

不同热处理棉籽中蛋白质分子结构与其营养价值、瘤胃降解特性的相关性研究

徐文彬 高博兰 祝全超 戚丹杰 高悦 李浩然 孙满吉*

(东北农业大学动物科学技术学院, 哈尔滨 150030)

摘要: 本试验旨在探究不同热处理对棉籽蛋白质营养价值、瘤胃降解特性与小肠消化率和分子结构的影响,并探讨棉籽蛋白质分子结构与其营养价值、瘤胃降解特性与小肠消化率之间是否存在相关性。试验分别采用干热(140、150和160℃分别加热1h)、微波(700W分别加热1、2和3min)和 γ 辐照(剂量分别为30、45和60kGy)的加热方式处理棉籽。采用常规化学分析法、康奈尔净碳水化合物-净蛋白质体系(CNCPS)、尼龙袋法和改进的三步体外法对不同热处理棉籽中蛋白质营养价值、瘤胃降解特性和小肠消化率进行评定,结合傅里叶变换红外光谱(FTIR)技术分析棉籽蛋白质的分子结构,并对棉籽蛋白质分子结构与其营养价值、瘤胃降解特性与小肠消化率之间的相关关系进行分析。结果表明:1)不同热处理对棉籽中蛋白质成分和CNCPS组分无显著影响($P>0.05$)。2)不同热处理极显著影响瘤胃可溶部分、瘤胃可降解部分、瘤胃不可降解部分、蛋白质的瘤胃有效降解率以及小肠可消化蛋白质与总可消化蛋白质含量($P<0.01$)。随着热处理时间的延长或强度的增加,棉籽蛋白质瘤胃有效降解率、总可消化蛋白质的含量和瘤胃非降解蛋白质的小肠消化率逐渐降低,小肠可消化蛋白质的含量逐渐升高。3)不同热处理对棉籽蛋白质分子结构酰胺I带峰高、酰胺I带峰面积、酰胺II带峰高、酰胺II带峰面积、 α -螺旋峰高、 α -螺旋与 β -折叠峰高比产生了极显著影响($P<0.01$)。除微波加热3min外,其他热处理均显著升高了棉籽蛋白质分子结构中酰胺I带峰高、酰胺I带峰面积、酰胺II带峰高、酰胺II带峰面积($P<0.05$),同时45和60kGy γ 辐照还显著升高了 α -螺旋峰高、 α -螺旋与 β -折叠峰高比($P<0.05$)。4)棉籽中蛋白质分子结构与其营养价值、瘤胃降解特性和小肠消化率之间存在相关性,并能建立回归方程,其中预测中性洗涤不溶蛋白质、可溶性蛋白质、快速降解真蛋白质、中速降解真蛋白质、慢速降解真蛋白质的回归方程的 R^2 均在0.9以上,但部分回归方程的 $R^2<0.6$ 。综上所述,3种热处理方式均对棉籽中蛋白质的瘤胃降解特性、小肠消化率和分子结构产生了影响。热处理能够增加过瘤胃蛋白质和小肠可消化蛋白质的含量,以辐照剂量为60kGy时效果最佳。棉籽蛋白质分子结构与其营养价值、瘤胃降解特性和小肠消化率存在相关性,并能够建立回归方程,但部分变量回归方程的 $R^2<0.6$,仍需做进一步的研究。

关键词: 热处理;棉籽;傅里叶变换红外光谱;蛋白质分子结构;营养价值;相关性

中图分类号:S816

文献标识码:A

文章编号:1006-267X(2020)03-1272-12

我国是棉花生产大国,2017年我国棉花的总产量达565.19万t,折合成棉籽的产量达

367.38万t。棉籽是饲料中能量、蛋白质和粗纤维的优质来源^[1],在奶牛饲料中的应用和研究较为

收稿日期:2019-09-05

基金项目:国家奶产业技术体系(CARS-36)

