

中草药添加剂对断奶仔猪消化道酶活性的影响研究*

朱仁俊¹,程志斌¹,田允波²,葛长荣³ **

(1. 云南农业大学,云南省动物营养与饲料科学重点实验室,云南 昆明 650201;

2. 佛山科学技术学院动物科学系,广东 佛山 528231; 3. 云南农业大学食品科学技术学院,云南 昆明 650201)

摘要: 选择 30 头去势“杜长大”7.0 kg 左右的断奶仔猪,随机分成对照 1 组(空白对照组)、对照 2 组(添加复合饲用抗生素)和试验组(添加中草药添加剂)。结果表明,中草药添加剂能显著改善断奶仔猪生长性能,并明显提高消化道淀粉酶、脂肪酶、胰凝乳蛋白酶和粘膜二糖酶的活性。

关键词: 中草药添加剂;断奶仔猪;淀粉酶;脂肪酶;胰凝乳蛋白酶;粘膜二糖酶

中图分类号: S 828.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004 - 390X(2002)01 - 0067 - 05

困扰现代化养猪业的仔猪早期断奶腹泻症(DS),由于需要支付昂贵的治疗费用、工作人员的开销,加上猪只体重减轻和发生死亡,常常引起巨大的经济损失。DS 已经成为制约养猪业新一轮增长的巨大障碍^[1]。倍受全社会普遍关注的纯天然中草药饲料添加剂,因富含多种生物活性成分,在畜牧养殖业中有独特的功效。而中草药作为饲料添加剂使用存在的主要问题是:添加剂使用量大,生长速度和预防肠道疾病的效果往往不确切。我们对复方天然植物中草药的有效成分进行低温、减压抽提,并将抽提液喷雾干燥后与营养性饲料添加剂复合制成预混料,加入日粮进行多点、多批次的饲养试验^[2,3]。结果表明以天然植物中草药有效成分为主体的饲料添加剂,可改善仔猪生长性能,并有效防治断奶仔猪腹泻。在上述研究的基础上,为阐明其作用机理,我们对消化道淀粉酶、脂肪酶、胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶和粘膜二糖酶的活性进行了检测。

1 材料和方法

1.1 试验材料

1.1.1 中草药添加剂

课题组针对猪不同生长阶段生长发育的特点,研制出天然植物中草药复合组方^[4]。为确保活性

物质的完整和不失活,药材加 10 倍量水,室温浸泡 12 h 后减煮沸(75 ℃)提取 1 h,滤过残渣再分别加 6 倍量水煎煮 2 次,每次 1 h,滤过并浓缩,真空喷雾干燥得纯正品,提取物(用量按每 t 全价料添加 300 g)与营养性饲料添加剂复合制成预混料。

1.1.2 供试猪

选择 30 头去势“杜长大”断奶仔猪(28 日龄断奶,平均体重 7.0 ± 0.1 kg),按照“胎次一致、品种相同、体重相近、公母各半”的分组方法,随机分成 3 组,每组 10 头。

对照 1 组,预混料中不含任何饲用抗生素和化学合成药物;对照 2 组,添加复合饲用抗生素,包括金霉素、磺胺(SMZ)和青霉素(用量每 t 饲料金霉素原粉 100 g,SMZ 100 g,青霉素 50 g);试验组,添加复合天然植物中草药有效成分制成的添加剂。

1.1.3 供试日粮

供试猪的基础日粮及营养水平见表 1。除消化能为理论计算值之外,其它均为实测值。

1.2 试验方法

1.2.1 饲养管理

试验仔猪采用消化代谢笼饲养(笼长 × 高 × 宽为 80 cm × 60 cm × 40 cm)。预饲期 3 d。投喂试验饲料,正试期 5 d。

每天的试验日粮等分为 3 份,于每天上午

* 收稿日期: 2001 - 12 - 20

** 通讯作者

基金项目: 云南省“九五”科技攻关重点项目资助(95A3 - 4)。

作者简介: 朱仁俊(1968 -),男,云南昭通市人,副教授,主要从事动物营养与饲料科学研究。

7:00, 11:30 和下午 6:00 喂料, 随时收粪, 专人管理。自动饮水器供水, 自由采食, 每天猪舍内用热空气供暖, 室内温度保持在 26 ± 1.0 °C 每天冲洗代谢笼, 清扫猪舍, 保持猪舍卫生。专人记录采食量和腹泻情况。

