

烟酸锌在仔猪日粮中的应用效果 及其体外抑菌试验

谢勇平¹, 黄志坚², 李清禄^{1*}, 江茂生¹, 余增峰²

(1. 福建农林大学 生命科学学院, 福建 福州 350002; 2. 福建农林大学 福建省动物药物工程实验室, 福建 福州 350002)

摘要: 研究烟酸锌对仔猪生长性能、血液生化指标和粪铜排出量的影响。结果表明, 在猪饲料中添加烟酸锌具有明显提高饲料利用率、促进生长和降低腹泻率等作用; 同时, 与硫酸锌比较, 烟酸锌具有较高的生物利用率、无毒、污染低的特点。体外抑菌试验表明, 烟酸锌具有一定的抑菌活性, 且抑菌效果较硫酸锌更强。

关键词: 烟酸锌; 仔猪; 生长性能; 抑菌活性

中图分类号: S828.5 文献标志码: A 文章编号: 1000-2286(2012)01-0119-05

Application of Zinc Nicotinate in Piglet Diet and Its Antibacterial Activity

XIE Yong-ping¹, HUANG Zhi-jian², LI Qing-lu^{1*},
JIANG Mao-sheng¹, YU Zeng-feng²

(1. College of Life Sciences, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 2. Institute of Animal Science and Technology, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: The effect of zinc nicotinate on growth performance and blood physiological parameters and Zn level of feces in piglets were investigated. The results showed that zinc nicotinate used as a feed additive for piglet diet could obviously improve the feed and gain ratio, growth and decrease diarrhea rate. Compared with zinc sulfate zinc nicotinate had a higher bioavailability, lower pollution and no toxicity. The experimental result in antibacterial test indicated that zinc nicotinate had a certain antibacterial activity and the antibacterial effect was better than that of zinc sulfate.

Key words: zinc nicotinate; piglet; growth performance; antibacterial activity

锌被称为“生命元素”, 是所有动物必需的一种微量元素, 存在于机体所有的组织和器官中, 其中主要存在于骨骼、肌肉、肝脏和皮肤中。动物体内有 200 多种酶含有锌, 并有 300 多种酶的活性与锌有关, 锌参与动物体内蛋白质、DNA、RNA 及其他物质的合成与代谢^[1]。因此, 锌实际参与生命的全过程, 动物的生长、繁殖、食欲、免疫及激素激活都与锌有关。研究^[2-4]表明, 给断奶仔猪饲喂一定剂量锌, 可防治猪的不同角质化症, 提高仔猪生产性能, 增强机体抗氧化能力, 从而清除自由基增强机体免疫功能。同时由于锌能破坏细菌的 DNA 结构, 添加到饲料中, 可以部分替代抗生素的抗菌抑菌作用, 预防消化道疾病, 降低腹泻率^[5]。目前, 最常用的锌添加形式为无机锌(如硫酸锌等), 但仔猪对无机锌吸收利用相

收稿日期: 2011-06-30 修回日期: 2011-10-07

基金项目: 福建省科技厅重点项目资助(2009H0005)

作者简介: 谢勇平(1978—), 男, 讲师, 主要从事化学教学与研究工作, E-mail: cahxyp@126.com; * 通讯作者: 李清禄, 教授, 博士生导师, E-mail: xypnm@163.com。

对较低,为了满足生长需要,在饲料中往往添加量超大,经常使动物慢性中毒,还会干扰机体对其他元素的吸收,更严重的是残留在粪便中的大量重金属离子排放给环境造成土壤和水域严重污染^[6-7]。所以,国家无公害饲料添加剂标准中已对锌的使用作了限量。此外,微量元素离子能氧化和催化维生素分解,在饲料加工和储存过程中不能混合,增加了饲料成本,相应增加了养殖成本。所以寻找使用高效价、低残留新结构形式的锌源势在必行。研究^[8]表明,与无机锌相比,有机锌生物学活性高,能提高畜禽生长速度、改善饲料转化效率。同时研究^[9-10]还表明: Cr^{3+} 及 Cu^{2+} 与动物必需的 B 族维生素烟酸形成螯合物,可大幅度提高吸收利用率和各种生物学功能。我们的初步研究^[11]表明,将 Zn^{2+} 和烟酸螯合形成新型金属螯合物,具有较高的稳定性,可减少 Zn^{2+} 对维生素的催化分解。但是否可降低腹泻率、提高动物机体对锌的吸收利用率及提高生物活性,目前国内外尚未见对这方面的研究报道。本试验探讨在仔猪日粮中添加烟酸锌对猪的生长性能、血液生理生化指标及血清锌和粪便锌含量的影响,并研究了其体外抑菌活性,为寻找多功能、高生物活性、低毒和无环境污染的新型锌饲料添加剂应用研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

