

猪饲料消化能值的离体测定 方法及其生物学试验根据

中国农业科学院畜牧研究所 张子仪
上海市农业科学院畜牧兽医研究所 聂光达

设计猪的饲料配方时消化能值是关键性指标之一。它直接关系到饲养标准的制定、饲料本身的合理利用和有关微量成分及饲料添加剂预配量的确定。但是沿用的全收粪——套算消化试验方法(下称常法),不仅工作量大,产生误差的几率多,而且受试验动物条件的限制,很难满足发展中的饲料工业提出的快进快出的要求。

猪饲料消化能值的测定方法的研究大体经过三个阶段。从本世纪初到中叶一直采用常法。由于耗时费力,以后不少学者改用以饲料中所含稳定物质如 SiO_2 、木质素,色母(Chromogen)以及酸不溶灰分AIA[®](Acid Insoluble Ash)为内指示剂;或以 Cr_2O_3 [®], PEG[®](Polyethylene glycol聚乙二醇类)为外指示剂的比例推算法。但不论是用指示剂法或外指示剂法都是以不消化的稳定物质在饲料中的总量与粪中的总量相等,即回收率等于100%为前提的。大量的试验证明:所有稳定物质的回收率很少达到这一水平,而且由于粪中稳定物质含量的变异,仍需把粪样收集期延长到2—3天[®],才能获得可信的结果。由于这些测试条件的限制迄今还鲜见通过指示剂法精确测出单个饲料消化率的报告。及至七十年代不断有人在酶水解法[®]尼龙袋法[®]产气法[®]小肠液法^{④⑦⑪~⑬}等以模拟动物的消化生理特点为依据的离体消化试验方面进行过不少工作。总的看来,迄今所有离体消化试验方案都属于以各种处

理方法所得信息,如残渣、 CO_2 产气量等营养物质分解后的尾产物为自变量,再以体内法测值为依变量进行回归校正为原则的。因此,在设计某一种离体消化试验方案之前,必需弄清楚某些干扰因素对离体法测值的影响,确定所依靠的生物学方法的规范,规定有关具体操作的细节才能使所获结果接近于实际情况。

以胃蛋白酶处理为第一阶段,猪小肠液(Porcine Intestinal Fluid,简称PIF下同)处理为第二阶段的两步法是引人注意的离体消化试验方案,这种方法不仅可以用于估测猪饲料的消化率,同时有人在估测鸡饲料代谢能以及蛋白质、氨基酸利用率的评定方面也进行过有益的尝试。

前人工作简介

以胃蛋白酶—PIF处理的离体消化试验方案[®],是模拟猪的胃及小肠两个主要消化道的生理条件而设计的,这种方案不考虑小肠以下——回肠、大肠的消化作用。据Farrrell及Johnson[®]的报告:从盲肠中提供的消化能量仅相当于总消化能量的1.9—2.7%;又据Imoto R Namioka[®]的报告:从大肠吸收的挥发性脂肪酸提供的有效能量,仅为维持所需代谢能的9.6~11.6%;又据Furuya等^{①②}的资料分析^{①②},以 Cr_2O_3 为指示剂,测定小肠上部的“饲料消化率”后指出:各种养分一直到回肠末端总消化量的90%以上才消失。这些资料都说明饲料在猪体内的

参加本项工作的还有:中国农业科学院畜牧研究所陈雪秀、李文英、张蔚云、姜云侠、李建凡、车平安、吕俊宜、余顺祥、王述容、郭增魁。上海市农业科学院畜牧兽医研究所施学仕,湖南农学院畜牧兽医系李小平、汤瑞如,宁夏回族自治区农林科学院畜牧兽医所胡奉,江苏农学院畜牧兽医系王振洲,黑龙江省畜牧研究所刘国君、王淑华,吉林省农科院畜牧研究所赵鸿儒,杨嘉实,黑龙江省红兴隆农场管理局科学研究所徐克明,朱世勤,华南农学院畜牧兽医系陈美环