1.2.2 样品采集

试验仔猪在 36 日龄 (即断奶后第 9 d) 的早晨正常喂料, 喂料后 1h 将仔猪迅速无痛苦处死, 打开腹腔, 立即结扎幽门瓣、回盲瓣, 迅速收集十二指肠食糜, 空肠食糜和刮取空肠肠粘膜, 防如液氮中速冻。所有速冻样品置 -20 °C 冰箱中保存备用。

1.2.3 样品处理

将小肠内容物在 4 °C 解冻, 适当匀浆, 以 $14\ 000$ r/min 离心 15 min, 取上清液 -20 °C 冰箱中保存备用。取空肠的肠粘膜 1g ($1\ 000\text{mg}$) 加 NaCl 50mL 冰水溶液 (0 °C), 匀浆, 以 $14\ 000$ r/min 离心 15 min, 直接定容至 100mL , 分成小份, -20 °C 冰箱保存备用。

表 1 基础日粮组成及营养水平

Tab. 1 The component of basic feedstuff and the level of nutrition

原料名称	组成/%	营养成分	含量
玉米	52.0	消化能/(MJ·kg ⁻¹)	13.89
豆粕	13.0	粗蛋白/%	20.0
进口鱼粉	6.0	钙/%	0.95
乳清粉	6.0	总磷/%	0.70
膨化大豆	16.0	有效磷/%	0.49
麦麸	3.0	赖氨酸/%	1.35
预混料	4.0	蛋 + 胱氨酸/%	0.66

1.2.4 测试指标

1.2.4.1 生长性能指标

每日观察仔猪的腹泻情况并作记录。测定日增重、日采食量、饲料转化率、腹泻指数和死亡率。如果猪粪水分含量超过 80%, 该猪被记录为腹泻 (sissons, 1990)。腹泻指数的计算公式为:

$$\text{腹泻指数} = (\text{腹泻猪的饲养日} / \text{总饲养日}) \times 100\%$$

1.2.4.2 消化道酶活性的测定

淀粉酶: 采用 Bernfeld 法^[5]测定。

脂肪酶: 采用李建武 (1994) 方法^[6]测定。

胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶: 采用张龙翔 (1997) 方法^[7]测定。

粘膜二糖酶: 包括麦芽糖酶、异麦芽糖酶、蔗糖酶的测定方法, 采用 Has 等 (1983)^[8]推荐的酶偶联法 (葡萄糖氧化酶——过氧化物酶偶联法) 测定。

乳糖酶: 采用 B·施特尔马赫 (1992) 的测定方法^[2]测定。

1.2.5 数据处理与分析

数据均以平均数 \pm 标准差表示, 所有数据均以日粮为处理单位, 采用 SAS 6.03 版对数据进行单因素方差分析。

2 结果

2.1 中草药添加剂对断奶仔猪生长性能的影响

中草药添加剂对仔猪生长性能的影响见表 2。试验组仔猪在断奶第 9 d 体重最大, 分别比对照 1 组和对照 2 组高 6.6% 和 3.5%, 但差异不显著 ($P > 0.05$)。然而, 试验组仔猪有较高的日增重和饲料报酬, 日增重分别比对照 1 组和对照 2 组高 22.9% ($P < 0.05$) 和 9.1% ($P < 0.05$); 试验组仔猪腹泻率显著低于对照 1 组和对照 2 组 ($P < 0.01$)。由于本次试验的饲养和卫生管理条件较好, 试验各组仔猪无一死亡, 表明天然植物中草药有效成分对断奶仔猪腹泻有明显效果。

