

喂酶前后猪胃肠道内纤维素酶活性的观察*

丁达明 周履谦 陈明彬 赵 林

杨 平 余运华 陈绳亮

(湖北省微生物研究所)

为了提高粗饲料的营养价值,广辟饲料来源,国内外都在积极开展研究,应用酶、物理和化学处理等方法多途径进行探索。

以纤维素酶作为饲料添加剂,不仅已经有效地应用于反刍动物,在猪的饲料中,也能显著改善饲料的消化率,促进营养物质的利用,提高日增重,降低饲料消耗。而猪肠道内的纤维分解菌,早在四十年代即已着手研究,并已证实纤维素的消化主要是细菌在盲肠和大肠内进行。

但是,在我国以粗料为主的日粮中,添加纤维素酶

是否有确切效果至今尚在研究,至于添加纤维素酶在猪胃肠道内的分布和作用情况,近年来国内才开始探索,国外多系从纤维素或干物质的消化作出判断,迄今尚未见有直接的实验报道。研究喂酶前后猪胃肠道内的纤维素酶活性,不仅能提供纤维素酶作添加剂的理论和实验依据,对于纤维素酶在饲料方面的应用,也是十分必要的基础工作。

我们采用了五种方法,并针对体内的实际情况,对

* 本工作承武汉肉类联合加工厂热情支持协助,谨致谢意。

酶反应的系统和作用程序作了一些相应的改变，初步测定了喂酶前后猪胃肠内的纤维素酶活性。

材料和方法

1. 菌种和纤维素酶

木霉 G_{109} (*Trichoderma* sp.) 由本组分离；

木霉 9023 (*Trichoderma* sp.) 由西北水土保持生物土壤研究所提供。¹

纤维素酶：用上述菌种单独培养的纤曲或 80% 饱和度 $(NH_4)_2SO_4$ 盐析的粗制酶制剂（直接用酶泥，未干燥）。

2. 猪胃肠道内容物样品的制备

供试猪体重均在 100 斤以上，共分五组，对照组喂正常日粮（麸皮），其他组除正常日粮外，分别加喂 G_{109} 曲、9023 曲或高、低浓度的 9023 酶泥。加曲量为干饲料的 10%，高、低浓度酶组每头猪每日喂酶量按滤纸酶活性分别为 15,000 毫克和 1,500 毫克。

四组试验猪在屠宰前两日的晚餐，前一日的三餐和当日早餐加喂纤曲或酶，一般在当日早餐后 3 小时左右屠宰，当即自胃、回肠、盲肠和结肠四个部位分别取出内容物 50 克，用蒸馏水或 0.2% 的苯甲酸钠溶液进行 1:1 稀释，于 $1677 \times g$ 离心 15 分钟，取上清液作测

定酶活和 pH 值的样品。

对照组除正常日粮外，胃肠道内容物样品的制备相同。

3. 测定方法

纤维素酶活性的测定同时采用了简易平板法，凝胶液化法，滤纸崩溃法，DNS 法定 CMC 糖化活性和滤纸糖化活性，除另有说明外，均照原法进行。

pH 值用 25 型酸度计测定。

样品的制备和酶反应混合物中均未用缓冲液，目的是使反应尽可能在自然 pH 下进行，便于更真实地反映猪胃肠道内纤维素酶的存在和作用。因此测 CMC 糖化活性时所用的底物相应地改为 0.75% Na-CMC 水溶液。

在用 DNS 法测定 CMC 糖化活性和滤纸糖化活性时，虽然外加的是单一底物 CMC 或滤纸，但还不能据此判断测定的糖即是纤维素酶作用的结果，因为按常规方法分析样品时，胃肠道内容物中可能同时含有淀粉、糊精和淀粉酶，则淀粉酶作用所产生的糖如不扣除，一并计为纤维素酶的作用值，势必导致数值偏高。

