

The background features a complex, abstract design. It consists of numerous thin, light-colored lines radiating from various points, creating a sense of movement and depth. Interspersed among these lines are several geometric shapes, including circles of varying sizes and small crosses. The overall effect is a modern, technical, and somewhat futuristic aesthetic.

动物饲料与安全

(十)

编者董原

目 录

合理使用抗氧化剂	1
绿色鳖用饲料添加剂	6
钙蛋白酶系统改善肉嫩度的机理及其应用	10
中草药饲料添加剂研究进展	18
饲用纤维素酶的研究与应用	35
含双稠吡咯啉生物碱的植物及其对畜牧业的危害	41
虾青素的开发与应用	49
单胃动物饲养业中饲用抗生素的替代物	55
碳酸氢钠在畜牧养殖业上的应用	61
麸皮可多层次开发利用	62
饲料增值加工十三法	63
抗生素替代物的作用效果及存在问题	65
饲料原料质量保证体系的建立	73
提取植物精华，创造安全健康	79
粘土矿物对饲料中有害物质的吸附性能的研究	85
饲用微生物添加剂的研究开发现状与展望	85
猪用中草药添加剂应用研究进展	92
如何控制药物残留	98
胆囊收缩素及其在动物生产中的应用	101
三菌种二次发酵酱渣生产蛋白饲料的研究	112
饲用中草药的应用及发展的技术方向	116
提高家禽生产性能的生物制剂	122
乳蛋白生物活性肽研究进展	128
生物技术在饲料工业上研究与应用	137
沙门氏菌的监测方法	147

合理使用抗氧化剂

南方地区，特别是我们两广地区由于受到高温高湿等恶劣环境的影响，每年的5~9月份不少饲料生产企业都曾因为饲料的氧化变质、变味、发热而导致退货，严重影响了企业的生产经营及企业的信誉。因此，在饲料的生产过程中，合理地使用抗氧化剂，防止饲料氧化变质是一个十分重要的问题。

1 饲料中容易氧化酸败的物质

防止饲料品质自由氧化作用和由微生物降解所引起的品质下降是保护饲料品质的两大关键，后者分解作用是由霉菌的生长和代谢产物所致，也就是霉变；前者是由存在自然界的自由基所引起的一系列氧化分解反应所造成的，其破坏对象是油脂类化合物，如脂溶性维生素、色素、动物脂肪和植物油等，可通过添加抗氧化剂使之与过氧化自由基或自由基反应而自氧化，为氢原子传递给过氧化自由基或自由基从而终止进行的连锁氧化反应。

1.1 鱼油

含有极高的不饱和脂肪酸，一般不用于畜禽饲料，而主要用于鳗鱼及甲鱼饲料，然而近年来不少厂家为追求饲料的鱼腥味而盲目使用鱼油，又不注意在饲料中添加适当的抗氧化剂，结果造成饲料酸败。鱼油除了易引起饲料酸败外，代谢能比其它动物油脂低10%~20%。

1.2 其它油脂

饲料中的脂肪在加工贮存过程中存在若干不利因素

如高温、潮湿、高铜等，配方原有抗氧化剂不能满足抗氧化的需要，均会严重造成水解氧化酸败。

1.3 香味剂

饲用香味剂主要含有醚、醛、酸、酯等具挥发性芳香类物质，有些成分本身极易被氧化，它是一类极不稳定物质，加入饲料前或后，无疑均成为氧化酸败的主导因素。

1.4 其它变质饲料原料

使用超期贮存或曾经自然变质的鱼粉、肉骨粉、变质的乳清粉、变质的豆粕、变质的糠麸饲料、粉碎时间长的玉米粉、花生粕特别是变质花生粕（饼）、米糠等，极易氧化变质。

2 饲料中常用的抗氧化剂

2.1 乙氧喹（EMQ）

乙氧喹又称乙氧基喹啉，抗氧化性能好，能有效地防止饲料中油脂和蛋白质的氧化，并且能防止维生素儿胡萝卜素、维生素E的氧化变质。价格较低，是目前在饲料中使用量最多的一种。

