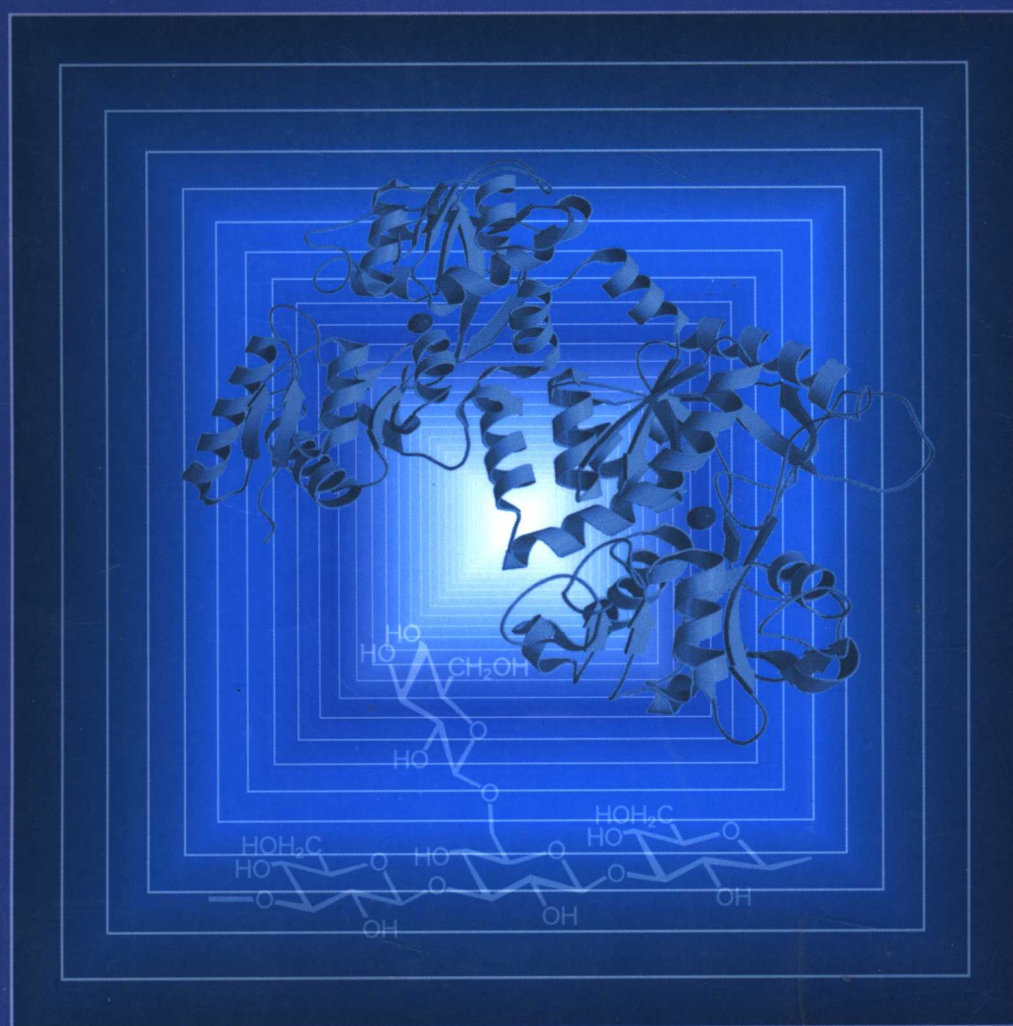


“十五” 863 计划成果

新型安全饲料添加剂 研制与开发

王建华 主编



科学出版社
www.sciencep.com

新型安全饲料添加剂研制与开发

王建华 主编

国家高技术研究发展计划
生物与现代农业技术领域
现代农业技术主题
“新型安全饲料添加剂研制与开发”课题
合同编号 2001AA246041 (2001~2003)
(第一批“十五”863 计划)

The National High Technology R&D Program (863 Program)
Field: Biological and Advanced Agriculture
Subject: Advanced Agriculture
Project: Research and Development of the New Safe Feed Additives
Contract No. 2001AA246041 from 2001 to 2003
(The First Batch Project of the Tenth Five-Year Plan of 863 Program)

科学出版社

北 京

内 容 简 介

本书为 863 计划“新型安全饲料添加剂研制与开发”(2001AA246041)课题的成果汇编,全面系统地介绍了该课题研究所取得的最新进展。本书以“新型安全饲料添加剂研制与开发”为中心,内容覆盖了生化与分子生物学、微生物学、植物和动物生理学、植物和动物营养学、作物栽培学等不同学科;实验研究论文主要涉及基因工程、生化工程、发酵工程、天然活性成分分离提取和色谱检测等不同的技术方法。全书包括综述类 9 篇、基因工程与生化工程类 10 篇、微生物与微生态制剂类 5 篇、功能性产品类 6 篇、功能性产品原料作物栽培类 4 篇、方法与检测类 5 篇。

本书可作为畜牧兽医、饲料、食品、应用生物技术和生物工程等领域或相关专业的研发人员、教师、研究生、本科生以及相关行业技术行政管理人员的参考读物。

图书在版编目(CIP)数据

新型安全饲料添加剂研制与开发/王建华 主编.—北京:科学出版社, 2005

ISBN 7-03-014357-4

I. 新… II. 王… III. ①饲料添加剂-研制-文集②饲料添加剂-开发-文集 IV. S816. 7-53

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2004) 第 101574 号

责任编辑: 庞在堂/责任校对: 朱光光

责任印制: 钱玉芬/封面设计: 王 浩

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

新蕾印刷厂 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2005 年 3 月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

2005 年 3 月第一次印刷 印张: 18

印数: 1—1 200 字数: 415 000

定价: 55.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换〈环伟〉)