作者简介:徐文彬(1993—),男,山西吕梁人,硕士研究生,从事反刍动物营养与饲料科学研究。E-mail: 867495982@qq.com

*通信作者:孙满吉,教授,硕士生导师,E-mail: sunmanji@163.com

常见^[2]。研究表明,添加棉籽可以提高奶牛的产奶量和乳脂率^[3],提高牛奶中不饱和脂肪酸的比例^[4]。然而,由于棉酚的存在,棉籽在反刍动物饲料中的使用量受到限制。棉酚的摄入,特别是游离棉酚的摄入,可能会使动物全身性水肿、呼吸困难、肝脏和心肌变性和坏死^[5]。饲料的营养价值可以通过热加工的方式来改善^[6]。适宜的热处理可以降低抗营养因子的含量和营养物质的溶解度,并降低在瘤胃中的降解率,使进入肠道消化和吸收的量增加^[7]。传统的饲料营养价值评定方法不仅时间冗长、过程繁琐,而且也未考虑到饲料分子结构与其营养价值之间的相关性。傅里叶变换红外光谱(FTIR)技术能够根据中红外光谱区域特定波长上不同化学基团的振动情况来鉴定和分析饲料的分子结构。研究显示,饲料分子结构与其营养价值存在相关性,利用分子结构能对饲料的营养价值进行预测^[8]。本试验旨在探究不同热处理对棉籽中蛋白质营养价值、瘤胃降解特性和小肠消化率的影响,棉籽中蛋白质分子结构与其营养价值、瘤胃降解特性和小肠消化率之间的相关性,并分析利用棉籽蛋白质分子结构预测其营养价值的可能性,为生产中选择适宜的热处理条件提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 样品的收集与处理

棉籽来源于黑龙江省双城雀巢奶牛育种培训中心。将未处理的棉籽作为对照组(C组)。干热处理:棉籽在烘箱中分别于140(T140组)、150(T150组)和160℃(T160组)下加热1h。微波处理:棉籽在微波炉中700W下分别加热1(MW1组)、2(MW2组)和3min(MW3组)。γ辐照处理:γ辐照剂量分别为30(γ30组)、45(γ45组)和60kGy(γ60组)。处理结束后,将样品粉碎过1mm孔筛用于营养价值分析,过0.25mm孔筛用于光谱测定。

1.2 试验动物与饲料

饲养试验于东北农业大学科技园阿城试验基地进行。选取3头年龄在4岁、体况良好、安装有永久性瘤胃瘘管处于干奶期的中国荷斯坦奶牛(体重600kg左右)为试验动物。奶牛单栏饲喂,试验前统一进行驱虫、防疫,定期进行消毒,每天清扫牛舍1次。奶牛饲料精粗比为45:55,每日饲

喂2次(06:00和18:00),自由采食,自由饮水。试验饲料参照NRC(2001)^[9]奶牛营养需要配制,其组成及营养水平见表1。

表1 试验饲料组成及营养水平(干物质基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of the experimental diet (DM basis) %

项目 Items	含量 Content
原料 Ingredients	
羊草 Chinese wildrye	42.85
玉米青贮 Corn silage	15.82
玉米 Corn	13.18
麦麸 Wheat bran	3.74
糖蜜 Molasses beet	0.99
豆粕 Soybean meal	3.15
干酒糟 Dried distillers grain	5.35
棉籽粕 Cottonseed meal	2.06
玉米纤维饲料 Corn gluten feed	7.42
玉米胚芽粕 Corn germ meal	4.94
预混料 Premix ¹⁾	0.50
合计 Total	100.00
营养水平 Nutrient levels ²⁾	
泌乳净能 NE _L /(MJ/kg)	5.44
粗蛋白质 CP	14.40
中性洗涤纤维 NDF	49.20
酸性洗涤纤维 ADF	30.60
钙 Ca	0.60
磷 P	0.40

1) 每千克预混料中含有 Contained the following per kg of the premix: VA 8 000 000 IU, VD 700 000 IU, VE 10 000 IU, Fe 1 600 mg, Cu 1 500 mg, Zn 10 000 mg, Mn 3 500 mg, Se 80 mg, I 120 mg, Co 50 mg。

2) 泌乳净能为计算值^[9],其余为实测值。NE_L was a calculated value^[9], while the others were measured values.

