三颗针提取物对仔猪生长及肠道菌群和挥发性脂肪酸的影响

王志祥¹, 王自恒², 刘 岭¹, 张子牛¹

(1 河南农业大学 牧医工程学院, 河南 郑州 450002;

2 西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘要] 【目的】探讨饲料中添加中草药三颗针提取物对断奶仔猪生长发育的影响。【方法】将 64 头三元杂交断奶仔猪(杜×长×大)随机分为 2 组, 每组 4 个重复, 每重复 8 头猪, 分别饲喂含 100 mg/kg 土霉素和 500 mg/kg 三颗针提取物的饲料, 研究三颗针提取物对仔猪生长、肠道 pH、肠道菌群和肠道挥发性脂肪酸的作用效果。【结果】与添加土霉素相比, 三颗针提取物能显著提高仔猪日增重($P < 0.05$)、降低仔猪料重比($P < 0.05$)和腹泻率($P < 0.05$), 显著增加空肠、回肠和结肠中的乳酸杆菌数量($P < 0.05$), 降低空肠、回肠、盲肠中的大肠杆菌和回肠中的总需氧菌数量($P < 0.05$), 显著增加仔猪空肠乙酸和总挥发性脂肪酸的含量, 显著增加结肠乙酸、丙酸、丁酸、戊酸及总挥发性脂肪酸的含量($P < 0.05$), 具有降低仔猪不同肠段 pH 的趋势($P > 0.05$)。【结论】断奶仔猪日粮中添加三颗针提取物, 可以达到甚至超过添加土霉素的促生长效果, 能够抑制肠道有害菌的生长, 促进有益菌生长并提高仔猪肠道总挥发性脂肪酸的含量, 改善仔猪肠道内环境。

[关键词] 仔猪; 三颗针提取物; 肠道菌群; 挥发性脂肪酸

[中图分类号] S816.73; S828.5

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2008)06-0034-05

Effects of radix berberidis extract on performance, intestinal bacteria and volatile acids of piglets

WANG Zhi-xiang¹, WANG Zi-heng², LIU Ling¹, ZHANG Zi-niu¹

(1 College of Animal Husbandry and Veterinary, Henan Agricultural University, Zhengzhou, Henan 450002, China;

2 College of Animal Science and Technology, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】The trial was used to study the effects of adding radix berberidis abstract in piglets' diet. 【Method】Sixty-four piglets(Duroc×Landrace×Youkshire) were divided into two groups. Each group had four repeats of eight piglets per repeat. One group was provided basic diet with 100 mg/kg oxytetracycline and another with 500 mg/kg radix berberidis extract. The effects on performance, intestinal pH, intestinal bacteria and volatile acids of piglets were studied. 【Result】The results showed that adding extract of radix berberidis could increase the ADG($P < 0.05$) and decrease feed/gain ratio($P < 0.05$) comparing with adding oxytetracycline. The extract could increase the population of *Lactobacilli* in jejunum, ileum, and colon, the contents of acetate and total VFA in jejunum and each VFA in colon($P < 0.05$). It could decrease the population of *Colibacillus* in jejunum, ileum, and cecum($P < 0.05$), total aerobic organisms in ileum($P < 0.05$) and pH in each part($P > 0.05$). 【Conclusion】The results indicated that the radix berberidis extract could promote the performance of piglets better than oxytetracycline as feed additive.

* [收稿日期] 2007-07-19

[基金项目] 河南省科技成果转化基金项目(072201120002)

[作者简介] 王志祥(1965-), 男, 河南潢川人, 教授, 博士, 主要从事动物营养与饲料科学研究。E-mail: wzxhau@yahoo.com.cn

The extract could regulate the pH and bacteria population in digestive tract, promoting the growth of benefit bacteria and inhibiting the harmful bacteria.

