

生物活性次生代谢产物在家禽饲养中的应用

查艳景¹, 杨本寿¹, 左祥²

(1. 曲靖医学高等专科学校 基础医学学院, 云南 曲靖 655000;

2. 曲靖医学高等专科学校 微生物研究所, 云南 曲靖 655000)

摘要: 为促进我国畜牧业的发展, 探讨生物活性次生代谢产物在家禽饲养中的应用效果. 通过提取小麦叶片的生物特征, 分离其次生代谢产物, 并计算生物活性, 检测家禽饲料成分特征设定应用范围. 结果表明, 当次生代谢产物质量为 50 g 时, 家禽在 3 个时段的采食速率均值为 50.81 g/h, 比次生代谢产物质量为 25, 100 g 时的采食速率均值分别高出 29.56, 10.43 g/h, 家禽进食量最快.

关键词: 生物活性; 次生代谢产物; 饲料; 家禽饲养; 采食速率

中图分类号: S816.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-5639 (2021) 06-0088-05

DOI: 10.14091/j.cnki.kmxyxb.2021.06.014

Application of Bioactive Secondary Metabolites in Poultry Breeding

ZHA Yanjing¹, YANG Benshou¹, ZUO Xiang²

(1. School of Basic Medicine, Qujing Medical College, Qujing, Yunnan, China 655000;

2. Institute of Microbiology, Qujing Medical College, Qujing, Yunnan, China 655000)

Abstract: In order to promote the development of animal husbandry in China, the application effect of biologically active secondary metabolites in poultry breeding is discussed. By extracting the biological characteristics of wheat leaves, separating its secondary metabolites, and calculating the biological activity, the application range is set by detecting the characteristics of poultry feed ingredients. The results show that when the mass of secondary metabolites is 50 g, the average feed rate of poultry in the three periods is 50.81 g/h which is higher than the mass of the average feed rates 25. When the mass of secondary metabolites is 100 g, the average feed rate is 29.56, 10.43 g/h, respectively and the food intake of poultry is the fastest.

Key words: biological activity; secondary metabolites; feed; poultry raising; feeding rate

农业是我国经济发展的基础, 而畜牧业作为农业经济的重要组成部分, 受到国家有关部门的高度重视. 据报道^[1], 我国每年的粮食增长幅度有限, 导致家禽饲料短缺, 阻碍了畜牧业的发展, 造成家禽产量需求与饲料供应之间形成了一种供需落差, 因此饲料已成为影响家禽饲养的重要问题. 而探讨生物活性次生代谢产物在家禽饲养中的应用是解决该问题的一种有效途径. 次生代谢产物是植物适应生长环境的一种常规现象, 也是植物、生物以及非生物因素等多种作物相互作用的结果^[2]. 目前, 国外一些发达国家已经在生物活性次生代谢产物

的研究领域取得了一定进展, 且研究主要集中在生物产量、生物活性中的抗逆性和抗虫性等性状层面, 并根据研究成果建立了相对应的资源档案和数据库^[3].

国内对生物活性次生代谢产物的研究起步较晚, 最初是由我国的生物科研院所和农业科学研究院等一些机构开展研究. 近年来, 对于该领域的研究已经形成了一定规模. 例如: 文献 [4] 根据葡萄渣多酚抗氧化、抗菌和抗炎等生物特征, 描述了葡萄渣多酚的生物活性作用, 并分析了在生物生产上的应用^[4]; 文献 [5] 介绍了牛磺酸在生物血意

收稿日期: 2021-04-18

基金项目: 云南省教育厅科学研究基金资助项目“枸杞内生菌多样性及活性菌株次生代谢产物的研究”(2019J1125).

作者简介: 查艳景 (1984—), 女, 云南曲靖人, 讲师, 主要从事药用植物内生菌多样性及活性菌株的次生代谢产物研究.

义上的功能, 主要是保护生物细胞以及保证生物的循环代谢等, 同时总结了牛磺酸在家禽生产中应用场景^[5]. 目前, 学术界对于将生物活性次生代谢产物应用到家禽饲养生产方面的研究内容还不够全面, 需要深入探讨.

1 材料与方法

1.1 材料及仪器

在家禽饲料价格不断上涨的背景下, 新饲料资源逐渐成为家禽饲养的主要研究对象. 为探讨生物活性次生代谢产物对家禽饲养的影响, 试验以小麦叶片为研究对象, 并进行试验测试. 试验用药品和试剂如表1所示, 器材见表2.