目前，国内外使用的饲料抗氧化剂主要是乙氧喹（EMQ）和以乙氧喹为主复配而成的抗氧化剂。而有资料表明，以乙氧喹为主复配而成的抗氧化剂（包括阻滞剂、协同剂、螯合剂），其效果大大超过了单一品种。

近几年来，国内经常使用的此类产品的商品名为：山道喹、克氧、抗氧灵、珊多喹、抗氧宝、依索金、抗氧喹等。

2.2 二丁基羟基甲苯（BHT）

二丁基羟基甲苯（BHT）又名丁羟甲苯，稳定性优于其它抗氧化剂，对热稳定，与金属离子作用不会着色。

其作用机理与乙氧喹相似，具有防止饲料中多烯不饱和脂肪酸酸败的作用，故可保护饲料中的 VA、VD、VE 等脂溶性维生素和部分 B 族维生素不被氧化，提高饲料中氨基酸的利用率，减少日粮能值和蛋白质的用量。总之，对饲料中脂肪、叶绿素、维生素、胡萝卜素等均有保护作用，有利于蛋黄和胴体的色素沉着、家禽体脂碘价的提高以及猪肉香味的保持等。因此，二丁基羟基甲苯成为各国所普遍采用的抗氧化剂，可用于长期保存含有油脂较高的食品（如油炸食品、干鱼、罐头等）、饲料以及饮料等，也可用于速冻及方便食品包装纸的消毒等。

2.3 维生素 E

维生素 E 又称生育酚，是目前唯一工业化生产的天然抗氧化剂。维生素 E 对氧十分敏感，极易被氧化，因此它可保护其它易被氧化的物质（如 VA 和不饱和脂肪酸等）不被破坏，所以 VE 是极有效的抗氧化剂。VE 与人工合成的抗氧化剂不同，它既是饲料的抗氧化剂又是消化器官的细胞抗氧化剂，故能阻止细胞内的过氧化，而化学合成的抗氧化剂只是饲料的抗氧化剂，不能制止细胞内的过氧化。因此，尽管饲料中添加了 EMQ 或 BHT 等，也不能降低维生素 E 的添加量，同时由于维生素 E 的价格较贵，一般来说，虽然其抗氧效果较好，但仅作为维生素 E 源。

2.4 丁基羟基茴香醚（BHA）

BHA 多用作油脂抗氧化剂，对热稳定。除抗氧化外，还有较强抗菌力。添加量为 150mg/kg 时可抑制金色葡萄球菌；添加量为 200mg/kg 时可控制饲料中生长的青霉、黑曲霉的孢子生长；添加量为 250mg/kg 时，可以完全抑制黄曲霉菌生长和黄曲霉毒素的产生。但由于价格较贵，

目前较少使用。

3 正确使用抗氧化剂

3.1 抗氧化剂的选择原则

目前，市场上的抗氧化剂种类繁多，为能够正确地选择抗氧化剂，在选择抗氧化剂时应遵循以下原则：抗氧化剂本身或抗氧化剂与饲料组分作用后的产物对畜禽健康无毒无害、安全可靠；添加后不会使饲料产生异味或其它颜色，不影响畜产品的质量；添加量少，活性高，抗氧化性强；价格便宜；应含有表面活性剂以利于扩散。

3.2 抗氧化剂的使用量

天然的抗氧化剂（如 VE）使用量没有严格的规定，但人工合成的抗氧化剂（EMQ、BHT、BHA）的使用量则有一定的限制，其用量一般均在 150mg/kg 以下，一般为 100 ~ 200mg/kg。如果饲料中脂肪超过 6%或 VE 严重缺乏时应适量增加抗氧化剂的添加量。另外，当日粮使用高铜或高锌，以及高温高湿的气候环境下也应适量增加抗氧化剂的添加量，但也不能过量添加，过量的抗氧化剂产生的抗氧化剂自由基不但不抗氧化；反而促进氧化，而且过量添加还会使产品中的含量超过国家标准，并在动物体内沉积。另外，在实际应用中还必须注意商品抗氧化剂本身的含量，以便折算为实际的添加量。

3.3 正常掌握添加时机

抗氧化剂只能阻碍氧化作用，延缓饲料开始氧化的时间，但不能改变已经氧化酸败的后果。因此，使用抗氧化剂时，应注意在饲料未受氧化作用或刚开始氧化时就加入抗氧化剂，以发挥其抗氧化作用。因为油脂在自动氧化过程中出现过氧化物要经过相当一段时间的诱导

