

# 尼龙袋法评定单胃动物饲料营养价值研究进展

戴 焱 曹 娟 李昌茂 刘代强 杨正德

饲料营养价值的准确评价是研究动物营养需要和进行日粮配方的前提和基础。在评定饲料营养价值的方法中，尼龙袋法（Nylon Bag Technique）和动物的消化过程紧密结合，其测定结果同体内试验具有良好的可比性，且重复性好、操作相对简单，便于大批样品的研究，在评定饲料营养价值（特别是蛋白质和氨基酸营养）方面被广泛采用，Orskov和McDonald等还提议建立尼龙袋法的饲料养分标准数据库。但是，尼龙袋法由于受试验材料、操作程序、试验动物内环境等诸多因素的影响，造成测定结果的许多不确定性。本文就尼龙袋技术在单胃动物饲料的营养价值评定及影响测定结果的因素方面的研究进展作一综述。

## 1 尼龙袋技术的发展概况及特点

### 1.1 尼龙袋技术的发展概况

尼龙袋法作为测定饲料消化率的一门技术已有较长历史，早在1938年Qui n等发现用丝做的袋子可部分被降解，而人造纤维则完全不会被降解，于是将材料换成了人造纤维。Schoeman等（1972）利用尼龙袋法评定了甲醛对瘤胃中蛋白质的降解作用。Mehrez 和 Orskov（1977）建议用尼龙袋法作为常规方法来测定基础日粮及蛋白质补充料的降解，他们用多个袋子，分别发酵不同的时间，而后取出，这样可以对降解进行数量描述。在国内，冯仰廉首先用尼龙袋法测定了几种精料的消化率（方热军，2003）。

尼龙袋法从广义上可分为体外法和体内法两种。体外法是将装有被测样品的尼龙袋在体外一定条件（消化酶、缓冲液等）下进行培养，以考察袋内物质的变化。体内法根据位置的不同，又可分为原位法（in situ）和活动尼龙袋法（MNBT）（钟华宜，2000）。采用尼龙袋技术评价动物对饲料的利用可以追溯到18世纪，涉及动物主要包括猪、牛和羊。根据研究所采用的方法和手段，将其分为肛门收样期、瘘管期和数学模型期，其中数学模型期的建立以前两个时期为基础。

### 1.2 尼龙袋技术的特点

肛门收样期主要特点是不用做手术，直接从粪中收集样品袋；瘘管期的主要特点是将尼龙袋送入动物特定部位，研究袋中养分消失情况；数学模型期的主要特点是拟定估测蛋白质动态降解率的方程，从而使静态研究转向符合动物自身状况的动态研究。

## 2 尼龙袋技术评定单胃动物饲料养分利用率

### 2.1 消化率评定

测定单胃动物饲料养分消化率的传统方法包括全收粪法和指示剂法，两种方法均耗费耗时量大。为了克服传统方法的不足，在前人的基础上将尼龙袋技术运用于单胃动物，创建出活动尼龙袋技术（Moble nylon bag technique, MNBT），并建立MNBT的操作程序（谯

仕彦, 2002)。

其操作程序为：用网孔孔径为48μm的单纤丝尼龙制作25×40mm<sup>2</sup>小袋，将1g粉碎粒度为1.0mm待测饲料样品装入尼龙袋，置于盛有500mL的0.01N盐酸和胃蛋白酶溶液的烧杯中，将烧杯于37℃水浴振荡2.5h，溶液pH为2.0，胃蛋白酶含量为377.4 IU/L。将尼龙袋从烧杯中取出，通过十二指肠瘘管引入体重为40kg左右的健康猪体内，待尼龙袋通过消化道后从粪中回收尼龙袋，用干纸巾轻轻揩去袋子表面粪便，冷冻干燥，测定袋内剩余物质中养分的含量，计算待测饲料养分消化率。

采用MNBT和全收粪法分别测定饲料GE消化率比较。Sauer等用MNBT和全收粪法比较测定了3个品种大麦的GE消化率，两种方法测定结果非常接近；而De Lange对燕麦、大麦、小麦和玉米的测定结果表明，用MNBT所测得的GE消化率比全收粪法低12个百分点(P<0.01)，这可能与MNBT缺乏唾液淀粉酶的消化有关。Darroch等采用MNBT，研究了生长猪不同麦壳含量对大麦能量消化率的影响，结果表明随着被测样品中麦壳含量的提高，其DE呈线性下降(DE=251.956-9.407GE-0.114Hulls, n=5, r<sup>2</sup>=0.97)。预测总能消化率(ED)和DE模型分别为：ED(%)=265.168-9.677GE-0.334ADF(r<sup>2</sup>=0.97)；DE(MJ/kg)=30.91-0.810GE-0.057ADF(r<sup>2</sup>=0.98)或DE(MJ/kg)=51.60-1.867GE-0.036NDF(r<sup>2</sup>=0.97)。Beames等采用MNBT建立了用大鼠能量表观消化率(AED)预测猪AED的回归方程，其回归系数r<sup>2</sup>=0.97(徐红蕊, 2005)。谯仕彦等比较了MNBT和指示剂法测定GE消化率的结果，表明前者仅比后者高1%(钟华宜, 2004)。综述不同研究结果可以看出，MNBT与传统方法所测定的GE消化率之间高度相关，可通过建立回归方程对MNBT法的测定值进行校正。