表1 药品与试剂

编号	名称	等级
001	硫酸	分析纯
002	硝酸	分析纯
003	盐酸	分析纯
004	乙醚	分析纯
005	三氯乙酸	分析纯
006	磷酸	分析纯
007	甲醇	分析纯
008	乙醇	分析纯
009	高锰酸钾	分析纯
010	硫酸铜	分析纯
011	硫酸钾	分析纯
012	碳酸钠	分析纯
013	没食子酸	分析纯
014	单宁	分析纯
015	钨酸钠	分析纯
016	磷钼酸	分析纯
017	氢氧化钠	分析纯
018	乙酸钠	分析纯

表2 仪器和器材

序号	名称	型号
1	全自动氨基酸分析仪	L-8900
2	粗纤维测定仪	FIWE6
3	分光光度计	722G
4	电子天平	AE240
5	乳成分分析仪	Milk-Analyzer-3510
6	pH计	PHS-3型
7	半自动凯氏定氮仪	K9840
8	高效液相色谱法	Agilent-1260
9	高速中药粉碎机	DD-04
10	红外光谱仪	Magnat-IR550

续表2

序号	名称	型号
11	质谱仪	AutoSpec Premier P776
12	紫外光谱仪	UV-2550
13	旋光仪	Jasco P-1020
14	圆二色光谱仪	Chirascan
15	离心机	ANKE LXJ-HB
16	摇床	ZP-450

1.2 测定指标及测定方法

以小麦叶片作为生物活性次生代谢产物的试验样品, 设置植物水分、粗蛋白质量分数、粗纤维质量分数、粗灰分质量分数、钙质量分数及磷质量分数作为试验指标^[6].

试剂配制过程: 用电子天平称取 33.05 g 的磷酸二氢钠, 定容至 800 mL, 静置 15 min, 生成 0.15 mol 的溶液, 设定为溶液 A; 称取 72.86 g 磷酸氢二钠, 定容至 800 mL, 静置 10 min, 生成 0.15 mol 的溶液, 设定为溶液 B. 将 25 mL 的溶液 A 与 75 mL 的溶液 B 混合, 再加入 500 mL 的蒸馏水与其充分混合, 生成 0.89 mol 酸碱值为 7.1 的磷酸盐缓冲液^[7]. 取 850 mL 的清水, 并将 80 g 的钨酸钠和 40 g 的磷钼酸溶解于水中, 待充分溶解后再倒入容量为 1.5 L 的烧杯内, 摇匀后加入 55 mL 的磷酸, 再接入冷凝管, 将烧杯放置在沸水浴上加热并回流 1.5 h, 待完全冷却后加 500 mL 的水并稀释, 生成 F-D 试剂^[8]. 向磨口回流瓶中加入 120 g 钨酸钠和 30 g 钼酸钠. 准备 850 mL 的蒸馏水、78% 的磷酸、85 ~ 120 mL 浓盐酸, 用文火回流 8.5 h^[9]. 然后将冷凝器取下, 随后加入硫酸锂与蒸馏水混合摇匀后, 再加入液体溴 7 ~ 9 滴. 将蒸馏水煮沸, 20 min 后, 观察并轻嗅溶液的颜色和味道, 直至溶液从绿色变为黄色. 若溶液中仍然呈现出绿色, 根据绿色的鲜艳程度, 重复上述步骤 2 ~ 3 次. 待溶液完全冷却后, 定容至 1 200 mL, 并将过滤后的溶液倒入避光瓶中保存^[10].

指标测定: 测定植物水分利用烘干法快速水分测定仪测定; 粗蛋白质量分数用凯氏定氮仪测定; 粗纤维质量分数用酸碱洗涤法测定, 采用碳酸钠、氢氧化钠及高锰酸钾进行洗涤, 去除植物溶剂降解产物, 完成粗纤维测定. 其余指标的测定方法如表 3 所示.

