



# 丁酸梭菌替代金霉素对肉鸡腿肌肉品质和抗氧化功能的影响

申文雪<sup>1</sup>, 刘金松<sup>2</sup>, 范小燕<sup>2</sup>, 许英蕾<sup>1</sup>, 吴艳萍<sup>1</sup>, 张瑞强<sup>1\*</sup>

- 1 浙江农林大学动物科技学院, 动物医学院, 动物健康互联网检测技术浙江省工程实验室, 浙江省畜禽绿色生态健康养殖应用技术研究重点实验室, 浙江 杭州 311300
- 2 浙江惠嘉生物科技股份有限公司, 浙江 安吉 313300

申文雪, 刘金松, 范小燕, 许英蕾, 吴艳萍, 张瑞强. 丁酸梭菌替代金霉素对肉鸡腿肌肉品质和抗氧化功能的影响. 微生物学报, 2022, 62(4): 1464–1472.

Shen Wenxue, Liu Jinsong, Fan Xiaoyan, Xu Yinglei, Wu Yanping, Zhang Ruiqiang. Effect of *Clostridium butyricum* as a replacement of chlortetracycline on quality and antioxidation of broiler leg muscle. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(4): 1464–1472.

**摘要:** 丁酸梭菌(*Clostridium butyricum*)是一种产丁酸等短链脂肪酸的有益菌,添加到饲料中可改善动物的生产性能、提高饲料利用率和机体的抗氧化功能。【目的】本文研究了丁酸梭菌替代金霉素添加到肉鸡日粮中,对肉鸡腿肌肉品质和抗氧化功能的影响。【方法】随机选取1日龄健康艾拔益加(AA)肉仔鸡360只,分为3组,每组8个重复,阴性对照组(CON)饲喂基础日粮;抗生素组(ANT)饲喂添加75 mg/kg金霉素的基础日粮;丁酸梭菌组(CB)饲喂添加500 mg/kg丁酸梭菌(活菌数 $10^9$  CFU/g)的基础日粮,试验为期42 d。【结果】与CON组相比,CB组肉鸡腿肌重、腿肌肉24 h红度( $a^*$ )、 $pH_{45\text{ min}}$ 、 $pH_{24\text{ h}}$ 、粗蛋白质和粗脂肪的含量显著提高,腿肌肉总抗氧化能力(total-antioxidant capacity, T-AOC)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、总超氧化物歧化酶(total superoxide dismutase, T-SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPx)活性升高,腿肌肉核因子E2相关因子(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, *Nrf2*)、*GPx-1*、*SOD-1*和*SOD-2*的基因表

**基金项目:** 浙江省领军型创新团队项目(2020R01015); 浙江省重点研发项目(2019C02051, 2020C02032); 浙江省绿色动物保健品重点农业研究院项目(2021Y30004)

Supported by the Leading Innovation Team Project of Zhejiang Province (2020R01015), by the Key Research and Development Program of Zhejiang Province (2019C02051, 2020C02032) and by the Project of Key Agricultural Institute of Green Animal Health Products of Zhejiang Province (2021Y30004)

\*Corresponding author. E-mail: zrq1034@163.com

Received: 4 August 2021; Revised: 20 August 2021; Published online: 28 October 2021

达水平上调( $P<0.05$ ); 肉鸡腿肌肉 24 h 亮度( $L^*$ )、滴水损失、蒸煮损失和丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量下降。ANT 组腿肌重和腿肌肉  $\text{pH}_{45 \text{ min}}$  及 *Nrf2*、*GPx-1* 和 *SOD-1* 的基因表达水平增高( $P<0.05$ ), 腿肌肉滴水损失和 MDA 的含量下降。与 ANT 组相比, CB 组腿肌肉粗脂肪含量和 CAT 活性显著升高( $P<0.05$ ), 腿肌肉的滴水损失和 24 h 的  $L^*$ 降低。【结论】日粮中添加丁酸梭菌可替代金霉素应用于肉鸡饲料中, 激活 *Nrf2* 相关基因表达, 改善肉鸡肌肉品质和抗氧化功能。

**关键词:** 肉鸡; 丁酸梭菌; 腿肌; 肉品质; 抗氧化功能

## Effect of *Clostridium butyricum* as a replacement of chlortetracycline on quality and antioxidation of broiler leg muscle

SHEN Wenxue<sup>1</sup>, LIU Jinsong<sup>2</sup>, FAN Xiaoyan<sup>2</sup>, XU Yinglei<sup>1</sup>, WU Yanping<sup>1</sup>, ZHANG Ruiqiang<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> College of Animal Science and Technology, College of Veterinary Medicine, Key Laboratory of Applied Technology on Green-Eco-Healthy Animal Husbandry of Zhejiang Province, Zhejiang Provincial Engineering Laboratory for Animal Health Inspection and Internet Technology, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China

<sup>2</sup> Zhejiang Vegamax Biotechnology Co., Ltd., Anji 313300, Zhejiang, China

