

文章编号:1005-8737(2000)02-0106-04-

·研究简报·

植酸酶对异育银鲫生长及饲料中磷利用率的影响

Effects of microbial phytase on growth and utilization of phosphorus in *Carssiu auratus gibelio*

余丰年,王道尊

(上海水产大学 渔业学院,上海 200090)

YU Feng-nian, WANG Dao-zun

(Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China)

关键词:植酸酶;异育银鲫;生长;磷;消化率;豆粕

Key words: phytase; *Carssiu auratus gibelio*; growth; phosphorus; digestibility; soybean meal

中图分类号:S965.117.3

文献标识码:A

在植物性饲料中,磷主要以植酸及其盐的形式存在,而单胃动物缺乏分解植酸的植酸酶,故植酸磷基本上不能被单胃动物所利用^[1]。因此,必须在饲料中添加无机磷酸盐,这样不仅提高了饲料的成本,而且饲料中不能被利用的植酸磷排出体外,造成了环境的污染。大量的研究表明,在猪、鸡和小鼠植物性饲料中添加微生物植酸酶能提高这些动物对植酸磷的利用率,降低磷的排泄量。但是目前商品化生产的植酸酶最适活性pH值和温度范围与鱼体胃肠道内的pH值和温度范围不相接近,尤其是鲤科鱼类属无胃鱼类,无胃酸分泌,消化道中pH值为6.5~8.4^[2],而霉菌发酵生产的植酸酶在pH 2.5~5.5活性较强。因此国外从90年代开始研究植酸酶在鱼类上的应用。目前国内还未见到有关鱼用饲料中添加植酸酶的研究报道。本实验以应用较广的豆粕为主要植物性蛋白源,初步探讨植酸酶对异育银鲫(*Carssiu auratus gibelio*)生长以及饲料中磷利用率的影响,从而为植酸酶和无机磷酸盐在鱼用配合饲料中的合理添加提供科学的理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验用鱼和饲养管理

异育银鲫取自上海水产大学养殖试验场,尾均重(10.5±0.14)g,实验设备为120 cm×60 cm×70 cm的循环过滤水族箱。水温25℃,暂养7 d后,随机选取30尾鱼作为初始

样,同时挑选体质健壮、规格一致的350尾实验鱼,随机分成14组,分养于14个水族箱中,每箱25尾。每2箱鱼投喂1组饲料,每天投喂3次,投饲率为3.5%~5.0%,根据摄食情况作相应调整,以吃饱为标准。投食后3~4 h开始用虹吸法将粪便收集到筛网中,选择包膜完整的粪便放入称量瓶中干燥备用。每2 d排污1次,并换水1/3左右,饲养时间为1998年11月20日~1999年1月10日,为期49 d。

1.2 饲料饲料

1.2.1 原料:以豆粕、鱼粉、鱼油、α-淀粉、蛋氨酸、混合维生素、无机盐、磷酸二氢钙和不同水平的植酸酶为原料,并添加0.1%的Cr₂O₃作为指标物质,制成蛋白质含量31%左右的饲料。其中磷酸二氢钙设3个水平,分别为0%、0.9%和2.5%。根据中科院水生生物研究所“七五”攻关试验结果,2.5%磷酸二氢钙组(总有效磷含量约0.7%)能够满足异育银鲫对无机磷的需要量,可作对照组。具体配方见表1。其中,植酸酶为丹麦的诺和诺德公司和瑞士的罗氏公司联合生产的乐多仙牌植酸酶,单位2 500 U/g。

1.2.2 植酸酶的体外处理 (1)将植酸酶溶解到pH 5.5的柠檬酸盐缓冲液中。(2)将豆粕加入到上述溶液中,迅速升温并持续搅拌,使温度达到50~55℃。因此温度下持续5~6 h,使干物质的含量达到40%~50%。(3)将处理后的豆粕在室温下冷却,并在常温下于高压干燥器中干燥24 h,使水分含量达到10%。(4)将植酸酶处理后的豆粕加入到其余的饲料原料中,充分混合。未加酶组的豆粕也同样处理。