期，一旦生成了过氧化物，则此过氧化物即以自己的催化作用促使氧化反应迅速进行，所以尽早使用抗氧化剂就可能尽早地切断其反应链。否则，即使加入量很大，也不会起抗氧化效果，而且还可能发生相反的作用。另外，因为抗氧化剂本身极易被氧化，若添加后迅速地被氧化，被氧化了的抗氧化剂反而可能变成促进氧化的因素。所以还应注意抗氧化剂的氧化，要注意保存储藏好抗氧化剂。

3.4 氧含量的控制

氧气的存在可加速氧化反应的进行，因此，在使用抗氧化剂的同时，还必须注意饲料的包装，如采用有塑料内膜的编织袋，封口尽量缝得紧一些等等。否则饲料与氧直接接触时，即使大量另添抗氧化剂也很难得到预期的效果。

3.5 预混料及浓缩料中的使用。

由于预混料及浓缩料金属离子含量很高，酯类抗氧化剂（BHT、BHA）很容易络合失效，而脂类抗氧化剂有一定的水溶性，因此预混料及浓缩料应尽量保持最低的水分和选用乙氧喹（EMQ）含量较高的复合抗氧化剂。

3.6 在含有蛋氨酸的饲料中，将蛋氨酸与维生素预混合作为抗氧化剂和螯合剂，可取得很好的效果。

3.7 关于原料的过氧化值和硫代巴比妥酸值（TBA值）。

为了检验进厂的原料是否氧化变质，很多厂家仅测定过氧化值，那是无多大意义的，因为氧化的第二阶段，由于过氧化物的分解，过氧化值会很低，而此时原料实际上已经变质有害，硫代巴比妥酸（TBA）是氧化后脂肪分解的产物，是氧化结果的标志，所以在生产实际中，

应该同时测定过氧化值和 TBA 值，TBA 值高的原料应该禁用，因为此时任何的抗氧化剂对其都是无效的。

3.8 必须充分混合

抗氧化剂的用量一般很少，为了充分发挥作用，必须先进行稀释，然后再进行混合搅拌以使其能充分分散于饲料中。

绿色鳖用饲料添加剂

I 光合细菌 (PSB)

光合细菌个体小、繁殖快、适应性强、代谢方式多样，其菌体细胞中含有丰富的营养成分，蛋白质含量高达 60%以上，且必需氨基酸种类齐全，含量丰富；维生素的含量也比较高，尤其是一般水生动物饲料中易缺乏的 VB₁₂、生物素和叶酸的含量极为丰富；还含有大量的能促进动物生长的类胡萝卜素、辅酶 Q 等生理活性物质。姚志军等 (1996) 在试验中设 3 个组，即添加 PSB 的配合饵料试验组、不添加 PSB 的同一配方对照组、全动物性饵料组。结果表明，添加 PSB 的试验组生长最快，日增重率明显高于对照组，分别比两个对照组提高 19.0 % 和 31.6 %；饵料系数也最低，比同一配方对照组低 25.4%。由此可见，光合细菌具有显著的促生长作用和提高饲料效率的作用。在试验过程中还发现，光合细菌具有明显的诱食及改善体色的效果，使养殖鳖更接近于野生个体。

据报道，PSB 还具有增强鳖的体质，提高鳖的抗病能力、产卵量及成活率等功能。

2 肉碱

肉碱是类似于 B 族维生素的化合物，它不同于抗生素类促生长剂和激素类促生长剂，也不同于一般蛋白质和多肽类营养素。适量添加，可以增强脂肪酸通过线粒体内膜的能力，促进脂肪酸的代谢；能在提高体重的同时降低体脂，改善肉质；能提高脂肪、蛋白质、氨基酸和能量的利用率；促进脂溶性维生素及钙、磷的吸收。吴遵霖等（1997）采用主要成分为肉碱的鱼虾 4 号促长剂和 VC - 2 聚磷酸酯、甲碘胺及多维复方（VD₃，VB₆，VE）对始重规格为 12g 左右的稚鳖进行了 22 d 的饲养试验。结果以含肉碱的鱼虾 4 号增重效果最为显著，生长速度比对照组提高了 27.5%~36.6%，饲料系数和饲料蛋白质消耗下降了 26%~30%，最优水平的添加量是 2 000 mg/kg。而 VC 酯、甲碘胺及多维复方对鳖的促长作用均不太明显。

