

日粮中玉米含量对肉鸡碳·氮同位素组成的影响

王慧文^{1,2}, 孙丰梅¹, 柳黎明¹ (1. 河北北方学院牧业工程系, 河北张家口 075131; 2. 河北北方学院食品科学系, 河北张家口 075131; 3. 中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所, 北京 100081)

摘要 [目的] 研究日粮中玉米含量对肉鸡肌肉中 ^{13}C 和 ^{15}N 值的影响。[方法] 以不同玉米含量的基础日粮饲喂 160 只 1 日龄的 AA 肉鸡 21 d, 然后更换日粮继续饲喂 21 d, 取其胸部肌肉测定稳定性碳和氮同位素组成。[结果] 结果表明: 在试验的前 21 d 鸡肉中 ^{13}C 的值与基础日粮中 ^{13}C 的值呈显著正相关(相关系数达 0.97, $P < 0.01$); 更换基础日粮后, 鸡肉中 ^{13}C 的值与日粮中 ^{13}C 的值仍呈高度正相关(相关系数达 0.84, $P < 0.01$), 而鸡肉中 ^{15}N 值无明显变化规律。[结论] 基础日粮中玉米含量决定了鸡肉中稳定性碳同位素的组成, 而鸡肉中稳定性氮同位素的组成受日粮中玉米含量的影响较小。

关键词 玉米含量; 碳、氮同位素; 肉鸡

中图分类号 S831 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2009)03-01094-02

Effects of Maize Contents in Ration on Stable Carbon and Nitrogen Isotope Composition of Broilers

WANG Hui-wen et al (Animal Husbandry Engineering Department, Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei 075131)

Abstract [Objective] The research aimed to study the effects of maize contents in ration on stable carbon and nitrogen isotope composition of broilers. [Method] 160 one-day-old broilers of AA were fed 21 days on basic diets with different contents of maize, then fed 21 days on the changed basic diets. The muscles of broilers chest were taken to measure the stable carbon and nitrogen isotope composition. [Result] The results showed that the ^{13}C values of chicken and feed were significantly correlated ($r = 0.97$, $P < 0.01$) during the first 21 days. When the basic diets were changed, the ^{13}C values of chicken and feed were highly correlated ($r = 0.84$, $P < 0.01$), too. However, the ^{15}N values of chicken had no obvious rules. [Conclusion] It was confirmed that the composition of stable carbon isotope in chicken was determined by the maize contents of basic diets, but the maize contents of basic diets had little influence on the composition of stable nitrogen isotope.

Key words Maize contents; Carbon and nitrogen isotope; Broiler

近年来, 随着社会经济的发展和人民生活水平的提高, 消费者对动物产品的要求越来越高, 已经由原来单纯的“数量型”转变为如今的“质量型”。但是, 当今的食品安全仍然存在着很大的问题。如有些地区消费者有消费“三黄鸡”的习惯, 一些不法生产者为了迎合消费者的心理, 就在饲料中超标添加色素添加剂, 并且声称这种颜色鲜亮的产品是由饲料中的玉米引起的。这使得消费者对某些动物产品的质量失去信心。

稳定同位素作为一种示踪物, 广泛用于动-植物相互关系研究中, 动物组织中同位素的组成能真实反映一段时期内的饲料来源信息。利用稳定性同位素技术研究动物饲料成分, 其关键是弄清动物在代谢过程中对同位素的分馏和富集效应。目前, 已有报道利用稳定同位素技术追溯动物饲料的主要成分, 如 Schmidt 等^[1] 和 Boner 等^[2] 报道可以通过测定牛肉中的 ^{13}C 值来区分传统养殖和有机养殖的牛肉, 易现峰等报道可以通过分析肌肉中 ^{13}C 和 ^{15}N 来确定高原鼠兔的食性^[3]。笔者以已知玉米含量的饲料饲喂肉鸡, 通过测定来探讨日粮中玉米含量对肉鸡肌肉中 ^{13}C 和 ^{15}N 值的影响, 从而为区分不同色素来源的肉鸡奠定基础。

