

日粮中添加果寡糖对水牛瘤胃液体外发酵功能的影响

黄雅莉¹, 夏中生^{1*}, 王金伟¹, 黄连莹¹, 仵天培¹, 邹彩霞², 唐庆凤¹

(1. 广西大学动物科学技术学院, 广西 南宁 530005;

2. 广西水牛研究所, 广西 南宁 530001)

摘要: 本试验采用人工瘤胃体外产气法研究体外条件下日粮中添加果寡糖(FOS)制剂对水牛瘤胃发酵功能的影响。结果显示: 与对照组比较, 0.4%、0.8%、1.2%、1.6%和2.0% FOS组日粮可消化有机物分别提高0.84%、2.05%、2.06%、2.11%和1.34%, 且差异均显著($P < 0.05$); 代谢能分别提高1.45%、3.63%、3.63%、3.63%和2.32%, 且差异均显著($P < 0.05$); 培养液中微生物蛋白分别提高42.65% ($P < 0.05$)、37.75% ($P < 0.05$)、53.92% ($P < 0.05$)、52.94% ($P < 0.05$)和13.24% ($P > 0.05$); 挥发性脂肪酸分别提高20.9%、14.82%、18.97%、16.4%和14.58%, 且差异均显著($P < 0.05$)。日粮添加FOS可以显著降低培养液中氨态氮含量($P < 0.05$), 但对pH值无显著性影响($P > 0.05$)。综上所述, 日粮中添加FOS可改善瘤胃发酵功能, 且以1.6%的添加量效果最优。

关键词: 果寡糖; 水牛; 体外产气法; 瘤胃发酵

中图分类号: S823.8

文献标识码: A

文章编号: 0529-5130(2012)12-0013-04

Effect of dietary fructooligosaccharides on rumen fermentation functions of water buffalo *in vitro*

HUANG Ya-li¹, XIA Zhong-sheng^{1*}, WANG Jin-wei¹,

HUANG Lian-ying¹, WU Tian-pei¹, ZOU Cai-xia², TANG Qing-feng¹

(1. College of Animal Science and Technology, Guangxi University, Nanning 530005, China;

2. Buffalo Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530001, China)

Abstract: The experiment was conducted to investigate the effect of dietary fructooligosaccharides (FOS) on rumen fermentation functions of water buffalo using gas production of artificial rumen *in vitro*. The dietary level of FOS was 0% (control), 0.4%, 0.8%, 1.2%, 1.6% and 2.0% of treatments, respectively. The results showed that the dietary digestible organic matter was increased significantly ($P < 0.05$) by 0.84%, 2.05%, 2.06%, 2.11% and 1.34%; metabolic energy increased significantly ($P < 0.05$) by 1.45%, 3.63%, 3.63%, 3.63% and 2.32%; microbial crude protein production in the incubation fluids increased by 42.65% ($P < 0.05$), 37.75% ($P < 0.05$), 53.92% ($P < 0.05$), 52.94% ($P < 0.05$) and 13.24% ($P > 0.05$); and volatile fatty acids increased significantly ($P < 0.05$) by 20.9%, 14.82%, 18.97%, 16.4% and 14.58% in 0.4%, 0.8%, 1.2%, 1.6% and 2.0% FOS groups compared with the control group. Dietary FOS could reduce ammonia nitrogen contents in the incubation fluids but not affect pH of the incubation fluids among the groups. Together, dietary FOS could improve rumen fermentation functions in the water buffalo, and dietary supplementation with 1.6% FOS was recommended in the present experiment.

Key words: fructooligosaccharides; water buffalo; rumen fermentation

近20年来,寡糖类新型饲料添加剂受到动物营

宁市科技项目(200902013A)。

作者简介:黄雅莉(1987-),女,硕士研究生。

*通信作者:夏中生,教授,硕士生导师,研究方向为动物营养调控与饲料添加剂, E-mail: zsxia@tom.com。

收稿日期:2011-12-20; 修回日期:2012-09-28

基金项目:广西自然科学基金项目(2012GXNSFAA053054);南

通报,2003,5:20-21.

[4] 吴建平.大豆降血压肽的研制[J].中国油脂,1998,23(5):22-25.

[5] 崔洪斌.大豆生物活性物质的开发与应用[M].北京:中国轻工业出版社,2003:241-264.

[6] 左伟勇,陈伟华,邹思湘.伴大豆球蛋白胃蛋白酶解肽对双歧杆菌增殖的影响[J].2004,30(6):10-13.