**Abstract:** The beneficial *Clostridium butyricum*, which synthesizes short-chain fatty acids such as butyric acid, can be added to feed to improve animal production, feed utilization efficiency, and the antioxidant ability of animals. **[Objective]** This paper explored effect of *C. butyricum* as a replacement of chlortetracycline on quality and antioxidant function of broiler leg muscle. **[Methods]** A total of 360 healthy 1-day-old Arbor Acres broilers were randomly selected and classified into three groups, with 8 replicates each group. Negative control group (CON) was fed with basal diet, antibiotics group (ANT) basal diet supplemented with 75 mg/kg chlortetracycline, and *C. butyricum* group (CB) basal diet supplemented with 500 mg/kg *C. butyricum* (viable bacteria,  $10^9$  CFU/g). The experiment lasted 42 days. **[Results]** Compared with CON group, CB significantly increased weight, 24h redness ( $a^*$ ),  $\text{pH}_{45 \text{ min}}$ ,  $\text{pH}_{24 \text{ h}}$ , crude protein content, and ether extract, decreased 24 h brightness ( $L^*$ ), drip loss, cooking loss, and malondialdehyde (MDA) content, improved the total-antioxidant capacity (T-AOC), and the activity of catalase (CAT), total superoxide dismutase (T-SOD), and glutathione peroxidase (GPx), and up-regulated the expression of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (*Nrf2*), *GPx-1*, *SOD-1*, and *SOD-2* of broiler leg muscle ( $P<0.05$ ). ANT raised the weight and  $\text{pH}_{45 \text{ min}}$ , reduced the drip loss and MDA content, and up-regulated the expression of *Nrf2*, *GPx-1*, and *SOD-1* of broiler leg muscle compared with CON group ( $P<0.05$ ). CB group demonstrated lower drip loss and  $L^*$  after 24 h and higher ether extract and CAT activity of broiler leg muscle than the ANT group ( $P<0.05$ ). **[Conclusion]** *C. butyricum* can replace chlortetracycline for broiler feed, activate the expression of *Nrf2* signaling pathway related genes, and which improves the quality and antioxidation of broiler leg muscle.

**Keywords:** broilers; *Clostridium butyricum*; leg muscle; meat quality; antioxidation

养殖规模化、高密度使得肉鸡疾病频发, 抗生素作为家禽养殖业生长促进剂和药物添加剂, 不仅能够提高家禽生长性能, 还能预防疾病发生<sup>[1]</sup>。但是, 长期使用抗生素会引起动物机体菌群失调、免疫力下降、病菌产生抗药性、在环境和畜产品中出现残留、富集等现象<sup>[2]</sup>, 我国在 2020 年 7 月 1 日明确禁止在饲料中添加抗生素作为促生长类药物。因此, 抗生素替代品研究成为热点。益生菌因具有安全、无残留、可以改善动物生产性能、提高机体免疫力等特点, 受到广泛关注<sup>[3-4]</sup>。

丁酸梭菌, 又名酪酸菌, 广泛存在于土壤、动物和人的肠道中, 为严格厌氧的革兰氏芽孢杆菌, 能产生丁酸等有益物质<sup>[5]</sup>, 促进肠道对水和钠重吸收的能力<sup>[6-7]</sup>, 添加到饲料中可改善动物生产性能、提高饲料利用率和机体抗氧化能力<sup>[8-9]</sup>。目前, 关于丁酸梭菌在家禽生产中的应用, 主要集中在调控家禽的生长性能和改善免疫功能等方面, 而其对肉鸡腿肌肉品质和抗氧化功能影响的研究几乎没有报道。

肌肉 pH、肉色和系水力等指标是肌肉感官和食用适口性的综合反映, 不仅决定着消费者的消费取向, 亦影响禽肉产品在后期加工和贮藏的质量<sup>[10]</sup>。已有研究表明, 肌肉品质与肌肉的抗氧化功能密切相关, 肌肉 pH 迅速下降, 会引起肌肉中可溶性蛋白质凝结, 造成肌纤维细胞膜的通透性增加, 使得肌肉表面液体渗出增加, 而抗氧化物质可降低脂质过氧化对细胞膜的伤害, 维持细胞膜完整性, 降低肌肉表面光的反射, 从而降低肌肉亮度值, 提高肌肉红度值, 进而改善肌肉品质<sup>[11]</sup>。Nrf2 是细胞氧化损伤调节的主要信号, 其发挥抗氧化功能主要是通过调控下游相关酶和抗氧化基因的表达水