前 言

动物营养与饲料科学在过去 25 年卓有成效地推动了中国现代养殖业的迅速发展,让亿万城乡居民通过一日三餐享受到了实质的“口惠”。遗憾的是,随着居民动物性食品消费比重不断提高,与饲料安全密不可分的食物安全事件频繁出现,使饲料安全问题日显突出。始作俑者众,当首推抗生素,但抗生素本身绝无过错,错在滥用。毋庸置疑,抗生素给人类健康和动物生产所作贡献功不可没,它延长的人类期望寿命和增加的畜产品数量有据可查;另一方面,治疗和预防用抗生素滥用带来的残留和富集问题已由隐患外化为公害,其对人类生命和健康的危害亦为不争之实。真是“此一时也,彼一时也”。“正复为奇,善复为妖”如斯,让春秋末年老子提出的“祸兮,福之所倚;福兮,祸之所伏”这一古代哲学命题直逼 2500 多年后的当代饲料科学技术工作者。

如何走出饲料用抗生素的“利弊”怪圈和“安全”困扰?如何在畜牧业中科学合理使用抗生素,使其“方而不割、廉而不刿”,做到扬长避短、物尽其用,探索科学可行的解决方案大有文章可做。众所周知,养殖业成本三分之二由饲料组成,饲料核心技术是添加剂技术。应用生物技术研究开发新型安全饲料添加剂从基础技术层面上帮助解决以上问题当可有所作为。“曲突徙薪”、“疏堵并举”、“标本兼治”的方略已经成为解决饲料安全问题的业界共识,并同时上升到国家政府决策层面。1999 年颁布施行、2001 年修订了《饲料和饲料添加剂管理条例》,现共有 5 个专门配套管理办法;2002 年《农业部第 193 号公告》禁止 21 种兽药在动物中使用;2003 年农业部等三部(局)联合出台《禁止在饲料和动物饮用水中使用的药物品种目录》(第 176 号文件)禁用品种多达 40 种。足见保障饲料安全的国家法规和行政力度之大。2001 年科技部布局“十五”第一批“863”计划,在“现代农业技术主题”中第一次设置了三个安全饲料添加剂总共 10 个产品研制的课题,从国家高技术研发计划层面空前彰显了国家解决饲料安全问题的科技战略思想与力度。

在主持实施“863”课题“新型安全饲料添加剂研制与开发”(编号 2001AA246041;2001~2003 年)过程中,课题组注重贯彻“人才、标准、专利”的国家方针和坚持“定位准、起点高、方法新、特色强”的课题原则,通过 3 年 10 个单位 63 个人的参与和合作,如期完成本课题 8 个产品研制的合同任务,2003 年 12 月 22 日在北京通过了科技部组织的专家组验收。本课题以研制部分饲用常规抗生素的部分替代品和功能饲料添加剂等安全产品为目的,在菊粉内切酶、 β -1,3-1,4-葡聚糖酶基因工程菌株构建、微生态制剂和功能性产品研发方面有所创新:共申请 10 份专利,注册 3 个专利菌株和 4 个新基因序列;鉴定 2 项成果,分别达到国际领先和国际先进水平;获得 6 种新产品批号或证书,建立 6 条产品中试或试生产线和相应产品质量标准;培养了包括 16 名研究生在内的一支人才队伍;论文 39 篇。多种寡糖、青贮剂、活菌制剂、苜蓿素、苹果渣发酵饲料等新产品已经进入中试或产业化,产生直接经济效益 6000 多万元,新增就业岗位 1000 多个。

以分子生物学独领风骚的生命科学是过去 100 年发展最快的科学领域。1951 年, 剑桥大学 Bragg 领导的 Cawendish 实验室正从物理学转向生物大分子结构研究领域, 此时此地刚从美国毕业的 22 岁动物学博士 Watson 和从物理学专业毕业的 35 岁生化博士 Crick 合作 2 年揭示了 DNA 双螺旋结构, 成为 20 世纪生物学最伟大的科学发现, 随着新世纪初人类基因组测序完成, 生物科学与产业高潮迭起, 形成了由生物技术与 IT 技术并驾齐驱领导新世纪经济发展的新格局。1985~1988 年在华中农业大学完成涉及 SOD 的硕士论文期间我记住了另一科学发现: 1969 年在 Duke 大学医学中心从化学专业毕业的生化博士 McCord 在导师 Fridovich 指导下首次揭示了 SOD 的催化机理, 以后 35 年形成了生命科学的又一奇葩“生物活性氧代谢学说”, 带动生理学、医学、药学、病理学、遗传育种科学等学科焕发了生机。以上科学发现经典和过往 26 年从学生涯给我几点启示: 第一, 学科交叉催生重大科学发现, 他们是一些重大科学发现的主力军, 作为职业研究人员不可作茧自缚, 既要学习本学科的新知识还要学习邻近学科的知识兼收并蓄与博采众长, 不仅要独善其身更要善于合作; 第二, 青年充满了创新活力, 作为研究生导师既要树立求真务实的严谨学风还要善于激发、保护和珍视学生的创造天性; 第三, 为学从研应尚科学规律切戒功利和短视, 作为课题协调人必当持有宽容和宁静、敏锐和睿智、耐心和执着的境界。

秉上心得, 课题组十分重视发挥研究生和年轻研究人员的创新潜能、不同单位和人员的合作互补优势、最新生物技术与饲料科学的学科交叉优势。现付梓出版的“新型安全饲料添加剂研制与开发”课题论文集(下简称“本文集”)有 17 篇论文第一作者是研究生, 占总数 42.5%; 35 岁以下第一作者论文 21 篇占总数 52.5%; 第一作者年龄跨越 3~4 代, 有年近八秩的老专家也有 20 多岁的在读研究生; 合作论文 38 篇占总数 95%; 署名作者单位共 15 个。论文内容覆盖生化与分子生物学、微生物学、植物和动物生理学、植物和动物营养学、作物栽培学等不同学科; 研究手段涉及基因工程、生化工程、发酵工程、天然活性成分分离提取工程和色谱检测方法等不同技术。按栏目分, 综述类论文 9 篇、基因工程与生化工程类 10 篇、微生物与微生态制剂类 5 篇、功能性产品类 6 篇、功能性产品原料作物栽培类 4 篇、方法与检测类 5 篇。论文专业差异大、水平不一、文风各异、中英文并存, 部分论文之间有交叉痕迹甚至观点相左。本文集全面反应了“新型安全饲料添加剂研制与开发”课题研究取得的最新进展, 除综述外, 30 篇实验论文来自本课题的原始研究结果。本文集内容反应的思路、观点、技术、方法和结果惟其时效强而难掩瑕疵、也因所涉学科宽泛而欠精当、以及为求凸现主题而留偏颇之嫌。需要指出的是, 本文集所标榜的“新型”和“安全”其实都是相对的, 既无意全盘否定饲用抗生素的历史和现实作用, 更不敢奢望仅靠本文集这些熟化程度不一的成果能将复杂的饲料安全工程毕其功于一役; 与此同时, 面对国际国内禁用和少用饲料抗生素的呼声与行动日趋紧迫的大势和潮流, 作为国家饲料科学研究领域的一线人员我们无法熟视无睹和充耳不闻, 或坐而论或起而行, 意欲量力而行以尽职责, 于是产生了将已验收“863”课题“新型安全饲料添加剂研制与开发”的主要论文结集出版的想法并得到相关各方积极响应与支持, 假如本文集的出版能对我国新世纪安全饲料添加剂科学研究和生产实践的可持续健康发展起到抛砖引玉的作用, 那就足慰初衷。