3 一胡萝卜素

-胡萝卜素是国际上广泛应用的营养性添加剂，对促进动物生长、抵御疾病有明显效果。一胡萝卜素是维生素 A 的前体，其转化为维生素 A 的效率因动物种类不同而差异很大。一胡萝卜素具有独立的、与维生素 A 无关的生理效应，可增强细胞间的信息传递，是切断连锁反应的抗氧化剂，能消除动物体内有毒的氧自由基，而且能提高动物自身免疫力，抵御细菌及病毒的侵袭，提高养殖动物成活率；能促进动物生长，提高生产性能，特别对母畜、禽繁殖性能有明显的效果；一胡萝卜素呈天然的黄色或桔黄色，也是一种有效的着色剂。杨新瑜等（1997）用制药厂生产的 一胡萝卜素，以 0.4% 添加在饲料中投喂 89 只均重 128g 的中华鳖，经过 73d

的试验,结果表明,添加β-胡萝卜素的试验组成活率比对照组提高了15.8%,日增重提高了105.6%。

4 螺旋藻

螺旋藻属于蓝藻门、颤藻目、颤藻科的一个属,目前国内工厂化生产的主要是钝顶螺旋藻和极大螺旋藻2个淡水种类。螺旋藻的营养价值极高,其蛋白质含量高达60%~70%,且蛋白质品质优良,含有17种氨基酸,易于消化吸收,适口性好;富含维生素,种类多达13种,尤以β-胡萝卜素、维生素B₁、维生素B₆、维生素B₁₂、维生素E、维生素K等含量高;所含矿物质全面,约在50种以上,且这些矿物质在藻体中呈螯合状态存在,易于消化吸收,利用率很高;螺旋藻不饱和脂肪酸比例高,尤其是亚麻酸含量相当高,亚麻酸是鳖的必需脂肪酸,不仅具有促进生长作用,而且还能增强抗病力;碳水化合物含量适中,其中的多糖有调节和提高机体免疫力的作用。螺旋藻除含有以上多种营养物质外,还含有多种生物活性物质,它含有多种酶,能促进营养物质的消化吸收,提高饲料效率;含有促生长作用的未知生长因子;含有丰富的色素;含有提高动物免疫能力和抗病能力的因子等。螺旋藻作为鳖用饲料添加剂具有广阔的应用前景。干粉添加量一般为0.5%~3%。在饵料中添加螺旋藻能促进鳖的生长,提高饲料利用率,增强抗病力,提高成活率等。宁运旺等(2000)试验发现,在幼鳖饲料中添加1%~2%的螺旋藻,对幼鳖增重有显著促进作用,并可使幼鳖摄食量提高18.6%~23.5%;在幼鳖饲料中添加1%~8%螺旋藻,可显著促进幼鳖的横向增长,并可加深幼鳖腹部的蓝绿色,增加抗病力。

5 大蒜素

大蒜素是从蒜的球形鳞茎中提取的挥发性油状物，是二烯丙基三硫化物、二烯丙基二硫化物以及甲基烯丙基二硫化物等的混合物，其中的三硫化物对病原微生物有较强的抑制和杀灭作用，二硫化物也有一定的抑菌和杀菌作用。鳖类养殖中应用大蒜素，可以增强抗病免疫力，防治多种疾病；有较强的诱食作用，能改善饲料风味，促进动物生长发育，提高生产性能；能降低饲料系数，提高饲料报酬，经济效益十分显著。据报道，在稚鳖饵料中添加 1%大蒜素添加剂，养殖 12 月后，试验组比对照组增产 20%。

6 中草药添加剂

中草药添加剂含有许多营养物质，除含丰富的多种维生素、糖类、蛋白质、脂肪等营养物质外，还含有生物活性物质、多种常量元素和微量元素，特别是钾、锡、钼、铬等，能促进机体糖代谢、蛋白质和酶的合成，促进鳖的生长。中草药添加剂对许多细菌、某些致病性真菌及少数病毒都有不同程度的抑制和杀灭作用。如黄芪等中草药能提高机体免疫力，从而提高对细菌、病毒的抵抗力，有助于机体的健康和发育。