1.3 测定指标与方法

1.3.1 常规化学成分测定

参照GB/T 6432—1994^[10]的方法测定粗蛋白质(CP)含量。根据Licitra等^[11]方法对中性洗涤不溶蛋白质(NDICP)、酸性洗涤不溶蛋白质(ADICP)和非蛋白氮(NPN)的含量进行测定。可溶性蛋白质(SCP)含量的测定参照Roe^[12]的方法。根据康奈尔净碳水化合物-净蛋白质体系(CNCPS)对蛋白质组分进行剖分,对瞬时降解蛋白质(PA)、快速降解真蛋白质(PB1)、中速降解真蛋白质(PB2)、慢速降解真蛋白质(PB3)和不可降解蛋白质(PC)进行计算^[13],计算公式如下:

$$PA(\% CP) = 100 \times NPN(\% DM) / CP(\% DM);$$

$$PB1(\% CP) = [100 \times SCP(\% DM) / CP(\% DM)] - PA(\% CP);$$

$$PB2(\% CP) = 100 - PA(\% CP) - PB1(\% CP) - PB3(\% CP) - PC(\% CP);$$

$$PB3(\% CP) = [100 \times NDICP(\% DM) / CP(\% DM)] - PC(\% CP);$$

$$PC(\% CP) = 100 \times ADICP(\% DM) / CP(\% DM)。$$

1.3.2 瘤胃降解试验

采用尼龙袋法^[14]测定瘤胃降解参数。称取7 g样品放入已知重量的尼龙袋中(10 cm×20 cm, 孔径40 μm)。将尼龙袋装入瘤胃网后投入到瘤胃中,每头牛瘤胃内的尼龙袋数目最多不超过30个。按照“依次投入,统一取出”的原则,培养时间分别为0、2、4、8、12、16、24、36和48 h。为保证有足够的残渣进行后续化学分析,每个瘤胃培养时间点对应的尼龙袋的个数分别2、2、2、4、4、6、6、8和8个。培养结束的尼龙袋(包括0 h)用自来水冲洗至澄清,放入烘箱中65℃烘至恒重(48 h),记录残渣重量,测定残渣中CP的含量。

1.3.3 改进的三步体外法测定小肠消化率

采用改进的三步体外法^[15]进行小肠消化试验。称取0.5 g经瘤胃消化16 h后洗净烘干的样品残渣,装入尼龙袋(5 cm×10 cm, 孔径40 μm)后封口,装入锥形瓶中。锥形瓶中含有2 L预热的pH=1.90的盐酸溶液[每升溶液中含1 g胃蛋白酶(P-7000, Sigma公司)]。将锥形瓶放在水浴振荡器中39℃振荡培养1 h,取出尼龙袋清洗至水澄清。将尼龙袋放入含有2 L预热的pH=7.75的胰蛋白酶溶液[每升溶液中含有3 g胰蛋白酶(P-7545, Sigma公司)和50 μg百里香酚]的锥形瓶中,锥形瓶在水浴振荡器中39℃振荡培养24 h。取出的尼龙袋清洗至水澄清,65℃烘箱内烘至恒重(48 h),测定残渣中CP的含量。

1.3.4 光谱的采集与分析

将2 mg样品与200 mg溴化钾以1:100的比例放入玛瑙研钵中,在烤灯照射下,充分研磨混合后用压片机压成薄片。将薄片放入FTIR仪(FTIR-8400S, 日本岛津)做全波段扫描(4 000~400 cm⁻¹),扫描次数为128次,分辨率为4 cm⁻¹,每个样品做5次重复。在样品光谱收集之前将溴化钾作为背景扫描256次,对空气进行校正。