[7] 沈仓良,陈伟华,邹思湘.伴大豆球蛋白酶解肽对小鼠抗大肠杆菌感染的作用[J].世界华人消化杂志,2005,13(11):1299-1304.

[8] 陈文芳,左伟勇,李倬.伴大豆球蛋白酶解研究[J].安徽农业科学,2009,37(7):2835-2837.

[9] 李德发,马曦,孙鹏.大豆抗原蛋白研究进展[M].动物营养研究进展,2008:10-23.

养学家和生产开发商的广泛关注，其中用果寡糖 (FOS) 作为饲用抗生素的替代品之一，国内外较多的研究表明，猪禽日粮中添加 FOS 具有促进肠道内有益菌的繁殖、抑制有害菌的增长、改善动物消化道微生态环境、提高动物免疫力和生产性能、促进动物肠道发育和营养物质吸收利用、降低有害物质的排放、调节机体的脂质和蛋白质代谢等功效^[1]。Howard^[2] 在仔猪饲料中添加 FOS 可以增加肠道双歧杆菌的浓度。谭聪灵等^[3] 报道，生长猪饲料中添加 0.3% FOS 可显著提高血清免疫球蛋白 A (IgA) 浓度，添加 0.3% 和 0.5% FOS 组血清免疫球蛋白 G (IgG) 显著高于抗生素组。胡彩虹等^[4] 在生长肥育猪饲料中添加 0.5% FOS，猪日增重提高 9.67%，肠道乳酸杆菌数增加 314.81%。王明海^[5] 在蛋鸡饲料中添加 0.6 g/kg FOS，产蛋率提高了 11.81%，饲料利用率提高 8.49%。然而，有关寡糖在反刍动物生产的应用研究报道较少，郭勇庆等^[6] 在 3~4 月龄绵羊饲料中添加不同剂量牛蒡果寡糖 (分别为 0、3.2、6.4 和 9.6 g/d) 的试验结果表明，牛蒡果寡糖有提高绵羊生长增重和饲料营养物质消化率的趋势。瞿明仁等^[7] 研究了灌注 FOS 对生长绵羊瘤胃发酵功能的影响。本试验采用体外产气法研究日粮中添加不同水平的 FOS 对水牛瘤胃发酵功能的影响，为 FOS 在反刍动物营养研究应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计

本试验采用单因子实验设计。设 1 个对照组 (即日粮中不添加果寡糖)，另设 5 个处理组，日粮分别添加 0.4%、0.8%、1.2%、1.6%、2% FOS 制剂，每个处理组 3 个重复。同时，设 1 个空白对照组和 1 个标准干草组，标准干草组用于消除试验误差。

1.2 试验材料和日粮

FOS 制剂产品由广西奥立高生物科技有限公司提供，果寡糖含量为 35%。体外产气试验用日粮样本由精料和粗料组成，精粗比为 3:7 (风干基础)。精料组成和营养水平见表 1，粗料由象草 40%、木薯渣 30%、麦芽渣 30% 组成。

1.3 瘤胃液供体水牛及其饲养管理

选择 3 头平均体重 (400±5) kg、安装永久性瘤胃瘘管的水牛作为瘤胃液的供体动物，其日粮水平参照了广西水牛研究所实用配方配制，精粗比为 3:7 (风干基础)，粗料为象草。日粮营养水平为粗蛋白质 13.72%，产奶净能 6.44 MJ/kg，钙 0.72%，磷 0.48%。试验牛采用栓系式饲养，每日于 8:00 和 17:00 分 2 次饲喂，自由饮水，常规光照、驱虫及

管理。

表 1 精料组成与营养水平 (风干基础)

精料	配比/%	指标	营养水平
玉米	45.00	粗蛋白质/%	16.07
麦麸	24.00	粗纤维/%	4.55
豆粕	10.50	产奶净能/ (MJ·kg ⁻¹)	6.50
磷酸氢钙	3.00	钙/%	1.24
贝壳粉	1.50	磷/%	1.04
食盐	3.00		
预混料	1.00		
小苏打	2.00		
棉粕	10.00		

1.4 体外培养试验操作

体外培养方法参照 [8] 进行，体外培养装置主体为德国生产的恒温水浴摇床，水浴温度和振荡频率可调。培养的底物 (各处理的样本) 为 750 mg (DM)，培养时间为 72 h。

1.5 测定项目及方法

1.5.1 产气量

测定方法参考文献 [9]，培养 2、4、6、9、12、24、36、48 和 72 h 时，用压力传感器读取产气瓶内压力，并放气。根据公式： $CP_t = \frac{(P_t - P_{t_{\text{空白}}}) \times (V_0 - 100)}{101.3 \times W}$ ，计算出产气量。

