

预混料中木聚糖酶和植酸酶酶活的测定新方法

范志恒 王允超 田海建

摘要: 本试验选用六和预混料样品, 添加定量的 KDN 自产全细胞酶或植酸酶, 利用 DNS 法对比不同方法测得的酶活。结果表明: 在稀释酶缓冲液中添加 6% 的 DETA·2Na, 可以明显提高预混料中木聚糖酶或植酸酶的酶活测定值; 采用一次性稀释到位酶样品比分级稀释测得的木聚糖酶或植酸酶的酶活值明显提高。

关键词: 预混料; 木聚糖酶; 植酸酶; 酶活

饲用酶制剂既能提高饲料的消化率和利用率, 提高畜禽生产性能, 又能减少畜禽排泄物中的氮、磷排泄量, 使自然环境中的水体和土壤免受污染, 因而饲用酶制剂作为一类高效、无毒副作用、环保型的“绿色”饲料添加剂, 在 21 世纪有着十分广泛的应用前景。但是, 酶制剂在饲料、预混料中的酶活测定方法还不成熟, 有些酶由于添加剂量小及饲料中各种干扰因子如重金属离子等影响, 实验室测定非常困难, 酶活测定结果变异较大。本试验在预混料中添加以木聚糖酶为主的全细胞复合酶或植酸酶, 通过不同方法分别测定预混料中的木聚糖酶酶活和植酸酶酶活, 目的是探讨预混料中酶活测定的优化条件, 从而为预混料中酶活的检测提供新思路, 为建立一种相对统一的检测方法提供参考。

1 材料与方

1.1 供试酶制剂

木聚糖酶: 由康地恩集团以黑曲霉固体发酵生产, 以木聚糖酶为主的全细胞复合酶;

植酸酶: 由康地恩集团生产的颗粒植酸酶制剂 5 000u/g。

1.2 预混料

由山东六和青岛和美饲料有限公司提供。分别为青岛和美 LC633P 蛋鸡 5%、LC15 蛋鸡 5%、BC15 肉小鸡 5%、BC35 肉大鸡 5%、SB345 猪 4%、SB44P 猪 4%、LH660 猪 4%、EV24 鸡 4%、BV15 肉鸡 0.4%、DV14 鸭 0.4%、BV24 肉鸡 0.4%。

1.3 酶活定义

木聚糖酶: 根据山东六和农牧科技园企业标准 Q/SLH002-2006, 酶样品于 40℃, pH 5.0 条件下, 1min 水解木聚糖生成相当于 1 μg 木糖还原物质, 即为 1 个酶活力单位。

植酸酶: 根据 GB/T 6682-1992, 样品在植酸钠浓度为 5.0mmol/L、温度 37℃、pH 值 5.5 的条件下, 1min 从植酸钠中释放 1 μmol 无机磷, 即为一个植酸酶活性单位。

1.4 试验设计

1.4.1 试验分两部分, 一部分选择预混料添加 KDN 全细胞酶, 采用不同优化办法进行木聚糖酶酶活比较; 另一部分选择预混料添加植酸酶, 采用不同优化办法进行植酸酶酶活比较。试验设常规对照, 即直接测定酶制剂样品的木聚糖酶酶活或植酸酶酶活, 作为 100% 绝对酶活与在预混料中测定酶活进行比较。

简要试验方案如下:

常规 (对照组): 1g 酶 溶解定容至 100mL (稀释缓冲液) 容量瓶.....

试验组: 0.1g 酶+5g 预混料混匀 (LC633P、LC15、BC15、BC35) 溶解定容.....

试验组: 0.1g 酶+4g 预混料混匀 (SB34、SB44P、LH600、EV24) 溶解定容.....

试验组: 0.1g 酶+0.4g 预混料混匀 (BV14、DV 鸭、BV 肉鸡) 溶解定容.....