1 材料与方

1.1 试验材料 试验选用 160 只刚出雏的爱拔益加肉鸡(AA)作为供试鸡。

1.2 仪器 Thermal Finigan MAT DELTAplus XP 同位素质谱仪, Flash NA 1112 元素分析仪。

1.3 试验设计 试验分为 4 个处理(表 1), 每个处理 4 个重复, 每个重复 10 只鸡。试验期为 42 d, 分为 2 期 1~3 周, 4~6 周。按 AA 肉鸡营养需要标准配制玉米—豆粕—鱼粉型

基础日粮。

表 1 各处理日粮玉米含量

Table 1 Corn content of diet in each treatment

组别	1~3 周(前期)	4~6 周(后期)
Group	1-3 weeks (prophase)	4-6 weeks (anaphase)
处理 1	含 10% 玉米的基础日粮	含 70% 玉米的基础日粮
处理 2	含 30% 玉米的基础日粮	含 30% 玉米的基础日粮
处理 3	含 50% 玉米的基础日粮	含 50% 玉米的基础日粮
处理 4	含 70% 玉米的基础日粮	含 10% 玉米的基础日粮

1.4 饲养管理 试验鸡采用 4 层立体笼养, 自由采食和饮水。鸡群按正常免疫程序进行免疫。

1.5 样品采集 在试验的第 21 天和第 42 天, 每试验组各重复分别屠宰 3 只试鸡, 取胸肌至少 50 g, 在 -20°C 保存。

1.6 样品前处理 分析前, 样品冷冻干燥 24 h 后用研钵磨碎, 再用索氏抽提器分馏出粗脂肪, 剩余的为脱脂干物质(主要成分为粗蛋白)。

1.7 元素含量分析 取 0.20 mg 粗蛋白, 用锡箔杯包装好后通过自动采样器送到元素分析仪中, 从而使样品中的碳元素和氮元素定量地转化为 CO_2 和 NO_x , 然后通过一气相色谱柱分离出来, 进入同位素质谱仪中测定其 ^{13}C 和 ^{15}N 。计算公式为:

$$(\%) = 1000 \times (R_{\text{样品}} - R_{\text{标准}}) / R_{\text{标准}} \quad (1)$$

式中: $R_{\text{样品}}$ 是样品中同位素丰度比 ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$); $R_{\text{标准}}$ 是标准中同位素丰度比 ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$), C 采用 PDB 作为标准, N 采用大气氮作为标准。

1.8 数据分析与处理 试验数据运用 SAS 软件 6.12 版进行单因素方差分析和邓肯氏多重比较, 并用 Excel 函数统计方法做相关分析。

2 结果与分析

2.1 饲料中 ^{13}C 、 ^{15}N 值分析 测定结果各组饲料中 ^{13}C 、

作者简介 王慧文(1973-), 女, 河北康保人, 硕士, 实验师, 从事饲料安全检测研究。

收稿日期 2008-10-31

^{15}N 值列于表2。从表2 可见,在试验前期,随着玉米含量的增加,各组饲料中 ^{13}C 值相应地增加。处理1 中,当饲料中玉米的含量由前期的10% 增加到后期的70%,其 ^{13}C 值相应地由- 23.049‰增加到- 14.630‰,发生很大的变化;处理4 中,饲料中玉米的含量由前期的70% 下降到后期的10%,其 ^{13}C 值也相应地由- 16.354‰降低到- 23.305‰,变化很明显;处理2 中,由于饲料中玉米的含量没有改变,其 ^{13}C 值基本保持不变。由此可以看出,饲料中 ^{13}C 值明显地受玉米含量的影响,随着玉米含量的增加,其 ^{13}C 值逐渐升高。当日粮中其他成分的含量改变而不改变玉米的含量,其 ^{13}C 值基本保持不变,这一点与Gebbing 等^[4] 的报道相似。由此可见,饲料中 C_3 植物、 C_4 植物的含量是决定饲料 ^{13}C 值的主要因素。造成这个结果的原因主要是:植物光合途径的不同,是产生碳同位素组成差异的主要原因,各类植物 ^{13}C 都有一定的规律, C_3 植物 ^{13}C 值约为- 22‰ ~ - 30‰, C_4 植物 ^{13}C 值约为- 9‰ ~ - 14‰,CAM 约为- 10‰ ~ - 22‰。

