

饲料蛋白质在鸡消化道食糜中肽氨基酸含量 与氨基酸消化率的关系

冯秀燕 计成* 蒋辉

(中国农业大学动物科技学院, 北京 100094)

摘要 通过2个试验研究了饲料蛋白质在鸡消化道食糜中肽氨基酸含量与氨基酸消化率的关系。试验1研究了3月龄黄羽肉鸡对鱼粉、豆粕、棉籽粕、菜籽粕的氨基酸利用率。试验结果,几种蛋白质饲料的氨基酸消化率分别为:鱼粉0.92,豆粕0.87,棉粕0.75,菜粕0.76。试验2研究了鱼粉、豆粕、棉籽粕、菜籽粕在鸡消化道各段(胃、十二指肠、空肠)食糜中肽氨基酸(PAA)的含量,并探讨了氨基酸消化率与肽氨基酸含量之间是否存在相关性。试验结果,不同蛋白质饲料在胃肠道食糜中肽氨基酸含量存在着很大差异,鱼粉最高,豆粕其次,棉粕与菜粕最低。将氨基酸消化率与肽氨基酸含量进行相关分析表明:二者之间存在明显相关性,其中以6h时间点的空肠段肽氨基酸含量与氨基酸消化率之间相关最高, $R^2=0.98$ 。

关键词 鸡; 肽氨基酸; 氨基酸利用率

中图分类号 S831.5

Relationship Between Amino Acid Availability and Hydrolyzed Peptide Quantity in Poultry Protein Feeds

Feng Xiuyan Ji Cheng Jiang Hui

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

Abstract This study was to investigate the relationship between amino acid availability and the hydrolyzed peptide quantity of poultry protein feed. In experiment 1, 25 three-month yellow-feather chicks were used to determine the amino acid availability of fish meal, soybean meal, cottonseed meal, rapeseed meal. The experiment result showed that the amino acid availability were 0.92, 0.87, 0.75, 0.76 for fish meal, soybean meal, cottonseed meal, rapeseed meal. In experiment 2, we determined the peptide amino acid (PAA) quantity in different protein, and studied the relationship between amino acid availability and peptide amino acid quantity. The result showed that the peptide amino acid quantity varied with different protein. There was a highest quantity of peptide amino acids with fish meal, followed by soybean meal, cottonseed meal and rapeseed meal. The more PAA quantity was hydrolyzed from the protein, the higher amino acid utilization ratio of the protein was. There was a strong relationship between the PAA quantity and amino acid availability, and the highest relationship occurred between the PAA quantity hydrolyzed from the jejunum chyme collected after 6 hours and amino acid utilization ratio, $R^2=0.98$.

Key words chick; peptide amino acid; amino acid availability

收稿日期: 2001-04-05

中华农业科教-人才基金资助项目

* 计成, 博士, 教授, 研究方向为家禽营养。联系作者。

大量研究表明:动物采食的日粮即使含有同样的氨基酸数量或模式,但提供的形式不同会使动物的生产性能产生不同的反应。以游离氨基酸(FAA)形式配合日粮提供给动物时生产性能不如以完整蛋白或小肽形式配制的日粮^[1,2]。因此,可以认为动物对蛋白质的利用与蛋白质水解后肽氨基酸(PAA)量占总氨基酸(TAA)量的比例有关。动物食入蛋白质饲料后,经过消化道中酶的水解,逐渐形成大量的肽及游离氨基酸。本研究通过给实验鸡饲喂不同的蛋白饲料,然后在不同时间点宰杀收集不同肠段的食糜。将食糜去蛋白处理后,测定食糜上清液中的FAA和TAA,再从TAA中去除FAA后即为PAA。将不同蛋白质饲料PAA占TAA的比例与测定的氨基酸消化率进行相关比较分析,探讨蛋白质在胃肠道水解物中氨基酸的存在形式与其氨基酸利用率之间的关系。

1 材料与方 法

1.1 饲料氨基酸消化率的测定

选体重相近(1.2±0.05)kg,健康的3月龄黄羽肉鸡25只,根据体重随机分为5个处理,每处理5只鸡,经检验各处理间体重差异不显著($P>0.05$)。5个处理分别饲喂无氮日粮、进口鱼粉+淀粉、豆粕+淀粉、棉粕+淀粉与菜粕+淀粉等日粮。日粮组成和营养水平见表1。