以上几种鳖用安全饲料添加剂具有增强鳖体抗病力，促进鳖类生长，改善肉质及降低饲料成本，提高饲料效率，且无残留、无耐药性等多种功能，能使生产出的鳖类无污染、营养价值高且具有良好风味，因而将会得到日益广泛的应用。

钙蛋白酶系统改善肉嫩度的机理及其应用

肉的嫩度是肉品质的一个重要指标。导致肉质嫩度不同的主要因素有肌节的长度、结缔组织的含量及肌肉结构蛋白的水解敏感性(Lia 等, 2001)。目前主要集中在宰后肌肉嫩度与肌肉蛋白质的降解量相关研究上。研究发现, 在肌肉组织中钙蛋白酶系统控制着肌纤维蛋白的降解, 是肌肉蛋白质降解的限速步骤(Hokins, 2001), 因此钙蛋白酶系统在肉的嫩化中起着重要作用。

1 钙蛋白酶系统的结构及功能

1.1 钙蛋白酶结构根据钙蛋白酶(Calpain)表现半最高活性所需的 Ca^{2+} 浓度的不同, 可以将普遍存在的 Calpain 分为两种, 一种为 μ -Calpain(又称 Calpain) 激活所需 Ca^{2+} 浓度为微摩尔级, 另一种为 m -Calpain(又称 Calpain) 激活所需 Ca^{2+} 浓度为毫摩尔级。它们都由 2 个亚基组成, 其中 30 kDa 小亚基在 2 种 Calpain 中是相同的, 是单个基因的产物, 而 80 kDa 大亚基则是不同基因的产物。两种 Calpain 都具有水解肌原纤维蛋白的活性。

比较不同来源的 Calpain cDNA 发现, 它们具有高度的同源性, 尽管 μ -Calpain 和 m -Calpain 大亚基氨基酸序列有明显差异, 但其结构是基本相同的, 都由 4 个结构域组成, 结构域 和结构域的功能还不太清楚, 有可能与蛋白酶调控亚基或其他调控蛋白如抑制蛋白、激活蛋白的相互作用有关。而且位于氨基端的结构域, 在蛋白酶激活的情况下, 很容易发生自溶, 由此推测其

可能起钙蛋白酶的活性调节作用；结构域 是表现水解活性的关键部位，与半胱氨酸蛋白酶如木瓜蛋白酶、组织蛋白酶有相似性；结构域 是钙结合的部位，与其他钙结合蛋白如钙调素蛋白 (CaM)、肌钙蛋白 (Troponin C) 都有明显的相似性，都含有钙结合蛋白所特有的 4 个 EF-手结构。

小亚基含有两个结构域，两结构域之间由一段富含脯氨酸的序列连接，结构域和大亚基结构域类似，也有 4 个 EF-手结构，故也具有结合钙的活性。除了上述两种普遍存在的 Calpain 外，还发现了组织特异性表达的 Calpain，称为 p 94 或 nCL - 1，其结构与前两种相似，只是比它们多了 3 个插入序列，与结构域的同源性比较差。

1.2 钙蛋白酶抑制蛋白的结构 钙蛋白酶抑制蛋白 (Calpastatin) 是胞内专一抑制 Calpain 活性的蛋白质，可以识别 Calpain 与钙结合引起的构象变化并为之特异性结合。Calpastatin 共有 5 个结构域，其中 4 个是 Calpastatin 的活性中心所在，具有相似的重复单位，重复区域具有相当保守的 30 个氨基酸序列，都包含有 Thr - Ile - Pro - Pro - X - Tyr - Arg，因此它可能是 Calpastatin 起作用的关键部位。X 代表不同的氨基酸，对 Calpastatin 的活性具有重要的作用。

