

# 不同浓度的缓冲液对灌注营养绵羊瘤胃液渗透压与 pH 值的影响

赵广永 冯仰廉

(中国农业大学动物科技学院, 北京, 100094)

M. Duric N. A. Macleod E. R. Orskov

(Rowett Research Institute, Bucksburn, Aberdeen UK.)

**摘要** 瘤胃液渗透压和 pH 值是决定反刍动物灌注营养能否成功的重要因素。灌注缓冲液的浓度及缓冲液与挥发性脂肪酸 (VFA) 的比例控制着瘤胃液的渗透压与 pH 值。本试验用 4 只灌注营养的绵羊, 分 6 个缓冲液水平研究了缓冲液对瘤胃液渗透压与 pH 值的影响。结果表明, 当缓冲液储备液与挥发酸储备液重量之比为 4.39~6.58, 且缓冲液灌注水平为 84.7~127.2g/kgW<sup>0.75</sup> 时, 灌注绵羊的瘤胃液渗透压与 pH 值可处于安全范围内。

**关键词** 绵羊 灌注营养 缓冲液 渗透压 pH 值

研究反刍动物本身营养需要的困难在于难以精确定量饲料成分在瘤胃中的变化及瘤胃微生物对动物本身营养需要的影响。灌注营养技术 (intragastric nutrition technique) 为解决这一问题提供了可能性。Orskov 等 (1979) 总结 Armstrong 和 Blaxter (1957a, b)、Tao 和 Aspland (1975) 等对绵羊灌注的经验, 向绵羊消化道中灌注了所有的营养物质, 包括挥发性脂肪酸 (VFA, 下同)、酪蛋白、矿物质、微量元素和维生素。根据用绵羊的试验结果, Macleod 等 (1982) 对牛也进行了完全灌注营养, 并提出了各种灌注液的标准配方与灌注方法。灌注营养是指不喂反刍动物饲料, 根据动物的营养需要, 向动物瘤胃中灌注 VFA 和缓冲液, 向真胃中灌注蛋白质及其它营养物质, 维持动物的正常生理状态的技术。灌注营养的动物由于没有瘤胃发酵过程, 不采食任何饲料, 使复杂的瘤胃系统变为简单的模型, 为精确研究反刍动物的营养需要及瘤胃上皮对各种营养成分的吸收提供了方便。

反刍动物的瘤胃 pH 值和渗透压是瘤胃内容物的重要指标。正常饲养绵羊的瘤胃 pH 值一般在 6~7 之间, 渗透压在 260~300mOsm/kg 之间。由于绵羊采食不连续及饲料在瘤胃中发酵的程度不同, 使这两个指标有较大波动。反刍动物唾液呈弱碱性, 对瘤胃发酵产生的 VFA 有缓冲作用。另外, 瘤胃上皮对 VFA 和矿物质的吸收及向后部消化道的排空, 使这两个指标保持在正常范围内。灌注营养的绵羊由于不采食饲料, 唾液分泌很少, 据赵广永 (1995) 测定, 约为 50~170ml/h。因此, 灌注营养的动物对 pH 和渗透压的调节能力很差。为了解决这一问题, Orskov 等 (1979) 提出了保持瘤胃 pH 相对稳定的方法, 即灌注 VFA 的同时, 向瘤胃中灌注缓冲液。能否控制灌注营养动物的 pH 和渗透压在正常范围之内, 决定着灌注营养的成功与

收稿日期: 1995-12-05

否,而控制这两个指标的关键在于缓冲液的浓度及其与VFA的比例。本试验研究了不同缓冲液浓度对灌注动物渗透压与pH值的影响。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验动物

