

复方中药免疫球蛋白制剂的研制与应用

王永芬¹, 张晓静¹, 李华玮¹, 吴学军², 王德亮²

(1 郑州牧业工程高等专科学校 生物工程系, 河南 郑州 450011; 2 郑州市通源生物技术有限公司, 河南 郑州 450001)

【摘要】 【目的】结合中药与免疫球蛋白对仔猪疾病的不同防治机理, 进行复方中药免疫球蛋白制剂的制备及其初步应用研究, 为猪血的综合利用与兽用免疫球蛋白类制剂的开发应用提供依据。【方法】以健康猪血为原料, 从其中分离纯化免疫球蛋白; 将免疫球蛋白与白头翁、三颗针、黄柏、苦参、苍术、益母草等 6 种中药提取物相结合, 制备复方中药免疫球蛋白制剂, 并对断奶仔猪进行初步应用研究。【结果】免疫球蛋白粗品、纯品中的 IgG 含量分别为 658.33 和 955.33 ng/mL, IgG 的效价分别为 1 : 128 与 1 : 64; 纯品的 IgG 含量和效价与标准品接近, 二者无显著差异 ($P > 0.05$)。与中药制剂、免疫球蛋白制剂相比, 复方中药免疫球蛋白制剂使断奶仔猪的头均日增质量分别提高了 20.1% ($P < 0.05$) 和 19.3% ($P < 0.05$), 料质量比分别下降了 10.5% ($P < 0.05$) 和 8.4% ($P < 0.05$); 28~42 日龄, 血清中的 IgG 含量显著高于其他试验组 ($P < 0.05$)。【结论】分离纯化免疫球蛋白的方法可行; 复方中药免疫球蛋白制剂能够显著提高断奶仔猪生产性能与机体免疫力。

【关键词】 猪血免疫球蛋白; 分离与纯化; 复方中药免疫球蛋白制剂

【中图分类号】 S879.9; S853.74

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2010)10-0040-05

Preparation and application on compound of Chinese Herbal immunoglobulin

WANG Yong-fen¹, ZHANG Xiao-jing¹, LI Hua-wei¹, WU Xue-jun², WANG De-liang²

(1 Department of Bioengineering, Zhengzhou College of Animal Husbandry Engineering, Zhengzhou, Henan 450011, China;

2 Zhengzhou Tongyuan Biotechnology Limited Company, Zhengzhou, Henan 450001, China)

Abstract: 【Objective】 The study was done to investigate the preparation and application of swine blood immunoglobulin compound preparation of Chinese medicine, combining different control mechanisms to pig diseases of immunoglobulin with Chinese traditional medicine, in order to provide evidence for synthesis utilization of swine blood and the application and development of animal immunoglobulin. 【Method】 Immunoglobulin was isolated from healthy swine blood, and then combined with six traditional Chinese medicine like pulsatilla chinensis, atracylodes and leonurus ect. For development of compound Chinese herbal medicine immunoglobulin preparations, which were applied to weaned piglets. 【Result】 The results showed that the content of immunoglobulin crude product and pure product was 658.33 and 955.33 ng/mL, respectively. The titer of IgG was 1 : 128 and 1 : 64. The pure product was consistent with standard product, and there were no significant differences between the two ($P > 0.05$). Compared to Chinese herbal formula and immunoglobulin, compound Chinese herbal medicine immunoglobulin preparations increased the weight of weaned piglets by 20.1% ($P < 0.05$), 19.3% ($P < 0.05$), and decreased the feed weight ratio by 10.5% ($P < 0.05$), 8.4% ($P < 0.05$) respectively. In the 28—42 days old, the content of IgG in serum was higher than that of other groups. 【Conclusion】 The method of combined extracting process for immunoglobulin is feasible. Compound Chinese medicine immunoglobulin preparations can obviously in-

* 【收稿日期】 2010-03-15

【基金项目】 河南省重大科技攻关计划项目(0623012200)

【作者简介】 王永芬(1973—), 女, 河南开封人, 副教授, 硕士, 主要从事畜禽生物技术及应用研究。E-mail: yongfwang@163.com

crease piglet production performance and immunity.

