

添加重組胰輔脂肪改善畜試黑豬離乳仔豬之 生長性狀與脂肪利用率⁽¹⁾

劉芳爵⁽²⁾⁽⁴⁾ 陳全木⁽³⁾

收件日期：96年4月24日；接受日期：96年7月5日

摘要

本試驗目的係評估運用酵母細胞轉形株分泌之重組胰輔脂肪酶，添加於飼糧中，對畜試黑豬離乳仔豬生長性能與脂肪利用率之效果。試驗使用 48 頭32-35日齡之畜試黑豬離乳仔豬，依體重與性別逢機分配於對照組（空白組）和試驗組（添加5000 U/kg重組胰輔脂肪酶）中，每處理組有 6 重複。試驗結果顯示，飼糧添加5000 U/kg 重組胰輔脂肪酶具有提升離乳至離乳後第 7 天期間之飼料利用效率。在離乳後第 8 天至第 14 天與全期離乳仔豬之日增重、飼料攝食量與飼料利用效率方面，均以添加組顯著地優於未添加組 ($P<0.05$)。在離乳後第 7 天添加組豬隻血液之三酸甘油脂含量，沒有顯著高於對照組，但是於離乳第 14 天時，添加組顯著地高於對照組 ($P<0.05$)。由上述結果顯示，畜試黑豬仔豬離乳後最初 2 週之飼糧中添加 5000 U/kg重組胰輔脂肪酶，具有提升仔豬生長性能與脂肪利用率之效果。

關鍵詞：重組胰輔脂肪酶、三酸甘油脂、仔豬。

緒言

仔豬胰輔脂肪酶的活性於離乳後迅速下降，此影響胰脂肪酶水解脂肪之能力 (Lindemann *et al.*, 1986)。因為飼糧中大部分脂肪需先經脂肪酶的水解作用才能被吸收，在脂肪水解過程中需蛋白質輔助因子稱為胰輔脂肪酶 (colipase) 的輔助，將胰脂肪酶穩定於脂肪小滴 (droplet) 表面進行水解作用。胰脂肪酶和胰輔脂肪酶的結合比率，以晶體構形而言為 1:1 (Momsen *et al.*, 1995)，在試管試驗，分析脂肪酶具有最大活性表現時，兩者之結合比率為 1:2 (Borgstrom, 1975)；至於在腸腔中兩者最適比率則需再予確定。胰輔脂肪酶種類有兩型，分別為胰輔脂肪酶 I 和胰輔脂肪

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第1371號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所營養組。

(3) 國立中興大學生命科學系。

(4) 通訊作者，E-mail : fcliu@mail.tlri.gov.tw

酶II，前者佔有比率為85%，它含有95個胺基酸，其中1至93的胺基酸序列與脫輔基胰輔脂肪酶(procolipase)相同。後者約佔15%，其含93個胺基酸，其中1至91的胺基酸序列與脫輔基胰輔脂肪酶相同，但兩者活性相似，故一般以兩者之總和，作為胰輔脂肪酶活性之表示(Rugani *et al.*, 1995)。本試驗目的為評估添加重組胰輔脂肪酶於畜試黑豬離乳仔豬之飼糧中，對改善仔豬生長性能和脂肪利用率之效果。

材料與方法

I. 實施方法及步驟

試驗採用6窩32-35離乳日齡之48頭(24公24母)畜試黑豬仔豬，依體重性別逢機分配於保育舍試驗欄中，每欄4頭仔豬，每處理組6重複，分別餵飼：對照組(空白組)及試驗組(空白組額外加入5000 U/kg重組胰輔脂肪酶蛋白質；相當於每公斤飼料中添加0.95 mg之重組胰輔脂肪酶蛋白質)二種飼糧。由酵母菌轉形株分泌之重組胰輔脂肪酶，經離心取上清液供測定生物活性，測得每300 μ l上清液中含200 U之重組胰輔脂肪酶，接續添加賦形物於此上清液中，進行冷凍乾燥後供動物試驗。依據劉等(2003; 2004)報告指出，仔豬於離乳後最初7天，胰輔脂肪酶活性比離乳前下降約40%(離乳後第七天vs離乳日：7105 \pm 790 vs 11832 \pm 2328 U)，此結果與Jensen *et al.*(1997)研究結果相似。因此，設定試驗組之重組胰輔脂肪酶飼糧添加量為5000 U/kg。飼糧之各種營養組成均參考台灣地區飼養標準一豬(1990)，仔豬體重10 μ 20kg階段之推薦量(表1)。試驗期間採群養和任食方式餵飼，並提供充分清潔之飲水。

