

华中农业大学
硕士学位论文
几种物质对早期断奶仔猪生长性能、肠道结构与功能及血液指标的影响
姓名：胡杰
申请学位级别：硕士
专业：动物营养与饲料科学
指导教师：陈喜斌;侯永清
20040501

几种物质对早期断奶仔猪生长性能、肠道结构与功能及血液指标的影响*

动物营养与饲料科学

2004 届硕士研究生 胡杰

指导教师 陈喜斌 侯永清

摘 要

断奶,是仔猪出生后面临的最大应激。在此期间,仔猪不再从母乳中获取营养,加上生理及环境状况的突然改变,极易造成断奶后仔猪胃肠功能紊乱,表现为肠绒毛萎缩、隐窝增生、消化道酶活性下降及免疫功能降低等,诱发仔猪早期断奶综合症:采食量下降、生长受阻和腹泻。从仔猪生长和发育的规律出发,采用粘膜营养调控措施可部分缓解这种应激。

本试验选择产期接近、体重相近的健康“长×大”仔猪为研究对象,21±1d 一次性断奶,在其日粮中分别添加 1%谷氨酰胺、0.3%乳糖醇、0.5%三丁酸甘油酯、0.3%乳糖醇+0.5%三丁酸甘油酯(混合物),以研究这几种物质及其混合物对早期断奶仔猪的影响。整个试验分为以下四个部分:

1 几种物质对早期断奶仔猪生长性能的影响

在断奶当天、断奶后 7 天、14 天、21 天及 28 天分别对仔猪进行称重,观测猪只的平均日增重(ADG)、日采食量(ADFI)、料重比(F/G)及腹泻率。

结果表明,谷氨酰胺可以提高仔猪断奶后短期内的生长性能,在断奶后前两周 ADG 分别比对照组提高 53.28% ($P>0.05$)、20.32% ($P>0.05$),料重比降低 28.75% ($P>0.05$)、21.33% ($P>0.05$),显著降低第一周腹泻率(48.45%、 $P<0.05$)。乳糖醇的各项指标与对照组相比没有显著差异。三丁酸甘油酯表现出提高日增重及饲料效率的趋势($P>0.05$),降低了第一周的腹泻率(41.0%、 $P\leq 0.051$)。混合物在整个试验阶段都具有较好的促生长作用及较高的饲料效率:在 1~4 周,ADG 比对照组分别提高 42.88% ($P>0.05$)、12.42% ($P>0.05$)、21.93% ($P<0.05$)、10.72% ($P>0.05$),料重比降低 29.13% ($P>0.05$)、23.08% ($P<0.05$)、16.46% ($P<0.05$)、12.33% ($P>0.05$),并显著降低第一周腹泻率(44.72%、 $P<0.05$)。

2 几种物质对早期断奶仔猪小肠形态的影响

在断奶后 7d,每组选取 3 头进行屠宰取样:截取十二指肠末段、空肠中段及回肠中段各 5cm,进行组织切片,观察肠绒毛高度(VH)、隐窝深度(CD)、粘膜厚度(MT)、绒毛宽度(VW),并计算绒毛高度与隐窝深度之比值(VH/CD)。

结果表明,谷氨酰胺可防止仔猪断奶后 7 天内空肠的萎缩:绒毛高度增加 22.74

% ($P>0.05$), VH/CD 值提高 19.76% ($P<0.05$), 绒毛宽度降低 24.56% ($P<0.05$), 隐窝深度及粘膜厚度没有影响。乳糖醇组的各项指标与对照组相近或较差。三丁酸甘油酯有利于维持回肠的粘膜形态: 绒毛高度增加 9.46% ($P>0.05$), 显著降低隐窝深度 (36.12%、 $P<0.05$) 及绒毛宽度 (16.06%、 $P<0.05$), VH/CD 值被显著提高 (73.16%、 $P<0.05$)。混合物在维持小肠形态方面最具优势, 尤其是在空肠和回肠: 绒毛高度分别增加 44.82% ($P>0.05$)、13.25% ($P>0.05$), VH/CD 值均被显著提高 ($P<0.05$)。

3 几种物质对早期断奶仔猪小肠粘膜二糖酶活性的影响

在断奶后 7d, 每组选取 3 头进行屠宰取样: 截取十二指肠末段、空肠和回肠中段各 10cm, 刮取肠粘膜, 测定粘膜二糖酶 (乳糖酶、蔗糖酶、麦芽糖酶) 活性。

结果表明, 各试验物质均提高了十二指肠乳糖酶的活性, 对于小肠后段部分蔗糖酶、麦芽糖酶活性有较明显的提升作用, 混合物使空肠蔗糖酶活性提高 116.96% ($P<0.05$), 谷氨酰胺和三丁酸甘油酯使回肠麦芽糖酶的活性分别提高了 29.9% ($P>0.05$)、69.83% ($P>0.05$)。

4 几种物质对早期断奶仔猪血液指标的影响

在断奶后 7d, 每组选取 3 头进行采血取样, 血样测定指标包括血糖、尿素氮、总蛋白、球蛋白含量, 谷草转氨酶、谷丙转氨酶、碱性磷酸酶活性。

结果表明, 试验物质对断奶仔猪血液指标没有显著影响 ($P>0.05$)。

综合本试验的研究结果, 得出如下结论:

试验物质谷氨酰胺、三丁酸甘油酯及混合物 (乳糖醇+三丁酸甘油酯) 能够有效地改善仔猪从吮吸母乳到采食固体饲料这一转变过程, 提高断奶仔猪的生长性能, 试验物质的联合使用比单一物质更能有效地提高仔猪肠道的营养水平, 维护肠道的结构与功能, 减缓断奶应激。

关键词 谷氨酰胺; 乳糖醇; 三丁酸甘油酯; 混合物; 断奶仔猪; 生长性能; 肠道形态; 血液指标

* 本研究受湖北省自然科学基金项目资助, 是课题“多胺及正丁酸对断奶仔猪肠道结构与功能调节的研究”的一部分, 项目主持人: 侯永清教授, 项目编号: 2003ABA125。

Effects of several substances on growth performance, intestinal structure and function and blood measurements in early weaned piglets

Animal nutrition and feed science

Postgraduate Hu Jie Supervisor Chen Xibin, Hou Yongqing

Abstract

Weaning is the most severe stress after the piglets are born. Piglets don't get nutrition from milk again during the period, resulting in gastrointestinal dysfunction easily due to sudden changes of physiology and environment state, showing that villus atrophy, crypt hyperplasia, enzyme activity of digestive tract and immunological function decline, and will induce syndrome associated with early weaning: appetite decline, growth retardation and diarrhea. According to the characteristic of piglets' growth and development, the stress can be delayed partly by adopting mucosal nutritional adjustment measure.

Healthy "Landrace × Yorkshire" piglets, which were close to each other in confinement and body weight, were choosed to undertake a experiment, and weaned in 21 ± 1 d. The experimental diet with glutamine (10 g/kg), or with lactitol (3 g/kg), or with tributyrin (5 g/kg), or with lactitol (3 g/kg) plus tributyrin (5 g/kg) (compound), the aim is to determined effects of several several substances and compound on early weaned piglets. The experiment consisted of 4 parts:

1 Effects of several substances on growth performance in early weaned piglets

On d 0, 7, 14, 21, and 28 after weaning the piglets were weighted, and ADG, ADFI, F/G, and diarrhea incidence were observed.

As a result, glutamine could improve short-term growth performance, on first week and second week after weaning, ADG was greater 53.28% ($P > 0.05$), 20.32% ($P > 0.05$) respectively in piglets fed the glutamine diet, F/G was reduced 28.75% ($P > 0.05$), 21.33% ($P > 0.05$) respectively, and after first week, diarrhea incidence was reduced significantly (48.45%, $P < 0.05$). Growth performance did not show any difference in piglets fed the lactitol diet than in piglets fed the control diet. Tributyrin had the tendency to increase ADG and feed efficiency ($P > 0.05$), and after first week, diarrhea incidence was

reduced (41.0%, $P \leq 0.051$). Growth performance and feed efficiency were better in animals fed the compound diet during the whole period: from 1 to 4w ADG was improved 42.88% ($P > 0.05$), 12.42% ($P > 0.05$), 21.93% ($P < 0.05$), 10.72% ($P > 0.05$) respectively, F/G was reduced 29.13% ($P > 0.05$), 23.08% ($P < 0.05$), 16.46% ($P < 0.05$), 12.33% ($P > 0.05$) respectively, and diarrhea incidence was reduced significantly after first week ($P < 0.05$).

2 Effects of several substances on intestinal modality in early weaned piglets

On 7 day after weaning, 3 piglets from each group were killed to get sampling: three 5cm segments at distal duodenum, mid-jejunum and mid-ileum were dissected to make tissue sections, villus height (VH), crypt depth (CD), mucosal thickness, villus width were measured, and villus height : crypt depth ratio (VCR) was calculated.

As a result, on 7d after weaning, the jejunal atrophy could be prevented by glutamine: villus height was greater 22.74% ($P > 0.05$), VH/CD was improved 19.76% ($P < 0.05$), villus width was reduced 24.56% ($P < 0.05$), and had no effect on crypt depth and mucosal thickness. Lactitol did not have any effect on the intestine or worse than the control diet. Compound had some advantages in maintaining intestinal modality, especially in jejunum and ileum: villus height was increased 44.82% ($P > 0.05$), 13.25% ($P > 0.05$) respectively, and VH/CD was improved significantly ($P < 0.05$).

3 Effects of several substances on mucosal disaccharidases in early weaned piglets

On d 7 after weaning, 3 piglets from each group were killed to get sampling: three 10cm segments at distal duodenum, mid-jejunum and mid-ileum were dissected to scrape intestinal mucous membrane, to determined activity of disaccharidases (lactase, maltase, sucrase).

As a result, piglets fed experimental diets tended to have higher lactase activity in duodenum, and induced maltase and sucrase activity greatly in intestinal posterior segment, sucrase activity in jejunum increased 116.96% ($P < 0.05$) in animals fed compound diet, maltase activity in ileum increased 29.9%、69.83% ($P > 0.05$) respectively in animals fed glutamine and tributyrin.

4 Effects of several substances on blood measurements in early weaned piglets

On d 7 after weaning, 3 piglets from each group were choosed to get blood sampling: blood samples were collected to determined GLU, BUN, TP, GLO, ALT, AST, AKP.

As a result, experimental substances had not any significant effects on blood measurements in early weaned piglets ($P > 0.05$).

We can make conclusions from the experimental results:

Experimental substances glutamine, tributyrin and compound (lactitol + tributyrin) could facilitate the transition from milk to solid feed in weaned piglets, and improve the growth performance. The combination of experimental substances is more beneficial to swine than feeding either tributyrin or lactitol alone for enhancing the trophic status of the intestinal tract, maintaining the intestinal structure and function, and delaying the stress of weaning.

Key words glutamine; lactitol; tributyrin; compound; early weaned piglets;
growth performance;intestinal modality;blood measurements

1 文献综述

1.1 谷氨酰胺

近二十几年来, 非必需氨基酸(NEAA)谷氨酰胺(Glutamine, Gln)因其独特而复杂的生理功能逐渐成为了营养学、生理学、免疫学等学科领域的研究热点。

1.1.1 谷氨酰胺的理化性质

Gln 是一种中性氨基酸, 分子式为 $C_5H_{10}O_3N_2$, 它具有一个 α -氨基和一个易水解的末端酰胺基, 在组织间氮的转移和氮气的转运过程中起着重要的载体作用。同时, 酰胺基还是体内嘧啶和嘌呤核苷酸、核酸及氨基糖生物合成的必需原料之一。因此, Gln 是蛋白质代谢的重要调节因子, 能促进细胞内蛋白质合成, 减少骨骼肌蛋白的分解, 被认为是机体在应激状态下的“条件性必需氨基酸”(Lacey 等, 1990)。

与其它氨基酸相比, Gln 遇热不稳定, 对酸性环境敏感。这些特性使得运用传统的氨基酸分析法检测 Gln 变得非常困难。因此, 这也可能是过去几十年 Gln 未曾引起研究者重视的原因之一, 从而忽略了其在营养和代谢中的重要性。

1.1.2 谷氨酰胺的代谢

动物体内 Gln 的主要合成部位是骨骼肌, 降解利用主要发生在小肠。肝脏既能净合成又能净消耗 Gln, 对血液中 Gln 的浓度起一种调节作用。Gln 的代谢受两种主要的酶调节: 谷氨酰胺酶和谷氨酰胺合成酶。前者催化 Gln 水解为谷氨酸和氨, 主要存在于一些快速增殖、分化的细胞中, 如粘膜细胞、淋巴细胞和内皮细胞等; 后者催化谷氨酸(盐)和氨合成 Gln, 主要存在于骨骼肌和大脑等。

1.1.3 谷氨酰胺的营养生理功能

Gln 作为一种氨基酸, 除供蛋白质和肽合成外, 还具有许多重要的生理功能。它可调节机体的酸碱平衡, 作为嘧啶和嘌呤核苷酸以及氨基糖合成的前体物, 是快速增殖细胞优先选择的呼吸燃料, 作为组织间氮的载体等。

1.1.3.1 作为一些生物活性物质合成的前体物

1.1.3.1.1 核苷酸

核苷酸是一类在代谢上极为重要的物质, 同位素标记化合物实验证明, 生物体内能利用 Gln 以及其它一些物质作为前体物合成嘌呤环和嘧啶环。研究发现, 在嘧啶核苷酸的合成过程中, 用于形成嘧啶的氨甲酰磷酸需由 Gln 作氨基供体。同时, 在尿嘧啶核苷酸转变为胞嘧啶核苷酸的过程中动物组织也必需由 Gln 的酰胺基作为氨基供体。因此, Gln 在生物体内核苷酸合成过程中起着至关重要的作用。若 Gln 缺乏或耗竭, 则核苷酸生物合成将受到抑制, 进而扰乱整个代谢。

1.1.3.1.2 氨基糖

机体的结构多糖如糖蛋白、糖脂等含的杂多糖中除葡萄糖、半乳糖、甘露糖外,还有 N-乙酰葡萄糖胺、N-乙酰半乳糖胺等,这些糖胺的合成均需 Gln 提供氨基。

1.1.3.2 调节酸碱平衡

机体代谢过程中不断产生的固定酸如磷酸、硫酸、乳酸等,被血液中的 NaHCO_3 中和后随呼吸运动以 CO_2 形式排出体外。被中和掉的 NaHCO_3 若不及时恢复,则可能改变血液 pH 值,影响机体内环境的相对稳定。Gln 在保护机体防止代谢性酸中毒中具有重要作用。肾小管上皮分泌 Gln 水解产生的氨进入管腔结合其分泌的 H^+ 形成 NH_4^+ , NH_4^+ 从管腔中换回 Na^+ , 并进一步与管腔中的强酸盐的负离子(如 Cl^-)结合成酸性铵盐(NH_4Cl)随尿排出,这一过程是 Gln 调节酸碱平衡的主要反应。