1.3 指标测定

用凯氏定氮法测定蛋白质含量,索氏乙醚抽提法测定脂肪含量,550℃灼烧法测定灰分含量,钼黄比色法测定总磷

收稿日期:1999-07-26

作者简介:余丰年(1975-),女,河南信阳人,上海水产大学硕士生,从事水产动物营养与饲料学研究。

含量,双吡啶法^[6]测定植酸磷含量,二苯基二氨基脲比色法 测定 Cr 含量。

表 1 实验饲料的配方与营养组成

Table 1 Formulation and nutrient composition of experimental diets							
成分 Composition	组别 Group						干重 Dry %
	P ₁ E ₀	P ₁ E ₁	P ₁ E ₂	P ₂ E ₀	P ₂ E ₁	P ₂ E ₂	对照组 Control
豆粕 Soybean	55	55	55	55	55	55	55
鱼粉 Fish meal	15	15	15	15	15	15	15
鱼油 Fish oil	5	5	5	5	5	5	5
α-淀粉 α-starch	18	18	18	18	18	18	18
蛋氨酸 Methionine	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
混合维生素* Vitamin mix	1	1	1	1	1	1	1
混合物无机盐** Mineral mix	2	2	2	2	2	2	2
磷酸二氢钙 MCP	-	-	-	0.9	0.9	0.9	2.5
微晶纤维素 Cellulose	3.4	3.4	3.4	2.5	2.5	2.5	0.9
三氧化二铬 Cr ₂ O ₃	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
植酸酶(U/kg)*** Phytase	-	500	1000	-	500	1000	-
蛋白质 Protein	30.78	30.89	30.80	30.79	30.87	30.79	30.79
脂肪 Lipid	4.49	4.61	4.59	4.42	4.58	4.65	4.59
灰分 Crude ash	15.16	15.28	15.18	15.75	15.78	15.70	16.05
总磷 Total phosphorus	0.92	0.93	0.93	1.11	1.12	1.13	1.51

* 维生素配方参照 Halver 配方^[3], 其中 V_A、V_D 参照美国 NRC 建议^[4]。Formulation of mix-vitamin refers to Halver's, but V_A and V_D refer to that of NRC.

** 无机盐混合物参照荻野珍吉配方^[5], 但去除其中所有的钙盐和磷酸盐, 用纤维素调节。Formulation of mix-mineral refers to that of Di Ye, but eliminate Ca²⁺ and PO₄³⁻, then adjust the mixture with fiber.

*** 1U 指在 37℃、pH 5.5 条件下, 1min 内从 0.0051 mol/L 的植酸钠溶液中释放出 1μmol 的无机磷所需要的酶量。One unit being defined as the release of 1 μmol P from 0.0051 mol/L Na-phytase within 1 min at pH 5.5 and 37℃.

1.4 数据分析

平均增重率 = (平均末重 - 平均初重) / 平均初重 × 100%

饲料效率 = (平均末重 - 平均初重) / 饲料投喂量

总磷的贮积率 = 总磷的贮积量 / 总磷的摄入量 × 100%

总磷的消化率 = [(1 - 饲料含 Cr 量 × 粪便含磷量) / (饲料含磷量 × 粪便含 Cr 量)] × 100%

所得数据均用方差分析进行显著性检验, 两两之间采用最小极差显著法比较。

2 结果与讨论

2.1 植酸酶的添加对饲料中的植酸磷含量的影响

表 2 结果表明, 植酸酶的添加显著降低了豆粕中植酸磷的含量, 添加 500 U/kg 的植酸酶可分解 60% 的植酸磷; 添加

1 000 U/kg 的植酸酶可分解 80% 的植酸磷。由此表明, 在异育银鲫的体外, 植酸酶已经在植酸酶的作用下发生了有效降解。Schaefer 等^[7]在研究植酸酶对鲤鱼饲料中磷利用率的影响时发现, 在鱼体外添加 500 U/kg 和 1 000 U/kg 的植酸酶可分别分解 20% 和 40% 的植酸磷。Kenneth 等^[8]在虹鳟饲料中添加植酸酶也得出相似的结论。