平, 从而有效地缓解机体的氧化应激程度, 降低氧化应激诱发的损伤作用<sup>[12]</sup>。因此, 本研究通过在日粮中添加丁酸梭菌或金霉素, 探讨二者对肉鸡腿肌肉品质、抗氧化功能和 *Nrf2* 相关基因的影响, 为丁酸梭菌替代金霉素应用于家禽生产提供科学参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1 日龄 AA 肉仔鸡(常州玉成禽苗批发基地有限公司); 金霉素(粉剂, 纯度为 20%, 浙江惠嘉生物科技股份有限公司); 丁酸梭菌(活菌数  $10^9$  CFU/g, 浙江惠嘉生物科技股份有限公司); 色差仪(HunterLab 公司); pH 计(Hanna Instruments 公司); 电热鼓风干燥箱(上海锦屏仪器仪表有限公司); 自动定氮仪(上海纤检仪器有限公司); 陶瓷纤维马弗炉(广州越特科学仪器有限公司); 脂肪测定仪(海能仪器股份有限公司); 抗氧化酶试剂盒(南京建成生物工程有限公司); RNAiso 试剂、PrimeScript™ Realtime PCR kit 试剂盒(TaKaRa 公司); 微量分光光度计(杭州奥盛仪器有限公司); 梯度 PCR 仪(杭州博日科技有限公司); Bio-Rad C1000 Touch™ 96 孔快速 PCR 仪(上海孚约商贸有限公司)。

### 1.2 方法

随机选取健康、体重均匀的 1 日龄 AA 肉仔鸡 360 只, 分为 3 组, 每组 8 个重复, 每个重复 15 只, 分别为阴性对照组(CON)、抗生素组(ANT)和丁酸梭菌组(CB)。CON 组仅饲喂基础日粮, ANT 组在基础日粮中额外添加 75 mg/kg 的金霉素(以纯品计), CB 组在基础日粮中额外添加 500 mg/kg 的丁酸梭菌(活菌数  $10^9$  CFU/g)<sup>[13-15]</sup>。基础日粮的配制方法参考 NRC (1994)<sup>[16]</sup>, 基础日粮配方和营养水平见表 1。

表 1 基础日粮配方和营养水平

Table 1 Ingredients and nutrient levels of the basal diets

Items	0 to 21 days of age	21 to 42 days of age
Composition/%		
Corn	52.5	54
Soybean (CP43 %)	25	17
Extruded-soybean	4.5	3.5
DDGS	8.5	7.5
Rice bran		6
Corn bran		2
Soybean meal	1.7	4.6
Limestone	1.4	1.4
Fermented soybean meal	2.4	
Premix <sup>①</sup>	4	4
Total	100.00	100.00
Nutrient levels <sup>②</sup>		
Crude protein/%	22.02	19.11
Metabolizable energy/(MJ/kg)	12.23	12.91
Ether extract/%	5.50	8.6
Lys/%	1.18	0.97
Met/%	0.54	0.45
Met+Cys/%	0.88	0.74
Thr/%	0.86	0.71
Trp/%	0.23	0.20
Ca/%	0.82	0.73
TP/%	0.65	0.57

①The premix provided the following per kg of diets: VA 10 000 IU, V<sub>B1</sub> 2.2 mg, V<sub>B2</sub> 8.0 mg, V<sub>B5</sub> 40 mg, V<sub>B6</sub> 4.0 mg, V<sub>B12</sub> 0.013mg, V<sub>D3</sub> 3 000 IU, V<sub>E</sub> 30 IU, V<sub>K3</sub> 1.3 mg, nicotinic acid 40 mg, biotin 0.04 mg, folic acid 40 mg, choline chloride 400 mg, D-pantothenate calcium 10 mg, Se 0.3 mg, Fe 80 mg, Mn 110 mg, Zn 65 mg, Cu 7.5 mg, I 1 mg.

②Metabolizable energy is calculated value, the others are measured values.

### 1.3 饲养管理

1 日龄 AA 肉仔鸡饲养于同一栋鸡舍, 每个重复饲养于同一个笼内, 试验期间全程自由采食和饮水, 24 h 光照, 每天清洗饮水器 1 次, 消毒、免疫接种及疾病预防按常规方法进行。

### 1.4 样品采集

于试验期第 42 天, 空腹 12 h 后, 分别从各试验笼中选取一只生长状况中等的肉鸡, 共

计 24 只, 进行屠宰取样, 采集左侧腿肌样品称重后用于肉品质检测, 采集右侧腿肌样品用于常规化学成分和抗氧化功能相关指标的检测。

### 1.5 腿肌肉品质和常规成分的测定

根据 Jiao 等<sup>[17]</sup>描述的方法测定腿肌的滴水损失、蒸煮损失、屠宰 45 min 和 24 h 后的肉色 (L\*: 亮度; a\*: 红度; b\*: 黄度) 以及屠宰 45 min 和 24 h 后的 pH。腿肌常规化学成分水分 (moisture)、粗蛋白 (crude protein, CP)、粗脂肪 (ether extract, EE) 和灰分 (ash) 含量的测定参照食品安全国家标准<sup>[18-21]</sup>进行。

### 1.6 腿肌抗氧化酶的测定

取右腿肌肉组织样品按照试剂盒说明书, 检测 T-SOD (羟胺法)、MDA (硫代巴比妥酸法)、T-AOC (Fe<sup>2+</sup>还原法)、CAT (钼酸铵法) 和 GPx (酶促比色法) 的水平。