Key words: the porcine blood immunoglobulin; extraction and purification; compound Chinese herbal medicine immunoglobulin preparation

免疫球蛋白(Immunoglobulin, Ig)是指具有抗体活性或化学结构与抗体相似,能与相应的抗原发生特异性结合反应的球蛋白,普遍存在于哺乳动物的血液、组织液及外分泌液等液体中,是体液免疫的主要物质。其能凝集细菌、中和细菌毒素,并能在体内其他因子的参与下彻底杀死细菌和病毒,增强机体的免疫功能,而且对机体无任何毒副作用。从 20 世纪 90 年代开始,免疫球蛋白的应用与开发已经成为国内外学者研究的热点^[1-5]。

动物血液中含有丰富的免疫球蛋白,其来源丰富且价格便宜,已经成为一种很好的制备免疫球蛋白的原材料^[6-9]。国内外学者在免疫球蛋白与畜禽生产性能关系方面做了大量研究,结果表明,免疫球蛋白在提高仔畜免疫力、预防和治疗畜禽疾病方面有良好的效果^[10-12]。中药多系天然物品,富含多种营养物质和天然化学成分,具有不易残留、毒副作用小等特点。黄志坚等^[13]、尹富贵等^[14]的研究表明,中药能够有效地提高仔猪的生产性能,并预防疾病的发生。因此,随着合成抗菌药、抗生素、激素长期使用带来的药物残留、耐药性和强毒副作用等问题的日益严重,免疫球蛋白、中药作为替代抗生素解决耐药性和药物残留的重要物质,在防治畜禽疾病中有重要的应用价值。本研究以健康猪血为原料,从猪血中分离纯化免疫球蛋白,将其与中药提取物相结合制备复方中药免疫球蛋白制剂,并在断奶仔猪中进行了初步应用研究,国内尚未见相关报道,因此研究结果可为我国猪血资源的综合利用和兽用免疫球蛋白类制剂的开发提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 原料与供试动物 猪血由河南省郑州市肉联厂提供,为各项检测指标均合格的健康成年猪的抗凝血(用质量浓度 38 g/L 柠檬酸三钠抗凝, $V(\text{猪血}):V(\text{抗凝剂})=3:1$);透析袋,截留分子量 12 000 u,购于上海欧韦达仪器科技有限公司;白头翁、三颗针、黄柏、苦参、苍术、益母草,购于郑州市中药材市场;19 日龄仔猪,由河南安阳某猪场提供。

1.1.2 主要试剂 主要化学试剂有柠檬酸三钠、硫酸铵、氢氧化钠、奈氏(Nessler)试剂(碘化汞、氢氧

化钾)、氯化钡、三羟甲基氨基甲烷(TRIS)、聚丙烯酰胺、考马斯亮兰、琼脂粉等。猪免疫球蛋白(IgG, 1 mg 冻干粉)、兔抗猪 IgG 血清(效价 1:16~1:32),购于郑州创生生物工程公司;猪 IgG ELISA 试剂盒,购于上海沪峰化工有限公司。

1.1.3 主要仪器 离心机(LXJ-IIB),上海安亭科学仪器厂生产;UV2000 紫外可见分光光度计,美国 LabTech 公司生产;SDS-电泳系统,美国 Bio-rad 公司生产;中药多功能提取罐,上海达程试验设备有限公司生产;喷雾干燥机,江苏江阴市东盛药化机械有限公司生产。

1.2 猪血免疫球蛋白的分离与纯化

1.2.1 免疫球蛋白的分离 按照文献^[15]的方法进行。将抗凝猪血于 3 000 r/min 离心 20 min,获得的上清液、沉淀分别为血浆和血细胞。将血浆首先在 pH 7.0、硫酸铵饱和度体积分数 20% 条件下进行盐析,离心;取上清液加入硫酸铵,使硫酸铵饱和度体积分数达 50%,边加边搅拌,完成后用质量分数 5% 氢氧化钠调节其 pH 至 7.0,放入 4 ℃ 冰箱过夜使其充分沉淀;之后将其取出于 3 000 r/min 离心 15 min,沉淀主要成分为免疫球蛋白。将沉淀溶于 PBS 溶液中,然后装入透析袋中于 4 ℃ 透析,每 8~10 h 换 1 次透析液,直至用奈氏(Nessler)试剂和氯化钡分别检测无 NH_4^{2+} 和 SO_4^{2-} ;浓缩后经低温干燥获得免疫球蛋白粗品。