表3 测定指标及方法

序号	成分	方法
1	水分	烘干法 (GB/T 6435—2014)
2	粗蛋白	凯氏定氮法 (GB/T 6433—2006)
3	粗纤维	酸碱洗涤法 (GB/T 6434—2006)
4	粗灰分	灰化法 (GB/T 6438—2007)
5	钙	高锰酸钾滴定法 (GB/T 6436—2002)
6	磷	分光光度计法 (GB/T 6437—2018)

称取 10 g 样品, 倒入 200 mL 的烧杯中, 再添加 10% 的三氯乙酸溶液 80 mL, 充分混合后静置 8 min, 采用干过滤方法过滤溶液, 去除初始滤液^[11]. 将滤液转移至离心管中, 在 4 200 r/min 下, 离心 15 min, 将上清液倒入消化管, 进行粗蛋白质量分数测定. 此外, 还需检测样品中的粗纤维、粗灰分、钙、磷的质量分数^[12]. 并用下面的公式计算生物发酵物中的小肽质量分数, 将小肽质量分数作为试验的参照指标, 进行下一步骤.

$$Q = \frac{(A_1 - A_2) \times N \times 6.75 \times 0.14}{l \times e}, \quad (1)$$

式中: Q 表示生物发酵产物中的小肽质量分数, 单位为 %; N 表示盐酸的浓度, 单位为 mol/L; A_1 表示测定过程中, 消耗的盐酸溶液的体积, 单位为 mL; A_2 表示测定过程中, 空白试验所消耗的盐酸溶液的体积, 单位为 mL; e 表示样品的粗蛋白质量分数, 单位为 %; l 表示样品质量, 单位为 g.

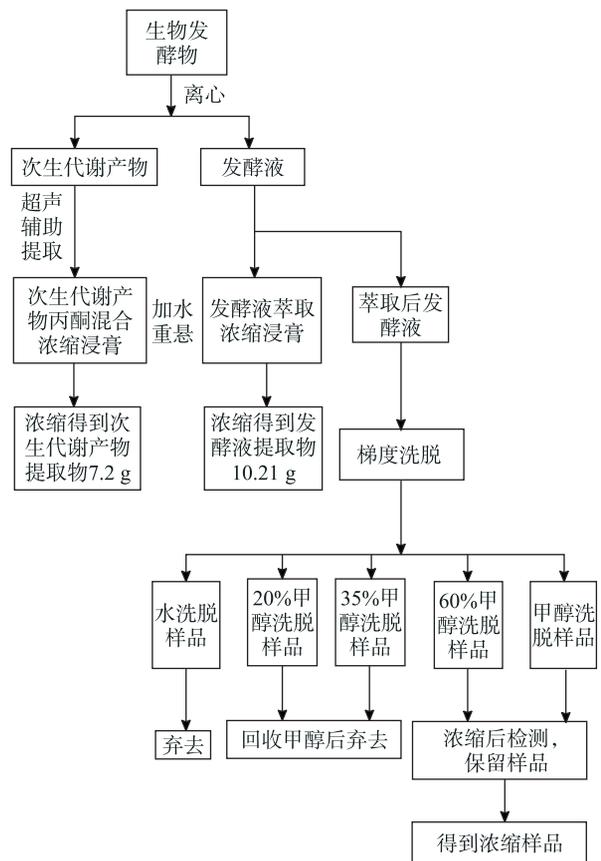
1.3 提取并分离次生代谢产物

压缩滤液至黏稠状, 利用等体积的石油醚脱油 3~5 次, 再采取用等体积的乙酸乙酯萃取, 重复 3~5 次后得到发酵液酯提浸膏的减压浓缩状态; 待菌丝体阴干后, 用乙酸乙酯超声提取 2~3 次; 利用薄层色谱法 (TLC) 比较两部分浸膏的成分差异, 检测后减压浓缩得到 40 g 的最终浸膏. 提取流程如图 1 所示.