表1 试验日粮组成

配比及CP	无N日粮	进口鱼粉	豆粕	棉仁粕	菜粕	%
豆粕			36.79			
棉仁粕				48.62		
进口鱼粉		27.2				
菜粕					46.58	
玉米淀粉	43	69.28	59.69	47.86	49.9	
葡萄糖	48.48					
纤维素	5					
碳酸氢钙	3	3	3	3	3	
微量元素预混料	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	
维生素预混料	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	
食盐	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	
合计	100	100	100	100	100	
粗蛋白CP%	0	17	17	17	17	

试验鸡禁食48h,期间每天每只饲喂30g多维葡萄糖,自由饮水。之后给每只鸡强饲25g试验日粮,并用弹力皮筋将特制塑料袋固定在鸡的泄殖腔处,收集排泄物48h。向排泄物中加入10%磷酸,65℃烘干粉碎制样,冷冻保存以备分析。分析之前,将冷冻样品置入干燥器中30min后称样。

样品分析:饲料及粪中的氨基酸测定采用HPLC(FMOC)测定方法。

$$\text{真氨基酸消化率} = \frac{\text{食入氨基酸} - (\text{排泄物中的氨基酸} - \text{内源氨基酸})}{\text{食入氨基酸}} \times 100\%$$

1.2 食糜中游离氨基酸和总氨基酸的测定

选择 3 月龄平均体重(1.2±0.05)kg 的黄羽肉鸡 60 只, 公母各半, 按性别和体重随机分为 4 组, 每组 15 只, 分别强饲 25 g 鱼粉、豆粕、棉籽粕、菜籽粕(营养成分见表 2)。

表 2 饲料中的营养物质含量

营养成分	棉粕	菜粕	鱼粉	豆粕
干物质	92.05	94.02	90.8	89.3
粗蛋白	34.97	36.50	62.5	46.2
总氨基酸	31.74	31.75	57.0	37.65
各种氨基酸				
Asp	3.18	1.96	6.51	3.96
Ser	1.74	1.49	2.84	2.10
Glu	7.46	5.72	8.23	6.57
Thr	1.32	1.55	2.83	1.78
Gly	1.44	1.45	4.26	1.53
Arg	5.48	4.85	5.04	2.93
Ala	1.64	1.46	3.65	1.88
Tyr	0.46	0.36	0.78	0.44
Pro	1.69	2.72	2.70	2.48
Val	3.13	3.24	1.70	3.09
Phe	1.88	1.22	2.30	1.90
Ile	1.02	1.03	1.76	1.29
Leu	1.92	1.96	3.67	2.54
His	0.36	0.31	2.92	0.42
Lys	1.41	0.96	4.44	2.16
Met	0.63	0.73	1.73	0.83
Cys	0.82	0.27	0.41	0.83
Trp	0.51	0.47	1.23	0.94

1.2.1 样品采集 试验鸡禁食 36 h, 期间每只试鸡每天饲喂 30 g 多维葡萄糖, 自由饮水。之后给每只鸡强饲 25 g 试验日粮。各组分别于强饲后 2, 4, 6 h, 将其中 5 只鸡口腔刺杀, 迅速剖开腹腔, 取出胃(腺胃、肌胃)、十二指肠、空肠, 置于冰盒中保存。

1.2.2 样品制备 取出试验鸡各段消化道中食糜, 冷冻干燥。称取一定量冻干样品溶于蒸馏水后, 低温 $10^4 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min。按 1:1 体积比加入高氯酸($0.6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$), 再 $5\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 低温离心 15 min 除去蛋白质, 取上清液经 $4.5 \mu\text{m}$ 超滤膜过滤处理后, 冷冻保存。

仪器: 高压液相色谱仪: A、B 二元梯度泵系统, 自动进样阀, 荧光检测器, 数字积分仪, 控制仪, 溶剂调节器等。旋转蒸发仪, 电子天平, 超声波, 容量瓶, 烧杯等。