1.2.2 免疫球蛋白的纯化 根据研发产品对纯度的要求,按照文献^[16]的方法,采用 DEAE-纤维素法对 IgG 进行纯化。

1.2.3 蛋白质含量的测定 按照猪 IgG ELISA 试剂盒说明书进行。

1.2.4 免疫球蛋白活性的检测 按照文献^[17]的双向免疫扩散法进行。

1.3 复方中药免疫球蛋白制剂的制备

按照文献^[18]的方法,取白头翁、三颗针、黄柏、苦参、苍术、益母草,按质量比 15:6:12:6:12:15 的组方配药,将处方药材放入中药多功能提取罐中,加入 8 倍质量的蒸馏水煮沸,沸腾后改文火煮 1 h,倒出药液后加 3 倍体积的蒸馏水煮 2 次,各 0.5 h。合并药液后浓缩,加入糊精,然后利用喷雾干燥机制成干粉。利用轻质碳酸钙调提取物干粉质量

为原药质量的 1/3。加入校味剂(每 kg 添加 300 mg 乳猪香和 50 mg 糖精)进行校味,得到中药制剂。

按照文献[19]的方法,在中草药制剂中加入低温干燥的质量分数 2%免疫球蛋白粗品,充分混合均匀,分袋独立包装,获得复方中药免疫球蛋白制剂样品。

1.4 复方中药免疫球蛋白制剂的应用

1.4.1 试验动物的选取与饲喂 选择健康母猪所产日龄相同、体质量相近的 19 日龄乳猪 12 窝,依次编号为 1~12,每窝仔猪分别为 16,14,11,14,11,13,13,12,11,15,11,14 头,每 3 窝为 1 组,随机分为 4 组,依次为对照组(CK)、试验 1 组(中药制剂组)、试验 2 组(免疫球蛋白组)、试验 3 组(复方中药免疫球蛋白制剂组)。在常规日粮基础上,各试验组采用拌料的方式,分别添加质量分数 2%的免疫球蛋白、中药制剂和复方中药免疫球蛋白制剂;添加时间分为 2 个阶段,每阶段为 3 d,即 19~21 日龄和 26~28 日龄。对照组、试验组新生仔猪饲养在同一栋猪舍中,以窝为单位分别饲养,饲养管理方式均按猪场常规要求进行,试验仔猪的断奶时间为 28 日龄。

1.4.2 试验地点与观察时间 试验在河南安阳某猪场进行,观察时间从 19 日龄到 42 日龄(即断奶、转群 2 周后)。

1.4.3 指标测定 (1)断奶仔猪的生产性能。考察

试验期内的仔猪平均日增质量和料质量比。

(2)对断奶仔猪腹泻的防治作用。考察试验期内断奶仔猪的腹泻率、腹泻频率和死亡率。其中腹泻率 = 腹泻头数/总头数 $\times 100\%$;腹泻频率 = $\Sigma(\text{腹泻仔猪头数} \times \text{仔猪腹泻天数})/(\text{供试猪总头数} \times \text{试验天数}) \times 100\%$ 。

(3)血清免疫指标测定。分别于试验开始时 19 日龄、第 1 阶段添加结束(21 日龄)、第 2 阶段添加结束(28 日龄)、断奶后 1 周(35 日龄)和断奶后 2 周(42 日龄),从每组中随机选取 5 头仔猪采血,采用紫外分光光度法^[20]对血清中 IgG 的含量进行测定。

1.4.4 数据处理 用 SPSS 10.0 统计软件,对全部试验数据进行处理和统计分析,并进行 *F* 检验,用 Duncan's 法对试验结果进行多重比较。数据均用“平均值±标准差”表示。

2 结果与分析

2.1 免疫球蛋白的分离与纯化

2.1.1 免疫球蛋白含量的检测 由表 1 可知,免疫球蛋白粗品中的 IgG 含量为 658.33 ng/mL,纯品中的 IgG 含量为 955.33 ng/mL,表明经过纯化后,免疫球蛋白中能够与特异性抗体发生反应的 IgG 含量增加,并且与标准品含量(974.50 ng/mL)接近,二者无显著差异($P>0.05$)。

表 1 免疫球蛋白样品中 IgG 的含量

Table 1 IgG content determination of immunoglobulin sample

样品 Sample	测定次数 Test number						IgG 含量平均值 Content of IgG
	1	2	3	4	5	6	
粗品 IgG Crude IgG	652	680	623	700	653	642	658.33±27.53 a
纯品 IgG Pure IgG	967	956	941	950	955	963	955.33±9.27 b
标准品 IgG Standard IgG	976	968	975	970	985	973	974.50±5.96 b

注:同列数据后标不同小写字母者表示差异显著($P<0.05$)。下表同。

Note:Data with different letters within the same column are significantly different ($P<0.05$). The same as below.