本文集论文约有三分之二已发表或已被接受, 少数论文将稍晚于本文集发表; 部分

论文内容已申请专利或公开或授权；已发表论文按本次结集出版的统一格式要求统稿并根据后续研究结果做了必要更新；部分论文同时受到国家自然科学基金、“948”引进国际先进农业科学技术项目、科技部农业科技成果转化基金和农业部农业科技成果转化示范项目等其他基金交叉支持；这些信息在相关论文均有附注说明。

“新型安全饲料添加剂研制与开发”课题的前三年（2001~2003）计划从项目管理角度验收结题了，但科学研究本无穷期，路漫漫其修远兮；今年仲春同名课题的后二年（2004~2005）滚动计划已经启动（编号 2004AA246040），我们未敢须臾懈怠，两年时间何其短，但能争朝夕！

感谢本课题主管部门——科学技术部农村与社会发展司、中国农村技术开发中心、“863”现代农业技术主题专家组对本课题立项与执行和本文集出版的支持。

感谢课题组全体成员、本文集全体作者为完成本课题和出版本文集付出的辛勤劳动和通力合作。

感谢浙江大学魏凌云和蔡成岗两位博士研究生参与了本文集清样稿的校读。

感谢科学出版社为本文集出版给予的积极而有成效的支持和合作。

最后请允许我代表课题组全体成员谨以此文集权充一份答卷聊以回馈关怀、支持和帮助本课题顺利完成的所有人士！真诚希望得到您一如既往的支持和您与其他同行对于本文集的批评与教正，以利于我们改进后续研究工作，是为至祈！

王建华谨识

2004年6月26日于北京魏公村

目 录

前言

一、综 述

生物饲料添加剂创新研究和产业发展的现状与对策	王建华 杨雅麟 滕达 张帆 (1)
安全饲料添加剂——动物微生态制剂研发现状与展望	王建华 李桂杰 (11)
微生物低聚果糖合成酶及其应用研究述评	王建华 (19)
菊粉化学和微生物菊粉内切酶研究进展	华承伟 王建华 滕达 史贤明 (30)
微生物 β -1, 3-1, 4-葡聚糖酶酶学性质和基因工程研究进展	滕达 王建华 (38)
细菌右旋糖苷蔗糖酶研究进展	邵彦春 王建华 陈福生 滕达 (46)
乳铁蛋白肽 (Lactoferricin) 作用机制研究进展	冯兴军 王建华 杨雅麟 滕达 刘立恒 (51)
新型抗菌肽 Lactoferricin 结构与功能关系研究进展	冯兴军 王建华 单安山 (57)
提高苹果渣功能性价值的发酵技术研究进展	刘立恒 王建华 (64)

二、基因工程与生物化学工程

黑曲霉菊粉内切酶基因克隆及序列分析	滕达 王建华 杨雅麟 张帆 姚怡 (72)
黑曲霉 9891 菊粉内切酶基因克隆及在嗜甲醇毕赤酵母中的表达	王建华 滕达 姚怡 杨雅麟 张帆 (91)
黑曲霉 9891 菊粉内切酶基因在巴斯德毕赤酵母中的表达	王建华 滕达 姚怡 杨雅麟 张帆 (101)
地衣芽孢杆菌 β -1, 3-1, 4-葡聚糖酶基因克隆及其在嗜甲醇毕赤酵母中的表达	滕达 王建华 姚怡 张帆 杨雅麟 刘立恒 (109)
出芽短梗霉产果糖基转移酶 (FTase) 发酵和蔗果寡糖 (FOS) 合成研究	王建华 杨雅麟 滕达 张帆 (110)
一种新的 β -D-果糖基转移酶选择性生产 GF ₂ 低聚果糖的研究	杨雅麟 王建华 滕达 张帆 (116)
产右旋糖苷蔗糖酶细菌筛选及其产酶初步研究	邵彦春 王建华 杨雅麟 陈福生 滕达 张帆 (122)
肠膜明串珠菌右旋糖苷蔗糖酶基因的克隆及序列分析	邵彦春 王建华 滕达 陈福生 杨雅麟 张帆 谢笔钧 (127)
用玉米芯酶法制备低聚木糖	王海 李里特 石波 (135)
橄榄绿链霉菌 E-86 木聚糖酶在玉米芯粉上的吸附特性	李里特 王海 石波 (146)

三、微生物学与微生态制剂

筛选乳酸杆菌的生物学特性研究	刘立恒 王建华 张帆 杨雅麟 滕达 (147)
----------------------	-------------------------

- 细菌接种剂对玉米青贮质量、体外消化率、奶牛生产性能影响的研究
 王建华 吴子林 Michael K Woolford 刁其玉 蔡辉益 (166)
- 菊粉寡糖促进嗜酸乳杆菌生长的研究 ... 张帆 王建华 刘立恒 杨雅麟 滕达 (167)
- 嗜酸乳杆菌培养条件及生物学特性研究...张帆 王建华 刘立恒 杨雅麟 滕达 (172)
- 中草药益生菌抗球虫联合制剂研制
 黄忠 周响艳 王建华 李桂杰 李军训 陈伟 (179)