Key words: piglet; radix berberidis extract; intestinal bacterium; volatile acid

抗生素作为饲料添加剂对畜牧业生产作出了巨大的贡献,但长期在饲料中添加抗生素造成病原微生物的抗药性问题及其在环境和畜产品中的残留问题越来越引起了人们的重视,寻找代替抗生素的安全饲料添加剂,已成为当前饲料研究的重要方向之一。中草药添加剂以其天然性、无耐药性及多功能性,已成为目前研究开发的热点。

三颗针为小檗科(Berberidaceae)小檗属(Beris)植物的俗称,本属在我国有 200 多种,全国大部分地区都有分布。三颗针的主要活性成分小檗碱、小檗胺、巴马汀等生物碱是传统的抗菌药物,其粗制剂具有抗菌、抗炎、降血压、抗氧化、抗癌等作用^[1]。有研究表明,小檗碱能通过抗菌、抗真菌和原虫、抗炎、抗分泌和抑制肠运动等途径治疗腹泻^[2];小檗胺具有促进白细胞增生、抗炎、抗结核、抗肿瘤、降血压、抗心肌缺血、抗心律失常等作用^[3];三颗针的其他活性成分巴马亭、药根碱、尖刺碱、黄树皮碱、加伦碱等均具有抗菌、降压、消炎等作用^[4]。目前,对其活性成分作用效果的研究多集中在鼠和人方面,以畜禽为对象将三颗针作为饲料添加剂的研究还少见报

道。刘岭等^[5]研究表明,断奶仔猪日粮中添加三颗针提取物,有利于改善仔猪生产性能和饲料养分的表观消化率,提高机体代谢和抗应激能力。本试验采用三颗针活性成分提取物代替抗生素作为饲料添加剂,进一步研究了三颗针提取物对断奶仔猪生长、肠道菌群及挥发性脂肪酸的影响,以期为开发利用三颗针作为饲料添加剂提供技术依据。

1 材料与方法

1.1 三颗针提取物的制备

选用三颗针的根,洗净、晾干、粉碎,加水 3 次煎煮,煎煮液浓缩、干燥后,经高压液相色谱法测定,证明提取物中小檗碱含量为 198 g/kg。

1.2 试验设计

将 64 头 35 日龄健康三元杂交(杜×长×大)断奶仔猪按质量随机分为 2 组,每组 4 个重复,每重复 8 头猪,公母各半。对照组(CK)饲喂基础日粮+100 mg/kg 土霉素,试验组(EG)饲喂基础日粮+500 mg/kg 三颗针提取物,饲养试验共进行 6 周,基础饲粮配方见表 1。

表 1 基础饲粮配方及营养水平

Table 1 Composition and nutrient level of basic diet

饲粮成分 Ingredient	含量/(g·kg ⁻¹) Content	营养成分 Chemical composition	营养水平 Nutrient level
玉米 Corn	620.0	消化能/(MJ·kg ⁻¹) DE	13.40
豆粕 Soybean meal	310.0	粗蛋白/(g·kg ⁻¹) CP	190.5
麸皮 Wheat bran	30.0	钙/(g·kg ⁻¹) Ca	8.1
磷酸氢钙 CaHPO ₄	17.0	有效磷/(g·kg ⁻¹) AP	4.8
石粉 Limestone	10.0	赖氨酸(g·kg ⁻¹) Lys	11.0
盐 NaCl	3.0		
预混料 Premix	10.0		

注:预混料向每千克全价料中提供:维生素 A 5 500 IU,维生素 D₃ 500 IU,维生素 E 66.1 IU,维生素 B₁₂ 28.2 μg,维生素 B₂ 1 mg,维生素 B₃ 12.6 mg,维生素 B₅ 29.8 mg,核黄素 5.1 mg,泛酸 12.6 mg,烟酸 29.8 mg,胆碱 540 mg,Mn 40 mg,Zn 120 mg,Fe 130 mg,Cu 150 mg,Co 1 mg,Se 0.25 mg。

Note: Per Kg feedstuff include in premix: VA 5 500 IU,VD₃ 500 IU,VE 66.1 IU,VB₁₂ 28.2 μg,VB₂ 1 mg,VB₃ 12.6 mg,VB₅ 29.8 mg,Choline 540 mg,Mn 40 mg,Zn 120 mg,Fe 130 mg,Cu 150 mg,Co 1 mg,Se 0.25 mg.

