

## 应用移动尼龙袋法和三步法评定反刍家畜 常用饲料的蛋白质小肠消化率

岳群<sup>1</sup> 杨红建<sup>1</sup> 谢春元<sup>1</sup> 么学博<sup>1</sup> 王加启<sup>2</sup>

(1. 中国农业大学 生物学院, 北京 100094; 2. 中国农业科学院 北京畜牧兽医研究所/动物营养学国家重点实验室, 北京 100094)

**摘要** 本研究选用3头装有永久瘤胃瘘管和十二指肠“T”型瘘管的阉牛,采用移动尼龙袋法和三步法测定了15种饲料蛋白质的小肠消化率。结果表明,移动尼龙袋法测得的玉米蛋白粉、菜籽粕、豆粕、棉籽粕、花生饼、小麦麸、黄玉米、啤酒糟、米糠、玉米胚芽饼、酒糟蛋白、苜蓿、羊草、玉米秸秆和玉米青贮中蛋白质小肠消化率分别为90.60%、82.31%、96.32%、80.62%、95.58%、67.89%、89.86%、74.33%、58.65%、79.79%、90.42%、40.00%、44.88%、35.52%、10.52%。同时将三步法与移动尼龙袋法测得的消化率进行线性回归分析,结果显示,不同种类饲料蛋白质小肠消化率差异很大(10%~96%),作为一种简便、可靠的体外酶解评定方法,三步法与移动尼龙袋法呈线性正相关[ $Y=1.1851X-5.9468, n=15, R^2=0.8912$ ;其中Y代表移动尼龙袋法所测饲料瘤胃非降解蛋白质的小肠消化率(%),X代表三步法所测的消化率结果(%)]。

**关键词** 饲料评定; 蛋白质; 移动尼龙袋法; 三步法; 小肠消化率

中图分类号 S816.15

文章编号 1007-4333(2007)06-0062-05

文献标识码 A

### Estimation of protein intestinal digestibility of ruminant feedstuffs with mobile nylon bag technique and Three-step in vitro procedure

Yue Qun<sup>1</sup>, Yang Hongjian<sup>1</sup>, Xie Chunyuan<sup>1</sup>, Yao Xuebo<sup>1</sup>, Wang Jiaqi<sup>2</sup>

(1. College of Biological Sciences, China Agricultural University, Beijing 100094, China; 2. State key Laboratory of Animal Nutrition/Institute of Animal Science, China Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100094, China)

**Abstract** Apparent small intestinal digestibility (Idg) of 15 feedstuffs was determined by the mobile nylon bag technique (MNBT) and three-step in vitro procedure respectively. Residues collected after 16 h rumen incubation by in situ technique were applied for the MNBT procedure through a T-type proximal duodenal cannula and in vitro procedure. The Idg determined by MNBT were 90.60% (corn gluten meal), 82.31% (rape seed meal), 96.32% (soybean meal), 80.62% (cotton seed meal), 95.58% (peanut cake), 67.89% (wheat bran), 89.86% (maize), 74.33% (brewer's grains), 58.65% (rice bran), 79.79% (corn germ meal), 90.42% (distillers dried grains with soluble), 40.00% (alfalfa hay), 44.88% (chinese wildrye), 35.52% (corn straw) and 10.52% (corn silage), respectively. The Idg of rumen undegraded crude protein (RUP) between the MNBT and three-step in vitro procedure was linearly correlated. The apparent small intestinal digestibility differed among feedstuffs (10%~96%). A linear regression equation was presented between the MNBT and three-step in vitro procedure ( $Y=1.1851X-5.9468, n=15, R^2=0.8912$ , where Y represents apparent Idg of CP with the mobile nylon bag technique, and X represents the digestibility estimated by three-step in vitro procedure), which might be a simple, cheap, convenient and reliable method for feed evaluation in ruminants.

