

全国高等农林院校“十一五”规划教材

水产动物营养与饲料学

实验教程

SHUICHPN DONGWU YINGYANG
YU SILIAO XUE
SHIYAN JIAOCHEENG

王桂芹 主编

 中国农业出版社

全国高等农林院校“十一五”规划教材

水产动物营养与 饲料学实验教程

王桂芹 主编

中国农业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

水产动物营养与饲料学实验教程 / 王桂芹主编. —
北京：中国农业出版社，2011.1

全国高等农林院校“十一五”规划教材

ISBN 978 - 7 - 109 - 15345 - 5

I . ①水… II . ①王… III . ①水产动物—动物营养—
实验—高等学校—教材 ②水产动物—配合饲料—实验—高
等学校—教材 IV . ①S963 - 33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2011) 第 000140 号

中国农业出版社出版

(北京市朝阳区农展馆北路 2 号)

(邮政编码 100125)

策划编辑 曾丹霞

文字编辑 曾丹霞

北京中兴印刷有限公司印刷 新华书店北京发行所发行
2011 年 1 月第 1 版 2011 年 1 月北京第 1 次印刷

开本：720mm×960mm 1/16 印张：12.5

字数：216 千字

定价：25.00 元

(凡本版图书出现印刷、装订错误, 请向出版社发行部调换)

内 容 简 介

本书着重介绍了水产动物营养和饲料学的实验技术，包括水产动物营养与饲料学实验室的基本知识、水产饲料检测及营养研究的基本知识、饲料中营养成分的检测、饲料质量检测和水产动物蛋白质代谢的综合性实验。全书注重选用最新的标准方法，同时吸纳水产动物营养研究的最新成果和研究思路，既考虑饲料的通用性，又强调水产饲料的特殊性，使理论和实践紧密结合。

本书可作为水产养殖及其他相关专业的本科生和研究生的实验教材，也可供饲料及相关行业人员参考。

主 编 王桂芹

副主编 聂国兴 华雪铭

参 编 芦洪梅 韩宇田 朱成成

前　　言

随着水产养殖业的迅猛发展，水产饲料的检测和营养研究逐步规范化，而目前国内尚无一本内容全面、适用于水产动物营养和饲料检测和研究的实验指导用书，因此作者根据多年的实践积累编写了本书。《水产动物营养与饲料学实验教程》是水产动物营养与饲料学教学的重要组成部分，是水产动物营养与饲料学实践课教学和实验课课堂操作不可缺少的依据。全书共包括五部分内容，即水产动物营养与饲料学实验室的基本知识、水产饲料检测及营养研究的基本知识、饲料中营养成分的检测、饲料质量检测、水产动物蛋白质代谢的综合性实验，包括各种水产动物营养和饲料实验共44个。

全书既包含传统的实验技术，又注重选用最新的标准方法，同时吸纳水产动物营养研究的最新成果和研究思路，突出了新的实验设计和实验手段；注重实践操作，层次清晰，知识介绍循序渐进；既考虑饲料的通用性，又强调水产饲料的特殊性，使理论和实践紧密结合。实验设计、统计处理等内容，使学生在巩固基础理论的同时，掌握应用现代水产动物营养与饲料学的手段和方法进行定性和定量研究的基本实验技能。为启发学生思考、扩大知识面，在每个实验的后面都列有思考题和注意事项。本书除可用作高等农业院校动物科学、水产养殖等专业的实验教材外，也可供相关科研单位、饲料加工企业的饲料科技工作者参考。