表 2 中草药添加剂对断奶仔猪生长性能的影响

Tab. 2 The effect of Chinese herb medicine feed additive on the growing performance of pig starters

项目	对照 1 组	对照 2 组	试验组
头数	10	10	10
28 日龄断奶均重/kg	7.1 ± 1.05	7.12 ± 1.0	7.09 ± 1.01
断奶后第 9 d 均重/kg	10.09 ^a	10.49 ^a	10.76 ^a
日均采食量/(g·d ⁻¹)	558 ^a	601 ^a	579 ^a
日增重/(g·d ⁻¹)	$332^a \pm 56$	$374^b \pm 62$	$408^c \pm 75$
料肉比	1.68 ^a	1.65 ^a	1.42 ^b
腹泻头数	7	4	1
腹泻指数	65% ^A	38% ^A	6% ^A
死亡头数	0	0	0

注: 同一行肩号大、小写字母不同者, 分别表示差异显著 ($P < 0.05$), 极显著 ($P < 0.01$)

2.2 中草药添加剂对断奶仔猪消化道酶活性的影响

2.2.1 常规消化酶的活性

中草药添加剂对常规消化酶活性的影响见表 3 和表 4。结果表明, 试验组仔猪淀粉酶和脂肪酶的活性, 无论是在十二指肠还是在空肠段, 活性都显著高于两个对照组 ($P < 0.05$); 抗生素组的淀粉酶和脂肪酶的活性, 也显著高于空白对照 1 组; 试验组仔猪的胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶活性显著高于两个对照组 ($P < 0.05$), 但两个对照组差异却不显

著($P < 0.05$).

表 3 中草药添加剂对十二指肠内容物常规消化酶活性的影响

Tab. 3 The effect of Chinese herb medicine feed additive on the activity of the routine digestive ferment of duodenal inclusion

组别	头数	十二指肠内容物/($u \cdot g^{-1}$ 蛋白)			
		淀粉酶	脂肪酶	胰蛋白酶	胰凝乳蛋白酶
对照 1 组	10	3 021.6 ± 281.5 ^a	66.3 ± 9.5 ^a	26.3 ± 2.5 ^a	6.6 ± 0.7 ^a
对照 2 组	10	3 509.3 ± 539.6 ^b	84.0 ± 20.6 ^b	27.3 ± 4.3 ^a	6.8 ± 0.1 ^a
试验组	10	4 776.0 ± 1 112.5 ^c	99.9 ± 16.2 ^c	32.4 ± 4.5 ^b	8.1 ± 1.2 ^b

注:同一列肩号不同者差异显著($P < 0.05$)

表 4 中草药添加剂对空肠内容物常规消化酶活性的影响

Tab. 4 The effect of Chinese herb medicine feed additive on the activity of the routine digestive ferment of jejunal inclusion

组别	头数	十二指肠内容物/($u \cdot g^{-1}$ 蛋白)			
		淀粉酶	脂肪酶	胰蛋白酶	胰凝乳蛋白酶
对照 1 组	10	10 741.3 ± 848.0 ^a	164.8 ± 18.7 ^a	251.3 ± 27.8 ^a	33.0 ± 4.7 ^a
对照 2 组	10	12 065.3 ± 686.9 ^b	203.4 ± 43.4 ^c	268.8 ± 29.7 ^a	33.8 ± 4.4 ^a
试验组	10	18 081.9 ± 2 727.9 ^b	249.2 ± 24.2 ^c	320.2 ± 54.0 ^b	44.6 ± 5.3 ^b

注:同一列肩号不同者差异显著($P < 0.05$)

2.2.2 二糖酶活性

中草药添加剂对二糖酶活性的影响见表 5 和表 6。由表 5 可见,空肠粘膜二糖酶(麦芽糖酶、异麦芽糖酶、蔗糖酶)活性较高,但乳糖酶的活性极低。试验组二糖酶活性与对照 1 组差异显著($P < 0.05$),从而证明天然植物中草药有效成分对空肠