## 2.2 蛋白质、氨基酸消化率评定

采用MNBT评定猪饲料蛋白质、氨基酸消化率，近几年测定结果都不很理想，主要是某些饲料的测定结果与回肠末端收糜法存在较大差异。Sauer将待测样品在胃内或体外培养(2.5h)后，再经十二指肠瘘管放入体内，考察猪对豆粕(SBM)、肉骨粉(MBM)蛋白质的小肠消化率，并与常规法比较，结果表明胃内培养后用MNBT所测得的结果比常规法明显偏低；而体外培养与常规法所得结果基本一致(李杰, 2000)。Yi n等比较了体外不同培养时间(2.5h, 4.0h)的玉米、稻谷、鱼粉的MNBT和回肠末端食糜法测定CP表观消化率(DCP)的差异，结果发现除鱼粉外，随着培养时间的延长，MNBT的DCP提高，而回肠末端食糜法测定的DCP影响不显著。综述前人研究结果，不同饲料(原料)CP表观消化率MNBT(Y)和全收粪法(X)测定结果高度相关(Y=5.54±0.97X r<sup>2</sup>=0.925)，MNBT能很好地估测蛋白质补充料和豆科籽实等高蛋白含量饲料的CP消化率，但对于谷物籽实及其副产品，两种方法测定结果存在较大差异(7%~11%)(de Lange C F, 2001)。这种差异，一方面可能与尼龙袋受内源影响或外源污染有关；另一方面可能由于尼龙袋难以通过胃的幽门部，采用MNBT测定时必须分胃和小肠消化两个阶段，而前一阶段的消化不可能完全模拟自然条件下胃的消化过程。同时，日粮中纤维素水平对测定结果也有影响，当饲料无氮浸出物大于55%时，MNBT和全收粪法测定结果差异显著(Sauer W C, 1999)。

采用MNBT分别从粪和(或)回肠末端取袋测定饲料氨基酸消化率。饲料颗粒大小显著影响MNBT测定的氨基酸消化率结果，颗粒越小消化率越高，这可能与袋中待测饲料缺乏物理消化有关。采用MNBT测定玉米、大麦、菜粕、豆粕、棉粕和3种混合日粮的氨基酸回肠表观消化率(AIDAA)，并与回一直肠吻合术(IRAT)的AIDAA结果进行比较，发现二者之间存在较强的相关关系(r<sup>2</sup>=0.5~0.90)(表1)(Wusheng Yi n, 2007)。

表1 MNBT (X) 法与IRAT(Y)法所测AIDAA的回归关系

项目	截距	斜率	r <sup>2</sup>	n

Thr	-7.65	1.06	0.79 ②	9
Val	8.24	0.89	0.81 ②	9
Met	32.5	0.58	0.66 ②	9
Ileu	33.6	0.56	0.67 ②	9
Leu	15.6	0.80	0.70 ②	9
Phe	9.48	0.88	0.66 ②	9
His	19.7	0.75	0.50 ①	9
Arg	-12.5	1.15	0.90 ②	9
Asp	12.4	0.82	0.59 ①	9
Ser	7.70	0.90	0.78 ②	9
Glu	14.1	0.83	0.76 ①	9
Gly	16.6	0.77	0.76 ②	9
Ala	28.8	0.61	0.64 ②	9
Pro	15.6	0.87	0.64 ②	9
Tyr	-21.6	1.22	0.78 ②	9

注：① $P < 0.05$ ；② $P < 0.01$ 。引自Wusheng Yin, 2007。

研究表明，MNBT是一种非常有希望测定AIDAA的方法，它克服了回肠食糜收集过程中需要大量人力、物力、财力的缺点（Cor J.M, 1997）。只要尼龙袋的孔径、胃的预消化和洗涤等方面实行标准化，对营养研究领域特别是饲料蛋白质氨基酸的评定将产生积极的意义。

