

有机锌源的理化特性及其体外瘤胃发酵的稳定性研究

梁建光^{1,2}, 吕林^{1,2}, 罗绪刚^{1,2*}, 刁其玉³, 刘彬^{1,2}

(1. 中国农业科学院北京畜牧兽医研究所 矿物元素营养研究室, 北京 100193; 2. 中国农业科学院北京畜牧兽医研究所 动物营养国家重点实验室, 北京 100193; 3. 中国农业科学院饲料研究所, 北京 100081)

摘要: 进行 2 个试验, 研究有机锌源的理化特性及其体外瘤胃发酵的稳定性。在试验 1 中, 分析了 7 种有机锌源产品的理化特性。结果表明: 有机锌源产品的含锌量和氨基酸组成存在较大差异; 所测 2 种有机锌源产品 (ZnPro B 和 ZnAA B) 均具有络合物的结构特征; 所有有机锌源产品在盐酸、柠檬酸、中性柠檬酸铵缓冲液中的溶解度均在 90% 以上, 在 pH2 缓冲液中的溶解度为 53.92%~98.54%, 在水和 pH5 缓冲液中的溶解度变化范围为 6.04%~98.54%; 未检测到有机锌源在 pH2、0.2 mol/L HCl-KCl 或 pH5、0.1 mol/L KH₂PO₄-K₂HPO₄ 缓冲液及去离子水中的可溶部分有络合锌的存在; 有 4 种有机锌源产品属于弱络合强度有机锌源, 有 1 种有机锌源产品属于中等络合强度有机锌源, 有 2 种有机锌源产品属于强络合强度有机锌源。在试验 2 中, 采用 6×4 析因安排的完全随机设计, 用体外瘤胃发酵法评价了不同络合强度有机锌源的瘤胃稳定性。结果表明: 不同络合强度有机锌在模拟瘤胃环境下是稳定的, 过瘤胃率分别在 92% 以上, 其中又以强络合强度有机锌为最好 (99.55%), 弱络合强度有机锌 (94.85%) 次之, 中络合强度有机锌 (92.16%) 相对最低。

关键词: 有机锌源; 化学特性; 瘤胃稳定性

中图分类号: S816.72

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2008)10-1355-12

Physical and Chemical Characteristics of Supplemental Organic Zinc Sources and Their Stabilities *in vitro* Fermentation Rumen

LIANG Jian-guang^{1,2}, LÜ Lin^{1,2}, LUO Xu-gang^{1,2*}, DIAO Qi-yu³, LIU Bin^{1,2}

(1. Mineral Nutrition Research Division, Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China; 2. State Key Laboratory of Animal Nutrition, Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China; 3. Feed Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: Two experiments were conducted to test physical and chemical characteristics of organic Zn sources and their stabilities *in vitro* fermentation rumen. In experiment 1, physical and chemical characteristics of seven organic Zn sources were analyzed. The results showed that: Zn concentrations and amino acid composition of organic Zn sources varied greatly; Two organic Zn sources (ZnPro B and ZnAA B) had characteristic peaks of complexed Zn. The solubility of all Zn products was more than 90% in the buffer of HCl, citric acid and neutral ammonium citrate, and the solubility of Zn sources in pH2 buffer was ranged from 53.92% to 98.54%, and the solubility in water and pH5 buffer was changed from 6.04% to 98.54%; No complexed Zn was found for these organic Zn sources filtrates from pH2, 0.2 mol/L HCl-KCl, pH5, 0.1 mol/L KH₂PO₄-K₂HPO₄ buffer, or deionized water; Four organic Zn sources showed weak complex strength,

收稿日期: 2007-08-10

基金项目: 中国农业科学院一级岗位杰出人才专项经费

作者简介: 梁建光 (1964-), 男, 江西吉安人, 博士, 主要从事奶牛营养研究, E-mail: liangjianguang@qianlong.com, 现工作单位上海光明荷斯坦牧业有限公司

* 通讯作者: 罗绪刚, 研究员, 博士生导师, E-mail: wlysz@263.net

and one organic Zn source showed moderate complex strength, and two organic Zn sources showed strong complex strength. In experiment 2, a completely randomized design involving a 6×4 factorial arrangement of treatments was used to evaluate the stability of organic Zn sources with different complex strength in rumen by *in vitro* rumen fermentation method. The results showed that: The organic Zn sources with different complex strength were stable in the rumen *in vitro*, and the rumen by-pass ratio of them were more than 92%. The rumen by-pass ratio of organic Zn source with strong complex strength was the highest (99.55%), and that of organic Zn source with weak complex strength was in the middle (94.85%), and that of organic Zn source with moderate complex strength was the lowest (92.16%).

Key words: organic zinc sources; chemical characteristics; stability in rumen

氨基酸络合锌、螯合锌和锌蛋白盐等有机锌源作为饲料添加剂,已开始用于畜禽饲养业中。有些学者^[1-2]认为,有机锌源的生物学利用率高于硫酸锌和氧化锌等无机锌。然而其中的原因还不太清楚。在生产实际中,不同锌源的化学特性是影响其生物学利用率的主要因素,而有机锌源的络合强度和络合率又是其中的2个重要因素。到目前为止,无论是AOAC^[3]还是AAFCO^[4],都没有提出鉴别有机锌源产品质量(主要是络合率和络合强度)的有效方法。本研究所选用的3种有机锌都是金属锌和氨基酸或小肽结合而成的络合物或螯合物,它们的稳定性和抗干扰性如何,都需要试验的证实。本试验的目的是对7个有机锌源的化学特性进行初步研究,进而通过用体外法观测瘤胃发酵 $\text{NH}_3\text{-N}$ 和锌浓度的变化,研究不同络合强度有机锌源在瘤胃中的稳定性,从而评价不同络合强度有机锌源的过瘤胃特性,为奶牛生产中有效选择和合理利用有机锌源提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 试验 1

1.1.1 有机锌源产品 从国内外不同生产厂家收集有代表性的有机锌源产品7个,其中蛋氨酸锌1个(ZnMet),锌蛋白盐2个(ZnPro A~B),复合氨基酸锌3个(ZnAA A~C),甘氨酸锌1个(ZnGly)。

1.1.2 有机锌源产品的元素含量及氨基酸组成 将有机锌源产品用浓硝酸和高氯酸湿消化后,用ICAP-9000等离子体发射光谱仪测定其中的Zn、Ca、P、Mg、Zn、Fe和Cu的含量。有机锌源产品经酸或碱水解后,用L-8500A氨基酸自动分析仪分析其中的氨基酸组成。每个样品分别做3个平行样,以3个平行样分析结果的平均值来表示该样品的矿

物元素含量及氨基酸组成。

1.1.3 红外光谱法定性鉴别有机锌源 称取待测有机锌源产品0.1~0.2g,加少量KBr研磨,烘干后再研磨均匀压片,同时称取甘氨酸和蛋氨酸(Gly、Met,生化试剂)按上述方法压片后,用岛津IR-435红外光谱仪测定相应产品的红外光谱图。

1.1.4 有机锌源在中性柠檬酸铵、柠檬酸、盐酸或水中的溶解度 称取0.1g有机锌源样品各3份,于带盖三角瓶中,分别加入100mL中性柠檬酸铵、2%柠檬酸、0.4%盐酸或水,(37 ± 1) $^\circ\text{C}$ 恒温振荡水浴1h,用Whatman No.42滤纸(购自Whatman公司,Cat No.1442 125)过滤^[5],用ICAP-9000等离子体发射光谱仪分别测定过滤液部分的含锌量,计算不同锌源中锌在以上溶液中的溶解度。每个样品的溶解度均以该样品3个平行样分析结果的平均值来表示。