1.3 样品制备

饲养试验结束后,每处理选择 4 头质量相近的仔猪(每重复 1 头)进行屠宰,无菌取空肠、回肠、盲肠和结肠食糜,立即送到实验室进行微生物测定。同时另取 1 份胃、十二指肠、空肠、回肠、盲肠和结肠食糜放入液氮中送回实验室,于-80℃冰箱中保存待测。

1.4 指标测定

测定初始与试验结束时每重复猪的质量,记录每天每重复仔猪腹泻头数,计算各组平均日增重、平均日采食量、料重比和腹泻率。

无菌操作下,称取仔猪肠道食糜 1 g 放入装有 9 mL 无菌生理盐水的三角瓶中,在微量振荡器上振荡 20 min。另取灭菌试管 8 支,每支试管均盛有

菌生理盐水 4.5 mL,取上述三角瓶中的样品溶液 0.5 mL 于第 2 支试管中,依此类推做递进稀释至 10^{-9} g/mL。用微量取样器吸取 20 μ L 稀释液样品,分别在距各选择性平板培养基表面 5 cm 高度处滴下,1 个平板(培养 1 种细菌)滴 3 个稀释度,然后用曲玻棒推匀。根据培养对象的不同,稀释度选择也不同。乳酸杆菌按 $10^{-6} \sim 10^{-8}$ 倍稀释,大肠杆菌按 $10^{-4} \sim 10^{-6}$ 倍稀释,需氧菌和厌氧菌均按 $10^{-8} \sim 10^{-9}$ 倍稀释。

大肠杆菌用麦康凯琼脂培养基培养,乳酸杆菌用 RogosaSL 琼脂培养,总需氧菌和总厌氧菌用营养琼脂培养。大肠杆菌与需氧菌在 37 $^{\circ}$ C 恒温培养箱中培养 24 h,乳酸杆菌与厌氧菌采用二氧化碳培养法^[6],37 $^{\circ}$ C 培养 48 h。细菌数量采用平板菌落计数法统计,选取菌落数为 10~100 个的稀释度作为菌落总数测定标准,以每克肠道内容物中细菌数(P)的对数($\lg P$)表示。

取出冷冻食糜在 4 $^{\circ}$ C 冰箱中解冻后,用酸度计(HI1384 membrane pH meter)测定不同肠段食糜

的 pH。分别取不同肠段解冻食糜 5 g 左右,加 0.4 mol/L KCl 10 mL,冰水浴匀浆 2 min,4 $^{\circ}$ C 13 000 r/min 离心 15 min,取上清液 5 mL 加 1 mL 25% 的偏磷酸溶液,混匀,冰浴 30 min 后取出,立即于 10 000 r/min 离心 10 min,分取上清液,用气相色谱仪测定乙酸、丙酸、丁酸、戊酸及总挥发性脂肪酸的含量。

1.5 数据处理

试验数据以“平均值 $\pm$ 标准差”表示,采用 SAS (6.12)统计软件对各数据进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 三颗针提取物对仔猪生长性能及腹泻率的影响

由表 2 可知,试验组仔猪日增重($P < 0.05$)显著高于对照组,两组间仔猪采食量无显著差异($P > 0.05$);而试验组仔猪的料重比和腹泻率($P < 0.05$)均显著低于对照组。

表 2 三颗针提取物对仔猪生产性能和腹泻率的影响

Table 2 Effects of additions of radix berberidis abstract on growth performance and scouring rate of piglets