范志恒: 青岛康地恩生物科技有限公司, 高级工程师。
王允超、田海建: 单位同第一作者。

2 结果与分析

2.1 各种预混料中添加 KDN 全细胞酶后木聚糖酶活测定结果

表 1 各种预混料中添加 KDN 全细胞酶后测定木聚糖酶活

样品	木聚糖酶活 u/g	%
KDN 全细胞酶+LC633P 蛋鸡 5%	610493	79.4
KDN 全细胞酶+LC15 蛋鸡 5%	655561	85.3
KDN 全细胞酶+BC15 肉小鸡 5%	672568	87.5
KDN 全细胞酶+BC35 肉大鸡 5%	664914	86.5
KDN 全细胞酶+SB34 猪 4%	689574	89.7
KDN 全细胞酶+SB44P 猪 4%	738894	96.1
KDN 全细胞酶+LH600 猪 4%	728690	94.8
KDN 全细胞酶+EV24 鸡 4%	766105	99.7
KDN 全细胞酶+BV14 肉鸡 0.4%	737193	95.9
KDN 全细胞酶+DV 鸭 0.4%	666615	86.7
KDN 全细胞酶+BV 肉鸡 0.4%	682772	88.8
KDN 全细胞酶	768656	100

由表 1 测定酶活结果可知,大多数预混料中木聚糖酶活实际测定值都集中在 655 561 ~ 766 105u/g 之间,实际测定酶活结果表明仍有 0.3% ~15%的酶活没有测定出来。

2.2 LC633P 蛋鸡 5%预混料中添加 KDN 全细胞酶稀释缓冲液中是否添加 EDTA·2Na 对木聚糖酶活的测定比较

表 2 LC633P 蛋鸡 5%预混料中添加 KDN 全细胞酶木聚糖酶活测定结果

样品	酶活 u/g	%	是否添加 EDTA·2Na
KDN 全细胞酶+LC633P 蛋鸡 5%	570283	85.12	是
KDN 全细胞酶+LC633P 蛋鸡 5%	557783	83.84	否
KDN 全细胞酶	665283	100	否

由表 2 可知,预混料 LC633P 蛋鸡 5%添加 KDN 全细胞酶,在测定过程中添加 6%的 EDTA·2Na,使测定的木聚糖酶活提高 12 500u/g,即提高了 1.3%。

2.3 LC633P 蛋鸡 5%预混料中添加全细胞酶是否一次性稀释到位测定木聚糖酶活比较

由表 3 可知,预混料 LC633P 蛋鸡 5%添加 KDN 全细胞酶,在测定过程中一次性稀释到位测定,使得测定的木聚糖酶活提高 48 333u/g,即提高 7.27%。

表 3 LC633P 蛋鸡 5%预混料中添加 KDN 全细胞酶木聚糖酶活测定结果

样品	酶活 u/g	%	是否一次性稀释
KDN 全细胞酶+LC633P 蛋鸡 5%	606116	91.11	是
KDN 全细胞酶+LC633P 蛋鸡 5%	557783	83.84	否
KDN 全细胞酶	665283	100	否

2.4 各种预混料中添加植酸酶后植酸酶活测定结果

表 4 各种预混料中添加植酸酶后测定植酸酶活

样品	植酸酶活 u/g	%
植酸酶+LC633P 蛋鸡 5%	3933	65.17
植酸酶+LC15 蛋鸡 5%	5387	89.26
植酸酶+BC15 肉小鸡 5%	5499	91.11
植酸酶+BC35 肉大鸡 5%	5813	96.3
植酸酶+SB34 猪 4%	4681	77.56
植酸酶+SB44P 猪 4%	5580	92.46
植酸酶+LH600 猪 4%	5820	96.43
植酸酶+EV24 鸡 4%	5911	97.94
植酸酶+BV14 肉鸡 0.4%	5646	93.55
植酸酶+DV 鸭 0.4%	5715	94.7
植酸酶+BV 肉鸡 0.4%	5583	92.51
植酸酶 5000u/g	6035	100

由表 4 测定酶活结果可知,大多数预混料中植酸酶活实际测定值都集中在 4 681 ~5 911u/g,实际测定酶活表明仍有 2.06% ~22.44%的酶活没有测定出来。

2.5 在 LC633P 蛋鸡 5%预混料中添加植酸酶稀释缓冲液中是否添加 EDTA·2Na 对植酸酶活的测定比较

表 5 LC633P 蛋鸡 5%预混料中添加植酸酶后植酸酶活测定结果

样品	酶活 u/g	%	是否添加 EDTA·2Na
植酸酶+LC633P 蛋鸡 5%	5162	93.06	是
植酸酶+LC633P 蛋鸡 5%	4261	76.8	否
植酸酶 5000u/g	5548	100	否