4只成年萨福克绵羊,体重为27kg,装有永久性瘤胃瘘管和真胃插管。绵羊瘤胃瘘管的内径为14mm。瘘管中有4条插管,每条长150mm,以保证灌注液可以直接灌入瘤胃液中。其中1条插管用于灌注挥发酸,2条用于灌注缓冲液,另外1条用于采取瘤胃液样品。真胃插管为聚乙烯管,内径和外径分别为4mm和7mm,长约40cm。在真胃壁内、外两侧分别有一聚乙烯垫片,垫片直径为20mm,厚度为2mm,内垫片与插管末端用胶水固定,并用螺纹旋紧。

### 1.2 灌注液的配制(Macleod等,1982)

1.2.1 10%的酪蛋白液:将酪蛋白1000g,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  54g, 多维生素混合液256g(配合方法见2.2.5)溶于8690g水中,搅拌均匀。该溶液能量浓度约为2.0239KJ/g,含氮量为0.0133g N/g。

1.2.2 缓冲液储备液:将  $\text{NaHCO}_3$  730g,  $\text{KHCO}_3$  380g,  $\text{NaCl}$  70g 溶于8820g水中。

1.2.3 矿物质溶液:将  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  150g,  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  75g 溶于9775g水中。

1.2.4 微量元素溶液:将  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  208.0g,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  12.2g,  $\text{KI}$  11.1g,  $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  5.8g,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  2.5g,  $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  2.2g,  $\text{NaF}$  7.9g 溶于10000g水中。

1.2.5 维生素混和液:将硫胺素5.0g,核黄素4.0g,尼克酸4.0g,氯化胆碱825.0g,吡哆醇2.0g,对氨基苯甲酸0.1g,泛酸钙6.3g,叶酸0.2g,维生素 $\text{B}_{12}$  0.03g,肌醇150.0g,生物素0.6g,维生素K 0.5g,维生素E 10.0g 溶于6000g水中,另加1L乙醇,2L亚油酸和2L鱼肝油,溶解搅拌均匀。

1.2.6 VFA储备液:将乙酸4853g,丙酸1840g,丁酸877g,  $\text{CaCO}_3$  180g 溶于2250g水中,乙、丙、丁酸摩尔比为65:25:10,溶液的能量浓度为11.66KJ/g。

### 1.3 营养水平与灌注水平

设绵羊能量维持需要为450KJ/kgW<sup>0.75</sup>,蛋白质维持需要为350mg N/kgW<sup>0.75</sup>。本研究采用1.2个能量维持水平和1.3个蛋白质维持水平。绵羊活重为27kg,代谢体重为11.8kg,酪蛋白储备液溶液(10%)含氮0.0133g/g,含能2.0239KJ/g, VFA储备液含能11.66KJ/g,玉米油含能39KJ/g,葡萄糖含能16KJ/g。

动物的氮由酪蛋白提供,需要酪蛋白储备液  $11.8 \times 0.35 \times 1.3 / 0.0133 = 404\text{g}$ 。来自酪蛋白溶液的能量为  $404 \times 2.0239 = 817.7\text{KJ}$ ,这部分能量已分别从玉米油和葡萄糖中各扣除一半。动物的能量由四个来源提供,其中VFA提供0.5个维持水平,其它部分由玉米油、葡萄糖和酪蛋白提供。所以需要VFA储备液  $11.8 \times 450 \times 0.5 / 11.66 = 228\text{g}$ 、玉米油  $(1859 - 409) / 39 = 37\text{g}$ 、葡萄糖  $(1859 - 409) / 16 = 91\text{g}$ 、矿物质溶液  $11.8 \times 1.4 = 16.5\text{g}$ 、微量元素溶液  $11.8 \times 1 = 11.8\text{g}$ 、多维生素加入酪蛋白溶液。用葡萄糖和玉米油代替部分VFA是为了减少VFA的用量,以便研究缓冲液对瘤胃液渗透压与pH值的影响。