**Key words** feed evaluation; crude protein; mobile nylon bag technique; Three-step in vitro procedure; intestinal digestibility

收稿日期: 2007-03-27

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项资助(NYHYZX07-036-04)

作者简介: 岳群, 博士研究生, E-mail: qyue0131@163.com; 杨红建, 副教授, 博士生导师, 通讯作者, 主要从事动物营养生理生化研究, E-mail: yang.hongjian@cau.edu.cn

在反刍动物小肠中,可代谢蛋白质是由瘤胃合成的微生物蛋白质、瘤胃非降解饲料蛋白质(RUP)及少量内源蛋白质构成的<sup>[1]</sup>。目前反刍动物饲料蛋白质小肠消化率常用的估测方法有体内法、实验动物模拟法、移动尼龙袋法以及体外法等<sup>[2]</sup>。体内法涉及到动物福利问题,成本高、费时费力;移动尼龙袋法相对简单、耗费低,具有良好的重复性,因而被广泛采用,但其仍依赖于装有瘤胃瘘管和十二指肠瘘管的实验动物;实验动物模拟法不可避免的受到单胃动物与反刍动物消化生理上差异的影响;体外法是在特定温度和pH下用一种酶或酶混合物培养饲料样品,虽然不可能在体外完全模拟体内的消化过程,但它不需要实验动物,成本低、易操作。Calsamiglia等<sup>[3]</sup>建立了综合瘤胃尼龙袋法和体外法的“三步法”,该方法首先使用瘤胃尼龙袋法获得瘤胃残渣,然后通过胃蛋白酶和胰酶制剂对残渣进行酶解,较好地模拟了动物生理条件(包括潜在的瘤胃发酵作用),且易于标准化操作,省时省力。

尽管国外对于使用移动尼龙袋法和三步法测定单一饲料蛋白质在小肠的消化率参数已有很多报道<sup>[3-6]</sup>,但国内研究多集中于应用体内法测定反刍动物蛋白质的小肠消化率<sup>[7-8]</sup>或体外法测定饲料养分的小肠消化率,如小肠液冻干粉法<sup>[9]</sup>,关于应用移动尼龙袋法的报道仅见于姜淑贞等<sup>[10]</sup>和么学博等<sup>[11]</sup>。我国2004年颁布的《肉牛饲养标准》<sup>[12]</sup>和《奶牛饲养标准》<sup>[13]</sup>中,饲料成分表中缺乏各单一饲料的小肠消化率参数,故对精饲料的RUP小肠消化率建议取0.65、对青粗饲料取0.60、对秸秆则取0。这种状况对不同饲料显然具有很大的局限性。本研究旨在补充我国反刍家畜新蛋白质体系所缺乏的饲料小肠消化率重要参数,为精确配制日粮配方,合理利用蛋白质资源提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验样品的准备

待测样品为几种单一饲料:黄玉米、玉米蛋白粉、豆粕、棉籽粕、菜籽粕、花生饼、小麦麸、啤酒糟、酒糟蛋白、玉米胚芽饼、米糠、羊草、苜蓿、玉米青贮和玉米秸秆,经2 mm筛孔的粉碎机粉碎备用,测定各常规成分见表1。

### 1.2 试验动物与饲养管理

选择3头约850 kg装有永久瘤胃瘘管和十二指肠瘘管的杂种阉牛(西门塔尔×中原黄牛),每天8:00

和20:00饲喂,每次饲喂4.5 kg饲粮,自由饮水。饲粮包括(质量分数):羊草46.85%、黄玉米34.24%、小麦麸9.85%、豆粕4.75%、棉籽粕2.45%、碳酸氢钙0.22%、石粉0.72%、盐0.33%和添加剂预混料0.59%。

### 1.3 试验方法

根据Hvelplund等<sup>[14]</sup>方法获得瘤胃非降解饲料残渣,应用移动尼龙袋法测定RUP的小肠消化率。称取约含15 mg氮(饲料样品中粗蛋白质的平均含氮量为16%(质量分数))的瘤胃非降解饲料残渣,通过用饲料原样替代瘤胃非降解饲料残渣和三步法中胃蛋白酶和胰酶制剂的酶解作用测定蛋白质的小肠消化率<sup>[3]</sup>。