1.1.5 有机锌源在pH2、0.2mol/L HCl-KCl或pH5、0.1mol/L $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-K}_2\text{HPO}_4$ 缓冲液中的溶解度及在这2种缓冲液和去离子水中的络合率 称取0.2g有机锌源各3份,分别溶于pH2、0.2mol/L HCl-KCl缓冲溶液或pH5、0.1mol/L $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-K}_2\text{HPO}_4$ 缓冲溶液中,39 $^\circ\text{C}$ 恒温振荡水浴12h,用Whatman No.42滤纸过滤,用ICAP-9000等离子体发射光谱仪分析滤液和残渣中的含锌量,以每个样品3个平行样分析结果的平均值来计算不同锌源中锌的溶解度。

根据Brown和Zeringue^[6]方法,利用凝胶色谱法测定有机锌源在pH2、0.2mol/L HCl-KCl或pH5、0.1mol/L $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-K}_2\text{HPO}_4$ 缓冲液及水中可溶部分的络合率。按照Biogel P-2(购自Bio-Rad公司,Cat. No.150-4114,分离范围为100-1800Da.)使用说明装填1.5cm \times 19cm凝胶过滤柱。取前述有机锌源产品在pH2、0.2mol/L HCl-

KCl 或 pH5、0.1 mol/L $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-K}_2\text{HPO}_4$ 缓冲液及水中的滤过液 0.2 mL, 加于凝胶床上, 用相应的缓冲液或去离子水以 0.9 mL/min 的洗脱速度洗脱。取 0.4 mL 过柱后的洗脱液加 3 mL 2% 高氯酸溶液混匀后, 用 ICAP-9000 等离子体发射光谱仪测定洗脱液中的锌含量。取 0.2 mL 过柱后的洗脱液, 以茚三酮显色法测定洗脱液中的含氮物质^[7]。

1.1.6 有机锌源产品络合强度的测定 参照 Holwerda 等^[8]测定锌蛋白盐络合强度的方法, 按有机锌源产品的溶解度称取有机锌源产品, 溶于去离子水中制备有机锌源产品的饱和溶液, 用 Whatman No. 42 滤纸过滤。同时配制 0.1 mol/L 的硫酸锌溶液。取上述制备的 0.1 mol/L 的有机锌源产品饱和溶液的滤过液, 用 pH6、0.1 mol/L 2-(N-吗啡啉)乙磺酸(MES, 购自北京耀北公司, Cat. No. E-169)缓冲溶液稀释 200 倍^[9], 制备极谱待测溶液。用 283 型恒电压/恒电流仪以线性扫描极谱法分别测定硫酸锌或有机锌源产品饱和溶液的 BES 极谱待测溶液的半波电位($E_{1/2}$), 根据二者之间的半波电位差($\Delta E_{1/2}$) 计算络合强度即稳定常数 Q_f [$Q_f = 10^{(n \times \Delta E_{1/2})/0.05916}$], 并用甘氨酸锌(Zn-Gly)和 Zn-EDTA 在同样条件下的测定结果做参照。测定条件: 电极为由 EG&G PARC Model 303A 控制的三电极体系。工作电极: 悬汞电极; 参比电极: Ag/AgCl; 辅助电极: 铂丝。充氮时间: 240 s。平衡时间: 5 s。扫描范围: $-0.7 \sim -1.1\text{V}$, 扫描速度: 10 mV/s, 扫描步幅: 2 mV。每个样品同时测定 3 个平

行样, 以 3 个平行样分析结果的平均值表示该样品的络合强度

1.2 试验 2

1.2.1 试验设计和处理 采用 6×4 析因安排的完全随机设计。试验处理安排见表 1。4 种锌源分别为试剂级硫酸锌、弱络合强度(稳定常数 $Q_f = 6.48$)有机锌 ZnAA C、中络合强度(稳定常数 $Q_f = 30.73$)有机锌 ZnPro B 和强络合强度(稳定常数 $Q_f = 944.02$)有机锌 ZnPro A, 除 4 种锌源外, 还设置了 1 个尿素对照组和 1 个观测发酵抑制情况的硫酸锌+urea+casein 组。添加 163 mg 尿素(含 46% N)、1 277.68 mg ZnAA C 源(含 5.87% N 和 11.93% Zn)、734.57 mg ZnPro B 源(含 10.21% N 和 13.27% Zn)和 1 833.74 mg ZnPro A 源(含 4.09% N 和 18.61% Zn), 使以上各处理组的含氮量均为 75 mg/管, 添加 163 mg 尿素(含 46% N)和 555.56 mg 酪蛋白(含 13.5% N), 使硫酸锌+urea+casein 组的含氮量为 150 mg/管(urea 和 casein 各为 75 mg)。由于各有机锌处理组在确定添加 75 mg 氮后的锌含量不同(ZnAA C、ZnPro B 和 ZnPro A 3 个有机锌源处理组的锌含量分别为 152.4、97.5 和 341.3 mg/管), 故硫酸锌处理组和硫酸锌+urea+casein 处理组的锌含量取其平均值为 197.1 mg/管。4 个发酵时间点分别为 0、6、12 和 24 h, 共 24 个处理组, 每个时间点还设置了空白对照, 用以校正锌含量和氮氮量。每个处理组设 2 个重复, 每个重复为 1 个人工瘤胃体外发酵试管。

表 1 试验处理安排

Table 1 The arrangement of treatment

锌源 Zn source	发酵时间 Fermentation time			
	0 h	6 h	12 h	24 h
尿素 Urea	处理 1	处理 7	处理 13	处理 19
硫酸锌 ZnSO_4	处理 2	处理 8	处理 14	处理 20
硫酸锌+尿素+酪蛋白 $\text{ZnSO}_4 + \text{urea} + \text{casein}$	处理 3	处理 9	处理 15	处理 21
氨基酸锌 C ZnAA C(弱)	处理 4	处理 10	处理 16	处理 22
蛋白锌 B ZnPro B(中)	处理 5	处理 11	处理 17	处理 23
蛋白锌 A ZnPro A(强)	处理 6	处理 12	处理 18	处理 24

1.2.2 取瘤胃液用奶牛的饲养 3 头装有瘤胃瘘管健康成年奶牛饲养于同一牛舍。分别在 08:00 时和 16:00 各喂 1 次, 自由饮水, 专人管理。奶牛用全混合日粮(TMR)饲喂, 配方组成: 青贮玉米 50%, 羊草 12.12%, 苜蓿草 5.86%, 精料 32.02%, 其中

精料中含 1% 维生素和微量元素。其营养需要量满足 NRC(2001) 日产奶 25 kg, 体重 680 kg, 乳脂率 3.5% 的泌乳奶牛营养需要, 其中精料补充料组成见表 2。

1.2.3 瘤胃液的收集与制备 从 3 头牛的瘤胃中

表 2 精料补充料配方

Table 2 The composition of concentrated feed

Ingredient	用量 Ratio/%	营养成分 Nutrient	含量 Content
玉米 Corn	44	粗蛋白 CP/%	18.15
豆粕 Soybean meal	15	粗脂肪 EE/%	3.09
菜粕 Rape meal	10	粗纤维 CF/%	4.5
麦麸 Bran	27	粗灰份 Ash/%	3.56
磷酸氢钙 CaHPO ₄	2	钙 Ca/%	1.1
盐 Salt	1	磷 P/%	1.02
添加剂 Premix	1	产奶净能 NE _L /(MJ/kg)	6.74
		VA/(万 IU/kg)	1
		VD/(万 IU/kg)	3.3
		VE/(万 IU/kg)	69.66
合计 Total	100		

分别抽取 750 mL 瘤胃液,放入同一保温瓶中混匀后,用 4 层纱布过滤,将过滤后的瘤胃液注入持续通入 CO₂ 的 1 L 玻璃瓶中,玻璃瓶保持在 39 °C 水浴中备用^[10]。