II. 測定項目

試驗仔豬，分別於第1、7及14天採集血液樣品，供分析血漿中三酸甘油脂含量，紀錄各階段仔豬之飼料採食及體重資料，供測定日增重、飼料攝食量及飼料利用效率(增重/飼料)。另外在脂肪利用率方面，則以血漿三酸甘油脂含量高低表示。進行血液樣品採樣時，以EDTA作為抗凝血物質，並使用體外分析套組(*in vitro* diagnostic kit；Pointe Scientific, Inc, Michigan, U.S.A.)，測定血液中三酸甘油脂之濃度。

III. 分析方法

胰輔脂肪酶之活性測定，依Borgstrom(1975)和Gargouri *et al.*(1986)方法測定，以三酪脂(tributyrin)為受質，利用0.05N NaOH進行滴定。1個單位胰輔脂肪酶比活性，定義為在溫度25°C下水解三酪脂每分鐘產生1 μ mole游離丁酸之活性。重組胰輔脂肪酶之純度分析方面，利用HisTrap FF管柱(GE Healthcare Bio-Science AB, Sweden)純化重組胰輔脂肪酶，並以波長為595 nm之分光計測量其蛋白質濃度(Bio-Rad, catalog number 500-0006)，測得每公升發酵液中含有重組胰輔脂肪酶濃度為126.8 mg。

IV. 統計分析

試驗資料以一般線性模式(General Linear Model)進行變方分析(SAS, 1996)，以最小均方平均值(Least Square Means)比較各處理間之差異性，P值小於0.05和0.01時，分別表示差異顯著及極顯著。

表 1. 基礎飼糧之組成成分

Table 1. The composition of basal diet

Ingredients	%
Corn, yellow	67.75
Soybean meal, 44%	19.0
Dried skim milk, 35%	2.0
Whey, dried	2.0
Fish meal, 61.2%	5.0
Dicalcium phosphate	1.6
Limestone , pulverized	0.80
Salt, iodized	0.5
Vitamin premix ^a	0.10
Mineral premix ^b	0.15
Soybean oil	1.00
Choline-chloride, 50%	0.1
Total	100
Calculated values	
Crude protein , %	18.49
Digestible energy , kcal/kg	3550
Lysine , %	1.19
Calcium , %	0.88
Phosphorus , %	0.69
Analyzed value	
Dry matter ,%	87.77
Crude protein , %	18.52
Crude fat , %	3.58

^a Vitamin premix provided the following vitamins per kg of diet: vitamin A, 8000 IU; vitamin D₃, 800 IU; vitamin E, 30 IU; vitamin K₃, 1.0 mg; thiamin, 2.0 mg; riboflavin, 5.0 mg; vitamin B₁₂, 25 µg; Ca-pantothenate, 12 mg; niacin, 18 mg; folic acid, 0.4 mg; biotin, 0.06 mg and choline, 120 mg.

^b Mineral permix provided the following minerals per kg of diet: Cu, 10 mg; Fe, 100 mg; Zn, 100 mg; Mn, 10 mg; Iodine, 0.14 mg and Se, 0.1 mg.

結果與討論

I. 生長性能

試驗利用畜試黑豬離乳仔豬，飼餵飼糧添加重組胰輔脂肪酶對離乳後二週之生長性能列於表 2 和血液性狀列於表 3。離乳仔豬於離乳第 1 至 14 天期間，其胰輔脂肪酶的活性低於離乳日之水準，之後活性逐漸恢復至正常表現量，此現象影響離乳仔豬對脂肪之利用率與生長性能（劉等，2003; 2004; Lindemann *et al.*, 1986; Jensen *et al.*, 1997）。本試驗利用外源性重組胰輔脂肪酶添加於飼糧中，證實有提升離乳仔豬之生長性能與脂肪利用率。在仔豬體重表現方面，在離乳第 14 天時離乳仔豬之體重，添加組顯著高於對照組 ($P<0.05$)，但是在離乳第 7 天時則兩者沒有顯著差異，不過添加組仍比對照組在體重方面高 690 g (8.45 vs 9.14 kg)，顯示畜試黑豬仔豬於離乳後飼料添加 5000 U/kg 重組胰輔脂肪酶有增加體重之效果。

