

郭亚茜,刘瑞雪,杜晓鹏,等. 不同灭菌方法对猪专用配方奶粉营养成分的影响 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31 (12): 1588-1597.

Guo YX, Liu RX, Du XP, et al. Effects of different sterilization methods on nutritional composition of pig-specific formula milk powder [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2023, 31(12): 1588-1597.

Doi:10. 3969/j.issn.1005-4847. 2023. 12. 009

不同灭菌方法对猪专用配方奶粉营养成分的影响

郭亚茜,刘瑞雪,杜晓鹏,朱华*

(中国医学科学院医学实验动物研究所,北京协和医学院比较医学中心,国家卫生健康委员会
人类疾病比较医学重点实验室,北京 100021)

【摘要】 目的 使用不同灭菌方式对猪专用配方奶粉进行灭菌,探讨对配方奶粉营养成分损失最小的灭菌方法及灭菌条件。**方法** 猪专用配方奶粉分为高压灭菌组和辐照灭菌组。高压灭菌组按照不同灭菌条件、辐照灭菌组按照不同⁶⁰Co-γ 射线剂量对配方奶粉进行灭菌。按国家标准对灭菌处理后的配方奶粉进行无菌状态检测和营养成分含量测定。**结果** 经不同灭菌方法处理后各组配方奶粉无菌状态检测结果均为阴性。常规营养成分在高压灭菌组 121℃ 30 min、辐照灭菌液体组 50 kGy 灭菌条件下粗蛋白含量降低有极显著性差异($P < 0.01$)、辐照灭菌粉末组 50 kGy 水分、粗蛋白和钙含量降低有极其显著性差异($P < 0.001$)。缬氨酸、异亮氨酸和亮氨酸在辐照灭菌粉末组 50 kGy 灭菌条件下含量变化无显著性差异,高压灭菌组和辐照灭菌液体组所有氨基酸含量均降低($P < 0.001$)。微量元素在高压灭菌组 121℃ 30 min 灭菌条件下铁含量增加($P < 0.001$),在辐照灭菌液体组 25 kGy 灭菌条件下铁和钾含量增加($P < 0.001$)、镁含量增加($P < 0.01$)。在辐照灭菌粉末组 50 kGy 灭菌条件下镁含量增加具有显著性差异($P < 0.05$),钠含量增加($P < 0.01$)。维生素在高压灭菌组 121℃ 30 min 灭菌条件下 VE、VB₂ 含量增加($P < 0.001$)。在辐照灭菌液体组 50 kGy 灭菌条件下 VE 含量增加($P < 0.05$),VB₂ 含量减少($P < 0.001$)。在辐照灭菌粉末组 25 kGy 灭菌条件下 VE、VA 含量减少($P < 0.001$)。**结论** 高压灭菌组 121℃ 30 min 营养成分损失最小;辐照灭菌组 50 kGy 辐照剂量营养成分损失最小。两种灭菌方法比较,50 kGy 辐照灭菌粉末组营养成分含量损失最少。

【关键词】 高压灭菌;辐照灭菌;配方奶粉

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2023) 12-1588-10

Effects of different sterilization methods on nutritional composition of pig-specific formula milk powder

GUO Yaxi, LIU Ruixue, DU Xiaopeng, ZHU Hua*

(Institute of Laboratory Animal Sciences, CAMS & Comparative Medicine Center, Peking Union Medical Collage, PUMC, NHC Key Laboratory of Human Disease Comparative Medicine, Beijing 100021, China)

Corresponding author: ZHU Hua. E-mail: zhuh@cnilas.org

【Abstract】 Objective Using different sterilization method to sterilize pig specific formula milk powder, exploring the sterilization method and conditions that minimize the loss of nutritional components in formula milk powder. **Methods** Pig-specific formula milk powder was divided into high-pressure sterilization and irradiation sterilization groups. Formula milk powder in the high-pressure group was sterilized using different sterilization conditions and that in the irradiation group was sterilized using different ⁶⁰Co γ-radiation doses. The sterility and the nutritional contents of the sterilized formula milk

【基金项目】国家重点研发计划项目(2022YFF071060001)。
Funded by the National Key Research and Development Program of China (2022YFF071060001).
【作者简介】郭亚茜(1989—),女,主管技师,本科,研究方向:无菌动物技术。Email:GYX409@163.com
【通信作者】朱华(1971—),女,主任技师,硕士,研究方向:疾病与肠道微生态。Email:zhuh@cnilas.org

powders were determined according to national standards. **Results** The sterility tests for both groups of formula milk powder were negative. Compared to control group, the crude protein contents were significantly lower in formula in the high-pressure group sterilized at 121℃ for 30 min and in the irradiation liquid group sterilized at 50 kGy ($P < 0.01$). The water, crude protein, and calcium contents were significantly lower ($P < 0.001$) in the irradiation group sterilized at 50 kGy. There was no significant difference in the valine, isoleucine, or leucine content under 50 kGy sterilization conditions in the irradiation sterilized group, but all amino acid contents were decreased in the high-pressure sterilization and irradiation sterilized liquid groups ($P < 0.001$). Analysis of trace elements showed an increased iron content ($P < 0.001$) in formula sterilized at 121℃ for 30 min in the high-pressure sterilization group, increased iron and potassium contents ($P < 0.001$) under 25 kGy sterilization conditions in the irradiation sterilization liquid group, and increased magnesium content ($P < 0.01$). The magnesium ($P < 0.05$) and sodium contents ($P < 0.01$) differed significantly in formula treated under 50 kGy sterilization conditions in the irradiation sterilized powder group. VE and VB₂ contents were increased in formula sterilized at 121℃ for 30 min in the high-pressure sterilization group ($P < 0.001$), the VE content was increased ($P < 0.05$) and the VB₂ content was decreased ($P < 0.001$) in formula sterilized under 50 kGy conditions in the irradiation sterilization liquid group, and the VE and VA contents were decreased in formula sterilized at 25 kGy in the irradiation sterilized powder group ($P < 0.001$). **Conclusions** Sterilization at 121℃ for 30 min result ed in the least loss of nutritional components in the high-pressure sterilization group, while irradiation sterilization result ed in the least loss of nutrients at a dose of 50 kGy. Comparing the two sterilization method, irradiation of milk powder at 50 kGy result ed in the least loss of nutrient content.