WFX-130A 型原子吸收分光光度计(北京瑞利分析仪器公司),FA1104 电子天平(上海精天电子仪器厂),XD811 型半自动生化分析仪(上海迅达医疗仪器有限公司),S-1300 型洁净工作台(苏州净化设备有限公司),BSP-250 生化培养箱(上海博讯实业有限公司医疗设备厂),NSKY-200B 恒温培养振荡器(上海苏坤实业有限公司)。

烟酸锌(福建省动物药物工程实验室合成), $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ (分析纯),碱性磷酸酶(AKP)、铜锌超氧化物歧化酶(Cu/Zn-SOD)、乳酸脱氢酶(LDH)、谷丙转氨酶(GPT)和谷草转氨酶(GOT)试剂盒由南京建成生物工程研究所提供。所有试验用水为超纯水。

1.2 动物实验

选用 42 头体质量为 30 kg 左右的“杜长大”三元杂交猪,随机分成 2 组,每组 21 头,每组设 3 个重复,每个重复 7 头猪,以硫酸锌日粮为对照组,烟酸锌日粮为试验组,两组的补锌量均为 120 mg/kg。预试期 7 d,试验期为 30 d,采用自动饮水,自由采食。饲养试验开始和结束时仔猪空腹称量活重,记录采食量,计算日增重、日采食量和料重比;每日观察仔猪的腹泻情况并作记录,计算腹泻率;饲养试验 30 d 于前腔采血样,采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒在 XD811 型半自动生化分析仪上测定 AKP、LDH、ALT、AST 和 Cu/Zn-SOD 活性,采用原子吸收光谱法测定血清中锌含量;分别在试验的中期(15 d)和试验结束日(30 d)收集各组猪粪便,采用原子吸收光谱法测定其锌含量。试验数据以平均值 ± 标准差表示,进行单因素多重复实验方差分析,所有数据用 SPSS10.0 统计软件进行分析。饲料配方及营养水平见表 1。

表 1 基础日粮的组成及营养水平

Tab. 1 Composition of the basal diet and nutrition level

日粮组成 Composition of diet		营养水平 Nutrition level	
玉米/% Corn	65	消化能/(MJ · kg ⁻¹) DE	13.10
豆粉/% Soybean meal	26	粗蛋白/% CP	18.50
鱼粉/% Fish meal	1.5	赖氨酸/% Lys	1.10
鱼油/% Fish oil	1.5	蛋氨酸/% Met	0.61
酵母/% Saccharomyces	2	钙/% Ca	0.90
预混料/% Premix	4	磷/% P	0.60

每 kg 基础日粮中含 18 000 IU V_A 、4 000 IU V_D 、50 mg V_E 、34 mg V_K 、14 mg V_{B1} 、10 mg V_{B2} 、4 mg V_{B6} 、0.03 mg V_{B12} 、60 mg 烟酸、30 mg 泛酸、0.16 mg 生物素、500 mg 胆碱、140 mg Fe、150 mg Cu、1.0 mg I、0.5 mg Se、1.0 mg Co、50 mg Mn。

1.3 抑菌活性试验

1.3.1 菌悬液的制备 细菌菌株采用金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、铜绿假单胞菌(*Bacillus aeruginosus*)和嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*),

试菌经斜面培养基活化,接入液体培养基,于37℃摇床培养8h后稀释备用。

1.3.2 药敏纸片制备 将6号新华滤纸经打孔器打成其直径为6mm的圆形滤纸片,高压蒸汽灭菌30min后,用无菌镊子夹取灭菌的滤纸片,分别浸入浓度为4mmol/L的硫酸锌和烟酸锌水溶液中30min后取出备用。

1.3.3 抑菌圈大小的测定 利用滤纸片法,将已灭菌过的牛肉膏琼脂培养基倒入无菌培养皿中,水平放置待凝固。用无菌吸管吸取0.2mL菌悬液加入到凝固的培养基上,用无菌三角涂棒涂布均匀。用无菌镊子将制备好的滤纸片置于含菌平板上。最后放于37℃培养箱中,24h后取出测量抑菌环直径。平行测定3次。