消化主要在胃及小肠以下才能基本完成。

食糜通过消化道各部位的通行速度是制约饲料消化率的另一个因素。据Furuya测定^④，饲料通过胃及十二指肠约需4—7小时，通过小肠约需3.0—3.9小时。

根据这些消化生理现象，Furuya^④等设计的模拟消化试验结果表明：第一阶段用胃蛋白酶的盐酸溶液处理。第二阶段用PIF处理，各四小时后则干物质粗蛋白质离体消化率趋于稳定。将PIF制成冻干粉，其水溶液与冷冻PIF及新鲜PIF的效价近似，并在不同实验间得到了重复性好的干物质、粗蛋白质消化率测值。

离体消化试验方案的生物学试验根据

(一)猪小肠液的采集及质量标准化

饲料在消化道中所发生的大多数化学变化都与酶的作用有密切关系，而消化道中的酶谱又是复杂易变的多酶系统，这便增加了通过酶活来研究PIF作用于食糜的消化能力的难度。另外由于各种酶元所需的激活条件，酶作用于底物的反馈抑制作用等等因素使得这一问题更为复杂。

古谷氏提出的以样品量0.5克，样品细度0.5毫米，在37℃下，胃蛋白酶—PIF各处理4小时的方案是根据猪的消化生理规律人为设置的^①。为了能进一步使测试条件更趋于标准化，控制PIF的采集制备条件至为重要。

1. 采集PIF前的饲料条件

通过从饲喂极端营养水平悬殊的日粮的瘦术猪上采取的PIF处理的离体消化率比较^④，未见对两种底物的消化率有显著差别（见表1），可以推断，只要按饲养标准配制日粮则不致由于日粮营养水平不同而引起PIF效价的变异。

2. PIF的消化酶活变异规律

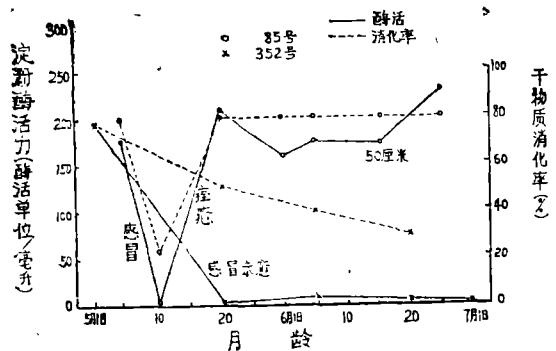
饲喂不同营养水平的日粮后的猪小肠液中的胰蛋白酶及胰糜蛋白酶的活力，未见有明显差异。但PIF的胰蛋白酶、胰糜蛋白酶、

表1 饲喂不同营养水平日粮的猪小肠液对离体能量消化率的影响

PIF来源	底物	能量消化率(%)		备注
		平均	标准差	
HPLE-PIF	HPLE	70.1	1.2	n=5 处理间差异不显著。
	LPHE	68.5	0.5	
LPHE-PIF	HPLE	68.6	2.6	P>0.05
	LPHE	67.6	0.8	

注：HP：日粮中粗蛋白含22%；LP：日粮中粗蛋白含14%；HE：日粮中消化能为3.20(兆卡/公斤)；LE：日粮中消化能为2.69(兆卡/公斤)。

淀粉酶活有随着月龄的增长而增长的趋势^④。（表2）疾病及瘦术后的局部脏器粘连都会引起PIF淀粉酶活的变异或完全失效（见图1），为此，作为检验PIF效价的一种手段，测定PIF中的淀粉酶活或蛋白酶活仍不失为是一种有效的手段。



