

活化卵白蛋白对早期断奶仔猪盲肠内 VFA 含量的影响

李春慧^{1,2}, 孟晓琴³, 刘博涛⁴, 陈国顺⁵, 吴 润^{1*}, 蒲万霞^{2*}

(1. 甘肃农业大学 动物医学院, 甘肃 兰州 730070; 2. 中国农业科学院 兰州畜牧与兽药研究所
农业部兽用药物创制重点实验室/甘肃省新兽药工程重点实验室, 甘肃 兰州 730050;
3. 兰州市动物疫病预防控制中心, 甘肃 兰州 730050; 4. 兰州博亚饲料有限公司, 甘肃 兰州 730010;
5. 甘肃农业大学 动物科学技术学院, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 为研究活化卵白蛋白对早期断奶仔猪盲肠内挥发性脂肪酸(VFA)含量的影响, 选取 54 头 20 日龄健康仔猪, 随机分为 3 个处理组, I 组饲喂基础日粮, II 组、III 组在基础日粮中分别添加啤酒酵母 10 mL/(d·头)、活化卵白蛋白 10 mL/(d·头)。仔猪 23 日龄时开始口服制剂, 连续 10 d, 并于 28 日龄断奶。仔猪 23、28、35、42 日龄时, 分别从每个重复中随机选 1 头屠宰, 迅速结扎盲肠两端, 无菌收集盲肠食糜, 利用气相色谱法测定盲肠内 VFA 含量。结果显示: 仔猪 42 日龄时, 与 I 组、II 组相比, III 组仔猪盲肠内乙酸($P<0.01$)、丙酸($P<0.01$)、戊酸($P<0.01$)、总 VFA($P<0.05$)、异丁酸含量升高($P>0.05$); 与 I 组相比, III 组丁酸含量下降($P<0.01$); 仔猪 35 日龄时, 与 I 组、II 组相比, III 组仔猪盲肠内丁酸含量升高($P<0.01$)。表明活化卵白蛋白可以提高早期断奶仔猪盲肠内 VFA 含量。

关键词: 卵白蛋白; 断奶仔猪; 盲肠; 挥发性脂肪酸

中图分类号: S816.73 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2013)11-0136-05

Effects of Active Egg White Protein on Cecal Volatile Fatty Acid of Early Weaned Piglets

LI Chun-hui^{1,2}, MENG Xiao-qin³, LIU Bo-tao⁴, CHEN Guo-shun⁵, WU Run^{1*}, PU Wan-xia^{2*}

(1. College of Veterinary Medicine, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China;
2. Key Laboratory of New Animal Drug Project, Gansu Province/Key Laboratory of Veterinary Pharmaceutical Development, Ministry of Agriculture/Lanzhou Institute of Husbandry and Pharmaceutical Science of CAAS, Lanzhou 730050, China; 3. Lanzhou Animal Disease Control Center, Lanzhou 730050, China;
4. Lanzhou Boya Feed Limited Company, Lanzhou 730010, China; 5. College of Animal Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: To investigate the effects of active egg white protein on cecal volatile fatty acid (VFA) of early weaned piglets, fifty four 20-day-old piglets were randomly divided into three groups. Piglets in group I were fed with basal diet, the groups II and III were fed with basal diet supplemented with *Saccharomyces cerevisiae* (10 mL/d each piglet) and active egg white protein (10 mL/d each piglet), respectively. The 23-day-old piglets in group II and group III were fed with

收稿日期: 2013-07-10

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项(201303038-4)

