

不同日龄小尾寒羊和滩羊小肠 pH 及其 主要消化酶活性的变化

陈 鼎,张 宁,陈泽光,宦霞娟,周 颖,陈玉林

(西北农林科技大学 动物科技学院,陕西 杨凌 712100)

【摘 要】 【目的】研究断奶后不同日龄绵羊(小尾寒羊和滩羊羔羊)小肠 pH 及其主要消化酶活性的变化规律,为酶制剂和代乳料研制提供依据。【方法】选用健康无病的小尾寒羊和滩羊各 36 只,在相同条件下饲养,45 日龄断奶,分别于 80,120,160 和 200 日龄屠宰取样,测定十二指肠、空肠和回肠内容物的 pH 值及其主要消化酶活性。【结果】绵羊小肠内容物 pH 值随日龄增长缓慢上升,从偏酸性转变为中性;小尾寒羊和滩羊小肠内容物 pH 值差异极显著($P<0.05$);十二指肠、空肠和回肠 3 部位内容物 pH 值间分别存在极显著差异($P<0.01$)。随着日龄增长,绵羊小肠内容物中乳糖酶活性逐渐降低($P<0.01$),并存在品种($P<0.05$)和部位($P<0.01$)间的差异。绵羊小肠内容物中淀粉酶活性随日龄增长逐渐上升($P<0.01$),没有表现出品种之间的差异,但部位间差异极显著($P<0.01$)。【结论】绵羊内容物中淀粉酶、乳糖酶活性随日龄变化而变化,但 pH 值较稳定;小肠内容物中 pH 值和乳糖酶在品种间存在显著差异($P<0.01$);十二指肠、空肠和回肠内容物中 pH 值、乳糖酶和淀粉酶活性在部位间存在极显著差异($P<0.01$)。

【关键词】 小尾寒羊;滩羊;pH 值;消化酶

【中图分类号】 S826.81

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2009)03-0020-05

Study on pH, digestive enzymes activities between Small-tailed Han sheep and Tan sheep at different days old

CHEN Ding,ZHANG Ning,CHEN Ze-guang,HUAN Xia-juan,ZHOU Ying,CHEN Yu-lin

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

Abstract: 【Objective】 The research studied lactase,amylase activities and pH between small-tailed Han sheep and Tan sheep at different ages to provide theoretical basis for developing milk replacer and enzyme preparation. 【Method】 72 healthy sheep in two breeds,Small-tailed Han sheep and Tan sheep were selected in the same condition. They were weaned at 45 days old,and then slaughtered at 80,120,160 and 200 days old for samples. The digesta pH,activities of lactase and amylase in the different segments of the small intestine (duodenum,jejunum, ileum) were measured. 【Result】 The results indicated that the pH value in small intestine content slowly increased with the growth,but not significant,from the acid to neutral. There were differences between two breeds ($P<0.05$). The pH of the duodenum,jejunum,ileum digesta was significantly different($P<0.01$). These data of lactase in the intestinal digesta decreased with the growth and the two breeds had remarkable differences($P<0.05$). The three parts of intestines exhibited significant differences($P<0.01$). The activities of amylase in the small intestine increased,and no difference was found between the two breeds. But the different segments of the small intestine showed signifi-

* [收稿日期] 2008-05-16

[基金项目] 农业部结构调整重大技术研究专项项目(05-07-03B)

[作者简介] 陈 鼎(1982—),女,浙江绍兴人,在读硕士,主要从事动物营养与饲料科学研究。

[通信作者] 陈玉林(1964—),男,河南鄢陵人,教授,博士生导师,主要从事动物遗传育种及饲料资源开发与应用研究。

E-mail:myxy11@263.net

cant differences ($P<0.01$).【Conclusion】The activities of lactase and amylase changed with the growth, but the pH value was stable. The pH value and lactase activities were remarkly different between two breeds($P<0.01$). The pH value,lactase activities and amylase activities in the duodenum,jejunum,ileum digesta were significantly different($P<0.01$).