### 1.4 化学分析

样品中干物质(DM)的测定按照GB 6435—1986饲料中水分的测定方法<sup>[15]</sup>进行。粗蛋白质(CP)的测定按照GB 6432—1994饲料中粗蛋白质的测定方法<sup>[15]</sup>进行。中性洗涤纤维(NDF)和酸性洗涤纤维(ADF)的测定参照Van Soest等<sup>[16]</sup>进行。

### 1.5 计算公式

$$\begin{aligned} \text{饲料粗蛋白质的瘤胃消失率(DR)} &= \frac{\text{饲料粗蛋白质} - \text{瘤胃非降解残渣中粗蛋白质}}{\text{饲料粗蛋白质}} \times 100\% \\ \text{移动尼龙袋法测得饲料瘤胃非降解} \\ \text{蛋白质的小肠消化率(Idg1)} &= \frac{\text{瘤胃非降解蛋白质} - \text{小肠消化后残渣中蛋白质}}{\text{瘤胃非降解蛋白质}} \times 100\% \\ \text{三步法测得小肠消化率(Idg2)} &= \frac{\text{酶解体系中可溶性氮}}{\text{瘤胃非降解氮(或饲料原样氮)*}} \times 100\% \end{aligned}$$

\* 为饲料原样替代瘤胃非降解饲料残渣

### 1.6 统计分析

数据的统计处理用SAS软件包<sup>[17]</sup>进行,以GLM过程分析通过三步法获得的饲料原样和瘤胃非降解残渣蛋白质小肠消化率数据间的差异性;以PROC REG过程对移动尼龙袋法与三步法所测蛋白质小肠消化率数据进行线性回归。

## 2 结果与讨论

### 2.1 饲料原样的化学分析

由表1可知,各单一饲料样品间CP、NDF和ADF的含量变化较大。大多数饲料原样的DM和

CP含量略高于《中国饲料学》<sup>[18]</sup>列出的数据,NDF和ADF的含量与《肉牛饲养标准》<sup>[12]</sup>所列值相近,但与 Taghizadeh 等<sup>[4]</sup>及《奶牛营养需要》<sup>[11]</sup>值差异较大,这是由饲料的品种、产地及加工方式不同造成。

## 2.2 移动尼龙袋法测定饲料蛋白质小肠消化率

如表1所示,玉米蛋白粉、黄玉米、酒糟蛋白在瘤胃内不易被降解,却易被小肠消化利用,说明这3种饲料含较高水平的可消化RUP。在反刍动物营养中,日粮蛋白质在瘤胃中的降解是一种低效的营养过程。蛋白质瘤胃消失率过高将造成最终流入小肠内的蛋白质不能满足高产奶牛和生长速度快的反刍

动物的营养需要量。Chalupa 等<sup>[19]</sup>指出日粮蛋白质应尽量逃避瘤胃降解,为小肠的消化利用供应充足的氨基酸。根据《奶牛营养需要》<sup>[11]</sup>给出的关于产奶量和乳蛋白产量对饲料CP、瘤胃降解蛋白(RDP)、RUP的回归方程式,产奶量和乳蛋白产量随饲料中RUP含量的提高而增加。对于高产奶牛,当饲喂的粗饲料大部分或全部为优质牧草或豆科牧草时,它们对可消化RUP水平较高的蛋白质饲料依赖程度是很高的<sup>[11]</sup>。故在高产反刍家畜日粮中补充蛋白饲料应当选用玉米蛋白粉、黄玉米、酒糟蛋白等高RUP含量的饲料,防止RDP的过量,以达到增加小