粘膜二糖酶有较好的激活作用。结果还表明,除蔗糖酶外,试验组与对照 2 组差异不显著($P > 0.05$);在空肠内容物中二糖酶活性,除蔗糖酶和麦芽糖酶外,也体现这种趋势。同时由于二糖酶的分泌和定植方式的特殊性,空肠粘膜二糖酶活性明显高于其在内容物中的活性。

表 5 中草药添加剂对空肠粘膜二糖酶活性的影响

Tab. 5 The effect of Chinese herb medicine feed additive on the activity of the disaccharidase in jejunal membrana mucosa

组别	头数	十二指肠内容物/($u \cdot g^{-1}$ 蛋白)			
		麦芽糖酶	异麦芽糖酶	蔗糖酶	乳糖酶
对照 1 组	10	9.58 ± 2.82 ^a	1.85 ± 0.65 ^a	7.04 ± 0.92 ^a	0.36 ± 0.04 ^a
对照 2 组	10	12.70 ± 3.46 ^b	2.61 ± 0.69 ^b	7.98 ± 0.94 ^a	0.57 ± 0.01 ^a
试验组	10	14.94 ± 2.35 ^c	2.63 ± 0.32 ^c	10.35 ± 1.20 ^b	0.59 ± 0.13 ^b

注:同一列肩号不同者差异显著($P < 0.05$)

表 6 中草药添加剂对空肠内容物二糖酶的活性

Tab. 6 The effect of Chinese herb medicine feed additive on the activity of the disaccharidase in jejunal inclusion

组别	头数	十二指肠内容物/($u \cdot g^{-1}$ 蛋白)			
		麦芽糖酶	异麦芽糖酶	蔗糖酶	乳糖酶
对照 1 组	10	9.58 ± 2.82 ^a	1.85 ± 0.65 ^a	7.04 ± 0.92 ^a	0.36 ± 0.04 ^a
对照 2 组	10	12.70 ± 3.46 ^b	2.61 ± 0.69 ^b	7.98 ± 0.94 ^b	0.57 ± 0.11 ^b
试验组	10	14.94 ± 2.35 ^c	2.63 ± 0.32 ^b	10.35 ± 1.20 ^c	0.59 ± 0.13 ^b

注:同一列肩号不同者差异显著($P < 0.05$)

3 分析与讨论

3.1 中草药添加剂对消化道常规消化酶的影响

仔猪在 0~4 周龄,随着日龄的增长,仔猪胃、肠、胰及小肠食糜中的消化酶活性几乎成倍增长^[9,10]。这与哺乳期消化器官组织快速生长发育有关。然而,断奶无论发生在 2,3,4,5 周龄,组织器官和食糜中各种消化酶活性均降低到断奶前的 1/3 水平,经过 2 周恢复之后,除胰脂肪酶外,大多数消化酶均可恢复甚至超过断奶前的水平,而胰脂肪酶活性在断奶后 2~3 周内无明显增长或增长很少。研究表明^[9,10,11,12,13],消化酶这种发育规律趋势与分泌这些酶的组织如小肠、胰脏生长发育规律趋势极其相似。这说明早期断奶引起的胃肠道消化酶活性降低,很可能是合成和分泌这些酶的组织、器官发育受抑制的缘故。

中草药饲料添加剂富含多种营养元素和有效活性成分,能兴奋动物胃肠道、促进消化腺分泌、提高饲料利用率等^[2,7],研究再次证明这一观点。同时,研究还发现,在生产管理严格和卫生环境条件良好的条件下,抗生素对早期断奶仔猪两种起主导作用的蛋白酶活性无显著提高作用,致使植物源性蛋白在小肠不能充分消化,一方面导致仔猪摄入蛋白不足,影响组织器官和免疫器官的生长发育,致使不能启动强而有效的免疫功能;另一方面,植物源蛋白在大肠段被微生物过渡发酵,致使腹泻。这可能是大部分条件较好猪场仔猪腹泻症的原因之一。而复合天然植物中草药有效成分,可有效提高小肠蛋白酶活性,降低断奶仔猪腹泻率。