Key words: Small-tailed Han sheep;Tan sheep;pH;digestive enzyme

羔羊出生后,随日龄增加,饲料由母乳转为固体日粮,消化道内环境也随之发生巨大变化。动物食入的饲料是靠消化酶来消化的,内源酶分泌不足或消化腺功能障碍,均会影响饲料的消化,降低动物的生产性能。小肠对营养物质的消化吸收起着十分重要的作用,是营养物质消化吸收的主要场所,饲料在小肠中消化率的高低主要受消化酶活性的影响。张英杰等^[1]对 0~6 月龄小尾寒羊羔羊消化道 pH 值和主要消化酶活性进行了系统研究,但是有关小尾寒羊和滩羊断奶后至周岁前 pH 值和主要消化酶活性的变化尚未见报道。为此,本试验对小尾寒羊和滩羊羔羊断奶后 80,120,160,200 日龄的小肠内容物 pH 及其主要消化酶活性变化规律进行了研究,以期为进一步研究酶制剂和代乳料提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物和日粮

选用健康无病的小尾寒羊和滩羊羔羊各 36 只,按常规饲养法饲养,45 日龄断奶。日粮组成见表 1。

1.2 试验设计

供试羔羊按品种分为 2 组,分别于 80,120,160 和 200 日龄时,各组均取体质量相近的 9 只羔羊饲

喂 2 h 后屠宰^[2-3],宰前称体质量。按文献[4]所述,分别结扎小肠各部位后取内容物,用 4 层纱布过滤,滤液装入塑料袋中,迅速放入超低温冰箱中速冻,以备分析酶活性用。

1.3 小肠内容物样品的处理

从冰箱中取出冷冻小肠内容物解冻,称取约 1~2 g,按每克加 2~4 mL 的比例加入 4 ℃的 0.4 mol/L 氯化钾溶液后匀浆 10 s,匀浆玻璃管外设冰浴。匀浆液在 4 ℃下 15 000 g 离心 15 min,取上清液,置于一 32 ℃保存,测定小肠内容物中的淀粉酶和乳糖酶活性。

1.4 测定指标及其方法

小肠内容物 pH 值于绵羊屠宰后直接用 PHS-2 计测定,乳糖酶活性采用 Amano 法改进型^[5]测定,淀粉酶活性用南京建成生物工程研究所的试剂盒配合 Evolution 300BB 紫外分光光度计测定。

1.5 数据统计分析

用 SAS8.2 软件包(SAS for Windows,Release 8.2)中的平衡实验设计过程(ANOVA)进行方差分析,采用 Duncan 法进行均值的多重比较,结果以“平均数±标准差”表示。

表 1 供试绵羊日粮组成及营养水平(风干基础)

Table 1 Composition and nutrient level of diet (air-dry basis) for experimental sheep

原料 Ingredient	含量/(g·kg ⁻¹) Composition	营养成分 Nutrient content	营养水平 Nutrient level
苜蓿干草 Alfalfa hay	650.0	干物质/(g·kg ⁻¹) DM	889.8
苹果渣 Apple pomace	10.0	粗蛋白/(g·kg ⁻¹) CP	135.0
玉米 Corn	175.0	粗纤维/(g·kg ⁻¹) CF	223.7
麸皮 Wheat bran	37.5	中性洗涤纤维/(g·kg ⁻¹) NDF	432.3
豆粕 Soybean meal	40.0	酸性洗涤纤维/(g·kg ⁻¹) ADF	311.5
棉粕 Cotton seed meal	20.0	消化能/(MJ·kg ⁻¹) DE	10.6
次粉 Wheat middling	35.0	钙/(g·kg ⁻¹) Ca	10.8
石粉 Calcium carbonate	9.0	磷/(g·kg ⁻¹) P	4.0
食盐 Salt	2.0		
酵母粉 Yeast powder	15.0		
磷酸氢钙 CaHPO ₄	1.5		
预混剂 * Premix material	5.0		

注: * 含石粉 900 g/kg, 锌 3.5 g/kg, 铁 3.0 g/kg, 锰 2.0 g/kg, 铜 0.10 g/kg, 碘 0.10 g/kg, 钴 0.10 g/kg, 硒 0.10 g/kg, 维生素 A 6 000 IU/g, 维生素 D 1 500 IU/g, 维生素 E 1.0 IU/g。
Note: * Contained 900 g/kg limestone, 3.5 g/kg Zn, 3.0 g/kg Fe, 2.0 g/kg Mn, 1.0 g/kg Cu, 0.10 g/kg I, 0.10 g/kg Co, 0.10 g/kg Se, 6 000 IU/g V_A, 1 500 IU/g V_D, and 1.0 IU/g V_E.