由于编者水平有限，书中难免存在疏漏之处，恳请读者批评指正！

编　　者

2010年12月

目 录

前言

第一章 水产动物营养与饲料学实验室的基本知识	1
第一节 有关药品	1
第二节 常用仪器	4
第三节 实验基本操作	11
第二章 水产饲料检测及营养研究的基本知识	17
第一节 饲料的基本常识	17
第二节 水产配合饲料的基本常识	25
第三节 饲料的采样及检测样品的制备	36
第四节 营养研究的基本程序	44
第三章 饲料中营养成分的检测	48
第一节 饲料中营养成分的常规分析	48
实验一 饲料中水分和其他挥发性物质含量的测定	48
实验二 饲料中粗蛋白质的测定	51
实验三 饲料中粗脂肪的测定	54
实验四 饲料中粗纤维的测定	57
实验五 饲料中粗灰分的测定	61
第二节 饲料中部分纯养分的分析	62
实验一 饲料中钙的测定	62
实验二 饲料中总磷的测定	67
实验三 饲料中氨基酸的测定	69
实验四 饲料中色氨酸的测定	73
实验五 饲料有效赖氨酸的测定	75
第四章 饲料质量检测	80
第一节 饲料的物理学检测	80

实验一 饲料显微镜检查方法	80
实验二 饲料粉碎粒度的测定	83
实验三 微量元素预混合饲料混合均匀度的测定	85
实验四 颗粒饲料中淀粉糊化度的测定	86
实验五 颗粒饲料粉化率及含粉率的测定	88
实验六 渔用配合饲料水中稳定性的测定	90
第二节 饲料原料质量的测定	92
实验一 鱼粉酸价的测定	92
实验二 饲料用大豆制品中尿素酶活性的测定	93
实验三 饲料中植酸的测定	95
实验四 大豆制品中胰蛋白酶抑制剂活性的测定	97
第三节 饲料中有毒有害物质的测定	100
实验一 饲料中游离棉酚的测定	100
实验二 饲料中三聚氰胺的测定	102
实验三 饲料中孔雀石绿的测定	105
实验四 水产饲料安全性评价	108
实验五 饲料中喹乙醇的测定	112
实验六 饲料中土霉素的测定	114
第五章 水产动物蛋白质代谢的综合性实验	116
第一节 消化实验	116
实验一 动物性蛋白质饲料胃蛋白酶消化率的测定	116
实验二 鱼类消化率测定方法	118
实验三 鱼类饲料的总消化率及其蛋白质消化率的测定	120
实验四 渔用饲料原料表观消化率的测定	124
第二节 营养需求实验	127
实验一 鱼类对蛋白质最适营养需求的研究	127
实验二 鱼类对饲料蛋白质和能量适宜比例需求的研究	132
实验三 水产动物饲料中大豆蛋白替代鱼粉蛋白的研究	136
第三节 水产动物蛋白质代谢实验	140
实验一 水产动物蛋白消化酶的测定	140
实验二 鱼体组织中 DNA 的定量测定	142
实验三 鱼体组织中 RNA 含量的测定	145
实验四 鱼类蛋白质主要分解产物的测定	146

目 录

实验五 鱼类蛋白质周转代谢的测定	147
实验六 鱼类血清生长激素的测定	149
实验七 鱼类血清类胰岛素生长因子-I 的测定	151
第四节 水产动物能量代谢实验	152
实验一 饲料总能的测定	152
实验二 水产动物耗氧率的测定	156
实验三 水产动物氨氮排泄率的测定	158
实验四 饲料营养物质对水产动物供能比例的测定	160
附录	163
附录 1 中国饲料成分及营养价值表	163
附录 2 常用水产动物营养与饲料学专业名词英汉对照	178
附录 3 水产动物营养与饲料学中常用缩写	183
主要参考文献	184

第一章 水产动物营养与饲料学 实验室的基本知识

第一节 有关药品

一、危险性化学药品

1. 有毒气体 氯、氟、氰化氢、氟化氢、溴化氢、氯化氢、二氧化硫、硫化氢、氨、一氧化碳等均为窒息性或刺激性气体。使用上述气体或进行有上述气体产生的实验，必须在通风橱中进行，并设法吸收有毒气体以减少环境污染。如遇大量有毒气体逸至室内，应立即关闭气体发生装置。

2. 强酸和强碱 硝酸、硫酸、盐酸、氢氧化钠、氢氧化钾、氨水等均刺激皮肤，有腐蚀作用，造成化学灼伤。吸入强酸烟雾，会刺激呼吸道，使用时要倍加小心。如遇皮肤或眼睛受灼伤，首先应立即用水冲洗。如果受酸损伤，可用1%碳酸氢钠溶液冲洗，如果受碱损伤，可用1%醋酸溶液冲洗。