2.1.2 免疫球蛋白活性的检测 经双向免疫扩散电泳检测,免疫球蛋白粗品的效价为 1:128,纯品效价为 1:64。其中免疫球蛋白粗品在 2 倍和 4 倍稀释时,沉淀环隐约有 2 条,其他倍比稀释有 1 条清晰的沉淀环,与标准品一致。这可能是因为免疫球蛋白粗品中还含有其他与抗体发生反应的特异性蛋白,影响了沉淀环的形成,但随着稀释倍比的增加,干扰逐渐被消除。

2.2 复方中药免疫球蛋白制剂的应用效果

2.2.1 对断奶仔猪生产性能的影响 从表 2 可以看出,试验组的头均日增质量均显著高于对照组

($P<0.05$),料质量比显著低于对照组($P<0.05$),说明中药制剂、免疫球蛋白、复方中药免疫球蛋白制剂均能显著提高断奶仔猪的生产性能;3 个试验组相比,试验 3 组头均日增质量较试验 1 组、2 组分别提高了 20.1%($P<0.05$)和 19.3%($P<0.05$),料质量比分别下降了 10.5%($P<0.05$)和 8.4%($P<0.05$);试验 2 组的头均日增质量、料质量比效果优于试验 1 组,但 2 组间差异不显著。结果表明在饲料中添加复方中药免疫球蛋白制剂,对断奶仔猪生产性能的提高效果显著优于单独添加中药制剂和免疫球蛋白组。

表 2 复方中药免疫球蛋白制剂对断奶仔猪生产性能的影响

Table 2 Influences on growth performance of weaning piglets by compound Chinese medicine immunoglobulin preparations						
组 别 Test groups	仔猪头数 Numbers of piglets	头均始质量/kg Starting weight per piglet	头均未质量/kg Ending weight per piglet	头均日增质量/g Increasing weight per day	头均耗料/kg Feeding material per piglet	料质量比 The feed weight ratio
CK	41	8.43±0.37 a	16.78±0.96 a	348.99 a	20.30±0.13 a	2.42±0.03 a
1	38	8.39±0.56 a	18.04±1.26 b	402.34 b	21.13±0.08 a	2.19±0.06 b
2	36	8.26±0.71 a	17.99±1.54 b	405.42 b	20.86±0.03 a	2.14±0.07 b
3	40	8.36±0.51 a	19.95±1.42 c	483.58 c	20.72±0.02 a	1.96±0.05 c

2.2.2 对断奶仔猪腹泻的防治作用 从表 3 可以看出,试验组仔猪的腹泻率、腹泻频率均显著低于对照组($P<0.05$),各试验组间差异不显著,说明复方

中药免疫球蛋白制剂、中药制剂、免疫球蛋白制剂均可以有效防治断奶仔猪腹泻的发生。

表 3 复方中药免疫球蛋白制剂对断奶仔猪腹泻的防治作用

Table 3 Effects of diarrhoea control of weaning piglets by compound Chinese medicine immunoglobulin preparations					
组 别 Test group	仔猪头数 Piglets population	腹泻头数 Diarrhea population	腹泻率/% Diarrhea rate	腹泻次数 Diarrhea times	腹泻频率/% Diarrhea frequency
CK	41	9	21.93±6.40 a	44	4.46±0.61 a
1	38	4	10.47±4.27 b	22	2.39±0.59 b
2	36	4	11.11±3.52 b	18	2.08±0.66 b
3	40	3	7.51±7.71 b	10	1.02±0.92 b

2.2.3 对断奶仔猪血清中 IgG 含量的影响 从表 4 可以看出,在 19 日龄即试验开始时,各组仔猪血清中 IgG 的含量差异不显著;21 日龄时,对照组仔猪血清 IgG 含量较 19 日龄有所降低,但各试验组仔猪血清中 IgG 含量较 19 日龄时均有所升高;在 28、35 和 42 日龄时,各组仔猪血清中 IgG 含量均呈上

升趋势,但 3 个试验组的上升幅度均明显高于对照组($P<0.05$)。在 28~42 日龄,3 个试验组相比,试验 3 组仔猪血清中 IgG 含量显著高于试验 1 组、试验 2 组($P<0.05$),但试验 2 组与试验 1 组间差异不显著,说明复方中药免疫球蛋白制剂较中药制剂、免疫球蛋白能更有效地提高仔猪血清中的 IgG 含量。