根据我们的实验，我们建议样品对照，保温作用前不灭活也不加底物，保温作用后加 DNS 试剂终止反应，再加底物，显色定糖。

表 1 喂纤曲或酶后猪体内纤维素酶活性的变化

处理	部位	pH	滤纸酶活性		CMC 酶活性		大红平板	备注
			平均 OD	活性	平均 OD	活性		
G_{109}	胃	3.7	0.01	±	0.02	±	-	(1) 滤纸酶活与 CMC 酶活一般为每组 3 头，每头 3 个样品的均值。活性表示：毫克葡萄糖/克内容物·时 (2) 曲子活性： G_{109} 曲滤纸酶活 72， CMC 酶活 405，9023 曲滤纸酶活 122， CMC 酶活 424， (3) 反应混合物： CMC 酶：样品液 1 毫升 0.75% Na-CMC 1 毫升 滤纸酶：样品液 1 毫升 蒸馏水 1 毫升 $1 \times 6 \text{cm}^2$ (50mg) 滤纸卷 1 个。
	回肠	7.0	±	±	0.02	±	-	
	盲肠	7.5	0.06	0.09	0.17	0.60	+	
	结肠	7.2	0.05	0.08	0.08	0.39	+	
9023	胃	4.3	0.04	0.15	0.21	0.70	+	* 此处的单位指每小时转化的葡萄糖毫克数
	回肠	6.5*	0.09	0.21	0.28	0.86	+	
	盲肠	5.5	0.17	0.31	0.67	1.78	+	
	结肠	6.1	0.22	0.36	0.68	1.81	+	
高酶 15000 单位*/头·天	胃	4.5	0.10	0.22	0.90	2.32	+	蒸馏水 1 毫升 $1 \times 6 \text{cm}^2$ (50mg) 滤纸卷 1 个。
	回肠	7.7	0.03	0.14	0.18	0.63	+	
	盲肠	7.4	0.24	0.39	0.67	1.78	+	
	结肠	6.9	0.31	0.47	0.36	1.05	+	
低酶 1500 单位*/头·天	胃	4.3	0.07	0.18	0.44	1.24	+	
	回肠	7.3	0.01	0.11	0.05	0.32	+	
	盲肠	6.5	0.12	0.24	0.48	1.33	+	
	结肠	6.1	0.15	0.28	0.37	1.07	+	

结果和讨论

猪胃肠道内容物的 pH 值和纤维素酶活性，结果列于表 1。

由表 1 可以看到：

(1) 没有喂酶(纤曲)的猪，除盲肠和结肠外，胃和回肠内均不存在明显的纤维素酶活性。

(2) 喂酶(纤曲)后，猪胃、回肠、盲肠和结肠均显示有较高纤维素酶活性，惟回肠较弱。之所以较弱，除回肠样品含水分较高外，是否还另有原因，尚不十分清楚。至于高酶组因猪未吃完，难于分析。

考虑到胃肠道内蛋白酶对其他酶蛋白的破坏，消化道内 pH 变化和微生物群落复杂，外加纤维素酶能否存在和作用，这个问题本实验初步得到了肯定，这一结果为纤维素酶用作猪饲料的添加剂提供了一定的实验依据。

(3) 猪胃肠道内的纤维素酶活性，因受饲料和饮水的稀释，用五种方法，证实在酶活较低时，用滤纸崩溃法和凝胶液化法不能反映出来，故结果也未列入表 1。用简易平板法和 DNS 法定糖比较灵敏，但使用 DNS 法定糖，应考虑排除淀粉酶的作用，按本实验方法安排对照处理是可行的措施之一。

(4) 实验中我们也观察到体内酶活性的个体差异较大(见表 2)。

表 2 喂 G₁₀₀ 曲后猪体内酶活性的个体差异

猪号	项目	胃		回肠		盲肠		结肠		备注
		OD	活性	OD	活性	OD	活性	OD	活性	
1	滤纸	0.03	0.13	0.13	0.25	0.20	0.34	0.25	0.40	上述数 值均为 三个数 的平均 值
2	酶活	0.04	0.15	0.10	0.22	0.16	0.29	0.19	0.32	
3	性	0.05	0.16	0.03	0.13	0.16	0.29	0.22	0.36	
1	CMC	0.04	0.29	0.09	0.41	0.70	1.85	0.69	1.83	
2	酶活	0.31	0.93	0.36	1.05	0.53	1.45	0.74	1.95	
3	性	0.29	0.88	0.19	0.65	0.76	1.99	0.62	1.66	

从表 2 的数值看出，虽然 3 头猪共食槽，喂同一活性纤曲，但猪体内酶活性却存在个体差异。以胃为例，CMC 酶活性高低相差近 3 倍。回肠部分滤纸酶活性相差也近 2 倍。这可能与供试猪的采食量、消化情况、健康状态、品种、年龄等有关。加上我们取样的部位也不完全一致。猪体内酶活性的个体差异与猪增重效果上的个体差异是否相对应，由于工作不多，对幼龄猪未作比较研究，对长期喂酶(曲)的猪也来不及系统分析，尚难定论。要找出比较完整的结论和规律还有待继续深入的研究。