1.3.4 最小抑菌浓度(MIC)的测定 将烟酸锌和硫酸锌溶液按二倍稀释法与液体培养基混匀成各种浓度。方法:取6支试管各加入2mL液体培养基,再加入烟酸锌或硫酸锌溶液原液2mL于第1支试管中,混匀后取出2mL加入第2管中,然后依次取出2mL移入下一管,到第6管时弃去2mL,最后在这6管中分别加入0.1mL培养好的菌液。另取6支试管不加菌作为空白对照。37℃恒温培养24h,观察记录澄清不长细菌的最高稀释度就是最小抑菌浓度。平行测定3次。

2 结果与分析

2.1 烟酸锌对仔猪生长性能的效应

在试验期内,相对于硫酸锌,烟酸锌可以提高仔猪的生长性能,如表2所示,试验组日增重比对照组提高了12.64%,差异显著($P < 0.05$),日采食量提高了6.85%,料重比也降低了4.85%,说明在猪饲料中添加烟酸锌比添加无机锌更能促进猪的生长,加强了营养物质的吸收和消化,提高饲料利用率;试验组的腹泻率明显比对照组降低($P < 0.05$),表明相对于无机锌,烟酸锌对猪腹泻有较好的控制作用。

表2 不同锌源对仔猪生产性能及腹泻率的影响

Tab.2 Effects of different zinc sources on performance and diarrhoea rate of piglets ($n = 21$)

组别 Group	始质量/kg Initial weight	末质量/kg Final weight	ADG/kg	ADFI/kg	料重比 Feed-weight ratio	腹泻率/% Diarrhea rate
对照组 Control	29.38 ± 1.65	49.95 ± 2.06	641 ± 0.09	1.46 ± 0.15	2.27 ± 0.03	1.95 ± 0.29
试验组 Trial	28.61 ± 1.80	50.86 ± 5.42	722 ± 0.17	1.56 ± 0.14	2.16 ± 0.04	0.86 ± 0.28

2.2 烟酸锌对仔猪血液生理生化指标的效应

由表3可知,与对照组相比,试验组的ALT和AST酶活无显著变化,AKP活性比对照组提高了7.07%,LDH活性提高了5.15%,Cu/Zn-SOD活性提高了22.62% ($P < 0.05$),

表3 同锌源对仔猪血清部分生理生化指标的影响

Tab.3 Effects of different zinc sources on some blood physiological and biochemical parameters of piglets

($n = 21$, U/mL)

组别 Group	ALT	AST	AKP	LDH	Cu/Zn-SOD
对照组 Control	30.21 ± 2.12	59.91 ± 3.23	25.45 ± 4.12	453.25 ± 32.22	22.33 ± 2.21
试验组 Trial	30.93 ± 2.43	61.45 ± 4.52	27.25 ± 8.33	476.58 ± 24.53	27.38 ± 3.57

2.3 烟酸锌对仔猪血清锌和粪便锌的影响

由表4可知,试验组的血清锌浓度比对照组提高了30.61% ($P < 0.05$),在试验中期和末期,试验组粪便锌的含量比对照组分别降低了33.02% ($P < 0.05$)和34.11% ($P < 0.05$)。

表4 不同锌源对仔猪血清锌、粪便锌的影响

Tab.4 Effects of different zinc sources on Zn level in serum and Zn level in feces of piglets ($n = 21$)

组别 Group	血清锌 Zn level in serum	粪便锌 Zn level in faeces	
		15 d	30 d
对照组 Control	12.65 ± 3.65	764.25 ± 42.26	795.81 ± 47.56
试验组 Trial	18.10 ± 1.26	511.86 ± 43.57	524.34 ± 37.69

2.4 烟酸锌和硫酸锌的抑菌圈大小

表 5 烟酸锌和硫酸锌的抑菌圈直径

Tab. 5 The inhibition diameters of Zn(C₆H₄NO₂)₂ and ZnSO₄ · 7H₂O

mm

化合物 Compound	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	铜绿假单胞菌 <i>Bacillus aeruginosus</i>	嗜水气单胞菌 <i>Aeromonas hydrophila</i>
Zn(C ₆ H ₄ NO ₂) ₂	12.5	25	11.5	11.5	12
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	9.5	11.5	8.5	10	10.5