在離乳第 8 至 14 天與離乳 1 至 14 天仔豬日增重，添加組均顯著高於對照組 ($P<0.05$)。但是在離乳第 1 至 7 天，添加組與對照組則沒有顯著差異，不過添加組之日增重仍比對照組多 70 g。飼料攝食量及飼料利用效率方面，離乳第 1 至 7 天期間，添加組比對照組有顯著較佳之飼料利用效率。而在離乳第 8 至 14 天與離乳 1 至 14 天期間，則添加組均顯著 ($P<0.05$) 優於對照組之表現（表2）。由前述結果，顯示添加 5000 U/kg 之重組胰輔脂肪酶於飼糧中，具有提升離乳仔豬生長性能之效果。

表 2. 添加重組胰輔脂肪酶對離乳初期仔豬生長性能之效應

Table 2. Effect of rendered recombinant colipase on the growth performance of piglets for the first 2 wks postweaning

Items	Control group	Added 5000 U/kg recombinant colipase
Initial body weight, kg	7.42 ± 0.08*	7.63 ± 0.09
7 day postweaning, kg	8.45 ± 0.32	9.14 ± 0.25
14 day postweaning, kg	10.13 ± 0.25 ^a	12.01 ± 0.30 ^b
1-7 day postweaning		
ADG, kg/d	0.15 ± 0.04	0.22 ± 0.05
ADFI, kg/d	0.25 ± 0.03	0.30 ± 0.08
Feed/gain	1.67 ± 0.08 ^b	1.36 ± 0.09 ^a
8-14 day postweaning		
ADG, kg/d	0.24 ± 0.04 ^a	0.41 ± 0.03 ^b
ADFI, kg/d	0.35 ± 0.03 ^a	0.52 ± 0.04 ^b
Feed/gain	1.46 ± 0.08 ^b	1.27 ± 0.06 ^a
1-14 day postweaning		
ADG, kg	0.20 ± 0.02 ^a	0.32 ± 0.03 ^b
ADFI, kg	0.30 ± 0.05 ^a	0.41 ± 0.04 ^b
Feed/gain	1.50 ± 0.07 ^b	1.28 ± 0.08 ^a

* Mean ± Standard deviation.

^{a,b} Means in the same row without common superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

II. 血液性狀

離乳後第 7 天，仔豬血液中三酸甘油脂含量，在添加組與對照組間沒有顯著差異，不過添加組之血液三酸甘油脂含量約高於對照組 45%。離乳後第 14 天，仔豬血液三酸甘油脂含量則以添加組顯著 ($P<0.05$) 高於對照組 (表3)。一些相關文獻中指出，提高胰輔脂肪酶活性時，具有提升離乳仔豬脂肪利用率之作用 (Patton *et al.*, 1978; DeCaro *et al.*, 1981; Hermoso *et al.*, 1997)，與本試驗之結果相似。由試驗結果顯示，離乳仔豬飼糧中添加 5000 U/kg 重組胰輔脂肪酶，具有改善離乳初期仔豬脂肪利用率之作用。

表 3. 添加胰輔脂肪酶對離乳初期仔豬血液三酸甘油脂濃度之影響

Table 3. Effect of adding recombinant colipase on the triglyceride concentration in blood of piglets for the first 2 wks postweaning

Items	Control group	Added 5000 U/kg recombinant colipase
Triglyceride (mg/dL)		
Initiation day	41.55 ± 13.4*	39.63 ± 6.5
7 days postweaning	17.59 ± 10.4	31.98 ± 11.4
14 days postweaning	33.30 ± 4.6 ^a	68.12 ± 9.5 ^b

* Mean ± standard deviation.

^{a,b} Means in the same row without common superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

結論

因仔豬於離乳第 1 至 14 天期間，發生胰輔脂肪酶活性下降之現象，導致降低離乳仔豬對脂肪之利用率，進而影響離乳仔豬之生長性能。此試驗顯示，藉由外源性重組胰輔脂肪酶之添加，具有改善離乳仔豬對脂肪利用率之效果，進而改善離乳仔豬之生長性能。

參考文獻

- 臺灣地區養豬飼養標準編輯委員會。1990。台灣地區飼養標準—豬。台北。台灣。
- 劉芳爵、徐阿里、嚴世俊、許晉賓。2003。脂肪來源與含量對離乳仔豬生長性能和胰脂肪酶以及胰輔脂肪活性發展之效應。畜產研究36(3) : 231- 223。
- 劉芳爵、李恆夫、許晉賓、嚴世俊、徐阿里。2004。蛋白質與脂肪含量對離乳仔豬生長性能和胰脂肪酶以及胰輔脂肪酶活性發展之效應。畜產研究37(1) : 1- 13。
- Brogstrom, B. and H. Hildebrand. 1975. Lipase and co-lipase activities of human small intestinal contents after a liquid test meal. Scand. J. Gastro. 10:585 - 591.