处理 Treatment	初重/kg Begin weight	末重/kg End weight	日增重/g ADG	日均采食量/g ADFI	料重比 Feed/Gain	腹泻率/% Scouring rate
对照组 CK	15.60 $\pm$ 0.31 a	30.70 $\pm$ 1.14 a	349.46 $\pm$ 9.29 a	823.62 $\pm$ 59.37 a	2.33 $\pm$ 0.27 a	5.78 $\pm$ 1.28 a
试验组 EG	15.50 $\pm$ 0.30 a	32.46 $\pm$ 1.56 b	396.22 $\pm$ 6.99 b	806.00 $\pm$ 56.60 a	1.89 $\pm$ 0.09 b	2.99 $\pm$ 0.87 b

注:同列数据后标不同字母者表示差异显著($P < 0.05$),下表同。

Note: Data in the same column with different letter were significantly different($P < 0.05$). The following tables are the same.

2.2 三颗针提取物对仔猪不同肠段食糜 pH 的影响

由表 3 可知,试验组仔猪各段肠道食糜的 pH

与对照组均无显著差异($P > 0.05$)。但与对照组相比,试验组各段肠道食糜 pH 均有下降趋势。

表 3 三颗针提取物对仔猪肠道食糜 pH 的影响

Table 3 Effects of additions of radix berberidis abstract on pH value of chyme of piglets

处理 Treatment	胃 Stomack	十二指肠 Duodenum	空肠 Jejunum	回肠 Ileum	盲肠 Caecum	结肠 Colon
对照组 CK	2.61 $\pm$ 0.52 a	6.25 $\pm$ 0.94 a	6.14 $\pm$ 1.08 a	5.97 $\pm$ 0.61 a	5.59 $\pm$ 0.17 a	5.95 $\pm$ 0.21 a
试验组 EG	2.44 $\pm$ 0.38 a	5.63 $\pm$ 0.05 a	5.67 $\pm$ 0.68 a	5.77 $\pm$ 0.67 a	5.51 $\pm$ 0.14 a	5.94 $\pm$ 0.29 a

2.3 三颗针提取物对仔猪不同肠段食糜中微生物数量的影响

由表 4 可知,与对照组相比,试验组仔猪空肠、回肠和盲肠中的大肠杆菌数量($P < 0.05$)及回肠中的总需氧菌数量($P < 0.05$)均显著降低,空肠、回肠和结肠中的乳酸杆菌数量($P < 0.05$)显著增加;其他肠段及其不同微生物的数量在两组间没有显著差异($P > 0.05$),但表现出试验组盲肠中的乳酸杆菌数量和盲肠、结肠中的总厌氧菌数量高于对照组,试验组结肠中的大肠杆菌数量和空肠、盲肠、结肠中的

总需氧菌数量低于对照组的趋势。

2.4 三颗针提取物对仔猪不同肠段食糜挥发性脂肪酸含量的影响

由表 5 可以看出,除空肠中的丙酸和戊酸未检出外,与对照组相比,试验组仔猪空肠的乙酸、总挥发性脂肪酸含量和结肠的乙酸、丙酸、丁酸、戊酸及总挥发性脂肪酸含量均显著增加($P < 0.05$),其他肠段乙酸、丙酸、丁酸、戊酸及总挥发性脂肪酸含量在两组之间差异不显著($P > 0.05$),但均表现出试验组大于对照组的趋势。

表 4 三颗针提取物对仔猪不同肠段食糜中微生物含量的影响

Table 4 Effects of radix berberidis abstract on bacterial populations in different intestinal tracts' chimes of piglets lg P