【Keywords】 high-pressure sterilization; irradiation sterilization; formula powder
Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

猪在生理、解剖、遗传特性、营养代谢等方面与人类近似,近年来在心血管疾病、组织/器官移植、肿瘤及糖尿病等医学研究中应用广泛^[1-2]。猪的肠道系统和杂食特性,与人高度相似,利用无菌猪制备人源化肠道菌群动物模型,重现度更高^[2-3]。将基因编辑技术、体细胞克隆技术与无菌猪净化技术结合,使无菌猪有望成为人类器官的潜在供体^[4-6]。人工哺乳净化是获得无菌猪的主要途径,在此过程中人工乳是无菌仔猪摄入营养的主要来源。人工乳的营养成分直接影响无菌猪的生长发育,是影响人工哺乳净化成功的主要因素之一。本实验使用不同灭菌条件对猪专用配方奶粉进行灭菌,在保证达到无菌标准前提下,探讨对配方奶粉营养成分损失最小的灭菌方法及灭菌条件,为生产、培育无菌猪提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 配方奶粉

仔猪专用配方奶粉(河南牧经海润农牧科技集团有限公司生产,批号:20221011)。

1.1.2 主要试剂与仪器

脑心浸液肉汤(OXOID, CM1135B), 硫乙醇酸钠(OXOID, CM0391B), 大豆蛋白胨(OXOID,

CM0129B), 三氯甲烷(Sigma, 235962), 丙酮(Sigma, 270725), 盐酸(Sigma, H1758), 甲醇(通广, TG10022)。

高压蒸汽灭菌器(TOMY-SX-700), ⁶⁰Co 源(北京鸿仪四方辐射技术有限公司), 抽真空机(鑫空 DZQ-500TE), 纯水机(TCHS-10R0/70F), 全自动氨基酸分析仪(A1-IE-2836)、高效液相色谱仪(IE-2796)、原子吸收分光光度计(A1-IE-2853)、分析天平(IE-2768), 玻璃瓶, 橡胶塞, 纱布, 打包绳, 真空袋。

1.2 方法

1.2.1 分组

将猪专用配方奶粉样品分为 15 个组(表 1), 采用高压蒸汽灭菌和⁶⁰Co 辐照灭菌两种方法,⁶⁰Co 辐照灭菌又分为液体组和粉末组。

1.2.2 处理

辐照灭菌液体组奶粉和纯净水按 1:6 稀释后分装到玻璃瓶内, 每瓶 200 mL; 辐照灭菌粉末组每袋 200 g, 按辐照要求真空包装后, 分装于 4 个 48.5 cm × 34.5 cm × 28 cm 纸箱内, 送辐照地点按不同⁶⁰Co-γ射线剂量(25、30、35、50 kGy)辐照灭菌。高压灭菌液体组奶粉和纯净水按 1:6 稀释后分装到玻璃瓶内, 每瓶 200 mL, 橡胶塞、纱布封口后分别按照 121℃ (30、40、50 min)、126℃ 10 min 和 134℃ 4 min

表 1 猪专用配方奶粉样品的分组

Table 1 Groups of pig specific formula milk

分组 Groups		灭菌条件/灭菌剂量 Sterilization conditions/dosage				
对照组(液体) Control group(liquid)		—				
高压灭菌组(液体) High-pressure group(liquid)		121℃ 30 min	121℃ 40 min	121℃ 50 min	126℃ 10 min	134℃ 4 min
辐照灭菌组(液体) Irradiation group(liquid)		25 kGy	30 kGy	35 kGy	50 kGy	—
辐照灭菌组(粉末) Irradiation group(powder)		25 kGy	30 kGy	35 kGy	50 kGy	—
对照组(粉末) Control group(powder)		—				

进行高压灭菌。液体对照组和粉末对照组不作任何处理。

所有灭菌处理后样品一式两份,一份送实验动物质量检测中心进行微生物检测,另一份加 2 个对照组样品送谱尼测试集团股份有限公司进行营养成分检测。

1.2.3 检测方法

采用全自动氨基酸分析仪检测氨基酸的含量(色谱柱:磺酸型阳离子树脂;流速:泵 1:0.40 mL/min,泵 2:0.35 mL/min;进样量:20 μL)。高效液相色谱仪检测维生素含量(色谱柱:C18 150 mm × 4.6 mm 5 μm;流速:1.0 mL/min;进样量:20 μL)。原子吸收分光光度计检测微量元素含量。常规方法检测粗蛋白、水分、粗灰分、粗脂肪、粗纤维、氯化钠、总磷、钙的含量。

1.3 统计学分析

实验结果用平均值 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,

GraphPad Prism 7.0 软件进行显著性分析,采用方差分析比较组间差异, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 微生物检测

将经不同灭菌条件灭菌的配方奶粉,按照 GB/T14926.41、43—2001,GB14922.2—2011 进行无菌状态检测。检测结果均合格,见表 2。

2.2 常规营养成分

2.2.1 高压灭菌组

与对照组相比,高压灭菌组 121℃ 30 min 粗蛋白含量降低有极显著性差异($P < 0.01$),134℃ 4 min 粗蛋白含量降低有显著性差异($P < 0.05$),其他组粗蛋白含量均降低有极其显著性差异($P < 0.001$)。126℃ 20 min 粗脂肪含量增加($P < 0.01$),其他组粗脂肪含量均增加($P < 0.001$)。121℃ 40 min 粗灰分含量降低($P < 0.05$),121℃ 50

表 2 微生物检测结果

Table 2 Results of microbiological tests

高压灭菌组(液体) High pressure sterilization group (liquid)			辐照灭菌组(液体) Irradiation sterilization group (liquid)		辐照灭菌组(粉末) Irradiation sterilization group (powder)	
灭菌温度(℃) Sterilization temperature (℃)	灭菌时间(min) Sterilization time (min)	检测结果 Test results	辐照剂量(kGy) Radiation dose (kGy)	检测结果 Test results	辐照剂量(kGy) Radiation dose (kGy)	检测结果 Test results
121	30	阴性 Negative	25	阴性 Negative	25	阴性 Negative
	40	阴性 Negative	30	阴性 Negative	30	阴性 Negative
	50	阴性 Negative	35	阴性 Negative	35	阴性 Negative
126	20	阴性 Negative	50	阴性 Negative	50	阴性 Negative
134	4	阴性 Negative	/	/	/	/

min、126℃ 20 min 粗灰分含量降低 ($P < 0.001$)。121℃ 30 min、121℃ 40 min、121℃ 50 min 粗纤维含量增加 ($P < 0.001$)，126℃ 20 min 粗纤维含量降低 ($P < 0.01$)。121℃ 30 min、121℃ 50 min 总磷含量增加 ($P < 0.001$)，121℃ 40 min 钙含量降低 ($P <$