- DeCaro, J., M. Boudouard, J. Bonicel, A. Guidoni, P. Desnuelle and M. Rovery. 1981. Porcine pancreatic lipase completion of the primary structure. *Biochim. Biophys. Acta.* 671(2):129-238.
- Gargouri, Y., G. Pieroni, J. F. Riviere, P. A. Lowe, L. Sarda and R. Verger. 1986. Kinetic assay of human gastric lipase on short- and long-chain triacylglycerol emulsions. *Gastrol.* 91:919 - 925.
- Hermoso, J., D. Pignol, S. Penel, M. Roth, C. Chapus and J. C. Fontecilla-Camps. 1997. Neutron crystallographic evidence of lipase-colipase complex activation by a micelle. *EMBO.* 16(18):5531-5536.
- Jensen, M. S., S. K. Jensen and K. Jakobsen. 1997. Development of digestive enzymes in pigs with emphasis on lipolytic activity in the stomach and pancreas. *J. Anim. Sci.* 75:437 - 445.
- Lindemann, D., S. G. Gornelius and S. M. Kandelllegy. 1986. Effect of age, weaning and diet on digestive enzyme levels in the piglet. *J. Anim. Sci.* 62:1298 - 1307.
- Lowe, M. E. 1994. Pancreatic triglyceride lipase and colipase: insights into dietary fat digestion. *Gastrol.* 107(5):1524-1536.
- Momsen, W. E., M. M. Momsen and H. L. Brockman. 1995. Lipid structural reorganization induced by the pancreatic lipase cofactor, procolipase. *Biochem.* 34(21):7271-7281.
- Patton, J. S., P. A. Albertsson, C. Erlanson and B. Borgstrom. 1978. Binding of porcine pancreatic lipase and colipase in the absence of substrate studies by two phase partition and affinity chromatography. *J. Biol. Chem.* 253(12):4195-4202.
- SAS. 1999. SAS User's Guide: Statistics, Release 6.12ed., SAS Inst., Inc., Cary, NC.

The effect of dietary addition of the recombinant colipase on growth performance and fat utilization of TLRI Black Piglets 2wks postweaning⁽¹⁾

Fang-Chueh Liu⁽²⁾⁽⁴⁾ and Chuan-Mu Chen⁽³⁾

Received : Apr. 24, 2007 ; Accepted : Jul. 5, 2007

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of adding recombinant colipase derived from yeast transformants on growth performance and fat utilization of TLRI black Pigs of 2 wks postweaning. A total of 48 postweaning TLRI black piglets averaging 32 to 35 days of age were divided into experimental group with diet added with 5,000 U/kg of recombinant colipase and control group with basal diet. The result showed that piglets of experimental group fed with diet added with 5,000 U/kg of recombinant colipase had remarkably ($P<0.05$) superior feed efficiency to control group during the first week postweaning. The growth performance including ADG, ADFI, and feed efficiency for piglets of experimental group also was better when added with 5,000 U/kg of recombinant colipase than those of control group for the period from 8th to 14th day and whole experimental period postweaning. No difference in blood triglyceride concentration for both groups on the 7 day postweaning was observed. However, they were significantly ($P < 0.05$) higher for piglets fed diet added with 5,000 U/kg of recombinant colipase on the 14 day postweaning. The result showed that diet added with 5,000 U/kg of recombinant colipase could improve the growth performance and fat utilization of TLRI black pigs of 2 wks postweaning.

Key words: Recombinant colipase, Triglyceride, Piglets.

(1) Contribution No.1371 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

(2) Nutrition Division, COA-LRI, Hsinhua,Tainan, Taiwan, R.O.C.

(3) Department of Life Science, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan, R.O.C.

(4) Corresponding author, Email: fcliu@mail.tlri.gov.tw