表1 待测饲料样品常规成分、粗蛋白质的瘤胃消失率DR、移动尼龙袋法测得RUP小肠消化率Idg<sup>1</sup>和三步法测得小肠消化率Idg<sup>2</sup>

Table 1 Chemical analysis of tested feedstuff samples, crude protein disappearance rate in rumen and apparent intestinal digestibility

样品名称	采集地	常规成分				DR	Idg <sup>1</sup>	Idg <sup>2</sup>		SEM
		干物质(DM)	粗蛋白质(CP)	中性洗涤纤维(NDF)	酸性洗涤纤维(ADF)			原样	RUP	
玉米蛋白粉	山西介休	90.62	67.59	4.12	1.61	36.60	90.6	92.18 a	85.33 a	1.44
菜籽粕	河北	89.27	40.95	37.57	26.01	49.99	82.31	76.71 a	54.74 b	2.81
豆粕	北京通州	88.18	49.75	15.38	9.61	68.34	96.32	93.70 a	88.37 a	1.52
棉籽粕	内蒙古	90.30	47.14	33.71	18.01	63.85	80.62	80.91 a	72.76 a	1.70
花生饼	北京大兴	91.27	48.14	16.57	7.04	68.9	95.58	91.64 a	87.93 a	1.42
小麦麸	北京大兴	87.69	21.47	43.52	18.55	90.78	67.89	53.11 a	65.39 a	4.73
黄玉米	北京延庆	87.03	10.34	16.37	6.04	33.67	89.86	67.45 a	71.49 a	4.95
啤酒糟	河北	94.46	29.27	68.76	26.56	72.59	74.33	74.71 a	70.28 a	1.75
米糠	河北	88.36	12.89	38.76	16.66	71.44	58.65	64.06 a	53.43 b	1.12
玉米胚芽饼	河北	95.05	17.47	53.24	12.49	54.80	79.79	74.00 a	73.30 a	0.90
酒糟蛋白	河北	83.14	34.51	58.57	24.72	19.92	90.42	84.60 a	83.88 a	3.29
苜蓿	北京顺义	91.75	12.14	63.89	47.9	74.09	40.00	75.22 a	44.10 b	1.35
羊草	内蒙古	89.60	14.51	68.39	38.39	33.53	44.88	38.35 a	36.18 a	2.34
玉米秸秆	北京	87.19	16.06	69.87	40.21	2.83	35.52	48.05 a	36.90 a	6.64
玉米青贮	北京	86.73	8.95	55.74	34.09	54.14	10.52	41.78 a	24.49 a	3.77

注: 为干物质质量分数。三步法测得小肠消化率,同行数据后字母标注不同者差异显著( $P < 0.05$ );SEM表示平均数标准差。

肠可消化蛋白质的目的。

另外,玉米蛋白粉、豆粕、花生饼的CP含量普遍高于其他饲料,而NDF和ADF的含量较低,其RUP的小肠消化率(Idg)都在90%以上;原样中CP含量较低,纤维含量较高的粗饲料中RUP的Idg则较其他饲料偏低,说明高蛋白低纤维饲料的蛋白质更易于被小肠消化利用。但酒糟蛋白是一个特例,其原样的CP、NDF和ADF都比较高,RUP的Idg也

比较高,仅次于花生饼,这可能决定于饲料本身蛋白质分子内部和分子间以及蛋白质与碳水化合物之间的三维立体结构及化学键等因素。

Hvelplund 等<sup>[14]</sup>认为,在采用移动尼龙袋法测定饲料RUP的Idg时,16h的瘤胃预培养时间适用于所有饲料,因为普遍认为这个时间能反映到达小肠前瘤胃代谢的状况。本试验数据也表明瘤胃培养16h的饲料蛋白质消失率与饲料的瘤胃有效降解率