色谱条件: 固定相为 Superspher 60 RP-8 色谱柱; 流动相 A 液中乙氰与醋酸钠的体积比为 20:80, B 液中乙氰与醋酸钠的体积比为 70:30, 在 A 和 B 液中各加入 3 滴优级纯三乙氨; 荧光检测波长: $\lambda(\text{EX})=260 \text{ nm}$, $\lambda(\text{EM})=310 \text{ nm}$ 。

1.2.3 样品氨基酸测定 测定上清液中 FAA 时可直接上机; 测定上清液中 TAA 时, 需要以

1:1 体积比加入浓盐酸进行 110℃ 24 h 的酸水解,之后通过过滤,FMOC 衍生等处理后上机测定^[3]。本试验中测定的 FAA 包括除蛋氨酸、胱氨酸及色氨酸以外的 15 种氨基酸,TAA 是指这 15 种氨基酸的总和。

1.3 统计方法

试验数据采用 SPSS8.0 软件进行统计分析。

2 试验结果与分析

2.1 氨基酸真消化率

黄羽肉鸡对鱼粉、豆粕、棉粕、菜粕的氨基酸真消化率测定结果见表 3。

表 3 黄羽肉鸡对试验日粮的氨基酸真消化率

%

氨基酸	鱼粉	豆粕	棉粕	菜粕
Asp	0.93±0.04	0.85±0.03	0.68±0.04	0.54±0.03
Ser	0.93±0.05	0.88±0.02	0.70±0.03	0.68±0.03
Glu	0.95±0.04	0.86±0.02	0.83±0.02	0.85±0.02
Thr	0.91±0.04	0.81±0.05	0.67±0.05	0.73±0.08
Gly	0.90±0.03	0.81±0.02	0.57±0.07	0.63±0.01
Arg	0.92±0.02	0.90±0.03	0.89±0.00	0.92±0.10
Ala	0.93±0.05	0.88±0.02	0.62±0.03	0.65±0.02
Tyr	0.89±0.01	0.86±0.02	0.66±0.08	0.52±0.01
Pro	0.91±0.04	0.89±0.03	0.72±0.04	0.80±0.06
Val	0.91±0.05	0.90±0.02	0.85±0.04	0.88±0.07
Phe	0.92±0.05	0.88±0.01	0.75±0.03	0.74±0.02
Ile	0.94±0.03	0.88±0.02	0.70±0.05	0.74±0.02
Leu	0.94±0.04	0.88±0.01	0.68±0.04	0.74±0.03
His	0.91±0.06	0.87±0.01	0.23±0.09	0.28±0.00
Lys	0.93±0.02	0.88±0.04	0.58±0.02	0.39±0.04
Met	0.92±0.01	0.89±0.01	0.69±0.09	0.75±0.05
Cys	0.91±0.01	0.88±0.01	0.59±0.06	0.43±0.01
Trp	0.92±0.02	0.87±0.01	0.73±0.04	0.64±0.02
AVER	0.92±0.03	0.87±0.01	0.75±0.02	0.76±0.02

鱼粉氨基酸真消化率平均值为 92%、豆粕氨基酸真消化率平均值为 87%、棉粕氨基酸真消化率平均值为 75%、菜粕氨基酸真消化率平均值为 76%,与本室以前的研究结果相一致。

2.2 肽氨基酸占总氨基酸比例

鱼粉、豆粕、棉粕、菜粕 4 种蛋白质原料在胃、十二指肠、空肠水解产物中,肽氨基酸(PAA)占总氨基酸(TAA)的比例存在着明显的差异(表 4),其中,鱼粉在胃、十二指肠、空肠的水解产物中,肽氨基酸所占总氨基酸(TAA)的比例最大。其次是豆粕,棉粕和菜粕,其中棉粕在胃水解物中肽氨基酸(PAA)所占总氨基酸(TAA)的比例高于菜粕,而在十二指肠和空肠的水解物中低于菜粕。将每一消化段中的不同时间点作为重复进行统计,结果表明:鱼粉在胃的水解产物中 PAA 占 TAA 的比例与豆粕、棉粕之间差异不显著($P>0.05$),但与菜粕差异