### 1.7 腿肌抗氧化基因表达的测定

利用 RNAiso 试剂进行肌肉 RNA 的提取和洗涤, 使用微量分光光度计测定 RNA 的纯度和浓度。反转录过程使用商业试剂盒 PrimeScript<sup>TM</sup> Realtime PCR kit 进行, 去除基因组 DNA, 反应体系为 10 μL: 2 μL 5×gDNA Eraser Buffer, 1 μL gDNA Eraser, 7 μL RNase Free dH<sub>2</sub>O, 反应条件为: 42 °C 2 min, 4 °C 冷却; 反转录体系为 20 μL: 10 μL 去除基因组 DNA 反应液, 1 μL PrimeScript RT Enzyme Mix I, 1 μL RT Primer Mix, 4 μL 5×PrimeScript Buffer 2, 4 μL RNase Free dH<sub>2</sub>O, 反应条件为: 37 °C 孵育 15 min, 85 °C 孵育 5 s, 4 °C 冷却。从 GenBank 中获得目的基因序列, 取保守区域使用软件 Primer Premier 5 设计引物, 所需引物由杭州擎科梓熙生物技术有限公司合成, 引物序列见表 2。使用 TB Green Premix Ex Taq II 进行 real-time PCR 反应。反应体系采用 20 μL 体系进行:

表 2 荧光定量 PCR 引物序列

Table 2 Sequence of primers real-time PCR

Target genes	Accession No.	Forward primers (5'→3')	Reverse primers (5'→3')
<i>Nrf2</i>	NM_205117.1	GATGTCACCCTGCCCTTAG	CTGCCACCATGTTATTCC
<i>Keap1</i>	KU_321503.1	GTACCAGATCGACAGCGTGG	GGCAGTGGGACAGGTTGAAG
<i>HO-1</i>	NM_205344	GGTCCCGAATGAATGCCCTTG	ACCGTTCTCCTGGCTCTTGG
<i>CAT</i>	NM_001031215.1	CGTTGGCGGTAGGAGTC	CCAGTGGTCAAGGCATCT
<i>SOD-1</i>	NM_205064.1	TTGTCTGATGGAGATCATGGCTTC	TGCTTGCCTTCAGGATTAAGTGAG
<i>SOD-2</i>	NM_204211.1	CAGATAGCAGCCTGTGCAAATCA	GCATGTTCCCATACATCGATTCC
<i>GPx-1</i>	NM_001277853.1	CGCTACAGCCGCCACTT	TTCGGAGAATCCCACAACG

10  $\mu$ L TB Green Mix *Taq*, 0.8  $\mu$ L 上游引物, 0.8  $\mu$ L 下游引物, 2  $\mu$ L cDNA 模板, 6.4  $\mu$ L DEPC 水。反应条件为: 95  $^{\circ}$ C 预变性 2 min; 95  $^{\circ}$ C 变性 5 s, 60  $^{\circ}$ C 退火 30 s, 40 个循环。基因的相对表达水平采用  $2^{-\Delta\Delta C_T}$  法计算。

### 1.8 统计分析

试验数据利用统计产品与服务解决方案 (statistical product and service solutions, SPSS) 21.0 软件进行单因子方差分析(one-way ANOVA), 并采用邓肯氏(Duncan's)法进行组间多重比较检验,  $P>0.05$  表示差异不显著,  $P<0.05$  表示差异显著, 结果用平均值和标准误(the standard error of means, SEM)表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 丁酸梭菌对肉鸡腿肌肌肉品质的影响

由表 3 可知, CB 组肉鸡腿肌重、屠宰后 24 h 的  $a^*$ 、 $pH_{45 \text{ min}}$  和  $pH_{24 \text{ h}}$  显著高于 CON 组 ( $P<0.05$ ), 屠宰后 24 h 后的  $L^*$  和蒸煮损失显著低于 CON 组 ( $P<0.05$ ), 屠宰后 24 h 和 48 h 后的滴水损失显著低于 CON 组 ( $P<0.05$ )。ANT 组肉鸡腿肌重和  $pH_{45 \text{ min}}$  显著高于 CON 组 ( $P<0.05$ ), 屠宰 24 h 和 48 h 后的滴水损失显著低于 CON 组 ( $P<0.05$ )。ANT 组肉鸡腿肌屠宰 24 h 和 48 h 后的滴水损失显著高于 CB 组 ( $P<0.05$ ), 24 h 的  $L^*$  显著高于 CB 组 ( $P<0.05$ )。

表 3 丁酸梭菌对肉鸡腿肌肌肉品质的影响

Table 3 Effects of *Clostridium butyricum* on the meat quality of leg muscle in broilers