0.01)。高压灭菌组 134℃ 4 min 和 121℃ 30 min 只有粗蛋白含量降低，134℃ 4 min 灭菌条件下有 6 种常规营养成分含量变化无显著性差异，对常规营养成分含量影响最小。其次是 121℃ 30 min 组 (见表 3)。

表 3 高压灭菌组常规营养成分含量
Table 3 Conventional nutrient content in the high pressure sterilization group

组别 Groups	水分 (%) Water content (%)	粗灰分 (%) Crude ash (%)	粗蛋白 (%) Crude protein (%)	粗脂肪 (g/kg) Crude fat (g/kg)	
对照组 (液体) Control group (liquid)	85.20 ± 0.46	4.36 ± 0.00	17.78 ± 0.10	107.3 ± 0.00	
121℃ 30 min	87.12 ± 1.04	4.30 ± 0.05	17.11 ± 0.19 **	133.33 ± 9.87 ***	
121℃ 40 min	85.40 ± 0.48	4.18 ± 0.00 *	16.78 ± 0.16 ***	134.93 ± 1.94 ***	
高压灭菌组 High pressure sterilization group	121℃ 50 min	86.65 ± 0.60	3.99 ± 0.05 ***	16.71 ± 0.11 ***	141.79 ± 1.06 ***
126℃ 20 min	86.14 ± 0.64	3.67 ± 0.00 ***	16.72 ± 0.16 ***	125.54 ± 0.51 **	
134℃ 4 min	85.69 ± 0.52	4.48 ± 0.05	17.23 ± 0.20 *	138.54 ± 3.44 ***	

组别 Groups	粗纤维 (%) Crude fibre (%)	氯化钠 (%) Nacl (%)	总磷 (%) Total phosphorus (%)	钙 (g/kg) Calcium (g/kg)	
对照组 (液体) Control group (liquid)	1.71 ± 0.05	0.80 ± 0.12	0.49 ± 0.01	6.08 ± 0.06	
121℃ 30 min	3.29 ± 0.16 ***	0.82 ± 0.00	0.59 ± 0.01 ***	5.99 ± 0.17	
121℃ 40 min	2.53 ± 0.10 ***	0.83 ± 0.14	0.46 ± 0.01	5.46 ± 0.07 **	
高压灭菌组 High pressure sterilization group	121℃ 50 min	2.61 ± 0.11 ***	0.79 ± 0.00	0.68 ± 0.01 ***	6.13 ± 0.04
126℃ 20 min	1.22 ± 0.10 **	0.75 ± 0.01	0.47 ± 0.00	5.99 ± 0.12	
134℃ 4 min	1.81 ± 0.10	0.84 ± 0.15	0.47 ± 0.01	6.10 ± 0.05	

注：与对照组相比，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ，*** $P < 0.001$ 。(下表同)
Note. Compared with control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. (The same in the following tables)

2.2.2 辐照灭菌组

与对照组相比,辐照灭菌液体组 25 kGy 和 35 kGy 组粗灰分含量降低具有极其显著性差异 ($P < 0.001$) ,30 kGy 组粗灰分含量降低具有极显著性差异 ($P < 0.01$)。30 kGy 和 35 kGy 组粗蛋白含量降低 ($P < 0.001$) ,50 kGy 组粗蛋白含量降低 ($P < 0.01$)。25 kGy、30 kGy 和 50 kGy 组粗脂肪含量增加 ($P < 0.001$)。30 kGy 组粗纤维含量降低具有显著性差异 ($P < 0.05$)、35 kGy 组粗纤维含量增加 ($P < 0.01$)、50 kGy 组粗纤维含量增加 ($P < 0.001$)。总磷在 25 kGy 组含量增加 ($P < 0.001$)、30 kGy 组含量降低 ($P < 0.01$)、35 kGy 组含量降低 ($P < 0.05$)。30 kGy 和 35 kGy 组钙

含量降低 ($P < 0.001$)、50 kGy 组钙含量增加 ($P < 0.001$)。辐照灭菌粉末组水分、粗蛋白和钙含量均降低 ($P < 0.001$)。25 kGy 和 35 kGy 组粗灰分含量增加 ($P < 0.001$) ,30 kGy 和 50 kGy 组粗灰分含量增加 ($P < 0.01$)。辐照灭菌液体组 50 kGy 灭菌条件下只有粗蛋白含量降低,对常规营养成分含量影响最小。辐照灭菌粉末组 25 kGy 灭菌条件下水分、粗蛋白和钙含量降低最少,对营养成分含量的影响最小,其次是 50 kGy 组 (见表 4)。