作者简介: 李春慧(1989-), 女, 河南新乡人, 在读硕士研究生, 研究方向: 生物制药。E-mail: chunhui2013@163.com

* 通讯作者: 吴 润(1958-), 男, 甘肃定西人, 教授, 博士, 主要从事兽医微生物学与免疫学教学和科研工作。

E-mail: wurun@gsau.edu.cn

蒲万霞(1964-), 女, 甘肃武威人, 研究员, 博士, 主要从事微生物学与生物制药研究。E-mail: puwanxia@caas.cn

Saccharomyces cerevisiae and active egg white protein for 10 days, and the 28-day-old piglets were weaned. On 23, 28, 35 and 42-day-old, one piglet randomly selected from each replication was slaughtered, both ends of cecum were ligated quickly and the cecal digesta were collected aseptically to determine the cecal volatile fatty acid by gas chromatography. The results showed that compared to the groups I and II on 42-day-old, the concentrations of the cecal acetic acid ($P < 0.01$), propionic acid ($P < 0.01$), valeric acid ($P < 0.01$), isobutyric acid concentration ($P > 0.05$) and total VFA ($P < 0.05$) of piglets in group III increased. Compared to the group I, cecal butyrate concentration of piglets in group III decreased ($P < 0.01$). On 35-day-old, the cecal butyrate concentration of piglets in group III increased ($P < 0.01$) compared with the group I and group II. It indicates that the active egg white protein could improve cecal VFA concentration of early weaned piglets.

Key words: egg white protein; weaned piglets; cecum; volatile fatty acid

近年来,为提高母猪生产性能和栏舍利用率,仔猪早期断奶成为养猪业的首要选择。然而,由于饮食和环境应激,导致早期断奶的仔猪肠道菌群失衡,消化机能紊乱,出现以食欲差、生长迟缓、腹泻等为主要特征的“早期断奶综合征”。最初,为了提高养猪业经济效益,大多应用抗生素治疗仔猪“早期断奶综合征”。而在当今抗生素限制使用时代,微生态制剂作为一种生物添加剂是较理想的抗生素替代品。

活化卵白蛋白是由啤酒酵母菌发酵卵白蛋白制备的微生态制剂。卵白蛋白含有多种具抗菌活性的蛋白质,其水解或发酵可释放多种生物活性肽,这些蛋白质片段(多肽)可促进营养物质的利用,从而提高机体健康水平^[1]。啤酒酵母菌属于兼性厌氧的一类真菌,其菌体含有丰富的蛋白质、20多种氨基酸和多种维生素(尤其是B族维生素),还可分泌产生多种酶类^[2]。研究^[3]表明,酿酒酵母菌或其培养物可以提高断奶仔猪日增体质量、日采食量,降低胃肠道pH值,调节肠道菌群平衡,增强免疫力,提高机体健康水平;酵母菌培养物含有植酸酶,能刺激母猪后肠发酵,提高挥发性脂肪酸(VFA)产量。VFA在维持动物肠道微生态中起着重要作用,可以提供能量,还可以抵御病原微生物^[4]。VFA是厌氧消化过程的重要中间产物,其主要产生在反刍动物的瘤胃、网胃,单胃动物的后肠(盲肠、结肠、直肠),盲肠厌氧菌是VFA的主要供给者^[5]。在猪等单胃动物的盲肠、结肠及直肠部位,厌氧微生物发酵碳水化合物和未消化蛋白质产生VFA^[6]。VFA的吸收主要在盲肠和结肠部位,可为动物提供能量、抵抗病原微生物和提高动物肠道健康水平等^[5,7]。同时,VFA可促进盲肠、结肠黏膜细胞增殖,降低结肠炎发生率,提高矿物质吸收利用率^[8]。

卵白蛋白含有丰富的营养物质及抗菌活性蛋白

质,具有免疫调节、抗氧化等作用,啤酒酵母菌及其培养物广泛应用在养猪业中,能够提高VFA含量。目前,尚未有活化卵白蛋白应用于早期断奶仔猪的报道。同时,VFA在反刍动物中研究^[9-12]较多,而在单胃动物中研究相对较少。鉴于此,本试验采用啤酒酵母菌发酵卵白蛋白制成活化卵白蛋白,在早期断奶仔猪基础日粮中添加活化卵白蛋白,研究其对仔猪盲肠内VFA含量的影响,旨在为该制剂在养猪业中的应用提供依据,并为研究单胃动物肠道内VFA的产生机制提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

活化卵白蛋白(活酵母菌 1×10^9 cfu/mL)和啤酒酵母(活酵母菌 1×10^9 cfu/mL)由中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所制备。