3. 混合发生爆炸的化学药品

- (1) 高氯酸+酒精或其他有机物；
- (2) 高锰酸钾+甘油或其他有机物；
- (3) 高锰酸钾+硫酸或硫；
- (4) 硝酸+镁或碘化氢；
- (5) 硝酸铵+酯类或其他有机物；
- (6) 硝酸铵+锌粉+水滴；
- (7) 硝酸盐+氯化亚锡；
- (8) 过氧化物+铝+水；
- (9) 硫+氧化汞；
- (10) 金属钠或钾+水。

4. 其他危险性化学药品

(1) 二甲基亚砜(DMSO)：具有血管毒性和肝肾毒性，能够灼伤皮肤并使皮肤有刺痛感，如同所见的皮疹及水疱一样。使用时要避免其挥发，准备1%~5%的氨水备用，皮肤沾上之后用大量的水及稀氨水洗涤。

(2) 氯仿 (CHCl_3)：一种致癌剂，可损害肝和肾。它易挥发，避免吸入挥发的气体。对皮肤、眼睛、黏膜和呼吸道有刺激作用。操作时戴合适的手套和安全眼镜，并始终在通风橱里进行。

(3) 甲醛 (HCOH)：有很大的毒性并易挥发，也是一种致癌剂。很容易通过皮肤吸收，对眼睛、黏膜和上呼吸道有刺激和损伤作用。避免吸入其挥发的雾。操作时要戴合适的手套和安全眼镜，并始终在通风橱内进行。远离热、火花及明火。

(4) 三氯乙酸 (TCA)：有很强的腐蚀性。操作时要戴合适的手套和安全眼镜。

二、有毒化学药品侵入人体的途径

1. 由呼吸道侵入 有毒化学药品经呼吸道侵入人体是最可能的途径。有毒气体或有毒药品蒸气通过人体的呼吸进入肺部，经血液循环而至全身，产生急性或慢性全身性中毒。故使用有毒化学药品的实验必须在通风橱内进行，并注意保持室内空气流通。

2. 由皮肤侵入 有毒化学药品会通过皮肤渗透侵入人体，再经血液循环而使人中毒。能渗透皮肤的有毒化学药品大多是脂溶性的，也能从皮肤破裂处侵入人体。氰化钾进入血液，往往能在瞬间导致死亡。所以进行实验时，注意不要使化学药品直接接触皮肤，皮肤有伤口时更须特别小心，必要时可戴手套。

3. 由消化道侵入 这种情况不多见。为防止中毒，任何化学药品不得用口尝味，不要用实验工具煮食，不要在实验室内用食，实验结束后必须洗手。

三、药品的取用和保存

(一) 药品的取用

实验室里所用的药品，很多是易燃、易爆、有腐蚀性或有毒的，不能用手接触药品，不要把鼻子凑到容器口去闻药品（特别是气体）的气味，不得尝任何药品的味道。如果没有说明用量，一般应按最少量取用，液体取 $1\sim 2\text{mL}$ ，固体只需要盖满试管底部。实验剩余的药品既不能放回原瓶，也不要随意丢弃，更不要拿出实验室，要放入指定的容器内。

1. 固体药品的取用 取用固体药品一般用药匙。往试管里装入固体粉末

时，为避免药品沾在管口和管壁上，先使试管倾斜，把盛有药品的药匙（或用小纸条折叠成的纸槽）小心地送入试管底部，然后将试管直立起来，让药品全部落到试管底部。有些块状的药品可用镊子夹取。

2. 液体药品的取用 取用很少量液体时可用胶头滴管吸取。取用较多量液体时可用直接倾注法，即取用细口瓶里的药液时，先拿下瓶塞，倒放在桌上，然后拿起瓶子（标签应对着手心），瓶口紧挨着试管口，将液体缓缓地倒入试管。注意防止残留在瓶口的药液流下来腐蚀标签。一般往大口容器或容量瓶、漏斗里倾注液体时，应用玻璃棒引流。