测定项目 Item	处理 Treatment	空肠 Jejunum	回肠 Ileum	盲肠 Caecum	结肠 Colon
大肠杆菌 <i>Colibacillus</i>	对照组 CK	6.60±0.42 a	7.64±0.15 a	9.96±0.15 a	9.94±0.30 a
	试验组 EG	5.61±0.12 b	7.01±0.03 b	7.52±1.41 b	9.19±0.54 a
乳酸杆菌 <i>Lactobacilli</i>	对照组 CK	5.50±0.20 a	6.98±0.19 a	8.70±1.05 a	8.03±0.60 a
	试验组 EG	6.31±0.32 b	8.09±0.17 b	10.10±0.67 a	10.34±0.57 b
总需氧菌 Total aerobic organisms	对照组 CK	7.09±0.63 a	8.92±0.29 a	11.67±1.15 a	12.10±0.95 a
	试验组 EG	6.14±0.05 a	7.53±0.43 b	9.23±1.57 a	11.49±0.76 a
总厌氧菌 Total anaerobe organisms	对照组 CK	7.51±0.70 a	8.61±0.87 a	10.16±0.09 a	11.36±0.58 a
	试验组 EG	7.34±0.93 a	7.69±0.42 a	10.81±0.67 a	11.67±0.85 a

表 5 三颗针提取物对仔猪不同肠段食糜中挥发性脂肪酸含量的影响

Table 5 Effects of radix berberidis abstract on VFA concentrates In different intestinal tracts' chymes of piglets mg/kg

测定项目 Item	处理 Treatment	空肠 Jejunum	回肠 Ileum	盲肠 Caecum	结肠 Colon
乙酸 Acetic acid	对照组 CK	151.62±6.12 a	261.08±9.02 a	2 333.37±82.49 a	1 565.01±36.96 a
	试验组 EG	207.17±11.80 b	264.31±10.01 a	2 275.45±76.23 a	1 767.27±36.33 b
丙酸 Propionic acid	对照组 CK	未检出 Negative	125.59±1.56 a	1 465.13±68.25 a	1 678.20±24.03 a
	试验组 EG	未检出 Negative	126.54±2.55 a	1 549.97±30.79 a	2 168.35±63.76 b
丁酸 Butyric acid	对照组 CK	33.34±3.30 a	53.93±1.74 a	876.48±28.73 a	1 210.88±104.96 a
	试验组 EG	39.70±2.50 a	56.71±2.04 a	870.00±14.93 a	1 632.37±111.74 b
戊酸 Pentanoic acid	对照组 CK	未检出 Negative	18.46±0.37 a	247.14±8.60 a	474.45±5.63 a
	试验组 EG	未检出 Negative	19.06±0.40 a	256.92±24.83 a	506.06±11.03 b
总挥发性脂肪酸 Total VFA	对照组 CK	184.96±6.66 a	459.06±9.53 a	4 922.12±137.86 a	4 928.54±129.93 a
	试验组 EG	246.87±11.59 b	466.61±10.70 a	4 952.33±97.31 a	6 074.05±149.30 b

3 讨论与结论

三颗针提取物中含有以小檗碱为主的多种活性成分,小檗碱具有抗腹泻、抗炎、调整肠道菌群和抑制肠道运动等作用^[1]。动物试验表明,小檗碱可直接抑制霍乱杆菌和大肠杆菌产生的内毒素所引起的腹泻^[7];小檗碱对多种革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌均有抑制作用,特别是对引起杆菌性痢疾的一些致肠病大肠杆菌和志贺氏菌的抑制作用较强^[8],但对肠道中乳酸杆菌等常驻菌的抑制作用较弱^[9];小檗碱能抑制肠道的运动,增加食糜在肠道内的消化时间^[10]。本试验结果表明,断奶仔猪日粮中添加三颗针提取物能够减少仔猪腹泻,提高仔猪生长性能,达到甚至超过添加土霉素的促生长效果。

消化道的酸度受断奶应激、肠道微生物和仔猪日粮等多种因素的影响。仔猪消化道内的酸度是维持消化酶分泌和活性的主要因素,也是消化道中微生物生存的重要环境因素。仔猪消化道酸度能反馈抑制胃的收缩运动,增加食糜在胃内的消化时间,刺激消化器官的发育,促进消化腺的分泌^[11]。Burns^[12]和 Kashiwagura 等^[13]报道,肠粘膜细胞中