1.2.4 人工瘤胃发酵装置的准备 以 100 mL 的试管作为发酵器,用可以精确控温(±0.5 °C)的水浴摇床作为控温装置^[11]。

1.2.5 缓冲液的制备 参照 Baumgardt 等^[12]的方法配制缓冲液(所用试剂均为分析纯),具体如下: NaHCO₃ 9.8 g, KCl 0.57 g, CaCl₂ 0.04 g, Na₂HPO₄ · 7H₂O 7.0 g, NaCl 0.47 g, MgSO₄ · 7H₂O 0.12 g。

溶于 1 L 超纯水中并放入 5 L 的玻璃瓶内,持续通入 CO₂ 调 pH 至 6.7。

1.2.6 缓冲液与瘤胃液混合液的制备 将缓冲液和瘤胃液以 1:1 的比例混合,通入 CO₂ 并置于 39 °C 水浴中以备用^[10]。

1.2.7 试验步骤 1. 按表 1 的试验处理安排在每个体外发酵试管中加入相应的样品;2. 再加入 30 mL 瘤胃液与培养液混合液;3. 将发酵管充分摇匀后置于 39 °C 水浴中,开动摇床,发酵时间分别为 0、6、12 和 24 h。为校正锌溶解度和 NH₃-N 的量,另设一空白对照(2 个重复,只加入 30 mL 瘤胃液与培养液的混合液),同时发酵^[12]。

1.2.8 样品采集与制备 每个时段培养后,发酵管用冰冷却,然后以 25 000×g 于 10 °C 下离心 20 min 后,上清液供测其锌含量和 NH₃-N 用。

1.2.9 样品分析 用比色法^[13]测定 NH₃-N;用 ICP-Intrepid 等离子体发射仪测定上清液和沉淀物

的锌含量。

1.2.10 统计分析 用 SAS(1989)^[14]软件中 GLM 程序对所有试验数据进行方差分析,F 检验差异显著者,以 LSD 法比较平均数间的差异显著性。

2 结果与讨论

2.1 有机锌源产品的元素含量及氨基酸组成

分析结果列于表 3 和表 4。由表 3 可见,各种有机锌源产品的含锌量变化较大,含锌量最低的为 11.93%(ZnAA C),最高的可达 29.01%(ZnMet)。除 ZnAA A 含铁 18 135 mg/kg 外,其它有机锌源含有的除锌外的其它微量元素较少。所有有机锌源均含有不同数量的常量元素,如 ZnMet、ZnAA A 和 ZnPro B 分别含钠 33 911、62 675 和 18 101 mg/kg, ZnAA B 含镁 19 718 mg/kg, ZnAA C 含钙 44 918 mg/kg。由表 5 可见,所测有机锌源的总氨基酸含量也有较大差别,其中以 ZnMet 中的总氨基酸含量最高,达 47.25%,而 ZnAA C 中的总氨基酸含量最少为 21.72%,其它有机锌源的总氨基酸含量介于 21.83%~40.24%之间。各种有机锌源间在氨基酸组成上也存在较大差异,其中以 ZnMet 中 Met 含量最高,为 44.44%,其它有机锌源的 Met 则较少,含量不到 1%,ZnGly 中的 Gly 含量最高,为 25.18%。不同有机锌源在矿物元素含量和氨基酸组成方面存在的差异主要是由制备有机锌源产品的原料和稀释载体不同所致。目前,有机锌源添加剂产品标签中,一般只给出该产品的含锌量。因此,在实际使用中,如果按照畜禽对锌的需要量在配合饲料中添加有机锌源添加剂产品时,就必然在配合饲料中带入这

表 3 有机锌源产品中的矿物元素含量

Table 3 Mineral content in organic zinc sources

锌源 Zn Source	锌 Zn/%	钠 Na	镁 Mg	钾 K	钙 Ca	锰 Mn	铁 Fe	钴 Co	铜 Cu	磷 P
蛋氨酸锌 ZnMet	29.01	33 911	98.35	1 599	408	1 167	258	52.18	3.58	331
氨基酸锌 A ZnAA A	12.09	62 675	6 340	11 989	3 404	923	18 135	67.97	31.15	507
氨基酸锌 B ZnAA B	13.37	2 295	19 718	2 399	1 970	38.87	1 053	0.00	12.28	345
氨基酸锌 C ZnAA C	11.93	702	1 035	6 165	44 918	110	2 868	146	969	730
蛋白锌 A ZnPro A	18.61	7 665	2 057	15 151	2 533	6 150	137	23.60	30.76	2 159
蛋白锌 B ZnPro B	13.27	18 101	305	1 833	1 087	439	444	14.88	6.50	281
甘氨酸锌 ZnGly	26.73	3 266	241	967	609	7.54	70.18	20.96	1.70	331

表 4 有机锌源产品中的氨基酸含量

Table 4 Amino acid content in organic zinc sources

锌源 Zn source	蛋氨酸 Met	天冬氨酸 Asp	苏氨酸 Thr	丝氨酸 Ser	谷氨酸 Glu	甘氨酸 Gly	丙氨酸 Ala	胱氨酸 Cys	缬氨酸 Val	异亮氨酸 Ile
蛋氨酸锌 Zn Met	44.44	—*	0.20	—	—	0.11	—	—	—	—
氨基酸锌 A ZnAA A	0.09	1.87	1.40	1.93	3.94	1.07	1.12	0.76	1.32	0.59
氨基酸锌 B ZnAA B	0.07	2.26	2.05	2.60	5.18	1.23	1.33	1.15	1.80	0.90
氨基酸锌 C ZnAA C	0.11	1.55	0.94	2.10	2.25	1.84	1.22	0.61	1.68	0.96
蛋白锌 A ZnPro A	0.30	2.72	0.79	0.72	4.07	0.98	0.95	1.01	1.10	0.96
蛋白锌 B ZnPro B	0.43	1.26	—	0.09	4.49	12.11	6.03	0.29	1.40	0.40
甘氨酸锌 ZnGly	—	—	0.28	—	—	25.18	—	—	—	—

锌源 Zn source	亮氨酸 Leu	酪氨酸 Tyr	苯丙氨酸 Phe	赖氨酸 Lys	组氨酸 His	精氨酸 Arg	脯氨酸 Pro	总氨基酸 TAA	总氨基酸/锌 TAA/Zn
蛋氨酸锌 Zn Met	0.09	0.77	0.68	0.82	—	0.13	—	47.25	0.71
氨基酸锌 A ZnAA A	0.85	0.97	0.81	0.83	0.20	2.08	2.02	21.83	0.84
氨基酸锌 B ZnAA B	1.52	1.11	1.11	1.05	0.57	2.74	2.68	29.37	1.02
氨基酸锌 C ZnAA C	1.67	1.03	1.35	0.47	0.15	1.30	2.49	21.72	0.86
蛋白锌 A ZnPro A	1.70	1.21	1.39	1.42	0.55	1.42	1.42	22.72	0.57
蛋白锌 B ZnPro B	1.47	0.89	1.36	1.40	0.14	0.33	8.16	40.24	1.41
甘氨酸锌 ZnGly	—	1.16	—	0.06	—	0.22	—	26.9	0.87

* . 未检测到 * . Not detectable

些元素和含氮物质。由于矿物元素在消化道内吸收时存在复杂的协同和拮抗关系,所以使人们对有机锌源添加剂产品的实际应用效果及其原因的解釋变得复杂化。

有机锌源产品中的氨基酸含量可以为该产品纯度的推测提供依据。根据 AOAC^[15] 关于有机微量元素定义,有机微量元素化合物可以分成 5 类,即(1)由可溶性金属盐与某种或几种氨基酸形成的金属氨基酸络合物;(2)由可溶性金属盐与一种特定氨基酸按 1:1 摩尔比形成的金属氨基酸络合物,如赖氨酸铜络合物;(3)由可溶性金属盐与氨基酸按 1:

