

会员登录

用户名:

密码:

验证码: 3828

登陆

注册

相关文章

- 野生翘嘴红 各器官、组织中...
- 壳聚糖对草鱼生长、抗病性能...
- 脂肪软胶囊对虹鳟鱼生长影响...
- 罗非鱼对木薯粉表现消化率的...
- 饲料中添加磷脂油、胆碱、L-...
- 不同磷源对奥尼罗非鱼幼鱼生...
- 中草药对鲤鱼非特异性免疫功...
- 谷胱甘肽对凡纳滨对虾生长、...
- 虹鳟鱼饲料中肉骨粉替代鱼粉...
- 饲料中添加虾安I对南美白对...
- 饲料中添加硅肥对鲤鱼肠、肝...

合作伙伴



鲫鱼肠道对四种蛋白质饲料的体外消化与其酶解液中氨基酸吸收效率的研究

作者:白燕 叶元士

期号:2006年第10期

摘要 采用离体消化方法测定了鲫鱼肠道对鱼粉、花生粕、菜粕、棉籽粕的体外消化率和氨基酸的生成效率。同时采用同位素示踪法和肠道离体灌注模型分别测定了鲫鱼离体肠道对4种蛋白质饲料体外酶解液中氨基酸的吸收速度。结果表明:鲫鱼肠道对鱼粉、花生粕、菜粕、棉籽粕的体外消化率分别为48.51%、85.52%、60.64%、67.22%,其中以花生粕最高,鱼粉最低,消化率彼此之间的差异均显著($P<0.05$)。在酶解过程中氨基酸的生成量逐渐增加,以生成的氨基酸量占饲料量的百分比表示氨基酸的生成效率,在酶解7h时以鱼粉最高为12.23%,其次是花生粕为12.14%、棉籽粕为11.23%、菜粕为6.78%。鲫鱼肠道(每克)对4种蛋白质饲料酶解液中氨基酸的吸收转运速度,以鱼粉最高,在灌注40 min时,速度为1.058mg/min,其次为花生粕0.782mg/min、棉籽粕0.679mg/min、最低为菜粕0.451mg/min,差异显著($P<0.05$)。如果以单位时间内肠道对氨基酸的吸收转运量占流过肠道的氨基酸总量的比例表示肠道对氨基酸的吸收效率,结果为鲫鱼肠道对4种蛋白质饲料酶解液氨基酸的吸收转运效率间无显著性差异($P>0.05$),所以肠道对氨基酸的吸收效率可能并不受饲料种类的影响。

关键词 鲫鱼;离体肠道;体外消化;氨基酸生成效率;吸收速度;鱼粉;蛋白质饲料
中图分类号 S963.73+1

由于不同的饲料原料具有不同的化学结构和组成,不同种类鱼的消化功能不同,所以鱼类对各种饲料原料有不同的消化力。叶元士等利用鱼类离体肠道测定草鱼对不同饲料蛋白质的消化率和氨基酸的吸收效率,结果表明,草鱼肠道对饲料蛋白质的消化效率有较大差异,但对蛋白质水解产物——氨基酸的吸收效率并无显著性差异,从而可以认为肠道对氨基酸的吸收效率可能不受饲料种类的影响。

离体消化率的测定是对饲料原料的可利用性的生物评价方法之一,具有快速、简便的优点。肠道离体灌注也是研究肠道对营养物质吸收规律的有效手段和方法。本文的主要目的在于通过蛋白质饲料的离体酶解反应和肠道的离体灌注试验,定量地分析比较鲫鱼对不同蛋白质饲料的氨基酸生成效率和肠道对氨基酸的吸收效率,探讨鲫鱼对不同蛋白质饲料消化效率、吸收效率的差异,并以此为实际水生动物配合饲料的合理配制提供参考。

1 材料和方法

1.1 饲料原料

选择国产鱼粉、花生粕、菜粕、棉籽粕共4种常规蛋白质饲料原料,经过粉碎机粉碎后全部通过80目标准筛。

1.2 离体消化率的测定方法

1.2.1 消化酶制备

取在循环养殖系统中经过配合饲料养殖2周的鲫鱼20尾,平均体重126g,常规解剖得到肠道,滤纸吸干后称重,按照肠道10倍的重量加入pH值7.4、0.2mol/l的磷酸缓冲液,玻璃匀浆器匀浆,冷冻、离心(-4℃、10 000r/min、20min),取上清液于冰箱中冷冻保存备用。