表2 各组饲料中 ^{13}C 、 ^{15}N 值Table 2 The ^{13}C and ^{15}N values in each feedstuff ‰

组别 Group	^{13}C		^{15}N	
	前期 Prophase	后期 Anaphase	前期 Prophase	后期 Anaphase
处理1 Treat 1	- 23.049	- 14.630	2.973	5.387
处理2 Treat 2	- 20.495	- 20.985	3.842	4.214
处理3 Treat 3	- 17.453	- 19.094	4.425	3.754
处理4 Treat 4	- 16.357	- 23.305	4.236	4.008

处理3 中,饲料中玉米含量虽未发生变化,但其 ^{13}C 值有较大的改变。出现这种情况的原因可能是由多种因素造成的,其中饲料粉碎的粒度不够细、没有充分混合均匀均可能是主要原因。

各组饲料中 ^{15}N 值似乎无规律可循,这可能主要与豆粕在各组饲料中所占的比例不同有关。因为对于豆科植物而言,它们根部共生的根瘤菌可以将 N_2 转化为可吸收的氮源,而在此过程中几乎没有同位素的分馏,因此豆科植物的 ^{15}N 较小,约为0 ~ 1‰。而非豆科植物的 N 源,则必须来自硝酸盐和铵盐,其 ^{15}N 约为3‰。基于这个原因,试验各组饲料中 ^{15}N 会出现参差不齐的情况。