将VFA储备液、缓冲液和酪蛋白储备液分别称出,VFA储备液稀释至2600g,缓冲液储

备液稀释至 5600g。稀释 VFA 与稀释缓冲液的重量之比为 1:2。酪蛋白储备液(其中还包括维生素、矿物质、葡萄糖和玉米油)稀释至 2400g。对于整个动物的灌注量为  $(2.6 + 2.8 + 2.4) / 11.8 = 0.90 \text{ kg} / \text{kgW}^{0.75}$ 。对于瘤胃的灌注量为  $(2.6 + 5.6) / 11.8 = 0.69 \text{ kg} / \text{kgW}^{0.75}$ 。每天用注射器将微量元素通过真胃插管注入真胃。

#### 1.4 动物的管理

做瘤胃瘘管和真胃插管手术后,使动物恢复两星期。恢复期间饲以大麦等优质饲料,使动物增膘。将动物移入消化代谢笼中,停喂饲料。联结各灌注管,开始灌注营养。灌注工具为多通道蠕动泵(Watson Marlow Mc / 10; Watson Marlow Ltd, Falmouth, Cornwall)。灌注前调节蠕动泵的速度,以便在 24 小时内把予定的灌注液灌入动物胃内。各种灌注物的数量从少到多逐渐增加,根据动物的适应情况达到预定的灌注量,使动物逐渐适应灌注条件。灌注营养进行 14 天后,瘤胃内饲料颗粒完全排空。然后开始试验处理。

#### 1.5 试验设计

将 4 只绵羊分为两组,每组 2 只,缓冲液储备液的用量分为 6 个水平,即 250、500、1000、1500、2000 和 2500g / 天,以调节瘤胃液渗透压。各个水平的缓冲液储备液均分别稀释至 5600g。其中一组动物的处理顺序为缓冲液的浓度由低到高依次递增。另一组的处理顺序则与此相反。每个处理持续两天,第一天使动物适应新处理,第二天进行瘤胃指标的测定。

#### 1.6 样品的采集与测定

在每个试验处理的第二天,分别在 10:00、14:00、18:00 和 22:00 用注射器采取 10ml 瘤胃液,将瘤胃液在 4000r / min 下离心,用冰点降低渗透压计(Precision System, Inc, USA)测定上清液渗透压,用酸度计测定 pH 值。

## 2 结果与讨论

瘤胃液渗透压与 pH 值的测定结果见表 1。

从表 1 可以看出,随着缓冲液灌注量的增加,瘤胃液渗透压也提高。由于缓冲液呈碱性,瘤胃液 pH 值也有所升高。分析发现,缓冲液储备液的用量(X, g / d)与瘤胃液渗透压(mOsm / kg)之间的相关关系为: $Y = 0.08X + 137.1, r^2 = 0.98, P < 0.01$ ,如图 1。

缓冲液储备液用量(X, g / d)与瘤胃 pH 值之间的相关关系为: $Y = -3.58e^{-0.008X} + 8.6, r^2 = 0.87, P < 0.05$ ,如图 2。正常条件下,瘤胃液渗透压在 260~300 mOsm / kg 之间。Warner 和 Stacy(1972)发现,对于灌注营养的动物,瘤胃液渗透压为 326mOsm / kg 时,瘤胃上皮对水的净吸收为 0,高于这一水平,血液中的水分进入瘤胃,低于这一水平,则瘤胃中的水分被吸收进入血液。所以,瘤胃液渗透压不能长时间维持在较高的水平,不然瘤胃中的水分不能被吸收,动物发生脱水。灌注的缓冲液浓度既要保证瘤胃渗透压不能太高,又要使瘤胃 pH 值在安全范围之内。根据试验结果可知,缓冲液储备液与 VFA 储备液之比为 4.39~6.58、且缓冲液储备液的用量为 84.7~127.2 g / kgW<sup>0.75</sup> 时,瘤胃液渗透压与 pH 可保持在安全范围内,但这时瘤胃液 pH 偏高。据试验观察,当 pH 值在 6~8 之间时,动物没有不良反应。所以,对于灌注营养的动物,使用这一水平的缓冲液是适当的。