(未列出)之间差异不显著( $P > 0.05$ ),因此笔者使用了16 h瘤胃非降解饲料残渣进行了小肠消化率的测定。Taghizadeh等<sup>[4]</sup>用移动尼龙袋法对12 h瘤胃非降解残渣饲料CP的小肠消化率进行了测定,其棉籽粕和黄玉米的消化率与本试验接近,而豆粕和小麦麸的较低、苜蓿和玉米青贮的较高且与本试验相差较大。这可能是因饲料原样的特性(CP、NDF、ADF等的含量)不同及操作方法细节(瘤胃内的预培养时间、移动尼龙袋的孔径等)不同而引起的。但本试验中大部分饲料RUP的Idg与《奶牛营养需要》<sup>[1]</sup>综合54个试验(包括48个移动尼龙袋法和6个三步法试验)的研究结果所列出的消化率平均值相近。

### 2.3 三步法测定饲料蛋白质的小肠消化率

三步法所测饲料蛋白质的Idg<sup>2</sup>(表1),除了小麦麸和黄玉米,其余饲料原样CP的Idg均高于RUP。张英杰<sup>[9]</sup>用肉牛小肠液冻干粉评定了饲料原样CP及6和12 h RUP的Idg,原样CP的Idg均大于RUP的,且6 h的RUP小肠消化率大于12 h,这可能是因为各种饲料在瘤胃内所发生的蛋白质和粗纤维的微生物发酵程度不同。

对三步法测得的16 h瘤胃非降解饲料残渣的蛋白质小肠消化率与移动尼龙袋法测得的数据进行线性回归,得到方程: $Y = 1.1851X - 5.9468$ ,  $R^2 = 0.8912$ ,其中Y代表移动尼龙袋法所测RUP的Idg, X代表三步法所测数据。总的来说,三步法测得的数值普遍低于移动尼龙袋法的数值,这可能是由于移动尼龙袋中的样品经过了大肠的消化。其中三步法测得的菜籽粕RUP的Idg比移动尼龙袋法所测结果小27.57%,这可能与菜籽粕中含有的抗营养因子有关。三步法和移动尼龙袋法测得的数值间存在很强的相关性( $R^2 = 0.8912$ ),这与许多研究者的实验结论一致<sup>[20,22]</sup>。而且Stern等<sup>[2]</sup>指出三步法与体内法测得的蛋白质小肠消化率数值间的相关性是很高的( $R^2 = 0.91$ )。因此使用三步法测定饲料的蛋白质小肠消化率是可行的,其所测得的结果是可靠的。同时,从统计学上来看,除菜粕、米糠、苜蓿,其他饲料样品原样CP和RUP的Idg在数值上的差异不显著( $P > 0.05$ )。因此,在缺乏装有瘤胃瘘管的实验动物时,也可直接使用饲料原样用三步法进行测定。

## 3 结论

1) 本试验所获得的数据为反刍动物新蛋白质体

系在饲养标准中的应用提供了饲料小肠消化率参数。不同单一饲料具有不同的蛋白质小肠消化率值。高蛋白低纤维饲料如花生饼等的蛋白质比低蛋白高纤维饲料易被小肠消化利用。玉米蛋白粉、黄玉米、酒糟蛋白含较高水平的可消化瘤胃非降解蛋白质,故具有较高的饲料价值。

2) 对于没有十二指肠瘘管动物饲养条件的实验室,三步法是评定饲料蛋白质小肠消化率的一种简便、可靠的方法。当然在缺乏装有瘤胃瘘管的实验动物时,也可直接使用饲料原样替代瘤胃非降解饲料残渣通过三步法中的体外酶解作用进行测定。