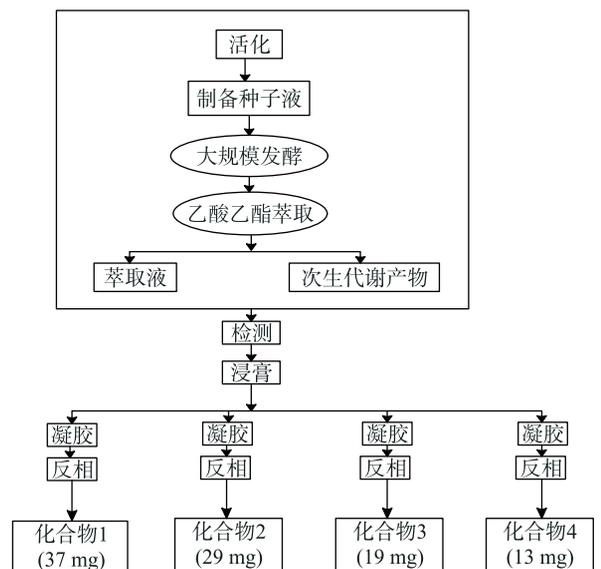
根据图 1 次生代谢产物的提取与分离流程, 将提取、分离到的不同质量的化合物, 进行 TLC 检测并加入碘粉和 5% 的硫酸乙醇溶液, 得到最终的化合物.

1.4 计算样品生物活性

将小麦叶片培养 12 h 后, 采用血球计数板法计数, 用无菌液体培养基配制成含菌量为 1×10^8 的菌悬溶液. 称量 3 mg 样品, 配置成质量浓度为 2.2 mg/mL 的样品溶液^[13]. 然后利用无菌水分别稀释成浓度为 10.25, 22.50, 50.00, 75.00,



(a) 生物发酵物提取步骤



(b) 生物发酵物分离步骤

图1 次生代谢产物提取与分离流程

100.00 $\mu\text{mol/L}$ 的溶液, 加入等量的菌悬液充分摇匀后, 重复上述步骤, 直至达到最小抑制浓度值. 生物活性以清除生物有机自由基的能力为衡量标准, 而这种生物有机自由基, 外观呈现紫色, 在波长为 510~520 nm 处能使颜色变淡直至褪色^[14], 并且其接受电子与褪色程度之间呈现相应的定量关

系. 将 5 mL 的溶液与 3 mL 的 180 $\mu\text{mol/L}$ 的甲醇溶液混合并摇匀^[15]. 保证室内 45 min 无光条件反应下, 在 510 nm 处测定样品的吸光度值, 并按照下面公式计算, 则得到试验样品的生物活性数值.

$$R = \left[1 - \frac{(X_1 - X_2)}{X_0} \right] \times 100\%, \quad (2)$$

式中: R 表示清除 DPPH 的半数抑制率; X_0 表示 5 mL 甲醇与 2 mL 180 $\mu\text{mol/L}$ 的 DPPH 的吸光度值; X_1 表示 8 mL 样品与 2 mL 180 $\mu\text{mol/L}$ 的 DPPH 混合反应后的吸光度值; X_2 表示 8 mL 的样品与 1 mL 甲醇的吸光度值.

1.5 检测家禽饲料成分特征设定应用范围

饲料是家禽获取营养物质的主要来源, 饲料的质量直接影响家禽的生长发育. 因此, 必须检测家禽饲料中的成分特征, 并设定生物活性次生代谢产物在家禽饲养中的应用范围. 通常情况下, 家禽饲料中主要以植物的茎叶和籽实作为饲料的原材料. 依据常规无菌操作流程, 将次生代谢产物的试验样品洗净晾干后, 用体积分数为 70% 的乙醇浸泡 1 min 后, 再用无菌水漂洗 3 次, 将其放置在无菌滤纸上吸干水分, 备用. 将植物叶片分割成 0.75 cm \times 0.75 cm 的块状, 并将其放置在含有氯霉素与链霉菌的新鲜培养基中. 培养箱内的温度设置为 25.5 $^{\circ}\text{C}$, 3 d 为 1 个周期, 培养两个周期. 培养结束后, 对比家禽饲料的物质成分和试验样品的成分, 得到检测结果. 家禽饲料的主要成分如表 4 所示.

表 4 家禽饲料的主要成分

编号	成分	w/%
001	纤维素	26.60
002	半纤维素	28.00
003	果胶	25.20
004	蛋白质	4.50
005	木质素	3.30
006	不溶性灰分	3.80
007	糖分	3.00
008	脂肪	1.20
009	胡萝卜素	0.70
010	维生素 B	0.55
011	其他	3.15

由表 4 可知, 家禽饲料的主要成分中, 维生素 B、脂肪和胡萝卜素质量分数较低. 而在生物活性次生代谢产物中, 除富含碳水化合物之外, 还包括单糖、双糖以及半纤维素、纤维素以及淀粉等物质.