2.3 氨基酸

高压蒸汽灭菌和⁶⁰Co 辐照灭菌对氨基酸含量损失率的影响(见表 5,表 6)。

表 4 辐照灭菌组常规营养成分含量

Table 4 Conventional nutrient content in the irradiated group					
组别 Groups		水分 (%) Water content (%)	粗灰分 (%) Crude ash (%)	粗蛋白 (%) Crude protein (%)	粗脂肪 (g/kg) Crude fat (g/kg)
对照组 (液体) Control group (liquid)		85.20 ± 0.46	4.36 ± 0.00	17.78 ± 0.10	107.3 ± 0.00
辐照灭菌液体组 Irradiation sterilization liquid group	25 kGy	86.92 ± 0.75	3.78 ± 0.05 ***	17.54 ± 0.09	137.40 ± 3.24 ***
	30 kGy	86.63 ± 0.52	4.14 ± 0.05 **	16.94 ± 0.11 ***	141.79 ± 1.06 ***
	35 kGy	86.31 ± 0.99	3.91 ± 0.05 ***	16.76 ± 0.10 ***	114.96 ± 0.52
	50 kGy	86.98 ± 1.07	4.31 ± 0.05	17.13 ± 0.08 **	135.50 ± 0.54 ***
对照组 (粉末) Control group (powder)		4.09 ± 0.03	4.26 ± 0.01	20.32 ± 0.04	141.33 ± 2.88
辐照灭菌粉末组 Irradiation sterilization powder group	25 kGy	3.71 ± 0.01 ***	4.82 ± 0.08 ***	17.79 ± 0.01 ***	140.04 ± 0.59
	30 kGy	3.69 ± 0.05 ***	4.57 ± 0.02 **	17.36 ± 0.03 ***	141.02 ± 13.36
	35 kGy	3.68 ± 0.01 ***	4.81 ± 0.01 ***	17.10 ± 0.03 ***	146.27 ± 0.29
	50 kGy	3.70 ± 0.02 ***	4.53 ± 0.04 **	17.46 ± 0.02 ***	143.15 ± 0.29
组别 Groups		粗纤维 (%) Crude fibre (%)	氯化钠 (%) Nacl (%)	总磷 (%) Total phosphorus (%)	钙 (g/kg) Calcium (g/kg)
对照组 (液体) Control group (liquid)		1.71 ± 0.05	0.80 ± 0.12	0.49 ± 0.01	6.08 ± 0.06
辐照灭菌液体组 Irradiation sterilization liquid group	25 kGy	1.41 ± 0.06	0.81 ± 0.01	0.57 ± 0.02 ***	6.01 ± 0.20
	30 kGy	1.34 ± 0.09 *	0.80 ± 0.00	0.43 ± 0.01 **	5.13 ± 0.18 ***
	35 kGy	2.15 ± 0.05 **	0.75 ± 0.01	0.45 ± 0.01 *	4.95 ± 0.04 ***
	50 kGy	2.29 ± 0.11 ***	0.92 ± 0.16	0.50 ± 0.01	6.88 ± 0.18 ***
对照组 (粉末) Control group (powder)		1.70 ± 0.03	0.90 ± 0.00	0.48 ± 0.00	5.52 ± 0.01
辐照灭菌粉末组 Irradiation sterilization powder group	25 kGy	1.72 ± 0.07	0.87 ± 0.00	0.48 ± 0.00	4.69 ± 0.05 ***
	30 kGy	1.68 ± 0.02	0.93 ± 0.00	0.49 ± 0.00	4.33 ± 0.04 ***
	35 kGy	1.66 ± 0.03	0.90 ± 0.02	0.48 ± 0.01	4.29 ± 0.03 ***
	50 kGy	1.75 ± 0.04	0.90 ± 0.02	0.48 ± 0.00	4.68 ± 0.06 ***

2.3.1 高压灭菌组

与对照组比, 高压灭菌组在 121℃ 40 min、121℃ 50 min、126℃ 20 min 和 134℃ 4 min 条件下有 8 种氨基酸含量降低具有极其显著性差异 ($P < 0.001$)。121℃ 30 min 组有 3 种氨基酸含量降低 ($P < 0.001$)、3 种氨基酸含量增加 ($P < 0.001$)、2 种氨基酸含量降低有极显著性差异 ($P < 0.01$), 异亮氨酸含量降低具有显著性差异 ($P < 0.05$)。126℃ 20 min 组蛋氨酸含量增加 ($P < 0.001$), 121℃ 40 min 和 121℃ 50 min 组蛋氨酸含量增加 ($P < 0.01$)。121℃ 30 min 组有 5 种氨基酸含量比其他组损失小, 对氨基酸含量影响最小 (见表 5)。

2.3.2 辐照灭菌组

与对照组相比, 辐照灭菌液体组有 7 种氨基酸

表 5 高压灭菌组氨基酸损失率

Table 5 Loss rate of amino acids in high pressure sterilization group									
组别 Groups	苏氨酸 Threonine	缬氨酸 Valine	蛋氨酸 Methionine	异亮氨酸 Isoleucine	亮氨酸 Leucine	苯丙氨酸 Phenylalanine	赖氨酸 Lysine	组氨酸 Histidine	精氨酸 Arginine
对照组 (液体) Control group (liquid)	0.71	0.73	0.17	0.65	1.23	0.69	1.09	0.33	0.51
高压灭菌组 High pressure sterilization group	121℃ 30 min	10.04 ***	6.58 **	-7.90 ***	4.75 *	3.34 **	-12.93 ***	30.07 ***	-13.68 ***
	121℃ 40 min	13.72 ***	16.68 ***	-4.69 **	14.98 ***	15.21 ***	24.50 ***	35.24 ***	17.93 ***
	121℃ 50 min	18.60 ***	25.34 ***	-4.39 **	20.90 ***	20.10 ***	26.53 ***	39.67 ***	21.88 ***
	126℃ 20 min	4.67 ***	10.11 ***	-9.36 ***	7.72 ***	5.74 ***	12.53 ***	22.53 ***	9.12 ***
	134℃ 4 min	12.94 ***	15.00 ***	-0.88	12.31 ***	15.08 ***	25.07 ***	36.65 ***	23.10 ***

含量均降低具有极其显著性差异($P < 0.001$)。异亮氨酸在 25 kGy 和 50 kGy 灭菌条件下含量降低具有极显著性差异($P < 0.01$),在 30 kGy 和 35 kGy 灭菌条件下含量降低($P < 0.001$)。25 kGy、35 kGy 和 50 kGy 组蛋氨酸含量增加($P < 0.001$),30 kGy 组蛋氨酸含量增加($P < 0.01$)。辐照灭菌粉末组苏氨酸含量降低($P < 0.01$),赖氨酸含量降低($P < 0.001$)。25 kGy 组有 4 种氨基酸含量降低($P < 0.001$)、4 种氨基酸含量降低($P < 0.01$)。蛋氨酸在 30 kGy 和 50 kGy 灭菌条件下降低($P < 0.001$),在 35 kGy 灭菌条件下含量降低($P <$