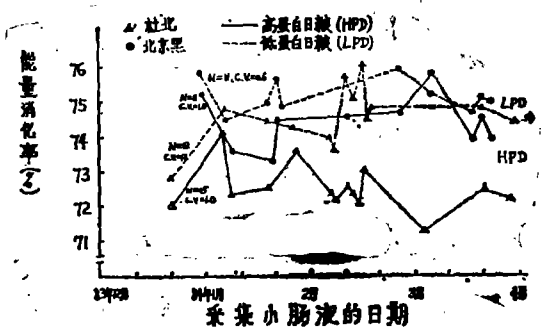
淀粉酶活力与干物质离体消化率的关系示例

图1 淀粉酶活力与干物质离体消化率的关系示例

3. 用不同品种猪的PIF处理的能量消化率的差异：

根据在连续3个月试验期间所得的离体能量消化率的变化规律看^④，以高蛋白日粮为底物时，用北京黑猪的PIF处理值比杜北猪PIF处理值高，以低蛋白日粮为底物时差异不显著（见图2）可见一般采用二元或三元杂交猪则可以得到质量稳定的PIF。

4. 不同瘦术部位采取的PIF的消化酶活变异及其对离体消化率的影响



用杜北与北京黑的小肠液测得的离体消化率比较

图2 用杜北与北京黑的小肠液测得的离体消化率比较

HPD: CP = 16% DE = 3.15兆卡/公斤
 LPD: CP = 12% DE = 3.15兆卡/公斤

4~5月龄的猪的小肠长度约为13—15米,在70—200厘米处装套管所取的PIF,正值胰液、胆汁、肠液与食糜汇集的初级阶段。从适宜的部位采取的PIF的各种消化酶活可能处于峰值。据测定:后瘻PIF(距幽门170~200厘米处安装T型套管)的各种消化酶活比前瘻PIF(从距幽门50~80厘米处采取的PIF)都高。这种趋势随着猪月龄的增长尤为明显^④(见表2表3),后瘻PIF处理的能量消化率也比前瘻高(见表4)。为缩小离

表2 PIF的蛋白酶及淀粉酶随月龄的变化 (酶活单位/毫升)

月龄	5	6	7
胰蛋白酶	4.7	6.6	7.6
胰蛋白酶	57.5	69.8	96.4
淀粉酶	165.1	191.2	203.5

表3 从前瘻与后瘻采取的PIF的消化酶活比较 (酶活单位/毫升)

瘻术部位	淀粉酶活	胰蛋白酶活	胰凝乳蛋白酶活
前瘻	230 ^a	20—70 ^c	4—5 ^c
后瘻	280 ^b	80—100 ^d	8—9 ^f

注:英文字母肩号不同者为差异显著

表4 用前瘻PIF与后瘻PIF处理的能量消化率的比较

日粮号	能量消化率(%)	
	前瘻PIF处理	后瘻PIF处理
京-1	75.6 ^a	77.5 ^b
京-2	77.6 ^c	78.6 ^c
沪-3	46.4 ^d	81.4 ^e
沪-4	43.3 ^f	82.3 ^e
沪-5	44.4 ^h	82.0 ⁱ
沪-6	43.1 ⁱ	83.8 ^k

注 英文字母肩号不同者为差异显著,相同者为差异不显著(横行)

体法测值与常法测值的距离,作者等^④认为采集PIF的部位应以后瘻为宜。

5. PIF冻干粉处理的DE值的可加性与重演性检验:

为了使离体消化试验方法标准化并为成批生产PIF制剂的保存创造条件,对用不同规格的PIF处理测定的DE值的可加性^⑤与重演性进行了比较,结果指出^④无论用冷冻PIF处理或用PIF冻干粉水溶液处理的DE测值的可加性都很好,实测值与计算值相差不超过0.09兆卡/公斤。(见表5)

表5 日粮离体法DE值实测与计算比较

处理	日粮	实测值(I)	计算值(I)	差值(I-I)
冷冻PIF处理	1	3.79	3.88	-0.09
	2	3.76	3.85	-0.09
	3	3.79	3.86	-0.07
	4	3.86	3.91	-0.05
PIF冻干粉水溶液处理	5	3.88	3.95	-0.07
	6	3.72	3.64	0.08
	7	3.09	3.09	0.00
	8	2.58	2.62	-0.04