蛋白质、DNA 的合成和酶促反应都与肠道 pH 有关,较低的 pH 有利于肠粘膜保持完整的形态结构并促进粘膜细胞的增殖。本试验结果表明,与添加土霉素相比,添加三颗针提取物具有提高仔猪消化道酸度的趋势,这可能与三颗针活性成分能够改善仔猪消化道菌群有关,也与三颗针提取物能提高仔猪生长性能和降低仔猪腹泻率的结果相一致。

动物肠道微生物是肠道微生态环境的重要组成部分,动物健康时肠道正常微生物占优势,对动物的消化吸收、免疫和健康具有重要作用。据报道,肠道正常菌能抑制病原微生物在肠道内的定殖^[14],促进动物对营养物质的消化吸收^[15];同时,动物肠道内正常菌的屏障作用是动物非特异性免疫应答的一个极为重要的方面^[16],其能增强肠道粘膜的免疫能力,促进动物免疫器官的生长发育,激活免疫因子,提高抗体水平^[17]。对中草药的研究表明,一些中草药具有抑制动物肠道病原菌和促进有益菌生长的作用^[18]。三颗针的主要活性成分小檗碱、小檗胺等生物碱均有抗菌作用,其中小檗碱不但具有较广的抗菌谱,而且不会使细菌产生耐药性,并能消除细菌的耐药性^[8,19]。但是,小檗碱对肠道常驻菌的抑制作

用较弱,其中对有害肠菌(如产气荚膜梭菌、类腐败梭菌)的抑制作用强于有益菌^[2]。本研究结果表明,三颗针提取物能显著降低仔猪肠道中的大肠杆菌数量,增加乳酸杆菌的数量;具有降低不同肠段总需氧菌的趋势,但对总厌氧菌的影响在不同肠段表现不同。说明三颗针提取物能够调整仔猪肠道菌群,抑制有害菌的生长,促进有益菌的生长,添加三颗针提取物后仔猪不同肠段的 pH 升高,可能与三颗针提取物增加了肠道中乳酸杆菌的数量有关。

单胃动物肠道中的挥发性脂肪酸,具有为动物提供能量、抵御病原微生物和维持动物肠道健康等作用^[20]。本研究表明,与土霉素相比,添加三颗针提取物提高了仔猪空肠、回肠、盲肠和结肠中的挥发性脂肪酸含量,说明三颗针改善了仔猪肠道微生物的代谢,促进了肠道中挥发性脂肪酸的产生,因此有利于提高仔猪的健康水平,促进仔猪的生长。动物肠道挥发性脂肪酸主要来源于厌氧菌对碳水化合物和未消化蛋白质的发酵^[21]。苏文金^[22]的研究也表明,厌氧菌是动物肠道挥发性脂肪酸的主要产生菌。在本试验中,结肠和盲肠中总挥发性脂肪酸含量的提高,与其乳酸杆菌和总厌氧菌数量的提高相一致;而空肠和回肠总挥发性脂肪酸的提高,与乳酸杆菌数量的提高一致,与总厌氧菌数量提高不一致。该结果似乎说明,三颗针提取物通过提高仔猪肠道中的乳酸杆菌数量来改善消化道 pH,进而提高消化道挥发性脂肪酸含量,促进仔猪的健康生长。

[参考文献]

[1] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上海:上海科学技术出版社, 2004:33.
Jiangsu New Medicine College. Chinese Medicine Big Dictionary [M]. Shanghai:Shanghai Science and Technology Publishing House, 2004:33. (in Chinese)

[2] 张明发,沈雅琴. 非处方药小檗碱抗腹泻作用的再评价 [J]. 中国医院用药评价与分析, 2003, 3(3): 148-153.
Zhang M F, Shen Y Q. Re-evaluation of the effect of non-prescription drug berberine on Antidiarrhea [J]. Evaluation and Analysis of Drug-use in Hospitals of China, 2003, 3(3): 148-153. (in Chinese)

[3] 刘国声. 细叶小檗的综合利用——小檗胺的药用价值及其在 22 种小檗属植物中的含量 [J]. 植物学报, 1987, 29(9): 36-38.
Liu G S. The multiple usage of thin leaf berberidis-the medical value of berbamin and the contents in twenty two kinds of berberidis plants [J]. Acta Botanica Sinica, 1987, 29(9): 36-38. (in Chinese)

[4] 王朝碧,魏俊莲,张凤兰,等. 贵州三颗针的分布与应用 [J]. 贵阳中医学院学报, 2000, 22(3): 59-61.

