

基于体外仿生消化法筛选适用于肉鸡玉米-豆粕-杂粕型饲料的非淀粉多糖复合酶

刘胜利¹ 刘示杰² 王述柏^{3*} 刘文龙¹ 马传兴¹ 郭庆文¹
王兴吉¹ 张明超¹ 陈洪伟¹

(1. 山东隆科特酶制剂有限公司, 临沂 276400; 2. 青岛科技大学高分子科学与工程学院, 青岛 266042;
3. 青岛农业大学动物科技学院, 青岛 266109)

摘要: 本试验旨在探究响应面法优化筛选 6 种非淀粉多糖酶(木聚糖酶、 β -葡聚糖酶、纤维素酶、 β -甘露聚糖酶、 α -半乳糖苷酶、果胶酶)添加于肉鸡玉米-豆粕-杂粕型饲料中最佳组合酶谱。采用第 3 代单胃动物仿生消化系统(SDS-III)进行模拟胃肠液体外消化试验,首先采用单因素完全随机试验设计,在肉鸡玉米-豆粕-杂粕型基础饲料中分别添加 5 个水平的 6 种非淀粉多糖酶,每个水平设 5 个重复,以还原糖释放量(RS)和干物质消化率提高值(IDMD)为评价指标,确定单酶的最佳添加量;据此结果,进一步利用软件 Design-Expert 8.06 Box-Behnken 响应面法设计 6 因子 3 水平 $L_{54}(3^6)$ 试验,对 6 种单酶进行复配组合,以 RS 和 IDMD 为响应值,确定 6 种单酶的最佳组合酶谱。结果表明:在 1~3 周龄肉鸡玉米-豆粕-杂粕型饲料中优选出的 6 种非淀粉多糖酶酶谱为木聚糖酶 11.40 U/g、 β -葡聚糖酶 3.76 U/g、纤维素酶 8.52 U/g、 β -甘露聚糖酶 8.19 U/g、 α -半乳糖苷酶 6.24 U/g、果胶酶 1.60 U/g,该酶谱催化反应的 RS 和 IDMD 分别为 9.71 mg/g 和 2.86%;在此条件下进行 3 次重复试验,得到 RS 和 IDMD 分别为 9.59 mg/g 和 2.81%,与理论最优值的误差分别为 1.24% 和 1.75%,表明所得酶谱能反映出对 RS 和 IDMD 的较好结果。在 4~6 周龄肉鸡玉米-豆粕-杂粕型饲料中优选出的 6 种非淀粉多糖酶酶谱为木聚糖酶 11.90 U/g、 β -葡聚糖酶 5.26 U/g、纤维素酶 8.32 U/g、 β -甘露聚糖酶 7.96 U/g、 α -半乳糖苷酶 6.29 U/g、果胶酶 6.17 U/g,该酶谱催化反应的 RS 和 IDMD 分别为 10.45 mg/g 和 2.95%;在此条件下进行 3 次重复试验,得到 RS 和 IDMD 分别为 10.34 mg/g 和 2.92%,与理论最优值的误差分别为 1.05% 和 1.02%,表明所得酶谱能反映出对 RS 和 IDMD 的较好结果。综上所述,1~3 周龄肉鸡饲料 6 种非淀粉多糖酶最佳酶谱是木聚糖酶 11.40 U/g、 β -葡聚糖酶 3.76 U/g、纤维素酶 8.52 U/g、 β -甘露聚糖酶 8.19 U/g、 α -半乳糖苷酶 6.24 U/g、果胶酶 1.60 U/g;4~6 周龄肉鸡饲料 6 种非淀粉多糖酶最佳酶谱是木聚糖酶 11.90 U/g、 β -葡聚糖酶 5.26 U/g、纤维素酶 8.32 U/g、 β -甘露聚糖酶 7.96 U/g、 α -半乳糖苷酶 6.29 U/g、果胶酶 6.17 U/g。

关键词: 肉鸡;玉米-豆粕-杂粕型饲料;非淀粉多糖酶;还原糖;干物质消化率;酶谱

中图分类号:S816

文献标识码:A

文章编号:1006-267X(2020)03-1362-20

饲用非淀粉多糖(NSP)酶制剂,具有提高饲料利用率、扩大饲料原料应用范围、提高动物生长

收稿日期:2019-09-23

基金项目:山东省现代农业产业技术体系家禽产业创新团队建设项目(SDAIT-11-14)

作者简介:刘胜利(1973—),男,山东阳信人,博士,研究方向为饲用酶工程和动物真菌毒素中毒及毒性机理与检测。E-mail: lsl200660@126.com

* 通信作者:王述柏,教授,硕士生导师,E-mail: wshbai@163.com

和生产性能、降低饲养成本和改善环境等作用^[1-8],是目前有望作为抗生素替代品的促生长型生物饲料添加剂。大量研究显示,NSP 酶可断裂 NSP 的长链结构形成低聚物,释放营养物质,从而提高饲料的营养价值^[9];通过降解植物细胞壁破坏物理屏障结构,释放营养物质使之与肠道消化酶充分接触,从而提高养分的消化率^[2];降低排泄量,减少对环境的污染^[8];降低 NSP 在后肠的发酵,抑制有害菌的繁殖,减少疾病的发生^[10]。因此 NSP 酶制剂在养殖领域具有广阔的应用前景。本研究通过体外仿生消化系统模拟胃肠液进行消化试验,对肉鸡玉米-豆粕-杂粕型饲料的 NSP 复合酶制剂进行酶谱筛选,旨在为其在玉米-豆粕-杂粕型饲料中的合理应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验所用各种 NSP 酶制剂(木聚糖酶

50 000 U/g、 β -葡聚糖酶 50 000 U/g、纤维素酶 10 000 U/g、 β -甘露聚糖酶 50 000 U/g、 α -半乳糖苷酶 2 000 U/g、果胶酶 30 000 U/g)均由山东隆科特酶制剂有限公司提供。其中,木聚糖酶、 β -葡聚糖酶、纤维素酶、 β -甘露聚糖酶、 α -半乳糖苷酶、果胶酶的菌种来源分别是毕赤酵母、长柄木霉、长柄木霉、迟缓芽孢杆菌、黑曲霉、黑曲霉。试验试剂:胃蛋白酶(Sigma P7000),胰蛋白酶(Amresco 0785),糜蛋白酶(Amresco 0164),淀粉酶(Sigma A3306),其他试剂除特殊说明外,均为分析纯,水均为符合 GB/T 6682—2008 中规定的二级水。主要试验仪器有第 3 代单胃动物仿生消化系统(SDS-III)(湖南中本智能科技发展有限公司)和 6400 型氧弹量热仪(美国 Parr 公司)。

参照爱拔益加商品代肉鸡营养建议量配制玉米-豆粕-杂粕型基础饲料,基础饲料组成及营养水平见表 1。

表 1 基础饲料组成及营养水平(风干基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of basal diets (air-dry basis)

%

项目 Items	含量 Content	
	1~3 周龄 1 to 3 weeks of age	4~6 周龄 4 to 6 weeks of age
原料 Ingredients		
玉米 Corn	49.39	49.95
豆粕 Soybean meal (43% CP)	26.10	18.50
大豆油 Soybean oil	2.00	4.81
次粉 Wheat middling	5.00	10.00
石粉 Limestone	1.42	1.47
国产干酒糟及其可溶物 Domestic DDGS	5.00	2.00
磷酸氢钙 CaHPO ₄	1.33	0.91
花生粕 Peanut meal (47% CP)	3.00	5.24
棉籽粕 Cottonseed meal (46% CP)	3.00	3.00
玉米蛋白粉 Corn protein meal (60% CP)	2.00	2.00
L-苏氨酸 L-Thr (99%)	0.08	0.12
L-赖氨酸 L-Lys (70%)	0.50	0.70
DL-蛋氨酸 DL-Met (98%)	0.18	0.30
预混料 Premix ¹⁾	1.00	1.00
合计 Total	100.00	100.00
营养水平 Nutrient levels ²⁾		
代谢能 ME/(MJ/kg)	12.26	13.05
粗蛋白质 CP	22.00	20.00
粗脂肪 EE	4.88	7.11
可消化赖氨酸 Digestible Lys	1.14	1.09

续表 1

项目 Items	含量 Content	
	1~3 周龄	4~6 周龄
	1 to 3 weeks of age	4 to 6 weeks of age
可消化蛋氨酸 Digestible Met	0.59	0.57
可消化苏氨酸 Digestible Thr	0.75	0.69
可消化蛋氨酸+半胱氨酸 Digestible Met+Cys	0.88	0.83
钙 Ca	0.98	0.93
有效磷 AP	0.49	0.40
总磷 TP	0.72	0.64

1) 预混料为每千克饲料提供 The premix provided the following per kg of diets: VA 10 000.00 IU, VB₁ 5.60 mg, VB₂ 11.00 mg, VB₆ 8.00 mg, VB₁₂ 0.02 mg, VD₃ 3 000.00 IU, VE 40.00 IU, VK₃ 2.50 mg, 生物素 biotin 0.15 mg, 叶酸 folic acid 2.00 mg, D-泛酸 D-pantothenic acid 32.00 mg, 烟酸 nicotinic acid 60.00 mg, 抗氧化剂 antioxidant 100.00 mg, Cu (as copper sulfate) 10.00 mg, Fe (as ferrous sulfate) 80.00 mg, Mn (as manganese sulfate) 60.00 mg, Zn (as zinc sulfate) 35.00 mg, I (as potassium iodide) 0.42 mg, Se (as sodium selenite) 0.30 mg。

2) 营养水平均为计算值。Nutrient levels were all calculated values.