1.2.2 饲料样品的酶解方法

精确称取饲料样品5.000g放于250ml带塞三角瓶中,加入pH值7.4、0.2mol/l的磷酸缓冲液95ml和肠道酶提取液30ml(保持消化液体积为饲料样品质量的25倍左右)。为防止微生物的干扰加入双抗(青霉素、链霉素合剂)300mg,在30~32℃水浴锅中保温酶解7h。每个试验样品设置3个平行,每个试验至少重复2次。

1.2.3 离体消化率计算

按照1.2.2的方法分别对饲料样品酶解7h后用定量滤纸过滤,滤渣用30℃温水洗涤2次。将消化前的饲料样品和滤渣在70℃烘至恒重,精确称量滤渣质量。采用凯氏定氮法对烘干的饲料样品和消化滤渣进行粗蛋白质含量测定,按照公式计算饲料样品的离体消化率:

蛋白质离体消化率(%) = (消化前饲料重量 × 饲料粗蛋白质含量 - 消化后滤渣质量 × 滤渣粗蛋白质含量) / (消化前饲料质量 × 饲料粗蛋白质含量)。

1.3 酶解液氨基酸总量测定及计算方法

按照1.2.2的方法分别对饲料样品进行酶解,于0、1、3、5、7h分别取酶解液0.2ml(同时补充等体积的磷酸缓冲液),加入10%的三氯醋酸0.2ml,待蛋白质沉淀后以6 000r/min离心20min后,取上清液0.1ml采用茚三酮法测定OD570值,用亮氨酸作标准曲线计算酶溶液氨基酸的总量,再按照酶解的氨基酸总量(扣除饲料酶解前的游离氨基酸含量)占饲料量的百分比计算氨基酸的消化生成效率。

1.4 用于肠道灌注的酶解液制备方法

按照1.2.2的方法对鱼粉、花生粕、菜粕、棉籽粕进行酶解7h后,取酶解液以10 000r/min离心25min,收集上清液为酶解液,于冰箱冷冻保存备用。定量取此酶解液0.2ml加入10%三氯醋酸0.2ml,待蛋白质沉淀后以6 000r/min离心20min,采用茚三酮定量测定酶解液氨基酸浓度。

1.5 灌注试验方法

采用叶元士等利用的肠道灌注系统进行蛋白质饲料酶解液的灌注试验。整个灌注系统置于生化培养箱中,控制环境温度在28℃,恒流泵控制灌注液的流量在2.00ml/min,由氧气瓶从灌注开始前5min就向培养液中充入医用氧气以保持肠道组织活性。

1.6 离体肠道的制备

将鲫鱼捣毁脊髓处死,立即解剖取出肠道,在生理盐溶液浸渍下剔除肠道外壁上的脂肪、血污等,在灌注系统中用生理盐溶液冲洗干净肠道内容物,置于生理盐溶液中待用。每次灌注试验用一尾鲫鱼的肠道,每次试验至少重复3遍。用于解剖获取肠道的鲫鱼平均体重为126g,试验前养殖于室内循环养殖系统中,养殖环境温度为25℃左右,投喂粗蛋白质为30%的颗粒配合饲料2周以上。

1.7 肠道对氨基酸平均转运速度计算方法

在灌注液中加入放射性酪氨酸(L-[4,5-3H]-tyr,放射性浓度为0.5毫居里/毫升),从灌注开始(0min)每10min取肠道外培养液0.1ml,持续40min,并取开始时肠道外培养液样品。每次取样品液100μl,取3个平行样品,并补充同样体积的生理盐溶液以保持肠道外培养液总体积恒定。取肠道内灌注液100μl于闪烁瓶内,设3个平行样品,样品液均置于闪烁瓶

内加入闪烁液5ml放置半小时后,在SN-6930液体闪烁计数器中计数(cpm值)。因灌流液的氨基酸浓度是已测知的,所以根据灌流液cpm值和肠道外培养液cpm值,就可计算出肠道外培养液的氨基酸浓度,再根据培养液体积(40ml)计算经过肠道转运到培养液中的氨基酸总量,最后根据吸收转运的时间计算单位质量肠道对氨基酸的平均转运速度。