显著($P < 0.05$); 在十二指肠的水解产物中, 鱼粉中 PAA 占 TAA 的比例与豆粕之间差异显著($P < 0.05$), 与棉粕、菜粕之间差异极显著($P < 0.01$)。

表 4 不同蛋白试验日粮在胃肠道水解物中 PAA 占 TAA 的比例

蛋白 饲料	胃				十二指肠				空肠			
	2 h	4 h	6 h	平均值	2 h	4 h	6 h	平均值	2 h	4 h	6 h	平均值
鱼粉	82.7	81.2	86.4	83.4 a	71.9	72.8	75.3	73.3 a	81.1	78.9	79.6	79.9 a
豆粕	78.8	80.8	85.6	81.7 a	58.6	63.9	61.9	61.5 b	68.3	74.1	75.5	72.6 b
棉粕	76.8	74.7	82.8	78.0 a	56.4	56.8	48.1	53.8 B	63.3	63.1	64.3	63.6 c
菜粕	67.6	74.9	81.4	74.6 b	55.3	60.7	48.8	54.9 B	59.6	68.2	67.6	65.1 c

同一列内字母相同表示差异不显著($P > 0.05$), 字母不同者表示差异显著($P < 0.05$), 其中大写字母表示差异极显著($P < 0.01$)。

2.3 蛋白质水解物中肽氨基酸含量与氨基酸消化率之间的相关性

由表 5 可以看出, 鱼粉中的氨基酸消化率优于豆粕, 豆粕的氨基酸消化率优于棉粕和菜粕, 棉粕与菜粕的氨基酸消化率比较接近。通过将这几种蛋白质饲料的氨基酸消化率与消化道不同阶段水解物中的 PAA 含量进行相关分析和比较发现: 饲料中 PAA 含量与其氨基酸消化率之间存在一种相关关系。通过比较分析表明, 这种相关程度受消化道位置, 消化时间点的影响(图 1, 2)。

由图中我们可以看出, 除 2 h 时间点的胃中 PAA 含量与氨基酸消化率相关较低外($r^2 = 0.6082$), 其余各不同时间点各段的 PAA 含量与氨基酸消化率相关都比较高。这向我们提示了不同蛋白原料的 PAA 水解量与氨基酸消化率之间确实存在一种相关性。另外, 除胃消化段外, 在另两个消化段, 6 h 时间点的 PAA 含量与氨基酸消化率的相关程度都要高于 4 h, 4 h 时间点又高于 2 h 时间点。这可能是时间越长, 肠道中的消化酶与食糜作用越充分, 从而饲料中的蛋白质被最大程度的水解, PAA 得到最大程度的释放, PAA 含量与氨基酸利用率之间的关系就表现的越为突出。试验结果进一步证实了蛋白质原料在消化道中的水解物形式影响着蛋白质被动物利用的程度。当蛋白质原料在消化道中以肽的形式水解时, 更有利于氨基酸的吸收, 而以游离氨基酸形式水解时, 效果则相反。其机理主要是由于小肽和氨基酸的吸收机制不同所引起的。

表 5 不同肠段 PAA 含量与氨基酸消化率之间的相关比较

部位	2 h	4 h	6 h
胃	0.6082	0.9584	0.9061
十二指肠	0.7271	0.8649	0.9633
空肠	0.8426	0.9306	0.9803