1.2 试验设计

1.2.1 肉鸡饲料中 6 种单酶适宜添加量的体外仿生筛选试验

采用单因素完全随机试验设计,将木聚糖酶、 β -葡聚糖酶、纤维素酶、 β -甘露聚糖酶、 α -半乳糖

苷酶、果胶酶 6 种单酶添加量分别设定 5 个水平,每个水平设 5 个重复,添加在肉鸡玉米-豆粕-杂粕型试验饲料中,进行模拟胃肠液体外消化试验,试验设计见表 2。

表 2 6 种单酶的添加量

Table 2 Supplemental levels of the 6 kinds of enzymes

处理 Treatments	木聚糖酶 Xylanase	β -葡聚糖酶 β -glucanase	纤维素酶 Cellulase	β -甘露聚糖酶 β -mannanase	α -半乳糖苷酶 α -galactosidase	果胶酶 Pectase
1	0.50	0.25	0.50	0.50	0.80	0.40
2	1.00	0.50	1.00	1.00	1.60	0.80
3	2.00	1.00	2.00	2.00	3.20	1.60
4	4.00	2.00	4.00	4.00	6.40	3.20
5	8.00	4.00	8.00	8.00	12.80	6.40

1.2.2 肉鸡饲料中 6 种单酶复配酶谱的体外筛选试验

根据 1.2.1 的试验结果:1~3 周龄肉鸡饲料中 6 种单酶木聚糖酶、 β -葡聚糖酶、纤维素酶、 β -甘露聚糖酶、 α -半乳糖苷酶、果胶酶获得最佳还原糖释放量的添加量分别为 7.56、4.63、6.21、6.42、7.88、3.78 U/g,获得最佳干物质消化率提高值的添加量分别为 11.50、3.76、8.79、4.55、6.24、5.95 U/g。将 6 种酶分别设定 3 个水平,按照 6 因素 3 水平 L₅₄(3⁶) Box-Behnken 响应面分析法进行试验设计,设置 54 个组合,其因素水平编码表如表 3 所示,共有 54 个试验,其中 48 个为析因点,6 个为零点以估计误差;以还原糖释放量(Y1)和干

物质消化率提高值(Y2)为响应值,试验设计及结果如表 4 所示。

根据 1.2.1 的试验结果:4~6 周龄肉鸡饲料中 6 种单酶木聚糖酶、 β -葡聚糖酶、纤维素酶、 β -甘露聚糖酶、 α -半乳糖苷酶、果胶酶获得最佳还原糖释放量和干物质消化率提高值的添加量分别为 7.31、11.90 U/g,4.53、3.80 U/g,6.44、8.90 U/g,6.44、4.55 U/g,7.81、6.29 U/g,3.79、6.17 U/g;将 6 种酶分别设定 3 个水平,按照 6 因素 3 水平 L₅₄(3⁶) Box-Behnken 响应面分析法进行试验设计,设置 54 个组合,其因素水平编码表如表 5 所示,共有 54 个试验,其中 48 个为析因点,6 个为零点以估

计误差;以还原糖释放量(Z1)和干物质消化率提高值(Z2)为响应值,试验设计及结果如表6所示。

表3 肉鸡1~3周龄饲料试验因素与水平

Table 3 Experimental factors and levels of diets for broilers from 1 to 3 weeks of age

U/g

水平 Levels	因素 Factors					
	木聚糖酶 Xylanase (A)	β -葡聚糖酶 β -glucanase (B)	纤维素酶 Cellulase (C)	β -甘露聚糖酶 β -mannanase (D)	α -半乳糖苷酶 α -galactosidase (E)	果胶酶 Pectase (F)
-1	3.63	3.76	3.64	4.55	6.24	1.60
0	7.56	4.63	6.21	6.42	7.88	3.78
1	11.50	5.50	8.79	8.29	9.51	5.95

表4 肉鸡1~3周龄饲料 Box-Behnken 设计方案及响应值结果

Table 4 Design of Box-Behnken and response values of diets for broilers from 1 to 3 weeks of age

试验编号 Experiment number	因素 Factors/(U/g)						还原糖 释放量 Reducing sugar release (Y1)/ (mg/g)	干物质消化 率提高值 Improved dry matter digestibility (Y2)/%
	木聚糖酶 Xylanase (A)	β -葡聚糖酶 β - glucanase (B)	纤维素酶 Cellulase (C)	β -甘露 聚糖酶 β - mannanase (D)	α -半乳 糖苷酶 α - galactosidase (E)	果胶酶 Pectase (F)		
1	7.56	4.63	6.21	6.42	7.88	3.78	7.92	1.70
2	7.56	3.76	6.21	6.42	9.51	5.95	7.73	1.41
3	7.56	5.50	6.21	6.42	9.51	1.60	7.63	1.36
4	11.50	4.63	8.79	6.42	7.88	1.60	9.07	1.38
5	11.50	5.50	6.21	4.55	7.88	3.78	8.27	1.54
6	3.63	5.50	6.21	4.55	7.88	3.78	8.07	1.62
7	7.56	3.76	3.64	6.42	9.51	3.78	8.30	1.68
8	11.50	5.50	6.21	8.29	7.88	3.78	7.98	1.77
9	7.56	4.63	3.64	4.55	7.88	5.95	7.62	1.70
10	7.56	4.63	6.21	6.42	7.88	3.78	7.92	1.65
11	7.56	5.50	3.64	6.42	6.24	3.78	7.77	1.32
12	7.56	5.50	6.21	6.42	6.24	5.95	7.87	2.22
13	11.50	3.76	6.21	8.29	7.88	3.78	8.13	1.91
14	7.56	5.50	8.79	6.42	9.51	3.78	8.02	1.44
15	11.50	3.76	6.21	4.55	7.88	3.78	7.73	1.73
16	7.56	4.63	3.64	8.29	7.88	1.60	8.45	1.86
17	7.56	5.50	6.21	6.42	6.24	1.60	7.92	1.16
18	7.56	4.63	3.64	8.29	7.88	5.95	7.97	1.61
19	7.56	4.63	6.21	6.42	7.88	3.78	7.92	1.72
20	7.56	3.76	6.21	6.42	6.24	5.95	7.06	1.64
21	11.50	4.63	8.79	6.42	7.88	5.95	8.74	1.86
22	7.56	3.76	3.64	6.42	6.24	3.78	7.35	1.65
23	3.63	4.63	6.21	4.55	9.51	3.78	8.13	2.17
24	3.63	4.63	3.64	6.42	7.88	5.95	8.38	1.60
25	7.56	4.63	8.79	8.29	7.88	1.60	8.03	1.63
26	3.63	4.63	3.64	6.42	7.88	1.60	8.35	1.77
27	11.50	4.63	3.64	6.42	7.88	1.60	8.97	2.04
28	7.56	5.50	6.21	6.42	9.51	5.95	8.71	2.45
29	11.50	4.63	6.21	8.29	6.24	3.78	8.23	2.36

续表 4

试验编号 Experiment number	因素 Factors/(U/g)						还原糖 释放量 Reducing sugar release (Y1)/ (mg/g)	干物质消化 率提高值 Improved dry matter digestibility (Y2)/%
	木聚糖酶 Xylanase (A)	β -葡聚糖酶 β - glucanase (B)	纤维素酶 Cellulase (C)	β -甘露 聚糖酶 β - mannanase (D)	α -半乳 糖苷酶 α - galactosidase (E)	果胶酶 Pectase (F)		
30	3.63	4.63	6.21	8.29	9.51	3.78	7.87	1.77
31	3.63	3.76	6.21	8.29	7.88	3.78	7.76	1.80
32	7.56	4.63	8.79	4.55	7.88	5.95	8.55	1.76
33	7.56	4.63	8.79	4.55	7.88	1.60	8.38	1.21
34	11.50	4.63	6.21	4.55	9.51	3.78	8.97	1.51
35	7.56	4.63	8.79	8.29	7.88	5.95	8.22	1.61
36	11.50	4.63	6.21	8.29	9.51	3.78	8.75	1.19
37	7.56	5.50	3.64	6.42	9.51	3.78	8.90	1.82
38	11.50	4.63	3.64	6.42	7.88	5.95	7.99	2.29
39	7.56	3.76	8.79	6.42	9.51	3.78	7.98	1.33
40	3.63	5.50	6.21	8.29	7.88	3.78	7.74	1.77
41	3.63	3.76	6.21	4.55	7.88	3.78	7.46	1.70
42	3.63	4.63	6.21	4.55	6.24	3.78	8.27	1.03
43	3.63	4.63	6.21	8.29	6.24	3.78	8.50	1.67
44	3.63	4.63	8.79	6.42	7.88	1.60	8.11	2.03
45	3.63	4.63	8.79	6.42	7.88	5.95	8.79	2.23
46	7.56	4.63	6.21	6.42	7.88	3.78	7.92	1.72
47	7.56	4.63	3.64	4.55	7.88	1.60	8.11	1.37
48	7.56	3.76	6.21	6.42	6.24	1.60	8.45	2.42
49	7.56	5.50	8.79	6.42	6.24	3.78	8.60	1.50
50	7.56	3.76	6.21	6.42	9.51	1.60	7.98	2.16
51	11.50	4.63	6.21	4.55	6.24	3.78	7.97	1.64
52	7.56	3.76	8.79	6.42	6.24	3.78	8.74	1.86
53	7.56	4.63	6.21	6.42	7.88	3.78	7.92	1.72
54	7.56	4.63	6.21	6.42	7.88	3.78	7.92	1.72

表 5 肉鸡 4~6 周龄饲粮试验因素与水平

Table 5 Experimental factors and levels of diets for broilers from 4 to 6 weeks of age

U/g

水平 Levels	因素 Factors					
	木聚糖酶 Xylanase (A)	β -葡聚糖酶 β -glucanase (B)	纤维素酶 Cellulase (C)	β -甘露聚糖酶 β -mannanase (D)	α -半乳糖苷酶 α -galactosidase (E)	果胶酶 Pectase (F)
-1	2.72	3.80	3.97	4.55	6.29	1.41
0	7.31	4.53	6.44	6.44	7.81	3.79
1	11.90	5.26	8.90	8.33	9.34	6.17

表 6 肉鸡 4~6 周龄饲料 Box-Behnken 设计方案及响应值结果

Table 6 Design of Box-Behnken and response values of diets for broilers from 4 to 6 weeks of age

试验编号 Experiment number	因素 Factors/(U/g)						还原糖 释放量 Reducing sugar release (Z1)/ (mg/g)	干物质消化 率提高值 Improved dry matter digestibility (Z2)/%
	木聚糖酶 Xylanase (A)	β -葡 聚糖酶 β -glucanase (B)	纤维素酶 Cellulase (C)	β -甘露 聚糖酶 β - mannanase (D)	α -半乳 糖苷酶 α - galactosidase (E)	果胶酶 Pectase (F)		
1	7.31	5.26	6.44	6.44	9.34	6.17	8.37	1.76
2	7.31	3.80	8.90	6.44	9.34	3.79	7.59	1.50
3	11.90	4.53	3.97	6.44	7.81	1.41	7.60	1.69
4	7.31	3.80	3.97	6.44	6.29	3.79	7.79	1.52
5	7.31	4.53	3.97	8.33	7.81	1.41	7.19	1.20
6	7.31	4.53	3.97	8.33	7.81	6.17	7.10	1.71
7	7.31	5.26	8.90	6.44	9.34	3.79	8.39	1.75
8	11.90	4.53	6.44	8.33	6.29	3.79	9.34	2.00
9	11.90	5.26	6.44	8.33	7.81	3.79	10.84	1.95
10	11.90	4.53	3.97	6.44	7.81	6.17	10.25	1.99
11	7.31	4.53	6.44	6.44	7.81	3.79	8.86	1.88
12	2.72	4.53	6.44	8.33	9.34	3.79	7.86	2.00
13	7.31	3.80	6.44	6.44	6.29	6.17	8.34	1.45
14	7.31	5.26	3.97	6.44	6.29	3.79	8.12	1.20
15	2.72	4.53	6.44	4.55	6.29	3.79	9.35	1.60
16	7.31	4.53	6.44	6.44	7.81	3.79	8.86	1.89
17	7.31	5.26	6.44	6.44	9.34	1.41	8.45	1.20
18	7.31	4.53	8.90	8.33	7.81	1.41	7.28	1.29
19	7.31	4.53	8.90	4.55	7.81	6.17	7.83	1.80
20	2.72	4.53	3.97	6.44	7.81	6.17	7.30	1.75
21	2.72	5.26	6.44	8.33	7.81	3.79	8.11	1.70
22	7.31	4.53	3.97	4.55	7.81	1.41	6.85	1.60
23	7.31	4.53	8.90	4.55	7.81	1.41	6.47	1.70
24	2.72	4.53	6.44	8.33	6.29	3.79	7.88	1.40
25	7.31	4.53	3.97	4.55	7.81	6.17	8.30	1.32
26	11.90	4.53	6.44	8.33	9.34	3.79	9.62	1.71
27	7.31	4.53	6.44	6.44	7.81	3.79	8.87	1.80
28	11.90	4.53	8.90	6.44	7.81	6.17	9.32	2.50
29	11.90	5.26	6.44	4.55	7.81	3.79	8.25	1.90
30	11.90	3.80	6.44	4.55	7.81	3.79	7.90	1.90
31	2.72	4.53	3.97	6.44	7.81	1.41	8.60	1.80
32	7.31	5.26	3.97	6.44	9.34	3.79	9.40	1.35
33	7.31	3.80	6.44	6.44	9.34	1.41	7.28	1.70
34	7.31	4.53	6.44	6.44	7.81	3.79	8.88	1.87
35	2.72	3.80	6.44	4.55	7.81	3.79	10.25	1.79
36	2.72	3.80	6.44	8.33	7.81	3.79	7.33	1.66
37	7.31	3.80	8.9	6.44	6.29	3.79	8.50	1.60
38	2.72	4.53	6.44	4.55	9.34	3.79	9.53	1.90
39	11.90	4.53	8.90	6.44	7.81	1.41	6.70	1.85
40	7.31	5.26	8.90	6.44	6.29	3.79	8.10	1.90