1.5.2 可消化有机物和代谢能

根据体外产气法培养 24 h 后得到的产气量计算可消化有机物 (DOM)，计算公式如下： $DOM = (7.65 \pm 0.062) \times GP_{24h} + (353 \pm 0.59)$ ，其中 DOM 的单位为 g/kg， GP_{24h} 的单位为 mL^[10]。根据公式 $ME = -0.20 + 0.1410 \times DO$ 计算代谢能 (ME)，公式中的 DO 为有机物消化率， $DO = 17.04 + 1.1085 GP_{24h}$ ^[8]。

1.5.3 氨态氮的测定方法

取体外发酵培养 24 h 后的培养液 5 mL，经过 3 000 r/min 离心 10 min，取上清液，采用冯宗慈等^[11] 改进方法，用氯化铵作标准品，采用紫外可见分光光度计 (PE Lambda 35 型，美国) 在 700 nm 波长条件下比色，根据光密度值和标准曲线求出氨态氮的浓度。

1.5.4 微生物蛋白的测定方法

取体外发酵培养 24 h 后的培养液 8 mL，采用嘌呤法测定体外微生物蛋白产量，经过处理后的待测液以 0.5 mol/L HCl 溶液作参比，采用紫外可见分光光度计 (PE Lambda 35 型，美国) 在 260 nm 下比色，根据光密度值和标准曲线求出 RNA 测定值；根据以

下公式计算微生物蛋白产量: 微生物蛋白 (mg/mL) = [(RNA 测定值 (mg/mL) × RNA 含氮量) / 细菌氮中 RNA 含氮量] × 稀释倍数 × 6.25^[9], 其中, RNA 含氮量为 17.83%, 细菌氮中 RNA 含氮量为 10%。

1.5.5 pH 测定

24 h 培养结束后, 立即测定培养液 pH 值。采用 PHS-25 型 pH 计 (上海今迈仪器仪表有限公司) 测定瘤胃液 pH 值。

1.5.6 挥发性脂肪酸的测定方法

取体外发酵培养 24 h 后的上清液 1 mL, 加入等体积 8.2% 的偏磷酸, 4 °C 20 000 r/min 下离心 10 min, 取离心后的上清液, 用仪器为 Agilent 7890A 型气相色谱仪, 色谱柱为 HP-INNOWAX (19091N-133) 毛细管柱, 规格为 30 m×0.25 mm×0.25 μm。测定上清液中乙酸、丙酸和丁酸的含量。

1.6 数据统计处理

试验数据用 Excel 软件进行处理, 然后用 SPSS 16.0 软件 ANOVA 法进行方差分析, Duncan 法进行多重比较, 试验数据用“平均数±标准差”表示。

2 结果与分析

2.1 72 h 累积产气量、可消化有机物和代谢能

添加 FOS 的各组 72 h 累积产气量与对照组无显著差异 ($P>0.05$), 以 1.6% 组产气量最大。可消化有机物、代谢能, 添加 FOS 的各组与对照组相比较差异显著 ($P<0.05$)。0.4%、0.8%、1.2%、1.6% 和 2.0% FOS 组可消化有机物分别比对照组提高 0.84%、2.05%、2.06%、2.11% 和 1.34%, 代谢能分别提高 1.45%、3.63%、3.63%、3.63% 和 2.32%。结果见表 2。

表 2 日粮添加不同比例 FOS 对 72 h 累积产气量、可消化有机物和代谢能的影响

处理组	72 小时累积产气量/mL	可消化有机物 / (g · kg ⁻¹)	代谢能 (DM) / (MJ · kg ⁻¹)
对照组	171.68±8.09 ^a	582.55±0.32 ^d	6.89±0.01 ^d
0.4% FOS	167.97±8.09 ^a	587.46±0.11 ^c	6.99±0.00 ^c
0.8% FOS	169.28±4.05 ^a	594.47±0.06 ^a	7.14±0.00 ^a
1.2% FOS	173.82±3.71 ^a	594.56±0.45 ^a	7.14±0.05 ^a
1.6% FOS	180.97±8.65 ^a	594.84±0.22 ^a	7.14±0.00 ^a
2.0% FOS	180.27±11.96 ^a	590.38±0.27 ^b	7.05±0.05 ^b