1.2 试验设计及饲养管理

试验在甘肃省榆中县某猪场进行,按体质量相近的原则,选择经产母猪产的54头20日龄健康三元杂交(杜×大×长)仔猪,随机分为3个处理组,每个处理组3个重复,每个重复6头仔猪(每重复为同一窝仔猪)。I组(空白对照组)饲喂基础日粮,II组(对照组)饲喂基础日粮+啤酒酵母[10 mL/(d·头)],III组(试验组)饲喂基础日粮+活化卵白蛋白[10 mL/(d·头)]。试验从仔猪20日龄开始,连续观察3d,无异常则于仔猪23日龄口服制剂,连续10d,并于28日龄断奶。试验期间动物按常规进行管理,自由采食、饮水,试验期间腹泻不用药物治疗。基础日粮组成及营养水平见表1。

1.3 样品收集

仔猪23、28、35、42日龄时,从各重复中随机选1头屠宰,盲肠两端结扎,在一定部位无菌收集肠道

食糜。食糜于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 厌氧保存,用于测定 VFA 含量。

1.4 样品预处理

称量解冻的盲肠食糜 2 g,加入 10 mL 蒸馏水, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 浸泡 48 h;然后 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、5 000 r/min 离心 10 min,取上清液 1 mL,加入 0.2 mL 25% 的偏磷酸去蛋白溶液,混匀,冰浴 30 min 以上;冰浴后,立即 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、10 000 r/min 离心 10 min,取上清液备用。

表 1 基础日粮组成及营养水平

日粮组成	含量/%	营养水平	含量
玉米	61.00	消化能*/(MJ/kg)	13.86
豆粕	12.56	粗蛋白质/%	20.18
膨化豆粕	10.00	钙/%	0.96
次粉	5.00	有效磷/%	0.63
鱼粉	3.00	赖氨酸*/%	1.54
乳清粉	3.20	蛋氨酸+胱氨酸*/%	0.59
磷酸氢钙	1.40		
食盐	0.34		
酸化剂	1.00		
植物油	1.50		
预混料	1.00		

注:(1)预混料中含有微量元素、维生素,每千克基础日粮含:铁 180 mg,铜 100 mg,锰 60 mg,锌 180 mg,维生素 A 12 000 U,维生素 E 65 mg,维生素 D₃ 3 500 IU,维生素 K 0.5 mg,维生素 B₁ 4 mg,维生素 B₂ 8 mg,维生素 B₆ 3 mg,维生素 B₁₂ 0.03 mg,烟酸 30 mg,泛酸 D₂ 15 mg,叶酸 0.7 mg,生物素 0.4 mg。(2)*表示计算数据,其他均为实测数据。

1.5 测定仪器及气相色谱条件

仪器:Agilent6890N 气相色谱仪。色谱柱:HP-IN-NOWax 毛细管柱(30 m \times 320 μm \times 0.5 μm ,型号:19091J-213);载气:氮气,流速 38 cm/s,77.9 kPa,2.0 mL/min 恒流;柱箱温度升温程序:120 $^{\circ}\text{C}$ (3 min)至 180 $^{\circ}\text{C}$ (1 min),升温速度 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$;进样方式:分流比 40:1,进样量 0.6 μL ,进样口温度 220 $^{\circ}\text{C}$;检测器:氢焰检测器,温度 250 $^{\circ}\text{C}$,氢气流量 40 mL/min,空气流量 450 mL/min,柱流量+尾吹气流量 45 mL/min。

1.6 样品含量测定

用微量移液枪吸取 0.6 μL 待测液进样,每一样品连续进样 3 次取其平均值,测定乙酸、丙酸、丁酸、异丁酸、戊酸、异戊酸和总 VFA 的含量。

1.7 数据处理

采用 SPSS 19.0 统计处理软件进行方差分析,用 Duncan's 法进行多重比较,试验数据以平均值 \pm 标准误表示。

2 结果与分析

2.1 活化卵白蛋白对早期断奶仔猪盲肠内乙酸含量的影响

由表 2 可知,23~35 日龄,随着日龄增加,各组间仔猪盲肠内乙酸含量差异均不显著($P>0.05$);28 日龄,Ⅲ组含量高于Ⅱ组和Ⅰ组;35 日龄,Ⅲ组含量高于Ⅰ组,但低于Ⅱ组。42 日龄,Ⅲ组仔猪乙酸含量极显著高于Ⅰ组和Ⅱ组,Ⅱ组极显著高于Ⅰ组($P<0.01$)。