2 结果与分析

2.1 小尾寒羊和滩羊小肠不同部位 pH 值的变化

由表 2 可知,绵羊小肠内容物 pH 值随日龄增加逐渐上升,从偏酸性转变为中性;80,120 和 160 日龄的 pH 值分别为 6.48,6.55 和 6.85,200 日龄

时达到 7.00;小尾寒羊和滩羊小肠内容物 pH 值差异显著($P<0.05$),滩羊小肠内容物中的 pH 值比小尾寒羊的高 0.43;十二指肠、空肠和回肠 3 部位内容物 pH 值差异极显著($P<0.01$),其中十二指肠的 pH 值约为 5.80,偏酸性,空肠和回肠内容物中的 pH 值分别为 7.15 和 7.45,偏碱性。

表 2 不同日龄小尾寒羊和滩羊小肠内容物 pH、乳糖酶、淀粉酶活性的变化

Table 2 The regulation of the pH, activities of lactase and amylase between Small-tailed Han sheep and Tan sheep of different day ages

日龄/d Day	品种 Breed	部位 Segment	淀粉酶/(U·mL ⁻¹) Amylase	乳糖酶(U·g ⁻¹) Lactase	pH
80	小尾寒羊 Small-tailed Han sheep	十二指肠 Duodenum	18.78±3.25	0.35±0.08	5.22±0.83
		空肠 Jejunum	17.08±3.22	0.28±0.08	6.80±0.56
		回肠 Ileum	10.71±3.52	2.10±0.22	7.03±0.58
	滩羊 Tan sheep	十二指肠 Duodenum	24.35±3.12	0.29±0.05	5.99±0.33
		空肠 Jejunum	13.69±1.87	0.31±0.01	7.04±0.33
		回肠 Ileum	10.87±1.54	0.31±0.05	7.27±0.10
120	小尾寒羊 Small-tailed Han sheep	十二指肠 Duodenum	21.24±3.03	0.23±0.07	5.47±0.44
		空肠 Jejunum	31.74±5.37	0.23±0.09	7.12±0.23
		回肠 Ileum	11.27±2.26	0.33±0.19	7.15±0.26
	滩羊 Tan sheep	十二指肠 Duodenum	41.53±6.09	0.27±0.10	6.02±0.48
		空肠 Jejunum	17.89±4.99	0.26±0.08	7.16±0.31
		回肠 Ileum	11.53±2.87	0.27±0.02	7.29±0.09
160	小尾寒羊 Small-tailed Han sheep	十二指肠 Duodenum	40.56±12.77	0.18±0.08	5.68±0.50
		空肠 Jejunum	34.64±6.66	0.16±0.03	7.19±0.41
		回肠 Ileum	17.17±3.64	0.22±0.07	7.41±0.55
	滩羊 Tan sheep	十二指肠 Duodenum	51.72±11.68	0.22±0.08	6.02±0.74
		空肠 Jejunum	40.63±9.18	0.22±0.06	7.31±0.19
		回肠 Ileum	20.62±0.09	0.20±0.01	7.44±0.37
200	小尾寒羊 Small-tailed Han Sheep	十二指肠 Duodenum	54.98±6.70	0.16±0.02	5.98±0.20
		空肠 Jejunum	49.72±7.32	0.16±0.03	7.27±0.17
		回肠 Ileum	28.81±2.42	0.13±0.02	7.74±0.48
	滩羊 Tan Sheep	十二指肠 Duodenum	52.50±8.71	0.10±0.02	6.31±0.36
		空肠 Jejunum	43.06±9.50	0.09±0.02	7.35±0.24
		回肠 Ileum	26.94±6.88	0.19±0.07	7.78±0.18
标准误 SEM			1.64	0.04	0.17
主要效应 Main effect					
80			16.29 ^B	0.48 ^A	6.48
120			23.15 ^B	0.26 ^B	6.55
160			35.75 ^A	0.20 ^B	6.85
200			43.47 ^A	0.13 ^C	7.00
	小尾寒羊 Small-tailed Han sheep		29.37	0.35 ^m	6.54 ⁿ
	滩羊 Tan sheep		31.18	0.21 ⁿ	6.97 ^m
		十二指肠 Duodenum	38.78 ^X	0.23 ^Y	5.80 ^X
		空肠 Jejunum	30.38 ^Y	0.19 ^Z	7.15 ^Y
		回肠 Ileum	18.14 ^Z	0.49 ^X	7.45 ^Z

