



磺胺类衍生物对肉鸡盲肠 微生态环境的影响

杭柏林 李 杰 王丽荣 姚四新 王三虎
河南科技学院

中图分类号:S831.5 文献标识码:A 文章编号:1002-2813(2007)04-0011-02

磺胺类衍生物(C98)能有效促进肉鸡的生长代谢,促进肉中蛋白的沉积,有望成为新型的促生长调节剂。饲料中长期添加抗生素会对动物肠道微生态环境产生破坏作用而危害动物健康。试验初步探讨这种新型的促生长调节剂 C98 是否会对肉鸡的肠道微生态环境产生不利影响,为 C98 在生产实践中的科学应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物

20 只 AA 肉鸡饲养至 7 日龄时,10 只作为对照,10 只作为试验,试验鸡的日粮在对照日粮的基础上添加磺胺类衍生物(C98),每千克添加 16 mg。饲养至 35 日龄时结束试验。

1.2 测定指标与方法

1.2.1 盲肠内容物 pH 的测定

鸡正常屠宰后,立即用直插式 pH 计测定盲肠内容物的 pH。

1.2.2 盲肠微生物总脱氢酶活性、氨氮及微生物总蛋白的测定

无菌取鸡盲肠内容物,加厌氧稀释液,稀释比例为 1:10(g/mL),振荡混匀后经孔径为 100 目尼龙绢过滤,滤液供测定微生物的总脱氢酶活性(TDHA)、氨氮(NH₃-N)含量和微生物总蛋白(MCP)含量。

1.2.2.1 微生物总脱氢酶活性测定

取滤液 2 mL 置试管中,立即加入 0.2 mL 1.5% 氯化三苯基四氮唑(TTC)(对照管加入 0.2 mL 蒸馏水),通入 CO₂ 后在 39℃ 恒温振荡水浴锅中培养 10 min,取出后吸 1 mL 放入另一试管中,立即加入

50% 异丙醇 5 mL 终止反应,混合后以 4 000 r/min 离心 10 min,取上清液在 485 nm 处测定 OD 值。总脱氢酶活力单位(U):以 39℃,pH 6.8 的条件下,每分钟引起测定液在 485 nm 处 OD 值上升 0.1 为 1 个酶活力单位。

1.2.2.2 氨氮的测定

氨氮标准曲线的制备和样品的处理与测定按文献^[5,6]的方法进行,标准曲线: $y = 615.17x - 3.842$, $r = 0.9992$ 。将滤液于 4 000 r/min 离心 10 min 后,取上清液 0.05 mL 置于试管中,加入 4 mL 0.2 mol/L HCl,混匀后吸取 0.4 mL 置于另一试管中,依次加入 A 液和 B 液各 2 mL,混匀后静置 10 min,在 700 nm 处测定 OD 值。

1.2.2.3 微生物总蛋白的测定

考马斯亮蓝染色法测定总蛋白含量,标准曲线: $y = 128.39x + 1.1038$, $r = 0.9901$ 。滤液于 4 000 r/min 离心 10 min 后,弃上清液,用灭菌蒸馏水震荡洗涤沉淀,以 16 000 r/min 离心 20 min,弃上清液,加入 0.25 mol/L 的 NaOH 1 mL,沸水浴 10 min,然后以 16 000 r/min 离心 20 min,取上清液 0.05 mL 置于试管中,加入 0.05 mL 0.15 mol/L NaCl,混匀后加入考马斯亮蓝染色液 5 mL,混匀后静置 15 min,在 595 nm 处测定 OD 值。

1.2.3 盲肠内微生物计数

无菌取鸡盲肠内容物,加厌氧稀释液,稀释比例 1:10(g/mL),振荡混匀后吸取 1 mL 置灭菌试管中,加入 9 mL 厌氧稀释液,重复这一过程,稀释至 10⁻⁶,选择 10⁻⁴、10⁻⁵和 10⁻⁶ 3 个稀释度,用吸管滴 3 滴于平板上,放 37℃ 恒温箱培养。大肠杆菌用伊红美兰培养基培养 24 h,乳酸杆菌用 SL 培养基厌氧培