1~1:3(最好为 1:2) 摩尔比以共价键结合而成的金属氨基酸螯合物;(4)由可溶性金属盐与多糖溶液形成的金属多糖络合物;和(5)由可溶性金属盐与部分水解的蛋白质螯合而成的金属蛋白盐。因此,无论是金属氨基酸络合物还是螯合物,其中所含氨基酸与金属元素的摩尔比至少应为 1:1,如果按 Met 的分子量为 149.2、复合氨基酸的平均分子量为 140 计算,本研究中只有 ZnAA B 和 ZnPro B 中氨基酸与 Zn 的摩尔比在 1:1 以上,说明这些有机锌源产品中的锌可能大部分为络合锌或螯合锌;而 ZnGly、ZnAA C 和 ZnAA A 中氨基酸与锌的摩尔比分别

为 0.87、0.86 和 0.84,表明这这些产品中可能最多有 87%、86% 和 84% 的锌为络合锌; ZnMet 和 Zn-Pro A 中氨基酸与锌的摩尔比为 0.71 和 0.57,则这 2 种产品中可能最多有 71% 和 57% 的锌为络合锌。不过,上述数据只是一种推测,最终仍需用有效的方法进行实测后,才能说明有机锌源产品中络合锌的含量。

2.2 有机锌源产品红外光谱鉴定

有机锌源产品的红外光谱图见图 1~9。以 Met 和 ZnMet 为例,当有 $\text{CH}_3\text{-S-R}$ 结构时, $2\ 975\ \text{cm}^{-1}$ 、 $1\ 427\ \text{cm}^{-1} \pm 13$ 、 $1\ 310\ \text{cm}^{-1} \pm 20$ 处有吸收峰,实测 Met 在 $2\ 900\ \text{cm}^{-1}$ 、 $1\ 450\ \text{cm}^{-1}$ 、 $1\ 320\ \text{cm}^{-1}$ 处均有吸收峰,ZnMet 在 $2\ 900\ \text{cm}^{-1}$ 、 $1\ 420\ \text{cm}^{-1}$ 处有明显吸收峰,说明二者均含有 $\text{CH}_3\text{-S-R}$ 结构。当有 -COOH 结构时,在 $3\ 000\ \text{cm}^{-1}$ 附近有宽吸收峰, Met 的此吸收峰很明显,ZnMet 此吸收峰发生明显位移。当有 -OH 存在时,则在 $955\sim 915\ \text{cm}^{-1}$ 处有吸收谱带, Met 在 $915\ \text{cm}^{-1}$ 处有吸收峰,ZnMet 无此峰。含有 NH_3^+ 时,在 $2\ 600\sim 3\ 100\ \text{cm}^{-1}$ 有强宽吸收谱带, $2\ 120\sim 2\ 010\ \text{cm}^{-1}$ 有一弱吸收谱带,当 NH_3^+ 与金属元素发生络合反应后, $2\ 120\sim 2\ 010\ \text{cm}^{-1}$ 处吸收峰消失, Met 在 $2\ 600\sim 3\ 100\ \text{cm}^{-1}$ 有强宽吸收谱带、 $2\ 120\sim 2\ 010\ \text{cm}^{-1}$ 有一弱吸收谱带的特征,而 ZnMet 在 $2\ 120\sim 2\ 010\ \text{cm}^{-1}$ 无吸收峰。如含有 -NH_2 ,在 $3\ 330\sim 3\ 250\ \text{cm}^{-1}$ 有吸收,ZnMet 在此范围内的吸收明显增强。综上分析, Met 与 ZnMet 具有不同的结构特征,ZnMet 具备了 Met 络合金属离子后的特征峰。尽管 ZnAA A、ZnAA B、ZnAA C、ZnPro A 和 ZnPro B 是由多种氨基酸组成的络合物,但从其红外光谱图中同样能看出,三者均在 $2\ 900\ \text{cm}^{-1}$ 、 $1\ 420\ \text{cm}^{-1}$ 附近有吸收峰,在 $955\sim 915\ \text{cm}^{-1}$ 和 $2\ 120\sim 2\ 010\ \text{cm}^{-1}$ 处无吸收峰,在 $3\ 330\sim 3\ 250\ \text{cm}^{-1}$ 有宽吸收谱带等特征,说明这些有机锌源产品具有氨基酸络合金属离子成为络合物的结构。由于红外光谱法是将产品压成片状进行体外固体鉴定,因而鉴定结果仅具化学意义,而无生物学意义,不能说明这些有机锌源产品在动物胃肠道内的实际情况。