3.2 中草药添加剂对消化道二糖酶的影响

虽然仔猪早期断奶致使小肠淀粉酶大量损失,淀粉酶活性骤降为断奶前的约 20%~30%,但即使是这样的酶活性仍足以完成对饲料中植物源碳水化合物的分解^[9,11]。然而,大量研究表明植物源碳水化合物在大肠段被微生物过渡发酵,是致使仔猪腹泻的另一重要原因。为此,试验在完成研究淀粉酶对饲料碳水化合物作用阶段后,继续研究仔猪小肠粘膜二糖酶对饲料碳水化合物的酶解作用。

动物日粮中淀粉水解的单糖可以自由通过肠壁上皮细胞,而淀粉的其它水解产物包括麦芽糖、麦芽三糖和极限糊精(3~5 个[1,4- α]葡萄糖单位及 1 个[1,6- α]葡萄糖单位),不能被肠壁直接吸收,必须由粘膜二糖酶水解成单糖后吸收利

用^[14,15,16,17,18,19]。所以,粘膜二糖酶在碳水化合物的利用方面起着至关重要的作用。没有粘膜二糖酶的存在,就没有糖类物质的彻底分解,更没有单糖的吸收、转化和利用^[19,20]。故有学者建议将二糖酶的发育作为小肠分化和对日粮物质适应情况的标识^[21,22]。

研究表明,小肠空肠段小肠绒毛最长,粘膜二糖酶活性最高^[9,23],因此本试验取最有代表的空肠段进行研究。试验组二糖酶活性与对照 1 组差异显著($P < 0.05$),这一方面印证了中草药有效成分对空肠粘膜二糖酶有较好的激活作用,迅速移除了经淀粉酶分解的产物麦芽糖、麦芽三糖和极限糊精,使他们充分分解为单糖,而被小肠壁迅速吸收,使进入大肠的淀粉残留物降至极低水平,不被微生物发酵利用,从而起到减少仔猪断奶腹泻症的作用。结果还显示,除蔗糖酶外,试验组与对照 2 组差异不显著($P > 0.05$),这从另一方面印证了肠粘膜二糖酶活性与肠壁的生理形态有直接的关系。在管理严格、卫生环境良好的试验条件下,抗生素有效防止了病原微生物的侵入,维护了肠壁的正常生理形态和功能,使粘膜二糖酶正常分泌、定制,并发挥分解淀粉残留物的功效。但因为二糖酶的分泌和定植方式的特殊性,空肠粘膜二糖酶活性明显高于其在内容物中的活性。

[参 考 文 献]

- [1] 侯永清. 仔猪断奶后腹泻原因分析[J]. 饲料博览, 2001, (1): 36-37.
- [2] 李青, 葛长荣, 田允波. 中草药添加剂对哺乳仔猪生长性能的影响(II)[J]. 云南农业大学学报, 2002; 17(1): 63-66.
- [3] 李志强, 葛长荣, 田允波, 等. 中草药添加剂对哺乳仔猪生长性能的影响(I)[J]. 云南农业大学学报, 2002; 17(1): 59-62.
- [4] 葛长荣, 韩剑众, 田允波, 等. 作为饲料添加剂的猪用天然植物中草药组方研究[J]. 云南农业大学学报, 2002, 17(1): 45-50.
- [5] B·施特尔马赫. 酶的测定方法[M]. 钱嘉渊译. 北京: 中国轻工出版社, 1992.
- [6] 李建武. 生物化学试验原理和方法[M]. 北京: 北京大学出版社, 1994.
- [7] 张龙翔. 生化实验方法和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 1997.
- [8] Hans Ulrich Bergmeyer. Methods of Enzymatic Analysis (third edition)[M]. Florida·Basel, Volume IV, 1983: 208