1.4 指标计算与光谱分析

1.4.1 瘤胃降解特性相关参数的计算

参照瘤胃动力学数学指数模型计算蛋白质的瘤胃降解率^[16],运用SAS 9.2^[17]非线性模型(NLIN)和迭代最小二乘回归法对数据进行处理,计算公式为:

$$R(t) = U + D \times e^{-Kd \times (t - T_0)};$$

式中: $R(t)$ 为瘤胃培养 t 时间后的残留量(%); U 为瘤胃不可降解部分(%); D 为瘤胃可降解部分(%); Kd 为瘤胃可降解部分的降解率(%/h); T_0 为瘤胃滞留时间(h)。下式同。

蛋白质瘤胃有效降解率(EDCP)的计算公式^[14]为:

$$EDCP(\% CP) = S + [(D \times Kd) / (Kp + Kd)];$$

式中: S 为瘤胃可溶部分(%); Kp 为饲料的瘤胃外流速率,本试验中 Kp 值取6%/h。

1.4.2 瘤胃非降解蛋白质的小肠消化率(I_{dg})以及小肠可消化蛋白质(IDP)和总可消化蛋白质(TDP)含量的计算

$$I_{dg}(\% RUP) = 100 \times (CP_{16h} - CP_i) / CP_{16h};$$

$$IDP \text{ 含量}(\% CP) = RUP \times I_{dg};$$

$$TDP \text{ 含量}(\% CP) = IDP \text{ 含量} + EDCP。$$

式中: CP_{16h} 为瘤胃发酵16 h后样品残渣中CP含量(g/kg); CP_i 为模拟小肠消化后样品残渣中CP含量(g/kg);RUP为瘤胃不可降解蛋白质(%)。

1.4.3 红外光谱分析

采集到的红外光谱图利用OMNIC 8.2软件进行处理。找到蛋白质基线位置,确定出酰胺I带区域(基线:ca. 1 721~1 575 cm⁻¹)、峰高(ca. 1 654 cm⁻¹);酰胺II带区域(基线:ca. 1 576~1 484 cm⁻¹)、峰高(ca. 1 535 cm⁻¹)。对酰胺I带进行去卷积(FSD)和二阶导函数处理,确定α-螺旋峰高(ca. 1 651 cm⁻¹)和β-折叠峰高(ca. 1 627 cm⁻¹)的位置,记录对应的峰高和峰面积,计算光谱参数比值。

1.5 数据统计与分析

试验数据利用Excel 2010进行整理后,利用SAS 9.2软件的PROC MIXED程序对营养价值和光谱参数进行方差分析,并用Duncan氏法进行多重比较。统计分析模型为 $Y_{ij} = \mu + P_i + e_{ij}$ (式中: Y_{ij} 是因变量的观测值; μ 是变量的总体平均值; P_i 是固定效应,它表示不同处理的棉籽; e_{ij} 是与 ij 有关

的偶然误差)。 $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著。利用 SAS 9.2 软件中的 PROC CORR 程序进行数据相关性分析, PROC REG 模型构建多元线性回归方程。

2 结 果

2.1 不同热处理对棉籽中蛋白质成分和 CNCPS 蛋白质组分的影响

由表 2 可知,不同热处理对棉籽中各蛋白质成分和 CNCPS 蛋白质组分含量均未产生显著影响 ($P > 0.05$)。

2.2 不同热处理对棉籽中蛋白质瘤胃降解特性和小肠消化率的影响

由表 3 可知,干热和微波处理对棉籽中蛋白质瘤胃降解特性的影响不大,但 γ 辐照处理显著降低瘤胃可溶部分(S)和瘤胃可降解部分(D),显著升高瘤胃不可降解部分(U) ($P < 0.05$)。随着热处理时间的延长或强度的增加,棉籽 EDCP 和 TDP 的含量逐渐降低,Idg 也逐渐降低,而 IDP 的含量逐渐升高。