0.01)。苯丙氨酸在 30 kGy 灭菌条件下增加($P < 0.01$),在 35 kGy 和 50 kGy 灭菌条件下含量增加($P < 0.001$)。30 kGy、35 kGy 和 50 kGy 灭菌条件下组氨酸含量增加($P < 0.01$)。精氨酸在 30 kGy 灭菌条件下含量降低($P < 0.01$),在 35 kGy 和 50 kGy 灭菌条件下含量降低具有显著性差异($P < 0.05$)。辐照灭菌液体 25 kGy 组有 4 种氨基酸损失小于其他辐照灭菌组,氨基酸含量影响最小,其次是 50 kGy 组。辐照灭菌粉末组 50 kGy 组有 5 种氨基酸损失小于其他辐照灭菌组,氨基酸含量影响最小(见表 6)。

表 6 辐照灭菌组氨基酸损失率

Table 6 Loss rate of amino acid in irradiated group					
组别 Groups	苏氨酸 Threonine	缬氨酸 Valine	蛋氨酸 Methionine	异亮氨酸 Isoleucine	亮氨酸 Leucine
对照组(液体) Control group (liquid)	0.71	0.73	0.17	0.65	1.23
辐照灭菌液体组 Irradiation sterilization liquid group	25 kGy6.86***	8.32***	-35.39***	6.95**	9.21***
	30 kGy21.29***	21.97***	-4.97**	20.21***	22.84***
	35 kGy18.39***	21.41***	-7.31***	19.52***	19.49***
	50 kGy7.78***	8.88***	-16.96***	7.02**	8.80***
对照组(粉末) Control group (powder)	0.85	0.87	0.27	0.82	1.52
辐照灭菌粉末组 Irradiation sterilization powder group	25 kGy7.10**	13.75***	5.87***	13.80***	9.61**
	30 kGy10.18**	2.70	18.90***	3.31	2.62
	35 kGy6.93**	3.04	3.67**	1.53	0.92
	50 kGy7.93**	0.62	6.24***	-1.67	-0.78

组别 Groups	苯丙氨酸 Phenylalanine	赖氨酸 Lysine	组氨酸 Histidine	精氨酸 Arginine
对照组(液体) Control group (liquid)	0.69	1.09	0.33	0.51
辐照灭菌液体组 Irradiation sterilization liquid group	25 kGy18.41***	8.50***	12.61***	16.26***
	30 kGy30.60***	24.50***	29.94***	29.80***
	35 kGy29.66***	22.35***	28.57***	21.42***
	50 kGy18.35***	13.57***	21.12***	9.44***
对照组(粉末) Control group (powder)	0.87	1.31	0.41	0.70
辐照灭菌粉末组 Irradiation sterilization powder group	25 kGy11.44**	7.39***	7.49**	5.12**
	30 kGy-13.39**	8.72***	-5.78**	5.27**
	35 kGy-16.88***	8.65***	-8.35**	3.70*
	50 kGy-18.59***	7.27***	-6.52**	3.20*

2.4 维生素

维生素在不同灭菌条件下与对照组相比含量变化情况(见表 7,表 8)。

2.4.1 高压灭菌组

与对照组比,高压灭菌组在 121℃ 30 min、121℃ 50 min、126℃ 20 min 灭菌条件下 VE、VB₂ 含量增加具有极其显著性差异($P < 0.001$),134℃ 4 min 组 VE 含量增加($P < 0.001$)。VA 和 VD₃ 含量均未检出。

高压灭菌组 121℃ 30 min 组 VE、VB₂ 含量损失小于辐照灭菌组,对维生素含量影响最小(见表 7)。

2.4.2 辐照灭菌组

与对照组相比,辐照灭菌液体组 VB₂ 含量降低有极其显著性差异($P < 0.001$)。VE 在 25 kGy 灭菌条件下含量增加($P < 0.001$),在 30 kGy 灭菌条件下含量增加具有显著性差异($P < 0.05$),在 50 kGy 灭菌条件下含量增加有极显著性差异($P <$

0.01)。辐照灭菌粉末组 25 kGy 组 VE、VA 含量降低($P < 0.001$), VD_3 含量降低 ($P < 0.01$)。30 kGy、35 kGy 和 50 kGy 组 VE、VA 和 VD_3 含量降低 ($P < 0.001$)。35 kGy 和 50 kGy 组 VB_2 含量均降低 ($P < 0.05$)。VA、 VD_3 均未检出。辐照灭菌组 25

kGy 组维生素含量损失小于其他辐照灭菌组,对维生素含量影响最小,其次是 50 kGy 组(见表 8)。

2.5 微量元素

微量元素经高压蒸汽灭菌和⁶⁰Co 辐照灭菌后含量变化(见表 9,表 10)。

表 7 高压灭菌组维生素含量

Table 7 Vitamin content of high pressure sterilization group

组别 Groups		VE (mg/kg)	VB ₂ (mg/kg)	VA (KIU/kg)	VD ₃ (KIU/kg)
对照组 (液体) Control group (liquid)		41.46 ± 0.40	16.20 ± 0.11	/	/
	121℃ 30 min	60.50 ± 1.53 ***	19.45 ± 0.58 ***	/	/
高压灭菌组 High pressure sterilization group	121℃ 40 min	39.77 ± 0.54	15.91 ± 0.11	/	/
	121℃ 50 min	51.34 ± 0.88 ***	19.21 ± 0.47 ***	/	/
	126℃ 20 min	49.77 ± 0.37 ***	20.44 ± 0.14 ***	/	/
	134℃ 4 min	53.93 ± 1.03 ***	15.53 ± 0.11	/	/