6. PIF冻干粉的效价的稳定性

在制备PIF冻干粉之前需要储备足够量的新鲜PIF,为此必须解决几次冷冻(-20℃)与解冻后仍保持PIF原料的效价不变以及制成的PIF冻干粉可以长期保存不变质的问题。据古谷氏报导^⑥PIF的效价在-20℃下可以保持两个月不变。经作者等测定,经过-20℃贮存的PIF,经过解冻混合再冻干,

表6 PIF冻干粉处理的离体法能量消化率测
值与常法测值的重演性检验④

测试单位 比较项目	湖	宁	黑	京
测定两法成对比较 样品数(N)	19	11	19	5
相关系数(r)	0.95	0.93	0.99	0.99
显著性(p)	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
回归系数(b)	0.78	0.89	1.06	0.85
截距(a)	21.83	12.66	-2.66	16.82
残余标准离差 (Syx)	2.21	2.74	1.75	1.38

仍可保持与新鲜PIF同样的质量,在25℃下至少可以保存3个月效价不变。用两次解冻的PIF制成的PIF冻干粉经过湖南、宁夏、黑龙江、北京四个研究单位用离体法与常法的对比测定及重演性检验(见表6)离体法测值与常法测值的相关系数都在0.93以上④,残余标准离差在2.74%以下,这种程度的误差在常法测值自身中也是常见的。

小结

以胃蛋白酶处理与PIF处理相结合的离体消化试验方法是在引进消化吸收国外同类试验工作的基础上经过补充修改后研制而成的。用这种方法每测一种饲料仅需3天左右的时间,比常法快20多倍,而且不受试验动物条件的限制,可以批量测定,所需费用仅相当于常法的百分之一。操作技术简单,一般化验人员即胜任。精度,可加性,重演性都符合要求。PIF冻干粉可以批量生产,可以由专门的科研单位分工检验定标,免去所有用户都需自行定标的工作量,建议能尽快进行标准化工作的准备。

参考文献

1. 张子仪, 1980, 日本畜禽营养科考察报告之三, 猪的离体消化试验法, 全国饲料与饲养科学讲习班讲义, 东北农学院主办。
2. 戎易, 1983, 关于人工瘤胃法评定反刍动物饲料能量价值的试验研究的进展, 中国畜牧杂志, 5期5页。
3. 张子仪等, 1961, 用指示剂法测定猪对青粗饲料消化率方法的研究, 第二报: 关于若干影响干物质消化率测值因素的探讨, 中国农业科学院畜牧研究所科学研究年报77—86页。

4. 中国动物营养研究会编, 1985, 猪的离体消化试验方法(研究论文, 计算方法及操作规程), 北京地区畜牧与饲料科技情报网。
5. 张蔚云、张子仪, 1985, 猪的离体消化试验方法的研究。第十一报。中国农业科学院畜牧研究所科学研究年报。
6. 崔宝珊, 1984, 酸不溶灰分法在家畜消化试验中应用的研究, 中国畜牧杂志6期。
7. 古谷修, 1981, 用离体尼龙袋法估测猪的粗饲料干物质消化率, 日本畜产学会报52(8): 198—204。
8. ABE, A., et al 1979. J. Anim. Sci., 46: 1481—1491
9. CORRING, T. 1982. Enzyme digestion in the proximal digestive tract of the pig. A review, livestock production science 9: 581—593.
10. FARRELL, D. J. et al 1970. Utilization of cellulose by pigs and its effects on caecal function Anim. prod 14: 209—219
11. FURUYA, S. et al, 1975. Rate of passage of Cr₂O₃ and polyethylene Glycol and digestibility in the digestive tract of pigs, JPN. J. of zootch. Sci Vol 46, NO 11.
12. FURUYA, S., et al. 1978. Effects of added dietary sodium polyacrylate on passage rate of markers and apparent digestibility by growing swine. J. of anim. Sci. 47: 159—164.
13. FURUYA, S., et al. 1979. A new in vitro method for the estimation of digestibility using the intestinal fluid of the pig. Br. J. Nutr. 41: 511.
14. FURUYA, S. 1980. A new in vitro method for estimation digestibility of animal feeds. JARQ. 14: 52—55.
15. IMOTO, S. et al. 1978 VFA production in the pig large intestine J. 1978, J. Anim. Sci. 47(2): 467—478
16. FURUYA, S. And S. TAKAHASHI, 1980. Factors influencing digestibility by swine relationship of level of feeding and retention time in the intestines to digestibility. JPN. J. of zootechnical Sci. 51(1): 33—39
17. KIDDER, D. E. et al. 1978. Digestion in the pig. scientechnica. Bristol.
18. SCHNEIDER, B. H. et al 1975. The evaluation of Feeds through Digestibility Experiments, Univ. Georgia press. US.
19. SAKAMOTO, K., ASANO, T., et al. 1983,