烟酸锌和硫酸锌的抑菌圈大小如表 5 所示。在锌含量相同的情况下,烟酸锌对供试菌种的抑菌圈大小大于硫酸锌,尤其对枯草芽孢杆菌,烟酸锌的抑菌圈远远大于硫酸锌,达到 25 mm。

2.5 烟酸锌和硫酸锌的最小抑菌浓度(MIC)

表 6 烟酸锌和硫酸锌的最小抑菌浓度

Tab. 6 MIC of Zn(C₆H₄NO₂)₂ and ZnSO₄ · 7H₂O

mmol/L

化合物 Compound	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	铜绿假单胞菌 <i>Bacillus aeruginosus</i>	嗜水气单胞菌 <i>Aeromonas hydrophila</i>
Zn(C ₆ H ₄ NO ₂) ₂	1	0.5	1	1	1
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	1	1	1	1	1

烟酸锌和硫酸锌的 MIC 如表 6 所示。烟酸锌对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、铜绿假单胞菌和嗜水气单胞菌的 MIC 和硫酸锌相等,对枯草芽孢杆菌的 MIC,烟酸锌小于硫酸锌。

3 讨 论

3.1 烟酸锌对仔猪生长性能的影响

饲料中添加锌可以明显提高猪的生长性能,主要由于锌可增强味蕾对味觉的敏感性,提高食欲,产生促进采食的效果,从而促进猪生长。大量研究证实微量元素形态是影响其吸收的重要因素,动物更容易吸收以螯合形态存在的微量元素。烟酸锌由烟酸和锌螯合制备而成,是一种以螯合态存在的锌源。本试验发现,试验组的日增重显著高于对照组,这可能是由于螯合态锌在动物体内更容易被吸收,也可能由于烟酸锌本身就更易被吸收,对其具体促生长机制有待进一步研究。

Katouli 等^[12]报道,猪腹泻常与肠道微生态区系失衡,病原性大肠杆菌暴发有关。试验发现,烟酸锌组的腹泻率低于硫酸锌组,可能由于烟酸锌的杀菌作用较强或可改善肠道微生态区系平衡,进而降低腹泻率,其机理有待进一步研究。

3.2 烟酸锌对猪血液生理生化指标的影响

猪血清中谷丙转氨酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)的活性可以反映肝脏和心脏的功能,当这些组织受到损害的时候,它们就会透过细胞膜进入血液,使得血液中的 ALT 和 AST 明显升高。本试验发现,与硫酸锌组相比,烟酸锌组的 ALT 和 AST 酶活无显著变化,提示猪的肝脏和心脏功能正常,说明烟酸锌可以作为饲料添加锌源,对猪无毒害作用。

碱性磷酸酶(AKP)主要来自肝脏和骨骼中,而在骨骼中 AKP 主要存在于成骨细胞中,它能促使骨骼比率上升,从而促进钙、磷在骨骼中的沉积^[13]。而锌是合成 AKP 必需的金属离子,与该酶活性成正相关,通过测定血清中 AKP 活性可在一定程度上判断机体对锌的利用情况。试验组的 AKP 活性高于对照组,表明烟酸锌更容易被机体利用。

乳酸脱氢酶(LDH)是糖代谢中重要的酶,它不仅影响体内的糖代谢,也影响过氧化物酶、氨基酸等的代谢,而锌是 LDH 活性中心的激活因子,血清中 LDH 活性能较好地反映体内锌状况。试验发现,烟酸锌组的 LDH 活性高于硫酸锌组,表明烟酸锌更有利于 LDH 活性,更能促进各种非必需氨基酸的生成和氨基酸的相互平衡,有利于蛋白质的合成。

Cu/Zn-SOD 是消除自由基的重要物质,而锌是 Cu/Zn-SOD 的辅助因子,添加不同形式的锌均可有

效提高 Cu/Zn-SOD 活性。烟酸锌组的 Cu/Zn-SOD 活性显著高于硫酸锌组,表明相比于无机锌(硫酸锌)烟酸锌能更有效增强清除体内自由基的能力,增强机体抗氧化系统的功能,减弱组织器官的细胞老化^[14]。