四、功能性饲料与添加剂

- 苜蓿成分在体外对鸡外周血淋巴细胞增殖的作用
 高微微 李展 萨仁娜 佟建明 (185)
- 苜草素对肉仔鸡和仔猪生产性能的影响
 佟建明 萨仁娜 单之玮 朱锡明 张琪 (189)
- 原花青素对几种病原菌抑菌作用的研究
 孔林 陈福生 王建华 朱海 周俊斌 (195)
- 乳酸杆菌和酵母菌联合发酵苹果渣的研究
 刘立恒 王建华 张帆 杨雅麟 滕达 (201)
- 苹果发酵饲料对奶牛产奶量的影响
 张乃峰 刁其玉 曹波 郝介名 陈立新 (208)
- 苹果发酵饲料对奶牛产奶性能和疾病的影响
 刁其玉 屠焰 高飞 曹波 张兴 谢仙兰 宋惠亭 (212)

五、功能性饲料原料作物栽培

- 宁夏沙荒地四种菊芋栽培模式试验 徐长警 王建华 徐自清 郝凤歧 (220)
- 宁夏沙荒地菊芋种植肥料试验 徐长警 王建华 徐自清 郝凤歧 (226)
- 不同生态型紫花苜蓿黄酮及皂苷含量的比较
 高微微 李展 刘小丽 萨仁娜 佟建明 (234)
- 不同生育期的苜蓿中黄酮、皂苷和总糖成分含量变化研究
 高微微 李展 刘小丽 萨仁娜 佟建明 (239)

六、方法与检测

- 分离菊芋和菊苣菊糖的离子色谱法 王建华 张帆 滕达 杨雅麟 (244)
- 薄层层析法分离菊芋汁中的低聚糖 杨雅麟 王建华 张帆 滕达 (251)
- 猪源性乳酸杆菌快速筛选模型的建立 ... 刘立恒 王建华 张帆 杨雅麟 滕达 (256)
- 粪链球菌特性及活菌计数检验 张帆 滕达 王建华 (262)
- 植物乳杆菌和戊糖片球菌活菌计数检测 张帆 刘立恒 滕达 王建华 (266)
- 关键词索引..... (269)
- 作者索引..... (273)

CONTENT

PREFACE

1. REVIEW

- ON STRATEGY OF CREATIVE RESEARCH AND INDUSTRY DEVELOPMENT
FOR BIO-FEED ADDITIVES IN CHINA
..... Wang Jian-Hua Yang Ya-Lin Teng Da Zhang Fan (10)
- A REVIEW ON STUDIES AND APPLICATION OF SAFETY FEED ADDITIVES—
MICRO-ECOLOGICAL PREPARATIONS Wang Jian-Hua Li Gui-Jie (18)
- A REVIEW ON STUDIES FOR FRUCTO-OLIGOSACCHARIDES AND THEIR
SYNTHESIS ENZYMES FROM MICROORGANISM Wang Jian-Hua (29)
- A PROGRESS OF STUDIES ON INULIN CHEMISTRY AND MICROORGANI-
SM ENDO-INULINASE
..... Hua Cheng-Wei Wang Jian-Hua Teng Da Shi Xian-Ming (37)
- REVIEW ON STUDIES FOR THE ENZYMOLOGY AND GENE ENGINEERING
OF β -1, 3-1, 4-GLUCANASE FROM MICROORGANISM
..... Teng Da Wang Jian-Hua (45)
- A REVIEW ON THE RESEARCH OF THE DEXTRANSUVRASE IN BACTERIA
..... Shao Yan-Chun Wang Jian-Hua Chen Fu-Shen Teng Da (49)
- A REVIEW OF RESEARCHES ON THE MECHANISM OF LACTOFERRICIN
ACTION
... Feng Xing-Jun Wang Jian-Hua Yang Ya-Lin Teng Da Liu Li-Heng (56)
- ADVANCES ON THE BIO-FUNCTIONS OF LACTOFERRICIN AND ITS APPLI-
ICATION RESEARCHES
..... Feng Xing-Jun Wang Jian-Hua Shan An-Shan (62)
- A REVIEW ON STUDIES FOR HIGH-VALUED BIOACTIVE APPLE POMACE
VIA MICROBE FERMENTATION Liu Li-Heng Wang Jian-Hua (71)

2. GENE ENGINEERING AND BIOCHEMICAL ENGINEERING

- CLONING AND SEQUENCE ANALYSIS ON ENDOINULINASE FROM
ASPERGILLUS NIGER 9891 (CGMCC0991)
..... Teng Da Wang Jian-Hua Yang Ya-Lin Zhang Fan Yao Yi (79)
- CLONING AND EXPRESSION OF ASPERGILLUS NIGER 9891 ENDOINULIN-
ASE IN PICHIA METHANOLICA
..... Wang Jian-Hua Teng Da Yao Yi Yang Ya-Lin Zhang Fan (80)

- EXPRESSION OF *ASPERGILLUS NIGER* 9891 ENDOINULINASE IN *PICHIA PASTORIS*
 Wang Jian-Hua Teng Da Yao Yi Yang Ya-Lin Zhang Fan (93)
- CLONING AND EXPRESSION OF *BACILLUS LICHENIFORMIS* EGW039 β -1,3-1,4-GLUCANASE IN *PICHIA METHANOLICA*
 Teng Da Wang Jian-Hua Yao Yi Zhang Fan Yang Ya-Lin Liu Li-Heng (102)
- STUDY ON β -D-FRUCTOSYLTRANSFERASE (FTASE) FROM *AUREOBASIDIUM PULLULANS* AND FRUCTO-OLIGOSACCHARIDES (FOS) SYNTHESIS FROM SUCROSE
 Wang Jian-Hua Yang Ya-Lin Teng Da Zhang Fan (115)
- STUDY ON SUCROSE METABOLISM AND SELECTIVE PRODUCTION OF CF₂-FRUCTOOLIGOSACCHARIDE FROM SUCROSE BY A NEW BETA-D-FRUCTOSYLTRANSFERASE FROM *AUREOBASIDIUM PULLULANS* FW9901
 Yang Ya-Lin Wang Jian-Hua Teng Da Zhang Fan (121)
- A PRELIMINARY STUDY ON SCREENING OF A *LEUCONOSTOC MESENTEROIDS* PRODUCING DEXTRANSUCRASES AND FERMENTATION FOR THE ENZYME SECRETION
 Shao Yan-Chun Wang Jian-Hua Yang Ya-Lin Chen Fu-Sheng Teng Da Zhang Fan (126)
- CLONING AND SEQUENCE ANALYSIS OF GENE CODING FOR DEXTRANSUCRASE FROM *LEUCONOSTOC MESENTEROIDES* ...
 Shao Yan-Chun Wang Jian-Hua Teng Da Chen Fu-Sheng Yang Ya-Lin Zhang Fan Xie Bi-Jun (134)
- A SYUDY ON PREPARATION FOR XYLOOLIGOSACCHARIDES FROM CORNCOB VIA XYLANASE
 Wang Hai Li Li-Te Shi Bo (139)
- ADSORPTION PROPERTIES OF XYLANASE FROM *STREPTOMYCES OLIVACEOVIRDIS* E-86 ON POWDERED COMPONENTS OF CORNCOB
 Li Li-Te Wang Hai Shi Bo (140)