1.1.3.3 维持或修复肠道结构和功能的完整性

研究证明,小肠上皮具有很高的 Gln 摄取率和利用率,这与其粘膜细胞的高周转代谢相一致。Gln 既能作为肠粘膜细胞能量代谢的底物,又能为其快速周转的蛋白质和核酸提供原料。Windmueller 和 Spaeth(1974, 1978)在大鼠、猫、狗以及猴等动物试验中均发现, Gln 是其肠道不可缺少的供能物质。注入外源 Gln 酶,诱导血浆中 Gln 耗竭将会导致小肠粘膜的水肿、溃疡和部分坏死。提供标准肠外营养(不含 Gln),可观察到肠粘膜的萎缩,添加 Gln 后可缓解萎缩,同时增加小肠和空肠粘膜的细胞结构。这些结果恰好证实了 Herbert 等(1974)的观点,即肠粘膜上 Gln 合成酶水平极低,粘膜氨基酸代谢池中 Gln 的量少,而粘膜蛋白质和细胞周转极快。为维持肠道粘膜结构和功能的正常,必需有足够的 Gln。

当机体处于手术或受伤后的分解代谢状态时,肠对 Gln 的消耗增加,此时内源合成的 Gln 不能满足需要,若外源补充,则有助于肠结构的维持或修复。刘民航和高兰兴(1995)在烧伤的大鼠实验中观察到,经口补充 2%或 5%Gln 后,大鼠血浆 Gln 水平、小肠粘膜蛋白质、DNA、ATP 含量以及乳糖酶活性均明显高于烧伤对照组和补充甘氨酸组,从而表明,经口补充的 Gln 可为肠道的能量和物质代谢直接提供丰富的原料,改善机体代谢状况,有助于促进肠道损伤的修复。

1.1.3.4 维持正常的免疫功能

Gln 对维持免疫细胞如淋巴细胞、巨噬细胞和胸腺细胞等的正常功能具有重要作用。研究发现,淋巴细胞中富含高活性的 Gln 酶,且受到免疫刺激时酶的活性增加。Gln 是淋巴细胞增殖所必需的,培养基中缺乏 Gln 将抑制淋巴细胞对丝裂原刺激的应答能力。

Gln 在免疫细胞中起着双重的代谢作用:氧化供能以及为细胞增殖提供 C、N 原料。Gln 也是小鼠巨噬细胞活动的重要能量来源。同时,利用 Gln 合成的供分泌蛋白转运时使用的 mRNA 将协助巨噬细胞发挥其分解细菌的功能。

此外, Alverdy 等(1988)还发现, 当大鼠饲以富含 Gln 的非经肠营养(TPN)时其免疫功能高, 反之, 胆汁中分泌型 IgA 浓度下降 50%, 细菌于直肠粘膜的附着增加。因此, Alverdy(1990)总结到 Gln 是维持肠相关淋巴组织、合成分泌型 IgA、维持肠道完整性和阻止细菌从肠道易位所必需的。

1.1.4 谷氨酰胺在断奶仔猪营养中的重要作用

Gln 是母猪乳中最丰富的氨基酸。Wu 等(1994)研究发现, 在 29d 的泌乳期中, 母猪乳中的游离 Gln 的浓度逐渐增加, 在泌乳期的第 22d 和第 29d 乳中 Gln 分别达到 1.9mmol/L 脱脂乳和 3.4mmol / L 脱脂乳, 占 NEAA 总量分别为 31%和 43%, 远超过其它氨基酸浓度。而仔猪早期断奶(3 周龄)虽可提高母猪的繁殖力, 以及减少疾病的垂直传播, 但经常导致小肠形态和功能的异常, 目前还不甚清楚是否与断奶后 Gln 供给不足有关。

许多研究者在这方面做了大量的工作。Wu 等(1996)在 21 日龄断奶仔猪的玉米—豆粕型日粮中分别添加 0.2%、0.6%和 1.0%的 Gln, 结果证明, 1.0%的 Gln 在断奶后第 1 周可防止空肠绒毛的萎缩, 第 2 周可降低料肉比, 即提高料重比。刘涛(2002)在 28 日龄断奶仔猪日粮中分别添加 0.7%、1.0%、1.3%的 Gln, 结果表明, 在断奶后第一周, 添加 1%Gln 组的平均日增重显著高于对照组 ($P<0.05$)。张军民等(2002)报道, 日粮添加 1.2%谷氨酰胺可显著增加试验组仔猪空肠 DNA 含量, 但对回肠 DNA 和肠道蛋白质无显著影响; 可显著增加试验组仔猪 35 日龄粘膜厚度和 49 日龄空肠绒毛高度, 对十二指肠绒毛高度和粘膜厚度无显著影响。电镜观察结果表明, 日粮添加谷氨酰胺可以改善 35 日龄仔猪空肠中端微绒毛的形态和结构, 减少小肠上皮细胞的损伤。因此, 日粮添加谷氨酰胺可防止空肠绒毛萎缩, 对维持肠道的结构和功能具有重要作用。Pluske(1996)报道, 连续 5d 饲喂羊奶的断奶仔猪其隐窝深度随 Gln 的采食线性降低, 上皮细胞 Gln 的代谢增加。另外, Ayonrinde 等(1995)用 4%Gln 或 4%Gly 强化传统的谷物基础断奶仔猪日粮, 在断奶后第 5d 屠宰所有的猪, 发现饲喂外源 Gln 日粮的猪其血浆 Gln 浓度更高, 可减缓绒毛萎缩, 同时其结肠和回肠 DNA 含量和粘膜蛋白含量增加。上述研究结果暗示, 向早期断奶仔猪日粮中添加外源 Gln 可能是维护断奶仔猪肠道正常结构和功能的有效途径之一, 也可得出 Gln 可能是早期断奶仔猪的条件性必需氨基酸。

随着研究的不断深入, Gln 在动物营养中的作用已远远超出了传统的非必需氨基酸的范畴。Gln 其独特而复杂的生理功能, 已引起广大关注, 但这一领域中还有许多问题尚需进一步探索, 如 Gln 在断奶仔猪营养中独特功能的作用机制、Gln 的适宜添加形式和适宜添加量等。

1.2 乳糖醇

乳糖醇又称乳梨醇 (Lactitol, Lct), 化学名为 4-O- β -D-吡喃半乳糖基-D-山梨醇, 分子式为 $C_{12}H_{24}O_{11}$, 分子量 344.32。乳糖醇是一种功能性食品添加剂, 除作为甜味剂外, 还有很多保健功能, 如能促进双歧杆菌增殖, 也能使其它有益菌如乳酸杆菌等大量繁殖, 有助于体内微生态的平衡。乳糖醇又属水溶性膳食纤维类物质, 能帮助机体排泄废物和有害物质, 起保肝护肝作用, 还能促进钙的吸收。

1.2.1 乳糖醇的理化性质

乳糖醇是一种多羟基化合物, 主要是由脱脂乳制得乳糖, 乳糖经加氢还原得到的一种双糖醇, 产品呈结晶粉末状, 一般以无结晶水, 含一个结晶水和含二个结晶水三种形式存在。乳糖醇具有清爽、蔗糖样甜味口感而无回味, 甜度是蔗糖的 40%。

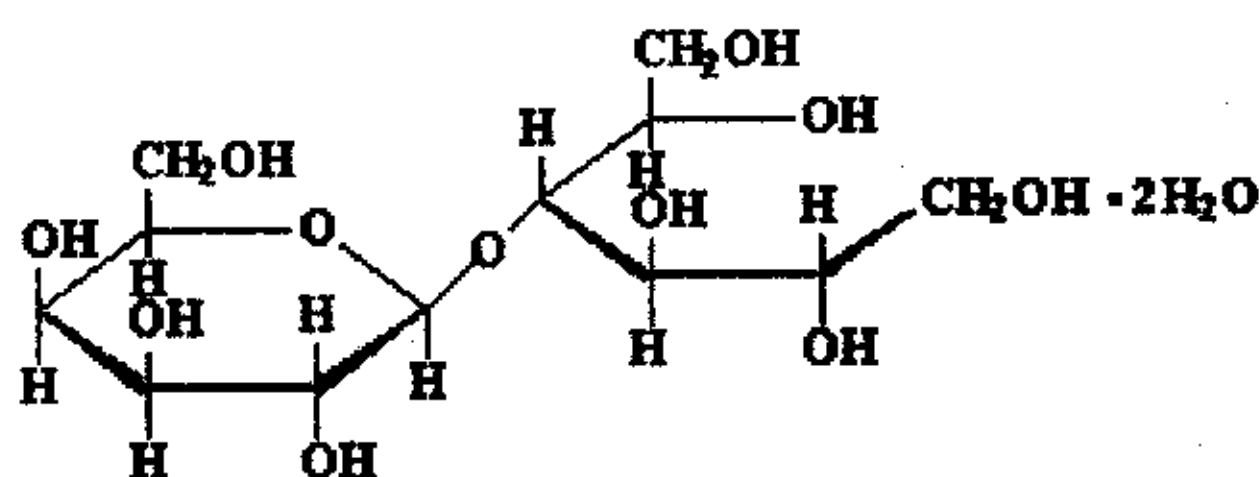


图 1 含两个结晶水的乳糖醇

Figure. 1 Lactitol containing two H_2O

乳糖醇中因没有羰基, 化学性质比乳糖稳定得多, 不会发生美拉德褐变反应和还原反应, 也不会被酶降解。常温常压下也不易发生氧化反应。乳糖醇在酸、碱及高温下的稳定性都很高, 一般加热到 $100^{\circ}C$ 以上时才开始逐渐失去结晶水。

乳糖醇易被多种细菌发酵分解。一个典型的例子也是乳糖醇重要的应用方面是机体消化道内的有益菌种—双歧杆菌能利用它的营养使自身得到迅速繁殖, 得以促进机体健康。

1.2.2 乳糖醇的生理特性

1.2.2.1 双歧增殖因子

双歧杆菌是机体肠道中一种重要的有益微生物, 属革兰氏阳性菌。能发酵碳水化合物产生乳酸、乙酸, 它对机体的健康相当重要。一般双歧杆菌与肠粘膜上皮细胞紧密结合, 占据肠粘膜表面、形成保护层, 发挥其独特的功能, 防止细菌入侵。双歧杆菌不产生内毒素, 也不产生外毒素, 无致病性。据研究证实, 乳糖醇可使肠道中双歧杆菌增殖 10~100 倍, 因此像乳糖醇这类物质, 在医学上被称作“双歧增殖因子”。

乳糖醇在口腔、胃及小肠内都很稳定, 基本上不会被消化吸收。当进入大肠后, 尤其在结肠部末端, 易被微生物利用、分解。这类微生物有双歧杆菌、乳酸杆菌、拟杆菌、消化球菌、真菌等。其中以双歧杆菌最为突出, 它们能促进对乳糖醇的分解、利用, 自身也得到营养和繁殖。此时对机体有益的菌种占了优势、抑制了其它

致病菌如金黄色葡萄球菌、变形杆菌、绿脓假单胞菌等的生存。大量繁殖的双歧杆菌以及其它有益菌群，与机体相互依赖、相互作用、彼此之间相互制约，维持了肠道内正常菌群的平衡，以共生的形式寄生在肠道内，形成一通天然防线，以抗御外来致病菌的入侵。这些微生物还能促进肠道内维生素和氨基酸等物质的合成，改善胃肠道的功能、帮助消化和吸收、激活、增强机体免疫功能。

1.2.2.2 水溶性膳食纤维

乳糖醇是氢化碳水化合物，属糖醇类物质。综观其代谢情况，可以发现乳糖醇的代谢与碳水化合物明显不一样：它在小肠道内不被水解和吸收；它在大肠内也不被吸收；它作为一种碳源供肠道微生物发酵利用。所以，在化学上乳糖醇是一种氢化碳水化合物，但在代谢特性上却与膳食纤维有些相似。

1.2.2.3 保肝护肝作用

乳糖醇经肠内菌丛的发酵、分解、氧化后，形成小分子脂肪酸如醋酸、丙酸、丁酸、乳酸及气体如二氧化碳、氢气和沼气等，使肠内 pH 值降低，呈酸性，可与氨形成难以被肠壁吸收的铵盐，随粪便排出体外，减轻肝脏解毒负担。肠内酸性环境能促进钙离子的吸收，有助于无益的、有害的或有毒的物质例如尿素氮、脑内单胺类物质以及亚硝胺类有毒、致病物质等排出体外。

1.2.3 乳糖醇的应用及发展现状

乳糖醇的食用安全性已经通过大量的动物和人体实验证实，FAO/WHO 食品添加剂联合委员会已经批准乳糖醇的使用，并同意其在膳食中“无特殊规定”摄入。乳糖醇最主要的应用在于替代蔗糖加入食品中作为一种综合性能良好的甜味剂。另外乳糖醇可做为品质改良剂用于家畜饲料中以提高动物的嗜好性，也可促进动物体内双歧杆菌增殖。

Bird 等(1990)通过代谢平衡方法测定出乳糖醇在仔猪体内的代谢能水平是 (9.8 ± 1.5) KJ/g，与消化能相当，提示其在动物体内的消化利用率很高。

Piva 等(1996)指出乳糖醇作为一种饲料添加剂可以控制有害的发酵过程，促进短链脂肪酸的产生，显著地降低猪只盲肠中 pH 值及氨的浓度($P < 0.05$)，尤其是在低纤维日粮时表现得更为突出。而对于小肠(回肠)中单糖量、pH 值、氨及挥发性脂肪酸的浓度、菌群数量等并没有显著影响($P > 0.05$) (Gabert, 等, 1995)。Watanabe 等(1995)研究了乳糖醇降低血液中氨浓度的机制：乳糖醇通过降低肠道(结肠)pH 值、缩短肠道内容物在肠道中的停留时间来抑制氨的产生和吸收，从而降低血液中氨的浓度。乳糖醇还可促进体内钙的吸收 (Mineo 等, 2002; Yanahira 1997)。