注:同一列数据后肩标不同小写字母者表示差异显著($P<0.05$),标不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$);A、B、C 表示日龄间的差异显著性,m、n 表示品种间的差异显著性,X、Y、Z 表示部位间的差异显著性。

Note: Data in the same column with different lowercase indicate significant differences ($P<0.05$), the data of different parts of small intestine in a column with different capital letters indicate significant differences ($P<0.01$); The character of A,B and C represent the significance among days; The character of m and n represent the significance between the breeds; The character of X,Y and Z represent the significance among the segments.

2.2 小尾寒羊和滩羊小肠不同部位乳糖酶活性的变化

由表 2 可知,随着日龄的增加,绵羊小肠内容物

中乳糖酶活性逐渐降低($P<0.01$),200 日龄时约为 0.13 U/g,活性几乎检测不到;小尾寒羊和滩羊小肠内容物中乳糖酶活性差异显著($P<0.05$),其中

小尾寒羊高于滩羊;十二指肠、空肠和回肠内容物中乳糖酶活性差异极显著($P<0.01$),乳糖酶在回肠段表现活跃,随后依次是十二指肠和空肠。

2.3 小尾寒羊和滩羊小肠不同部位淀粉酶活性的变化

表2表明,随着日龄的增加,绵羊小肠内容物中淀粉酶活性逐渐上升,80和120日龄与160和200日龄的差异极显著($P<0.01$),80,120,160和200日龄时小肠内容物中淀粉酶活性分别约为16.29,23.15,35.75和43.47 U/mL,200日龄比80日龄增加了约2倍。小尾寒羊和滩羊小肠内容物中淀粉酶活性没有显著差异,但滩羊比小尾寒羊高了1.81 U/mL。十二指肠、空肠和回肠内容物中淀粉酶活性差异极显著($P<0.01$),其中十二指肠淀粉酶活性最高,达到38.78 U/mL。品种与日龄间、日龄与部位间以及品种与部位之间有交互作用($P<0.05$),品种、日龄和部位三者间亦有交互作用($P=0.0707$)。

3 讨论

3.1 绵羊小肠不同部位 pH 值的变化

本研究结果表明,日龄对小尾寒羊和滩羊小肠 pH 值的影响不大,这与孙洪新^[6]的研究结果相同。小肠内环境具有一定的缓冲能力,这也是肠道能够保持相对稳定的生理状态的基础。同时,随着日龄的增加,绵羊消化系统逐渐成熟,消化腺分泌稳定。滩羊 pH 值比小尾寒羊高,可能是由于滩羊复胃发育程度相对比寒羊缓慢,其中皱胃的发育速度决定胃酸的分泌强度。本研究中,绵羊空肠、回肠内容物呈中偏碱性(pH 为 7.15~7.45),而十二指肠内容物呈偏酸性(pH 值为 5.8)。徐明^[2]研究发现,小肠食糜 pH 不受玉米粒度的影响($P>0.05$),且各处理组中食糜 pH 均随小肠向后延伸呈先提高后不变的趋势;认为在小肠前段(相对位置 0%~50%),食糜 pH 随小肠向后延伸而线性提高,在小肠后段(相对位置 50%~100%),食糜 pH 不受小肠位置的影响。本试验结果与上述结果基本一致。十二指肠 pH 值比空肠、回肠小的原因可能是因为羔羊小肠不同部位与皱胃距离的远近不同,因而受其分泌胃酸的影响不同,于是造成小肠不同部位内容物中 pH 值不同。