表 2 不同日龄各组盲肠内乙酸含量 mmol/L

日龄	Ⅰ组	Ⅱ组	Ⅲ组
23	7.58 \pm 1.27	7.58 \pm 1.27	7.58 \pm 1.27
28	6.81 \pm 0.32	6.27 \pm 0.60	7.72 \pm 1.04
35	5.16 \pm 1.49	5.93 \pm 0.29	5.55 \pm 1.21
42	6.47 \pm 0.10C	7.37 \pm 0.13B	8.85 \pm 0.05A

注:同行数据后不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$),未标字母表示差异不显著($P>0.05$),下表同。

2.2 活化卵白蛋白对早期断奶仔猪盲肠内丙酸含量的影响

由表 3 可知,23~35 日龄,随着日龄增加,各组间仔猪盲肠内丙酸含量差异均不显著($P>0.05$);28、35 日龄,Ⅲ组含量均高于Ⅱ组和Ⅰ组($P>0.05$)。42 日龄,Ⅲ组仔猪丙酸含量极显著高于Ⅰ组和Ⅱ组($P<0.01$),Ⅱ组与Ⅰ组间差异不显著($P>0.05$)。

表 3 不同日龄各组盲肠内丙酸含量 mmol/L

日龄	Ⅰ组	Ⅱ组	Ⅲ组
23	3.32 \pm 0.70	3.32 \pm 0.70	3.32 \pm 0.70
28	2.90 \pm 0.13	2.71 \pm 0.44	3.24 \pm 0.31
35	2.62 \pm 0.84	2.61 \pm 0.22	2.65 \pm 0.67
42	3.33 \pm 0.52B	3.43 \pm 0.14B	5.22 \pm 0.34A

2.3 活化卵白蛋白对早期断奶仔猪盲肠内丁酸含量的影响

由表 4 可知,23 日龄,各组仔猪盲肠内丁酸含量相同;28 日龄,各组间差异均不显著($P>0.05$),Ⅲ组含量高于Ⅱ组;35 日龄,Ⅲ组仔猪丁酸含量极显著高于Ⅰ组和Ⅱ组($P<0.01$),Ⅱ组与Ⅰ组间差异不显著($P>0.05$);42 日龄,Ⅰ组仔猪丁酸含量极显著高于Ⅱ组和Ⅲ组($P<0.01$),Ⅱ组与Ⅲ组间差异不显著($P>0.05$)。

2.4 活化卵白蛋白对早期断奶仔猪盲肠内异丁酸含量的影响

由表 5 可知,23 日龄,各组仔猪盲肠内异丁酸

含量相同;28~42 日龄,各组间仔猪盲肠内异丁酸含量差异均不显著($P>0.05$),Ⅲ组含量均高于Ⅱ组;35~42 日龄,Ⅲ组含量均高于Ⅰ组。

表 4 不同日龄各组盲肠内丁酸含量 mmol/L

日龄	I 组	II 组	III 组
23	0.64±0.08	0.64±0.08	0.64±0.08
28	0.54±0.01	0.47±0.05	0.53±0.07
35	0.32±0.00B	0.36±0.03B	0.43±0.01A
42	0.40±0.01A	0.33±0.01B	0.36±0.01B

表 5 不同日龄各组盲肠内异丁酸含量 mmol/L

日龄	I 组	II 组	III 组
23	2.39±0.36	2.39±0.36	2.39±0.36
28	2.32±0.29	1.87±0.20	2.16±0.08
35	2.08±0.60	1.89±0.11	2.34±0.77
42	2.95±0.51	3.06±0.31	3.71±0.50