2.2 添加植酸酶对鱼体生长的影响

由表 3 可见, P₁E₁、P₁E₂ 组鱼体的平均增重率显著高于 P₁E₀ 组, 分别增长了 20% 和 25%, P₂E₁、P₂E₂ 两组的平均增重率也显著高于 P₂E₀ 组, 分别增长 10% 和 12%, 但 P₁E₁ 与 P₁E₂ 之间, P₂E₁ 与 P₂E₂ 之间均无显著差异。饲料效率与平均增重率呈现出同样的趋势。表明添加植酸酶促进了异育银鲫对饲料中营养物质的消化吸收, 这与 Schaefer 等^[7]对鲤鱼的研究结果一致。

表 2 饲料中植酸磷的含量

Table 2 Phytin contents in different groups of experimental diets							
组别 Group	P ₁ E ₀	P ₁ E ₁	P ₁ E ₂	P ₂ E ₀	P ₂ E ₁	P ₂ E ₂	对照组 Control
植酸磷 Phytin - p	2.92 ± 0.21 ^a	1.10 ± 0.14 ^b	0.56 ± 0.09 ^c	2.94 ± 0.25 ^a	1.11 ± 0.18 ^b	0.58 ± 0.12 ^c	2.95 ± 0.17 ^a

注: 同行不同字母表示差异显著, 后同。Values in the same line with different superscript are significantly different ($P < 0.05$), the same below.

表3 鱼体的平均增重率和饲料效率

Table 3 Average weight gain rate and feed efficiency of fish					$n=2$, 湿重 Wet
组别 Group	尾数 Fish number	初重/(g·尾 ⁻¹) Initial weight	末重/(g·尾 ⁻¹) Final weight	平均增重率/% Average weight gain rate	饲料效率/% Feed efficiency
P ₁ E ₀	50	10.58±0.14	15.72±0.16	48.58±0.65 ^c	0.43±0.01 ^c
P ₁ E ₁	50	10.34±0.12	16.38±0.11	58.41±0.73 ^b	0.53±0.02 ^b
P ₁ E ₂	50	10.72±0.09	17.21±0.16	60.54±0.81 ^b	0.55±0.02 ^b
P ₂ E ₀	50	10.46±0.13	16.89±0.13	61.47±0.76 ^b	0.56±0.03 ^b
P ₂ E ₁	50	10.40±0.11	17.49±0.16	68.17±0.91 ^a	0.63±0.03 ^a
P ₂ E ₂	50	10.38±0.11	17.51±0.12	68.69±1.02 ^a	0.64±0.04 ^a
对照组 Control	50	10.38±0.13	17.44±0.13	68.02±0.94 ^a	0.62±0.03 ^a

从体外植酸磷分解的情况来看, P₂E₁、P₂E₂ 组与 P₂E₀ 组相比, 有效磷含量尽管有所提高, 但仍低于对照组, 不能满足异育银鲫对无机磷的需要量。而表中的结果则表明, P₂E₁、P₂E₂ 两组的增重和饲料效率与对照组之间并没有显著差异。原因可能有两方面: (1) 植酸酶不仅在体外发生了反应, 而且在鱼体消化道内也发生了部分反应。关于植酸酶在鱼体内是否会发生反应, 目前还颇具争议, 也是导致植酸酶未能在水产饲料中应用的主要原因。许多学者认为鱼体内的生理环境不会使植酸酶分解, 原因是鱼类消化道内的 pH 高于植酸酶的最适活性 pH 5.5。但 Hoppe^[9] 在研究 pH 对植酸酶活性的影响时发现, 当 pH 为 6 时, 酶活还存 80%, 当 pH 达到 6.5 时, 酶活还存 40%。因此, Schaefer 等^[7] 认为, 在鲤鱼胃肠道内植酸发生了部分降解。本实验的分析结果也得出相同的判断。但植酸酶在鱼体内发生反应的程度和生理机制还有待于进一步探讨。(2) 植酸的抗营养作用不仅表现在降低动物对无机磷的利用上, 它还可以与多种金属离子相结合, 形成不溶性的植酸—金属离子复合物, 影响金属离子的消化吸收。另外, 植酸可与蛋白质、氨基酸及多种消化酶相结合, 从而降低蛋白质、脂肪和糖类等多种营养物质的生物效价^[10,11]。因此, 植酸酶的添加在降低饲料中植酸含量的同时也提高了多种营养物质的利用率, 从而使 P₂E₁、P₂E₂ 两组