3.2 绵羊小肠不同部位乳糖酶活性的变化

乳糖酶是小肠粘膜二糖酶之一,对碳水化合物的消化具有重要作用。除了乳糖酶外,其他二糖酶的水解效率都很高,乳糖分解速度只是麦芽糖或蔗

糖分解速度的一半,小肠粘膜中的乳糖酶是控制碳水化合物消化的限速酶。本试验结果说明,断奶后至成年的绵羊,其小肠内容物中乳糖酶活性仍然存在,且随日龄增加活性逐渐降低,这与 King 等^[7]的研究结果一致。乳糖酶活性降低,可能与断奶后日粮中乳糖含量降低,减少了对乳糖酶合成和分泌的刺激有关。张英杰等^[1]研究认为,乳糖酶活性在羔羊 3 月龄时为 0.4 U/g,以后逐渐降低,到 6 月龄时仅有 0.05 U/g,与本试验结果基本一致。乳糖酶和麦芽糖酶活性降低可能与 mRNA 翻译效率的降低,及蛋白质的大量降解有关^[8]。张云刚等^[9]认为,蔗糖酶、麦芽糖酶和异麦芽糖酶主要分布在小肠后段,而乳糖酶主要分布在小肠前段;张英杰等^[1]则认为,乳糖酶活性最高部位在空肠段;而本试验中,乳糖酶活性最高部位出现在回肠段,可能与小肠食糜中存在大量微生物,虽然大量乳糖酶来源于组织分泌,但微生物源乳糖酶在小肠后段占主导优势有关。

3.3 绵羊小肠不同部位淀粉酶活性的变化

反刍动物小肠淀粉酶来源于胰腺和小肠粘膜,其中胰腺分泌的淀粉酶是主要酶。本试验结果表明,淀粉酶活性随绵羊日龄增加而上升,这与小肠发育成熟、消化腺功能逐渐完善有关。寇占英^[10]发现,肠道中淀粉酶大部分来自于胰腺分泌,且胰腺分泌的淀粉酶数量和活性随日龄逐渐升高;但张英杰等^[1]认为,3 月龄以后,淀粉酶活性变化不明显。本试验结果表明,小肠内容物中淀粉酶活性在绵羊 80 和 120 日龄时分别与 160 和 200 日龄间差异极显著($P<0.01$),可能是由于 160 日龄时消化腺尤其是胰腺发育开始稳定。在自然状态下,不同种类的反刍动物,胰腺组织中淀粉酶活性与日粮中淀粉含量相关^[11],到成年后犊牛的淀粉酶活性达到最高水平^[12]。寇占英^[10]比较了小肠粘膜淀粉酶活性和小肠内容物中淀粉酶活性后发现,小肠内容物中淀粉酶的活性比粘膜中高近 20 倍,是因为小肠内容物中淀粉酶的来源主要是胰腺,而小肠粘膜仅分泌少量淀粉酶。同时,淀粉酶是溶解性酶,存在于肠液的液体部分,淀粉酶一经合成,就以液态形式分泌到肠液中。Janes^[13]报道认为,羔羊小肠黏膜 α -淀粉酶活性随小肠向后延伸而迅速下降,淀粉酶的消化主要集中在小肠前段。徐明^[2]、John 等^[3]研究认为,胰腺的分泌量在饲喂后 1 h 内达到最高值,本试验在饲喂后 2 h 进行屠宰,可能屠宰时胰腺中分泌的淀粉酶已充分流经十二指肠,但尚未大量流至回肠段,且回肠段之前留存的食糜已经基本排空,故造成了十