Piva 等(2002)在日粮中分别添加 0.3%乳糖醇、1%三丁酸甘油酯、0.3%乳糖醇+1%三丁酸甘油酯，研究其对早期断奶仔猪(21 日龄)的影响。结果发现在断奶后第 14 天饲喂乳糖醇及乳糖醇+三丁酸甘油酯的仔猪平均日增重分别比对照组提高 65.4%($P > 0.05$)、127%($P < 0.05$)，在第 42 天相应高出对照组 11.7%($P > 0.05$)、

18.3%($P > 0.05$)。而料重比也得到大幅度地降低。对仔猪肠道的观察表明乳糖醇、乳糖醇+三丁酸甘油酯可以显著地提高空肠粘膜层厚度及肠绒毛的高度 ($P < 0.001$)；可以有效地降低盲肠粘膜层的厚度及隐窝的深度 ($P < 0.001$)

乳糖醇作为一种食品添加剂主要应用在食品领域，在国外发展较为迅速，在动物上主要是一些毒性实验。乳糖醇作为一种膳食纤维，在动物肠道内被分解为短链脂肪酸，而短链脂肪酸是肠粘膜的重要营养因子，在维持肠粘膜的结构和功能及促进肠道免疫功能方面发挥重要的作用。仔猪在早期断奶后面临巨大的应激，肠道的结构和功能都会发生改变，乳糖醇是否能够作为一种肠道结构与功能的调节剂，有待于更多的试验去验证。

1.3 三丁酸甘油酯

三丁酸甘油酯(Tributylin, Tb)是一种短链甘油三酸酯 (Short Chain Triglycerides, SCT)，分子式为 $C_{15}H_{26}O_6$ ，分子量为 302.37。医学研究表明，三丁酸甘油酯作为丁酸盐类似物在体内、体外对许多肿瘤细胞具有抑制生长、诱导分化和(或)凋亡作用 (Chen, 1994; Schröder, 1998; Watkins, 1999; Maier, 2000)。

1.3.1 三丁酸甘油酯的理化性质

三丁酸甘油酯由正丁酸和甘油通过酯化反应得到，产品呈白色的油状液体。不溶于水，易溶于有机溶剂，pH 呈中性，常温下稳定、无毒、耐受性良好。在体内一分子的三丁酸甘油酯能够被酸或血浆酯酶分解为三分子的丁酸。

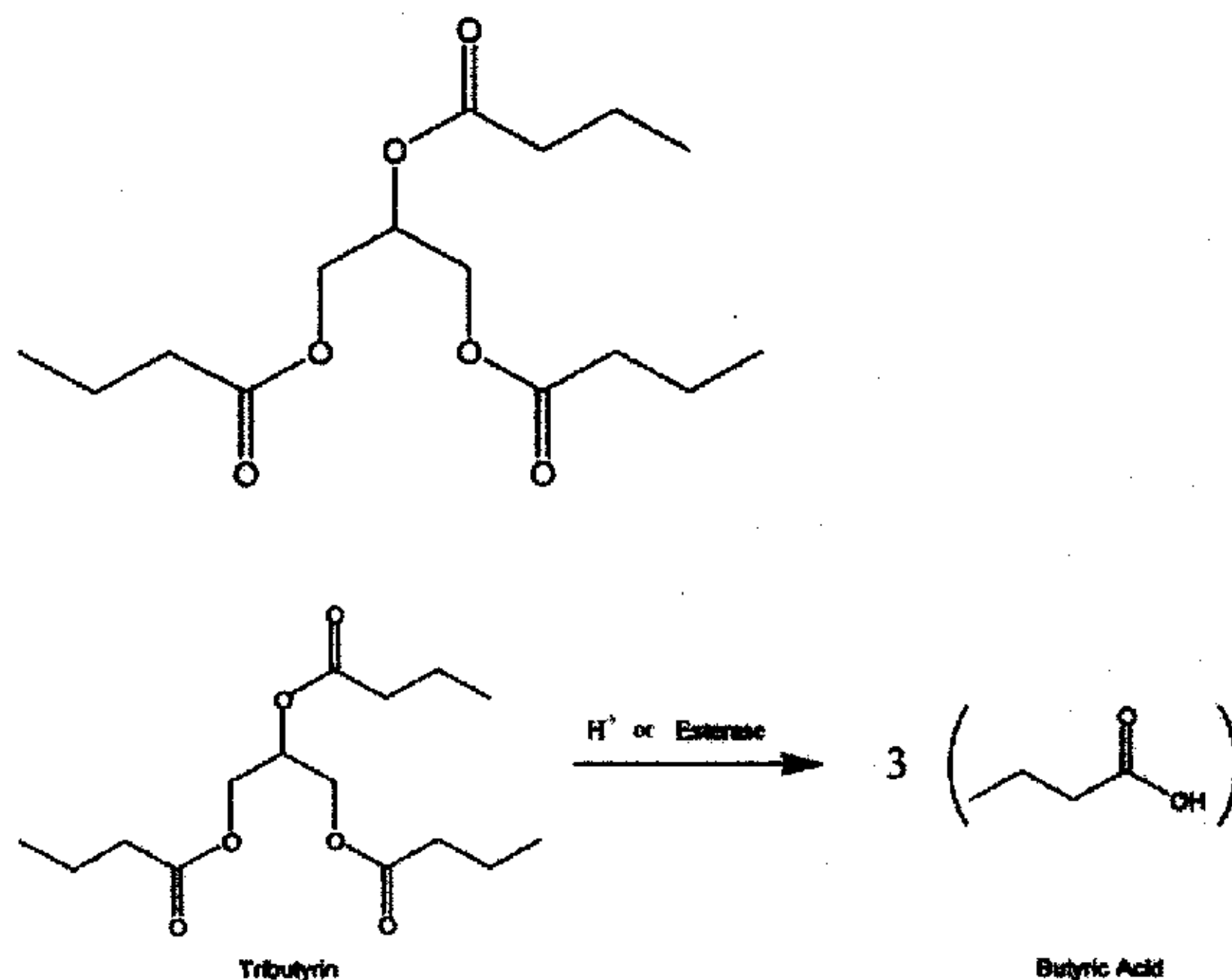


图 2 三丁酸甘油酯的组成及降解

Figure. 2 Composition and degradation of tributyrin

1.3.2 三丁酸甘油酯的消化、吸收及代谢

1.3.2.1 三丁酸甘油酯的消化、吸收

三丁酸甘油酯经口服后进入大肠,在结肠内被酯解为丁酸和甘油。而丁酸是一种短链脂肪酸,可被快速地吸收,随后被用于能量代谢。正常生理状况下,结肠内 SCFA 以阴离子形式存在,但其吸收通过离子与非离子形式进行。经由上皮的非离子形式弥散是主要的。因此,SCFA 的吸收需要肠腔内的阳离子,通过盲肠、近端结肠 Na^+-K^+ 交换,或将 CO_2 转化为碳酸而分解出阳离子与 HCO_3^- 。在细胞内一旦脂肪酸重新离子化,阳离子与 Na^+ 交换,后者通过 Na^+-K^+ ATP 泵出。由于基底侧膜有效的 pH 调节机制,SCFA 的吸收并没有改变大肠的 pH 值。而离子形式的 SCFA 吸收可能经由 $\text{SCFA}^--\text{HCO}_3^-$ 交换,因此,SCFA 吸收过程刺激了肠道 Na^+ 、 Cl^- 吸收以及 HCO_3^- 的分泌,在肠道电解质与水的吸收上 SCFA 起着重要作用。增加吸收面积或吸收时间,提高 SCFA 腔内浓度,可增加其吸收。而丁酸在远端结肠吸收最高,丁酸的吸收有助于水和钠的吸收。如果结肠菌群代谢碳水化合物的能力被抑制或被给予抗生素,碳水化合物仍停留在结肠,而缺乏适当的营养物质吸收途径,则渗透性腹泻就会发生。

1.3.2.2 三丁酸甘油酯的代谢

三丁酸甘油酯在结肠内被分解为丁酸,一旦丁酸为结肠粘膜上皮细胞吸收,就会被结肠粘膜上皮细胞用作能源消耗或进入血液循环。丁酸是结肠粘膜上皮细胞的主要能量来源,可被快速地吸收。研究表明,培养的游离结肠上皮细胞 70% 的氧消耗来自丁酸盐的氧化 (Basson, 1996; Stein, 1996), 70~90% 的丁酸可在结肠内被代谢。

在上皮细胞,丁酸经 β 氧化被代谢。在酪酸酰 CoA 合成酶 (butyryl-CoA-synthetase) 的作用下转变为丁酰辅酶 A (butyryl-CoA), 而后经过一系列的反应生成乙酰辅酶 A (acetyl-CoA)。据报道,在羊体内注射丁酸至少有五分之一被用作肝脏的生酮作用,其余的则被氧化或用于长链脂肪酸的合成。绝大部分丁酸能够被消化道上皮组织及肝脏所利用,仅有极少量进入血液循环。机体几乎所有的组织都可以利用丁酸,在外围组织丁酸被快速地氧化代谢或用于脂肪生成。

丁酸在体内被快速吸收代谢,半衰期很短,医学上为提高丁酸的疗效常采用丁酸的衍生物形式如三丁酸甘油酯,这样并不改变丁酸的生物学特性,而三丁酸甘油酯由于延迟分解从而延长丁酸在体内血浆浓度和作用时间。丁酸酯能在组织中快速扩散,但比丁酸盐排泄慢 100~300 倍,而且低毒性。如三丁酸甘油酯对 HL-60 细胞系的诱导分化作用为丁酸的 4 倍,在小鼠红白血病细胞系为 BA 的 3~4 倍。

1.3.3 三丁酸甘油酯的作用及机制

肠道上皮细胞所需能量主要来源于肠腔。与结肠相反,空肠和回肠粘膜的主要能量来源是谷氨酰胺和葡萄糖。在饥饿状态下,肠腔营养的缺乏能够被来自于平滑肌的谷氨酰胺和长链脂肪酸的氧化所生成的酮体所补偿,而结肠粘膜在早期的营养缺乏中会出现功能和形态上的改变(Scheppach, 1995)。

粘膜的快速生长对于肠道的吻合尤其重要,短链脂肪酸,特别是丁酸盐,能够提高小肠和结肠上皮的增殖(Rombeau 等, 1995; Kripke 等, 1989)。短链脂肪酸促进肠道增殖及功能的机制包括提供能源底物、增加肠血流、刺激胃肠激素生成、刺激自主神经系统等(Rombeau 等, 1995)。另一方面,肠道组织中丁酸盐的缺乏将导致细胞的快速凋亡。

短链脂肪酸,尤其是丁酸盐,对于肠道上皮细胞的代谢极其重要。越来越多的证据表明,肠道粘膜细胞内源性的饥饿是造成远端消化道溃疡性结肠炎和其它一些炎症的原因,脂肪酸脱氢酶或酪酸酰 CoA 合成酶的失活可能也与此有关。脂肪酸氧化的减少会导致结肠上皮细胞屏障功能障碍及随后的免疫功能变化(Roediger, 1995; Scheppach, 1995)。

供给细胞适宜的营养物质对提高肠道外科手术中伤口的愈合、促进胶原蛋白的合成、加强上皮细胞的增殖和分化、改善吸收功能都特别重要(Rombeau, 1995)。而且,在临床营养中这样做的目的之一就是阻止胃肠道形态的萎缩,维持肠粘膜屏障的正常功能(DeMichele, 1995)。临床试验中,短链脂肪酸,特别是丁酸盐,对肠道上皮组织发挥着明显的作用。丁酸盐是肠道能量代谢的必需物质,是粘膜的营养因子。短链脂肪酸可以恢复机体的屏障功能,在体内建立起一套高效的微环境更新系统(Wilson, 1997)。肠道灌注短链脂肪酸可以增加粘膜的生殖、隐窝的深度、粘膜细胞的 DNA 浓度(Jacobasch, 1999)。

结构性的脂质三丁酸甘油酯是短链脂肪酸的较好来源,丁酸盐的产量更高,可以维护肠道的功能,支持上皮组织的修复,而不会像短链脂肪酸或其盐的形式那样增加小肠渗透性(DeMichele, 1995; Stein, 1999)。

1.3.4 三丁酸甘油酯的应用

十多年前, Roediger 首先提出结肠细胞的主要能源是短链脂肪酸,特别是丁酸盐,并指出溃疡性结肠炎患者即使结肠内存在大量短链脂肪酸,其结肠细胞氧化短链脂肪酸的能力也是有限的,从而建立了所谓“营养性结肠炎”假说。当口腔进食少,肠腔的营养(即短链脂肪酸)不足时,数日后即可产生结肠粘膜萎缩,由于营养不良的肠上皮吸收功能降低,就出现腹泻,长期的粘膜营养不良,将导致其功能甚至结构的改变(甚至于溃疡的发生),引起结肠炎症原因至少部分归结于肠腔短链脂肪酸的缺乏(如转流性结肠炎)或粘膜氧化短链脂肪酸能力降低(如溃疡性结肠炎)。

目前, 丁酸盐用于临床治疗的有效形式大多采用三丁酸甘油酯。三丁酸甘油酯是一种短链甘油三酸酯, 可以口服。机体摄入大量的离子化的自由脂肪酸和阳离子(Na^+)会产生毒性及刺激性, 而使用三丁酸甘油酯可以避免这些问题。更为重要的是, 以甘油三脂形式存在的 SCFA 可以提供更加集中的能量形式(DeMichele, 1995)。最后, 1mol 三丁酸甘油酯可以提供 3mol 丁酸盐。动物研究表明, 0.34mmol 的血浆水平可以被接收, 服用三丁酸甘油酯后丁酸盐的半衰期是 40min (Newmark, 1994)。

对结构性脂质所做的研究表明, 它们具有很好的耐受性与安全性 (Stein, 1999)。尽管短链甘油三酸酯具有很好的耐受性, 但也应做进一步的研究评定其风险度及在营养领域的应用效果。然而, 丁酸和其它营养素在肠道的相互作用并没有很好地阐明, 需要做进一步的探讨。因此, 将来研究的目的是确定三丁酸甘油酯在肠道营养中的重要性, 以及最佳的使用剂量。

1.4 研究的内容、目的和意义

断奶, 是仔猪出生后面临的最大应激。由于断奶时仔猪本身发育的特点和其它各方面因素的影响, 极易造成断奶后仔猪生产性能的下降和生长发育的阻滞, 表现为体重和采食量下降, 并伴随不同程度的腹泻等。仔猪断奶过程中受影响最大的是肠道, 无论它的形态、结构和功能都发生了很大的变化, 而肠道不仅是机体消化和吸收营养物质的主要场所, 又是营养物质代谢的重要器官。因此, 为缓解断奶对仔猪所造成的应激, 应设法使断奶后肠道的变化降低至最小, 包括其结构和功能, 即要重视肠道本身的营养需要。