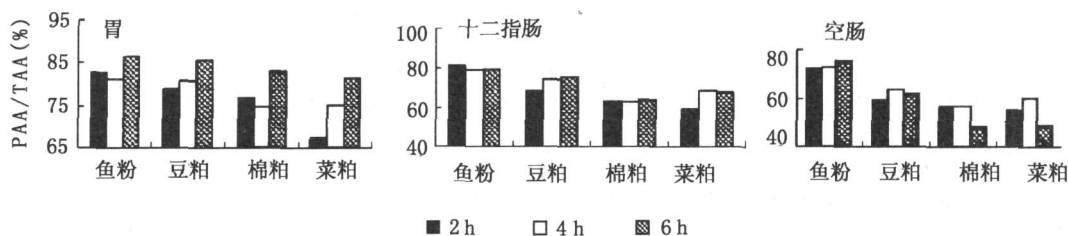


图 1 不同蛋白试验日粮在消化道各段中 PAA/TAA (%) 的比较

3 讨 论

动物摄入蛋白质后,在消化道内蛋白酶的作用下水解成肽、小肽和游离氨基酸。在不同肠段肠腔及肠细胞中,这些酶的分布、数量、相对比例及活性不同^[4]。胰蛋白酶、糜蛋白酶以及肠肽酶的分泌受摄入蛋白质的种类、数量、氨基酸组成或它们消化产物的影响^[5],因而,蛋白质氨基酸的组成和含量可能决定了小肽和FAA的释放数量和比例。在总结本研究结果时,我们发现,同一蛋白质日粮在消化道同一位点,随着消化时间的变化,FAA及PAA的含量都在变化,而且这种变化没有固定的规律。我们认为,由于蛋白质饲料在消化道中的水解与吸收是同时进行的,而消化酶的分泌除了受饲料本身影响之外,还要受到消化时间及消化底物的影响;在某些时间点,食糜中的FAA及PAA可能吸收处于主要地位,而在另一些时间点,可能分解会处于主导地位,这样就导致了FAA及PAA含量随时间变化而变化,且没有固定规律可寻的现象。但总结整个研究结果趋势,我们发现:鱼粉、豆粕这2种优质的蛋白质日粮在肠道中所释放的肽氨基酸比例较高,而棉粕、菜粕这2种相对劣质的蛋白质日粮所释放的肽氨基酸含量较低。结果表明不同蛋白质日粮在肠道水解产物中肽氨基酸的含量是与蛋白质品质有关,与国外的一些试验结果是相符合的。如,Asche等研究采食动物性蛋白、脱脂乳、豆饼和玉米蛋白粉时,动物性蛋白、豆饼在肠道中形成的可溶性蛋白质氮(大分子肽,小分子和二肽)含量高,玉米蛋白则低^[6]。饲喂植物性蛋白质饲料、氨基酸平衡较差的蛋白质(小麦蛋白、玉米蛋白粉)时,空肠中则以FAA为主;Meister研究表明:氨基酸平衡的蛋白质易产生数量较多的小肽,而劣质蛋白质则产生大量的游离氨基酸和少量分子量大的肽片断^[7]。需要说明的是:在本研究中,由于受采集样品数量限制,只进行了15种酸水解氨基酸(即除蛋氨酸、胱氨酸及色氨酸以外的氨基酸)的测定分析^[8],另外3种氨基酸是否会对本试验结果产生影响还有待于进一步探讨。国内研究表明:饲料蛋白质的小肽释放量与有效赖氨酸(Alys)呈高度相关。另外,加工、贮藏条件是影响蛋白质消化过程中小肽释放量与FAA比例的重要因素。Restani等在体外水解试验中,发现蒸制加工后的肉品与冷冻干燥及鲜肉相比,前者释放的SP量少,而后者的SP释放量高^[9]。经加热后长期存放的豆粕,小肽释放量仅为新鲜豆粕的63%,新鲜豆粕中有效赖氨酸(Alys)含量高^[10]。进一步研究加工、贮藏对蛋白质消化率与小肽释放量的关系,有助于掌握加工、贮藏等条件对蛋白质和氨基酸消化吸收的影响。

饲料中PAA在胃肠道中的水解量与饲料中的氨基酸利用率存在相关性,这主要是由于PAA中含有大量小肽,小肽可以直接被吸收^[11],而且与氨基酸的吸收机制不同所引起的。与氨基酸相比,小肽吸收机制:本身不易饱和、转运速度快、能缓解肠壁细胞对不同FAA摄入的竞争;而且肽本身对氨基酸或肽的转运有促进作用;Bamba等报道,小肽作为肠腔的吸收底物,不仅增加刷状缘膜的氨基肽酶活性,而且提高二肽酶和氨基酸载体的活性和载体数目^[12]。Brandsch等也观察到在生理条件下,空肠中存在酪蛋白水解物 β 酪内啡肽时,能够使L-亮氨酸流入肠壁细胞的动力学常数 V_{max} 和 K_m 增大^[13]。另外,肽与氨基酸的吸收优势部位有较大