2.3 有机锌源在中性柠檬酸铵、柠檬酸、盐酸和水中的溶解度

结果列于表 6。从表中可看出,所测有机锌源在 0.4% 盐酸、2% 柠檬酸和中性柠檬酸铵溶液中的

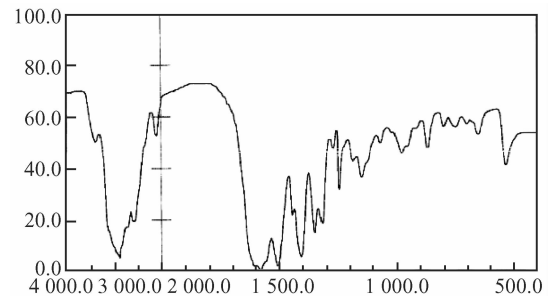


图 1 Met 的红外光谱图

Fig. 1 IR spectrum of methionine

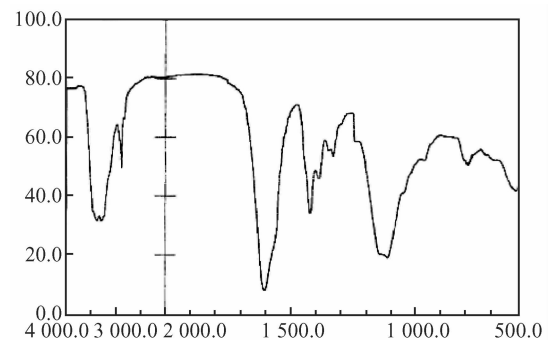


图 2 ZnMet 的红外光谱图

Fig. 2 IR spectrum of ZnMet

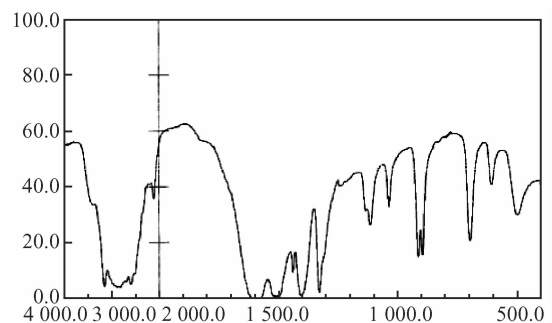


图 3 Gly 的红外光谱图

Fig. 3 IR spectrum of Gly

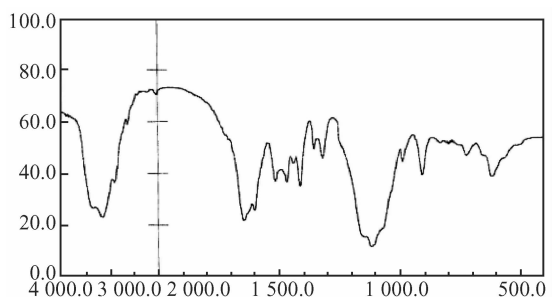


图 4 ZnGly 的红外光谱图

Fig. 4 IR spectrum of ZnGly

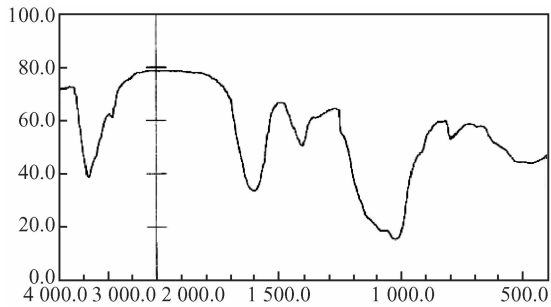


图 5 ZnAA A 的红外光谱图
Fig. 5 IR spectrum of ZnAA A

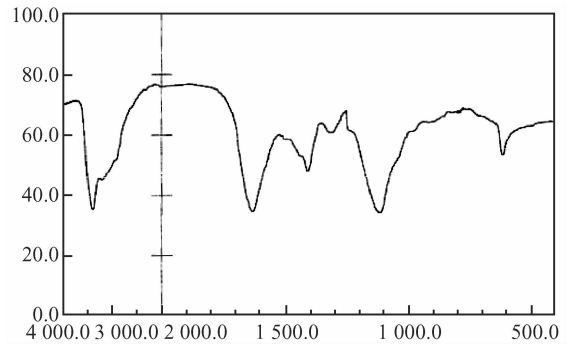


图 9 ZnPro B 的红外光谱图
Fig. 9 IR spectrum of ZnPro B

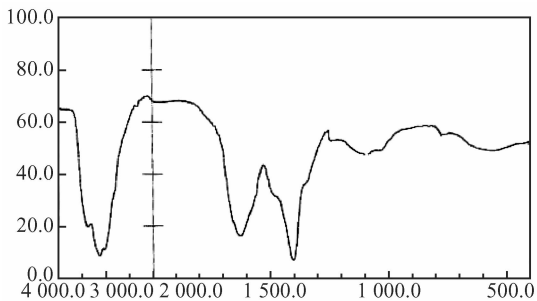


图 6 ZnAA B 的红外光谱图
Fig. 6 IR spectrum of ZnAA B

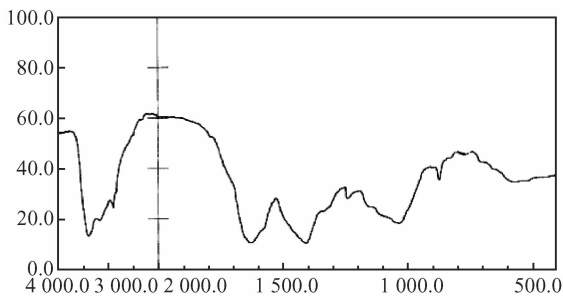


图 7 ZnAA C 的红外光谱图
Fig. 7 IR spectrum of ZnAA C

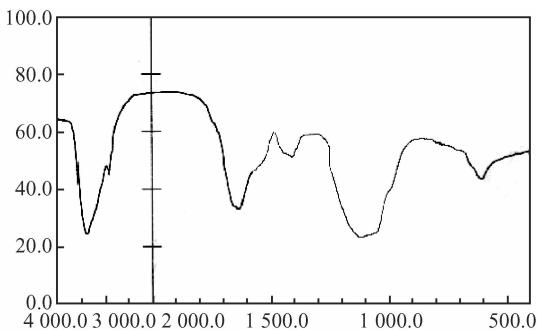


图 8 ZnPro A 的红外光谱图
Fig. 8 IR spectrum of ZnPro A

溶解度均在 90% 以上。有机锌源产品在水中的溶解度受配位体和载体性质的影响,变化幅度较大,最低的 ZnMet 仅为 11.68%,最高的 ZnGly 可达 98.54%。

矿物元素的溶解度可作为评价其利用率的一个参考依据,但其溶液中的氢离子浓度、离子强度和配位体结构等都会影响已形成的络合物的溶解度。对于无机元素来说,必须在小肠内或在吸收位点处以可溶状态存在时才能被吸收。而试验中所用的溶液与动物胃肠道的溶液环境是完全不同的,所以,溶解度指标只能做参考。

2.4 有机锌源产品在 pH2、0.2 mol/L HCl-KCl 或 pH5、0.1 mol/L KH₂PO₄-K₂HPO₄ 缓冲液中的溶解度及在这 2 种缓冲液和去离子水中的络合率

结果列于表 5。在 pH2、0.2 mol/L HCl-KCl 缓冲液中的溶解度除 ZnMet 为 53.92% 和 ZnPro B 为 84.78% 外,其它有机锌源产品的溶解度均在 93% 以上。在 pH5、0.1 mol/L KH₂PO₄-K₂HPO₄ 缓冲液中有有机锌源产品的溶解度变化较大,最低的 ZnMet 仅为 6.04%,最高的 ZnPro A 可达 94.04%。有机络合锌源的一个重要营养学意义在于其在消化道生理 pH 条件下具有适宜的稳定性。畜禽胃液的 pH 一般为 0.5~2.5,小肠液 pH 为 5.6~7.2^[16],反刍动物瘤胃 pH 随饲料不同为 4.6~7.0^[17]。因此本试验选取了 pH2、pH5 的缓冲液和去离子水的条件。凝胶过滤色谱法提供了一种可以根据分子筛的原理将被分离物质按分子大小分开的方法,有机锌源产品的可溶部分经过凝胶层析柱后,其中的络合物因分子量大而先流出层析柱,游离状态的锌离子则因分子量小而后流出,从而可将

表5 有机锌源在水、0.4%盐酸、2%柠檬酸、中性柠檬酸铵、pH2、0.2 mol/L HCl-KCl 缓冲溶液或 pH5、0.1 mol/L KH₂PO₄-K₂HPO₄ 缓冲溶液中的溶解度

Table 5 Solubility of organic zinc sources in water, 0.4% HCl, 2% citric acid, neutral ammonium citric acid, pH2, 0.2 mol/L HCl-KCl buffer or pH5, 0.1 mol/L KH₂PO₄-K₂HPO₄ buffer

锌源 Zn source	水 Water	0.4% 盐酸 0.4% HCl	2% 柠檬酸 2% Citric acid	中性柠檬酸铵	pH2	pH5 缓冲液
				Neutral ammonium citric acid	缓冲液 pH2, 0.2 mol/L HCl-KCl buffer	pH5, 0.1 mol/L KH ₂ PO ₄ - K ₂ HPO ₄ buffer
蛋氨酸锌 ZnMet	11.68	98.67	99.89	99.32	53.92	6.04
氨基酸锌 A ZnAA A	50.04	98.51	98.76	99.67	94.04	17.55
氨基酸锌 B ZnAA B	97.58	99.77	97.16	95.66	94.61	40.26
氨基酸锌 C ZnAA C	95.22	94.97	99.24	92.37	93.71	26.56
蛋白锌 A ZnPro A	93.77	99.14	98.07	91.19	95.92	94.04
蛋白锌 B ZnPro B	98.49	97.44	98.64	91.26	84.78	38.25
甘氨酸锌 ZnGly	98.54	98.62	96.03	98.95	98.54	82.91

不同形态锌分开。本研究中无机锌溶液和 Zn-EDTA 具有不同的洗脱方式,说明此凝胶色谱柱具有按分子大小分离游离金属离子及金属络合物的能力。本试验用无机锌与 Gly、Met 分别验证了凝胶色谱柱分离更小分子物质的能力,结果 ZnEDTA、Gly 或 Met 分别先于游离锌被洗脱出来(图 10~12),从而充分证明该凝胶色谱柱按分子大小分离不同物质的有效性。