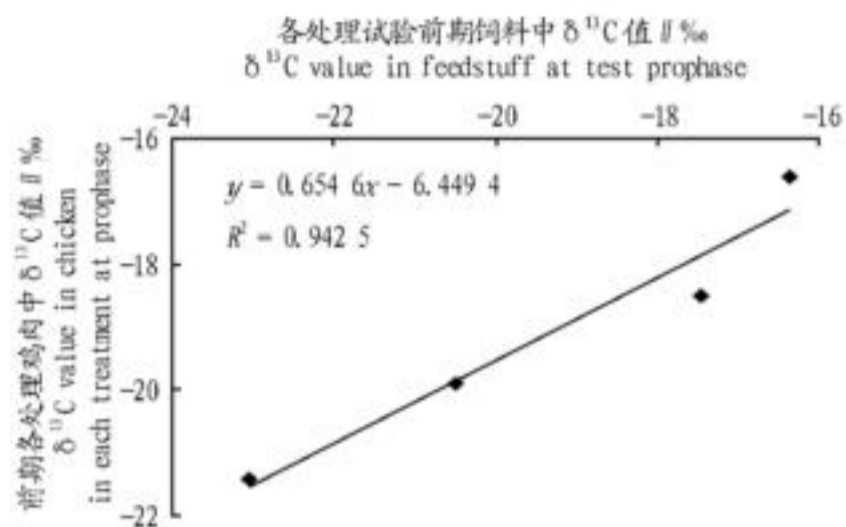
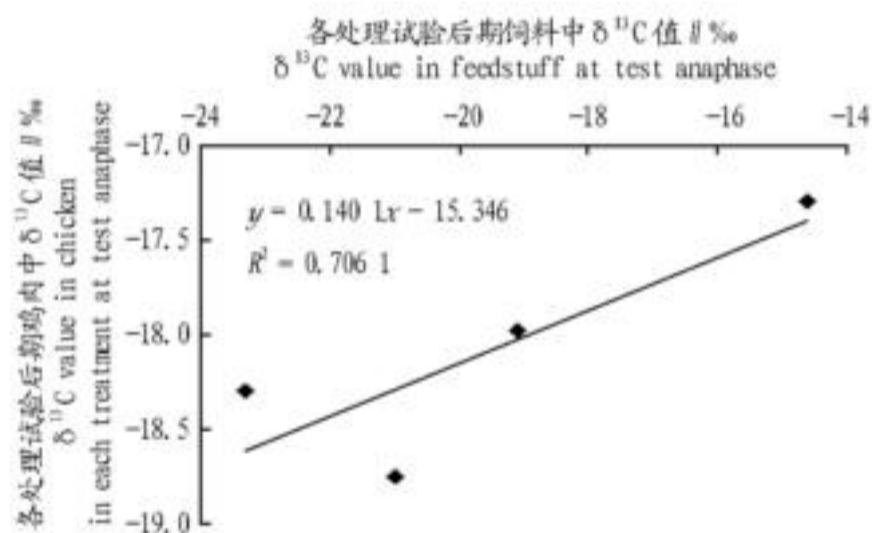
2.2 鸡肉中 ^{13}C 、 ^{15}N 值分析 试验测定了各处理鸡肉粗蛋白中 ^{13}C 、 ^{15}N 值,结果如表3 所示。由表3 可见,随着基础日粮中玉米含量的变化,各处理鸡肉粗蛋白中 ^{13}C 值存在显著差异 ($P < 0.05$)。处理1 基础日粮中玉米含量由10% 增加到70%,鸡肉粗蛋白中 ^{13}C 值也相应地由- 21.41‰升高到- 17.29‰,处理4 的基础日粮由70% 降到10%,鸡肉粗蛋白中 ^{13}C 相应地由- 16.61‰降低到- 18.29‰,处理2 和处理3 由于日粮中玉米的含量没有改变,因此,在整个试验期 ^{13}C 值的差异不显著 ($P > 0.05$),说明 C_4 植物可以影响稳定性碳同位素的代谢模式。Teeri 等^[5] 和 Scheninger 等^[6] 分别用小麦面粉 (C_3)、玉米面粉 (C_4) 及二者混合物(各50%) 来饲养甲虫,结果表明甲虫 ^{13}C 值与其所食食物的平均 ^{13}C 值高度吻合,这与试验结果一致。这些结果都揭示了食物同位素组成决定了动物的同位素组成。

表3 各处理鸡肉中 ^{13}C 、 ^{15}N 值Table 3 The ^{13}C and ^{15}N values of chicken in each treatment ‰

组别 Group	^{13}C		^{15}N	
	前期 Prophase	后期 Anaphase	前期 Prophase	后期 Anaphase
处理1 Treat 1	- 21.41 d	- 17.29 a	3.45 b	4.73 a
处理2 Treat 2	- 19.90 c	- 18.75 c	3.33 b	4.26 b
处理3 Treat 3	- 18.51 b	- 17.98 b	2.72 c	3.98 c
处理4 Treat 4	- 16.61 a	- 18.29 bc	3.86 a	4.68 a

注:不同小写字母表示在0.05 水平有差异。下同。

Note: Different lowercases mean significant at 0.05 level. The same as follows.

图1 试验前期各处理饲料和鸡肉中 ^{13}C 的相关关系Fig. 1 Correlation coefficient of ^{13}C in feedstuff and chicken in each treatment at test prophase图2 试验后期各处理饲料和鸡肉中 ^{13}C 的相关关系Fig. 2 Correlation coefficient of ^{13}C in feedstuff and chicken in each treatment at test anaphase