Items		CON	ANT	CB	SEM	<i>P</i> -value
Leg muscle weight/g		294.48 <sup>b</sup>	340.08 <sup>a</sup>	340.75 <sup>a</sup>	8.07	0.019
Meat color at 45 min	$L^*$	35.32	32.19	32.30	1.20	0.502
	$a^*$	22.39	23.73	22.72	0.39	0.365
	$b^*$	11.85	13.20	13.61	2.69	0.412
Meat color at 24 h	$L^*$	27.63 <sup>a</sup>	25.42 <sup>a</sup>	24.81 <sup>b</sup>	0.47	0.029
	$a^*$	22.20 <sup>b</sup>	23.69 <sup>ab</sup>	25.72 <sup>a</sup>	0.60	0.049
	$b^*$	26.47	26.50	27.68	0.52	0.576
pH	$pH_{45 \text{ min}}$	5.88 <sup>b</sup>	6.10 <sup>a</sup>	6.10 <sup>a</sup>	0.35	0.013
	$pH_{24 \text{ h}}$	5.70 <sup>b</sup>	5.79 <sup>ab</sup>	5.86 <sup>a</sup>	0.03	0.044
Drip loss/%	24 h	4.95 <sup>a</sup>	4.27 <sup>b</sup>	3.63 <sup>c</sup>	0.13	<0.001
	48 h	7.39 <sup>a</sup>	6.38 <sup>b</sup>	5.32 <sup>c</sup>	0.21	<0.001
Cooking loss/%		28.47 <sup>a</sup>	23.99 <sup>ab</sup>	23.57 <sup>b</sup>	0.79	0.012

In the same row, values with the no letter or same superscripts mean no significant difference ( $P>0.05$ ), means with different is superscript letters in the same row differ significantly ( $P<0.05$ ). The same as below.

## 2.2 丁酸梭菌对肉鸡腿肌肉常规化学成分的影响

由表 4 可知, CB 组肉鸡腿肌肉粗蛋白质和粗脂肪含量显著高于 CON 组( $P < 0.05$ ), 水分、有机物和灰分含量与 CON 组相比无显著性差异( $P > 0.05$ )。ANT 组肉鸡腿肌肉与 CON 组水分、有机物、粗蛋白质、粗脂肪和灰分均未表现出显著性差异( $P > 0.05$ )。CB 组肉鸡腿肌肉粗脂肪含量显著高于 ANT 组( $P < 0.05$ )。

## 2.3 丁酸梭菌对肉鸡腿肌抗氧化能力的影响

由表 5 可知, CB 组肉鸡腿肌 T-AOC、T-SOD、CAT 和 GPx 水平均显著高于 CON 组( $P < 0.05$ ), MDA 含量显著低于 CON 组( $P < 0.05$ )。ANT 组肉鸡腿肌 MDA 含量显著低于 CON 组( $P < 0.05$ ), T-AOC、T-SOD、CAT 和 GPx 水平与 CON 组无显著性差异( $P > 0.05$ )。CB 组肉鸡腿肌 CAT 含量显著高于 ANT 组( $P < 0.05$ )。

表 4 丁酸梭菌对肉鸡腿肌肉常规化学成分的影响  
Table 4 Effects of *Clostridium butyricum* on conventional chemical compositions of leg muscle in broilers (%)

Items	CON	ANT	CB	SEM	P-value
Moisture	74.86	73.79	73.07	0.37	0.150
Organic matter	23.27	24.49	25.06	0.38	0.148
Crude protein	19.42 <sup>b</sup>	20.07 <sup>ab</sup>	21.63 <sup>a</sup>	0.35	0.034
Ether extract	3.82 <sup>b</sup>	4.08 <sup>b</sup>	5.15 <sup>a</sup>	0.21	0.028
Crude ash	1.87	1.72	1.86	0.07	0.617

表 5 丁酸梭菌对肉鸡腿肌抗氧化酶活性的影响  
Table 5 Effects of *Clostridium butyricum* on the antioxidant ability of leg muscle in broilers

Items	CON	ANT	CB	SEM	P-value
T-AOC/(U/mg protein)	0.33 <sup>b</sup>	0.47 <sup>ab</sup>	0.55 <sup>a</sup>	0.03	0.013
T-SOD/(U/mg protein)	45.63 <sup>b</sup>	57.05 <sup>ab</sup>	60.36 <sup>a</sup>	2.56	0.039
CAT/(U/mg protein)	0.71 <sup>b</sup>	0.95 <sup>b</sup>	1.44 <sup>a</sup>	0.08	<0.001
GPx/(U/mg protein)	14.66 <sup>b</sup>	17.79 <sup>ab</sup>	20.62 <sup>a</sup>	0.80	0.005
MDA/(nmol/mg protein)	0.37 <sup>a</sup>	0.28 <sup>b</sup>	0.24 <sup>b</sup>	0.02	0.007

## 2.4 丁酸梭菌对肉鸡腿肌抗氧化相关基因表达的影响

由表 6 可知, CB 组肉鸡腿肌抗氧化基因 *Nrf2*、*GPx-1*、*SOD-1* 和 *SOD-2* 的表达水平显著高于 CON 组( $P < 0.05$ ); ANT 组肉鸡腿肌抗氧化基因 *Nrf2*、*GPx-1* 和 *SOD-1* 的表达水平显著高于对照组( $P < 0.05$ ); CB 组和 ANT 组肉鸡腿肌 *Nrf2*、*Keap1*、*GPx-1*、*SOD-1*、*SOD-2*、*CAT* 和 *HO-1* 的表达水平无显著性差异( $P > 0.05$ )。