由表 5 可知,预混料 LC633P 蛋鸡 5%添加植酸酶,在测定过程中添加 6%EDTA·2Na,可使测定的植酸酶活提高 901u/g,即提高 16.26%。

2.6 在 LC633P 蛋鸡 5%预混料中添加的植酸酶是否一次性稀释测定植酸酶活比较

Determination and Analysis

表6 LC633P 蛋鸡 5%预混料中
添加植酸酶后植酸酶酶活测定结果

样品	酶活 u/g	%	是否一次性稀释
植酸酶+LC633P 蛋鸡 5%	5 366	96.71	是
植酸酶+LC633P 蛋鸡 5%	4 261	76.8	否
植酸酶 5000u/g	5 548	100	否

由表6可知,预混料 LC633P 蛋鸡 5%添加植酸酶,在测定过程中一次性稀释到位测定,使得测定的植酸酶酶活提高 1 105u/g,即提高 19.91%。

3 小结与讨论

试验结果表明,测定过程中缓冲液添加 6%的 EDTA·2Na、一次性稀释到位直接测定可以明显提高预混料中木聚糖酶或植酸酶酶活的测定值,可以更客观地反映预混料中添加的酶制剂的酶活含量。选用 LC633P 蛋鸡 5%预混料作为试验材料,是由于该预混料测得的木聚糖酶酶活、植酸酶酶活最低,选择此预混料进行酶活测定方法的优化,更能说明添加 6% EDTA·2Na 或一次性稀释到位可以明显提高在预混料中的酶活实测值这个现象。添加 6% EDTA·2Na 使预混料中酶活实测值得到提高,原因是预混料中的一些重金属离子与 EDTA 生成螯合物,减少了对酶蛋白的毒性影响;一次性稀释到位法避开了分步稀释法中的第一步稀释中重金属离子浓度太高对酶的毒性作用,可以提高预混料中酶活的测定值,而且添加酶进入饲料进入消化道也是一种一次性稀释状态,因此一次性稀释到位测定酶活更加真实地反映了酶在动物消化道内的实际情况,对生产更具有实际意义。

此外,以上试验也表明,酶制剂添加到预混料中测定酶活值变化较大,并不能说明酶制剂在预混料中失活,而是测定方法需要不断地改进和完善。本试验为预混料中酶活检测方法的建立提供了一种新的思路,完善了酶活测定方法。添加 6% EDTA·2Na 或一次性稀释到位测定预混料中的酶活,是否也可以应用到其他酶的酶活测定方法当中,有待于进一步试验和研究。

(参考文献略)



美康素 ME-10 [原料装]

国内微生态高端产品
瑞士高端微生态生产技术指导
同档次性价比领先产品
所有饲料厂上门服务指导使用



【成分】: 乳酸菌原料装200亿/g; 地衣芽孢原料500亿/g; 枯草芽孢原料500亿/g。

【原料组成】: 地衣芽孢菌/枯草芽孢杆菌/瑞士产乳酸菌

【活菌总数分析保证值】: 乳酸菌 2×10^{10} /g以上
芽孢菌 5×10^{10} /g以上

【使用说明】: 颗粒或者全价粉料 100-200g/t

【使用对象】: 鱼、虾、鳖、蟹、蛙、螺、蚌等水产动物和猪, 蛋鸡, 肉鸡, 牛羊, 貂狐等

【主要用途】:

- 1、芽孢菌特有的预防和帮助恢复水产动物轻微拉稀、食欲不振、精神状态不佳、体型消瘦等亚健康状态;长期使用本产品可以提高动物的自身免疫力,修复因长期使用抗生素或拉稀、食物变质等不利因素造成的肠道黏膜脱落。
- 2、可以改善动物粪便造成的水质恶化。
- 3、特别芽孢菌株可以提高饲料转化效率10%以上。

【包装规格】: 25kg/袋

【保质条件】: 2-8℃保存2年, 放于干燥阴凉处保质1年

青岛安普动物营养品制造有限公司

地址: 青岛胶南临港工业园泊里分园
服务电话: 0532-85836160
生产电话: 0532-84185398
网址: www.qdanpu.com
联系人: 邵峰
电话: 13589279569
邮件: biganpu@163.com