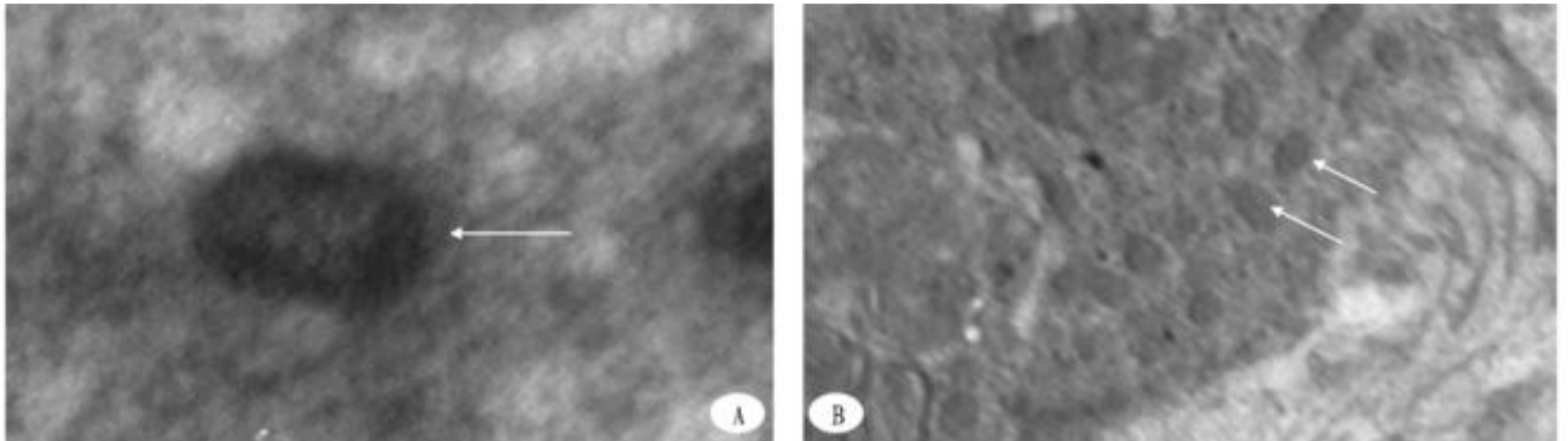
2.3 饲料与鸡肉中 ^{13}C 、 ^{15}N 值的关系 各处理试验前、后期饲料与鸡肉中 ^{13}C 值、 ^{15}N 值关系如图1 与图2 所示。由图1 可见,在试验前期,饲料和肌肉中 ^{13}C 值显著相关,相关系数达0.97 ($P < 0.01$),二者的差值仅在2‰以内。这与DeNiro 等^[7] 提出的生物体与其食源之间 ^{13}C 的差异介于1‰ ~ 2‰之间的结论相一致。由此可见,尽管动物在利用食物的过程中存在不同程度的同位素分馏现象,但从整体上看,动物的同位素组成还是由饲料中同位素组成决定的。因此,用这一理论来示踪现代和史前食物中碳的来源是可行的。试验中,可以根据鸡肉中 ^{13}C 值推断肉鸡的主要饲料成分。试验后期,饲料与鸡肉中 ^{13}C 值的相关系数为0.84(图2),比试验前期有所下降,这一结果或许是因为试验后期饲喂的时间稍短,肉鸡前期的稳定同位素组成可能在试验后期

周期4~8 d,且传代次数可达20代以上,可以作为羊痘病毒研究参考选用的细胞之一。

表2 不同处理细胞感染病毒的细胞病变及病变过程

Table 2 Cytopathic effect and pathologic process of virus-infected cell under different treatments

细胞状态	病变初期	病变中期	病变后期
Cell state	Early stage of disease	Middle stage of disease	Late stage of disease
原代细胞	个别细胞界限清楚,圆缩或变长	局部成片,呈葡萄串状	长梭细胞与葡萄串状交织相连
传代细胞	个别细胞变长,界限清楚	局部成片,细胞交织拉网	细长细胞拉网,间质大,脱落
冻存细胞	个别细胞界限清楚,变窄、变长	局部成片,长形细胞交织拉网	细长细胞拉网,间质大,脱落



注:A为细胞负染(100 000 ×);B为细胞切片(12 000 ×)。

Note:A. Negative staining of cell(100 000 ×);B. Cell section(12 000 ×).