3. MICROBIOLOGY AND MICRO-ECOLOGICAL PREPARATION

- STUDIES ON BIOLOGICAL CHARACTERISTICS FOR THE *LACTOBACILLUS* SPP. SCREENED
 ... Liu Li-Heng Wang Jian-Hua Zhang Fan Yang Ya-Lin Teng Da (154)
- A STUDY ON THE EFFECT OF THE BACTERIAL INOCULANT ON CORN SILAGE QUALITY, DIGESTIBILITY AND PERFORMANCE IN DAIRY CATTLE
 Wang Jian-Hua Wu Zi-Lin Michael K Woolford Diao Qi-Yu Cai Hui-Yi (155)
- A STUDY OF INULIN ON GROWTH AND REPRODUCTION OF *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS*
 ... Zhang Fan Wang Jian-Hua Liu Li-Heng Yang Ya-Lin Teng Da (171)
- IMPACT OF CULTIVATION CONDITIONS ON BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS* ...

STIC OF THE <i>LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS</i>	
... Zhang Fan Wang Jian-Hua Liu Li-Heng Yang Ya-Lin Teng Da	(177)
A STUDY ON THE COMBINED PREPARATION OF PROBIOTIC AND CHINESE HERBS AGAINST OCCIDIOSIS	Huang Zhong
Zhou Xiang-Yan Wang Jian-Hua Li Gui-Jie Li Jun-Xun Chen Wei	(184)

4. FUNCTIONAL FEED AND FEED ADDITIVES

EFFECT OF COMPONENTS OF LUCERNE ON THE CHICKEN LYMPHOCYTE PROLIFERATION ...	Gao Wei-Wei Li Zhan Sa Ren-Na Tong Jian-Ming	(188)
EFFECTS OF MUCAOSU ON THE PERFORMANCE OF BROILER AND SWINE ...	Tong Jian-Ming Sa Ren-Na Shan Zhi-Wei Zhu Xi-Ming Zhang Qi	(194)
STUDY OF EFFECT OF PROCYANIDINS ON SEVERAL FOOD-BORNE PATHOGENS		
..... Kong Lin Chen Fu-Sheng Wang Jian-Hua Zhu Hai Zhou Jun-Bin		(200)
A STUDY ON FERNENTATION WITH <i>LACTOBACILLUS</i> SP. T29 AND A YEAST NUMBERED M ₁ ON APPLE POMACE		
... Liu Li-Heng Wang Jian-Hua Zhang Fan Yang Ya-Lin Teng Da		(207)
THE EFFECTS OF FERMENTED APPLE POMACE ON MILK YIELD OF DAIRY COWS		
..... Zhang Nai-Feng Diao Qi-Yu Cao Bo Hao Jie-Ming Chen Li-Xin		(211)
THE EFFECT OF FERMENTED APPLE POMACE ON PERFORMANCE AND IMMUNITY FOR LACTATING DAIRY CATTLE	Diao Qi-Yu Tu Yan Gao Fei Cao Bo Zhang Xing Xie Xian-Lan Song Hui-Ling	(218)

5. CULTIVATION OF FUNCTIONAL FEED RAW MATERIAL CROP

A STUDY OF FOUR CULTIVATION MODES OF JERUSALEM ARTICHOKE UNDER DESERT CONDITION IN NINGXIA	
..... Xu Chang-Jing Wang Jian-Hua Xu Zi-Qing Hao Feng-Qi	(225)
EFFECT OF FERTILIZER ON TUBER YIELD OF JERUSALEM ARTICHOKE UNDER DESERT CONDITION IN NINGXIA	
..... Xu Chang-Jing Wang Jian-Hua Xu Zi-Qing Hao Feng-Qi	(233)
COMPARION STUDY ON THE TOTAL SAPONINS AND FLAVONES CONTENT AMONG DIFFERENT ECOTYPIC ALFALFA (<i>MEDICAGO SATIVA</i> L.) ...	
..... Gao Wei-Wei Li Zhan Liu Xiao-Li Sa Ren-Na Tong Jian-Ming	(238)
A STUDY ON FLAVONES, SAPONINS AND SUGAR IN ALFALFA (<i>MEDICAGO SATIVA</i> L.) AT DIFFERENT GROWTH STAGES	
..... Gao Wei-Wei Li Zhan Liu Xiao-Li Sa Ren-Na Tong Jian-Ming	(243)

6. ASSAYS AND DETECTION

DETERMINATION OF INULIN BY AN ION EXCHANGE CHROMATOGRAPHY WITH PULSED AMPEROMETRIC DETECTION	
..... Wang Jian-Hua Zhang Fan Teng Da Yang Ya-Lin	(250)
ASSAYS FOR THE SEPARATION OF OLIGOSACCHARIDES IN THE JUICE OF JERUSALEM ARTICHOKES BY THIN LAYER CHROMATOGRAPHY (TLC)	
..... Yang Ya-Lin Wang Jian-Hua Zhang Fan Teng Da	(255)
MODELING FOR QUICK SCREENING AND ISOLATION OF LACTOBACILLUS SPP. FROM PIG FECES	
... Liu Li-Heng Wang Jian-Hua Zhang Fan Yang Ya-Lin Teng Da	(261)
THE CHARACTERISTIC OF STERPTOCOCCUS FAECALIS AND ENUMERATION NUMERATION ON THE PLATES	
..... Zhang Fan Teng Da Wang Jian-Hua	(265)
AN ASSAY ON ENUMERATION OF LACTOBACILLUS PLANTARUM AND PEDIOCOCCUS PENTOSACEUS	
..... Zhang Fan Liu Li-Heng Teng Da Wang Jian-Hua	(268)
KEY WORDS INDEX	(271)
AUTHOR INDEX	(275)