的增重量与对照组无显著差异。Simons 等^[12] 在研究植酸酶对仔鸡生长的影响时也认为仔鸡的增重是植酸酶提高了无机磷、肌醇、金属离子以及淀粉的利用率的综合结果^[12]。吴建良等^[13] 发现, 有效磷水平 0.30%~0.40% 的玉米—豆粕型日粮中添加植酸酶未见改善肉鸡体增重和饲料利用率。而在有效磷 0.25%~0.35% 的玉米—糠麸—棉豆粕日粮中添加植酸酶对肉鸡生长性能则有提高趋势。本实验中向无磷酸二氢钙饲料组添加同等水平的植酸酶, 鱼体平均增重率和饲料效率的增长幅度明显高于 2.5% 磷酸二氢钙饲料组, 这说明饲料中较高的有效磷可能会限制植酸酶作用的发挥。

表4 鱼体蛋白质、脂肪及其总磷含量

Table 4 Protein, lipid and total phosphorus contents in fish				$n=2$, 湿重 Wet %
组别 Group	蛋白质 Protein	脂肪 Lipid	总磷 Total phosphorus	
P ₁ E ₀	13.35±0.10 ^b	5.18±0.04 ^a	0.46±0.02 ^c	
P ₁ E ₁	13.30±0.12	4.20±0.03 ^b	0.51±0.01 ^b	
P ₁ E ₂	13.45±0.13 ^b	3.99±0.03 ^b	0.52±0.01 ^b	
P ₂ E ₀	13.68±0.09 ^a	3.81±0.02 ^c	0.53±0.01 ^b	
P ₂ E ₁	13.89±0.06 ^a	3.23±0.04 ^d	0.55±0.01 ^a	
P ₂ E ₂	14.05±0.09 ^a	3.20±0.02 ^d	0.55±0.02 ^a	
对照组 Control	14.08±0.12 ^a	3.21±0.03 ^d	0.56±0.01 ^a	

表5 鱼体总磷的贮积率

Table 5 Total phosphorus retention rate of fish				$n=2$, 干重 Dry %
组别 Group	磷的摄入量/(g·尾 ⁻¹) P intake	磷的贮积量/(g·尾 ⁻¹) P retention	磷的贮积率/% P retention rate	总磷消化率/% Digestibility of total phosphorus
P ₁ E ₀	0.176±0.005	0.068±0.002 ^d	38.46±1.17 ^d	15.00±1.03 ^e
P ₁ E ₁	0.239±0.011	0.119±0.006 ^c	49.79±1.43 ^c	39.63±1.48 ^d
P ₁ E ₂	0.257±0.009	0.133±0.010 ^{cd}	51.75±1.11 ^c	48.24±1.31 ^b
P ₂ E ₀	0.252±0.010	0.135±0.008 ^b	53.57±1.38 ^{bc}	37.37±1.62 ^d
P ₂ E ₁	0.261±0.012	0.164±0.004 ^a	62.84±1.33 ^a	48.98±1.74 ^b
P ₂ E ₂	0.269±0.014	0.167±0.008 ^a	62.08±1.43 ^a	56.94±1.81 ^a
对照组 Control	0.315±0.011	0.176±0.000 6 ^a	55.87±1.13 ^b	42.94±1.07 ^c