（二）药品的保存

1. 试剂存放和使用的要求

(1) 易燃易爆试剂应贮于铁柜（壁厚1mm以上）中，柜子的顶部要有通风口。严禁在实验室存放大于20L的瓶装易燃液体。易燃易爆药品不要放在冰箱内（防爆冰箱除外）。

(2) 相互混合或接触后可以产生激烈反应、燃烧、爆炸、放出有毒气体的两种或两种以上的化合物称为不相容化合物，不能混放。这种化合物多为强氧化性物质与还原性物质。

(3) 腐蚀性试剂宜放在塑料或搪瓷的盘或桶中，以防因瓶子破裂造成事故。

(4) 要注意化学药品的存放期限，一些试剂在存放过程中会逐渐变质，甚至形成危害。

(5) 药品柜和试剂溶液均应避免阳光直晒及靠近暖气等热源。要求避光的试剂应装于棕色瓶中或用黑纸或黑布包好存于暗柜中。

(6) 发现试剂瓶上标签掉落或将要模糊时应立即贴好标签。无标签或标签无法辨认的试剂都要当成危险物品重新鉴别后小心处理，不可随便乱扔，以免引起严重后果。

(7) 化学试剂定位放置、用后复位、节约使用，但多余的化学试剂不准倒回原瓶。

2. 几种特殊试剂的存放

(1) 钾、钙、钠在空气中极易氧化，遇水发生剧烈反应，应放在盛有煤油的广口瓶中以隔绝空气。

(2) 白磷着火点低(40℃)，在空气中能缓慢氧化而自燃，通常保存在冷水中。

(3) 液溴有毒且易挥发，需盛放在磨口的细口瓶里，并加些水（水覆盖在液溴上面），起水封作用。

(4) 碘易升华且具有强烈刺激性气味，应盛放在磨口的广口瓶里。

(5) 浓硝酸、硝酸银见光易分解，应保存在棕色瓶中，贮放在黑暗而且温度低的地方。

(6) 氢氧化钠固体易潮解，应在易于密封的干燥大口瓶中保存；其溶液盛放在无色细口瓶里，瓶口用橡皮塞塞紧，不能用玻璃塞。

第二节 常用仪器

一、分光光度计

(一) 使用方法

(1) 接通稳压器电源，待稳压器输出电压稳定至 200V 后打开光度计电源，仪器自动进入初始化。

(2) 初始化约需要 10min，包括寻找零级光、建立基线，最后当显示器指示“ $\times \times \text{nm}$ ”时，表明仪器完成初始化程序，可进入检测状态。

(3) 按要求输入各项参数，选择相应比色皿（玻璃或石英），将空白管、标准管及待测管依次放入比色皿架内，关上比色池盖。

(4) 以空白管自动调零。

(5) 试样槽依次移至样品位置，待数据显示稳定后按“START/STOP”键，打印机自动打印所测数据，重复上述步骤，直到所有样品检测完毕。

(6) 检测结束后应及时取出比色皿，并清洗干净放回原处，同时关上仪器电源开关及稳压器电源开关，做好使用情况登记。

(二) 注意事项

(1) 仪器初次使用或使用较长时间后（一般为一年），需检查波长准确度，以确保检测结果的可靠性。

(2) 由于长途运输或室内搬运可能造成光源位置偏移，导致亮电流漂移增大，此时应对光源位置进行调整，直至达到有关技术指标为止。若经调整校正后，波长准确度、暗电流漂移及亮电流漂移三项关键指标仍未符合要求，则应停止使用，并及时通知有关技术人员检修。

(3) 每次检测结束后应检查比色池内是否有溶液溢出，若有溢出应随时用滤纸吸干，以免引起测量误差或影响仪器使用寿命。

(4) 仪器每次使用完毕，应于灯室内放置数袋硅胶（或其他干燥剂），以免反射镜受潮霉变或沾污，影响仪器使用，同时盖好防尘罩。

- (5) 仪器室应保持洁净干燥，室温以5~35℃为宜，相对湿度不得超过85%。有条件者应于室内配备空调机及除湿机，以确保仪器性能稳定。
- (6) 仪器室不得存放酸、碱、挥发性或腐蚀性等物质，以免损坏仪器。
- (7) 仪器长时间不用时，应定时通电预热，每周1次，每次30min，以保证仪器处于良好使用状态。