2.5 活化卵白蛋白对早期断奶仔猪盲肠内戊酸含量的影响

由表 6 可知,23~42 日龄,随着日龄增加,各组仔猪盲肠内戊酸含量均降低。23~35 日龄,随着日龄增加,各组间仔猪盲肠内戊酸含量差异均不显著($P>0.05$)。42 日龄,Ⅲ组仔猪显著高于Ⅱ组和Ⅰ组($P<0.01$),Ⅱ组与Ⅰ组间差异不显著($P>0.05$)。

表 6 不同日龄各组盲肠内戊酸含量 mmol/L

日龄	I 组	II 组	III 组
23	0.64±0.07	0.64±0.07	0.64±0.07
28	0.59±0.06	0.51±0.06	0.52±0.08
35	0.35±0.01	0.37±0.05	0.42±0.08
42	0.34±0.01B	0.33±0.00B	0.38±0.01A

2.6 活化卵白蛋白对早期断奶仔猪盲肠内异戊酸含量的影响

由表 7 可知,23 日龄,各组仔猪盲肠内异戊酸含量相同;28~42 日龄,各组间仔猪盲肠内异戊酸含量差异均不显著($P>0.05$),但Ⅲ组含量均高于Ⅱ组;35 日龄,Ⅲ组含量高于Ⅰ组。

2.7 活化卵白蛋白对早期断奶仔猪盲肠内总 VFA 含量的影响

由表 8 可知,23 日龄,各组仔猪盲肠内总 VFA 含量相同;28~35 日龄,随着日龄增加,各组仔猪盲肠内总 VFA 含量呈降低趋势,各组间仔猪盲肠内总 VFA 含量差异均不显著($P>0.05$),但Ⅲ组含量

均高于Ⅱ组和Ⅰ组;35~42 日龄,随着日龄增加,各组仔猪盲肠内总 VFA 含量升高;42 日龄,Ⅲ组含量显著高于Ⅱ组和Ⅰ组($P<0.05$),Ⅱ组与Ⅰ组间差异不显著($P>0.05$)。

表 7 不同日龄各组盲肠内异戊酸含量 mmol/L

日龄	I 组	II 组	III 组
23	0.47±0.42	0.47±0.42	0.47±0.42
28	0.72±0.13	0.59±0.07	0.67±0.18
35	0.51±0.10	0.46±0.06	0.58±0.12
42	0.81±0.19	0.65±0.11	0.80±0.09

表 8 不同日龄各组盲肠内总 VFA 含量 mmol/L

日龄	I 组	II 组	III 组
23	15.05±2.23	15.05±2.23	15.05±2.23
28	13.88±0.35	12.43±1.13	14.84±1.36
35	10.94±3.10	11.63±0.61	11.96±2.78
42	14.42±2.77b	15.17±0.47b	19.33±0.29a

注:同行数据后不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

3 结论与讨论

本研究发现,在仔猪的不同日龄阶段,Ⅲ组仔猪盲肠内大多 VFA 含量高于Ⅰ组、Ⅱ组。表明活化卵白蛋白可提高早期断奶仔猪盲肠内 VFA 含量,且效果优于啤酒酵母菌。研究^[7,13-16]表明,在断奶仔猪日粮中添加微生态制剂,可显著提高其后肠内 VFA 含量;添加适量芽孢杆菌,盲肠内丙酸和总 VFA 含量提高($P<0.05$);添加中草药三颗针提取物,结肠内乙酸、丙酸、丁酸、戊酸及总 VFA 含量增加($P<0.05$),盲肠内丙酸、戊酸和总 VFA 含量也增加($P>0.05$)。本研究结果显示,仔猪 42 日龄,与Ⅰ组、Ⅱ组相比,Ⅲ组仔猪盲肠内乙酸($P<0.01$)、丙酸($P<0.01$)、戊酸($P<0.01$)、总 VFA ($P<0.05$)、异丁酸含量升高($P>0.05$),与之前的研究结果基本一致。陈根元等^[17]研究认为,在驴后肠中,微生物发酵类型为乙酸型,VFA 含量及比例以乙酸为主。本研究中,乙酸在总 VFA 含量中所占比例最大,其次为丙酸,这与陈根元等^[17]的报道一致。

