bosio 等(2000)通过体外试验研究表明,蜂胶对链球菌的最小抑制浓度≤234 μg/ml,并通过高效液相色谱分析蜂胶中富含有黄酮类等活性成分。高良姜素、松针素和桥松素被确认是对细菌作用最强的黄酮类物质。Santos 等(2002)、Kartal 等(2003)、Lu 等(2005)、Choi(2005)和 Scazzocchio 等(2005)研究均表明,蜂胶黄酮乙醇提取液对革兰氏阴性菌、部分革兰氏阳性菌以及大部分的细菌具有良好的抑制作用,其主要的抗菌活性成分是咖啡酸及其酯类、酚类以及黄酮类化合物。

蜂胶黄酮具有的抑菌功能很多都只局限于体外试验研究。由于蜂胶黄酮在体内必须经受胃肠道中酶、pH 值等因素的影响,因此它能否发挥其在动物机体内抗菌功能值得进一步研究。

2.3 脂类调节功能

蜂胶黄酮类物质,如槲皮素、芦丁、白杨素和刺槐素等可作为调节动物机体血脂的功能因子。主要是通过与胆固醇或其转化物胆酸结合,从而抑制其在肠内的吸收,促进降解和排泄。Berliner 等(1995)研究表明,蜂胶中黄酮类槲皮素、咖啡碱、4、6-二羟基-二氢黄酮等有良好的降血脂作用。也有研究认为,蜂胶黄酮可以通过提高血液中高密度胆固醇的浓度来控制动物机体胆固醇和甘油三脂的沉积。当血清低密度脂蛋白(LDL)和极低密度脂蛋白(VLDL)的浓度高时,动脉壁内脂质,特别是胆固醇酯沉积增多。而高密度脂蛋白(HDL)正好相反,它参与胆固醇的逆向转运,有效地摄取外周多余的胆固醇,抑制细胞对 LDL 的摄取,在卵磷脂胆固醇酰转移酶(LCAT)的作用下转移到肝脏代谢,从而降低胆固醇在血管壁的沉积。Aviram 等(1996)研究表明,胆固醇在机体细胞外围沉积都是源于 LDL 遭受氧化造成的,防止 LDL 氧化是阻止动脉粥样化形成的有效途径。胡福良等(2004)研究了蜂胶黄酮实验性高脂血症 SD 大鼠血液和肝脏脂质的影响,结果表明,蜂胶提取液可降低大鼠胆固醇和甘油三脂含量,提高 HDL 含量。另外,蜂胶黄酮对动物肝脏的脂质过氧化也具有抑制作用。

2.4 提高免疫的功能

蜂胶中的许多酶类、醇类、脂类和酸类物质具有广泛的免疫效应,全面启动机体的免疫防疫系统。蜂胶的免疫增强功能表现为免疫防御、免疫自稳、免疫监视 3 方面的生理功能,即机体对病菌、病毒的抗感

染能力,识别和清除自身衰老组织细胞的能力,杀伤和清除异常突变细胞,抑制恶性肿瘤生长的能力。

2.4.1 对非特异性免疫的影响

机体的非特异性免疫主要表现在3个方面:①免疫屏障。②细胞的吞噬及杀伤作用,包括在肝脏、脾脏等中的巨噬细胞、血液中的单核细胞、中性粒细胞等细胞的强大吞噬作用和自然杀伤细胞(NK)和淋巴因子激活的杀伤细胞(LAK)等对抗原细胞的杀伤作用。③体液作用,血液、各种分泌液与组织液含有补体、溶菌酶、备解素、干扰素、白细胞介素等杀伤物质可以参与对抗原物质的清除。蜂胶主要通过后两者来增强机体的非特异性免疫功能的,而发挥这一活性的关键成分可能是蜂胶中的黄酮类成分。