2.3 不同热处理对棉籽蛋白质分子结构的影响

由表 4 可知,不同热处理对棉籽蛋白质分子结构酰胺 I 带峰高、酰胺 I 带峰面积、酰胺 II 带峰高、酰胺 II 带峰面积、 α -螺旋峰高、 α -螺旋与 β -折叠峰高比产生了极显著影响 ($P < 0.01$),对其余光谱参数无显著影响 ($P > 0.05$)。除 MW3 组外,各热处理组棉籽蛋白质分子结构中酰胺 I 带峰高、酰胺 I 带峰面积、酰胺 II 带峰高、酰胺 II 带峰面积均较对照组显著升高 ($P < 0.05$)。各热处理组棉籽蛋白质分子结构中 α -螺旋峰高不同程度的高于对照组,且 $\gamma 45$ 组和 $\gamma 60$ 组 α -螺旋与 β -折叠峰高比较对照组显著升高 ($P < 0.05$)。

2.4 棉籽蛋白质分子结构与其营养价值之间的相关性

由表 5 可知,热处理后棉籽蛋白质分子结构的光谱参数与其蛋白质成分和 CNCPS 蛋白质组分存在一定的相关性。其中,酰胺 I 带峰面积、酰胺 I 带与酰胺 II 带峰高比和 α -螺旋峰高与 β -折叠峰高比分别与 CP ($r = 0.73 \sim 0.98$)、NDICP ($r = 0.80 \sim 0.99$)、PB1 ($r = 0.80 \sim 0.99$) 和 PB2 ($r = 0.79 \sim 0.99$) 含量存在极显著正相关 ($P < 0.01$),与

SCP ($r = -0.40 \sim -0.46$)、NPN ($r = -0.40 \sim -0.46$) 和 PB3 ($r = -0.40 \sim -0.46$) 存在显著负相关 ($P < 0.05$);酰胺 I 带与酰胺 II 带峰面积比和 α -螺旋峰高分别与 CP ($r = -0.66 \sim -0.96$)、NDICP ($r = -0.55 \sim -0.95$)、PB1 ($r = -0.56 \sim -0.96$) 和 PB2 ($r = -0.56 \sim -0.95$) 含量存在极显著负相关 ($P < 0.01$),与 SCP ($r = 0.56 \sim 0.94$)、NPN ($r = 0.55 \sim 0.91$) 和 PB3 ($r = 0.55 \sim 0.95$) 存在极显著正相关 ($P < 0.01$);酰胺 I 带峰高分别与 CP ($r = -0.43$)、NDICP ($r = -0.42$)、PB1 ($r = -0.43$) 和 PB2 ($r = -0.44$) 存在显著负相关 ($P < 0.05$),与 SCP ($r = 0.46$)、NPN ($r = 0.41$) 和 PB3 ($r = 0.42$) 存在显著正相关 ($P < 0.05$);酰胺 I 带与酰胺 II 带峰高比和 β -折叠峰高与 ADICP 含量分别存在显著负相关 ($r = -0.46, P < 0.05$) 和显著正相关 ($r = 0.38, P < 0.05$);酰胺 I 带与酰胺 II 带峰面积比分别与 PA 和 PC 含量存在极显著正相关 ($r = 0.86, P < 0.01$) 和极显著负相关 ($r = -0.69, P < 0.01$)。