续表 6

试验编号 Experiment number	因素 Factors/(U/g)						还原糖 释放量 Reducing sugar release (Z1)/ (mg/g)	干物质消化 率提高值 Improved dry matter digestibility (Z2)/%
	木聚糖酶 Xylanase (A)	β -葡 聚糖酶 β -glucanase (B)	纤维素酶 Cellulase (C)	β -甘露 聚糖酶 β - mannanase (D)	α -半乳 糖苷酶 α - galactosidase (E)	果胶酶 Pectase (F)		
41	7.31	4.53	6.44	6.44	7.81	3.79	8.84	1.83
42	7.31	5.26	6.44	6.44	6.29	1.41	7.00	1.20
43	7.31	3.80	6.44	6.44	9.34	6.17	7.30	1.50
44	7.31	3.80	6.44	6.44	6.29	1.41	6.95	1.70
45	2.72	4.53	8.90	6.44	7.81	6.17	7.90	2.05
46	7.31	5.26	6.44	6.44	6.29	6.17	8.30	1.99
47	11.90	3.80	6.44	8.33	7.81	3.79	7.72	1.70
48	7.31	4.53	6.44	6.44	7.81	3.79	8.89	1.80
49	2.72	5.26	6.44	4.55	7.81	3.79	8.30	1.55
50	7.31	4.53	8.90	8.33	7.81	6.17	7.11	2.10
51	11.90	4.53	6.44	4.55	6.29	3.79	8.10	2.10
52	11.90	4.53	6.44	4.55	9.34	3.79	8.42	1.69
53	2.72	4.53	8.90	6.44	7.81	1.41	9.20	1.70
54	7.31	3.80	3.97	6.44	9.34	3.79	7.95	1.70

1.3 模拟胃肠液体外消化试验

仿生消化法测定还原糖释放量和干物质消化率提高值,仿生消化操作过程中透析袋的型号和前处理、胃缓冲液和小肠缓冲液的配制和仪器运行参数等试验操作参照文献[11]。

1.4 数据处理

用 Excel 2016 对数据进行初步整理,运用 Design-Expert 8.0.6 软件进行响应面分析。其中数据计算公式如下:

$$DMD(\%) = (M1 - M2) / M1 \times 100;$$

式中: DMD 为饲料体外干物质消化率提高值(%); $M1$ 为上样饲料干物质重量(g); $M2$ 为未消化残渣干物质重量(g)。

$$RS(\text{mg/g DM}) = [(a \times OD_1 + b) \times D \times$$

$$V - (a \times OD_2 + b) \times 17.6] / (w \times DM)。$$

式中: RS 为饲料体外还原糖释放量; a 为标准曲线回归系数; b 为标准曲线回归系数; OD_1 为每个重复测定管的吸光度(OD)值; OD_2 为消化酶空白管的 OD 值; D 为样品稀释倍数; V 为定容体积; w 为每个重复测定管饲料样品重量; DM 为饲料样品的干物质含量。

2 结果与分析

2.1 肉鸡玉米-豆粕-杂粕型饲料中单酶添加量的优选结果

1~3 周龄肉鸡饲料添加 6 种单酶对还原糖释放量和干物质消化率提高值的影响见表 7。由表可知,还原糖释放量和干物质消化率提高值随木聚糖酶、 β -葡聚糖酶、纤维素酶添加量的逐步增加而呈现增加趋势;随 β -甘露聚糖酶添加量的逐步增加,还原糖释放量呈增加趋势,而干物质消化率提高值呈先增长后降低的趋势,当 β -甘露聚糖酶添加量为 4.00 U/g 时,干物质消化率提高值最高达 0.74%;随饲料 α -半乳糖苷酶添加量的增加,还原糖释放量和干物质消化率提高值均呈现先增加后降低的趋势,当 α -半乳糖苷酶添加量为 6.40 U/g 时,还原糖释放量和干物质消化率提高值达最大值分别为 4.51 mg/g 和 0.57%;随饲料果胶酶添加量的增加,干物质消化率提高值增加,而还原糖释放量呈先增加后降低的趋势,当果胶酶添加量为 3.20 U/g 时,还原糖释放量达最大值 2.84 mg/g。

通过 6 种单酶适宜添加量的体外仿生试验筛选数据建立还原糖释放量和干物质消化率提高值

与其单酶添加量间的二次回归方程,通过偏导数法求出获得还原糖释放量最大值和干物质消化率提高值最大值,1~3 周龄肉鸡饲料中 6 种单酶的最优添加量(表 8 和表 9)分别为:木聚糖酶 7.56、

11.50 U/g,β-葡聚糖酶 4.27、3.76 U/g,纤维素酶 6.21、8.79 U/g,β-甘露聚糖酶 6.42、4.55 U/g,α-半乳糖苷酶 7.88、6.24 U/g,果胶酶 3.78、5.95 U/g。

表 7 1~3 周龄肉鸡饲料添加 6 种单酶对还原糖释放量和干物质消化率提高值的影响

Table 7 Effects of supplementation with 6 kinds of enzymes on reducing sugar release and improved dry matter digestibility in diets for broilers from 1 to 3 weeks of age

项目 Items	含量 Content				
木聚糖酶添加量 Addition of xylanase/(U/g)	0.50	1.00	2.00	4.00	8.00
还原糖释放量 Reducing sugar release/(mg/g)	0.53	4.96	7.02	9.93	13.75
干物质消化率提高值 Improved dry matter digestibility/%	0.07	0.09	0.12	0.28	0.39
β-葡聚糖酶添加量 Addition of β-glucanase/(U/g)	0.25	0.50	1.00	2.00	4.00
还原糖释放量 Reducing sugar release/(mg/g)	0.68	2.22	3.63	5.31	8.05
干物质消化率提高值 Improved dry matter digestibility/%	0.43	0.60	0.91	1.24	1.55
纤维素酶添加量 Addition of cellulase/(U/g)	0.50	1.00	2.00	4.00	8.00
还原糖释放量 Reducing sugar release/(mg/g)	7.68	10.28	12.00	14.61	15.34
干物质消化率提高值 Improved dry matter digestibility/%	0.06	0.43	0.64	1.02	1.51
β-甘露聚糖酶添加量 Addition of β-mannanase/(U/g)	0.50	1.00	2.00	4.00	8.00
还原糖释放量 Reducing sugar release/(mg/g)	0.31	0.68	1.69	1.99	2.42
干物质消化率提高值 Improved dry matter digestibility/%	0.08	0.10	0.39	0.74	0.19
α-半乳糖苷酶添加量 Addition of α-galactosidase/(U/g)	0.80	1.60	3.20	6.40	12.80
还原糖释放量 Reducing sugar release/(mg/g)	1.16	2.08	3.75	4.51	3.22
干物质消化率提高值 Improved dry matter digestibility/%	0.31	0.37	0.57	0.57	0.19
果胶酶添加量 Addition of pectase/(U/g)	0.40	0.80	1.60	3.20	6.40
还原糖释放量 Reducing sugar release/(mg/g)	0.74	1.12	1.83	2.84	1.52
干物质消化率提高值 Improved dry matter digestibility/%	0.31	0.51	0.70	0.76	0.98

表 8 1~3 周龄肉鸡饲料中添加酶制剂还原糖释放量的二次回归方程

Table 8 Quadratic regression equation of reducing sugar release with enzyme supplementation in diets for broilers from 1 to 3 weeks of age

项目 Items	还原糖释放量的二次回归方程 Quadratic regression equation of reducing sugar release	最优添加量 Optimal addition/ (U/g)	还原糖释放量最大值 Maximum of the reducing sugar release/(mg/g)
木聚糖酶 Xylanase	$y = -0.234 9x^2 + 3.553 6x + 0.227 8, R^2 = 0.950 2$	7.56	13.67
β-葡聚糖酶 β-glucanase	$y = -0.367 6x^2 + 3.402 5x + 0.269 6, R^2 = 0.985 1$	4.27	8.14
纤维素酶 Cellulase	$y = -0.237 5x^2 + 2.951 0x + 6.880 9, R^2 = 0.975 9$	6.21	16.05
β-甘露聚糖酶 β-mannanase	$y = -0.060 9x^2 + 0.781 7x + 0.031 5, R^2 = 0.947 6$	6.42	2.54
α-半乳糖苷酶 α-galactosidase	$y = -0.071 8x^2 + 1.131 3x + 0.468 5, R^2 = 0.964 5$	7.88	4.93
果胶酶 Pectase	$y = -0.190 1x^2 + 1.436 0x + 0.122 9, R^2 = 0.985 5$	3.78	2.84

4~6 周龄肉鸡饲料添加 6 种单酶对还原糖释放量和干物质消化率提高值的影响见表 10。由表可知,6 种单酶添加到 4~6 周龄饲料中对还原糖释放量和干物质消化率提高值的影响规律与 1~3 周龄大致相同。还原糖释放量和干物质消化率提

高值随木聚糖酶、β-葡聚糖酶、纤维素酶添加量的逐步增加而呈现增加趋势;饲料中添加 β-甘露聚糖酶,随着添加量逐步增加,还原糖释放量增加,而干物质消化率提高值呈先增长后降低的趋势,β-甘露聚糖酶添加量为 4.00 U/g 时,干物质消化