研究表明, 在日粮配方中添加特异的营养素不但能够预防和纠正营养不良, 同时能够维持正常适度的免疫反应, 增强肠屏障功能。目前研究较多并已开始应用于实践的营养素包括谷氨酰胺、短链脂肪酸、丁酸盐等。谷氨酰胺则因其可作为肠粘膜细胞等快速生长和分化细胞的主要能源, 用于维持肠粘膜的结构和功能及促进肠道免疫功能等特点而日益受到重视。短链脂肪酸作为结肠粘膜首选的能源底物, 能够促进结肠上皮细胞增殖与粘膜生长、提供代谢能源、增加肠血流、刺激胃肠激素生成, 是结肠粘膜重要的营养素。而丁酸则被优先吸收作为结肠上皮细胞的主要能量来源。许多体内和体外试验证实丁酸盐能抑制结肠癌细胞的增生, 促进其凋亡及分化, 其对正常肠上皮细胞具有促进增生、抑制凋亡的保护作用。

本试验的目的就是研究谷氨酰胺 (Glutamine, Gln) 及能够产生短链脂肪酸和丁酸的物质乳糖醇 (Lactitol, Lct)、三丁酸甘油酯 (Tributyrin, Tb) 及其混合物 (乳糖醇+三丁酸甘油酯) 对早期断奶仔猪生长性能、肠道结构与功能及血液指标的影响。

通过本次试验可望找到一种营养调控措施来调节早期断奶仔猪的肠粘膜功能, 减少抗生素在饲料中的应用, 减轻断奶应激对仔猪的影响, 从而为仔猪正常的生长和发育提供良好的物质基础。

2 材料与方法

2.1 材料

2.1.1 试验物质

乳糖醇：北京健力药业有限公司提供，批号：20030305，参照标准：FCCIV；
谷氨酰胺：江西城志生物工程有限公司提供，批号：20030409，产品标准：FCCIV；
三丁酸甘油酯：市售生化试剂。

2.1.2 试验动物

选择胎次接近（3~6 胎）、产期及体重相近的健康“长×大”仔猪 120 头，在 21 ± 1 d 一次性断奶，断奶后立即转入保育舍。

仔猪被随机分为五个处理组，每组 3 个重复，每个重复 8 头仔猪。各处理组之间饲喂不同的日粮：（1）对照组，1% 玉米淀粉；（2）谷氨酰胺组，1%；（3）乳糖醇组，0.3%；（4）三丁酸甘油酯组，0.5%；（5）混合组（三丁酸甘油酯+乳糖醇），0.3%+0.5%。试验物质添加不足 1% 部分用玉米淀粉补充。

2.1.3 试验日粮

采用玉米—豆粕—鱼粉—乳清粉型基础日粮，日粮组成及营养含量见表 1。

表 1 日粮组成（%）及营养含量

Table 1 Composition of diets (%) and contents of nutrition

原料	含量（%）	营养含量	
玉米	52.98	消化能（MJ/kg）	13.72
豆粕	22.5	蛋白质（%）	20
乳清粉	8.0	钙（%）	0.95
进口鱼粉	6.5	磷（%）	0.75
植物油	2.3	赖氨酸（%）	1.5
肠膜蛋白粉	2.0	蛋+胱氨酸（%）	0.72
血浆蛋白粉	1.0		
磷酸氢钙	1.2		
石粉	0.75		
食盐	0.15		
赖氨酸	0.2		
防霉剂	0.12		
活性酸	0.3		
预混料	1		
试验物质	1		

注：1% 预混料中含复合维生素、微量元素；营养含量为计算值。

2.2 方法

2.2.1 饲养管理

试验在湖北天种畜牧有限公司进行，按常规方法进行饲养管理。所有圈舍（1.2m×1.0m×0.5m）均为网上平养，条缝式钢筋地板，全封闭式猪舍，舍内平均温度为 25℃。猪只自由采食，自由饮水。整个饲养周期为四周，分为四个阶段，即第一～四周。

2.2.2 生长性能

在断奶当天、断奶后一周、两周、三周、四周末清晨 9:00 对仔猪进行空腹称重，以栏为单位记录各阶段体重、耗料量及腹泻头次。计算平均日增重（ADG）、平均日采食量（ADFI）、料重比（F/G）及腹泻率（diarrhea incidence）。

平均日增重 = (末重 - 初重) / 天数

平均日采食量 = 耗料量 / 天数

料重比 = 耗料量 / 增重

腹泻率 = 腹泻仔猪头次 / 仔猪总头次

2.2.3 血液收集及测定

在仔猪断奶后一周末清晨，空腹称重后每处理组随机选取 3 头（每栏 1 头），前腔静脉采血 10ml，静置 15min，3000r/min 离心 10min，分离血清，-20℃ 保存待测。样品送至武汉市第七医院，采用日立 7020 全自动生化分析仪测定下列指标：

- (1) 血糖 (GLU)：酶连续测定法；
- (2) 尿素氮(BUN)：紫外酶法；
- (3) 总蛋白(TP)：双缩脲法；
- (4) 球蛋白(GLO)：溴甲酚绿法；
- (5) 谷丙转氨酶(ALT)：酶连续测定法；
- (6) 谷草转氨酶(AST)：酶连续测定法；
- (7) 碱性磷酸酶(AKP)：酶连续测定法。

2.2.4 组织取样及处理

仔猪在断奶后一周末采血后被屠宰，颈部放血致死（每处理组 3 头，每栏 1 头）。仔猪被屠宰后立即剖开腹腔，取出小肠，分离出十二指肠、空肠和回肠。从幽门到十二指肠结肠韧带这一段是十二指肠，十二指肠结肠韧带到回盲韧带游离端附着处为空肠，回盲连接口至回盲韧带游离端附着处为回肠。在十二指肠远端、空肠中端及回肠中端分别截取 5cm 和 10cm 的两段相邻肠段。

2.2.4.1 小肠组织切片

5cm 的肠段经冰冻生理盐水轻轻冲洗后用滤纸吸干水分，浸入到 10% 的中性福尔马林溶液中固定，24 小时后取出。将固定的样本经冲洗、脱水、透明、浸蜡、包埋等处理后切片，每段横、纵切各 6 张，厚度为 5 μ m，苏木精-伊红染色，中性树胶封固。

每张切片选取 10 根最长，且走向平直、伸展良好的绒毛，用 HPIAS-1000 高清晰度彩色病理图文分析系统作定量分析，测量其绒毛高度及与之相连的隐窝深度、粘膜厚度、绒毛宽度，并计算绒毛高度与隐窝深度之比值(VH/CD, VCR)，各指标取平均数作为测定数据。

- (1) 绒毛高度 (Villous Height, VH): 从绒毛顶端至隐窝开口处的垂直距离(Touchette,2002);
- (2) 隐窝深度 (Crypt Depth, CD): 从隐窝开口至隐窝基部的垂直距离(Touchette,2002);
- (3) 粘膜层厚度 (Mucosal Thickness, MT): 从粘膜上皮至粘膜肌层(包括肌层)的垂直距离;
- (4) 绒毛宽度 (Villous Width, WD): 绒毛最宽处的距离。

2.2.4.2 小肠粘膜二糖酶活性

用剪刀轻轻地剖开 10cm 的肠段，并用冰冻生理盐水轻轻冲洗肠壁内容物，用滤纸吸干水分，而后用玻璃载玻片或剪刀的钝面刮取肠粘膜(Dahlqvist,1964)，粘膜立即放入液氮中速冻，然后转移至-80℃冰箱中保存待测。取出粘膜，称重，用冰冻的生理盐水稀释(4: 1, vol/wt)，经 DY-I 型电动玻璃匀浆机匀浆 45sec，冷冻离心机(SIGMA 2-16K 型)离心(4℃, 1800 $\times$ g,10min)，分离上清液，置于-20℃冰箱中保存，用于测定酶活及蛋白含量。

酶活测定时取上清液用冰冻的生理盐水稀释(10: 1, vol/wt)，取稀释后的上清液 0.1ml 置于玻璃试管中，并加入相应的底物溶液(0.1ml, 0.056mol/L)。底物分别为乳糖、蔗糖、麦芽糖。试管被放入 37℃ 的恒温水浴中，准确反应 60min 后加入 0.8ml 蒸馏水，立即浸入沸水浴中 2min 以终止反应。同时按上述方法测定空白对照。试管冷却后用葡萄糖试剂盒测定葡萄糖释放量(Oliver,2002)。酶活性定义：37℃ 下每分钟水解 1 μ mol 底物为一个酶活性单位，单位为 μ mol 底物/min 或 U。

上清液蛋白含量的测定采用 Folin-phenol(福林酚)试剂法，以牛血清白蛋白为标准(张龙翔等，1997)。

酶活性的大小采用比活力，酶比活力定义：酶活力大小为酶活性与上清液蛋白含量之比值，单位为 μ mol 底物/min.mg protein 或 U/mg protein。

2.2.5 统计分析

采用 SAS 软件 GLM 程序进行数据分析，并用 DUNCAN 分析作多重比较，显著性水平设为 $P < 0.05$ 。

3 结果与分析

3.1 几种物质对早期断奶仔猪生长性能的影响

表 2. 仔猪生长性能

Table 2. Growth performance of piglets

项目	日粮				
	对照组	谷氨酰胺组	乳糖醇组	三丁酸甘油酯组	混合组
断奶当天					
初始重 (kg)	6.65±0.07	6.59±0.02	6.65±0.05	6.60±0.02	6.62±0.04
第一周					
末重 (kg)	7.08±0.15	7.26±0.21	7.14±0.05	7.07±0.20	7.25±0.05
平均日增重 (g/d)	62.5±26.3	95.8±27.9	69.6±13.5	67.3±27.0	89.3±8.2
平均日采食量 (g/d)	122.3±29.8	149.4±27.2	139.5±16.8	113.7±17.2	129.9±17.8
料重比 (F/G, g/g)	2.06±0.36	1.60±0.22	2.02±0.18	1.79±0.38	1.46±0.25
腹泻率 (%)	16.1±3.1 ^a	8.3±1.0 ^b	11.9±2.7 ^{ab}	9.5±2.7 ^{ab}	8.9±1.8 ^b
第二周					
末重 (kg)	9.63±0.32	10.11±0.51	9.7±0.48	9.81±0.36	9.91±0.10
平均日增重 (g/d)	254.4±22.9	306.1±38.8	261.0±56.6	293.0±18.5	286.0±16.3
平均日采食量 (g/d)	461.3±40.3	456.2±47.7	458.5±72	485.8±68.3	401.7±47.2
料重比 (F/G, g/g)	1.82±0.20 ^a	1.50±0.13 ^{ab}	1.78±0.12 ^{ab}	1.65±0.15 ^{ab}	1.40±0.10 ^b
腹泻率 (%)	7.5±3.1	5.4±3.1	6.1±2.0	6.8±2.4	4.1±2.0
第三周					
末重 (kg)	12.3±0.25	12.81±0.58	12.5±0.44	12.9±0.88	13.1±0.14
平均日增重 (g/d)	378.9±26.6 ^a	385.0±25.4 ^{ab}	404.0±61.3 ^{ab}	442.0±50.0 ^{ab}	462.0±34.7 ^b
平均日采食量 (g/d)	617.7±4.6 ^a	624.5±40.9 ^{abc}	570.7±6.6 ^a	658.2±22.2 ^c	632.0±14.4 ^c
料重比 (F/G, g/g)	1.64±0.11 ^a	1.62±0.06 ^a	1.43±0.21 ^{ab}	1.50±0.21 ^{ab}	1.37±0.13 ^b
腹泻率 (%)	3.4±2.4	4.1±0	2.7±1.2	2.7±1.2	2.7±3.1
第四周					
末重 (kg)	16.05±0.25	16.86±0.81	16.4±0.65	17.1±0.5	17.3±0.38
平均日增重 (g/d)	534.7±15.6	578.2±32.8	558.0±136.0	599.0±71.7	592.0±70.7
平均日采食量 (g/d)	785.4±39.9	801.4±66.5	758.8±70.2	775.9±50.6	753.1±14.7
料重比 (F/G, g/g)	1.46±0.08	1.38±0.07	1.39±0.22	1.30±0.08	1.28±0.12
腹泻率 (%)	0.7±1.2	0.7±1.2	0.7±1.2	0.7±1.2	0.7±1.2

注：同一行上标不同者表示差异显著 (P<0.05)；表中数据均为平均值±标准差。

3.1.1 平均日增重

从图 3 可以看出, 断奶后各阶段添加试验物质组的 ADG 均高于对照组。对照组的 ADG 在四个阶段分别只有 62.5g/d、254.4g/d、378.9g/d、534.7g/d (表 2)。谷氨酰胺在仔猪断奶后的前两周促生长效果较好, ADG 分别达到 95.8g/d、306.1g/d (表 2) 比对照组提高 53.28% ($P>0.05$)、20.32% ($P>0.05$)。乳糖醇相对其它几种试验物质效果较差, 对 ADG 有较弱的改善作用。三丁酸甘油酯除第一周较差外, 其余各周均表现出较好的作用, 其中在第二周与第四周还略微高出混合组。混合组在断奶后的各个阶段 ADG 分别达到 89.3 g/d、286.0 g/d、462.0 g/d、592.0 g/d (表 2), 比对照组分别提高 42.88% ($P>0.05$)、12.42% ($P>0.05$)、21.93% ($P<0.05$)、10.72% ($P>0.05$)。

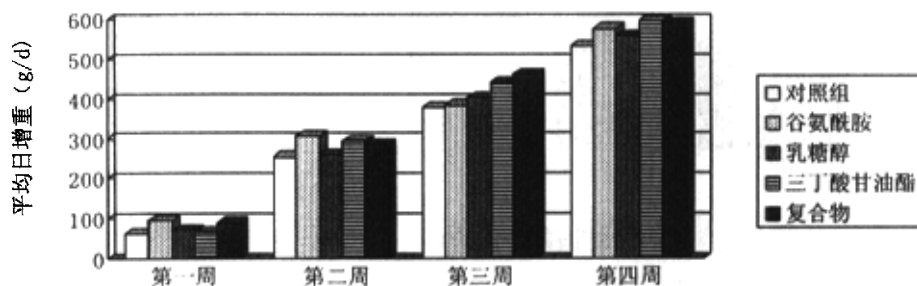


图 3 平均日增重

Figure. 3 Average daily gain

3.1.2 平均日采食量

据表 2 可知, 试验物质对断奶仔猪采食量没有显著影响。如图 4 所示, 与对照组相比, 在某些阶段试验组仔猪的采食量反而出现了降低的情况, 说明试验物质的添加并没有促进仔猪采食量的提高。