活化卵白蛋白作为一种新型的微生态制剂,具有提高早期断奶仔猪盲肠内 VFA 含量的功能。可能与其调节肠道菌群平衡、分泌活性物质、提高有益菌数量及活性等有关。同时,由于仔猪消化器官结构和功能逐渐完善,可以从饮食中获取大量能量;自身免疫机能增强,可以自我改善肠道微生物区系,抑

制致病性微生物生长繁殖,促进有益菌生长,从而提高肠道内 VFA 含量。活化卵白蛋白影响盲肠内 VFA 含量的具体作用机制尚不清楚,有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] Mine Y, Kovacs-Nolan J. New insights in biologically active proteins and peptides derived from hen egg[J]. World's Poultry Science Journal, 2006, 62(1): 87-96.
- [2] Pandey A. Concise encyclopedia of bioresource technology[M]. New York: Food Products Press, 2004.
- [3] Veum T L, Bowman G L. *Saccharomyces cerevisiae* yeast culture in diets for mechanically-fed neonatal piglets and early growing self-fed pigs[J]. Journal of Animal Science, 1973, 37(1): 67-71.
- [4] Leavitt J, Barrett J C, Crawford B D, et al. Butyric acid suppression of the *in vitro* neoplastic state of Syrian hamster cells[J]. Nature, 1978, 271: 262-265.
- [5] 秦泽荣, 孔繁瑶, 荒川皓, 等. 柔嫩艾美耳球虫感染对鸡盲肠中挥发性脂肪酸的影响[J]. 寄生虫与医学昆虫学报, 1999, 6(2): 89-93.
- [6] Mackie R I, Stroot P G, Varel V H. Biochemical identification and biological origin of key odor components in livestock waste[J]. Journal of Animal Science, 1998, 76(5): 1331-1342.
- [7] 王志祥, 王自恒, 刘岭, 等. 三颗针提取物对仔猪生长及肠道菌群和挥发性脂肪酸的影响[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2008, 36(6): 34-38.
- [8] Howard M D, Gordon D T, Pace L W, et al. Effects of dietary supplementation with fructooligosaccharides on colonic microbiota populations and epithelial cell proliferation in neonatal pigs[J]. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, 1995, 21(3): 297-303.
- [9] 卢庆萍. 用体内、体外法研究纤维酶、酵母培养物对瘤胃发酵的影响[J]. 中国草食动物, 1999, 1(5): 3-6.
- [10] 刘强, 王聪, 姜彬, 等. 益生酵母对奶牛泌乳性能及瘤胃发酵影响的研究[J]. 当代畜牧, 2004(4): 28-30.
- [11] 班志彬, 张国梁, 杨华明, 等. 活性干酵母和纤维素酶对草原红牛瘤胃挥发性脂肪酸浓度及甲烷排放的影响[J]. 中国畜牧兽医, 2013, 40(2): 57-61.
- [12] 周传社, 黎智峰, 谭支良, 等. 日粮添加酵母培养物对山羊瘤胃发酵参数和十二指肠氨基酸流量的影响[J]. 华北农学报, 2009, 24(6): 109-115.
- [13] 毛倩, 陈代文, 余冰, 等. 复合益生菌对生长育肥猪生产性能、盲肠菌群及代谢产物的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2010, 46(17): 34-39.
- [14] 陈旭东. 果寡糖和芽孢杆菌对断奶仔猪生产性能的影响及其机理[D]. 北京: 中国农业大学, 2003.
- [15] 辛娜, 张乃锋, 刁其玉, 等. 芽孢杆菌制剂对断奶仔猪生长性能、胃肠道发育的影响[J]. 畜牧兽医学报, 2012, 43(6): 901-908.
- [16] Wiedmeier R D, Arambel M J, Walters J L. Effect of yeast culture and *Aspergillus oryzae* fermentation extract on ruminal characteristics and nutrient digestibility[J]. Journal of Dairy Science, 1987, 70(10): 2063-2068.
- [17] 陈根元, 周小玲, 蒋慧, 等. 不同年龄驴的后消化道中挥发性脂肪酸含量和组成的分析初探[J]. 塔里木大学学报, 2012, 24(4): 7-16.