1.8 数据的表示与处理

由于鱼体大小差异使肠道长度和质量有一定的差异,为减小试验误差,统一比较标准,我们把鲫鱼肠道对试验氨基酸的跨壁运输量表示为单位肠道组织重量(g)对试验氨基酸的跨壁运输量,并以此为基础计算氨基酸吸收转运速度,计算公式如下:

转运到肠道外培养液中氨基酸的浓度=灌流液氨基酸浓度×(肠道外培养液cpm值-空白培养液cpm值)/灌流液cpm值;

跨壁运输量=(培养液cpm值-空白培养液cpm值)×灌流液氨基酸浓度×培养液体积/(灌流液cpm值×肠道质量);

氨基酸平均转运速度=(培养液cpm值-前10min时培养液cpm值)×灌流液氨基酸浓度×培养液体积/(灌流液cpm值×肠道质量×10)。

在肠道灌注系统中用恒流泵控制肠道酶溶液的流过速度为2.00ml/min,通过酶溶液中氨基酸的浓度计算单位时间(min)流过肠道的氨基酸量。

肠道对氨基酸的吸收转运效率(%)=每分钟氨基酸的平均吸收转运量/每分钟流过肠道内的氨基酸量。

数据采用Microsoft-Excel2003作统计处理,采用多重比较的最小显著极差法(LSR法)进行差异显著性分析。

2 试验结果

2.1 离体消化率

鱼粉、花生粕、菜粕、棉籽粕4种蛋白质饲料在消化前的粗蛋白质含量分别为69.13%、55.06%、44.25%、50.58%。在离体条件下,通过肠道消化酶水解7h,得到鲫鱼对鱼粉、花生粕、菜粕、棉籽粕蛋白质的离体消化率分别为48.51%、85.52%、60.64%、67.22%,花生粕消化率最高,鱼粉最低,消化率彼此之间的差异均显著(P<0.05)。

2.2 酶解蛋白质饲料氨基酸生成效率

分别于0、1、3、5、7h取酶解液测定生成的氨基酸总量(以0h量为零),以生成的氨基酸总量占饲料量的百分比表示蛋白质饲料酶解氨基酸生成效率,结果见图1。

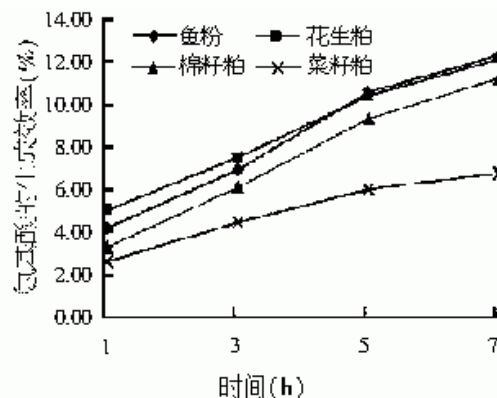


图1 氨基酸生成量占饲料总量的百分比(即氨基酸生成效率)

如果以7h时鱼粉酶解氨基酸生成效率(12.23%)为100%,则花生粕(12.14%)为鱼粉的99.26%、棉籽粕(11.23%)为鱼粉的91.82%、菜粕(6.78%)为鱼粉的55.44%。在离体条件下,鲫鱼肠道对鱼粉和花生粕酶解氨基酸的生成效率非常接近,但鱼粉、花生粕与棉籽粕、菜粕之间以及棉籽粕和菜粕之间均有显著性差异(P<0.05)。