表 4 复方中药免疫球蛋白制剂对断奶仔猪血清中 IgG 含量的影响

Table 4 Influences on immunoglobulin content of weaning piglets by compound Chinese medicine immunoglobulin preparations					
组别 Test group	日龄 Days				
	19	21	28	35	42
CK	9.37±0.44 a	7.64±0.35 a	9.11±0.15 a	12.09±0.12 a	14.99±0.09 a
1	8.87±0.12 a	10.24±0.49 b	11.12±0.23 b	14.02±0.29 b	19.67±0.47 b
2	9.02±0.36 a	10.38±0.56 b	11.24±0.36 b	15.13±0.41 b	20.43±0.43 b
3	8.87±0.30 a	10.46±0.44 b	12.38±0.12 c	17.65±0.37 c	22.28±0.44 c

3 讨 论

猪血中含有丰富的免疫球蛋白等多种生物活性物质,由于受诸多因素的限制,我国丰富的猪血资源主要用作饲料添加剂或食用的“血豆腐”等低值处理品,且利用率不到 10%,绝大部分猪血作为废弃物扔掉,不仅浪费了大量的宝贵资源,还造成了严重的环境隐患。本研究从猪血中提取免疫球蛋白的工艺方法与经典方法^[16]相比,减少了 1 次盐析,而免疫球蛋白活性与标准品相当,这有效节约了提取成本,但免疫球蛋白的纯度还有一定差距,纯化工艺还有待进一步改进。在免疫球蛋白类制剂开发中,可以根据产品用途的需求开发不同纯度的免疫球蛋白。

敖长金^[21]报道,仔猪从出生到 21 日龄时,血清

中 IgG 含量呈下降趋势,21 日达到最低点;随着免疫系统的逐渐完善,再逐渐呈上升趋势;但到 28 日龄断奶时,由于食物改变或应激反应,仔猪发病较高。所以本研究结合中药与免疫球蛋白对仔猪疾病的不同防治机理,将免疫球蛋白与中药提取物配伍成复方中药免疫球蛋白制剂,目的在于通过提高血清中免疫球蛋白的含量,增强机体的免疫力,通过复方中药提高机体抗病力。根据仔猪机体免疫机制特点,将外补复方中药免疫球蛋白制剂的时间选择在 19~21、26~28 日龄 2 个阶段。

本研究结果表明,与中药制剂、免疫球蛋白制剂相比,复方中药免疫球蛋白制剂可以显著提高仔猪的生产性能和血清中 IgG 的含量($P<0.05$);但在断奶仔猪腹泻防治方面,复方中药免疫球蛋白制剂

与中药制剂、免疫球蛋白制剂的应用效果差异不显著,其原因有待于深入研究。今后拟通过调整组方药物的比例,提高中药有效组分的含量,调整免疫球蛋白的添加比例、拌料比例等,以进一步提高复方中药免疫球蛋白制剂的抗病作用。

4 结 论

本研究从猪血中分离并纯化免疫球蛋白,有机结合中药与免疫球蛋白对仔猪疾病的不同防治机理,将免疫球蛋白与中药提取物配伍成复方中药免疫球蛋白制剂,并对断奶仔猪进行了初步应用研究,结果表明,中药与免疫球蛋白联合使用具有较好的协同作用,能够显著提高断奶仔猪的生产性能与机体免疫力。