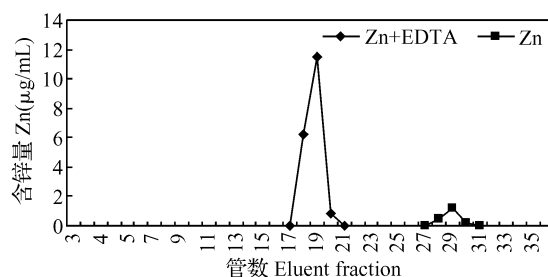


图 12 pH5 Zn+EDTA 洗脱结果
Fig. 12 Concentration of Zn in eluent fractions from gel filtrations of Zn + EDTA and Zn²⁺ in pH5 buffer

图 10~12 可见,有机锌源产品在 pH2、0.2 mol/L HCl-KCl 缓冲液或 pH5、0.1 mol/L KH₂PO₄-K₂HPO₄ 缓冲液和去离子水中的溶解部分的锌经凝胶色谱柱洗脱后的结果与无机锌离子完全相同,且在氨基酸之后被洗脱出来,说明未检测到溶于 pH2、0.2 mol/L HCl-KCl 缓冲液或 pH5、0.1 mol/L KH₂PO₄-K₂HPO₄ 缓冲液和去离子水中的可溶性锌有络合锌存在。这一结论与 Brown 和 Zeringue^[6]、Cao^[9]、Li 等^[18] 和 Guo 等^[19] 的络合物在 pH2、0.2 mol/L HCl-KCl 缓冲液或 pH5、0.1 mol/L KH₂PO₄-K₂HPO₄ 缓冲液中的可溶部分以离子状态存在的报道相同,但与 Matsui 等^[20] 报道锌络合物在 pH2 缓冲液中解离、在 pH4 缓冲液中保持完整的报道不同,也与 Cao^[9] 和 Guo 等^[19] 的在去离子水的滤过液中有络合峰存在的结果不同,造成这种差异的原因可能与金属元素所形成络合物的络合强度不同有关。另外,在本研究的测定条件下,

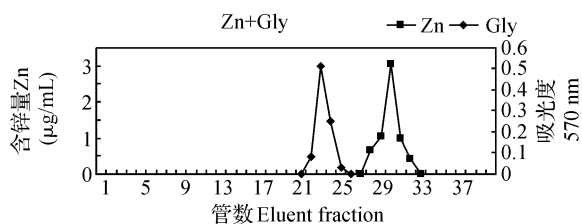


图 10 pH5 Zn+Gly 洗脱结果
Fig. 10 Absorbance (570 nm) of ninhydrin reactants and concentration of Zn in eluent fractions from gel filtration of Zn+Gly in pH5 buffer

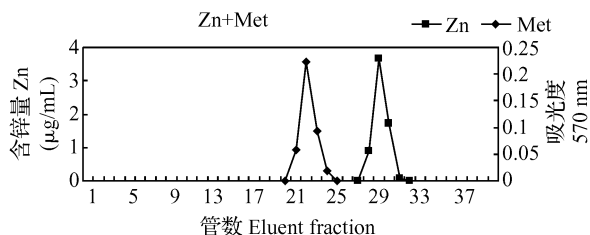


图 11 pH5 Zn+Met 洗脱结果
Fig. 11 Absorbance (570 nm) of ninhydrin reactants and concentration of Zn in eluent fractions from gel filtration of Zn+Met in pH5 buffer

有机锌源产品在 pH2、0.2 mol/L HCl-KCl 缓冲液或 pH5、0.1 mol/L $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-K}_2\text{HPO}_4$ 缓冲液和去离子水中的溶解部分的络合锌可能在凝胶过滤过程中因络合平衡破坏而在分离过程中解离,从而未能检测出络合形态锌,因而不能由此完全否定这些有机锌源产品中络合锌存在的可能性。

值得注意的是,尽管 pH2、0.2 mol/L HCl-KCl 缓冲液或 pH5、0.1 mol/L $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-K}_2\text{HPO}_4$ 缓冲液可以分别模拟胃液和小肠液的 pH,但畜禽消化道内是一个复杂的体系,在有食糜存在的消化道内,食糜中的蛋白质、肽、氨基酸类或糖类物质含有巯基、氨基、咪唑基、羧基、羟基等基团都可以与金属离子形成络合物,因而消化道内的配位体分子数远远大于金属离子,且消化液的缓冲物质、表面活性物质等使消化液的组成可能完全不同于体外所用的缓冲液。所以,饲料中的有机锌源在畜禽消化道内的存

在形式可能与其在 pH2、0.2 mol/L HCl-KCl 缓冲液或 pH5、0.1 mol/L $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-K}_2\text{HPO}_4$ 缓冲液中完全不同。但关于有机锌源在畜禽消化道内的存在形式及其吸收机理在国内外现有文献中均未见报道,尚需进一步研究。

2.5 有机锌源产品的络合强度

结果列于表 6。由表 6 可见, Zn-EDTA 的稳定常数为 5.02×10^{12} ,与 Holwerda 等^[8]用 pH6.0, I=0.1 mol/L MES 缓冲体系对 Zn-EDTA 测定的稳定常数为 5.10×10^{12} 的结果相近,证明了本测定体系的有效性。所测 7 种有机锌源产品中,有 4 种有机锌源产品的络合强度低于 10,包括 ZnMet:2.75, ZnAA A:3.76, ZnAA B:4.06, ZnAA C:6.48;有 1 种有机锌源产品的络合强度介于 10~100 之间,为 ZnPro B:30.73;有 2 种有机锌源产品的络合强度大于 100,为 ZnPro A:944.02, ZnGly:506.41。

表 6 有机锌源产品的络合强度

Table 6 Chelation effectiveness assay of organic zinc sources

锌源 Zn source	pH 值 pH value	锌浓度 Zn concentration/(mol/L)	半波电位 $E_{1/2}/V$	半波电位差 $\Delta E_{1/2}/V$	稳定常数 Formation quotient(Q_f)
蛋氨酸锌 ZnMet	6.90	0.025	-0.934	0.013	2.75
氨基酸锌 A ZnAA A	6.57	0.253	-0.938	0.017	3.76
氨基酸锌 B ZnAA B	3.95	0.471	-0.939	0.018	4.06
氨基酸锌 C ZnAA C	4.13	0.397	-0.945	0.024	6.48
蛋白锌 A ZnPro A	5.40	0.665	-1.009	0.088	944.02
蛋白锌 B ZnPro B	4.50	0.449	-0.965	0.044	30.73
甘氨酸锌 ZnGly	3.84	0.832	-1.001	0.080	506.41
EDTA 锌 Zn-EDTA	—	0.100	-1.297	0.3757	5.02×10^{12}

极谱法是利用电化学技术来测定络合物络合强度的一种方法,其基本原理是根据金属元素与配位体形成络合物后,在电压作用下还原为锌汞齐的难度加大,电位向更负的方向移动。因此,根据络合物与锌离子还原为 Zn(Hg)的 $E_{1/2}$ 差值,即可计算络合物的络合强度即稳定常数 (Q_f)。Skoog 和 West^[21]曾利用滴汞电极测定了有无螯合配位体存在时金属离子的电位变化。Holwerda 等^[8]和 Holwerda^[22]将这种方法应用于矿物元素金属蛋白盐络合强度的测定,并提出金属络合物络合强度的划分方法,即络合强度低于 10 的为弱络合强度,介于 10~100 的为中等络合强度,介于 100~1 000 的为强络合强度,超过 1 000 的为极强络合强度。按照 Holwerda 等^[8]对金属络合物络合强度的划分方法,