率提高值最高达 0.76% ; 随饲粮 α -半乳糖苷酶添加量的增加, 还原糖释放量和干物质消化率提高值均呈现先增加后降低的趋势, 当添加量为 6.40 U/g 时, 还原糖释放量为 4.79 mg/g, 当添加量为 3.20 U/g 时, 干物质消化率提高值为 0.59% ;

随饲粮果胶酶添加量的增加, 干物质消化率提高值增加, 而还原糖释放量呈先增加后降低的趋势, 当果胶酶添加量为 3.20 U/g 时, 还原糖释放量达最大值 2.97 mg/g。

表 9 1~3 周龄肉鸡饲料中添加酶制剂干物质消化率提高值的二次回归方程

Table 9 Quadratic regression equation of improved dry matter digestibility with enzyme supplementation in diets for broilers from 1 to 3 weeks of age

项目 Items	干物质消化率提高值的二次回归方程 Quadratic regression equation for improved dry matter digestibility	最优添加量 Optimal addition/ (U/g)	干物质消化率 提高值最大值 Maximum of the improved dry matter digestibility/%
木聚糖酶 Xylanase	$y = -0.003 1x^2 + 0.071 3x + 0.022 8, R^2 = 0.973 9$	11.50	0.43
β -葡聚糖酶 β -glucanase	$y = -0.089 5x^2 + 0.672 3x + 0.286 3, R^2 = 0.996 3$	3.76	1.55
纤维素酶 Cellulase	$y = -0.019 7x^2 + 0.346 3x - 0.006 2, R^2 = 0.979 1$	8.79	1.52
β -甘露聚糖酶 β -mannanase	$y = -0.042 9x^2 + 0.390 3x - 0.177 1, R^2 = 0.955 0$	4.55	0.71
α -半乳糖苷酶 α -galactosidase	$y = -0.009 7x^2 + 0.121 1x + 0.223 7, R^2 = 0.962 4$	6.24	0.60
果胶酶 Pectase	$y = -0.018 9x^2 + 0.225 0x + 0.301 4, R^2 = 0.921 3$	5.95	0.97

通过 6 种单酶适宜添加量的体外仿生试验筛选数据建立还原糖释放量和干物质消化率提高值与其单酶添加量间的二次回归方程, 通过偏导数法求出获得还原糖释放量最大值和干物质消化率提高值最大值, 4~6 周龄肉鸡饲料中 6 种单酶的

最优添加量 (表 11 和表 12) 分别为: 木聚糖酶 7.31、11.90 U/g, β -葡聚糖酶, 4.53、3.80 U/g, 纤维素酶 6.44、8.91 U/g, β -甘露聚糖酶 6.44、4.55 U/g, α -半乳糖苷酶 7.81、6.24 U/g, 果胶酶 3.79、6.17 U/g。

表 10 4~6 周龄肉鸡饲料添加 6 种单酶对还原糖释放量和干物质消化率提高值的影响

Table 10 Effects of supplementation with 6 kinds of enzymes on reducing sugar release and improved dry matter digestibility in diets for broilers from 4 to 6 weeks of age

项目 Items	含量 Content				
木聚糖酶添加量 Addition of xylanase/(U/g)	0.50	1.00	2.00	4.00	8.00
还原糖释放量 Reducing sugar release/(mg/g)	0.57	5.28	7.39	10.34	13.96
干物质消化率提高值 Improved dry matter digestibility/%	0.08	0.09	0.12	0.29	0.40
β -葡聚糖酶添加量 Addition of β -glucanase/(U/g)	0.25	0.50	1.00	2.00	4.00
还原糖释放量 Reducing sugar release/(mg/g)	0.72	2.33	3.78	5.47	8.21
干物质消化率提高值 Improved dry matter digestibility/%	0.45	0.63	0.95	1.28	1.60
纤维素酶添加量 Addition of cellulase/(U/g)	0.50	1.00	2.00	4.00	8.00
还原糖释放量 Reducing sugar release/(mg/g)	8.17	10.83	12.45	14.94	16.07
干物质消化率提高值 Improved dry matter digestibility/%	0.06	0.45	0.65	1.03	1.55
β -甘露聚糖酶添加量 Addition of β -mannanase/(U/g)	0.50	1.00	2.00	4.00	8.00
还原糖释放量 Reducing sugar release/(mg/g)	0.33	0.71	1.76	2.08	2.53
干物质消化率提高值 Improved dry matter digestibility/%	0.08	0.11	0.41	0.76	0.20
α -半乳糖苷酶添加量 Addition of α -galactosidase/(U/g)	0.80	1.60	3.20	6.40	12.80
还原糖释放量 Reducing sugar release/(mg/g)	1.23	2.18	3.90	4.79	3.30
干物质消化率提高值 Improved dry matter digestibility/%	0.32	0.39	0.59	0.59	0.20
果胶酶添加量 Addition of pectase/(U/g)	0.40	0.80	1.60	3.20	6.40
还原糖释放量 Reducing sugar release/(mg/g)	0.77	1.16	1.91	2.97	1.60
干物质消化率提高值 Improved dry matter digestibility/%	0.32	0.55	0.72	0.78	1.02

表 11 4~6 周龄肉鸡饲料中添加酶制剂还原糖释放量的二次回归方程

Table 11 Quadratic regression equation of reducing sugar release with enzyme supplementation in diets for broilers from 4 to 6 weeks of age

项目 Items	还原糖释放量的二次回归方程 Quadratic regression equation of reducing sugar release	最优添加量 Optimal addition/ (U/g)	还原糖释放量最大值 Maximum of the reducing sugar release/(mg/g)
木聚糖酶 Xylanase	$y = -0.255 9x^2 + 3.740 1x + 0.276 2, R^2 = 0.944 8$	7.31	13.94
β -葡聚糖酶 β -glucanase	$y = -0.387 3x^2 + 3.510 8x + 0.314 0, R^2 = 0.983 7$	4.53	8.27
纤维素酶 Cellulase	$y = -0.218 5x^2 + 2.812 5x + 7.496 4, R^2 = 0.971 4$	6.44	16.55
β -甘露聚糖酶 β -mannanase	$y = -0.063 3x^2 + 0.815 0x + 0.032 2, R^2 = 0.948 3$	6.44	2.66
α -半乳糖苷酶 α -galactosidase	$y = -0.076 9x^2 + 1.202 0x + 0.472 7, R^2 = 0.973 2$	7.81	5.17
果胶酶 Pectase	$y = -0.197 1x^2 + 1.493 8x + 0.129 8, R^2 = 0.991 6$	3.79	2.96

表 12 4~6 周龄肉鸡饲料中添加酶制剂干物质消化率提高值的二次回归方程

Table 12 Quadratic regression equation of Improved dry matter digestibility with enzyme supplementation in diets for broilers from 4 to 6 weeks of age

项目 Items	干物质消化率提高值的二次回归方程 Quadratic regression equation for improved dry matter digestibility	最优添加量 Optimal addition/ (U/g)	干物质消化率提高值最大值 Maximum of the improved dry matter digestibility/%
木聚糖酶 Xylanase	$y = -0.003 0x^2 + 0.071 4x + 0.026 4, R^2 = 0.974 1$	11.90	0.45
β -葡聚糖酶 β -glucanase	$y = -0.089 0x^2 + 0.676 2x + 0.310 9, R^2 = 0.995 6$	3.80	1.60
纤维素酶 Cellulase	$y = -0.019 5x^2 + 0.347 3x - 0.004 4, R^2 = 0.976 8$	8.91	1.55
β -甘露聚糖酶 β -mannanase	$y = -0.044 0x^2 + 0.400 4x - 0.177 9, R^2 = 0.960 8$	4.55	0.73
α -半乳糖苷酶 α -galactosidase	$y = -0.009 7x^2 + 0.121 1x + 0.223 7, R^2 = 0.962 4$	6.24	0.60
果胶酶 Pectase	$y = -0.018 2x^2 + 0.224 7x + 0.319 8, R^2 = 0.907 3$	6.17	1.01

2.2 响应面法回归模型及方差分析

利用软件对肉鸡 1~3 周龄饲料中的试验结果进行二次多元回归拟合,对表 4 的数据进行方差分析后得到模型的二次多元回归方程为:

$$\begin{aligned} \text{还原糖释放量}(Y_1, \text{mg/g}) = & 2.725 67 - 0.521 16A + \\ & 3.165 43B + 0.607 42C + 1.312 79D - 1.074 19E - \\ & 1.479 4F - 7.28 \times 10^{-3} AB + 8.38 \times 10^{-3} AC + \\ & 1.78 \times 10^{-3} AD + 0.044 454AE - 0.029 495AF - \\ & 0.062 325BC - 0.101 24BD + 0.031 106BE + \\ & 0.175 97BF - 0.035 569CD - 0.101 44CE + \\ & 0.029 338CF - 0.039 654DE + 9.22 \times 10^{-4} DF + \\ & 0.079 743EF + 0.019 051A^2 - 0.307 78B^2 + \\ & 0.046 989C^2 - 0.025 367D^2 + 0.078 357E^2 + \\ & 4.87 \times 10^{-3} F^2; \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{干物质消化率提高值}(Y_2, \%) = & -3.172 76 + \\ & 0.373 39A - 1.881 47B + 0.647 78C + 1.379 28D + \\ & 0.961 89E - 1.277 36F - 8.01 \times 10^{-3} AB - \\ & 0.024 41AC + 2.72 \times 10^{-3} AD - 0.049 307AE + \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} & 0.010 221AF - 3.34 \times 10^{-3} BC + 7.67 \times 10^{-3} BD + \\ & 0.081 488BE + 0.242 54BF - 3.38 \times 10^{-3} CD - \\ & 0.033 22CE + 0.011 713CF - 0.085 032DE - \\ & 0.035 362DF + 2.11 \times 10^{-3} EF + 9.81 \times 10^{-3} A^2 + \\ & 0.031 6B^2 - 0.017 916C^2 - 0.044 174D^2 - \\ & 0.014 374E^2 + 0.033 529F^2。 \end{aligned}$$

式中:A、B、C、D、E、F 分别代表木聚糖酶、 β -葡聚糖酶、纤维素酶、 β -甘露聚糖酶、 α -半乳糖苷酶、果胶酶的添加量。

还原糖释放量的方差分析见表 13,干物质消化率提高值的方差分析见表 14。由表可知,6 种 NSP 酶制剂在 1~3 周龄肉鸡饲料中复配优化与验证可知,2 个模型的 P 值均小于 0.000 1,其中失拟项 $P > 0.05$,表明失拟不显著,并且回归模型与实际试验拟合程度较好,试验方法可靠。模型的决定系数 R^2 和校正决定系数 R_{adj}^2 均大于 0.9,表明模型预测值与实际试验结果具有良好的相关性。2 个模型预测残差平方和均小于或接近 0.01,数据

越小说明拟合程度越好,总体拟合具有统计学意义,可用还原糖释放量和干物质消化率提高值来优选 NSP 酶复合酶谱。根据还原糖释放量和干物质消化率提高值为优化指标,利用软件 Design-Expert 8.06 对方程模型进行分析,得到最佳参数条