表 8 辐照灭菌组维生素含量

Table 8 Vitamin content of irradiation sterilization group

组别 Groups		VE (mg/kg)	VB ₂ (mg/kg)	VA (KIU/kg)	VD ₃ (KIU/kg)
对照组(液体) Control group (liquid)		41. 46 ± 0. 40	16. 20 ± 0. 11	/	/
辐照灭菌液体组 Irradiation sterilization liquid group	25 kGy	48. 17 ± 0. 36 ***	11. 63 ± 0. 14 ***	/	/
	30 kGy	44. 75 ± 0. 41 *	8. 68 ± 0. 12 ***	/	/
	35 kGy	40. 70 ± 1. 83	8. 80 ± 0. 08 ***	/	/
	50 kGy	46. 65 ± 0. 88 **	10. 27 ± 0. 05 ***	/	/
对照组(粉末) Control group (powder)		130. 55 ± 3. 61	19. 75 ± 0. 32	10. 29 ± 0. 58	1. 94 ± 0. 14
辐照灭菌粉末组 Irradiation sterilization powder group	25 kGy	48. 61 ± 0. 96 ***	18. 98 ± 0. 28	2. 34 ± 0. 07 ***	1. 41 ± 0. 08 **
	30 kGy	21. 34 ± 0. 34 ***	18. 79 ± 0. 46	1. 40 ± 0. 01 ***	1. 09 ± 0. 05 ***
	35 kGy	47. 87 ± 2. 31 ***	18. 49 ± 0. 12 *	1. 59 ± 0. 00 ***	1. 17 ± 0. 04 ***
	50 kGy	51. 72 ± 0. 95 ***	18. 69 ± 0. 12 *	1. 15 ± 0. 04 ***	1. 13 ± 0. 07 ***

表 9 高压灭菌组微量元素含量

Table 9 Micronutrient content of high pressure sterilization group

组别 Groups		锌(g/kg) Zinc (g/kg)	铁(mg/kg) Iron (mg/kg)	镁(mg/kg) Magnesium (mg/kg)	钾(g/kg) Potassium (g/kg)	钠(g/kg) Sodium (g/kg)
对照组(液体) Control group (liquid)		1.86 ± 0.05	34.75 ± 0.07	486.00 ± 1.41	6.72 ± 0.17	/
	121℃ 30 min	1.84 ± 0.06	43.15 ± 1.48 ***	508.00 ± 12.73	6.44 ± 0.17	/
高压灭菌组 High pressure sterilization group	121℃ 40 min	1.65 ± 0.04 **	29.62 ± 0.34 **	468.00 ± 9.90	5.72 ± 0.05 **	/
	121℃ 50 min	1.46 ± 0.04 ***	26.74 ± 0.03 ***	523.50 ± 7.78 *	6.05 ± 0.19 *	/
	126℃ 20 min	1.56 ± 0.04 ***	24.35 ± 1.88 ***	476.50 ± 16.26	6.61 ± 0.18	/
	134℃ 4 min	1.72 ± 0.04 *	39.90 ± 1.41 **	460.00 ± 4.24	6.20 ± 0.21	/

2.5.1 高压灭菌组

与对照组相比,高压灭菌组 121℃ 30 min 组铁含量增加有极其显著性差异($P < 0.001$),121℃ 40 min 组锌、铁和钾含量降低具有极显著性差异($P < 0.01$)。121℃ 50 min 组镁含量增加具有显著性差异($P < 0.05$)、钾含量降低($P < 0.05$)。121℃ 50

min、126℃ 20 min 组锌和铁含量降低($P < 0.001$),134℃ 4 min 组锌含量降低($P < 0.05$)、铁含量增加($P < 0.01$)。钠含量均未检出。高压灭菌组 121℃ 30 min 组有 3 种微量元素含量变化无显著性差异,1 种微量元素含量增加,对微量元素含量影响最小(见表 9)。

表 10 辐照灭菌组微量元素含量
Table 10 Contents of trace elements in irradiation sterilization group

组别 Groups	锌(g/kg) Zinc (g/kg)	铁(mg/kg) Iron (mg/kg)	镁(mg/kg) Magnesium (mg/kg)	钾(g/kg) Potassium (g/kg)	钠(g/kg) Sodium (g/kg)
对照组(液体) Control group (liquid)	1.86 ± 0.05	34.75 ± 0.07	486.00 ± 1.41	6.72 ± 0.17	/
辐照灭菌液体组 Irradiation sterilization liquid group	25 kGy1.81 ± 0.01	48.35 ± 1.63 ***	542.00 ± 16.97 **	8.59 ± 0.29 ***	/
	30 kGy1.53 ± 0.01 ***	39.75 ± 0.92 **	488.50 ± 6.36	7.46 ± 0.19 *	/
	35 kGy1.43 ± 0.04 ***	36.90 ± 0.14	489.00 ± 2.83	6.16 ± 0.08	/
	50 kGy1.68 ± 0.01 **	34.43 ± 0.60	553.50 ± 10.61 ***	7.84 ± 0.24 ***	/
对照组(粉末) Control group (powder)	1.56 ± 0.01	29.15 ± 0.49	513.00 ± 18.38	7.55 ± 0.26	2.80 ± 0.05
辐照灭菌粉末组 Irradiation sterilization powder group	25 kGy1.39 ± 0.02 **	32.55 ± 0.21 **	540.00 ± 7.07	6.45 ± 0.16 **	3.23 ± 0.06 **
	30 kGy1.48 ± 0.03	32.75 ± 1.06 **	486.50 ± 6.36	6.84 ± 0.05 *	3.36 ± 0.10 **
	35 kGy1.23 ± 0.04 ***	24.90 ± 0.00 **	384.50 ± 9.19 ***	7.07 ± 0.02	2.56 ± 0.06
	50 kGy1.49 ± 0.03	30.60 ± 0.28	564.00 ± 8.49 *	7.18 ± 0.25	3.26 ± 0.11 **