表1 灌注不同浓度的缓冲液对灌注营养的绵羊瘤胃液渗透压与 pH 值的影响  
 Table 1. The effects of different concentration of buffer on rumen osmotic pressure and pH in sheep nurished by intragastric infusions

指 标 Parameter	试验处理(缓冲液储备液, g / d) Treatments(stock buffer, g / day)					
	250	500	1000	1500	2000	2500
灌注水平 Infusion dose(g / kg W <sup>0.75</sup> )	21.2	42.4	84.7	127.2	169.4	212.0
VFA 缓冲液 Stock buffer / stock VFA(g / g)*	1.10	2.19	4.39	6.58	8.77	10.96
瘤胃液渗透压 Rumen osmotic pressure (mOsm / kg)	149 ± 7	191 ± 12	216 ± 7	251 ± 4	307 ± 6	338 ± 7
瘤胃液 pH 值 pH Value in rumen fluid	6.1 ± 0.2	5.6 ± 0.4	7.3 ± 0.1	7.9 ± 0.0	8.0 ± 0.0	8.1 ± 0.1

\* 储备液

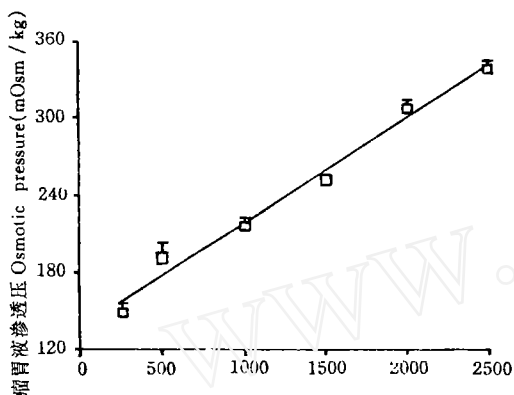


图1 缓冲液储备液对灌注营养绵羊的瘤胃渗透压的影响

Fig. 1 Effect of stock buffer on rumen osmotic pressure in sheep nurished by intragastric infusions

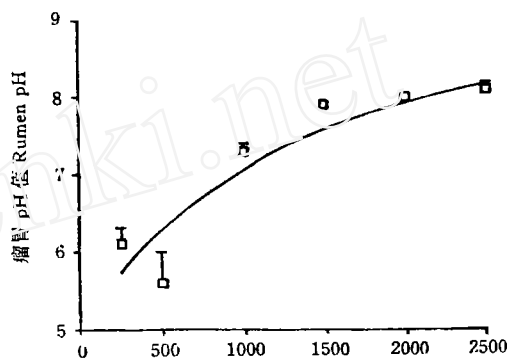


图2 缓冲液储备液对灌注营养绵羊的瘤胃 pH 值的影响

Fig. 2 Effect of stock buffer on rumen pH in sheep nurished by intragastric infusions

对于正常饲养的动物,瘤胃 pH 值在短时间内降至 5.5 是可能的,动物不会出现酸中毒,灌注营养动物的瘤胃 pH 值降至这一水平则很危险。所以要特别注意观察瘤胃 pH 值的变化。本试验最后一期,将缓冲液用量减少至 250g / d 时,其中一只绵羊瘤胃 pH 值降至 5.5,动物萎靡不振,口角流稀唾液,发生酸中毒,没有完成预定的处理。为了使动物处于正常生理状态,应当使瘤胃 pH 值保持在 6.0 以上。发现瘤胃 pH 值较低时,要立即停止 VFA 的灌注,取少量缓冲液储备液用温水稀释,缓缓注入瘤胃以中和瘤胃液中的多余 VFA,并随时检查瘤胃液 pH 值,直至稳定为止。为了使 pH 值处于正常范围内,除了灌注适量缓冲液外,还要不断检查蠕动泵,防止蠕动泵骤停或橡皮管断裂,特别要注意使灌注缓冲液的管子保持正常,不然,动物会由于缓冲液灌注停止而导致瘤胃液 pH 值下降。