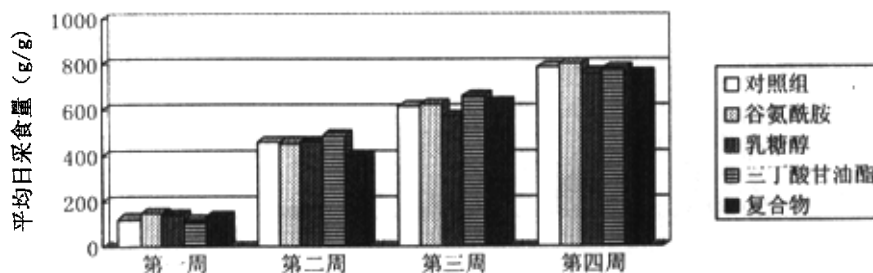


图 4 平均日采食量

Figure. 4 Average daily feed intake

3.1.3 料重比

从图 5 可以看出, 试验物质在降低料重比方面表现出一定的作用, 尤其是混合组的效果最好, 而对照组的料重比在各个阶段均最高。在第一~四周, 对照组的料重比分别为 2.06、1.82、1.64、1.46 (表 2), 而混合组则为 1.46、1.40、1.37、1.28 (见表 2), 料重比分别比对照组降低了 29.13% ($P=0.08$)、23.08% ($P<0.05$)、16.46% ($P<0.05$)、12.33% ($P=0.10$)。谷氨酰胺在断奶后的前两周料重比较低, 分别为 1.60、1.50 (表 2), 比对照组降低了 28.75% ($P>0.05$)、21.33% ($P>0.05$)。乳糖醇对料重比没有显著改善作用。三丁酸甘油酯组的料重比在每个阶段均比对照组低, 没有显著差异。

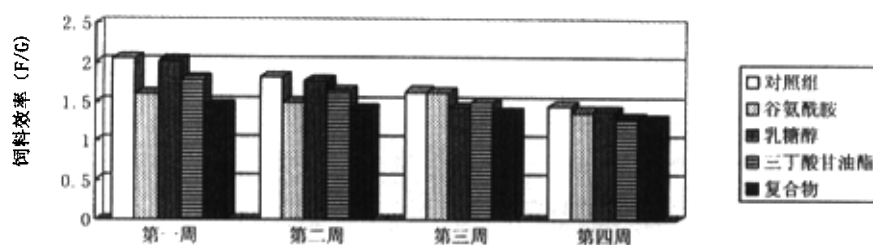


图 5 饲料转化效率

Figure. 5 Feed conversion efficiency

3.1.4 腹泻率

图 6 显示了试验物质对仔猪断奶后腹泻率的影响。从图中可以看出, 断奶后第一周试验物质在控制腹泻率方面有较明显的作用。在第一周, 对照组的腹泻率最高, 达到 16.1%, 而谷氨酰胺组、乳糖醇组、三丁酸甘油酯组、混合组的腹泻率只有 8.3%、11.9%、9.5%、8.9% (表 2), 分别比对照组分别降低了 48.45% ($P<0.05$)、26.09% ($P>0.05$)、41.0% ($P\leq 0.051$)、44.72% ($P<0.05$), 而在以后阶段各组腹泻率趋于一致。

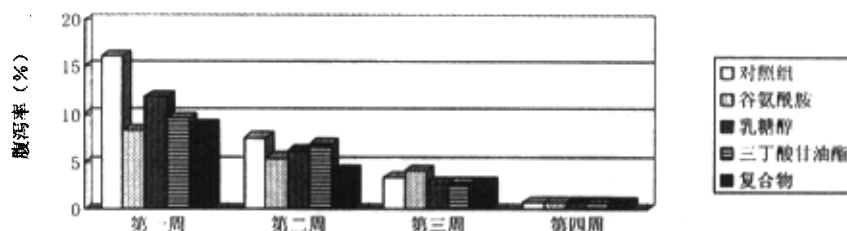


图 6 腹泻率

Figure. 6 Incidence of diarrhea

3.2 几种物质对早期断奶仔猪小肠形态的影响

表 3. 小肠形态

Table 3. Small intestine modality

项目	日粮				
	对照组	谷氨酰胺组	乳糖醇组	三丁酸甘油酯组	混合组
十二指肠					
绒毛高度 (μm)	368.7 $\pm$ 102.9	304 $\pm$ 56.4	303 $\pm$ 43.1	329.3 $\pm$ 55.2	384.3 $\pm$ 34.5
隐窝深度(μm)	236.7 $\pm$ 45.4 ^a	163 $\pm$ 51.1 ^{ab}	187 $\pm$ 29.5 ^{ab}	137 $\pm$ 26.3 ^b	164.7 $\pm$ 86.1 ^{ab}
VH/CD	1.54 $\pm$ 0.13	1.91 $\pm$ 0.21	1.62 $\pm$ 0.04	2.53 $\pm$ 0.97	2.66 $\pm$ 0.96
粘膜厚度(μm)	682 $\pm$ 102.4 ^{ab}	675 $\pm$ 49.2 ^{ab}	668.7 $\pm$ 36.4 ^b	618.7 $\pm$ 14.5 ^b	762.3 $\pm$ 38.5 ^a
绒毛宽度(μm)	142 $\pm$ 18 ^{ab}	144 $\pm$ 8.7 ^a	150.3 $\pm$ 4.0 ^a	113 $\pm$ 5 ^b	150.7 $\pm$ 43.7 ^{ab}
空肠					
绒毛高度 (μm)	299 $\pm$ 87.0 ^{ab}	367 $\pm$ 58 ^a	240.3 $\pm$ 40.7 ^b	292.3 $\pm$ 40.5 ^{ab}	433 $\pm$ 130.6 ^{ab}
隐窝深度(μm)	180 $\pm$ 55.7	183 $\pm$ 15.7	151.3 $\pm$ 41.7	146.7 $\pm$ 25.9	200 $\pm$ 43.9
VH/CD	1.67 $\pm$ 0.13 ^a	2.00 $\pm$ 0.15 ^b	1.66 $\pm$ 0.45 ^{ab}	2.03 $\pm$ 0.40 ^{ab}	2.14 $\pm$ 0.26 ^b
粘膜厚度(μm)	682.7 $\pm$ 95.4	669.3 $\pm$ 46.1	604.3 $\pm$ 31.5	600.7 $\pm$ 66.5	698 $\pm$ 88.6
绒毛宽度(μm)	128.3 $\pm$ 5.9 ^a	103 $\pm$ 8.5 ^b	110.7 $\pm$ 19.0 ^{ab}	114.7 $\pm$ 11.0 ^{ab}	122.3 $\pm$ 22.7 ^{ab}
回肠					
绒毛高度 (μm)	377.3 $\pm$ 109.5	339 $\pm$ 42.6	385.3 $\pm$ 52.5	413 $\pm$ 42	427.3 $\pm$ 51.0
隐窝深度(μm)	197.7 $\pm$ 30.2 ^{ab}	156 $\pm$ 15.3 ^{ac}	197.7 $\pm$ 8.3 ^b	126.3 $\pm$ 21.2 ^c	145.3 $\pm$ 17.0 ^c
VH/CD	1.90 $\pm$ 0.43 ^b	2.20 $\pm$ 0.46 ^{bc}	1.95 $\pm$ 0.24 ^b	3.29 $\pm$ 0.22 ^a	2.96 $\pm$ 0.37 ^{ac}
粘膜厚度(μm)	692.7 $\pm$ 206.3	659.7 $\pm$ 78.2	736.3 $\pm$ 38.7	708 $\pm$ 106.6	771.3 $\pm$ 78.7
绒毛宽度(μm)	151.3 $\pm$ 6.0 ^a	129.7 $\pm$ 36 ^{ab}	136 $\pm$ 10.6 ^{ab}	127 $\pm$ 9.6 ^b	133.3 $\pm$ 11.7 ^{ab}

注：同一行上标不同者表示差异显著 ($P < 0.05$)；表中数据均为平均值 $\pm$ 标准差。

3.2.1 绒毛高度

从图 7 可以看出，混合物在维持小肠的绒毛形态方面作用效果最好，混合组仔猪各肠段都具有最高的绒毛高度。谷氨酰胺可以防止空肠绒毛的萎缩，而在其它肠段绒毛高度却较低；乳糖醇无助于维持小肠绒毛的高度；三丁酸甘油酯提高了回肠绒毛的高度，而在十二指肠、空肠却出现了降低的情况。

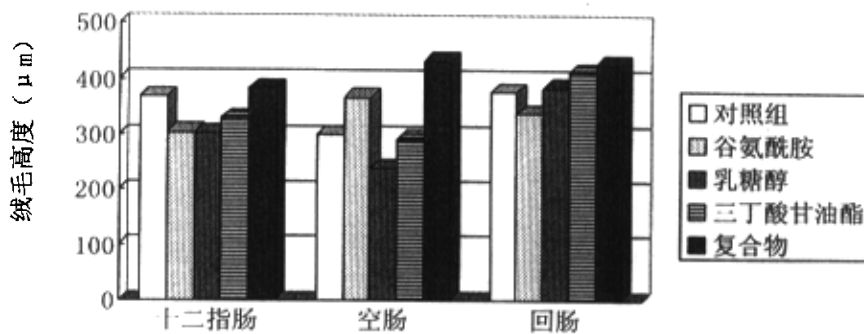


图 7 绒毛高度

Figure.7 Villus height

3.2.2 隐窝深度

如图 8 所示，试验物质在各肠段表现的作用不尽相同，但总体上可以防止仔猪断奶后的隐窝增生。试验物质尤以三丁酸甘油酯的效果最好，显著降低了十二指肠的隐窝深度（据表 3）。结合图 7 可以看出，尽管有的肠段绒毛高度出现了降低的情况，但隐窝深度却没有表现出加深的趋势。

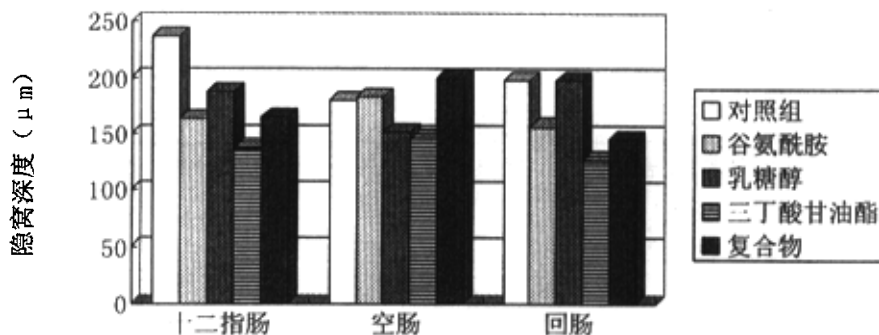


图 8 隐窝深度

Figure. 8 Crypt depth

3.2.3 绒毛高度与隐窝深度比值

图 9 显示了小肠各部分的 VCR 值。仔猪断奶后会出现绒毛萎缩、隐窝增生等症状，VCR 值是反应肠粘膜形态是否正常的重要指标。从图 9 可以看出，除乳糖醇外各试验物质均提高了小肠各段的 VCR 值，以三丁酸甘油酯及混合物的效果最好。经表 3 计算可得，在十二指肠，三丁酸甘油酯及混合物使 VCR 值分别提高了 64.29% ($P>0.05$)、72.73% ($P>0.05$)，在空肠为 21.56% ($P>0.05$)、28.14% ($P>0.05$)，回肠为 73.16% ($P<0.05$)、55.79% ($P<0.05$)。

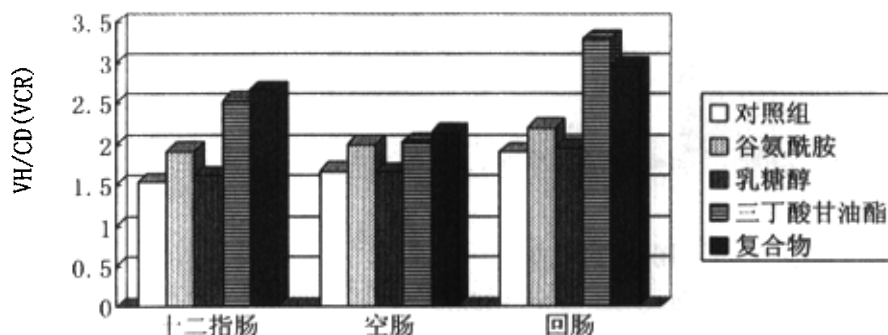


图 9 绒毛高度与隐窝深度比值

Figure. 9 Villus height : Crypt depth ratio

3.2.4 粘膜厚度

由图 10 可以看出，混合物提高了小肠各段粘膜层厚度，其余各试验物质与对照组相当或较差，但没有显著影响。

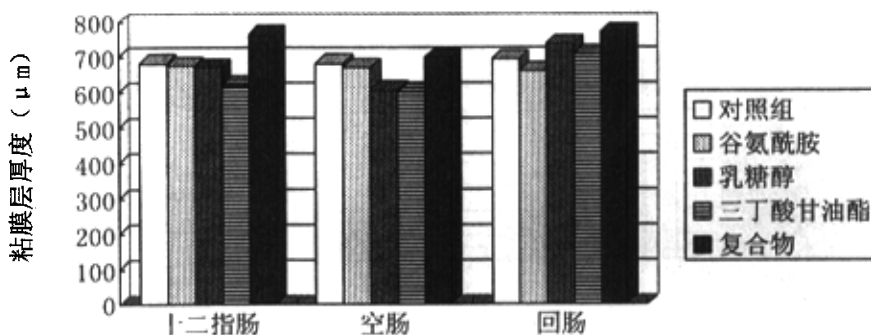


图 10 粘膜厚度

Figure. 10 Mucosal thickness

2.5 绒毛宽度

仔猪断奶前绒毛细长而窄，断奶后受应激的影响变短较宽，使单位面积上的肠绒毛数减少，吸收面积降低，影响消化功能。从图 11 可以看出，试验物质在防止仔猪断奶后绒毛臃肿方面具有一定的作用，尤其在空肠和回肠，对照组的绒毛宽度均高于试验组。结合表 3 可知，在空肠谷氨酰胺组绒毛宽度最低，显著低于对照组 ($P<0.05$)，在回肠与对照组相比，三丁酸甘油酯的绒毛宽度要显著窄一些 ($P<0.05$)。