件,优选出的 6 种 NSP 酶酶谱是木聚糖酶 11.40 U/g、 β -葡聚糖酶 3.76 U/g、纤维素酶 8.52 U/g、 β -甘露聚糖酶 8.19 U/g、 α -半乳糖苷酶 6.24 U/g、果胶酶 1.60 U/g,此时还原糖释放量为 9.71 mg/g、干物质消化率提高值为 2.86 %。

表 13 1~3 周龄肉鸡饲料还原糖释放量的回归模型方差分析

Table 13 Regression model variance analysis of reducing sugar release in diets for broilers from 1 to 3 weeks of age

来源 Sources	平方和 Sum of squares	自由度 <i>df</i>	均方 Mean square	<i>F</i> 值 <i>F</i> -value	<i>P</i> 值 <i>P</i> -value
回归模型 Regression model	9.82	27	0.36	4 715.00	<0.000 1
A	0.47	1	0.47	6 132.49	<0.000 1
B	0.33	1	0.33	4 263.73	<0.000 1
C	0.39	1	0.39	5 089.25	<0.000 1
D	4.17×10 ⁻⁴	1	4.17×10 ⁻⁴	5.40	0.028 2
E	0.21	1	0.21	2 709.40	<0.000 1
F	0.14	1	0.14	1 788.63	<0.000 1
AB	5.00×10 ⁻³	1	5.00×10 ⁻³	64.80	<0.000 1
AC	0.58×10 ⁻¹	1	0.58×10 ⁻¹	749.06	<0.000 1
AD	2.76×10 ⁻³	1	2.76×10 ⁻³	35.72	<0.000 1
AE	0.66	1	0.66	8 495.12	<0.000 1
AF	0.51	1	0.51	6 609.99	<0.000 1
BC	0.16	1	0.16	2 032.05	<0.000 1
BD	0.22	1	0.22	2 822.58	<0.000 1
BE	0.32×10 ⁻¹	1	0.32×10 ⁻¹	408.31	<0.000 1
BF	0.89	1	0.89	11 548.37	<0.000 1
CD	0.23	1	0.23	3 040.46	<0.000 1
CE	1.46	1	1.46	18 947.44	<0.000 1
CF	0.43	1	0.43	5 602.47	<0.000 1
DE	0.12	1	0.12	1 524.20	<0.000 1
DF	1.13×10 ⁻⁴	1	1.13×10 ⁻⁴	1.46	0.238 1
EF	0.64	1	0.64	8 347.38	<0.000 1
A ²	0.90	1	0.90	11 611.16	<0.000 1
B ²	0.56	1	0.56	73 00.58	<0.000 1
C ²	1.00	1	1.00	12 959.57	<0.000 1
D ²	0.81×10 ⁻¹	1	0.81×10 ⁻¹	1 046.64	<0.000 1
E ²	0.45	1	0.45	5 862.89	<0.000 1
F ²	5.47×10 ⁻³	1	5.47×10 ⁻³	70.86	<0.000 1
残差 Residual	2.01×10 ⁻³	26	7.72×10 ⁻⁵		
失拟项 Lack of fit	2.01×10 ⁻³	21	9.55×10 ⁻⁵	1.59	0.264 3
纯误差 Pure error	0	5	0		
总差 Cor total	9.83	53			
决定系数 <i>R</i> ²	0.999 8				
校正决定系数 <i>R</i> _{adj} ²	0.999 6				
变异系数 CV	0.001 1				

A、B、C、D、E、F 分别代表木聚糖酶、 β -葡聚糖酶、纤维素酶、 β -甘露聚糖酶、 α -半乳糖苷酶、果胶酶。下表同。

A, B, C, D, E and F represented xylanase, β -glucanase, cellulase, β -mannanase, α -galactosidase and pectase, respectively. The same as below.

表 14 1~3 周龄肉鸡饲料干物质消化率提高值的回归模型方差分析

Table 14 Regression model variance analysis of improved dry matter digestibility in diets for broilers from 1 to 3 weeks of age

来源 Sources	平方和 Sum of squares	自由度 <i>df</i>	均方 Mean square	<i>F</i> 值 <i>F</i> -value	<i>P</i> 值 <i>P</i> -value
回归模型 Regression model	5.37	27	0.20	412.80	<0.000 1
A	1.50×10 ⁻⁴	1	1.50×10 ⁻⁴	0.31	0.581 5
B	0.73×10 ⁻¹	1	0.73×10 ⁻¹	150.78	<0.000 1
C	0.32×10 ⁻¹	1	0.32×10 ⁻¹	65.50	<0.000 1
D	0.16	1	0.16	335.84	<0.000 1
E	1.35×10 ⁻³	1	1.35×10 ⁻³	2.80	0.106 0
F	0.17	1	0.17	342.69	<0.000 1
AB	6.05×10 ⁻³	1	6.05×10 ⁻³	12.57	0.001 5
AC	0.49	1	0.49	1 017.78	<0.000 1
AD	6.40×10 ⁻³	1	6.40×10 ⁻³	13.29	0.001 2
AE	0.81	1	0.81	1 674.9	<0.000 1
AF	0.61×10 ⁻¹	1	0.61×10 ⁻¹	127.21	<0.000 1
BC	4.50×10 ⁻⁴	1	4.50×10 ⁻⁴	0.93	0.342 6
BD	1.25×10 ⁻³	1	1.25×10 ⁻³	2.60	0.119 2
BE	0.22	1	0.22	449.07	<0.000 1
BF	1.69	1	1.69	3 515.75	<0.000 1
CD	2.11×10 ⁻³	1	2.11×10 ⁻³	4.39	0.046 1
CE	0.16	1	0.16	325.66	<0.000 1
CF	0.69×10 ⁻¹	1	0.69×10 ⁻¹	143.11	<0.000 1
DE	0.54	1	0.54	1 123.18	<0.000 1
DF	0.17	1	0.17	343.33	<0.000 1
EF	4.50×10 ⁻⁴	1	4.50×10 ⁻⁴	0.93	0.342 6
A ²	0.24	1	0.24	493.19	<0.000 1
B ²	5.94×10 ⁻³	1	5.94×10 ⁻³	12.33	0.001 6
C ²	0.15	1	0.15	301.95	<0.000 1
D ²	0.24	1	0.24	508.64	<0.000 1
E ²	0.15×10 ⁻¹	1	0.15×10 ⁻¹	31.62	<0.000 1
F ²	0.26	1	0.26	537.42	<0.000 1
残差 Residual	0.13×10 ⁻¹	26	4.82×10 ⁻⁴		
失拟项 Lack of fit	8.44×10 ⁻³	21	4.02×10 ⁻⁴	0.49	0.884 7
纯误差 Pure error	4.08×10 ⁻³	5	8.17×10 ⁻⁴		
总差 Cor total	5.38	53			
决定系数 R ²	0.997 7				
校正决定系数 R _{adj} ²	0.995 3				
变异系数 CV	0.012 8				

利用软件对对肉鸡 4~6 周龄饲料中的试验结果进行二次多元回归拟合,对表 6 的数据进行方差分析后得到模型的二次多元回归方程为:

$$\begin{aligned} \text{还原糖释放量}(Z1, \text{mg/g}) = & 8.574 68 - \\ & 1.834 38A - 0.940 97B + 1.618C - 0.643 64D + \\ & 0.323 41E + 1.863 73F + 0.172 31AB - \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} & 0.033 406AC + 0.080 02AD + 7.87 \times 10^{-3} AE + \\ & 0.089 862AF - 0.095 316BC + 0.496 78BD + \\ & 0.254 9BE - 0.013 591BF + 0.025 475CD - \\ & 0.068 524CE - 2.12 \times 10^{-3} CF - 0.010 44DE - \\ & 0.085 259DF - 0.094 737EF + 0.025 556A^2 - \\ & 0.492 18B^2 - 0.046 388C^2 - 0.155 31D^2 - \end{aligned}$$

$$0.038\ 612E^2 - 0.134\ 43F^2;$$

干物质消化率提高值(Z2, %)= -2.049 66-

$$0.018\ 376A + 0.823\ 29B - 0.139\ 02C -$$

$$4.22 \times 10^{-3}D + 0.978\ 99E - 0.817\ 91F +$$

$$0.016\ 712AB + 5.18 \times 10^{-3}AC - 1.08 \times 10^{-3}AD -$$

$$0.028\ 616AE + 7.42 \times 10^{-3}AF + 0.084\ 265BC +$$

$$0.047\ 872BD - 0.020\ 168BE + 0.128\ 76BF -$$

$$2.68 \times 10^{-3}CD - 0.019\ 293CE + 0.015\ 184CF +$$

$$0.018\ 27DE + 0.041\ 657DF - 6.20 \times 10^{-3}EF +$$

$$8.94 \times 10^{-3}A^2 - 0.236\ 27B^2 - 9.41 \times 10^{-3}C^2 -$$

$$0.038\ 652D^2 - 0.041\ 31E^2 - 0.010\ 533F^2。$$

式中:A、B、C、D、E、F分别代表木聚糖酶、 β -葡聚糖酶、纤维素酶、 β -甘露聚糖酶、 α -半乳糖苷酶、果胶酶的添加量。

还原糖释放量的方差分析见表15,干物质消化率提高值的方差分析见表16。由表可知,酶制剂在4~6周龄饲料中复配的优化与验证可知,2

个模型的P值均小于0.000 1,其中失拟项 $P > 0.05$,表明失拟不显著,并且回归模型与实际试验拟合程度较好,试验方法可靠。模型的决定系数 R^2 和校正决定系数 R_{adj}^2 均大于0.9,表明模型预测值与实际试验结果具有良好的相关性。2个模型预测残差平方和均小于0.06,说明拟合程度好,总体拟合具有统计学意义,可用还原糖释放量和干物质消化率提高值来优选NSP酶复合酶谱。根据还原糖释放量和干物质消化率提高值为优化指标,利用软件Design-Expert 8.06对方程模型进行分析,得到最佳参数条件,优选出的6种NSP酶酶谱是木聚糖酶11.90 U/g、 β -葡聚糖酶5.26 U/g、纤维素酶8.32 U/g、 β -甘露聚糖酶7.96 U/g、 α -半乳糖苷酶6.29 U/g、果胶酶6.17 U/g,此时还原糖释放量为10.45 mg/g、干物质消化率提高值为2.95%。

表15 4~6周龄肉鸡饲料还原糖释放量的回归模型方差分析

Table 15 Regression model variance analysis of reducing sugar release in diets for broilers from 4 to 6 weeks of age