二、电泳仪

(一) 使用方法

- (1) 首先用导线将电泳槽的两个电极与电泳仪的直流输出端连接，注意极性不要接反。
- (2) 电泳仪电源开关调至关的位置，电压旋钮转到最小，根据工作需要选择稳压稳流方式及电压电流范围。
- (3) 接通电源，缓缓旋转电压调节钮直到达到所需电压为止，设定电泳终止时间，此时电泳即开始进行。
- (4) 工作完毕后，应将各旋钮、开关旋至零位或关闭状态，并拔下电源插头。

(二) 注意事项

- (1) 电泳仪通电进入工作状态后，禁止人体接触电极、电泳物及其他可能带电部分，也不能到电泳槽内取放东西，如需要应先断电，以免触电。同时要求仪器必须有良好接地端，以防漏电。
- (2) 仪器通电后，不要临时增加或拔除输出导线插头，以防短路现象发生，虽然仪器内部附设有保险丝，但短路现象仍有可能导致仪器损坏。
- (3) 由于不同介质支持物的电阻值不同，电泳时所通过的电流量也不同，其泳动速度及泳至终点所需时间也不同，故不同介质支持物的电泳不要同时在同一电泳仪上进行。
- (4) 在总电流不超过仪器额定电流时，可以多槽关联使用，但要注意不能超载，否则容易缩短仪器寿命。
- (5) 某些特殊情况下，需检查仪器电泳输入情况时，允许在稳压状态下空载开机，但在稳流状态下必须先接好负载再开机，否则电压表指针将大幅度跳动，容易造成不必要的机器损坏。
- (6) 使用过程中发现异常现象，如较大噪声、放电或异常气味，须立即切断电源，进行检修，以免发生意外事故。

三、分析天平

(一) 使用方法

- (1) 检查并调整天平至水平位置。
- (2) 事先检查电源电压是否匹配(必要时配置稳压器)，按仪器要求通电预热至所需时间。
- (3) 预热足够时间后打开天平开关，天平则自动进行灵敏度及零点调节。待稳定标志显示后，可进行正式称量。
- (4) 称量时将洁净的称量瓶或称量纸置于称盘上，关上侧门，轻按一下去皮键，天平将自动校对零点，然后逐渐加入待称物质，直到所需重量为止。
- (5) 被称物质的重量是显示屏左下角出现“→”标志时，显示屏所显示的实际数值。
- (6) 称量结束应及时除去称量瓶(纸)，关上侧门，切断电源，并做好使用情况登记。

(二) 注意事项

- (1) 天平应放置在牢固平稳的水泥台或木台上，室内要求清洁、干燥及较恒定的温度，同时应避免光线直接照射到天平上。
- (2) 称量时应从侧门取放物质，读数时应关闭箱门以免空气流动引起天平摆动。前门仅在检修或清除残留物质时使用。
- (3) 电子分析天平若长时间不使用，应定时通电预热，每周一次，每次预热2h，以确保仪器始终处于良好的使用状态。
- (4) 天平箱内应放置吸潮剂(如硅胶)，当吸潮剂吸水变色后，应立即更换，以确保吸湿性能。
- (5) 挥发性、腐蚀性、强酸强碱类物质应盛于带盖的称量瓶内称量，防止腐蚀天平。

四、电动离心机

(一) 使用方法

- (1) 使用前应先检查变速旋钮是否在“0”处。外套管应完整不漏，外套

管底部需放有橡皮垫。

(2) 离心时先将待离心的物质转移到大小合适的离心管内，盛量不宜过多(占管的2/3体积)，以免溢出。将此离心管放入外套管，再在离心管与外套管间加入缓冲用水。

(3) 一对外套管(连同离心管)放在台秤上平衡，如不平衡，可调整离心管内容物的量或缓冲用水的量。每次离心操作，都必须严格遵守平衡的要求，否则将会损坏离心机部件，甚至造成严重事故，应该十分警惕。