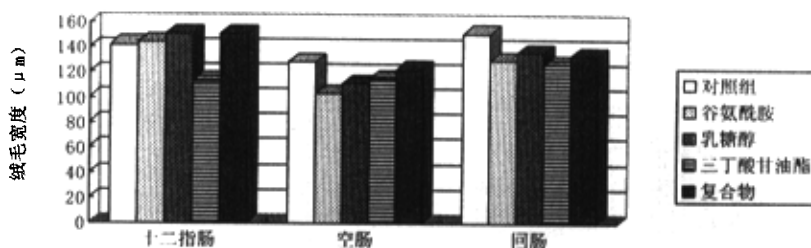


图 11 绒毛宽度

Figure. 11 Villus width

3.3 几种物质对早期断奶仔猪小肠粘膜二糖酶活性的影响

3.3.1 乳糖酶活性

由图 12 可以看出，乳糖酶的活性在小肠前段较高，而后段均很低。在十二指肠，以对照组酶活为最低 (7.68U/mg 蛋白)，试验物质表现出提高乳糖酶活性的趋势，特别是三丁酸甘油酯 (13.39 U/mg 蛋白)，酶活提高的幅度最大，达到 74.35% ($P>0.05$)。在空肠，只有混合组酶活被提高了，其余各组与对照组相比均降低了，结合表 4 可知，混合物使酶活提高了 50% ($P>0.05$)，且与乳糖醇组、三丁酸甘油酯组呈现差异显著性 ($P<0.05$)。

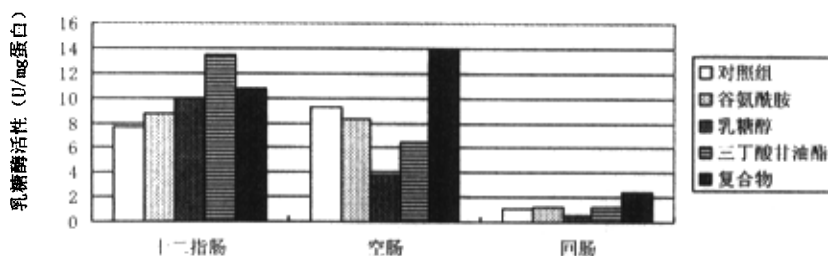


图 12 乳糖酶活性

Figure. 12 Lactase activity

3.3.2 蔗糖酶活性

由图 13 可以看出, 蔗糖酶活性在小肠后段较高, 而前段较低。混合物有助于小肠后段蔗糖酶活性的提高, 在空肠及回肠蔗糖酶活性比对照组分别被提高了 116.96 % ($P<0.05$)、51.78 % ($P>0.05$); 其余各物质对蔗糖酶活性没有显著影响。

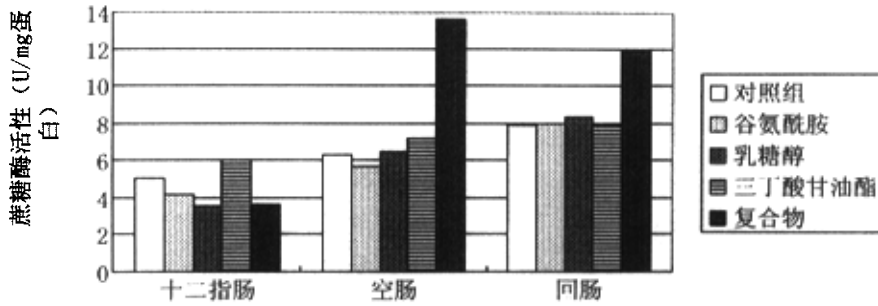


图 13 蔗糖酶活性

Figure. 13 Sucrase activity

3.3.3 麦芽糖酶活性

由图 14 可以看出, 麦芽糖酶活性在小肠后段较高, 前段较低。据表 4 可知, 在回肠, 谷氨酰胺和三丁酸甘油酯使麦芽糖酶的活性分别提高了 29.95 % ($P>0.05$)、69.83 % ($P>0.05$)。而在十二指肠及空肠 (三丁酸甘油酯除外), 试验组的酶活要低于对照组, 但没有显著性差异。

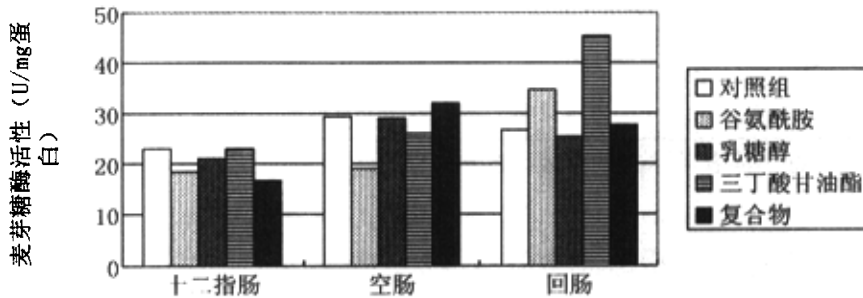


图 14 麦芽糖酶活性

Figure. 14 Maltase activity

表 4. 二糖酶活性(U/ mg 蛋白)

Table 4. Disaccharidase activity (U/mg protein)

项目	日粮				
	对照组	谷氨酰胺组	乳糖醇组	三丁酸甘油酯组	混合组
十二指肠					
乳糖酶	7.68 ±1.39	8.75 ±1.30	10.01 ±1.03	13.39 ±3.53	10.70 ±3.83
蔗糖酶	5.04 ±1.73	4.12 ±0.14	3.49 ±0.90	6.06 ±2.39	3.59 ±0.23
麦芽糖酶	23.03 ±7.48	18.47 ±2.23	21.08 ±7.96	22.98 ±8.35	16.67 ±2.44
空肠					
乳糖酶	9.30 ±3.87 ^{abc}	8.40 ±2.86 ^{abc}	3.80 ±0.82 ^a	6.46 ±1.20 ^b	13.95 ±4.36 ^c
蔗糖酶	6.25 ±1.53 ^a	5.68 ±1.06 ^a	6.49 ±2.29 ^a	7.15 ±1.33 ^a	13.56 ±3.45 ^b
麦芽糖酶	29.41 ±5.96	19.17 ±6.46	29.00 ±12.95	25.92 ±9.69	31.98 ±6.62
回肠					
乳糖酶	1.08 ±0.15 ^b	1.21 ±0.53 ^{abc}	0.52 ±0.14 ^a	1.19 ±0.25 ^b	2.40 ±2.97 ^{abc}
蔗糖酶	7.86 ±0.84	8.02 ±4.22	8.35 ±3.27	7.93 ±2.72	11.93 ±3.28
麦芽糖酶	26.58 ±8.12	34.54 ±13.78	25.20 ±9.13	45.14 ±19.14	27.65 ±7.69

注：同一行上标不同者表示差异显著（P<0.05）；表中数据均为平均值±标准差。

3.4 几种物质对早期断奶仔猪血液指标的影响

如表 5 所示，试验物质对仔猪断奶后血液指标虽有影响，但无统计学上差异（P>0.05）。

3.4.1 血清葡萄糖

添加试验物质组的仔猪血清葡萄糖（GLU）含量均不同程度降低了。

3.4.2 尿素氮

试验组尿素氮 (BUN) 的含量均比对照组要高, 尤以谷氨酰胺组为最高, 比对照组提高了 36.16% ($P>0.05$)。

3.4.3 血清蛋白

血清总蛋白 (TP) 含量除混合组较低外, 其余各组比较接近; 球蛋白含量 (GLO) 及 GLO/TP 值对照组均低于试验组。

3.4.4 血清酶活性

三丁酸甘油酯组谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST) 的活性比对照组要高; 其余各试验物质组谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST)、碱性磷酸酶 (AKP) 的活性与对照组相比较低。

表 5. 血液指标

Table 5. blood measurements

项目	日粮				
	对照组	谷氨酰胺组	乳糖醇组	三丁酸甘油酯组	混合组
血清葡萄糖	7.42	6.98	6.73	7.33	6.44
(GLU, mmol/L)	± 0.37	± 0.55	± 0.49	± 0.48	± 0.90
尿素氮	3.65	4.97	4.7	4.15	3.72
(BUN, mmol/L)	± 0.13	± 1.41	± 1.40	± 0.73	± 0.42
总蛋白	46.43	45.73	44	47.43	37.57
(TP, g/L)	± 4.10	± 4.99	± 3.87	± 4.92	± 5.94
球蛋白	12.93	14.9	14.23	13.87	13.43
(GLO, g/L)	± 3.50	± 4.79	± 0.55	± 1.10	± 1.91
球蛋白/总蛋白	0.28	0.32	0.32	0.29	0.36
(GLO/TP)	± 0.054	± 0.075	± 0.033	± 0.04	± 0.053
谷丙转氨酶	44.33	33.67	40.67	46.33	37
(ALT, U/L)	± 12.34	± 7.09	± 12.90	± 8.33	± 16.09
谷草转氨酶	72.67	63	55.33	81.33	68
(AST, U/L)	± 26.50	± 19.92	± 19.66	± 8.39	± 13.11
碱性磷酸酶	321	265	252	216.67	298
(AKP, U/L)	± 97.53	± 14.53	± 71.34	± 89.61	± 61.65

注: 同一行上标不同者表示差异显著 ($P<0.05$); 表中数据均为平均值 $\pm$ 标准差。

4 讨论

谷氨酰胺是动物血液和母猪乳汁中一种含量非常丰富的氨基酸(Wu等, 1994), 在促进受损肠细胞的修复以及维持正常的局部免疫功能中发挥着重要的作用(Souba等, 1990)。仔猪断奶后不再吮食母乳且短期内采食量低, 可能会引起Gln的缺乏, 从而导致断奶后肠道的应激、代谢紊乱以及生产性能的下降。

乳糖醇在口腔、胃及小肠内都很稳定, 基本上不会被消化吸收。当进入大肠后, 尤其在结肠末段, 被发酵成短链脂肪酸, 能促进双歧杆菌增殖, 也能使其它有益菌如乳酸杆菌等大量繁殖, 有助于体内微生态的平衡。

三丁酸甘油酯是一种短链甘油三酸酯, 在体内(大肠)被分解生成正丁酸和甘油, 其发挥作用的有效成分是正丁酸, 丁酸是结肠粘膜重要的营养素。

谷氨酰胺、短链脂肪酸、丁酸都是影响肠道结构和功能的重要营养因子。

4.1 几种物质对早期断奶仔猪生长性能的影响

4.1.1 谷氨酰胺

试验结果表明, 在早期断奶仔猪日粮中添加Gln可以提高断奶后前两周的平均日增重及饲料效率, 显著降低第一周的腹泻率($P<0.05$)。

Wu等(1996)用21d仔猪进行试验, Gln添加水平分别为0.2%、0.6%、1.0%, 发现在断奶后第一周, 日粮中添加Gln对仔猪日增重、肉料比没有影响; 在第二周添加1.0%Gln组的效果最佳, 其肉料比增加了25%($P<0.05$)。刘涛等(1999)探讨了外源性谷氨酰胺对28d断奶仔猪生产性能的影响, Gln的添加水平分别为0.7%、1.0%、1.3%, 结果显示, 在断奶后第1周内添加1%Gln可以改善28日龄断奶仔猪的平均日增重($P<0.05$), 降低腹泻率。因此本试验将Gln添加水平定为1%。

本试验的结果与Wu等(1996)、刘涛(1999)的基本类似, 即1%的Gln可以改善仔猪早期断奶后短期内的生长性能。仔猪断奶后生产性能下降, 原因可能是断奶导致母乳中Gln源的消失。Gln是母猪乳中最丰富的氨基酸。Wu等(1994)研究发现, 在29d的泌乳期中, 母猪乳中的游离Gln的浓度逐渐增加, 在泌乳期的第22d和第29d乳中Gln分别达到1.9mmol/L脱脂乳和3.4mmol/L脱脂乳, 占NEAA总量分别为31%和43%, 远超过其它氨基酸浓度。而在以后的阶段再在日粮中添加谷氨酰胺效果不明显, 这可能是因为仔猪在此时已能够合成足够的Gln来满足机体的需要, 此时日粮中无需再添加Gln。

4.1.2 乳糖醇、三丁酸甘油酯及其混合物

混合物组在整个阶段生长性能均较好；乳糖醇组与对照组相比没有显著差异；三丁酸甘油酯除第一周效果不佳外，其余各周对生长性能均有较好的促进作用。

Piva 等 (2002) 在日粮中分别添加 0.3% 乳糖醇、1% 三丁酸甘油酯、0.3% 乳糖醇 + 1% 三丁酸甘油酯，研究其对早期断奶仔猪 (21 日龄) 的影响。结果发现在断奶后 14 天饲喂混合物的仔猪活重 (19%, $P < 0.05$) 及平均日增重 (127%, $P < 0.01$) 比对照组或三丁酸甘油酯组显著提高，乳糖醇则显示出提高仔猪活重及日增重 (65%, $P = 0.15$) 的趋势；在断奶后 14 天到 42 天饲喂三丁酸甘油酯的仔猪与对照组相比表现出降低仔猪活重 (-20%, $P = 0.054$) 及平均日增重 (-34%, $P = 0.08$) 的趋势，而乳糖醇及混合物对仔猪生长性能也没有多少改善作用 ($P > 0.05$)；在整个试验期间，三丁酸甘油酯显著地降低了饲料效率 (-20%, $P < 0.05$)。关于三丁酸甘油酯所带来的负面效应，Piva 认为是由于添加水平较高所致。所以，在本次试验中将三丁酸甘油酯的水平定为 0.5%，乳糖醇仍为 0.3%，相应的混合物水平为 0.3%+0.5%。

从本试验的结果来看，日粮中添加 0.3% 乳糖醇没有产生什预期效应，与 Piva 的结果相反，造成这种结果的原因可能与猪的品种、日粮类型、添加剂量等因素有关。另外，Piva 等 (1996) 指出乳糖醇作为一种饲料添加剂可以控制有害的发酵过程，促进短链脂肪酸的产生，显著地降低猪只盲肠中 pH 值及氨的浓度 ($P < 0.05$)，尤其是在低纤维日粮时表现得更为突出。乳糖醇在代谢特性上与膳食纤维有些相似，本次试验的结果不够理想，是不是因为日粮配方中粗纤维含量已足够，无需再添加乳糖醇？关于在断奶仔猪日粮中添加乳糖醇是否能够提高生长性能及最佳添加剂量的问题仍有待更多的试验去研究。