2.3 肠道对氨基酸的跨壁转运量

每10min测定肠道外培养液中氨基酸的量,结果见图2。

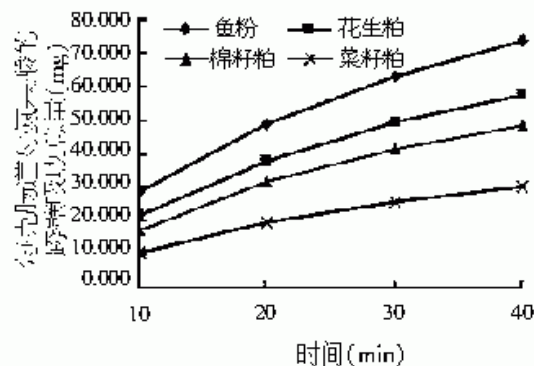


图2 肠道对氨基酸的跨壁转运总量

随着时间的推移,肠道外培养液中积累的氨基酸逐渐增加,表现为一定的线性关系;肠道对4种蛋白质饲料酶解液中氨基酸跨壁转运的量有显著的差异(P<0.05),以对鱼粉酶解液氨基酸跨壁转运的量最大,其次为花生粕、棉粕和菜粕。如果以40min时每克肠道对鱼粉水解液氨基酸的跨壁转运量(73.319mg)为100%,则对花生的跨壁转运量(57.247mg)为鱼粉的78.08%、棉粕(48.256mg)为鱼粉的65.81%、菜粕(30.388mg)为鱼粉的41.45%。

如果以每分钟对氨基酸的平均转运速度进行分析,结果见图3。10min内的平均转运速度最高,随后转运速度逐渐下降。4种蛋白质饲料酶解液中氨基酸的转运速度也以鱼粉最高,40min时,鱼粉的转运速度为1.058mg/min、其次为花生粕0.782mg/min、棉粕为0.679mg/min,最低为菜粕0.451mg/min,彼此间差异显著(P<0.05)。

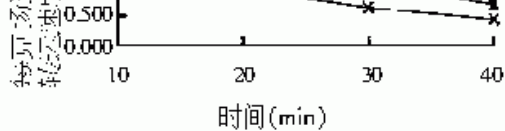


图3 肠道对氨基酸的平均转运速度

2.4 肠道对氨基酸的吸收效率

以单位时间鲫鱼肠道对氨基酸的吸收转运量与单位时间内流过肠道的氨基酸量的比值作为肠道对氨基酸吸收转运效率,结果见图4。转运效率以10min以前最高,40min时最低,随时间延长,吸收转运效率总体表现为下降趋势。从图4可见鲫鱼肠道对4种蛋白质饲料酶解液中氨基酸的吸收转运效率没有显著性差异 ($P>0.05$)。

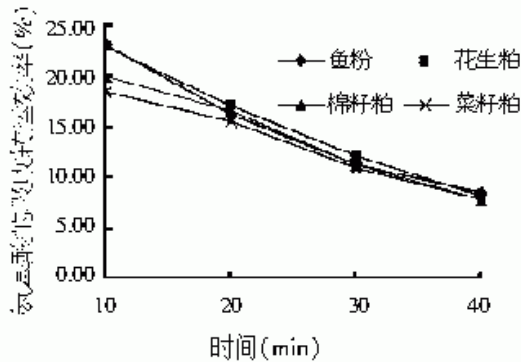


图4 单位时间肠道对氨基酸的吸收转运效率

3 讨论

在离体消化条件下,鲫鱼肠道组织的消化酶对4种蛋白质饲料具有不同的蛋白质消化率和氨基酸生成效率,表明鲫鱼对不同的饲料蛋白质具有不同的消化能力。出现这种差异的主要原因是不同的饲料原料具有不同的化学组成和组织结构。鱼粉、花生粕、棉籽粕、菜粕的氨基酸组成不同,在相同的水解酶类作用下,消化酶对蛋白质水解位点的位置和数量就会有很大的差异,从而导致相同的消化酶系统对不同的饲料蛋白质的水解效率的差异,产生不同的消化率和氨基酸生产效率。另外,不同的饲料原料具有不同的组织结构,使得不同的饲料蛋白质溶解于水中的速度和溶解度大小也有很大的差异,这种差异同样可以使得不同的饲料原料具有不同的可消化性。在本试验中,鲫鱼对鱼粉的离体消化率明显低于其它3种蛋白质饲料,这似乎与其高蛋白含量相矛盾,但在试验中我们发现,鱼粉在酶解之前其游离氨基酸含量远远高于其它蛋白质饲料,在离体条件下,高游离氨基酸含量可能对肠道内酶的水解作用起了抑制作用,从而可能导致鱼粉的消化率下降。