参考文献

- [1] Besser T E. Gay colosmal transfer of immunoglobulins to the calf [J]. Vet Microbiol, 1993, 33: 53-61.
- [2] Kuroki M, Ikemori Y, Yokoyama H, et al. Passive protection effect of chicken egg yolk immunoglobulins against experimental enterotoxigenic *Escherichia coil* infection in neonatal piglets [J]. Infec Immun, 1992, 60: 998-1007.
- [3] 胡晓艳, 王春维. 免疫球蛋白的制备方法及其在畜禽生产中的应用 [J]. 饲料与畜牧, 2008(2): 11-13.
Hu X Y, Wang C W. Preparation methods of immunoglobulin and the application in domestic animals production [J]. Feed and Husbandry, 2008(2): 11-13. (in Chinese)
- [4] 陈树兴, 赵胜娟. 山羊初乳成分及其免疫球蛋白构成变化的研究 [J]. 食品科学, 2008(1): 41-44.
Chen S X, Zhao S J. Study on changes of composition and immunoglobulin constituents of goat colostrum [J]. Food Science, 2008(1): 41-44. (in Chinese)
- [5] 金 锋. 可溶性免疫球蛋白微胶囊制备工艺研究 [J]. 粮食与油脂, 2007(8): 22-24.
Jin F. Study on preparation of sIg microencapsulation [J]. Cereals & Oils, 2007(8): 22-24. (in Chinese)
- [6] 王三虎, 张世军. 猪血清中 Ig 的分离及影响因素研究 [J]. 河南科学, 2002(5): 528-532.
Wang S H, Zhang S J. Separation and influence of pig serum immunoglobulin [J]. Henan Science, 2002(5): 528-532. (in Chinese)
- [7] 岳喜庆, 冯巧萍, 张和平. 牛血清免疫球蛋白的盐析法提取与纯化 [J]. 中国乳品工业, 2005(3): 16-21.
Yue X Q, Feng Q P, Zhang H P. Studies on extraction and purification methods of saltingout IgG from bovine serum [J]. China Dairy Industry, 2005(3): 16-21. (in Chinese)
- [8] 马秀丽, 冯 涛, 于可响. 几种提纯鸭病毒性肝炎血清免疫球蛋白 G 方法的比较 [J]. 山东农业科学, 2007(1): 111-113.
Ma X L, Feng T, Yu K X. Comparison of methods of serum immunoglobulin of duck virus hepatitis [J]. Shandong Agricultural Sciences, 2007(1): 111-113. (in Chinese)
- [9] 董淑丽, 马彦博, 李晓丽. 固始鸡血清免疫球蛋白 G 的纯化及分子量的测定 [J]. 畜禽业, 2007(12): 2-3.
Dong S L, Ma Y B, Li X L. The purification and molecular weight determination of Gushi broilers serum immunoglobulin G [J]. Livestock and Poultry Industry, 2007(12): 2-3. (in Chinese)
- [10] Kweon C, Kwon B, Woo S, et al. Immunoprophylactic effect of chicken egg yolk immunoglobulin (IgY) against porcine epidemic diarrhea in piglets [J]. J Vet Med Sci, 2000, 62(9): 961-964.
- [11] 张鹏举, 邱永敏, 张永立. 口服免疫球蛋白制剂对仔猪成活率及增重的影响 [J]. 中国畜牧兽医, 2005(10): 42.
Zhang P J, Qiu Y M, Zhang Y L. The effect of oral immunoglobulin on survival rate and weight increasing of piglet [J]. Animal Science Abroad, 2005(10): 42. (in Chinese)
- [12] 魏祥法, 刘 辉, 井庆川. 抗鸡新城疫、传染性法氏囊病免疫球蛋白的研究 [J]. 山东农业科学, 2007(2): 97-98.
Wei X F, Liu H, Jing Q C. Research on anti-NDV and infectious bursal disease immunoglobulin [J]. Shandong Agricultural Sciences, 2007(2): 97-98. (in Chinese)
- [13] 黄志坚, 谢红兵, 陈 强. 精制中草药免疫增强剂对断奶仔猪免疫功能的影响 [J]. 福建农林大学学报, 2007(3): 163-166.
Huang Z J, Xie H B, Chen Q. Effects of compound Chinese herbal medicine feed additives on the immune function of weaning piglets [J]. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University, 2007(3): 163-166. (in Chinese)
- [14] 尹富贵, 孔祥峰, 刘合军. 中草药对仔猪生长性能和血清生化参数的影响 [J]. 中国科学院研究生院学报, 2007(3): 201-206.
Yin F G, Kong X F, Liu H J. Effects of Chinese herbal formula on growth performance and serum biochemical parameters in weaned piglets [J]. Journal of the Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, 2007(3): 201-206. (in Chinese)
- [15] 郭金玲, 郑秋红, 董良奇. 利用联产工艺从动物血液中提取生物活性物质 [J]. 饲料研究, 2008(3): 34-37.
Guo J L, Zheng Q H, Dong L Q. Extraction biological activities substances from animal blood with co-production process [J]. Feed Research, 2007(2): 34-37. (in Chinese)
- [16] 李巧枝. 生物化学实验技术 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2007: 98-104.
Li Q Z. Experimental biotechnology [M]. Beijing: China Light Industrial Publishing Houses, 2007: 98-104. (in Chinese)
- [17] 崔治中. 兽医免疫学实验指导 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2006: 10-13.
Cui Z Z. Veterinary immunology experimental guidance [M]. Beijing: China Agricultural Publishing Houses, 2006: 10-13. (in Chinese)