### 2.3 饲料粗纤维营养价值评定

采用MNBT可以较容易的评定日粮纤维在消化道各部位的降解情况，同时还可以测定纤维组分对其他养分利用率的影响。Robertson等曾用MNBT测定了高低两种戊糖含量的饲料（谷糠和芫菁）在猪盲肠中的消化率，结果表明芫菁中的纤维几乎可以全部被降解，而谷糠中的纤维在盲肠中很难降解。芫菁中木糖的降解率要比谷糠中的木糖降解率低。采用常规法和MNBT，比较细胞壁成分对其他养分表观消化率的影响，结果表明添加同样的日粮纤维，常规法测定的纤维对日粮能量和蛋白质表观消化率的影响结果要比MNBT小。因此常规法测定的单一饲料细胞壁成分对其他养分消化率影响的结果不能代表全价日粮的情况（C.S.Darroch, 1998）。饲料中的粗纤维在MNBT法和常规法测定过程中起着不同的作用，在MNBT法中，尼龙袋中的粗纤维具有与海绵相类似的作用，可以从环境中吸收大量的内源代谢物，从而导致饲料表观消化率偏低；在常规法中，饲料中的粗纤维可加速肠道上皮细胞的脱落，也可以导致表观消化率偏低。两种方法所测结果的差异可以通过减少尼龙袋中的样品量加以适当克服（R.J.Dewhurst, 1995）。

### 2.4 MNBT的影响因素及改进措施

影响尼龙袋法的因素较多，如孔径大小、基础日粮、待测样品、洗涤程序、微生物污染等，它们同样影响MNBT的测定结果。但是，由于单胃动物和反刍动物消化生理上存在的明显差异，采用MNBT时，选择恰当的参数对保证测定结果的准确性和可比性相当重要，需要特别指出的是由于尼龙袋无法通过猪的幽门部位，因此MNBT必须有模拟胃的预消化过程。Cherian等对尼龙袋体外孵化的条件进行了系统研究，认为pH为2.0，预消化4h，酶活377IU/L，样品0.5g时得到的结果与常规法最为接近（B.Mupeta, 1997）。研究表明除了鱼粉外，预处理2.5h和4h对多数饲料的消化率没有影响，但为了保险起见仍推荐所有饲料预处理时间为4h（钟华宜, 2004）。

尼龙袋的回收方法也是影响测定结果的重要因素之一。通常是将一定时间内排出的尼龙袋从粪便中分离出来，弃去受尿液污染和破损的尼龙袋，并尽量去除袋外的污物，经冷冻干燥后，切开尼龙袋，回收其中的消化残渣进行分析。为了克服回收过程中粪、尿对袋

的污染，谯仕彦等提出改进的MNBT法测定的DM、GE以及CP的消化率与指示剂法的测定结果相当一致。MNBT法仅将DM消化率低估了1%，GE消化率高估了1%（Sauer W.C，1999）。

### 3 尼龙袋法评定单胃动物饲料营养价值的优缺点

#### 3.1 尼龙袋法的优点

尼龙袋技术将待测饲料和动物体内环境紧密结合，其所得的结果和体内法具有很好的可比性，具有测定速度快、所需样品小、费用低、可操作性强等特点。

用于猪饲料养分消化率测定的MNBT是一种体内法和体外法相结合的新方法。研究结果表明，用它来估测饲料DM、GE及蛋白质消化率，其结果与常规法相当一致；同时，它也是估测饲料氨基酸消化率最有希望的方法，并可以克服某些单一饲料适口性差所带来的测定困难（Han M.S，2003）。

#### 3.2 尼龙袋法的缺点

尼龙袋法能有效估测饲料的消失速度以及潜在的降解率，但是其缺点为一次只能测定少量样本，而且需要至少3头瘰管动物来消除动物间的个体差异，因此，该方法不适合在实验室进行大量样本的常规分析；另外，应用该技术时，消化初期阶段样本的流失以及微生物对品质不同的粗饲料的附着情况会使试验结果失真。通过对尼龙袋法和两步法的比较，发现前者会高估饲料消化率（Young L G，1991），因此尼龙袋法虽已被广泛应用，但仍有待改进。

### 4 尼龙袋法的研究前景

尼龙袋法在评定饲料营养价值时，其操作过程受基础日粮、尼龙袋孔径大小、操作程序以及微生物等因素的影响，只有对这些影响因素深入了解并加以控制，才能使该方法得以合理利用。建立和完善规范化、标准化的操作程序（特别是猪饲料养分评定）对提高不同实验室之间所测结果的可比性是非常必要的。

尼龙袋法用于单胃动物饲料养分生物学效价的评定中，需探索确立单胃动物标准化测定程序；瞬间培养样品微粒损失所造成的误差；以及对高蛋白含量样品的评定问题（同标准化的碳水化合物相结合进行测定）；另外，尼龙袋法用于饲料除干物质、蛋白质、纤维外其他养分（如矿物质、维生素）效价的评定方面作进一步的探讨和深入研究（谯仕彦，2002）。

（参考文献略）