## 参 考 文 献

- [1] 孟庆翔. 奶牛营养需要[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2002: 55-113, 394-407
- [2] Stern M D, Bach A, Calsamiglia S. Alternative techniques for measuring nutrient digestion in ruminants[J]. Journal of Animal Science, 1997, 75: 2256-2276
- [3] Calsamiglia S, Stern M D. A three-step *in vitro* procedure for estimating intestinal digestion of protein in ruminants[J]. Journal of Animal Science, 1995, 73: 1459-1465
- [4] Taghizadeh A, Mesgaran M D, Valizadeh R. Digestion of feed amino acids in the rumen and intestine of steers measured using a mobile nylon bag technique[J]. Journal of Dairy Science, 2005, 88: 1807-1814
- [5] Harstad O M, Prestižken E. Effective rumen degradability and intestinal indigestibility of individual amino acids in solvent extracted soybean meal (SBM) and xylose-treated SBM (SoyPass) determined *in situ*[J]. Animal Feed Science and Technology, 2000, 83: 31-47
- [6] Prestižken E. Ruminal degradability and intestinal digestibility of protein and amino acids in barley and oats expander treated at various intensities[J]. Animal Feed Science and Technology, 1999, 82: 157-175
- [7] 魏宏阳, 王加启. 不同饲养水平下蛋白质与氨基酸在阉牛小肠内消化率的研究[J]. 动物营养学报, 2002(3): 18-23
- [8] 赵小刚, 雒秋江, 谭支良. 绵羊对4种蛋白饲料日粮营养物质消化动态变化的比较[J]. 华北农学报, 2007(3): 183-187
- [9] 张英杰. 日粮类型对肉牛消化道酶活的影响及饲料小肠消化率评定方法研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2000
- [10] 姜淑贞, 杨在宾, 杨维仁. 半体内法研究DL-蛋氨酸和过瘤胃蛋氨酸的稳定性[J]. 中国畜牧杂志, 2004(5): 17-19

- [11] 么学博,杨红建,谢春元,等. 反刍家畜常用饲料蛋白质和氨基酸瘤胃降解特性和小肠消化率评定研究[J]. 动物营养学报, 2007(3):225-231
- [12] 冯仰廉,王加启,杨红建,等. 肉牛饲养标准[M]. 北京:中国农业出版社, 2004: 25-26
- [13] 冯仰廉,方有生,莫放,等. 奶牛饲养标准[M]. 北京:中国农业出版社, 2004:4
- [14] Hvelplund T, Weisbjerg M R. In Situ Techniques for the Estimation of Protein Degradability and Post-rumen Availability. In: Givens D I, Owen E, Omed H M, et al. (Eds.), Forage Evaluation in Ruminant Nutrition [M]. Wallingford: CABI Publishing, 2000:233-258
- [15] 季之华,王随元. 饲料工业标准汇编[M]. 北京:中国标准出版社, 2002:70-72, 79-80
- [16] Van Soest P J, Robertson J B, Lewis B A. Methods for dietary fiber, neutral fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition[J]. Journal of Dairy Science, 1991, 74:3583-3597
- [17] SAS Institute. User's Guide: Statistics [M]. version 8.2 editions. Inc Cary NC:SAS Institute, 1999
- [18] 张子仪. 中国饲料学[M]. 北京:中国农业出版社, 2000:1154-1157
- [19] Chalupa W, Sniffen C J. Protein and amino acid nutrition of lactating dairy cattle-today and tomorrow[J]. Animal Feed Science and Technology, 1996, 58:65-75
- [20] Antoniewicz A M, Van Vuren A M, Van der Koelen C J, et al. Intestinal digestibility of rumen undegraded protein of formaldehyde-treated feedstuffs measured by mobile bag and *in vitro* technique [J]. Animal Feed Science and Technology, 1992, 39:111-124
- [21] Van Straalen W M, Dooper F M H, Antoniewicz A M, et al. Intestinal digestibility in dairy cows of protein from grass and clover measured with mobile bag and other methods[J]. Journal of Dairy Science, 1993, 76:2970-2981
- [22] Woods V B, Moloney A P, Calsamiglia S, et al. The nutritive value of concentrate feedstuffs for ruminant animals: Part . Small intestinal digestibility as measured by *in vitro* or mobile bag techniques [J]. Animal Feed Science and Technology, 2003, 110:145-157