唐传核等(1999)报道,采用蜂胶萃取液来处理小鼠巨噬细胞3 h发现,随着其浓度的增高,活化作用加强,当作用24 h时,从低浓度到高浓度均呈现出较强的活化作用。于晓红等(2001)试验结果证明,蜂胶黄酮类化合物能够增强免疫功能低下小鼠的抗体生成细胞功能,提高溶血素含量,增强单核吞噬细胞功能。胡箭卫等(2003)和周静静等(2003)研究结果证明,蜂胶对胸腺、脾脏及免疫系统具有有益的影响,能促进抗体的生成,增强巨噬细胞的吞噬能力和自然杀伤性细胞的活性。柴家前等(2002)研究证明,纳米蜂胶颗粒能够使得雏鸡红细胞C3b受体花环率显著地提高,而使红细胞免疫复合物花环率显著地降低。

2.4.2 对特异性免疫的影响

细胞免疫主要是由T细胞介导实现的。T细胞受抗原刺激变成致敏细胞后,细胞毒T细胞,即T细胞可直接对靶细胞进行攻击,破坏含有病原体的细胞或抑制病毒繁殖。体液免疫主要是通过B细胞来实现的。当B细胞受到抗原刺激变成具有免疫活性的浆细胞后,产生并分泌抗体——免疫球蛋白,发挥体液免疫功能。

Fischer等(2007)研究表明,使用40 mg新鲜蜂胶乙醇作为灭活油性疫苗的佐剂来抵抗牛疱疹5型病毒,可以显著地提高牛机体的体液免疫水平和抗体效价(32以上)。李淑华等(2001)用单克隆抗体技术检测试验小鼠药物处理前后T细胞总数及亚群变化,并用MTT法检测T细胞增殖的研究结果显示,蜂胶乙醇提取物(EE)能促进ConA诱导的淋巴细胞增殖,增加T细胞总数并调整T细胞亚群紊乱,结果表明,EE对免

疫功能低下小鼠细胞免疫功能具有免疫刺激和调节作用。Dimov等(1991)报道,给试验动物口服蜂胶乙醇提取液,可以明显提高血清丙种球蛋白和总蛋白的含量,增强动物的免疫机能。张敏(2005)试验表明,添加0.03%蜂胶提取液可使得肉仔鸡血清中球蛋白的含量比对照组高出34.30%。

2.5 参与雌激素调节

由于蜂胶中存在的二酚类黄酮在芳香环上有对应于雌激素C₆位的羟基结构,所以在动物体内具有弱的雌激素作用,也称为植物雌激素。雌激素主要是雌性动物体内协调各种生理功能、调节营养物质代谢较为重要的激素,与动物的生长性能和潜力有着密切的关系。研究表明,日粮中添加二酚类的黄酮能够显著提高大鼠、肉仔鸡、蛋鸡、仔猪的生长性能,但是效果受性别影响较大。

具有二酚结构的类黄酮(iso)在调节机体雌性激素水平的机理可能是:①iso能够与雌激素受体相结合,能够提高雌激素受体的最大容量程度和平衡解离常数;②随着动物体植物雌性激素浓度水平的升高,其取代雌性激素和受体结合的程度也升高;③当植物雌激素水平达到一定程度,通过竞争受体,反馈调控雌激素的水平,使雌激素水平升高。因此,植物雌激素具有双重的调节功能,不仅具有弱的雌激素效应,而且可以反馈调节机体雌激素水平的功能。雌激素调控多种脂蛋白和载脂蛋白在肝脏合成,这些脂蛋白和载脂蛋白机体内脂质转运和合成有重要关系,如蛋鸡,雌激素可以通过控制蛋黄脂蛋白的主要前体卵黄生成素和低密度胆固醇的合成来影响鸡蛋品质。目前,关于蜂胶黄酮对动物机体雌激素水平影响的研究比较少,值得进一步研究和探讨。

3 在畜牧业中的应用概况

高峰等(1996)及李中利等(2002)研究表明,在肉仔鸡日粮中添加一定剂量的蜂胶产品能够显著降低了肉仔鸡的死亡率,显著提高肉仔鸡的平均增重、饲料利用率和经济效益。张敏等(2005)研究表明,在肉仔鸡日粮中添加300 mg/kg蜂胶可降低血清中葡萄糖含量,分别比对照组和芦荟组降低14.79%和11.65%;且芦荟组和蜂胶组均可降低血清尿素氮含量,分别比对照组降低47.36%和48.84%。张庚华(1993)、晏向华等(1999)研究表明,在蛋鸡日粮中添加5%的蜂胶含水酒精乳液,可提高蛋鸡产蛋率,降低单位产品耗料,减