1.3 钙蛋白酶系统结构与活性关系 当 Calpain 的大小亚基相结合时，不具有活性。Yoshizawa 等 (1995) 发现，Calpain 经 Ca^{2+} 激活后，其大小亚基分离，因此认为小亚基有可能主要起调节的作用，大亚基起催化调节作用。分离后 30 kDa 小亚基迅速降解为 17 kDa，而这一变化是 Calpain 发挥水解特性的前提 (Dorothy 等, 1992)。80 kDa 的 Calpain 一般不具有活性，当

其先转化成 78 kDa 再变成 76 kDa 的自溶形式时方具有活性，且迅速降解而失去酶活性 (Geert, 1999)。由于 Calpain 在自溶后才表现活性，因此可将 Calpain 看成是一个酶原，而 Calpain 活性下降则是其发挥水解作用的标志。

Calpastatin 的分子量大小的报道不一致，但其在宰后肌肉中也会发生降解，且降解后的 Calpastatin 同样具有抑制 Calpain 的活性。E.F.Deigado 等 (2001) 研究表明，刚宰后的肌肉中 Calpastatin 多以 125 kDa 的形式存在，而 3 d 后以分子量约为 65kDa 的多肽形式存在，还具有明显抑制 Calpain 的活性，但抑制能力有所下降。

2 钙蛋白酶系统对肌原纤维的作用

从目前研究看，Calpain 的作用可能是调节细胞内蛋白质的降解，而非整个降解过程的直接参与者。体外试验表明，Calpain 降解肌原纤维骨架蛋白，如结合蛋白 (Desmin) 丝蛋白 (Filamentin) C-蛋白、原肌球蛋白 (Tropomyosin) 肌原蛋白 T (Troponin-T)、连接蛋白 (Titin) Nebulin、Vinculin 等，但不降解肌动蛋白 (Actin) 肌球蛋白 (Myosin) 及辅肌动蛋白 (Actinin)。因此推测，Calpain 可能通过对肌原纤维蛋白进行特异的局部降解而对其结构和功能进行调控 (JingHuang, 1998)。据推测 Calpain 导致肌肉降解可分为两步：首先攻击肌原纤维的肌节 (两个相邻 Z 盘之间的一段肌原纤维) 部位，释放肌丝使降解为小片段，然后被溶酶体所捕获而进一步降解。

Calpain 主要集中于 Z 盘，因此认为降解从此处开始。但近期研究发现，Calpain 首先水解的是 N2 线，

据报道 N 2 线是 Titin 和 Nebulin 丝蛋白所在区域，它们分别连接粗肌丝和细肌丝，最终通过 I 带伸向 Z 盘。在降解 N2 线的同时，也会降解一些骨架蛋白如 Desmin，使肌纤维释放肌丝。细肌丝的肌球蛋白和原肌球蛋白及粗肌丝的 C-蛋白降解，分别解离出肌球蛋白和肌动蛋白。释放出的粗肌丝和细肌丝可与母体或其他肌原纤维重新装配，也可被胞质蛋白酶或溶酶体降解。Calpain 参与骨架蛋白的降解，是蛋白质水解过程中的限速步骤。

3 钙蛋白酶的活性调节

Calpain 的活性调节在体内和体外有所区别，在体内的活性调节了解不多，活性调节研究主要集中于体外试验中。

3.1 钙蛋白酶的激活调节 Calpain 是钙依赖蛋白，只有在 Ca^{2+} 存在的情况下方有活性，在体现水解活性时大致发生以下 4 个过程的变化：1) Calpain 大小亚基的分离；2) 小亚基的自溶；3) 大亚基自溶；4) Calpain 构象发生变化而表现蛋白水解酶活性。Calpain 受激活后最终呈自溶状态而表现活性，因此通常把 Calpain 是否发生自溶看做是 Calpain 是否已被激活的标志。Calpain 受 Ca^{2+} 浓度调控，高 Ca^{2+} 浓度能加速 Calpain 的活化。

除了 Ca^{2+} 浓度，Calpain 的活性还受离子强度、pH、底物等因素的影响。m - Calpain 和 μ - Calpain 的水解活性随着离子强度增加而降低，但趋势并不明显，这可能是由于酶的聚合或 Ca^{2+} - Calpain 复合物稳定性降低；随着 pH 值的增加， μ - Calpain 水解活性增加；底物存在时，Calpain 的活性下降慢，且不同底物 Calpain 表现的活性也不同 (Mohammad Koohmarate, 1992)。