收稿日期:2007-01-10

养 48 h,双歧杆菌用 TPY 培养基厌氧培养 48 h。培养基均购自杭州微生物试剂有限公司。

1.3 数据处理

采用 SPSS10.0 统计软件,进行差异显著性检验,数据以平均值 ±标准误差表示。

2 结果与分析

2.1 G98 对肉鸡盲肠内容物 pH、TDHA、MCP 和 NH₃ - N 的影响

从表 1 可看出,16 mg/kg 饲料的 G98 对肉鸡盲肠内容物的 pH 没有显著影响,试验组比对照组降低 2.9 %;对微生物总脱氢酶活性有显著影响,试验组比对照组提高 45.5 % (*P* < 0.01);对氨氮含量没有显著影响,但试验组比对照组降低 18.94 %;对微生物总蛋白没有显著影响,但试验组比对照组提高 7.61 %。

2.2 G98 对肉鸡盲肠内微生物的影响

从表 2 可看出,在每千克饲料中添加 16 mg G98 对肉鸡盲肠微生物的数量不会产生显著的影响,但是与对照组相比,试验组鸡盲肠内大肠杆菌数降低 3.20 %,乳酸杆菌数增加 1.46 %,双歧杆菌数增加 1.48 %。

3 讨论

肠道 pH 是动物肠道环境中各种因素相互作用的结果。鸡盲肠微生物的主要活动是进行发酵。试验组 pH 略低于对照组,但没有显著差异,其对肉鸡的生长不会产生显著影响。从试验结果看,其降低的可能原因是氨氮降低或因乳酸杆菌与双歧杆菌数量增加产生的乳酸而导致的肠道微生态自我调节实现的。

微生物学中生物量是指一定生理时期某一生境中细胞总数和干质量 2 部分。细胞总数测定工作繁琐,结果受各种因素的影响。通过测定细胞物质含

量可反映细胞生长量。最可靠的方法是测定微生物细胞的蛋白质含量。这项试验用 MCP 含量表示生物量,试验组与对照组差异不显著,表明 G98 不会影响 MCP 的合成。氨的生成与微生物代谢有很大的关系。肠内高浓度的氨对鸡体有毒性作用,对微生物的活性也有显著的抑制作用。试验结果表明,日粮中添加 G98 对机体没有氨毒性作用。

用微生物的数量变化反映生物量的变化,说明微生物对底物及微生态环境有适应能力,因其操作简单,在应用中有一定意义。然而,微生物的数量在一定程度上并不能准确反映微生物的活性状况,而直接利用微生物活性指标反映微生物的代谢活性是非常必要的。微生物体内有各种各样的酶,其中参与生物氧化的重要酶有氧化酶和脱氢酶 2 大类,而以脱氢酶尤为重要。脱氢酶把环境中代谢产生的氢原子活化并传递给特定的受氢体,从而完成微生物的生物氧化过程中关键的一步。因此,脱氢酶活性可用来表示微生物的活性状况,反映微生物活动和能量利用情况,酶活性高说明微生物发酵时氢传递快,微生物活动能力强。这项试验测定了滤液中微生物的 TDHA。把 G98 添加到饲料中饲喂肉鸡,结果试验组的 TDHA 显著高于对照组,表明添加 G98 后,盲肠内微生物 TDHA 得到提高,微生物分解盲肠中的各种有机物的能力有了显著提高,为机体的生长发育提供了营养,促进肉鸡生长。

乳酸杆菌和双歧杆菌具有产生酸(特别是乳酸)、抑制其他细菌(如大肠杆菌和沙门菌等)、降低肠道中有害物质(如氨、H₂S 和吲哚等)及提供宿主营养等作用。这项研究结果表明,氨氮含量和大肠杆菌数量的降低是由于乳酸杆菌和双歧杆菌数量增加后造成的,但影响不显著。

表 1 G98 对肉鸡盲肠内容物 pH、TDHA、MCP 和 NH₃ - N 的影响

组别	pH	TDHA (U/ mL)	MCP(μg/L)	NH ₃ - N(μg/ g)
对照组	6.9 ±0.041	0.668 ±0.046	296.68 ±45.00	2.154 ±0.294
试验组	6.7 ±0.126	0.972 ±0.045 **	319.26 ±19.08	1.846 ±0.382

注: * 表示差异显著, ** 表示差异极显著, *** 表示差异极其显著

表 2 G98 对肉鸡盲肠内微生物(大肠杆菌、乳杆菌、双歧杆菌)的影响

组别	大肠杆菌(×10 ⁸)	乳酸杆菌(×10 ⁸)	双歧杆菌(×10 ⁹)
对照组	8.74 ±0.65	8.24 ±0.56	8.81 ±0.31
试验组	8.46 ±0.44	8.36 ±0.48	8.94 ±0.42

通讯地址:河南新乡市华兰大道东首 453003