图2 电镜观察

Fig 2 Observation of electron microscopic

(3) 细胞培养是一门要求非常严格的试验技术,而严格的无菌操作是保证细胞生存的首要条件。体外培养时,一旦被污染,就会导致细胞死亡或从一开始细胞就不能生长繁殖。该试验初期,有几次试验失败,就是因为采取睾丸时无菌操作不严格,造成污染所致。因此,在细胞培养中,自始至终都要严格进行无菌操作,消除一切污染。

参考文献

[1] 殷震,刘景华.动物病毒学[M].北京:科学出版社,1997:78-158.

[2] 司土镇强,吴军正.细胞培养[M].广州:世界图书出版公司,1996.

[3] 周建胜,马慧玲,郭庆山.绵羊睾丸原代细胞培养及接种羊痘弱毒后的病变观察[J].中国兽医科技,2004,34(9):71-73.

[4] 盛金良,陈创夫,郑永峰,等.绵羊肺泡巨噬细胞的分离培养和形态学观察[J].石河子大学学报,2007,25(1):51-54.

[5] KITCHING R P. Progress towards sheep and goat pox vaccines[J]. Vaccine, 1983,1:14-9.

[6] 鞠厚斌,张强,郑海学,等.山羊痘病毒通用转移载体的构建及鉴定[J].中国兽药杂志,2007,41(2):1-4,9.

(上接第1095页)

还没得到完全更新。在今后的试验中应适当延长试验周期,以达到新的同位素平衡。

饲料和鸡肉中¹⁵N值似乎无规律可循。但Mingawa等^[8]和Schoeninger等^[6]报道¹⁵N在肌肉组织、骨骼胶原质或整个生物体中的富集较食物源高出3‰~4‰。造成试验饲料和鸡肉中¹⁵N无规律的原因可能是多方面的,其中饲料中豆粕和鱼粉含量的改变可能是主要原因,另外还与有机物合成过程中重同位素被吸收或失去的程度有关。

3 结论

试验结果表明,鸡肉和饲料中¹³C值呈显著的正相关,说明饲料的主要成分决定了鸡肉中的¹³C值。但是,¹⁵N值往往受气候、土壤、饲料的影响,因此,单独利用¹⁵N值追溯动物的饲料不太稳定,应该结合¹³C值进行研究,也可以作为追溯动物饲料来源的参照物^[9]。

参考文献

[1] SCHMIDT O,QUILTER J M,BAHAR B,et al. Inferring the origin and dietary

history of beef from C, N and S stable isotope ratio analysis[J]. Food Chemistry, 2005,91:545-549.

[2] BONER M, FORSTEL H. Stable isotope variation as a tool to trace the authenticity of beef[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2004,378:301-310.

[3] 易现峰,李来兴,张晓爱,等.人工食物对高原鼠兔稳定性碳和氮同位素组成的影响[J].动物学研究,2004,25(3):232-235.

[4] GEBING T, SCHELLBERG J, K HBAUCH W. Switching from grass to maize changes the C isotope signature of meat and fat during fattening of steers[C]// L SCHER A, JEANGROS B, KESSLER W, et al. In proceedings of the 20th general meeting of the European grass and federation. Luzern, Switzerland, 2004: 1130-1132.

[5] TEER J A, SCHOELLER D A. ¹³C values of an herbivore and the ratio of C₃ to C₄ plant carbon in its diet[J]. Oecologia, 1979,39:197-200.

[6] SCHOENINGER MJ, DENIRO MJ. Nitrogen and carbon isotopic composition of bore collagen from marine and terrestrial animals[J]. Geochimica Cosmochimica Acta, 1984,48:625-639.

[7] DENIRO MJ, EPSIENS. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 1978,42:495-506.

[8] MINGAWA M, WADA E. Stepwise enrichments of ¹⁵N along food chains: further evidence and the relation between ¹⁵N and animal age[J]. Geochimica Cosmochimica Acta, 1984,48:1135-1140.

[9] SIMON K, KARL H, JURIAN H. Tracing the geographical origin of food: the application of multi-element and multi-isotope analysis[J]. Trends in Food Science and Technology, 2005,16:555-567.