二指肠段淀粉酶活性比空肠和回肠段高的现象。据此可以推断,屠宰前停止饲喂的时间对淀粉酶活性测定有一定影响。回肠段淀粉酶活性低,也可能是回肠黏膜分泌淀粉酶的消化腺功能因长时间饥饿受到抑制,阻断了 α -淀粉酶基因表达调控的信号传导途径。小肠前段和中段粘膜细胞中 SGLT1 和 mR-NA 浓度高于后段^[14],可能也是引起淀粉酶活性在前肠道比后肠道高的原因。

[参考文献]

[1] 张英杰,刘月琴,孙洪新,等. 羔羊小肠 pH 及主要消化酶发育规律的研究 [J]. 畜牧兽医学报,2005,36(2):149.
Zhang Y J,Liu Y Q,Sun H X,et al. Study on the development of digesta pH and main digestive enzymes of small intestine in lamb [J]. Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences, 2005,36(2):149. (in Chinese)

[2] 徐 明. 反刍动物瘤胃健康指数的构建与碳水化合物营养调控 [D]. 陕西杨凌:西北农林科技大学,2007.
Xu M. Construction of rumen health index and regulation of carbohydrate nutrition [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University,2007. (in Chinese)

[3] John P,Cant,Paul H,et al. Modeling intermittent digesta flow to calculate glucose uptake capacity of the bovine small intestine [J]. American Physiological Society, 1999, 276: 1442-1451.

[4] 内蒙古农牧学院,安徽农学院. 家畜解剖学及组织胚胎学 [M]. 2 版. 北京:中国农业出版社,1999:87-103.
Inner Mongolia Agricultural University, Anhui Agricultural University. Anatomy and histology of domestic animal [M]. 2nd edition. Beijing:China Agriculture Press,1999:87-103. (in Chinese)

[5] 施特而马赫 B. 酶的测定方法 [M]. 钱嘉渊,译. 北京:中国轻工业出版社,1992.
Stermach B. The enzyme analysis method [M]. Qian J Y, Translate. Beijing:China Light Industry Press,1992. (in Chi-

nese)

[6] 孙洪新. 羔羊小肠消化酶活性变化规律研究 [D]. 保定:河北农业大学,2003.
Sun H X. Study on main digestive enzymes character in lambs gastrointestinal [D]. Baoding: Hebei Agriculture University, 2003. (in Chinese)

[7] King K J,Schingoethe D J. Lactase activity in steers fed large amounts of dried whole whey [J]. Journal of Dairy Science, 1983;1675-1683.

[8] Ming-Fen Lee,Robert M,Russell,et al. Total intestinal lactase and sucrase activities are reduced in aged rats [J]. Nutrient Metabolism,1997,125:1383-1387.

[9] 张云刚,陈安国. 小肠粘膜二糖酶的研究进展 [J]. 饲料工业, 2003,23(3):16-18.
Zhang Y G,Chen A G. Progress on disaccharidase in intestine mucosa [J]. Feed Industry,2003,23(3):16-18. (in Chinese)

[10] 寇战英. 哺乳犊牛消化道主要消化酶发育规律的研究 [D]. 北京:中国农业大学,1999.
Kou Z Y. Study on main digestive enzymes character in calves's gastrointestinal [D]. Beijing:China Agriculture University,1999. (in Chinese)

[11] Rowell-Schäfer A,Lechner-Doll M,Hofmann R R,et al. Metabolic evidence of a rumen bypass or a ruminal escape of nutrients in roe deer (*Capreolus capreolus*) [J]. Comp Biochem Physiol,2001,128:289-298.

[12] Morrill L,Stewart W E,McCormick R J,et al. Pancreatic amylase secretion by young calves [J]. Dairy Science,1970,53: 72-78.

[13] Janes A N. Carbohydrase activity in the pancreatic tissue and small intestine mucosa of sheep fed dried-grass or ground maize-based diets [J]. Agric Sci,1999,104:435-443.

[14] Freeman T C,Wood I S,Sirinathsinghji DJS,et al. The expression of the Na⁺/glucose cotransporter (SGLT1) gene in lamb small intestine during postnatal development [J]. Biochim Biophys Acta,1993,1146:203-212.