Estimation of in vitro digestibility with the laying hen by an in vitro method using the intestinal fluid of the pig. Br. J. Nutr. 48: 889-891.

20. ŠAUĚR, W. Č., et al. 1983. A modified nylon bag technique for determining apparent digestibilities of protein in feedstuff for pigs. Can. J. Anim. Sci. 63(1): 233

An in vitro method of measuring pig feeds and its biological validity

Zhang ziyi

(Institute of Animal Science, CAAS)

Nie Guangda

(Shanghai Institute of Animal & Veterinary Sciences

Shanghai Academy of Agricultural Sciences)

Abstract

Much attention has been drawn to the so-called "two-stage in vitro method of measuring the digestible energy of pig feeds" in recent years. Feed was digested with pepsin during the first stage, and then with porcine intestinal fluid (PIF) during the second. Several factors affecting the energy digestibility by this method were investigated. The results showed that diet nutrient levels and genetic sources of donor pigs had no influence on the activity of PIF. But the enzymatic activities of amylase, trypsin and chymotrypsin tended to increase with age. The enzymatic activity of PIF taken at 170 cm from the pylorus was higher than that taken at 50 cm. The freeze-dried powder of PIF maintained its activity more than 3 months. The method was checked up in four different laboratories with satisfactory results.

前 言

在猪的营养需要和制订饲养标准方面,我国科技工作者已做了大量研究工作,并取得较大进展。但限于实验条件,有关绝食代谢和维持需要部份,仍属薄弱环节。吉林省农业科学院畜牧研究所饲养研究室,在1980~1981年试制装配了两台密闭式猪用呼吸测热装置,于1982、1983两年间,曾利用该装置进行了饥饿条件下生长育肥猪的绝

食代谢试验。目的在于探讨了解其不同发育阶段的能量、体物质的消耗,从而为制订营养需要量提供较为实际的析因的科学依据。

试验材料和方法

试验猪:1982年选用8头肉脂型“吉林黑猪”(去势公猪)为材料,6头用于正式试验,2头备用。1983年选用4头三元杂交肉用型“杜、长、苏”(去势公猪)为材料,3头用于正式试验,1头备用。分两个年度进行两批同类试验。因肉用型猪在试验中个别有问题,故育肥后期每期只2头。选用两种类型猪,在于比较其异同。

试验分期:为考察两种类型猪在不同生长育肥阶段的绝食代谢结果,各批猪均为五个时期进行试验。I期的体重为22公斤(A)和25公斤(B),II期为35公斤(A)和40公斤

生长育肥猪绝食代谢研究

吉林省农业科学院畜牧研究所

杨嘉实 赵鸿儒 苏秀霞 王振海

※蒙东北农学院许振英教授指导,特此说明、致谢。本所于秀芳同志参加了营养成分分析化验工作。