来源 Sources	平方和 Sum of squares	自由度 <i>df</i>	均方 Mean square	F值 F-value	P值 P-value
回归模型 Regression model	47.85	27	1.77	3 543.99	<0.000 1
A	0.25	1	0.25	500.13	<0.000 1
B	1.89	1	1.89	3 773.80	<0.000 1
C	0.18	1	0.18	353.58	<0.000 1
D	0.20	1	0.20	392.35	<0.000 1
E	0.24	1	0.24	475.93	<0.000 1
F	2.57	1	2.57	5 134.39	<0.000 1
AB	2.69	1	2.69	5 381.54	<0.000 1
AC	1.15	1	1.15	2 294.86	<0.000 1
AD	7.70	1	7.70	15 398.78	<0.000 1
AE	0.24×10^{-1}	1	0.24×10^{-1}	48.39	<0.000 1
AF	7.74	1	7.74	15 481.74	<0.000 1
BC	0.24	1	0.24	476.02	<0.000 1
BD	3.78	1	3.78	7 561.29	<0.000 1
BE	1.29	1	1.29	2 587.40	<0.000 1
BF	4.51×10^{-3}	1	4.51×10^{-3}	9.02	0.005 8
CD	0.11	1	0.11	225.59	<0.000 1
CE	0.53	1	0.53	1 060.73	<0.000 1
CF	2.50×10^{-3}	1	2.50×10^{-3}	5.00	0.034 2
DE	7.20×10^{-3}	1	7.20×10^{-3}	14.40	0.000 8
DF	1.18	1	1.18	2 355.85	<0.000 1
EF	0.95	1	0.95	1 890.32	<0.000 1
A ²	2.99	1	2.99	5 973.01	<0.000 1
B ²	0.72	1	0.72	1 438.35	<0.000 1

续表 15

来源 Sources	平方和 Sum of squares	自由度 <i>df</i>	均方 Mean square	<i>F</i> 值 <i>F</i> -value	<i>P</i> 值 <i>P</i> -value
C ²	0.82	1	0.82	1 644.70	<0.000 1
D ²	3.15	1	3.15	6 303.83	<0.000 1
E ²	0.82×10 ⁻¹	1	0.82×10 ⁻¹	164.55	<0.000 1
F ²	6.00	1	6.00	12 006.41	<0.000 1
残差 Residual	0.13×10 ⁻¹	26	5.00×10 ⁻⁴		
失拟项 Lack of fit	0.11×10 ⁻¹	21	5.46×10 ⁻⁴	1.78	0.271 8
纯误差 Pure error	1.53×10 ⁻³	5	3.07×10 ⁻⁴		
总差 Cor total	47.86	53			
决定系数 R ²	0.999 7				
校正决定系数 R _{adj} ²	0.999 4				
变异系数 CV	0.002 7				

表 16 4~6 周龄肉鸡饲料干物质消化率提高值的回归模型方差分析

Table 16 Regression model variance analysis of improved dry matter digestibility in diets for broilers from 4 to 6 weeks of age

来源 Sources	平方和 Sum of squares	自由度 <i>df</i>	均方 Mean square	<i>F</i> 值 <i>F</i> -value	<i>P</i> 值 <i>P</i> -value
回归模型 Regression model	3.53	27	0.13	62.94	<0.000 1
A	0.18	1	0.18	86.72	<0.000 1
B	3.04×10 ⁻³	1	3.04×10 ⁻³	1.46	0.237 6
C	0.35	1	0.35	169.74	<0.000 1
D	7.70×10 ⁻³	1	7.70×10 ⁻³	3.71	0.065 2
E	4.17×10 ⁻⁴	1	4.17×10 ⁻⁴	0.20	0.658 1
F	0.45	1	0.45	216.97	<0.000 1
AB	0.25×10 ⁻¹	1	0.25×10 ⁻¹	12.18	0.001 7
AC	0.28×10 ⁻¹	1	0.28×10 ⁻¹	13.28	0.001 2
AD	1.41×10 ⁻³	1	1.41×10 ⁻³	0.68	0.418 3
AE	0.32	1	0.32	153.94	<0.000 1
AF	0.53×10 ⁻¹	1	0.53×10 ⁻¹	25.41	<0.000 1
BC	0.19	1	0.19	89.50	<0.000 1
BD	0.35×10 ⁻¹	1	0.35×10 ⁻¹	16.89	0.000 4
BE	8.10×10 ⁻³	1	8.10×10 ⁻³	3.90	0.059 1
BF	0.40	1	0.40	194.83	<0.000 1
CD	1.25×10 ⁻³	1	1.25×10 ⁻³	0.60	0.445 1
CE	0.42×10 ⁻¹	1	0.42×10 ⁻¹	20.23	0.000 1
CF	0.13	1	0.13	61.48	<0.000 1
DE	0.22×10 ⁻¹	1	0.22×10 ⁻¹	10.61	0.003 1
DF	0.28	1	0.28	135.30	<0.000 1
EF	4.05×10 ⁻³	1	4.05×10 ⁻³	1.95	0.174 6
A ²	0.37	1	0.37	175.77	<0.000 1
B ²	0.17	1	0.17	79.74	<0.000 1
C ²	0.34×10 ⁻¹	1	0.34×10 ⁻¹	16.28	0.000 4
D ²	0.20	1	0.20	93.93	<0.000 1

续表 16

来源 Sources	平方和 Sum of squares	自由度 <i>df</i>	均方 Mean square	<i>F</i> 值 <i>F</i> -value	<i>P</i> 值 <i>P</i> -value
E ²	0.94×10 ⁻¹	1	0.94×10 ⁻¹	45.31	<0.000 1
F ²	0.37×10 ⁻¹	1	0.37×10 ⁻¹	17.73	0.000 3
残差 Residual	0.54×10 ⁻¹	26	2.08×10 ⁻³		
失拟项 Lack of fit	0.46×10 ⁻¹	21	2.19×10 ⁻³	1.34	0.401 9
纯误差 Pure error	8.15×10 ⁻³	5	1.63×10 ⁻³		
总差 Cor total	3.59	53			
决定系数 R ²	0.984 9				
校正决定系数 R _{adj} ²	0.969 3				
变异系数 CV	0.026 6				

2.3 回归模型结果分析

表 4 和表 13 表明,在肉鸡 1~3 周龄饲料中,各单酶对还原糖释放量的影响顺序是木聚糖酶(A)-纤维素酶(C)- β -葡聚糖酶(B)- α -半乳糖苷酶(E)-果胶酶(F)- β -甘露聚糖酶(D),除 β -甘露聚糖酶和果胶酶(DF)交互作用不显著($P>0.05$)外(图 1),其余各单酶对于还原糖释放量的相互间交互作用极显著($P<0.01$)。

表 4 和表 14 表明,在肉鸡 1~3 周龄饲料中,各单酶对干物质消化率提高值的影响顺序是果胶酶(F)- β -甘露聚糖酶(D)- β -葡聚糖酶(B)-纤维素酶(C)- α -半乳糖苷酶(E)-木聚糖酶(A),除 β -葡聚糖酶和纤维素酶(BC)、 β -葡聚糖酶和 β -甘露聚糖酶(BD)、 α -半乳糖苷酶和果胶酶(EF)交互作用不显著($P>0.05$)外(图 2),纤维素酶和 β -甘露聚糖酶(CD)交互作用显著($P<0.05$),其余各单酶对于干物质消化率提高值的相互间交互作用极显著($P<0.01$)。

表 6 和表 15 表明,在肉鸡 4~6 周龄饲料中,各单酶对还原糖释放量的影响顺序是果胶酶(F)- β -葡聚糖酶(B)-木聚糖酶(A)- α -半乳糖苷酶(E)- β -甘露聚糖酶(D)-纤维素酶(C),除纤维素酶和果胶酶(CF)交互作用不显著($P>0.05$)外(图 3),其余各单酶对于还原糖释放量的相互间交互作用极显著($P<0.01$)。

表 6 和表 16 表明,在肉鸡 4~6 周龄饲料中,各单酶对干物质消化率提高值的影响顺序是果胶酶(F)-纤维素酶(C)-木聚糖酶(A)- β -甘露聚糖酶(D)- β -葡聚糖酶(B)- α -半乳糖苷酶(E),除木聚糖酶和 β -甘露聚糖酶(AD)、 β -葡聚糖酶

和 α -半乳糖苷酶(BE)、纤维素酶和 β -甘露聚糖酶(CD)、 α -半乳糖苷酶和果胶酶(EF)交互作用不显著($P>0.05$)外(图 4),其余各单酶对于干物质消化率提高值的相互间交互作用极显著($P<0.01$)。

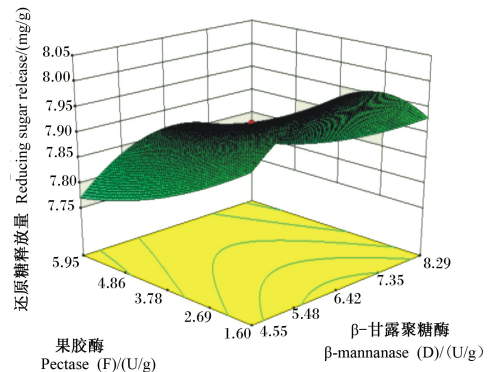


图 1 β -甘露聚糖酶(D)和果胶酶(F)交互作用对还原糖释放量的影响

Fig.1 Effect of interaction between β -mannanase (D) and pectase (F) on reducing sugar release

2.4 最优酶谱的预测和验证

根据还原糖释放量和干物质消化率提高值为优化指标,利用软件 Design-Expert 8.06 对方程模型进行分析,在 1~3 周龄肉鸡饲料中优选出的 6 种 NSP 酶酶谱是木聚糖酶 11.40 U/g、 β -葡聚糖酶 3.76 U/g、纤维素酶 8.52 U/g、 β -甘露聚糖酶 8.19 U/g、 α -半乳糖苷酶 6.24 U/g、果胶酶 1.60 U/g,此时还原糖释放量为 9.71 mg/g、干物质消化率提高值为 2.86%;在此条件下进行 3 次重复试验,得到还原糖释放量为 9.59 mg/g、干物质消化率提高值为 2.81%,与理论最优值的误差分

别为 1.24% 和 1.75%, 表明所得酶谱能反映出对还原糖释放量和干物质消化率提高值的较好结果。在 4~6 周龄肉鸡饲料中优选出的 6 种 NSP 酶酶谱是木聚糖酶 11.9 U/g、 β -葡聚糖酶 5.26 U/g、纤维素酶 8.32 U/g、 β -甘露聚糖酶 7.96 U/g、 α -半乳糖苷酶 6.29 U/g、果胶酶 6.17 U/g, 此时还原糖释

放量为 10.45 mg/g、干物质消化率提高值为 2.95%; 在此条件下进行 3 次重复试验, 得到还原糖释放量为 10.34 mg/g、干物质消化率提高值为 2.92%, 与理论最优值的误差分别为 1.05% 和 1.02%, 表明所得酶谱能反映出对还原糖释放量和干物质消化率提高值的较好结果。