本研究所测 7 种有机锌源产品中,有 4 种有机锌源产品属于弱络合强度络合物,包括 ZnMet 和 3 种 ZnAA;有 1 种有机锌源产品属于中等络合强度络合物,为 ZnPro B;有 2 种有机锌源产品为强络合强度络合物,包括 ZnGly 和 ZnPro A。但需要指出的是,不同的配体及加工方法都会影响最终产物的络合强度^[15]。络合物中以络合状态存在的矿物元素的百分比随溶液的 pH 和矿物元素在溶液中总浓度的降低而降低^[8]。极谱法测定中所用的锌溶液是有机锌源产品的饱和溶液,其中的锌浓度远远超过了实际饲养中动物消化道内食糜中的锌浓度。因此,在消化道内偏酸性环境或近中性环境中含锌量较低的食糜中所测有机锌产品的络合强度可能会比本研究测得的值要低。但迄今为止,在国内外文献

中尚未见到关于有机锌源产品络合强度与其在畜禽消化道内的存在形式及其在畜禽体内生物学活性之间关系的研究报道。

2.6 不同络合强度有机锌体外发酵氮(N)浓度的变化

结果见表 7(由于硫酸锌组未加氮源,没有氮的

降解,数字未列入)。从表 7 可见,尿素组中的氮氮是随着时间的变化而不断降解,6 h 就已降解近 50%,12 h 降解了 67%,到 24 小时全部降解完毕,也就是没有未降解的氮留下进入后肠道;硫酸锌+urea+casein 组的氮变化是在 12 h 前降解较少,只有 1.03%,但在 12 到 24 h 之间,降解速度

表 7 不同络合强度有机锌体外发酵氮浓度的变化

Table 7 The concentration change of N fermented in vitro among different organic zinc

锌源 Source	0 h	6 h	12 h	24 h	未降解率/% Bypass
尿素 Urea	7.485 6 ^B	32.854 3 ^A	50.227 4 ^A	76.489 0 ^B	0
硫酸锌+尿素+酪蛋白 ZnSO ₄ +urea+casein	1.803 9 ^D	0.877 5 ^D	1.546 8 ^D	97.469 2 ^A	35.02
氨基酸锌 C ZnAAC(弱)	6.834 9 ^B	9.477 4 ^B	6.248 7 ^C	3.864 7 ^D	94.85
蛋白锌 B ZnProB(中)	11.125 4 ^A	8.980 1 ^B	7.054 3 ^B	5.881 7 ^C	92.16
蛋白锌 A ZnProA(强)	2.859 2 ^C	2.613 6 ^C	1.263 7 ^D	0.340 7 ^E	99.55
集合标准误 Pooled SE	0.311 3	0.210 6	0.168 3	0.319 6	
P-值 P-value	0.000 1	0.000 1	0.000 1	0.000 1	

A,B,C,D,E. 同一列中具有不同字母上标者差异显著($P < 0.07$)

A,B,C,D,E. Means with different superscripts within the same column differ significantly($P < 0.07$)

加快,到 24 h,降解达到 65%,即 35%能过瘤胃,同 urea 组相比,硫酸锌对氮氮的降解有一定的抑制作用,但没有达到使氮氮降解停止的程度;弱络合强度有机锌 6 h 的氮氮降解为最高,达 12.6%,随后逐渐降低,到 24 h 降解率为 5.15%,即近 95%过瘤胃;中络合强度有机锌的氮浓度是随着时间逐渐降低,到 24 h 降解率为 7.84%,即 92.16%的氮过瘤胃;强络合强度有机锌的氮浓度也是随着时间的变化逐渐降低,但降解率一直都很低,到 24 h 仅为 0.45%,即 99.55%的氮能过瘤胃。

从各个时间段来看,在 0 h,中络合强度有机锌的氮氮降解率为最高,其次为 urea 组和强络合有机锌组,最低为硫酸锌+urea+casein 组和强络合强度有机锌组;在 6 h,urea 组显著高于其他各组($P < 0.000 1$),弱络合强度和强络合强度有机锌之间无差异($P > 0.15$),但都显著高于强络合强度有机锌和硫酸锌+urea+casein 组($P < 0.000 1$),强络合强度有机锌组又显著高于硫酸锌+urea+casein 组($P < 0.003$);在 12 h,urea 组显著高于其他各组($P < 0.000 1$),中络合强度有机锌组显著高于弱络合强度有机锌组($P < 0.02$)、硫酸锌+urea+casein 组和强络合强度有机锌组($P < 0.000 1$),弱络合强度有机锌组显著高于硫酸锌+urea+casein 组和强络

合强度有机锌组($P < 0.000 1$),硫酸锌+urea+casein 组与强络合强度有机锌组之间无差异($P > 0.28$);在 24 h,硫酸锌+urea+casein 组显著高于其他各组($P < 0.000 1$),urea 组又显著高于弱、中和强络合强度有机锌组($P < 0.000 1$),中络合强度有机锌组显著高于弱络合强度有机锌组($P < 0.007$)和强络合强度有机锌组($P < 0.000 1$)。

以上数据表明,不同络合强度有机锌在模拟瘤胃环境下是稳定的,过瘤胃率分别在 94%、92%和 99%以上,其中又以强络合强度有机锌为最好(99.55%),弱络合强度有机锌又好于中络合强度有机锌。

氮是瘤胃微生物合成蛋白质的主要化合物,它来源于日粮中氨基酸降解产物和非蛋白氮(NPN)化合物以及内源尿素在瘤胃内的分解。瘤胃中的氨基酸一部分以氨的形式被微生物用来合成菌体蛋白,另一部分直接进入小肠被吸收,还有一部分以尿素的形式排出体外^[23]。瘤胃微生物对反刍动物蛋白质的供给具有一种“调节”作用,能使劣质蛋白质品质改善,优质蛋白质生物学价值降低。因此,通过给反刍动物饲料添加尿素,以提高瘤胃细菌蛋白质合成可以达到节约优质蛋白质的目的;对优质饲料蛋白质进行适当的处理(甲醛处理、包被等),以降低

其溶解度,使其在瘤胃中的降解率降低。同样,在实践中,动物营养学家和生产经营者都希望经络合或螯合的有机微量元素能在瘤胃中降解率降低,有更多的微量元素和氨基酸经瘤胃后到达小肠被吸收,以更好地满足动物生长和生产需要。但是,由于各种有机微量元素的质量不一样,其在瘤胃中的溶解度和降解率也不一样,因此,对有机微量元素在瘤胃中的溶解度和降解率进行评定就很有意义。

Heinricks 和 Conrad^[24] 研究报道,ZnMet 中的氨基酸部分在很大程度上不被瘤胃微生物所降解,在模拟瘤胃环境条件下,ZnMet 在 96 h 后仍不能被微生物利用。美国 Zinpro 公司曾用体外法评定其产品 AvailaZn(蛋氨酸锌)在瘤胃中的稳定性,所做的 3 个试验结果都表明,氨基酸螯合物在模拟瘤胃环境下是稳定的,过瘤胃率在 90% 以上。李丽立等^[25] 报道,饲喂 ZnMet 使山羊瘤胃内 NH_3 氮浓度显著降低,锌浓度较氧化锌组低,pH 相似,挥发性脂肪酸含量各组间无显著差异,说明有机锌在瘤胃中比无机锌稳定,并在瘤胃中停留时间短,直接以有机态进入肠道被吸收并参与代谢,从而有利于提高营养物质的吸收利用率。邵凯等^[26] 研究发现,与 ZnO 相比,ZnMet 具有降低瘤胃液 pH 和使 NH_3 氮浓度趋于稳定的效果。

参考文献:

- [1] SPEARS J W. Zinc methionine for ruminants: Relative bioavailability of zinc in lambs and effects of growth and performance of growing heifers[J]. J Anim Sci, 1989, 67: 835-843.
- [2] WEDEKIND K J, HORTIN A E, BAKER D H. Methodology for assessing zinc bioavailability: Efficacy estimates for zinc-methionine, zinc sulfate, and zinc oxide[J]. J Anim Sci, 1992, 70: 178-187.
- [3] AOAC. Official methods of analysis[M]. 16th ed. Assoc Offic Anal Chem Arlington, VA, 1995: 286-289.
- [4] AAFCO. Official publication[M]. Assoc Amer Feed Control Offic Inc, 2001: 78-83.
- [5] WATSON L T, AMMERMAN C B, MILLER S M, et al. Biological assay of inorganic manganese for chicks[J]. Poult Sci, 1970, 49: 1 548-1 554.
- [6] BROWN T F, ZERINGUE L K. Laboratory evaluations of solubility and structural integrity of complexed and chelated trace mineral supplements[J]. J Dairy Sci, 1994, 77(1): 181-189.
- [7] MOORE S, STEIN W H. A modified ninhydrin reagent for the photometric determination of amino acids and related compounds[J]. J Biol Chem, 1954, 211: 907-913.
- [8] HOLWERDA R A, ALBIN R C, MADSEN F C. Chelation effectiveness of zinc proteinates demonstrated[J]. Feedstuffs, 1995, 67: 12-23.
- [9] CAO J. Characterization of organic zinc sources and their relative bioavailabilities for poultry and sheep [D]. University of Florida, Gainesville, 1998.
- [10] WARD J D, SPEARS J W. Comparison of copper lysine and copper sulfate as copper sources for ruminants using *in vitro* methods[J]. J Dairy Sci, 1993, 76:2 994-2 998.
- [11] 赵广永, 冯仰廉. 用短期人工瘤胃发酵法研究饮水温度对反刍动物瘤胃发酵的影响[J]. 中国畜牧杂志, 1996,32(5):8-10.
- [12] BAUMGARDT B R, TAYLOR M W, CASON J L. Evaluation of forages in the laboratory. II. Simplified artificial rumen procedure for obtaining repeatable estimates of forage nutritive value[J]. J Dairy Sci, 1962, 45:62-68.
- [13] BRODERICK G A, KANG J H. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media[J]. J Dairy Sci, 1980, 63:64-75.
- [14] SAS. SAS user's guide: Statistics[M]. SAS Inst. Inc., Cary, NC,1989.
- [15] AOAC. Official methods of analysis[M]. 21th ed. Assoc Offic Anal Chem Arlington, VA, 2000: 187-189.
- [16] CHURCH D C. Digestive physiology and nutrition of ruminants[M]. vol1. Corvallis, OR, 1969: 23-28.
- [17] HOOVER W H, MILLER T K. Rumen digestive physiology and microbial ecology[M]. Proc Vet Clin N Am, Morgantown, WV, 1991: 1-31.
- [18] LI S, LUO X, LIU B, et al. Chemical characteristics and relative bioavailability of supplemental organic manganese sources for broilers[J]. Journal of Animal Science, 2004, 82: 2 352-2 363.
- [19] GUO R, HENRY P R, HOLWERDA R A, et al. Chemical characteristics and relative bioavailability of supplemental organic copper sources for poultry[J]. J Anim Sci, 2001, 79(5): 1 132-1 141.
- [20] MATSUI T, ISHIGURO T, SUZAKI S, et al. Supplementation of zinc as amino acid-chelated zinc for piglets[C]. Proceedings of the 8th AAAP Animal Sci-

- ence Congress, Vol 2, 1996: 754.
- [21] SKOOG D A, WEST D W, HOLLER F J, et al. Fundamentals of analytical chemistry [M]. 1963: 599.
- [22] HOLWERDA R A. Chelation effectiveness in zinc, manganese and copper proteinates. Complexed minerals products symposium [M]. AAFCO Laboratory Methods and Services Committee, 1997: 89-94.
- [23] ALLISON M J. Nitrogen metabolism of rumen microorganisms. Physiology of digestion and metabolism in the ruminant [M]. England: Oriel Press, 1970: 456-474.
- [24] HEINRICKS A J, CONRAD H R. Rumen solubility and breakdown products of metal proteinate compounds[J]. J Dairy Sci, 1983, 66 (suppl. 1): 147 (Abstract).
- [25] 李丽立, 邢廷铄, 潘亚非, 等. 蛋氨酸锌对山羊瘤胃环境和营养物质的影响[J]. 动物营养学报, 1994, 6 (1): 16-21.
- [26] 邵凯, 卢德勋, 冯宗慈. 蛋氨酸锌对绵羊瘤胃发酵和免疫力的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2000, 36(1): 11-13.

动物疫情速递

巴西发生马鼻疽

2008年9月5日,巴西向OIE通报了马鼻疽疫情。疫情始于2008年8月15日,于9月2日得到确诊。病原是鼻疽伯克霍尔德氏菌(*Burkholderia mallei*),此次疫情是临床病例,根据临床症状和实验室检测(基础)作出诊断,Paddock Laboratorio de Análisis Clínicos(私人实验室)的补体结合反应结果均为阳性。疫区位于圣保罗 Santo André 村,有疑似马33匹,1例病例,为7岁杂种马,未死亡,已于9月5日销毁。感染来源尚不清楚。巴西采取的控制措施:检疫、国内限制移运、染疫场区消毒和改良的扑杀,并且禁止免疫,未对动物进行治疗。巴西上一次发生马鼻疽是1968年。

瑞典发生蓝舌病

2008年9月10日,瑞典兽医检查官Jan Danielsson先生向OIE通报了蓝舌病疫情。疫情始于2008年9月6日,于当天确诊。此次疫情不是临床发病,病原是8型蓝舌病病毒,依靠实验室检测作出诊断,瑞典国家兽医实验室的Real-time PCR结果为阳性。疫区位于哈兰省哈尔姆斯塔德 Alebolet 的养殖场,易感动物是牛,共有300头,病例2例,未出现死亡,销毁2头。感染来源尚不清楚。瑞典采取的控制措施有国内限制移运、筛查、区域化、和改良的扑杀,未禁止免疫,未对动物进行治疗。即将采取控制野生动物、检疫、紧急免疫及浸洗/喷雾等措施,这是瑞典首次发生蓝舌病。

匈牙利发生蓝舌病

2008年9月15日,匈牙利向OIE通报了蓝舌病疫情。疫情始于2008年8月25日,于8月27日确诊。此次疫情不是临床发病,病原是蓝舌病病毒,血清型待定,依靠实验室检测作出诊断,匈牙利农业部兽医诊断局的抗体检测ELISA和PCR结果均为阳性。疫区位于包尔绍德-奥包乌伊-曾普伦州 Gelej 的养殖场,易感动物是牛,共有379头(其中有92头来自法国),病例4例,未出现死亡,销毁4头。感染可能来自引进法国牛。匈牙利采取的控制措施有控制节肢动物、扑杀、检疫、国内限制移运、筛查及浸洗/喷雾,并且禁止免疫,未对动物进行治疗。这是匈牙利首次发生蓝舌病。

澳大利亚发生鲍鱼病毒性神经节神经炎

2008年9月12日,澳大利亚向OIE通报了鲍鱼病毒性神经节神经炎疫情。疫情始于2008年9月2日,于9月10日确诊。病原是疱疹样病毒。疫区位于塔斯曼尼亚州霍巴特 Mornington 的一个加工厂,易感动物是黑鲍(*Haliotis rubra*),约涉及1580个,均来自野生,澳大利亚动物健康实验室的Real-time PCR结果为阳性,以池塘为单位,发病率2%。野生黑鲍未见发病,感染来源还不清楚。澳大利亚已采取染疫场区消毒、国内限制移运、追溯和监测等措施,未禁止免疫,未对动物进行治疗。

(摘译自OIE网站)