此外, 家禽饲料不仅受提取工艺的影响较大, 饲料中的非脂固物质、挥发性脂肪酸的比例以及乳铁蛋白的质量分数还不同程度地受次生代谢产物的影响.

综上, 根据家禽的品种等信息, 将生物活性次生代谢产物应用到饲料制作过程中, 通过提取并分离次生代谢产物、计算样品生物活性以及检测家禽饲料成分特征设定应用范围, 则可得到试验结果.

2 结果与分析

在不同的质量条件下, 测试生物活性次生代谢产物对家禽采食速率的影响, 结果如表 5 所示. 不同质量下次生代谢产物对家禽采食速率的影响详见图 2.

表 5 家禽采食速率均值

次生代谢产物质量/g	3 h 采食速率 /($\text{g} \cdot \text{h}^{-1}$)	8 h 采食速率 /($\text{g} \cdot \text{h}^{-1}$)	12 h 采食速率 /($\text{g} \cdot \text{h}^{-1}$)
5	9.89	8.94	10.42
10	11.22	10.13	10.06
15	18.62	16.15	14.01
20	13.41	12.55	11.07
25	20.31	21.42	22.03
50	50.16	49.94	52.33
55	38.74	46.33	37.52
60	44.31	41.17	42.03
65	39.46	39.58	42.06
70	40.14	39.86	37.34
75	42.26	43.10	45.34
80	42.19	41.32	43.07
90	39.52	40.13	41.02
100	37.46	45.37	44.58
110	40.27	41.01	39.87

从表 5 和图 2 可知, 在相同的次生代谢产物质量条件下, 分别对比家禽在 3 个时间段的采食速率, 当次生代谢产物质量为 50 g 时, 家禽在 3 个时段内的采食速率均值为 50.81 g/h; 而在 25, 75, 100 g 的质量条件下, 家禽在 3 个时段的采食速率均值分别是 21.25, 43.57, 42.47 g/h. 表明当生物活性次生代谢产物质量为 50 g 时, 家禽在 3 个时间段的采食速率均值均高出其他质量条件下的采食速率均值. 由此得出, 生物活性次生代谢产物质量为 50 g 时, 最适宜应用到家禽的饲料制作中.