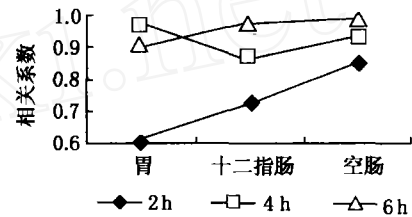


图2 PAA含量与氨基酸消化率相关性比较

的差别,通过肽与游离氨基酸吸收部位的互补可达到氨基酸的最优摄取^[14]。正是由于小肽在吸收上具有这些优越性,当饲料在消化道的水解物中富含较多的 PAA 时,就更有利于氨基酸的吸收,最终使饲料中的氨基酸得到最大程度的利用。因此,蛋白质饲料水解物中的肽氨基酸含量与氨基酸利用率存在明显的相关关系。由本试验结果可以看出,这种相关关系在 6 h 时间点的空肠阶段表现最为突出,相关系数高达 0.98,其次是 6 h 时间点的十二指肠消化段($R^2 = 0.96$)。

氨基酸的利用率是指饲料中被消化并被肠壁吸收的那些氨基酸占总氨基酸含量的比例。在畜禽氨基酸需要量的研究工作中,基础日粮选用的饲料来源不同,得到的氨基酸需要量结果有很大差异,其原因为不同饲料中氨基酸利用率之间的差异。可见,饲料蛋白质的营养价值不仅取决于氨基酸总量,而且取决于氨基酸的利用程度。本研究结果认为:不同来源的蛋白日粮其氨基酸利用率存在的差异,是由于该日粮在动物消化道内降解成小肽和氨基酸比例不同所致。

参 考 文 献

- 1 Boza J J, et al. Protein v. Enzymic protein hydrolysates. Nitrogen utilization in starved rats. Brit J Nutr, 1995,73:65~71
- 2 高启平. 饲粮完整蛋白质比例对肉雏鸡生产性能及蛋白质代谢的影响:[学位论文]. 雅安:四川农业大学动物营养研究所,1997
- 3 计成,锡林. 谷物饲料中氨基酸的 HPLC 测定. 北京农业大学学报,1988,14(3):349~355
- 4 Tarvid I. The development of protein digestion in poultry. Poultry and Avian Biology Reviews. 1995,6(1):35~54
- 5 Sonoyama K. Effect of dietary protein level on intestinal amino peptidase activity and mRNA level in rats. J Nutr Biochem, 1994, 5:291~297
- 6 Asche G L. Protein digestion in wealting pigs:effect of dietary protein source. J Nutr, 1989. 119:1093~1099
- 7 Meister A, Tate S S. Glutathione and related gamma—glutamy compounds: Biosynthesis and utilization. Annu Rev Physio,1987,21:559
- 8 Seal C J, Parker D S. Absolation and characterization of circulating low molecular weight peptidases in steer, sheep and rat portal and peripheral blood. Comp Biochem Physiol,1991, (3): 679~685
- 9 Restani P, et al. Digestibility of technologically treated lamb meat sample evaluated by an *in vitro* multienzymatic method. J Agric Food Chem,1992, 40:989~993
- 10 乐国伟. 不同比例小肽与游离氨基酸对氨基酸吸收的影响. 四川农业大学学报,1996,(S1):37~45
- 11 Newey H, Smith P H. Intercellular hydrolusis of dipeptides during intestinal absorption. J Physiol, 1960,152: 367~380
- 12 Bamba T, Sasaki M, Nambu T, et al. Usefullness of soybean peptide as a nitrogen source in the patients with malabsorption syndrome. Nutri Sci Soy Protein Jap, 1992,13:122~126
- 13 Brandsch M, et al. Beta casomorphins—chemical signals of intestinal transport systems. In: Bratl V, ed. Beta-Cosomorphins and Related Peptides; Recent Development. 1994,207~209
- 14 王燕桃. 饲粮蛋白质对来航公鸡胃肠道寡肽的释放及肝门静脉血浆寡肽的影响:[学位论文]. 雅安:四川农业大学动物营养研究所,1997