少死亡率。严昌国等(2005)研究表明,蛋鸡饲料中添加复合蜂胶制剂可显著提高蛋重和降低蛋中的胆固醇含量。张文建等(2002)研究表明,在生长肥育猪日粮中添加不同形式的蜂胶均能不同程度地提高平均日增重和饲料利用率。彭和禄等(1993)在猪日粮中分别添加蜂胶、蜂花粉观察其对猪肉品质的影响,结果表明,蜂胶可显著提高猪肉的系水力、大理石评分等。

Sun 等(2006)研究表明,蜂胶黄酮可作为免疫疫苗增强剂来提高兔机体的 HI 值和促进鸡的淋巴细胞增殖,从而提高两种动物的免疫水平。张宝康等(2006)研究表明,以蜂胶黄酮为免疫增强剂,能显著提高雏鸡的血清抗体效价,促进外周血淋巴细胞增殖;在体外,也能促进鸡脾脏 T 淋巴细胞增殖,以此证明蜂胶黄酮具有较强的增强免疫活性,是蜂胶中增强免疫作用的有效成分。汤凤霞等(1999)用不同浓度的蜂胶乙醇提取液对新鲜猪肉和鸡蛋进行保鲜试验的结果表明,12%的蜂胶乙醇提取液对猪肉和鸡蛋有一定的保鲜作用,保鲜期比未经处理组延长 45 d。倪辉等(2001)试验表明,1.5%的蜂胶溶液对鸡蛋的保鲜具

有显著的效果,而且 1.5% 和 3% 的蜂胶液分别用浸渍和喷雾的方法处理鲜鸡蛋都能减少鸡蛋在贮藏过程中的散蛋黄率和失重率,使蛋黄系数变小的速度减慢。黄坚(2002)用自制的 10% 蜂胶保鲜防腐剂用于禽蛋保鲜,可比不涂的储藏期延长 2 倍以上,夏天涂此剂的禽蛋可保存 60 d 基本不变质,未涂抹的 20 d 后开始变质,蛋黄粘壳,略有异味。

4 展望

由于蜂胶黄酮具有消除自由基、抗氧化、抗菌、提高酶活、抗癌和调节机体激素水平等方面的作用,因此蜂胶黄酮在保健、医疗、饲料工业等方面市场开发和应用前景十分的广阔。蜂胶黄酮作为饲料添加剂用途,有几个问题值得动物营养研究工作者去探讨:①蜂胶黄酮在动物机体中的代谢途径及在体内抗菌效果;②饲料级蜂胶黄酮在动物产品中的沉积和对人体健康的影响;③不同地区的蜂胶类产品其使用效果各异,其生物活性成分也不一样;④蜂胶黄酮的作用机理。

(参考文献 42 篇, 刊略, 需者可函索)

(编辑:王芳, xfang2005@163.com)

《养猪》:新中国第一本实用养猪技术专刊 中国农业核心期刊

1986 年创刊 订阅代号: 8-100 双月刊 全年 72 元

■ 营养与饲料
■ 仔猪生产
■ 肉猪生产
■ 遗传育种
■ 猪病防治与保健
■ 猪场建设与经营
■ 环境控制与污染防治
■ 肉质与猪产品加工
■ 普及园地
■ 政策法规
■ 市场信息与动态
■ 猪病诊治与免疫防制问答

养猪杂志,每期有求真务实的正文 80 页,另外附加有关种猪、饲料、兽药生物制品及猪场设备用品信息 170 余页,内容更丰富!

创刊 22 年覆盖全国已深入人心的实用养猪技术专刊。

2009 年 **养猪** 精 9—11 月到邮局预订 代号: 8-100

编辑部电话: 024-88445325 广告部电话: 024-88412371 地址: 沈阳市东陵路 120 号
投稿信箱: yzzzz2005@163.com 广告信箱: yzzzz@vip.163.com 邮编: 110161