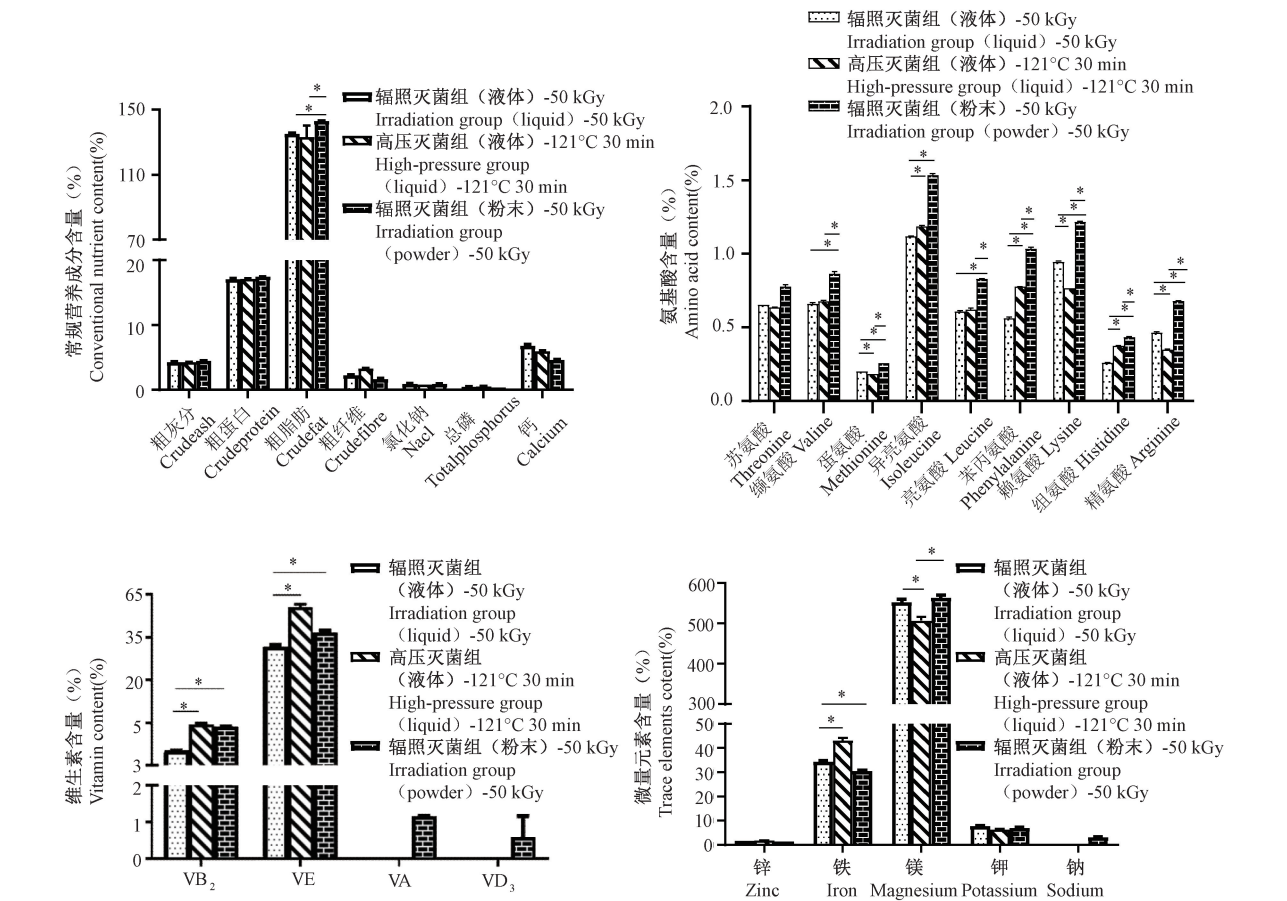


图 1 不同灭菌方式对营养成分含量影响的比较

Figure 1 Comparison of the effects of different sterilization methods on nutrient content

2.5.2 辐照灭菌组

与对照组相比,辐照灭菌液体组 25 kGy 组铁和钾含量增加具有极其显著性差异($P < 0.001$),镁含量增加具有极显著性差异($P < 0.01$)。30 kGy 组锌含量降低($P < 0.001$)、铁含量增加($P < 0.01$)、钾含量增加具有显著性差异($P < 0.05$)。35 kGy 组锌含量降低($P < 0.001$)。50 kGy 组锌含量降低($P < 0.01$)、镁和钾含量增加($P < 0.001$)。辐照灭菌粉末组 25 kGy 组锌和钾含量降低($P < 0.01$),25 kGy 和 30 kGy 组铁和钠含量增加($P < 0.01$),30 kGy 组钾含量降低($P < 0.05$)。35 kGy 组锌含量降低、镁含量增加($P < 0.001$),铁含量降低($P < 0.01$)。50 kGy 组镁含量增加($P < 0.05$),钠含量增加($P < 0.01$)。钠含量均未检出。辐照灭菌液体组 25 kGy 组有 1 种微量元素含量变化无显著性差异,3 种微量元素含量增加,对微量元素含量影响最小,其次是 50 kGy 组。辐照灭菌粉末组 50 kGy 组有 3 种微量元素含量变化无显著性差异,2 种微量元素含量增加,对微量元素含量影响最小(见表 10)。

2.6 不同灭菌方式对营养成分的影响比较

将 3 种灭菌方式中对营养成分影响最小的三组进行组间比较,如图 1A,1B 所示,辐照灭菌粉末组常规营养成分和氨基酸含量明显高于高压灭菌组和辐照灭菌液体组。如图 1C,1D 所示,高压灭菌组和辐照灭菌液体组维生素、微量元素含量小于辐照灭菌粉末组。

3 讨论

实验动物——配合饲料卫生标准(GB 14924.2—2001)中规定:清洁级实验动物配合饲料应进行高压灭菌或辐照灭菌,SPF 级和无菌动物更应如此。常用的灭菌方法为高压蒸汽灭菌和 ^{60}Co 辐照灭菌。高压蒸汽灭菌是目前最成熟、应用最广泛的灭菌方法。其灭菌原理是通过热作用破坏微生物蛋白、核酸和细胞膜,杀灭微生物。 ^{60}Co 辐照灭菌属于冷灭菌方法, ^{60}Co 能释放出一种波长短、能量高、穿透力极强的 γ 射线,直接作用于水,该过程产生的氢氧自由基($\text{OH}\cdot$)引起 DNA 损伤,破坏其结构与代谢,从而杀灭微生物。 ^{60}Co 辐照灭菌过程很少产热,同时具穿透力强、操作简单、可连续作业的特点,因此能较好地保存配方奶粉中营养成分^[7]。但因其设备的特殊性,需送至特定地点进行灭菌,配制好的人工乳需要经过运输、贮藏后才能进行灭

菌,操作时间不可控,在此期间人工乳可能发生腐败、变质等导致营养成分损失。与之相反,高压蒸汽灭菌法因其设备普及率高、操作简单,配制后可立即进行灭菌,避免了因运输、贮藏而可能造成的影响。但其最大的缺点是,由于蒸汽比热大,穿透力强,对人工乳的物理性质、营养成分影响极大。