其机理还不清楚，可能与 Calpain 自溶状态的稳定性有关 (Geerr 等, 1999)。

3.2 Calpain 的抑制调节 Calpain 抑制剂有内源性和外源性两种，其中外源性抑制剂又可分为过渡类似物和不可逆抑制剂等。

3.2.1 不可逆抑制剂及作用原理 这些抑制剂可以以共价键的方式与酶的某些基团牢固结合，而使酶失去活性。Calpain 是 1 种含巯基的酶，因此碘乙酸、碘乙酰胺、E - 64 等对 Calpain 可发生不可逆抑制作用。

3.2.2 过渡类似物抑制剂及原理 μ - Calpain 和 m - Calpain 作用于底物的特异性切割位点大部分是一致的，大量试验表明 Calpain 切割位点 P_1 最佳为精氨酸、组氨酸、酪氨酸或甲硫氨酸残基， P_2 最佳为亮氨酸或缬氨酸残基，且 P_2 被认为是决定位点。但切割位点是由多个因素决定的，如切割位点两端的氨基酸残基、离切割位点附近的氨基酸残基和底物的其他结构特征等。李昭昭 (1995) 改变二肽 P_1 位氨基酸残基、末端氨基保护基、酯基，发现这些改变都会引起抑制能力变化，证实了前者的说法。根据这些特性，研究者人为地合成一些多肽以抑制 Calpain 的活性，如 Leupeptin (丙酸基/乙酸基 - L - Leu - L - leu - L - arg)、三肽氯甲基酮 (Leu - Leu - Phe/Lys/Tyr - CMK)、二肽、三肽 一酮酸酯 (P $h_2CHCO - Leu - Abu - COOEt$, $2 - NapCO - Leu - Leu - Abu - COOEt$)。这些多肽对 Calpain 的抑制能力都大于典型的氯甲基酮抑制剂如 Tosyl - Phe - CH_2Cl 。这可能是因为在 P_2 位点都含有亮氨酸，这说明 P_2 位氨基酸残基是 Calpain 重要的识别位点。

3.2.3 Calpastatin 的调节 Calpastatin 是高效

的，十分专一的 Calpain 活性抑制蛋白。当 Calpain 被 Ca^{2+} 激活后，如果附近有 Calpastatin 存在，将迅速与之结合而抑制 Calpain 活性，从而保证 Calpain 对底物只进行局部的特定定位点的水解。这可能是源于 Calpastatin 对 μ -Calpain 的自溶稳定性的影响。80 kDa 亚基的 μ -Calpain 首先转化为 78 - kDa，然后转化为 76 - kDa 的自溶产物，再进一步自溶而失活。Calpastatin 能抑制 μ -Calpain 一系列的变化，且呈剂量依赖性关系。而自溶作用是钙蛋白酶表现活性的重要步骤，由此可见 Calpastatin 是通过抑制 Calpain 的自溶作用而发挥作用的，且这种抑制作用并不受 pH 的影响 (Roman 等, 1999)。

4 钙蛋白酶系统与嫩度的关系

宰后肉的嫩化现象是非常普遍的，Calpain 表达减少以及 Calpastatin 表达量的增加都会导致肌肉蛋白水解率及宰后肉嫩度的下降，这表明 Calpain 水解作用是导致肉嫩化的主要因素。 μ -Calpain 和 m -Calpain 都能水解肌原纤维，但在宰后成熟的过程中 m -Calpain 的活性几乎不变，而 μ -Calpain 的活性则显著下降。钙蛋白酶活性下降，则是其发挥水解作用的体现，因此人们普遍接受 μ -Calpain 而不是 m -Calpain 参与了肉的嫩化，这可能是因为在活体细胞内的 Ca^{2+} 浓度太低 ($100 \mu\text{mol}$) 不足以激活 m -Calpain (Whipple 和 Koohmarie, 1991)。同时 Calpastatin 也参与了肌肉嫩化过程，其活性也随时间的增加而降低。

钙蛋白酶系统调节肌肉嫩化具体机制还不是很清楚。Delgado 等 (2001) 研究发现，肉的嫩化与 Calpastatin 活性及降解速度有关，而与 μ -Calpain、 m -Ca