生物饲料添加剂创新研究和产业发展的现状与对策

王建华 杨雅麟 滕 达 张 帆

(中国农业科学院饲料研究所基因工程研究室, 北京 100081)

摘要: 比较分析了重要生物饲料添加剂产品研发技术和生产应用的国内外现状; 提出了我国主要生物饲料添加剂研发的目标与对策。

关键词: 生物饲料; 添加剂; 产业发展; 对策

世界饲料工业 100 年和中国饲料工业 25 年的历史形成了由抗生素、维生素、微量元素、氨基酸等单一添加剂产品、添加剂预混料、浓缩饲料和配合饲料组成的 4 大支柱产品, 由此鼎立而起的饲料工业对现代畜牧业发展起着重要推动作用。当前中国饲料工业面临的主要难题: 一是技术含量高拥有排他性知识产权垄断、占有优势市场地位的重要添加剂主要依赖进口满足国内需求; 二是畜产品药物残留引起的健康、社会、经济、贸易等问题倍受关注。养殖业成本 70% 来自于饲料, 饲料核心技术在添加剂。因此采用新方法研制既保持动物生产性能不下降又无安全隐患的新型安全产品尤其是添加剂成为畜牧业和饲料产业发展的紧迫要求, 是我国饲料和饲料添加剂学科发展的重要方向和优先课题。

1 饲料添加剂产业发展的国民经济意义

发达国家配合饲料和饲料添加剂已成为现代化饲料工业的重要产品门类。目前, 世界配合饲料年产量约为 7 亿 t, 产值约 700 亿美元, 世界各地饲料添加剂应用的大致比例为北美 34.8%, 西欧 21.3%, 东欧、俄罗斯 13.5%, 亚洲 11.4%, 中美洲 11.1%, 日本 6.1%。世界各国饲料添加剂总量中营养性添加剂占 55%~60%, 兽药占 30%~35%, 生物制品占 10%~15%。美国饲料添加剂年消费量 650 万 t, 欧共体 560 万 t。2003 年中国饲料工业品总产量 8780 万 t, 居世界第二, 比上年增长 5.5%; 其中, 配合饲料 6400 万 t, 比上年增长 2.7%; 浓缩饲料 2040 万 t, 比上年增长 16%; 添加剂预混料 330 万 t, 比上年增长 4%。全年饲料工业总产值达 2100 亿元, 比上年增长 10.2%。饲料添加剂年产 25 万 t, 产值 50 亿元。预计 2010 年我国配合饲料的产量将达 1 亿 t, 对饲料添加剂需求将达 150 万 t, 产值 300 亿元, 饲料产品将成为畜牧业和国民经济一个重要部分。目前无论是品种还是数量, 国产饲料添加剂远远满足不了国内需要, 半数

以上依赖进口,且技术含量越高的品种如氨基酸对进口依赖性较大。不论是为产业结构调整还是 WTO 成员国对畜产品国际标准的遵守和强势顺应农产品国际贸易中肇端于发达国家的绿色壁垒而引发的风声鹤唳,以及为了适应健康、安全与环保等新经济的内涵要求,急需采用最新科技尤其是生物技术进行饲料添加剂创新研发,保障我国饲料产业可持续发展。

2 四大生物饲料添加剂产品的国内外技术研发情况

随着饲料添加剂向高效、安全、环保、多功能方向发展,尤其是生物技术的引入,饲料添加剂工业将进入新的历史阶段——生物饲料添加剂阶段,主要技术发展趋势是采用现代生物技术等高新技术研制对动物具有特定生物学活性和功能的新型安全添加剂,主要包括饲用氨基酸、饲用活性肽、饲用酶制剂、动物微生态制剂等。

2.1 国外生物饲料添加剂技术研发情况

以基因工程、蛋白质工程和代谢工程为核心的现代分子生物学技术已成为新世纪生物饲料研制的主流技术。20 世纪八九十年代,以基因工程和蛋白质工程为代表的高新技术成果在酶制剂领域实现产业化和氨基酸基因工程菌研制成功并实现产业化都是具有划时代意义的成果。目前,发达国家基本实现了主要饲用氨基酸和酶制剂基因工程技术;抗菌肽研制核心技术还是基因工程和生化工程技术,其在微利饲料工业中成功应用的关键在于如何降低成本、筛选更高效广谱或者特效抗菌的新产品。而代谢工程技术远比基因工程要复杂和困难得多,具有重要方法学意义。

2.1.1 饲料用氨基酸研发主流趋势

20 世纪 60 年代后期氨基酸开始用于饲料添加剂。在世界范围,最大的氨基酸市场是饲料添加剂。根据日本必需氨基酸协会的市场调查,到 2000 年世界氨基酸产量达 2.37×10^6 t (其中饲用赖氨酸和蛋氨酸的产量均超过 0.4×10^6 t,分别占氨基酸产量的 16.9%),销售额接近 45 亿美元,占生物技术产品销售额的 7%。目前用于饲料添加剂的有赖氨酸、蛋氨酸、苏氨酸、色氨酸、谷氨酸、甘氨酸、丙氨酸 7 种氨基酸。其中以赖氨酸和蛋氨酸为主,占饲料用氨基酸 95% 以上;其次是苏氨酸和色氨酸。世界饲料工业所用赖氨酸和蛋氨酸量 100 多万吨/年,且逐年上升。赖氨酸依靠微生物发酵方法生产,主要集中在美国 ADM 公司、日本 Ajinomoto 公司、日本 Kyowa Hakko 公司等。蛋氨酸依靠化学方法生产,主要集中在法国 Rhone-poulenc 公司、德国 Degussa 公司和美国 Novus 公司,约占世界产量 90%。苏氨酸生产技术和市场基本被德国 Degussa 公司和日本 Ajinomoto 公司所控制。