注: 同列数据肩标小写字母相同者表示差异不显著 ($P>0.05$), 小写字母不同者表示差异显著 ($P<0.05$)。下同。

2.2 氨态氮、微生物蛋白、pH 值

氨态氮浓度, FOS 的 5 个添加组与对照组相比较差异显著 ($P<0.05$), 随着 FOS 的添加量增加, 氨态氮浓度逐渐降低, 1.6% 组最低, 其次为 1.2%、2.0%、0.8%、0.4% 组。微生物蛋白浓度, 2.0% 组与对照组相比较差异不显著 ($P>0.05$), 0.4%、0.8%、1.2% 和 1.6% 组与对照组相比较差异显著

($P<0.05$), 分别比对照组提高 42.65%、37.75%、53.92%、52.94% 和 13.24%。随着 FOS 的添加量增加, 微生物蛋白浓度逐渐升高, 但添加到 2.0% 时微生物蛋白浓度比其他添加比例减少。pH 值, FOS 的 5 个添加组与对照组相比较差异不显著 ($P>0.05$)。结果见表 3。

表 3 日粮添加不同比例 FOS 对培养液中氨态氮、微生物蛋白、pH 值的影响

处理组	氨态氮 / (mg · 100 mL ⁻¹)	微生物蛋白 / (mg · mL ⁻¹)	pH 值
对照组	7.76±0.46 ^a	2.04±0.04 ^b	6.65±0.07 ^a
0.4% FOS	6.96±0.16 ^{ab}	2.91±0.16 ^a	6.69±0.06 ^a
0.8% FOS	6.81±0.22 ^{abc}	2.81±0.05 ^a	6.62±0.05 ^a
1.2% FOS	5.98±0.37 ^{bc}	3.14±0.18 ^a	6.73±0.04 ^a
1.6% FOS	5.63±0.48 ^c	3.12±0.10 ^a	6.70±0.02 ^a
2.0% FOS	6.57±0.32 ^{bc}	2.31±0.11 ^b	6.70±0.04 ^a

2.3 挥发性脂肪酸产量

5 个添加 FOS 的试验组乙酸含量均显著高于对照组 ($P<0.05$); 丙酸含量 (除 2.0% 添加组外) 与对照组比较差异显著 ($P<0.05$); 丁酸含量与对照组相比较差异不显著 ($P>0.05$); 总酸含量与对照组比较

差异显著 ($P<0.05$), 5 个添加组之间差异不显著 ($P>0.05$), 0.4%、0.8%、1.2%、1.6% 和 2.0% FOS 组总酸分别比对照组提高了 20.9%、14.82%、18.97%、16.4% 和 14.58%。结果见表 4。

表 4 日粮添加不同比例 FOS 对培养液中挥发性脂肪酸产量的影响

处理组	乙酸/(mmol·L ⁻¹)	丙酸/(mmol·L ⁻¹)	丁酸/(mmol·L ⁻¹)	总酸/(mmol·L ⁻¹)	乙酸/丙酸
对照组	18.98±0.50 ^b	5.81±0.10 ^{cd}	3.68±0.11 ^a	28.47±0.67 ^b	3.27±0.06 ^c
0.4% FOS	22.22±0.78 ^a	8.01±0.22 ^a	4.13±0.21 ^a	34.42±1.05 ^a	2.75±0.06 ^d
0.8% FOS	22.04±0.59 ^a	6.94±0.05 ^b	3.71±0.27 ^a	32.69±0.77 ^a	3.17±0.07 ^c
1.2% FOS	23.52±0.39 ^a	7.03±0.07 ^b	3.32±0.08 ^a	33.87±0.08 ^a	3.35±0.07 ^c
1.6% FOS	23.50±0.12 ^a	6.32±0.25 ^{bc}	3.32±0.05 ^a	33.14±0.22 ^a	3.73±0.16 ^b
2.0% FOS	23.77±0.51 ^a	5.27±0.22 ^d	3.58±0.35 ^a	32.62±0.80 ^a	4.51±0.10 ^a

3 讨论

3.1 日粮添加 FOS 对 72 h 累积产气量、可消化有机物和代谢能的影响

产气量是综合反映饲料可发酵性程度的指标，表现瘤胃微生物活动的总体趋向，也可作为综合反映饲料营养价值的指标。产气量与饲料中有机物的发酵程度成正相关，饲料的可发酵性越强，则瘤胃中微生物的活性也越高，产气量也就越大；反之则产气量就减少。本试验结果表明，日粮中添加 FOS 可以提高产气量、显著提高饲料可消化有机物和代谢能值。