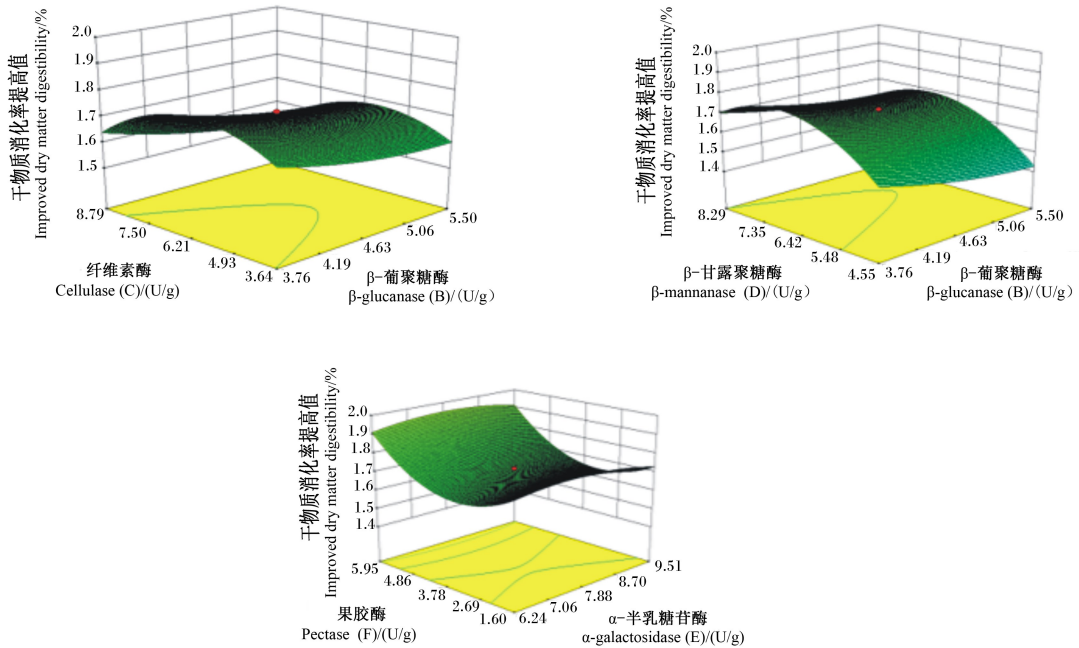


图 2 β -葡聚糖酶 (B) 和纤维素酶 (C)、 β -葡聚糖酶 (B) 和 β -甘露聚糖酶 (D)、 α -半乳糖苷酶 (E) 和果胶酶 (F) 交互作用对干物质消化率提高值的影响

Fig.2 Effects of interactions between β -glucanase (B) and cellulase (C), β -glucanase (B) and β -mannanase (D), and α -galactosidase (E) and pectase (F) on improved dry matter digestibility

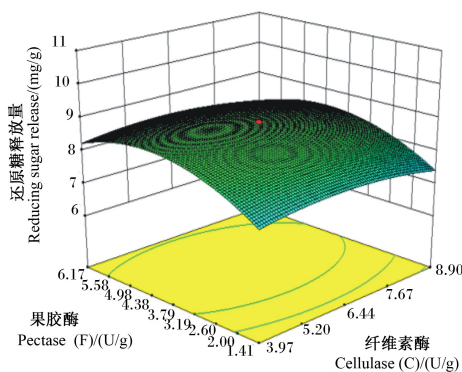


图 3 纤维素酶 (C) 和果胶酶 (F) 交互作用对还原糖释放量的影响

Fig.3 Effect of interaction between cellulase (C) and pectase (F) on reducing sugar release

3 讨论

NSP 酶是饲料中主要的抗营养因子, 能降低饲料的营养价值。饲料中添加 NSP 酶能特异性降解 NSP, 降低其抗营养作用, 提高饲料的利用率和动物生长性能, 促进肠道健康。NSP 酶主要包括: 木聚糖酶、 β -葡聚糖酶、纤维素酶、 β -甘露聚糖酶、 α -半乳糖苷酶、果胶酶等酶制剂, 其主要作用机制是能够有效降解饲料中的 NSP, 降低食糜黏性, 增加底物与消化酶的接触, 破坏植物细胞壁, 释放细胞内养分。影响 NSP 酶作用的因素有饲料类型^[12]、动物生理阶段、酶制剂的性质 (NSP 酶的来源、发酵工艺、酶活、耐受温度、pH 稳定范围、对底物抑制剂敏感性、动物内源物质的抵抗性等) 与配伍^[13-14]、饲料加工工艺等。

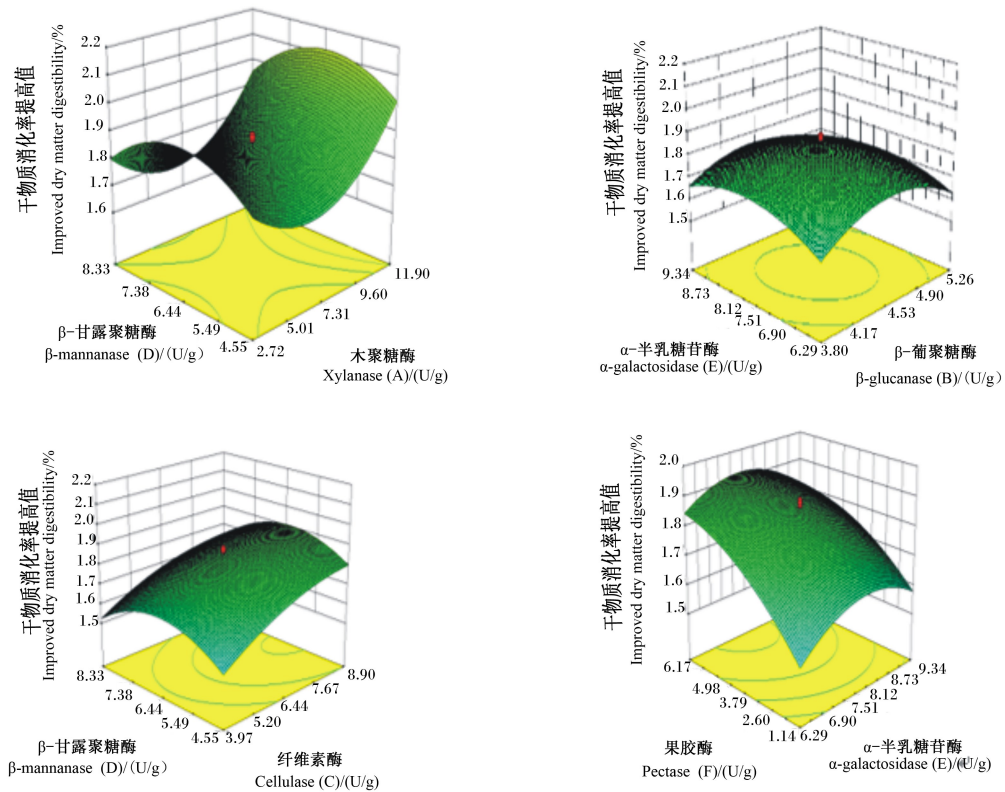


图4 木聚糖酶(A)和 β -甘露聚糖酶(D)、 β -葡聚糖酶(B)和 α -半乳糖苷酶(E)、纤维素酶(C)和 β -甘露聚糖酶(D)、 α -半乳糖苷酶(E)和果胶酶(F)交互作用对干物质消化率提高值的影响

Fig.4 Effects of interactions between xylanase (A) and β -mannanase (D), β -glucanase (B) and α -galactosidase (E), cellulase (C) and β -mannanase (D), and α -galactosidase (E) and pectase (F) on improved dry matter digestibility

本试验通过体外模拟法研究了木聚糖酶、 β -葡聚糖酶、纤维素酶、 β -甘露聚糖酶、 α -半乳糖苷酶、果胶酶对肉鸡玉米-豆粕-杂粕型饲料中的还原糖释放量和干物质消化率提高值的影响,结果表明,在1~3周龄肉鸡饲料中优选出的6种NSP酶谱是木聚糖酶 11.40 U/g、 β -葡聚糖酶 3.76 U/g、纤维素酶 8.52 U/g、 β -甘露聚糖酶 8.19 U/g、 α -半乳糖苷酶 6.24 U/g、果胶酶 1.60 U/g;在4~6周龄肉鸡饲料中优选出的6种NSP酶谱是木聚糖酶 11.90 U/g、 β -葡聚糖酶 5.26 U/g、纤维素酶 8.32 U/g、 β -甘露聚糖酶 7.96 U/g、 α -半乳糖苷酶 6.29 U/g、果胶酶 6.17 U/g。木聚糖是谷物籽实中主要的NSP,阻碍了禽类对营养物质的消化吸收,降低饲料利用率^[4], β -葡聚糖特殊的支链结构增加饲料持水性,导致肠道食糜黏度增加,改变肠道物理活性,降低养分消化吸收率^[15]。而木聚糖酶和 β -葡聚糖酶

同属于半纤维素酶,饲料中添加木聚糖酶可高效专一的降解饲料中木聚糖,降低食糜黏性,减少家禽下痢,提高营养物质消化吸收和饲料转化率^[16]。班志彬等^[17]研究表明木聚糖酶可显著提高肉鸡的呼吸熵,可提高平均日增重和降低料重比;张芹^[18]研究表明饲料中添加 5 mg 木聚糖酶,酶解液黏度降低了 7.95%,还原糖含量增加了 10.85%。廖睿^[13]研究表明在玉米、小麦和大麦中,木聚糖酶、葡聚糖酶和 β -甘露聚糖酶各添加量的加酶组还原糖释放量显著高于空白对照组。纤维素是植物细胞壁的组成成分,其结构特殊,阻碍禽类对细胞内蛋白质、矿物质和淀粉等营养物质的消化吸收^[19]。李岑曦等^[19]研究表明添加不同水平的纤维素酶可一定程度上增加肉鸡日增重,提高饲料转化率。同时有研究表明饲料中同时添加木聚糖酶和纤维素酶可提高肉鸡养分消化率和还原糖含量^[18]。单胃动物体内缺乏 α -半乳糖苷酶,豆科植

物作为饲料原料,其 α -半乳糖苷含量丰富,禽类食入后不能被机体消化吸收,且 α -半乳糖苷易导致禽类胀气、腹泻、下痢等^[20]。马慧慧^[20]研究表明在玉米-豆粕型饲料中添加 100 g/t α -半乳糖苷酶能有效提高肉鸡的生产性能、养分消化率、消化道酶活、有益微生物菌群数量及改善免疫机能的作用。果胶酶中原果胶、多聚半乳糖醛酸酶和果胶酯酶三者协同,高效专一降解饲料中的果胶成分。许毅^[21]研究表明果胶酶能提高豆粕的干物质消化率提高值和还原糖的释放量,但对黏度无明显的影响,果胶酶的最适添加量为 4.6~6.2 U/g,本试验结果符合此范围。

影响酶制剂作用的因素主要包括酶制剂的种类、饲料的加工工艺、饲料类型、动物种类及生理阶段和酶制剂的添加量等,其中酶制剂的添加量通常是根据作用底物的浓度和生产成本等确定适宜的添加剂量。Wang 等^[22]研究表明酶制剂的添加量与其作用效果存在线性和二次曲线关系,本试验的还原糖释放量和干物质消化率提高值随着酶制剂添加量呈现先升高后降低的二次曲线规律,与 Wang 等^[22]研究结果一致。由 Rebolé 等^[23]、Cowan 等^[24]对 NSP 酶作用机制的研究可知,当 NPS 酶添加量不足时,细胞壁降解不完全,难以释放出营养物质与消化酶接触,从而导致效果不显著,随着 NSP 酶添加量的升高,作用效果越明显直至达到峰值,而当酶制剂含量过高时,低剂量已到底物消化的饱和量,可能会产生负反馈抑制,影响还原糖的生成和营养物质的消化率。