3.3 烟酸锌对猪血清锌和粪便锌的影响

猪主要通过吸收和排泄来调节体内锌含量的稳定。在动物肠道黏膜细胞中,锌的吸收受到金属硫蛋白(Metallothionein, MT)的调节。在肠道内 MT 与肠细胞内锌结合配体相竞争,调控跨基膜转运入循环系统中锌的数量。锌转运到血液中,沉积于肝脏,在那里 MT 得以储存和释放,进而转运至其他组织器官,过量 Zn-MT 复合物不被吸收,在小肠上皮细胞内脱落,随粪便排出体外。所以血清和粪便锌浓度可以反映锌的生物利用率。相对于硫酸锌,烟酸锌的血清锌浓度显著提高,粪便锌浓度显著降低,说明烟酸锌的生物利用率比硫酸锌高,更有利于提高含锌酶的活性,提高动物生长速度,这与烟酸锌组的 AKP、LDH 和 Cu/Zn-SOD 活性比硫酸锌组高、生长性能比组好的实验结论是相符合的。另一方面,相对于无机锌,烟酸锌减少了向环境排放锌的数量,降低了对环境的污染。推测可能是烟酸锌受到配位体的保护,不易受到胃肠道内不利于金属元素的物理化学因素的影响^[15]。

3.4 烟酸锌的抑菌活性

结合烟酸锌和硫酸锌的抑菌圈大小及最小抑菌浓度(MIC),烟酸锌具有一定的抑菌活性,并且大于硫酸锌,特别是对于枯草芽孢杆菌,烟酸锌的抑菌效果明显优于硫酸锌,说明在饲料中添加烟酸锌,更有利于防治腹泻、预防消化道疾病,这与动物实验烟酸锌组比硫酸锌组的腹泻率低的结论是一致的。表明烟酸锌不仅具有生物利用率高、提供双重营养,减少拮抗等作用,添加至饲料中还可减少抗生素的用量,其应用前景广阔。

参考文献:

- [1]Vallee B L, Falchuk K H. The biochemical basis of zinc physiology [J]. *Physiological Reviews*, 1993, 73(1): 79-118.
- [2]Tucker H F, Salmon W D. Parakeratosis or zinc deficiency disease in the Pig [J]. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1995, 88: 613-616.
- [3]Joseph D H, David H B. Growth and plasma zinc responses of young pigs fed pharmacologic levels of zinc [J]. *J Anim Sci*, 1993, 71: 3020-3024.
- [4]Gavino F, Valeir M N, Alberto R. Zinc in gastrointestinal and liver disease [J]. *Coordination Chemistry Reviews*, 2008, 252(10/11): 1257-1269.
- [5]龚毅, 胡晓波, 彭丽霞. 锌氨基酸螯合物的抑菌活性研究 [J]. *食品科学*, 2009, 30(17): 84-87.
- [6]Poulsen H D, Larsen T. Zinc excretion and retention in growing pigs fed increasing levels of zinc oxide [J]. *Livestock Production Science*, 1995, 43: 235-242.
- [7]Poulsen H D. Zinc and copper as feed additives, growth factors or unwanted environmental factors [J]. *Journal of Animal Feed Science*, 1998, 7: 135-142.
- [8]Shesll T C, Komegay E T, Apgar G A. Zinc concentration in tissues and performance of weanling pigs fed pharmacological levels of zinc from ZnO, Zn-methionine, Zn-llysine or ZnSO₄ [J]. *Journal of Animal Science*, 1996, 74(7): 1584-1593.
- [9]陈强, 李清禄, 兰国政. 烟酸铬(Ⅲ)的配位结构与生物活性关系 [J]. *结构化学*, 2003, 22(3): 346-350.
- [10]Chen Q, Li Q L, Huang Z J. Relationship between coordination structure and biological activity of copper(Ⅱ) nicotinate [J]. *Chinese J Struct Chem*, 2006, 25(9): 1141-1147.
- [11]李清禄, 陈强, 王寿昆. 烟酸铜、烟酸锌对 V_A、V_{B2}、V_{B6} 稳定性的影响 [J]. *福建农林大学学报: 自然科学版*, 2007, 36(1): 88-90.
- [12]Katouli M, Melin L, Jensen. The effect of zinc oxide supplementation on the stability of the intestinal flora with special reference to composition of coliforms in weaned pigs [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 1999, 87: 564-573.
- [13]Ooi G T, Tawadres N, Escalona R M. Pituitary cell lines and their endocrine applications [J]. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2004, 228(1/2): 1-21.
- [14]杨保收, 陈越, 金久善. 锌与自由基 [J]. *中国兽医杂志*, 1999, 25(11): 42-44.
- [15]Dardene M. Zinc and immune function [J]. *European Journal of Clinical Nutrition*, 2002, 56(3): 20-23.