3.2 日粮添加 FOS 对氨态氮、微生物蛋白、pH 值的影响

氨态氮是瘤胃中饲料蛋白质、氨基酸、肽、氯化物、尿素及其他非蛋白氮化合物分解的终产物，同时也作为瘤胃微生物合成菌体蛋白的原料。氨态氮的浓度是评价瘤胃内环境的重要指标，它取决于饲料中蛋白质在瘤胃中的降解、吸收和瘤胃微生物对 NH₃-N 的利用程度。凌宝明等^[12] 研究表明，在日粮中添加 FOS 可以降低培养液中氨态氮的含量。瞿明仁等^[7] 研究表明，灌注 FOS 可以降低绵羊瘤胃内氨态氮的浓度。本试验结果与上述研究基本一致。

微生物蛋白浓度的大小反映了微生物利用氨态氮的能力；微生物蛋白的浓度也间接地反应了培养体系中微生物种群的数量。研究表明，在日粮中添加 FOS 或灌注 FOS 均可以提高培养液中菌体蛋白的含量^[7,12]。本试验用水牛瘤胃液体外培养的结果与上述研究结果相一致。

维持正常范围内的 pH 是保证瘤胃正常发酵的前提条件之一。本试验结果表明，各组培养液的 pH 值均在水牛瘤胃液正常的生理范围内，适合瘤胃中微生物的生存，不会影响到瘤胃的正常发酵功能，这与 Hoover 等^[13] 的研究报道相似。

3.3 日粮添加 FOS 对挥发性脂肪酸产量的影响

VFA 的产量及比例反映瘤胃发酵类型、影响着反刍动物对营养物质的吸收利用及生产能力的发挥。试验研究表明，日粮中添加 FOS 或灌注 FOS 可以显著提高培养液中挥发性脂肪酸的含量^[7,12]，本试验结果与其研究报道相一致。

4 结论

水牛日粮中添加 FOS 可提高日粮可消化有机物和代谢能；提高日粮瘤胃体外培养的产气量；提高体外培养液中挥发性脂肪酸和微生物蛋白含量；降低氨态氮含量；从而改善水牛的瘤胃发酵功能，且以 1.6% 的添加量效果最优。

参考文献：

- [1] 盛东峰, 王志跃. 果寡糖在动物营养中的研究与应用 [J]. 动物营养学报, 2005, 17(1): 7-12.
- [2] Howard M D, Kerley M S, Gordon D T, et al. Effect of dietary addition of fructo-oligosaccharides on colonic microflora population and epithelial cell proliferation in neonatal pigs [J]. J Anim Sci, 1993, 71(3): 177-183.
- [3] 谭聪灵, 夏中生, 李永民, 等. 饲料中添加果寡糖对生长猪生产性能和免疫机能的影响 [J]. 粮食与饲料工业, 2010(4): 45-48.
- [4] 胡彩虹, 王友明. 果寡糖对育肥猪生长及肠道菌群等的影响 [J]. 无锡轻工大学学报, 2001, 6: 568-572.
- [5] 王明海. 果寡糖对蛋鸡产蛋性能及鸡蛋品质的影响 [J]. 南京农专学报, 2002, 12(4): 26-28.
- [6] 郭勇庆, 张英杰, 刘月琴, 等. 牛蒡果寡糖对绵羊生产性能及营养物质消化的影响 [J]. 饲料研究, 2010(1): 49-51.
- [7] 瞿明仁, 凌宝明, 卢德勋, 等. 灌注果寡糖对生长绵羊瘤胃发酵功能的影响 [J]. 畜牧兽医学报, 2006, 37(8): 779-784.
- [8] Menke K H, Steingass H. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid [J]. Anim Res Dev, 1988, 28: 7-55.
- [9] Mauricio R M, Mould F L, Dhanoa M S, et al. A semi-automated in vitro gas production technique for ruminant feedstuff evaluation [J]. Anim Feed Sci Technol, 1999, 79: 321-330.
- [10] Menke K H, Raab L, Steingass H, et al. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro [M]. England: Cambridge University Press, 1979: 217-222.
- [11] 冯宗慈, 高民. 通过比色法测定瘤胃液氨态氮含量方法的改进 [J]. 内蒙古畜牧科学, 1993(4): 40-41.
- [12] 凌宝明, 瞿明仁, 卢德勋, 等. 果寡糖对生长绵羊瘤胃发酵功能(体外)的影响 [J]. 饲料广角, 2006, 17: 29-31.
- [13] Hoover W H, Storkes S R. Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield [J]. J Dairy Sci, 1991, 74: 36-39.