## 3 讨论

在肉色指标测定中, L\*值越高, 肉色发白变软, 肉品质越差, 且 L\*值与 pH 值是负相关关系<sup>[10]</sup>。滴水损失和蒸煮损失是衡量肌肉系水力强弱的 2 个重要指标, 其值越低则说明系水力越高, 而系水力越高, 说明肌肉鲜嫩多汁<sup>[22-23]</sup>。本研究的 CB 组, 其 pH 值和屠宰 24 h 后的 a\*值显著提高, 滴水损失和蒸煮损失以及屠宰 24 h 后的 L\*值显著降低, 提示丁酸梭菌可改善肉鸡腿肌肉品质, 且结果与前人研究的 L\*值与 pH 值呈负相关关系一致<sup>[10]</sup>; 屠宰后 45 min 和 24 h 肉鸡腿肌肉的 pH 值显著升高, 推测丁酸梭菌可能通过减少肌肉的无氧呼吸, 从而减

表 6 丁酸梭菌对肉鸡腿肌抗氧化相关基因表达的影响

Table 6 Effects of *Clostridium butyricum* on antioxidation-related gene expression of leg muscle in broilers

Items	CON	ANT	CB	SEM	P-value
<i>Nrf2</i>	1.00 <sup>b</sup>	1.54 <sup>a</sup>	1.70 <sup>a</sup>	0.11	0.022
<i>Keap1</i>	1.00	0.77	0.74	0.07	0.222
<i>GPx-1</i>	1.00 <sup>b</sup>	1.60 <sup>a</sup>	1.69 <sup>a</sup>	0.11	0.019
<i>SOD-1</i>	1.00 <sup>b</sup>	1.45 <sup>a</sup>	1.50 <sup>a</sup>	0.08	0.013
<i>SOD-2</i>	1.00 <sup>b</sup>	1.32 <sup>ab</sup>	1.60 <sup>a</sup>	0.09	0.013
<i>CAT</i>	1.00	1.18	1.35	0.08	0.179
<i>HO-1</i>	1.00	1.31	1.34	0.10	0.299

少乳酸的生成, 进而提高肉鸡腿肌肉的 pH 值; 滴水损失和蒸煮损失的降低, 提示丁酸梭菌能够提高肉鸡腿肌肉的保水性能。此外, 本研究发现, 抗生素仅改善了肉鸡的腿肌重、pH<sub>45 min</sub> 和滴水损失, 且 ANT 组肉鸡腿肌屠宰 24 h 和 48 h 后的滴水损失显著高于 CB 组, 提示丁酸梭菌在调控肉鸡腿肌肉发育和系水力方面优于金霉素。

研究表明, 日粮中添加 10<sup>9</sup> CFU/kg 丁酸梭菌可调控肉鸡肠道菌群的脂代谢, 提高 42 日龄肉鸡腿肌内的脂肪沉积<sup>[24]</sup>。本研究发现, 丁酸梭菌不仅可提高肉鸡腿肌肉粗脂肪含量, 还可提高肌肉粗蛋白质的含量, 推测可能是添加的丁酸梭菌的剂量、日粮组成和饲养环境等不同所引起。刘婷婷等<sup>[25]</sup>的研究表明, 丁酸梭菌可促进肠道有益菌增殖, 抑制有害菌的增殖, 调控动物肠道菌群平衡, 推测本研究丁酸梭菌改善肌肉营养物质沉积的原因可能是: 丁酸梭菌进入肉鸡肠道后, 调节了肠道微生物菌群平衡<sup>[25]</sup>, 增加了肠道绒毛高度与隐窝深度的比值, 提高了肠道的消化吸收功能<sup>[14]</sup>, 从而改善了肌肉的脂代谢和蛋白质代谢过程, 进而改善了肌肉营养物质沉积。此外, 本试验中 CB 组的粗脂肪含量显著高于 ANT 组, 说明丁酸梭菌在调控肉鸡腿肌肉脂代谢方面优于金霉素。

研究表明, 日粮中添加丁酸梭菌可提高肉鸡肠道中 GPx 活性, 降低肠道中 MDA 含量<sup>[9]</sup>。本研究表明, 日粮中添加丁酸梭菌可提高肉鸡腿肌 T-AOC、T-SOD 和 GPx 活性, 降低 MDA 含量, 提示丁酸梭菌可提高肉鸡腿肌的抗氧化能力。丁酸梭菌代谢可产生氢气、丁酸钠、丁酸等产物<sup>[5]</sup>, Ohsawa 等研究发现氢气不仅是重要的生理调节因子, 还通过选择性地清除机体羟自由基, 调控机体抗氧化功能<sup>[26]</sup>, Zhang 等研究表明, 丁酸钠可降低肉鸡胸肌中 MDA 含

量, 增加 CAT 的活性<sup>[27]</sup>, 推测丁酸梭菌提高肉鸡腿肌抗氧化功能与丁酸梭菌的代谢产物有关。此外, 本研究亦发现, 与 ANT 组相比, CB 组肉鸡腿肌的 T-AOC 和 CAT 水平提高, 表明丁酸梭菌对改善肉鸡腿肌抗氧化性能的效果可能优于金霉素。