- 217.
- [9] CERA J. Anim. Sci., 1990, 384 - 391.
- [10] OWSLEY. Effects of age and diet on the development of the pancreas and the synthesis and secretion of pancreatic enzymes in the young pig[J]. J. Anim. Sci., 1986, 497 - 504.
- [11] 葛长荣, 田允波, 段纲, 等. 中草药饲料添加剂研究应用现状与发展趋势[J]. 云南畜牧兽医, 1998, (4): 10 - 17.
- [12] PASSILLE. Relationships of weight gain and behavior to digestive organ weight and enzyme activities in piglets[J]. J. Anim. Sci., 1986, 2921 - 2929.
- [13] RICHARD. Effects of glucocorticoids and limiting nursing on the carbohydrate digestive capacity and growth rate of piglets[J]. J. Anim. Sci., 1989, 2956 - 2973.
- [14] CONKKLIN K A, VAMASHIROR K M, GRAY G M. Humanintestinal surase-isomaltase: identification of free sucrase and isomaltase and cleavage of the hybrid into active distinct subunits[J]. J. Biol Chem, 1975, 250: 5735 - 5741.
- [15] HAURI H P, QUARONI A, ISSELBACHER K J. Biogenesis of intestinal plasma membrane : post-translational route and cleavage of sucrose-isomaltase[J]. Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 1979, 76: 5183 - 5186.
- [16] JAMES GC D. Textbook of veterinary physiology. (Second edition)[M]. ISBN 0 - 7216 - 6424 - 5. 1997, 301 - 330.
- [17] RIBY J E, KRETCHMER N. Participation of pancreatic enzymes in the degradation of intestinal sucrase-isomaltase [J]. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 1985, 4: 971 - 979.
- [18] SEMANZA G S, AURICCHIO S. Small intestinal disaccharidases . In scriver CR, Beauset AL Sly WS, Valle D (eds), The metablic basis of inherited disease[M]. 6th ed. McGraw Hill. New York, 1989, 2975 - 2997.
- [19] UNI Z, NOY Y, SKLAN D. Post hatch development of small intestine function in te poultry[J]. Poultry Science, 1999, 78: 215 - 222.
- [20] SIDDON R C. The influence of the intestinal microflora on disaccharidase activities in the chick[J]. Br. J Nutr., 1972, 27: 101 - 112.
- [21] DANIELSEN E M, HANSEN G H, COWELL G M. Biosynthesis of intestinal microvillar proteins. Forskolin reduces surface expression of aminopeptidase[J]. European Journal of Cell Biology, 1987, 44: 273 - 277.
- [22] NIS - EMVO, EAUNCY J F, RAUL F. Is adult-type hypolactasia in the intestine of mammals related to changes in the intracellular processing of lactase [J]. Cellular and Molecular Biology, 1987, 33: 335 - 344.
- [23] CERA J. Anim. Sci., 1989, 2756 - 2765.
- [24] 谢仲权, 牛树琦. 天然中草药饲料添加剂大全[M]. 北京: 学院出版社, 1996.

Effect of Chinese Herb Feed Additives on the Activities of Digestive Tract Enzymes in Pig Starter

ZHU Ren-jun¹, CHENG Zhi-bing¹, TIAN Yun-bo², GE Chang-rong³

(1. Animal Nutrition and Feed Laboratory of Yunnan Province, Y A U, Kunming 650201, China;

2. Department of Animal Science, Foshan University, Guangdong Foshan 528231, China;

3. College of Food Science and Technical, Y A U, Kunming 650201, China)

Abstract: To investigate the effect of Chinese herb feed additives on the activities of digestive tract enzyme in weanling piglets. Thirty weaning piglets (Duroc × Landrace × Yorkshire, 7.0 kg initially) were assigned randomly into control group 1, control group 2 and treated group. the control group 1 fed with basic diet, the control group 2 and treated group fed basic diet supplemented with Chinese herb feed additives, antibiotic respectively. The results indicated that comparing with control group 1, control group2, Chinese herb feed additives could remarkably improve the growing performance of weaning piglets and enhance the activities of amylase, lipase, rennin, chymotrypsin and mucosa disaccharicases in digestive tract.

Key words: Chinese herb feed additives; pig starter; amylase; lipase rennin; chymotrypsin; mucosa disaccharicases.