(4) 将以上两个平衡好的套管，按对称方向放到离心机中，盖严离心机盖，并把不用的离心套管取出。

(5) 先按下电源开关，然后慢慢拨动旋钮，使速度逐渐增加。停止时，先将旋钮拨动到“0”，不继续使用时拔下插头，待离心机自动停止后，才能打开离心机盖并取出样品，绝对不能用手阻止离心机转动。

(6) 用完后，将套管中的橡皮垫洗净，保管好。冲洗外套管，倒立放置使其干燥。

(二) 注意事项

(1) 离心过程中，若听到特殊响声，表明离心管可能破碎，应立即停止离心。如果管已破碎，将玻璃碴冲洗干净(玻璃碴儿不能倒入下水道)，然后换新管，重新平衡后按上述操作重新离心。

(2) 有机溶剂如酚等会腐蚀塑料套管，盐溶液会腐蚀金属套管。若有渗漏现象，必须及时擦洗干净漏出的溶液，并更换套管。

(3) 避免连续使用时间过长。一般大离心机用40min休息20min或30min，台式小离心机用40min休息10min。

(4) 电源电压应与离心机所需要的电压一致。接地线后，才能通电使用。

(5) 一年应检查一次离心机内电动机的电刷与整流子磨损情况，严重时更换电刷或轴承。

五、烘箱和恒温箱

烘箱又叫干燥箱，常用的是电热鼓风干燥箱。干燥箱用于物品的干燥和干热灭菌，工作温度为50~250℃。恒温箱又叫培养箱，用于细菌、生物培养等，工作温度自室温以上至60℃。这两种仪器工作原理、结构及使用方法相似。

(一) 使用方法

- (1) 检查温度计是否插入放气调节器中部的小孔内。
- (2) 把电源插头插好，合上电闸。
- (3) 将电热丝分组开关的旋钮拨到 1 或 2 (视需要的温度而定)，再将自动恒温控制旋钮沿顺时针方向旋转，指示灯红灯亮表示电热丝开始加热。此时也可开动鼓风机帮助箱内热空气对流。
- (4) 在恒温过程中，应注意观察温度计。待温度将要达到所需温度值 (差 2~3℃) 时，使指示绿灯正好发亮，此时表示电热丝停止加热，箱内温度即能自动控制在所需要的温度 ($\pm 0.5^{\circ}\text{C}$)。
- (5) 恒温过程中，如不需要多组电热丝同时加热时，应将电热丝分组开关的旋钮拨到 1 挡。
- (6) 工作一定时间后需要将潮气排出，可打开放气调节器，也可打开鼓风机。
- (7) 使用完毕后，关闭鼓风机马达开关，将电热丝分组开关旋钮和自动恒温控制旋钮沿反时针方向旋回至零位。
- (8) 断开电闸，拔出电源插头。

(二) 注意事项

- (1) 使用前应检查电源 (电压、电流) 是否符合规定，地线是否接妥。
- (2) 挥发性物品，如盛有有机溶剂的器皿，不能放入，以防火灾和爆炸。
- (3) 安放物品时应小心，不要触及自动恒温控制器的窗筒和温度计，以免损坏部件。安放物品后应立即关好箱门，以便保持温度恒定。
- (4) 烘烤洗刷完的仪器时，应尽量将水珠甩去再放入烘箱内。干燥后，待温度降至 60℃ 以下方可取出物品。注意，若温度超过 180℃，箱内棉花或纸张会烤焦，玻璃器皿则易破损。
- (5) 电热鼓风干燥箱的电动机轴承，每年至少加润滑油一次。
- (6) 仪器必须有良好地线。
- (7) 仪器附近不能放置易燃物品。
- (8) 检修时不能带电操作。

六、用于加热的仪器

1. 试管 用来盛放少量药品、常温或加热情况下进行少量试剂反应的容