由于在活体条件下动物对饲料蛋白质的消化和吸收是同步进行的,很难分别测定和计算消化效率和吸收转运效率,而离体消化和吸收试验则可以有效解决这个问题。在本文的离体试验结果中,鲫鱼肠道对鱼粉、花生粕、棉籽粕、菜粕的酶解液氨基酸的跨壁吸收转运速度有显著的差异。但是,如果以单位时间内肠道对氨基酸的吸收转运量与肠道内流过的氨基酸量的比值作为肠道对氨基酸吸收转运效率,则这4种蛋白质饲料无显著性差异。叶元土等在试验中已经发现草鱼粪便中虽然有一定量的水溶蛋白质存在,但游离氨基酸含量为零,表明在活体条件下草鱼肠道对氨基酸的吸收是完全的,并且,叶元土等测定草鱼对鱼粉、豆粕、菜粕、棉籽粕的离体消化吸收的试验,结果还表明,草鱼对4种蛋白质饲料的消化产物——氨基酸的吸收转运效率无显著性差异。本试验结果与前人试验结果一致,这一结果表明,鱼类肠道对蛋白质的消化产物的吸收是完全的,其吸收转运效率在不同蛋白质饲料之间没有显著性的差异。这样,对于一种饲料蛋白质而言,其营养作用的完全发挥在消化产物的吸收环节并不会成为主要的限制性环节,而产生饲料蛋白质营养价值和营养作用发挥具有种类特异性的生理环节主要在消化过程中和消化产物进入肠外组织以后。

4 结论

鲫鱼离体肠道对4种蛋白质饲料的消化率以花生粕为最高,并且花生粕的氨基酸生成效率也较高,与鱼粉相差甚微,所以鲫鱼配合饲料中在保证氨基酸平衡的前提下可适当提高花生粕在饲料中的比例。鱼类肠道对蛋白质的消化产物的吸收是完全的,其吸收转运效率在不同蛋白质饲料之间没有显著性的差异,所以,要提高饲料氨基酸的利用效率,就要提高饲料的可消化性和氨基酸的平衡程度。

参考文献

- 1 叶元土, 蔡春芳, 林仕梅, 等. 鱼类肠道离体灌流试验系统[J]. 中国畜牧兽医, 2002, 29(6):26~27
- 2 叶元土, 林仕梅, 罗莉, 等. 草鱼肠道对10种必需氨基酸的吸收[J]. 中国水产科学, 2003, 10(4): 311~317
- 3 叶元土, 林仕梅, 罗莉. 茚三酮法测定蛋白质饲料中水溶蛋白质成分[J]. 饲料工业, 1993, 14(9): 18~21
- 4 曾端, 叶元土, 林仕梅, 等. 草鱼肠道对氨基酸吸收的离体培养方法的研究[J]. 动物营养学报, 2000, 46(1): 1~8
- 5 吴冠芸, 潘华珍, 吴. 生物化学与分子生物学实验常用数据手册[M]. 北京: 科学出版社, 2002. 112~113
- 6 王雪梅, 许丽. 同位素示踪技术在动物营养研究中的应用[J]. 中国饲料, 2002(8): 31~32
- 7 李建武, 萧能庚, 余瑞元, 等. 生物化学实验原理和方法 [M]. 北京: 北京大学出版社, 1994. 60~182

(编辑: 孙崎峰, sqf0452@126.com)

...评论...

发表
评论

*40字以内

提交

重置

[关于我们](#) | [网站导航](#) | [友情连接](#) | [联系我们](#) | [会员须知](#) | [广告服务](#) | [服务条款](#)

版权所有:饲料工业杂志社 Copyright © [Http://www.feedindustry.com.cn](http://www.feedindustry.com.cn) 2004-2005 All Rights 辽ICP备05006846号

饲料工业杂志社地址:沈阳市皇姑区金沙江街16号6门 邮编:110036 投稿:E-mail:tg@feedindustry.com.cn 广告:E-mail:ggb@feedindustry.com.cn

编辑一部:(024)86391926(传真) 编辑二部:(024)86391925(传真) 网络部、发行部:(024)86391237 总编室:(024)86391923(传真)