在 Orskov 等(1979)和 Macleod 等(1982)的灌注营养研究中,是把矿物质溶液灌入瘤胃。本试验为了研究缓冲液浓度对瘤胃液渗透压的影响,把矿物质溶液与酪蛋白溶液混和灌入真胃。这一问题是由于矿物质溶液呈酸性,酪蛋白与矿物质混合易使酪蛋白凝固。但只要将酪蛋白溶液用搅拌器不断搅拌,同时每天用温水冲洗真胃插管,便不会造成堵塞。更好的方法可能是用两条插管,将酪蛋白和矿物质分别灌入真胃。本试验还用葡萄糖和玉米油代替了部分 VFA 作为能量来源,灌入了真胃。另外,动物的能量供给量维持在较低的水平,以减轻动物后部消化道对消化吸收葡萄糖和玉米油的负担。在整个灌注营养过程中,动物的粪尿排泄正常,说明动物可以利用葡萄糖和玉米油。

试验结束后,将试羊移入圈内,先饲以少量饲料,而后逐渐增加至正常水平,使试羊恢复到正常状态,不必接种瘤胃微生物。两星期后瘤胃液中即出现原虫。

### 参考文献

- Armstrong D G , Blaxter K L. 1957a. The heat increment of steamvolatile fatty acids in fasting sheep. *British Journal of Nutrition* , 11:247
- Armstrong D G , Blaxter K L . 1957b . The utilization of acetic , propionic and butyric acids by fattening sheep. *British Journal of Nutrition* , 11:413
- Macleod N A , Corrigan W , Stirton R A , Orskov E R . 1982 . Intragastric infusion of nutrients in cattle. *British Journal of Nutrition* , 47:547
- Orskov E R , Grubb D A , Wenham G , Corrigan W. 1979. The sustenance of growing and fattening ruminants by intragastric infusion of volatile fatty acid and protein. *British Journal of Nutrition* , 41:553
- Tao R C , Asplund J M. 1975. Effect of energy sources on plasma insulin and nitrogen metabolism in sheep totally nourished by infusions. *Journal of Animal Science* , 41:1653
- Warner A C I , Stacy B D. 1972. Water, sodium and potassium movements across the rumen wall of sheep. *Quarterly Journal of Experimental Physiology* , 57:103
- Zhao G Y , Duric M , Macleod N A . Orskov E R , Hovell F D Deb , Feng Y L. 1995. The use of intragastric nutrition to study saliva secretion and the relationship between rumen osmotic pressure and water transport. *British Journal of Nutrition* , 73:155

# THE EFFECTS OF DIFFERENT CONCENTRATION OF BUFFER ON RUMEN OSMOTIC PRESSURE AND pH IN SHEEP NOURISHED BY INTRAGASTRIC INFUSIONS

**Zhao Guangyong    Feng Yanglian**

*( College of Animal Science and Technology,  
China Agricultural University, Beijing, 100094, )*

**M.Duric    N.A.Macleod    E.R.Orskov**

*( Rowett Research Institute, Bucksburn, Aberdeen AB2 9SB, UK. )*

## ABSTRACT

The successful intragastric nutrition in ruminants is depended upon rumen osmotic pressure and pH, which are controlled by buffer concentration and the ratio of buffer to VFA. In this experiment, 4 sheep nourished by total infusions and 6 levels of buffer concentration were used to study the effects of buffer on rumen osmotic pressure and pH. Results showed that rumen osmotic pressure and pH could be controlled in safe ranges when the ratio of stock buffer to stock VFA was 4.39~6.58 and buffer level was 84.7~127.2 g / kgW<sup>0.75</sup>.

**Key words:** Sheep , Intragastric nutrition , Buffer , Osmotic pressure , pH