Wang C B, Wei J L, Zhang F L, et al. The distribution and use of radix berberidis in Guizhou [J]. Journal of Guiyang College of Tradition Chinese Medicine, 2000, 22(3): 59-61. (in Chinese)

[5] 刘岭,王志祥,刘建华,等. 三颗针提取物对断奶仔猪生长、养分表现代谢率和血清指标的影响 [J]. 饲料研究, 2006(6): 20-23.
Liu L, Wang Z X, Liu J H, et al. Effects of berberis abstract on growth, apparent digestibility of nutrients and serum indexes of weaned piglets [J]. Feed Study, 2006(6): 20-23. (in Chinese)

[6] 欧守杼. 畜牧微生物学 [M]. 北京:中国农业出版社, 2000: 164.
Ou S Z. Animal Husbandry Microbiology [M]. Beijing: China Agriculture Publishing House, 2000: 164. (in Chinese)

[7] 王小逸,史亦丽,曾衍钧. 小檗碱的研究进展 [J]. 中国新药杂志, 2003, 12(7): 523-525.
Wang X Y, Shi Y L, Zeng Y J. The advance in research of berberine [J]. Chinese Journal of New Drugs, 2003, 12(7): 523-525. (in Chinese)

[8] Pepeljnjak S, Petricic J. The antimicrobial effect of berberine and tinctura berberidis [J]. Pharmazie, 1992, 47(4): 307-311.

[9] Chae S H, Jeong I H, Cera K R, et al. Growth-inhibiting effects of coptis japonica root-derived isoquinoline alkaloids on human intestinal bacteria [J]. J Agric food Chem, 1999, 47: 934-937.

[10] 庄萍,陈日兰,梁剑勤,等. 黄连素对消化功能的药效研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 2003, 10(7): 28-29.
Zhang P, Chen R L, Liang J Q, et al. Studies on medicinal effects of rhizome coptidis on digestive function [J]. Chinese Journal of Information on Tradition Chinese Medicine, 2003, 10(7): 28-29. (in Chinese)

[11] 张宏福,杨富林. 断奶仔猪消化道酸度及其调控研究进展 [J]. 中国畜牧杂志, 2002, 38(3): 51-52.
Zhang H F, Yang F L. Advanced research of acidity and it's control in digestive tract of piglets [J]. Chinese Journal of Animal Science, 2002, 38(3): 51-52. (in Chinese)

[12] Burns C P. Extracellular Na⁺ and initiation of DNA synthesis: Role of intracellular pH and K⁺ [J]. Cell Biol, 1984, 98: 1082-1089.

[13] Kashiwagura T, Deutsch C T, Taylor J, et al. Dependence of gluconeogenesis, urea synthesis, and energy metabolism of hepatocytes on intracellular pH [J]. J Biol Chem, 1984, 259: 237-243.

[14] Annuk H, Shchepetova J, Kullisaar E, et al. Characterization of intestinal lactobacilli as putative probiotic candidates [J]. J Appl Microbiol, 2003, 94(3): 403-412.

[15] Kamao M, Tsugawa N, Nakagawa K. Absorption of calcium, magnesium, phosphorus, iron and zinc in growing male rats fed diets containing either phytate-free soybean protein or soybean protein isolate or casein [J]. J Nutr Sci vitaminol, 2000, 46(1): 34-41.

[16] Vollaard E J, Clasener H A. Colonization resistance [J]. Antimicrob Agents Chemother, 1994, 38: 409-411.