因此要充分发挥酶制剂的作用,必须根据饲料中的具体营养水平选择对应的酶制剂,本试验根据肉鸡玉米-豆粕-杂粕型饲料的饲料组成并通过体外仿生消化系统,体外模拟法研究了 6 种 NSP 酶对肉鸡玉米-豆粕-杂粕型饲料中的还原糖释放量和干物质消化率提高值的影响,确定了相应的 NSP 酶组合,提高了还原糖释放量和干物质消化率提高值,为 NSP 酶在肉鸡饲料玉米-豆粕杂粕型饲料中的应用提供了研究数据,使得肉鸡通过更好地利用玉米-豆粕-杂粕型饲料而提高生产性能。

4 结 论

从本研究结果来看,响应面法得到在 1~3 周龄肉鸡饲料中优选出的 6 种 NSP 酶酶谱是木聚糖

酶 11.40 U/g、 β -葡聚糖酶 3.76 U/g、纤维素酶 8.52 U/g、 β -甘露聚糖酶 8.19 U/g、 α -半乳糖苷酶 6.24 U/g、果胶酶 1.60 U/g,此时还原糖释放量为 9.71 mg/g、干物质消化率提高值为 2.86%;在此条件下进行 3 次重复试验,得到还原糖释放量为 9.59 mg/g、干物质消化率提高值为 2.81%,与理论最优值的误差分别为 1.24% 和 1.75%,表明所得酶谱能反映出对还原糖释放量和干物质消化率提高值的较好结果。在 4~6 周龄肉鸡饲料中优选出的 6 种 NSP 酶酶谱是木聚糖酶 11.90 U/g、 β -葡聚糖酶 5.26 U/g、纤维素酶 8.32 U/g、 β -甘露聚糖酶 7.96 U/g、 α -半乳糖苷酶 6.29 U/g、果胶酶 6.17 U/g,此时还原糖释放量为 10.45 mg/g、干物质消化率提高值为 2.95%;在此条件下进行 3 次重复试验,得到还原糖释放量为 10.34 mg/g、干物质消化率提高值为 2.92%,与理论最优值的误差分别为 1.05% 和 1.02%,表明所得酶谱能反映出对还原糖释放量和干物质消化率提高值的较好结果。

参考文献:

- [1] 樊芸慧,宾石玉,陈李婷.非淀粉多糖酶制剂及其在畜禽生产中的应用[J].饲料博览,2018(12):30-34.
- [2] 陈程,肖非,韩坤,等.复合非淀粉多糖酶对海兰褐鸡生产性能及营养物质代谢率的影响[J].新疆农业科学,2018,55(5):966-973.
- [3] 孙皓,戴炜,周响艳,等.非淀粉多糖酶对黄羽肉仔鸡生长性能、养分利用率及盲肠微生物多样性的影响[J].饲料工业,2018,39(10):16-21.
- [4] 张依量,赵国先,杜健,等.非淀粉多糖酶对蛋鸡生产性能和蛋品质的影响[J].饲料工业,2015,36(S2):61-64.
- [5] 刘焕.奶牛瘤胃微生物非淀粉多糖酶的利用[J].中国乳业,2014(12):46-47.
- [6] 林谦,张旭,蒋桂韬,等.谷物及其副产品中添加非淀粉多糖酶对麻鸭氨基酸表现利用率的影响[J].中国饲料,2014(19):9-12.
- [7] 高阳,周虚,于佳鑫,等.非淀粉多糖酶对生长育肥猪生长性能、胴体性状和肉品质的影响[J].中国兽医学报,2014,34(5):820-824.
- [8] 林维雄,黄剑锋,董志岩,等.低蛋白饲料添加植酸酶和非淀粉多糖酶对生长猪生长性能和养分排泄量的影响[J].福建畜牧兽医,2016,38(1):3-5,6.
- [9] 蔡春.非淀粉多糖酶在肉鸡大麦-DDGS 日粮中的应用研究[D].硕士学位论文.杨凌:西北农林科技大学

- 学,2016.
- [10] 高峰.非淀粉多糖酶制剂对鸡、猪生长的影响及其作用机制研究[D].博士学位论文.南京:南京农业大学,2001.
- [11] 赵峰,邓耀辉,张宏福,等.单胃动物仿生消化系统操作手册[M].3版.北京:中国农业科学院畜牧研究所,2016.
- [12] 薛梅.不同类型肉鸡饲料复合酶制剂的组合效应研究[D].硕士学位论文.青岛:青岛农业大学,2014.
- [13] 廖睿.仿生消化法评估非淀粉多糖酶效应的研究[D].硕士学位论文.武汉:华中农业大学,2016.
- [14] 罗菲菲.利用体外酶消化法评定植酸酶和非淀粉多糖酶质量的研究[D].硕士学位论文.泰安:山东农业大学,2016.
- [15] 李廷福,刘醒醒,唐德富.日粮非淀粉多糖酶对肉仔鸡生产性能和养分消化利用的影响[J].国外畜牧学(猪与禽),2016,36(4):72-76.
- [16] 严念东,丁斌鹰,侯永清,等.几种酶制剂对肉鸭稻谷离体消化能的影响[J].中国粮油学报,2009,24(1):94-97.
- [17] 班志彬,闫晓刚,张莹,等.木聚糖酶对肉鸡不同类型饲料净能值的影响[J].动物营养学报,2019,31(3):1434-1441.
- [18] 张芹.酶制剂在肉鸡玉米-豆粕型日粮中的应用及其作用机制研究[D].硕士学位论文.南京:南京农业大学,2007:11-14.
- [19] 李岑曦,郭荣富.纤维素酶对肉鸡生产性能的影响[J].广东畜牧兽医科技,2014,39(4):24-26.
- [20] 马慧慧. α -半乳糖苷酶对肉鸡作用效果及相关机理的研究[D].硕士学位论文.郑州:河南农业大学,2012.
- [21] 许毅.果胶酶对肉鸡玉米豆粕型日粮养分利用率的影响[D].硕士学位论文.南京:南京农业大学,2004.
- [22] WANG Z R, QIAO S Y, LU W Q, et al. Effects of enzyme supplementation on performance, nutrient digestibility, gastrointestinal morphology, and volatile fatty acid profiles in the hindgut of broilers fed wheat-based diets[J]. Poultry Science, 2005, 84(6):875-881.
- [23] REBOLÉ A, RODRÍGUEZ M L, ALZUETA C, et al. A short note on effect of enzyme supplement on the nutritive value of broiler chick diets containing maize, soyabean meal and full-fat sunflower seed[J]. Animal Feed Science and Technology, 1999, 78(1/2):153-158.
- [24] COWAN W D, KORSBAK A, HASTRUP T, et al. Influence of added microbial enzymes on energy and protein availability of selected feed ingredients[J]. Animal Feed Science and Technology, 1996, 60(3/4):311-319.

Optimization of Non-Starch Polysaccharide Complex Enzymes Added to Corn-Soybean Meal-Miscellaneous Meal Diet for Broilers by Extracorporeal Bionic Digestion Method

LIU Shengli¹ LIU Shijie² WANG Shubai^{3*} LIU Wenlong¹ MA Chuanxing¹ GUO Qingwen¹
WANG Xingji¹ ZHANG Mingchao¹ CHEN Hongwei¹

(1. Shandong Lonct Enzymes Co., Ltd., Linyi 276400, China; 2. College of Polymer Science and Engineering, Qingdao University of Science and Technology, Qingdao 266042, China; 3. College of Animal Science and Technology, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China)

Abstract: The purpose of this study was to explore the optimal combination zymogram of 6 kinds of non-starch polysaccharide enzymes (xylanase, β -glucanase, cellulase, β -mannanase, α -galactosidase and pectase) added to broilers' corn-soybean meal-miscellaneous meal diet by response surface method. The *in vitro* digestion test simulated gastrointestinal fluid by the third generation monogastric animal simulate digestive system (SDS-III). Using a single factor completely random design, every 5 levels of 6 non-starch polysaccharide enzymes were added to the corn-soybean meal-miscellaneous meal basal diet for broilers and each level was repeated for 5 times. The best addition level of single enzyme was determined by the reducing sugar release (RS) and improved dry matter digestibility (IDMD). Based on the above results, the software Designed-Expert 8.06 Box-Behnken response surface method was further used to design the 6 factors and 3 level $L_{54}(3^6)$ test, and the 6 kinds of enzymes were compounded and combined. RS and IDMD were used as response values to determine the optimal combination enzyme spectrum of 6 kinds of enzymes. The results showed that the optimized zymogram of 6 kinds of non-starch polysaccharide enzymes in corn-soybean meal-miscellaneous meal diet for broilers aged 1 to 3 weeks was 11.40 U/g xylanase, 3.76 U/g β -glucanase, 8.52 U/g cellulase, 8.19 U/g β -mannanase, 6.24 U/g α -galactosidase and 1.60 U/g pectase, and the RS and IDMD were 9.71 mg/g and 2.86% respectively by the reaction catalyzed by this zymogram. Under this condition, the experiment was repeated 3 times, the RS and IDMD were 9.59 mg/g and 2.81% respectively, and the error with the theoretical optimal value were 1.24% and 1.75%, respectively. These showed that the zymogram could reflect the good results of RS and IDMD. The optimized zymogram of 6 kinds of non-starch polysaccharide enzymes in corn-soybean meal-miscellaneous meal diet for broilers aged 4 to 6 weeks was 11.90 U/g xylanase, 5.26 U/g β -glucanase, 8.32 U/g cellulase, 7.96 U/g β -mannanase, 6.29 U/g α -galactosidase and 6.17 U/g pectase, and the RS and IDMD were 10.45 mg/g and 2.95% respectively by the reaction catalyzed by this zymogram. Under this condition, the experiment was repeated 3 times, the RS and IDMD were 10.34 mg/g and 2.92% respectively, and the error with the theoretical optimal value were 1.05% and 1.02%, respectively. These showed that the zymogram could reflect the good results of RS and IDMD. To sum up, the optimal zymogram of 6 kinds of non-starch polysaccharide enzymes in diet for broilers aged 1 to 3 weeks was 11.40 U/g xylanase, 3.76 U/g β -glucanase, 8.52 U/g cellulase, 8.19 U/g β -mannanase, 6.24 U/g α -galactosidase and 1.60 U/g pectase, and in diet for broilers aged 4 to 6 weeks was 11.90 U/g xylanase, 5.26 U/g β -glucanase, 8.32 U/g cellulase, 7.96 U/g β -mannanase, 6.29 U/g α -galactosidase and 6.17 U/g pectase. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2020, 32(3):1362-1381]

Key words: broilers; corn-soybean meal-miscellaneous meal diet; non-starch polysaccharide enzyme; reducing sugar; dry matter digestibility; zymogram