3 讨论与结论

1) 由本试验结果可知, 生物活性次生代谢产物与家禽饲料之间存在直接关联. 当生物次生代谢

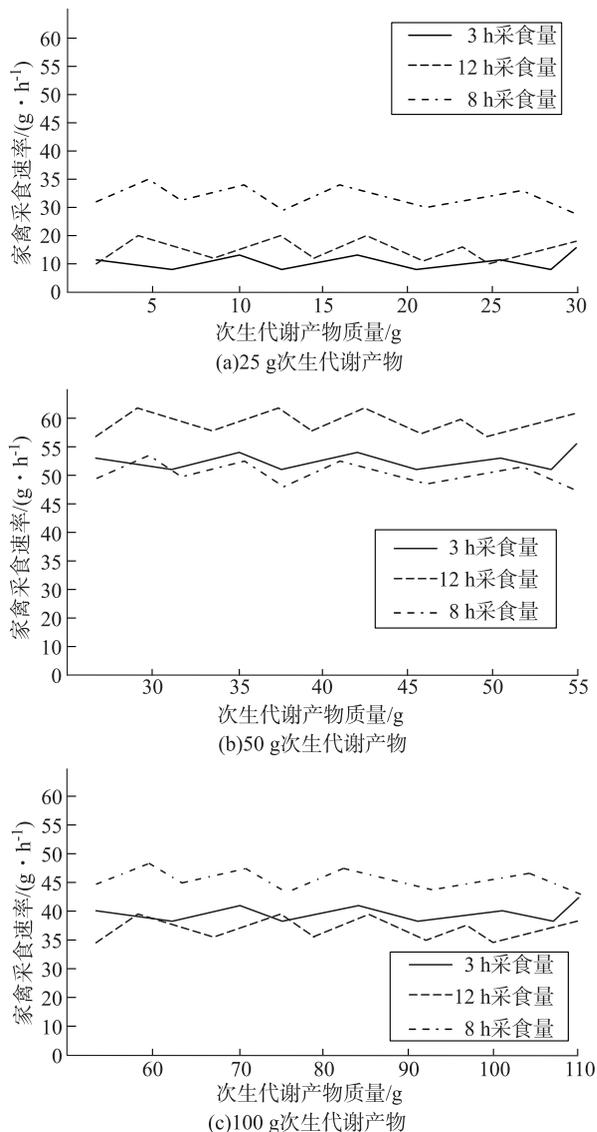


图2 不同质量下次生代谢产物对家禽采食速率的影响

产物质量为 25 g 时, 其 3 个时段采食速率均值为 21.25 g/h; 当生物次生代谢产物质量为 50 g 时, 其 3 个时段采食速率均值为 50.81 g/h; 当生物次生代谢产物质量为 100 g 时, 其 3 个时段采食速率均值为 42.47g/h. 由此可知, 当生物活性次生代谢产物质量为 50 g 时, 为制作家禽饲料的最佳应用方案.

2) 探讨生物活性次生代谢产物在家禽饲养中的应用, 不仅能提高家禽饲料的转化率, 还能缓解粮食供求紧张的局面. 除此之外, 加入生物活性代谢产物的家禽饲料具有更高的营养价值, 在一定程度上降低了饲养成本, 提高了经济效益, 有利于家禽饲养产业的发展. 并为改善家禽饲养的生物条件提供了多元化的技术手段, 具有较好的应用前景. 但由于研究条件有限, 对于生物活性次生代谢产物

在家禽饲养中的应用, 今后还需深入研究.

[参考文献]

- [1] 黄小建, 李跃龙, 戚南山, 等. 抗菌肽的生物学活性及其在畜禽生产中的作用 [J]. 动物医学进展, 2020, 41 (12): 115-119.
- [2] 王磊, 高琳, 侯慧文. 三七皂苷的生物活性及其在畜牧生产中的应用 [J]. 动物营养学报, 2020, 32 (12): 5540-5546.
- [3] 张安荣, 陈志敏, 常文环, 等. 菌糠发酵饲料及其在家禽中的应用 [J]. 中国饲料, 2020 (13): 101-104.
- [4] 尹梦洁, 汪水平, 郭乙冰, 等. 葡萄渣多酚的生物活性及其在动物生产中的应用 [J]. 中国畜牧杂志, 2020, 56 (6): 5-10.
- [5] 马尹鹏, 施寿荣. 牛磺酸的生物学功能及其在禽类生产中的应用概述 [J]. 家畜生态学报, 2019, 40 (11): 86-90.
- [6] 丁健. 纳米技术在家禽生产中的应用 [J]. 中国家禽, 2019, 41 (22): 73-75.
- [7] 安芳芳, 徐端红. 植物类化学物质对家禽氧化应激和免疫反应的潜在功能 [J]. 中国饲料, 2020 (2): 5-8.
- [8] 安济山, 胡睿智, 杨玲, 等. 凝结芽孢杆菌的生物学功能及其在畜禽生产中的应用 [J]. 动物营养学报, 2020, 32 (3): 1076-1083.
- [9] 蒋小碟, 谢谦, 宋泽和, 等. 发酵桑叶的营养价值及其在动物生产上的应用 [J]. 动物营养学报, 2020, 32 (1): 54-61.
- [10] 马渭青, 赵旦华, 杨季, 等. 天然多糖的生理活性及在家禽中的应用 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2019 (17): 38-40, 44.
- [11] 陈晓春, 王利琴, 齐慧, 等. 白藜芦醇作为饲料添加剂在家禽中的应用研究进展 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2019 (11): 35-38.
- [12] 杨灿, 唐小武, 欧慧敏, 等. 桑叶的营养价值及其在畜禽生产中的应用研究进展 [J]. 中国畜牧兽医, 2019, 46 (5): 1388-1396.
- [13] 占今舜, 钟小军, 杨群, 等. 芦丁的生物活性功能及其在反刍动物生产中的应用 [J]. 动物营养学报, 2019, 31 (7): 2952-2957.
- [14] 文伟, 陈凤鸣, 郭思杰, 等. 二甲基砷的生物学功能及其在畜禽生产中的应用前景 [J]. 动物营养学报, 2019, 31 (7): 3031-3038.
- [15] 李媛媛, 买梦奇, 胡小松, 等. 食品组学在生物活性化合物营养功能特性研究中的应用 [J]. 食品科学, 2020, 41 (3): 239-245.