在日粮中添加 0.5% 三丁酸甘油酯有提高生长性能的趋势，说明三丁酸甘油酯在低剂量时表现出促进仔猪生长性能的作用，且后期要优于前期，这可能是由于三丁酸甘油酯并不像丁酸那样是结肠快速的能量供体，发挥作用需要的时间较长，且具有持续的作用。丁酸在体内被快速吸收代谢，半衰期很短，医学上为提高丁酸的疗效常采用丁酸的衍生物形式如三丁酸甘油酯，这样并不改变丁酸的生物学特性，而三丁酸甘油酯由于延迟分解从而延长丁酸在体内血浆浓度和作用时间，丁酸酯能在组织中快速扩散，但比丁酸盐排泄慢 100~300 倍，而且低毒性。如三丁酸甘油酯对 HL-60 细胞系的诱导分化作用为 BA 的 4 倍，在小鼠红白血病细胞系为 BA 的 3~4 倍。

两个试验的共同点就是混合物均显现出明显的改善断奶仔猪生长性能的作用。说明试验物质的联合使用比单一一种物质在防止仔猪断奶后生长性能下降方面更具有优势。

4.2 几种物质对早期断奶仔猪小肠形态的影响

许多研究表明,断奶会导致绒毛萎缩、隐窝增生等症状(Hornich等,1973; Gay等,1976; Kenworthy,1976; Hampson,1986a,b; Miller等,1986; Cera等,1988; Kelly等,1990,1991b,c; Nabuurs等,1993; Pluske等,1996a,b),而仔猪的小肠形态可以反应其肠道的健康状况(Argenzio等,1990; Li等,1990; Zijlstra等,1996)。断奶后仔猪肠绒毛萎缩,隐窝增生,这些消化道形态和功能的显著变化被认为是引起消化道消化吸收功能下降,最后造成断奶后生长受阻的根本原因。

影响断奶后仔猪消化道结构和功能变化的因素很多,包括小肠病原性细菌、对断奶应激源的不适应性、母乳作用的消失、营养物质的缺乏、日粮改变以及细胞动力素对断奶仔猪胃肠道的影响等几个方面。

4.2.1 谷氨酰胺

研究证明,小肠上皮具有很高的Gln摄取率和利用率,这与其粘膜细胞的高周转代谢相一致。Gln既能作为肠粘膜细胞能量代谢的底物,又能为其快速周转的蛋白质和核酸提供原料。Windmueller和Spaeth(1974, 1978)在大鼠、猫、狗以及猴等动物试验中均发现,Gln是其肠道不可缺少的供能物质。注入外源Gln酶,诱导血浆中Gln耗竭将会导致小肠粘膜的水肿、溃疡和部分坏死。提供标准肠外营养(不含Gln),可观察到肠粘膜的萎缩,添加Gln后可缓解萎缩,同时增加小肠和空肠粘膜的细胞结构。

本研究的结果显示,在日粮中添加谷氨酰胺可防止断奶后7天内空肠的萎缩。Wu等(1996)报道在仔猪玉米-豆饼型日粮中添加1%谷氨酰胺,可防止断奶后7天空肠绒毛形态异常。刘涛(2002)通过试验也得到相同的结果。张军民等(2002)报道,日粮添加1.2%谷氨酰胺可显著增加试验组仔猪空肠DNA含量,但对回肠DNA和肠道蛋白质无显著影响;可显著增加试验组仔猪35日龄粘膜厚度和49日龄空肠绒毛高度,对十二指肠绒毛高度和粘膜厚度无显著影响。电镜观察结果表明,日粮添加谷氨酰胺可以改善35日龄仔猪空肠中端微绒毛的形态和结构,减少小肠上皮细胞的损伤。本试验的结果与Wu等(1996)、刘涛(1999)、张军民等(2002)的基本相同,即给仔猪提供外源性Gln可防止空肠绒毛的萎缩,对维持肠道的结构和功能具有重要作用。但添加谷氨酰胺对十二指肠和回肠并没有什么影响,可能与谷氨酰胺的代谢以在空肠为主有关(Windumeller,1982)。

谷氨酰胺在猪乳游离型或蛋白质结合型氨基酸中含量最丰富。断奶后肠细胞谷氨酰胺氧化速率的加快表明谷氨酰胺作为断奶仔猪肠细胞代谢的能量物质非常重要。因而可以认为谷氨酰胺是断奶仔猪的“条件性必需氨基酸”。当断奶时母源谷氨酰胺的提供中断,而仔猪体内从肌肉、血浆供给肠上皮的量又不足以维持绒毛完整性时,添加谷氨酰胺可作为增强仔猪断奶后胃肠道结构和功能的一种手段。

4.2.2 乳糖醇、三丁酸甘油酯及其混合物

乳糖醇和三丁酸甘油酯在小肠内基本不会被代谢吸收, 在大肠内分别被分解为短链脂肪酸和正丁酸, 而短链脂肪酸和丁酸是结肠粘膜重要的营养素。本试验的结果表明, 乳糖醇和三丁酸甘油酯对小肠的前段(十二指肠、空肠)没有什么影响, 甚至有些负面的影响(如绒毛高度降低), 而在小肠的后段(回肠)表现出一定的效应。而混合物可以较好地维持整个肠段的粘膜形态结构。

虽然短链脂肪酸(或丁酸)并不是小肠粘膜的主要能量来源, 然而, 丁酸盐对小肠也显示出有效的作用。对大鼠所做的研究表明, 口服生理浓度剂量的 SCFA 能够降低由抑制细胞生长的阿糖胞嘧啶(Ara-C)所引起的肠道粘膜炎症。接收 SCFA 治疗的大鼠与对照组相比肠粘膜具有更高的蛋白、核苷酸浓度, 肠绒毛高度也有所增加, 而隐窝深度却没有改变(Romas 等, 1997)。体外试验表明, SCFA 能增加肠道上皮细胞的迁移(Wilson 和 Gibson, 1997)。粘膜的快速生长对于肠道的吻合尤其重要, 短链脂肪酸, 特别是丁酸盐, 能够提高小肠和结肠上皮的增殖(Rombeau 等, 1995; Kripke 等, 1989)。SCFA 促进小肠粘膜细胞增殖、维护肠粘膜形态的作用机制包括提供能源底物, 增加肠血流, 刺激胃肠激素生成, 刺激自主神经系统等(Rombeau 等, 1995)。口服 SCFA 可以促进受损的上皮细胞痊愈, 降低炎症发生率(Romas 等, 1997)。另一方面, 肠道组织中丁酸盐的缺乏将导致细胞的快速凋亡。

总之, 在小肠中短链脂肪酸或丁酸可能也是一种维持肠道健康、修复粘膜损伤的重要营养因子(Wächtershauser, 2000)。

4.3 几种物质对早期断奶仔猪小肠粘膜二糖酶活性的影响

研究证明, 淀粉水解的单糖可自由通过肠壁上皮细胞, 而淀粉的其它水解产物包括麦芽糖、麦芽三糖和极限糊精, 不能被肠壁直接吸收, 必须由粘膜二糖酶水解成单糖后吸收利用(程志斌, 葛长荣, 2002)。所以, 粘膜二糖酶在碳水化合物的利用方面起着至关重要的作用。没有粘膜二糖酶的存在, 就没有糖类物质的彻底分解, 更没有单糖的吸收、转化和利用(Siddons, 1972; Uni 1998)。故有学者建议将二糖酶的发育作为小肠分化和对日粮物质适应情况的标识。

Siddons(1969)报道在小肠中二糖酶绝大部分分布于粘膜表面, 在内容物中其活性不足总活性的 5%。麦芽糖酶(EC 3.2.1.20)、蔗糖酶(EC 3.2.1.48)和乳糖酶(EC 3.2.1.23)是 3 种最重要的二糖酶, 分别水解麦芽糖、蔗糖和乳糖变成相应的单糖而被动物吸收(Pappenheimer, 1993)。仔猪断奶后, 小肠绒毛高度减少和隐窝深度增加通常与刷状缘乳糖酶和蔗糖酶的特殊活性下降相关联。Aumaitre 等(1978)报道, 初生仔猪小肠内麦芽糖酶和蔗糖酶活性都很低, 而乳糖酶的活性较高, 是肠道内的优势酶, 2~5 周龄乳糖酶的活性持续下降, 而麦芽糖酶和蔗糖酶活性迅速增加, 到 10~

16日龄达到最高峰。Gay 等(1976),Hampson and Kidder(1986),Miller 等(1986)报道报道仔猪断奶后 4~5 天乳糖酶和蔗糖酶活性降至最低。乳糖酶比蔗糖酶活性下降更严重可能是因为乳糖酶更多的分布在绒毛顶端的缘故(Tsuboi 等,1985)。

关于这几种物质及其混合物对仔猪肠粘膜二糖酶活性影响的报道几乎没有。本次试验中,各试验物质提高了十二指肠乳糖酶的活性,对于小肠后段部分蔗糖酶、麦芽糖酶活性有较明显的提升作用,谷氨酰胺和三丁酸甘油酯使回肠麦芽糖酶的活性提高了 29.9%($P>0.05$)、69.83%($P>0.05$),混合物使空肠蔗糖酶活性提高了 116.96%($P<0.05$)。Dahlqvist(1961)报道二糖酶在猪消化道内的分布不均匀。蔗糖酶、麦芽糖酶主要分布在小肠的后段,而乳糖酶主要分布在小肠的前段。Dahlqvist 等(1963)在大鼠的体内和体外试验中也证实,蔗糖主要在小肠后段吸收,而葡萄糖和乳糖主要在小肠前段吸收。本试验的基础日粮配方中含有 8%的乳清粉,十二指肠乳糖酶活性的提高更有助于乳清粉的消化和吸收,而空肠及回肠中蔗糖酶、麦芽糖酶活性的提高将有利于淀粉等碳水化合物的分解与利用。

4.4 几种物质对早期断奶仔猪血液指标的影响

这几种物质对仔猪血清代谢物水平影响的报道几乎没有,从试验结果来看血液指标水平变化不大,试验物质对仔猪血液指标并没有显著影响($P>0.05$)。

4.4.1 血清葡萄糖

许多学者认为,应激会造成血清葡萄糖(GLU)含量升高。本试验的结果表明,添加试验物质组的仔猪 GLU 含量均低于对照组,说明试验物质可以缓解断奶应激。

4.4.2 尿素氮

尿素是仔猪含氮物质代谢的主要终产物。当日粮中含氮物质含量增高,或体内氨基酸代谢旺盛,或组织遭受破坏,核蛋白清除量增加,或肾功能障碍,血中尿素得不到正常清除时等都会使血清尿素氮(BUN)浓度升高。因此,许多以健康仔猪进行营养代谢的研究均把血清尿素氮作为动物体内蛋白质代谢和日粮氨基酸平衡状况的较为准确的反映指标(Borg 等,1987;Malmlof 等,1988)。从本试验的结果看,对照组的血清 BUN 含量要低,而试验组较高。对照组较低的原因可能是仔猪断奶后营养性应激会使营养物质(包括含氮物质)摄入减少,似有可能使血清尿素氮减少,但仔猪机体在应激时血清尿素氮的来源与去除相当复杂,需要做更多的试验去探索尿素氮的变化规律。

4.4.3 血清蛋白

仔猪的血清蛋白(TP)是机体蛋白质的一个来源,用于修补组织和提供能量。球蛋白(GLO)来源于浆细胞的分泌,能反映仔猪的抵抗力。试验组仔猪血液球蛋

白含量及 GLO/TP 均被提高,说明试验物质有助于仔猪机体免疫机能的增强。

4.4.4 血清酶活性

一般文献报道的酶活测定范围是:ALT, 8~46IU/L; AST, 21~94 IU/L; ALP, 142~891 IU/L; CK, 81~1586 IU/L(田嘉雄, 1989; 卢宗藩等, 1983)。本试验测定的 ALT、AST、AKP 均在文献报道范围内。

仔猪的断奶应激可分为心理应激、环境应激和营养应激三方面(Funderburke 等, 1990), 营养应激可能是其中最为重要的部分。本试验一次性断奶, 仔猪混群饲养, 环境应激较大。仔猪断奶面临着从母乳到固体饲料的急速转变过程, 仔猪机体对日粮发生过敏反应导致肠道损伤。而且, 仔猪断奶本身更易导致肠道受损。为了对付断奶时的各种应激, 仔猪在自身营养供应不足的情况下, 进行大量能量动员, 最终导致细胞膜损伤和膜成分改变, 从而肠道粘膜发生功能障碍。总结以上情况, 仔猪断奶后血清 ALT、AST、AKP 活性变化的来源为:

- (1) 仔猪断奶引起的实质性器官组织细胞膜损伤、膜内功能膜的释放使相应酶活性升高;
- (2) 消化系统功能障碍使酶底物浓度不适造成相应酶活性降低;
- (3) 仔猪断奶日龄的大小使酶活性具有生理上的升高或降低。

仔猪血清酶活性应是上述三方面的综合反映。

本试验中除三丁酸甘油酯组谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)的活性比对照组要高外, 其余各试验物质组谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、碱性磷酸酶(AKP)的活性与对照组相比较低, 说明试验物质的添加有利于保护仔猪肠道, 而不被损伤。

结论

- 1 谷氨酰胺可以改善仔猪断奶后短期内的生长性能，显著降低第一周腹泻率；三丁酸甘油酯具有提高日增重及降低料重比的趋势，且后期效果要优于前期；混合物在整个试验阶段都有较低的料重比及较好的促生长作用，显著降低第一周腹泻率。
- 2 谷氨酰胺可防止仔猪断奶后 7 天内空肠的萎缩；三丁酸甘油酯有利于维持回肠的粘膜形态；混合物可有效地维持整个肠道正常的形态结构，提高肠绒毛高度，降低隐窝深度。
- 3 试验物质均有助于提高十二指肠乳糖酶的活性，混合物大幅度提高空肠蔗糖酶活性，而谷氨酰胺和三丁酸甘油酯对回肠麦芽糖酶活性提升作用较为明显。
- 4 试验物质对血液指标没有显著影响。
- 5 试验物质的联合使用比单一物质更能有效地提高仔猪肠道的营养水平，维护肠道的结构与功能，减缓断奶应激。