2.3 添加植酸酶对鱼体生化组成的影响

从表4可以看出, 鱼体蛋白质随着植酸酶的添加而略有增加, 但与未加酶组之间无显著差异。但鱼体的总磷含量则

显示出随着植酸酶的添加而增加的趋势。鱼体的脂肪含量与总磷相反, 随植酸酶的添加而下降。这与 Schaefer 和 Koppe 对鲤的研究结果一致^[7]。Takeuchi 和 Nakazoe^[14] 也发

现投喂低磷饲料组的鲤体脂肪含量高于投喂高磷饲料的鲤,并认为当饲料中磷缺乏时,抑制了脂肪酸的 β -氧化过程,从而使鱼体的脂肪含量维持在较高水平。关于饲料中磷含量对鱼体脂肪含量的影响还值得进一步研究。

2.4 添加植酸酶对鱼体总磷贮积率和消化率的影响

表5的结果显示,鱼体总磷的贮积率和消化率均随植酸酶的添加而显著增加。进一步证实了添加植酸酶能够提高鱼体对磷的利用率。磷是造成淡水水体污染的主要因素之一。因此,通过在水产饲料中添加植酸酶进而减少水体污染应该成为今后进行 research 的一个方向。

参考文献:

- [1] Leslie A J. The ever-increasing role of biotechnology in the poultry industry, lessons from past and thoughts for the future[A]. Alltech's 10th Annual Asia-Pacific Lecture Tour [C]. Nicholasville, KY: Alltech Technical Publication, 1996. 65-84.
- [2] 曾虹. 植酸酶的研究进展及其在鱼饲料中的应用前景[J]. 上海水产大学学报, 1998, 7: 39-43.
- [3] Halver E. Fish Nutrition [M] (second edition). New York: Academic Press Inc, 1989.
- [4] NRC. Nutrient requirement of warm water fishes and shellfishes [C]. National Academy of Science. Washing DC: National Academy Press, 1983.
- [5] 荻野珍吉. 鱼类的营养与饲料[M]. 陈国铭, 等译. 北京: 海洋出版社, 1987. 325-326.
- [6] 堵西宁, 等. 饲用饼粕中植酸量的快速测定[J]. 饲料工业, 1997, 18(7): 42-43.
- [7] Schaefer A, Koppe W M. Effect of a microbial phytase on utilization of native phosphorus by carp in a diet based on soybean meal [J]. Water Science and Technology, 1995, 31: 149-155.
- [8] Kenneth Cain K D, Donald Garling D C. Pretreatment of soybean meal phytase for salmonid diets to reduce phosphorus concentrations in effluents[J]. Prog Fish Cult, 1995, 57: 114-119.
- [9] Hoppe P P. Überblick über die biologische wirkungen und die ökologische bedeutung der phytase beim schwein[A]. Ausföschung und Praxis 30, BASF AG [C]. Germany: Ludwigshafen Press, 1992. 3-15.
- [10] Knuckles B E, Kuzmicky D D, Berschat A A. Effect of phytase and partially hydrolyzed phytate on in vitro protein digestibility [J]. J Food Sci, 1985, 50: 1080-1086.
- [11] Knuckles B E, Berschat A A. Effect of phytase and other myo-inositol phosphate esters on α -amylase digestion of starch [J]. J Food Sci, 1987, 52: 719-722.
- [12] Simons, et al. Improvement of phosphorus availability by microbial phytase in broilers and pigs[J]. British Journal of Nutrition, 1990, 64: 525-540.
- [13] 吴建良, 楼洪兴, 等. 不同类型日粮中添加植酸酶对肉鸡生长性能和磷利用率的影响[A]. 饲料毒物与抗营养因子研究进展 [C]. 西安: 西北大学出版社, 1997. 198-201.
- [14] Takeuchi M, Nakazoe J. Effect of diet phosphorus on lipid content and composition in carp[J]. Bull Jap Soc Sci Fish, 1981, 47: 347-352.