*Nrf2* 的激活可上调 SOD 相关蛋白表达水平, 抑制线粒体氧化应激反应, 降低氧化应激损伤<sup>[28-29]</sup>。SOD 具有抗炎、抗病毒、抗辐射、抗衰老等作用, 可将机体内氧化自由基还原, 维持机体氧化与抗氧化的动态平衡<sup>[30]</sup>。Endo 等研究亦表明, MIYAIRI 588 (一种产丁酸的益生菌) 可诱导大鼠 *Nrf2* 基因的表达, 激活下游基因, 增强机体的抗氧化功能<sup>[31]</sup>。本试验结果表明, 丁酸梭菌提高了肉鸡腿肌 *Nrf2*、*GPx-1*、*SOD-1* 和 *SOD-2* 基因的表达水平, 这与本试验中抗氧化酶活性结果一致。本试验还发现, ANT 组仅上调了 *Nrf2*、*GPx-1* 和 *SOD-1* 的基因表达水平, 提示丁酸梭菌改善肉鸡腿肌的抗氧化能力优于金霉素。

## 4 结论

丁酸梭菌可替代金霉素应用于肉鸡饲料日粮中, 其可改善肉鸡腿肌肉的品质, 增强抗氧化能力, 且作用效果优于金霉素。

## 参考文献

- [1] Sen S, Ingale SL, Kim JS, Kim KH, Kim YW, Khong C, Lohakare JD, Kim EK, Kim HS, Kwon IK, Chae BJ. Effect of supplementation of *Bacillus subtilis* LS 1-2 grown on Citrus-juice waste and corn-soybean meal substrate on growth performance, nutrient retention, caecal microbiology and small intestinal morphology of broilers. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2011, 24(8): 1120-1127.
- [2] Mehdi Y, Létourneau-Montminy MP, Gaucher ML, Chorfi Y, Suresh G, Rouissi T, Brar SK, Côté C, Ramirez AA, Godbout S. Use of antibiotics in broiler

- production: global impacts and alternatives. *Animal Nutrition*, 2018, 4(2): 170–178.
- [3] Kabir SML, Rahman MM, Rahman MB, Rahman MM, Ahmed SU. The dynamics of probiotics on growth performance and immune response in broilers. *International Journal of Poultry Science*, 2004, 3(5): 361–364.
- [4] Hasan MN, Azad MAK, Rabbani MAG, Yeasmin T, Rashid MHO. Growth performances and meat yield characteristics of commercial cockerels fed antibiotic and probiotic. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 2020, 7(3): 471–476.
- [5] Hagihara M, Kuroki Y, Ariyoshi T, Higashi S, Fukuda K, Yamashita R, Matsumoto A, Mori T, Mimura K, Yamaguchi N, Okada S, Nonogaki T, Ogawa T, Iwasaki K, Tomono S, Asai N, Koizumi Y, Oka K, Mikamo H. *Clostridium butyricum* modulates the microbiome to protect intestinal barrier function in mice with antibiotic-induced dysbiosis. *iScience*, 2020, 23(1): 100772.
- [6] Nakanishi S, Kataoka K, Kuwahara T, Ohnishi Y. Effects of high amylose maize starch and *Clostridium butyricum* on metabolism in colonic microbiota and formation of azoxymethane-induced aberrant crypt foci in the rat colon. *Microbiology and Immunology*, 2003, 47(12): 951–958.
- [7] Scheppach W. Effects of short chain fatty acids on gut morphology and function. *Gut*, 1994, 35(1 Suppl): S35–S38.
- [8] Liu YH, Li YY, Feng XC, Wang Z, Xia ZF. Dietary supplementation with *Clostridium butyricum* modulates serum lipid metabolism, meat quality, and the amino acid and fatty acid composition of Peking ducks. *Poultry Science*, 2018, 97(9): 3218–3229.
- [9] Liao XD, Wu RJ, Ma G, Zhao LM, Zheng ZJ, Zhang RJ. Effects of *Clostridium butyricum* on antioxidant properties, meat quality and fatty acid composition of broiler birds. *Lipids in Health and Disease*, 2015, 14: 36.
- [10] Liu J, Ruusunen M, Puolanne E, Ertbjerg P. Effect of pre-rigor temperature incubation on sarcoplasmic protein solubility, calpain activity and meat properties in porcine muscle. *LWT-Food Science and Technology*, 2014, 55(2): 483–489.
- [11] Ciobanu MM. The influence of the temperature and of the freezing time on broiler chicken meat color. *Scientific Papers Animal Science & Biotechnologies*, 2015, 42(4): 549–565.
- [12] Loboda A, Damulewicz M, Pyza E, Jozkowicz A, Dulak J. Role of Nrf2/HO-1 system in development, oxidative stress response and diseases: an evolutionarily conserved mechanism. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2016, 73(17): 3221–3247.
- [13] Liao XD, Ma G, Cai J, Fu Y, Yan XY, Wei XB, Zhang RJ. Effects of *Clostridium butyricum* on growth performance, antioxidation, and immune function of broilers. *Poultry Science*, 2015, 94(4): 662–667.
- [14] Zhao X, Ding X, Yang ZB, Shen YR, Shao D, Shi SR. Effects of *Clostridium butyricum* on growth performance, lipid metabolism and the caecal microecological environment of broilers. *European Poultry Science: Verlag Eugen Ulmer*, 2017, 81: 187.
- [15] 徐晨希, 王志跃, 杨海明, 王迎春, 仲向前, 杨征烽. 壳寡糖和丁酸梭菌对肉仔鸡生长性能、血清生化指标及内脏器官相对重的影响. *中国家禽*, 2018, 40(18): 26–30.
- Xu CX, Wang ZY, Yang HM, Wang YC, Zhong XQ, Yang ZF. Effects of chitosan oligosaccharide and *Clostridium butyricum* on growth performance, blood biochemical index, relative weight of internal organs of broilers. *China Poultry*, 2018, 40(18): 26–30. (in Chinese)
- [16] Dale N. National research council nutrient requirements of poultry-ninth revised edition (1994). *Journal of Applied Poultry Research*, 1994, 3(1): 101.
- [17] Jiao Y, Park JH, Kim YM, Kim IH. Effects of dietary methyl sulfonol methane (MSM) supplementation on growth performance, nutrient digestibility, meat quality, excreta microbiota, excreta gas emission, and blood profiles in broilers. *Poultry Science*, 2017, 96(7): 2168–2175.
- [18] 中国标准出版社. GB 5009.3-2016 食品安全国家标准 食品中水分的测定. 北京: 中国标准出版社, 2019.
- [19] 中国标准出版社. GB 5009.4-2016 食品安全国家标准 食品中灰分的测定. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [20] 中国标准出版社. GB 5009.5-2016 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [21] 中国标准出版社. GB 5009.6-2016 食品安全国家标准 食品中脂肪的测定. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [22] Kuźniacka J, Banaszak M, Biesek J, Maiorano G, Adamski M. Effect of Faba bean-based diets on the meat quality and fatty acids composition in breast muscles of broiler chickens. *Scientific Reports*, 2020, 10: 5292.
- [23] Abdullah AY, Al-Beitawi NA, Rjoup MMS, Qudsieh RI, Ishmais MAA. Growth performance, carcass and meat