参考文献

1. 卢宗藩.家畜及实验动物生理生化参数.北京: 农业出版社, 1983, p356
2. 田嘉雄.实验动物的生物学特性资料.日本株式会社发行, 1989, 115:178~179
3. 刘涛, 彭健. 在日粮中添加谷氨酰胺和谷氨酸对断奶仔猪生产性能的影响.华中农业大学学报, 1999,18: 457-460
4. 沈同编《生物化学》(第二版), 高等教育出版社, 1992 年 4 月
5. 汪江波, 干信.保健型食品甜味剂—乳糖醇.中国商办工业, 2000: 52-54
6. 张龙翔, 张庭芳, 李令媛主编.生化实验方法和技术.北京: 高等教育出版社, 1997, 137-138
7. 张军民, 高振川. 谷氨酰胺对早期断奶仔猪肠粘膜蛋白质、DNA 含量和组织形态的影响.中国农业科学, 2002, 35:1264-1268
8. 杨雪娇, 黎碧娜. 乳糖醇—功能性甜味剂. 广东化工, 1999,26
9. 程志斌, 葛长荣.粘膜二糖酶的研究进展.国外畜牧科技.2002.29: 16-19
10. Alverdy J C, Aoy E, Moss G. Total parenteral nutrition promotes bacterial translocation from the gut. *Surgery*, 1988, 104: 185-190
11. Alverdy J C. Effects of glutamine-supplemented diets on immunology of the gut. *J Parent Ent Nutr*, 1990, 14: 109S-113S
12. Ayonrinde A I, Williams I H, Mccauley R, Mullan B P. Glutamine stimulates intestinal hyperplasia in weaned piglets. Fifth Biennial Conference of Australasian Pig Science Association, Canberra, ACT., Melbourne, Australasian Pig Science Association, 1995, 5: 180
13. Basson M D, Turowski G A, Rashid Z, Hong F, Madri J A. Regulation of human colonic cell line proliferation and phenotype by sodium butyrate. *Dig Dis Sci*, 1996, 41:1986-1993
14. Bird S P, Hewitt D, Gurr M I. Energy values of **lactitol** and lactulose as determined with miniature pigs and growing rats. *Journal of the science of food and agriculture*. 1990, 51: 233-246
15. Chen Z X, Breitmann T R. Tributyrin, a prodrug of butyric acid for potential clinical application in differentiation therapy. *Cancer Res*, 1994, 54: 3494-3499
16. Dahlqvist A. Method for assay of intestinal disaccharidases. *Anal Biochem*, 1964,7:18-25
17. DeMichele S J, Karlstad M D. Short-chain triglycerides in clinical nutrition. In: Cummings J H, Rombeau J L, Sakata T (eds). , *Physiological and clinical aspects of short-chain fatty acids*, Great Britain: Cambridge University Press, 1995. 537-559
18. Funderburke D W ,Seerley R W. The effects of postweaning stressors on pig weight

- change, blood, liver and digestive tract characteristics. *J Anim Sci*, 1990, 68:155-162
19. Gabert V M, Sauer W C, Mosenthin R, Schmitz M, Ahrens R. The effect of oligosaccharides and lactitol on the ileal digestibilities in the small intestine of weanling pigs. *Can J Anim Sci*, 1995, 75: 99-107
20. Herbert G, Windmueller, Albert E. Spaeth Uptake and Metabolism of Plasma Glutamine by the Small Intestine. *J Biol Chem*, 1974, 249: 5070 – 5079
21. Jacobasch G, Schmiedl D, Kruschewski M, Schmehl K.. Dietary resistant starch and chronic inflammatory bowel diseases. *Int J Colorect Dis*, 1999, 14: 201-211
22. Kripke SA, Fox AD, Berman JM, De Paula J, Sellte RG, Rombeau JL: Stimulation of intestinal mucosal growth with in- tracolonic infusion of short chain fatty acids. *JPEN*, 1989, 13:109-116.
23. Lacey J M, Wilmore D W. Is glutamine a conditionally essential amino acid? *Nutr Rev*, 1990, 48: 297-309
24. Maier S, Reich E, Martin R, Bachem M, Altug V, Hautmann R E, Gschwend J E. Tributyrin induces differentiation, growth arrest and apoptosis in androgen-sensitive and androgen-resistant human prostate cancer cell lines. *Int J Cancer*, 2000, 88: 245-251
25. Mineo H, Hara H, Tomita F. Sugar alcohols enhance calcium transport from rat small and large intestine epithelium in vitro. *Dig Dis Sci*, 2002, 47: 1326-1333
26. Moss B W. 1982. Alkaline phosphatase isoenzymes. *Clinical Chemistry*, 28:2207-2216
27. Newmark H L, Lupton J R, Young C W. Butyrate as a differentiating agent: pharmacokinetics, analogues and current status. *Cancer Lett*, 1994, 78: 1-5
28. Oliver W T, Mathews S A, Phillips O, Jones E E, Odle J, Harrell R J. Efficacy of Partially hydrolyzed corn syrup solids as a replacement for lactose in manufactured liquid diets for neonatal pigs. *J Anim Sci*, 2002, 80:143-153
29. Piva A, Panciroli A, Meola E, Formigoni A. Lactitol enhances short-chain fatty acid and gas production by swine cecal microflora to a greater extent when fermenting low rather than high fiber diets. *J Nutr*, 1996, 126: 280-289
30. Piva A, Prandini A, Fiorentini L, Morlacchini M, Galvano F, Luchansky J B. Tributyrin and lactitol synergistically enhanced the trophic status of the intestinal mucosa and reduced histamine levels in the gut of nursery pigs. *J Anim Sci*, 2002, 80: 670-680
31. Pluske J R, Williams I H, Aherne F X. Villous height and crypt depth in piglets in response to increases in the intake of cows' milk after weaning. *Anim Sci*, 1996, 62:145–158
32. Ramos MG, Bambirra EA, Cara DC, Vieira EC, Alvarez-Leite JI (1997) Oral

- administration of short-chain fatty acids reduce the intestinal mucositis caused by treatment with Ara-C in mice fed commercial or elemental diets. *Nutr Cancer* 28: 212-217
33. Roediger W E W. The place of short-chain fatty acids in colonocyte metabolism in health and ulcerative colitis: the impaired colonocyte barrier. In: Cummings J H, Rombeau J L, Sakata T (eds), . *Physiological and clinical aspects of short-chain fatty acids*. Great Britain: Cambridge University Press, 1995. 337-352
34. Rombeau J L, Reilly K J, Rolandelli R H. Short-chain fatty acids and intestinal surgery: rationale and clinical implications. In: Cummings J H, Sakata T, Rombeau J L (eds), . *Physiologic and Clinical Aspects of Short Chain Fatty Acids*. Cambridge: Cambridge University Press, 1995. 401-425
35. Scheppach W. Kurzkettige Fettsäuren und Dickdarm – Physiologie, Pathophysiologie und Therapie. *Akt Ernähr Med*, 1995, 20: 74-78
36. Schröder C P, Eckert K, Maurer H R. Tributyrin induces growth inhibitory and differentiating effects on HT29 colon cancer cells in vitro. *Int J Oncol*, 1998. 13: 1335-1340
37. Siddons, R C 1969. Intestinal disaccharidase activities in the chick. *Biochem. J.* 112:51-59
38. Siddons, R C, Coates M E. 1972. The influence of the intestinal microflora on disaccharidase activities in the chick. *Br. J. Nutr.* 27:101-112
39. Stein J, Schröder O, Bonk M., Oremek G, Lorenz M, Caspary W F. Induction of glutathion-S-transferase-pi by short chain fatty acids in the intestinal cell line Caco-2. *Eur J Clin Invest*, 1996, 26:84-87
40. Stein J. Chemically defined structured lipids :current status and future directions in gastrointestinal diseases. *Int J Colorect Dis*, 1999,14:79-85
41. Touchette K J, Carroll J A, Allee G L, Matteri R L, Dyer C J, Beausang L A, Zannelli M E. Effect of spray-dried plasma and lipopolysaccharide exposure on weaned pigs: I. Effects on the immune axis of weaned pigs. *J Anim Sci*, 2002, 80:494-501
42. Tsuboi KK, Kwong LK, D'Harlingue AE, Stevenson DK, Kerner JA, Sunshine P. The nature of maturational decline of intestinal lactase activity. *Biochim Biophys Acta* 1985;840:69- 78
43. Uni, Z, Ganot S, and Sklan D. Posthatch development of mucosal function in the broiler small intestine. *Poult Sci* 77: 75-82
44. Wächtershauser, A., J. Stein. Rationale for the luminal provision of butyrate in intestinal diseases. *Eur J Nutr*, 2000, 39: 164-71
45. Watanabe M, Ozaki T, Hirata Y, Yamamoto O, Niida H, Ueda F, Yoshikuni Y, Kimura

- K. Mechanism for lowering blood ammonia levels by lactitol. *Jpn J Pharmacol* 1995 ,67: 369-374
46. Watkins S, Carter L C, Mak J, Tsau J, Yamamoto S , German J B. Butyric acid and tributyrin induce apoptosis in human hepatic tumour cells. *J Dairy Res*, 1999, 66: 559-567
47. Wilson, A J, Gibson P R. Short-chain fatty acids promote the migration of colonic epithelial cells in vitro. *Gastroenterology*, 1997, 113: 487-496
48. Windmueller H G, Spaeth A E. Uptake and metabolism of plasma glutamine by the small intestine. *J Biol Chem*, 1974, 249: 5070-5079
49. Windmueller H G, Spaeth A E. Identification of ketone bodies and glutamine as the major respiratory fuels in vivo for postabsorptive rat small intestine. *J Biol Chem*, 1978, 253: 69-76
50. Wu G, Knabe D A. Free and protein-bound amino acids in sow's colostrum and milk. *J Nutr*, 1994, 124: 415-424
51. Wu G, Meier S A, Knabe D A. Dietary glutamine supplementation prevents jejunal atrophy in weaned pigs. *J Nutr*, 1996, 126: 2578-2584
52. Yanahira S; Morita M; Aoe S; Suguri T; Takada Y; Miura S; Nakajima I. Effects of lactitol-oligosaccharides on calcium and magnesium absorption in rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* , 1997, 43: 123-132

致谢

值此论文完成之际，要感谢许多人。

首先要感谢我的导师陈喜斌先生和侯永清先生，没有导师的悉心指导就没有论文的付诸成稿。导师渊博的知识学问、严谨的治学风范深深地影响着我，使我受益匪浅。三年来，弹指一挥间，无论是为人处事还是知识水平我都取得了很大的进步，我所取得的每一点成绩都离不开导师的指导与关怀。研究生学习过程中，先生给我提供了良好的学习条件，给予了我许多的物质帮助与精神鼓励，我的论文才得以顺利完成，再次向他们表示感谢。

课题研究过程中，得到了武汉工业学院饲料科学系朱惠玲老师的无私帮助，朱老师给了我许多技术支持，并提出了许多宝贵意见，在此表示特别的感谢。另外，饲料系王主任、房桂兵老师、丁斌鹰老师、胡奇伟老师、郑必锦老师等在试验的过程中均提供了许多帮助，向他们表示感谢。同时，还要感谢我的师兄张挺、宋华均及 99 级本科生王猛、鲁晓翠等同学的帮助。在此，还要感谢同级其他同学的相互支持与鼓励。

感谢湖北天种畜牧股份有限公司的王总、余总、柳经理、张场长、罗场长、董兽医给予我们在试验上的支持和生活上的照顾。

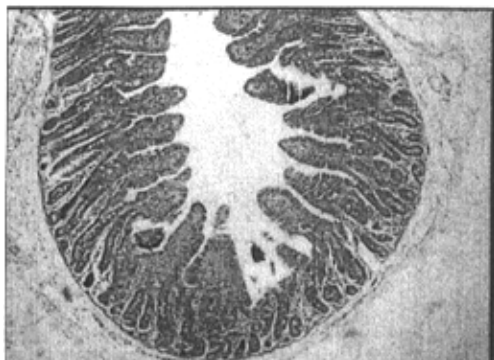
借此机会向对我学业提供帮助的各位老师和同学表示衷心的感谢！

最后，感谢我的父母及家人，他们给予了我最为无私的帮助，他们的支持与鼓励是我前进路上的动力！

胡杰

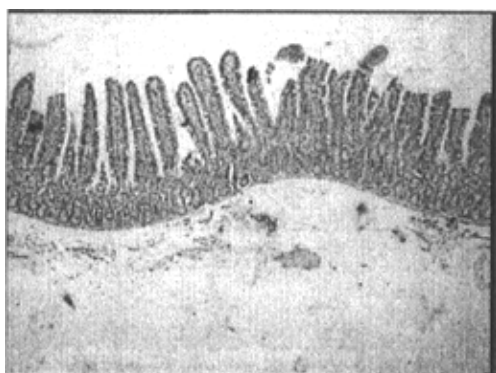
2004 年 5 月

附录



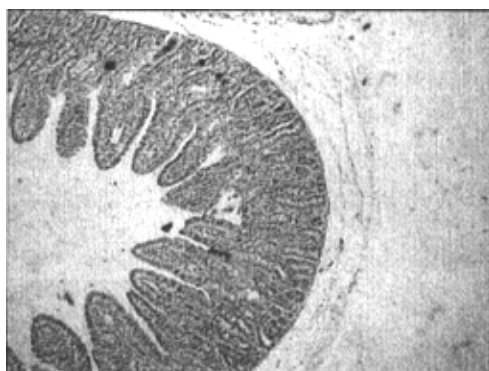
附图 1 对照组肠绒毛示意图

Attached drawing figure . 1 Villus sketch map of control group



附图 2 谷氨酰胺组肠绒毛示意图

Attached drawing figure . 2 Villus sketch map of glutamine group



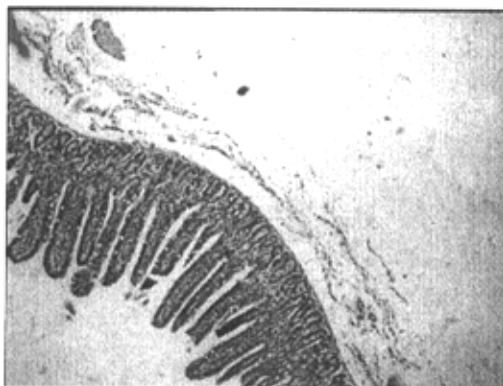
附图 3 乳糖醇组肠绒毛示意图

Attached drawing figure . 3 Villus sketch map of lactitol group



附图 4 三丁酸甘油酯组肠绒毛示意图

Attached drawing figure . 4 Villus sketch map of tributyrin group



附图 5 混合物组肠绒毛示意图

Attached drawing figure . 5 Villus sketch map of compound group