目前,这些世界氨基酸生产巨头在应用基因重组技术生产氨基酸研发工作方面走在世界前列,如日本三井化学公司采用工程菌生产 L-色氨酸和苏氨酸;日本味之素公司利用基因重组技术生产 L-苏氨酸等新产品;日本的协和发酵采用基因重组技术开发药物中间体-羧基脯氨酸;美国 ADM 公司利用基因重组工程菌生产的苏氨酸、色氨酸已进入日本市场。国际氨基酸生产技术发展呈如下态势:(1) 构建高产氨基酸微生物工程

菌,更前卫的是将基因工程应用于代谢工程,通过重组 DNA 技术改变代谢途径分支点上的流量或引入新的代谢步骤与管径构建新的代谢网络,得到性能优良的氨基酸生产菌株。25 年前,前苏联苏氨酸基因工程菌研制成功和产业化开创了氨基酸技术新纪元,目前日本、美国都拥有采用工程菌生产 L-色氨酸、苏氨酸和色氨酸的技术,这代表着饲料氨基酸技术发展主流方向;(2) 代谢工程研究比基因工程研究要复杂得多,已建立了一系列特异性研究手段,包括定点突变、插入失活及计算机分子空间构象模拟等手段,揭开了许多关键酶如何受反馈抑制的谜底,随着基因工程技术发展,会推动氨基酸代谢基因工程跟进;(3) 生物化工技术在氨基酸工业中应用有力地推动了氨基酸工业的技术进步,许多大型企业如杜邦、孟山都、拜耳、陶氏化学都在投巨资进行生物化工技术研究;(4) 应用生物技术培育饲料专用作物作为作物科学一个新的分支学科预期发展前景良好,值得引起重视。

2.1.2 饲料酶制剂技术研发情况

20 世纪 40 年代,微生物 α -淀粉酶的液体深层发酵技术实现了工业化生产以来,酶制剂产业已形成一个富有活力的高技术产业。1975 年 Kemin 公司首先推出了世界上第一个商品饲用酶制剂。29 年来国外开发的饲用酶制剂至少 10 多种,如植酸酶、蛋白酶、淀粉酶、 β -葡聚糖酶等,欧洲 95% 以上饲料都添加酶制剂。2003 年世界工业酶制剂总产值 21 亿美元,其中诺维信酶产品占 44%,为 9.24 亿美元,诺维信饲料酶制剂产品产值占该公司总酶制剂产品产值的 11%,为 1.03 亿美元,占全球饲料酶制剂产值 2.27 亿美元的 45%,为全球酶制剂和饲料酶制剂的龙头老大。饲料酶市场发展趋势和前景吸引了许多研究机构和公司涉足饲料酶领域,其他从事饲料酶研究和生产的公司还有美国 Genecor 公司(4200 万美元)、德国 BASF 公司(936 万美元)、瑞士 Roche 公司、瑞士 Novartis 公司、美国 Du Pont 公司等。我国近 100 家饲料酶产品总产值约 800 万美元,所占份额只及诺维信一家公司的 8%。尽管饲料酶制剂开发应用只有 29 年历史,但现已成为世界工业酶产业和饲料添加剂产业中增长最快的部分。统计资料显示,近 5 年饲用酶市场产值年增长率 11%,预计到 2010 年饲料用酶的世界市场产值将达到 8 亿美元,这是决定饲料酶制剂研发与产业化动因大小的一个关键数据。

20 世纪 90 年代以基因工程和蛋白质工程为代表的新技术在酶制剂领域的成功应用,有力推动了酶制剂研发技术和产业的发展。目前,国际酶制剂工业技术发展有以下特点:(1) 性质优秀的目标酶基因的克隆和表达,随着越来越多的物种基因组的物理图谱和 DNA 测序的完成和 DNA 重组技术的完善,以及各种蛋白质结构和功能关系数据的积累,人们在很大程度上能突破天然酶缺陷的限制,通过克隆和改造各种功能基因使其在微生物中高效表达,再通过优化发酵获得廉价优质产品。国外利用转基因体高效生产饲用酶制剂比例越来越大。(2) 酶的遗传修饰,这方面主要特点,一是多位点定点突变技术,定点突变是蛋白质工程中采用的一项重要技术之一,但以往一般每次只能引入单点突变,突变效率较低,所以多点突变技术研究成为热点;二是基因缺失突变,也是基于生物信息等新发展的改进基因表达的有前途的技术;三是基因缺失突变,也是基于生物信息等新发展的改进基因表达的有前途的技术;四是酶定向进化技术,通过多代遗传将突变积累起来,可以较好地拓展酶的功能。其利用的主要原理有基因嵌合酶、易错

PCR 及 DNA 体外随机拼接技术。利用酶的定向进化技术对酶基因进行遗传修饰可能获得具有特殊性能的突变酶及突变菌株。(3) 酶的遗传设计, 基因工程的飞速发展异源蛋白质表达提供了有力手段, 应用组建蛋白质结构的新方法能获得自然界并不存在的具有全新结构和功能的蛋白质。蛋白质全新设计过程是: 先确定设计目标和初始序列, 经过结构预测和建模, 对序列进行初步修改, 然后进行酶基因表达或多肽合成, 再经过结构功能检测结果指导修改原先设计。蛋白质全新设计处在探索阶段, 应用前景诱人。

2.1.3 饲用肽类产品发展情况

饲料用活性肽依据其功能, 可分为生理活性肽、抗氧化肽、调味肽、营养肽等。国内外在饲用生物活性多肽研发方面投入力量最大的是抗菌肽和营养寡肽。目前, 商业化饲用活性肽生产仅见美国奥特奇公司生产的产品技术含量不高的 UP1672 系列生物肽, 这些产品在北美国家仔猪日粮中已使用 10 多年。绝大多数基因工程肽还在实验阶段、还远没达到规模生产和应用阶段, 新药领域相关研究方法和成果可直接用作饲用肽类产品, 少数人药用产品因成本限制短期内无法推广到饲料工业领域。毫无疑问, 其应用前景和潜力看好。