- quality characteristics of different commercial crosses of broiler strains of chicken. *The Journal of Poultry Science*, 2010, 47(1): 13–21.
- [24] Zhao X, Guo YM, Guo SS, Tan JZ. Effects of *Clostridium butyricum* and *Enterococcus faecium* on growth performance, lipid metabolism, and cecal microbiota of broiler chickens. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2013, 97(14): 6477–6488.
- [25] 刘婷婷, 滑静, 王晓霞, 刘莉如, 海鹏. 丁酸梭菌对蛋用仔公鸡肠道菌群、形态结构及黏膜免疫相关细胞的影响. *动物营养学报*, 2012, 24(11): 2210–2221. Liu TT, Hua J, Wang XX, Liu LR, Hai P. *Clostridium butyricum*: effects on intestinal microflora, morphology and mucosal immunity-associated cells in egg-laying male chicks. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2012, 24(11): 2210–2221. (in Chinese)
- [26] Ohsawa I, Ishikawa M, Takahashi K, Watanabe M, Nishimaki K, Yamagata K, Katsura KI, Katayama Y, Asoh S, Ohta S. Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals. *Nature Medicine*, 2007, 13(6): 688–694.
- [27] Zhang WH, Gao F, Zhu QF, Li C, Jiang Y, Dai SF, Zhou GH. Dietary sodium butyrate alleviates the oxidative stress induced by corticosterone exposure and improves meat quality in broiler chickens. *Poultry Science*, 2011, 90(11): 2592–2599.
- [28] Shaw P, Chattopadhyay A. Nrf2-ARE signaling in cellular protection: mechanism of action and the regulatory mechanisms. *Journal of Cellular Physiology*, 2020, 235(4): 3119–3130.
- [29] Zhang R, Chae S, Lee JH, Hyun JW. The cytoprotective effect of butin against oxidative stress is mediated by the up-regulation of manganese superoxide dismutase expression through a PI3K/Akt/Nrf2-dependent pathway. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2012, 113(6): 1987–1997.
- [30] Piao CS, Gao S, Lee GH, Kim DS, Park BH, Chae SW, Chae HJ, Kim SH. Sulforaphane protects ischemic injury of hearts through antioxidant pathway and mitochondrial KATP channels. *Pharmacological Research*, 2010, 61(4): 342–348.
- [31] Endo H, Niioka M, Kobayashi N, Tanaka M, Watanabe T. Butyrate-producing probiotics reduce nonalcoholic fatty liver disease progression in rats: new insight into the probiotics for the gut-liver axis. *PLoS One*, 2013, 8(5): e63388.

(本文责编 李磊)