很多报道显示,辐照灭菌对固体饲料的营养成分影响小^[8],高压蒸汽灭菌对固体饲料的营养成分损失大^[9-10],未见有其对配方奶粉或者液体人工乳灭菌后营养成分对比的相关报道。本文主要对比了不同灭菌方法对猪专用配方奶粉营养成分的影响。实验结果显示,辐照灭菌粉末组常规营养、氨基酸和微量元素的变化明显小于两个液体灭菌组。VA、VD₃ 和钠含量在液态配方奶中均未检出,固态配方奶粉有检出值,其原因可能与配方奶粉的形态有关,水分的存在可增加辐照时营养成分的损失,原因是辐照时水产生自由基,能引起强烈的氧化作用^[11]。高压灭菌组和辐照灭菌液体组维生素的损失明显大于辐照灭菌粉末组,原因可能是与配方奶粉不同形态含水量及维生素存在状态有关,含水量高的辐照后损失大,游离态维生素辐照后损失较多,结合态则反之^[12]。

研究结果显示,高压灭菌和辐照灭菌均对配方奶粉营养成分产生不同程度破坏。辐照灭菌液体组氨基酸、维生素和辐照灭菌粉末组常规营养、维生素 25 kGy 辐照灭菌效果比 50 kGy 影响小。但根据国外经验表明,用 25 kGy 剂量辐照灭菌可获得无病原的动物饲料,而用 30 ~ 50 kGy 剂量辐照灭菌可获得无菌的饲料^[11]。所以在培育 SPF 级动物时可选择使用 25 kGy^[13],培育无菌动物时推荐使用 50 kGy 辐照剂量^[14]。综上所述,高压灭菌组 121℃ 30 min 营养成分损失最小,辐照灭菌组 50 kGy 灭菌条件下营养成分损失最小。辐照灭菌粉末组 50 kGy 灭菌条件下营养成分含量影响小于高压灭菌组和辐照灭菌液体组。

结合以上不同灭菌方式的优点和缺点以及本次实验结果,可以选择配方奶粉使用 ^{60}Co 辐照灭菌,纯净水使用高压蒸汽灭菌的搭配方式。这样可以在保证达到无菌化标准同时,营养成分损失最小。还可因为辐照物品体积的减少,大大降低运输、辐照的经济成本。因 ^{60}Co 辐照灭菌设备特殊性,如果没有辐照灭菌条件可以选择使用 121℃ 30 min 进行高压蒸汽灭菌。

参 考 文 献(References)

[1] Meurens F, Summerfield A, Nauwynck H, et al. The pig: a model for human infectious diseases [J]. Trends Microbiol, 2012, 20(1): 50-57.

[2] Guilleateau P, Zabielski R, Hammon HM, et al. Nutritional programming of gastrointestinal tract development. Is the pig a good model for man? [J]. Nutr Res Rev, 2010, 23(1): 4-22.

[3] Wang M, Donovan SM. Human microbiota-associated swine; current progress and future opportunities [J]. Ilar J, 2015, 56(1): 63-73.

[4] Matsunari H, Nagashima H, Watanabe M, et al. Blastocyst complementation generates exogenic pancreas *in vivo* in apantecric cloned pigs [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013, 110(12): 4557-4562.

[5] Tanihara F, Hirata M, Otoi T. Current status of the application of gene editing in pigs [J]. J Reprod Dev, 2021, 67(3): 177-187.

[6] Rashid T, Takebe T, Nakauchi H. Novel strategies for liver therapy using stem cells [J]. Gut, 2015, 64(1): 1-4.

[7] 韦瑀龙, 蓝晓庆. 中药钴 60 辐照灭菌的应用研究进展 [J]. 海峡药, 2019, 31(8): 4-7.

Wei YL, Lan XQ. Progress in application research of ⁶⁰Co irradiation sterilization on traditional Chinese medicine [J]. Strait Pharm J, 2019, 31(8): 4-7.

[8] 任春磊, 杨国山, 闫傲霜. ⁶⁰Co-γ 射线辐照技术在实验动物饲料灭菌中的应用 [J]. 实验动物科学, 2008, 25(4): 51-54.

Ren CL, Yang GS, Yan AS. The application of ⁶⁰Co-γ ray irradiation technology in the sterilization of experimental animal feed [J]. Lab Anim Sci, 2008, 25(4): 51-54.

[9] 张大维, 祁国强, 甘振威, 等. 不同灭菌方法对实验动物配合颗粒饲料营养成分的影响 [J]. 饲料工业, 2012, 33(2): 40-43.

Zhang DW, Bing GQ, Gan ZW, et al. Effects of different sterilization methods on the nutrients of granular experimental animal feedstuff [J]. Feed Ind, 2012, 33(2): 40-43.

[10] 丁力, 刘建高, 刘建琪, 等. 辐照和高压蒸汽灭菌方法对兔繁殖饲料营养成分的影响 [J]. 实用预防医学, 2019, 26(7): 795-800.

Ding L, Liu JG, Liu JQ, et al. Effects of irradiation and high-pressure steam sterilization on nutrients of rabbit breeding feeds [J]. Pract Prev Med, 2019, 26(7): 795-800.

[11] Coates ME. 生物医学研究中动物日粮的选择与配合指南 [M]. 北京: 原子能出版社; 1995.

Coates ME. Guidelines for the selection and coordination of animal diets in biomedical research [M]. Beijing: Atomic Energy Press; 1995.

[12] 张采, 周正宇, 王禹斌, 等. ⁶⁰Co 辐照饲料的试验研究 [J]. 上海实验动物科学, 2004, 24(4): 236-239.

Zhang C, Zhou ZY, Wang YB, et al. Experimental study on ⁶⁰Co irradiated feed [J]. Lab Anim Comp Med, 2004, 24(4): 236-239.

[13] 周正宇, 薛智谋. 实验动物饲料⁶⁰Co 辐照灭菌剂量的研究 [J]. 上海实验动物科学, 2001, 21(2): 100-102.

Zhou ZY, Xue ZM. Study on radiation sterilization dose of ⁶⁰Co for experimental animal feed [J]. Lab Anim Comp Med, 2001, 21(2): 100-102.

[14] Qv L, Yang Z, Yao M, et al. Methods for establishment and maintenance of germ-free rat models [J]. Front Microbiol, 2020, 11: 1148.

[收稿日期] 2023-05-22