国际饲料用活性肽的技术发展趋势如下: (1) 开发新的活性肽资源, 包括充分利用动物、植物、海洋生物、微生物资源, 开发昆虫活性肽等; (2) 利用现代生物技术进行活性肽的生产和改进: 如在抗菌肽的研究与开发上, 利用 DNA 重组等技术, 将编码某种抗菌肽的基因整合到某些生物体内, 通过生物细胞的发酵或培养来直接表达出目的抗菌肽, 实现其大规模低成本生产; 通过基因定位诱变的手段对天然活性肽结构进行改造, 获得具有新的性质的活性肽; 将具有不同功能的多肽融合形成具有多重功能的融合活性肽; 将组合化学、后基因组学、生物信息学以及高通量筛选等技术相结合, 开发出具有目标性状的新型活性肽, 这将是饲料用活性肽的重要途径。

2.1.4 微生态制剂技术研发情况

微生态制剂自 20 世纪 70 年代首次在饲料中添加使用后, 世界各国对各种微生态制剂的研发十分活跃。目前, 欧美及日本等国家已将其列入饲料添加剂范畴, 涌现了众多益生菌/菌生产厂家和公司, 品种繁多。法国已有 50 多种微生态制剂, 美国饲料益生菌销售额已超过 3000 万美元, 日本每年使用微生态添加剂已达 1000t 以上, 价值超过 400 万美元。以益生菌/菌为主的功能性食品已形成新产业。据报道 1996 年世界各国低聚糖产量约 8.5 万 t, 主要在日本和欧洲国家, 其次是北美、韩国和中国。日本在寡糖研发及应用方面居世界前列, 日本 20 世纪 70 年代开始寡糖研发, 80 年代初批量生产异麦芽寡糖及果寡糖, 到 90 年代开发出 70 余种功能性寡糖, 数百个产品, 产值近 3 亿美元。90 年代以来, 日本功能性低聚糖年消费量逐渐增加, 从 1993 年 2 万多 t, 增加至 1999 年的 3 万多 t, 其中消费量最大的品种是低聚异麦芽糖 1.1 万 t, 20 世纪 80 年代中后期, 日本首先将功能性寡糖开发为饲料添加剂。到 90 年代中期, 日本寡糖全国产量的 1/3 被添加到饲料中, 价值约 1 亿美元。欧洲功能性低聚糖应用较日本略晚, 目前欧洲市场主要功能性低聚糖商品有低聚半乳糖和低聚果糖, 还有菊粉来源的果聚糖混合物广泛应用于食品和饲料, 其聚合度 2~60, 其他来源低聚果糖聚合度为 3~8。法国 Leroux

公司(1998)年产菊粉以相关产品总计2万t,现有专门协调生产和研发的欧洲菊粉协会和国际果聚糖学会。

目前,国际微生态制剂技术的发展主要呈以下态势:(1)筛选更多具有直接促生长作用的优良微生物,积极利用生物工程技术改造菌群遗传基因,选育优良菌种,使其具有抗酸、抗热等能力。(2)关于益生菌/菌作用机制的研究应注意从动物营养代谢与微生物代谢关系方面进行研究,研究益生菌/菌作用机理和方式。(3)加强对益生菌/菌剂型的研究,提高活菌浓度及其对不良环境的耐受力,研究真空冻干技术和微胶囊技术保护产品,采用真空包装或充氮气包装延长产品保存期。(4)在益生菌的研究方面,一方面要筛选高酶活菌株;另一方面通过生物技术对生产菌进行改造提高其生产性能。

2.2 国内生物饲料技术研发现状

国内生物饲料技术研发现状整体水平落后,极少部分品种达国际水平,缺乏战略性和基础性平台技术研究,最新分子生物学研究成果应用相对落后,对微生物与基因资源研究不重视,缺乏源头创新技术和成果,模仿跟进国际成熟技术为主,这与立项过于刚性、考察指标硬化、产业化目标短而强有关。

2.2.1 饲用氨基酸

我国饲用氨基酸工业技术水平和生产规模与饲料工业的发展同步,近20年来从无到有发展很快,目前年产量 1.5×10^5 t,总生产能力已达 2.0×10^5 t。其中赖氨酸总生产能力达 $(7 \sim 10) \times 10^4$ t/a,能满足饲料赖氨酸年消耗量一半,另一半靠进口;另一种重要限制性氨基酸蛋氨酸年需求量 $(6.5 \sim 7.0) \times 10^4$ t,色氨酸和苏氨酸开始少量应用,几乎全部进口。大多数饲用氨基酸生产技术还是传统方法,目标氨基酸产率低,生产规模小,成本高,与国际比较在研发和生产方面的差距都很大。关于重要氨基酸代谢基因工程菌研究工作尚未起步,更没有象先进国家那样进入生产领域。我国在饲用氨基酸研发方面一直处于落后地位,是饲料和饲料添加剂产业的薄弱环节,饲用氨基酸在畜牧业中重要地位、技术现状与我国消费大国的形象不对称,在食品医药领域过去做了一些工作,但优势成果不多;另一方面一些大型企业具备在短期内建起相当规模低技术含量的氨基酸生产车间的实力;随着研发投入增加和生物技术领域新技术快速发展,如果选题准确、切入点合适有望形成后发优势和取得有特色成果。

2.2.2 饲用酶制剂

目前我国登记注册生产饲料用酶制剂的厂家有近100家,其实为了从饲料应用领域分一杯羹很多其他专业酶制剂企业纷纷通过二次技术开发迅速进入了门槛不高的饲料酶领域,只有极少数企业是专门新上的;开辟进入中国市场的国外公司有10多家,全国饲料用酶制剂年消费总量约1万t,国内外产品在中国市场表面上势均力敌,实质性竞争尚未外化。国内具有自主知识产权的饲料酶研制源头创新成果几为空白,关于饲料酶在动物生产中的应用技术,迄今仍以韩正康与Marquardt先生(1996)合作主持的“家禽及猪营养中的酶制剂”课题和霍启光先生(2002)主持的“动物磷营养与磷源”课题中对四大饲料酶类——淀粉酶、非消化多糖酶、蛋白酶、植酸酶的动物营养效果研究为