2.5 棉籽蛋白质分子结构与其瘤胃降解特性和小肠消化率之间的相关性

由表 6 可知,热处理后棉籽蛋白质分子结构的光谱参数与其瘤胃降解特性和小肠消化率存在一定的相关性。其中,酰胺 I 带峰高和峰面积、酰胺 II 带峰高和峰面积、 α -螺旋峰高以及 α -螺旋与 β -折叠峰高比分别与 S ($r = -0.40 \sim -0.46$) 和 U ($r = -0.44 \sim -0.69$) 存在显著负相关 ($P < 0.05$),与 EDCP ($r = 0.48 \sim 0.72$) 存在极显著正相关 ($P < 0.01$);酰胺 I 带峰高和峰面积、酰胺 II 带峰高、酰胺 I 带与酰胺 II 带峰高比、 α -螺旋高以及 α -螺旋与 β -折叠峰高比与 IDP ($r = 0.46 \sim 0.71$) 和 TDP ($r = -0.42 \sim -0.70$) 分别存在显著正相关和显著负相关 ($P < 0.05$);酰胺 I 带与酰胺 II 带峰高比分别与 IDP ($r = 0.46$) 和 TDP ($r = -0.42$) 存在显著正相关和显著负相关 ($P < 0.05$);酰胺 II 峰面积与 S ($r = -0.40$) 存在显著负相关 ($P < 0.05$),与 U ($r = 0.44$) 和 EDCP ($r = 0.48$) 存在显著正相关 ($P < 0.05$); α -螺旋高和 α -螺旋与 β -折叠峰高比与 D ($r = -0.59$) 存在极显著负相关 ($P < 0.01$); α -螺旋与 β -折叠峰高比与 Idg ($r = -0.52$) 存在极显著负相关 ($P < 0.01$)。

表 2 不同热处理对棉籽中蛋白质成分和 CNCPS 蛋白质组分的影响

Table 2 Effects of different heat treatments on protein composition and CNCPS protein components in cottonseed

项目 Items	组别 Groups										SEM	P 值 P-value	
	C	T140	T150	T160	MW1	MW2	MW3	γ30	γ45	γ60			
蛋白质成分 Protein composition/% DM													
粗蛋白质 CP	25.44	25.88	25.64	25.63	25.16	24.70	24.47	25.38	24.78	24.09	0.15	0.06	
可溶性蛋白质 SCP	5.20	5.63	5.32	5.36	5.26	5.30	5.02	5.22	5.14	4.96	0.06	0.30	
非蛋白氮 NPN	0.58	0.61	0.59	0.57	0.62	0.61	0.58	0.57	0.63	0.56	0.01	0.50	
中性洗涤剂不溶蛋白质 NDICP	4.37	4.26	4.00	3.82	3.94	4.20	3.94	4.41	4.70	4.11	0.08	0.33	
酸性洗涤剂不溶蛋白质 ADICP	2.77	2.15	2.09	1.99	2.39	2.38	2.05	2.21	2.61	1.97	0.08	0.34	
CNCPS 蛋白质组分 CNCPS protein components/% CP													
瞬时降解蛋白质 PA	2.29	2.41	2.33	2.26	2.43	2.40	2.29	2.23	2.46	2.40	0.04	0.86	
快速降解真蛋白质 PB1	18.17	19.35	18.44	18.65	18.50	19.05	18.21	18.33	18.28	18.38	0.17	0.90	
中速降解真蛋白质 PB2	62.37	62.24	63.63	64.20	63.42	61.55	63.42	62.07	60.29	62.33	0.34	0.36	
慢速降解真蛋白质 PB3	6.30	7.70	7.47	7.14	6.16	7.37	7.71	8.67	8.44	8.88	0.44	0.95	
不可降解蛋白 PC	10.87	8.30	8.13	7.75	9.49	9.63	8.36	8.69	10.53	8.20	0.32	0.34	

同行数据肩标不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 相同或无字母表示差异不显著 ($P > 0.05$)。表 3、表 4 同。

Values with different letter superscripts in the same row mean significant difference ($P < 0.05$), while with the same or no letter superscripts mean no significant difference ($P > 0.05$). The same as Table 3 and Table 4.

表 3 不同热处理对棉籽中蛋白质瘤胃降解特性和小肠消化率的影响

Table 3 Effects of different heat treatments on rumen degradation characteristics and small intestinal digestibility of cottonseed protein

项目 Items	组别 Groups										SEM	P 值 P-value	
	C	T140	T150	T160	MW1	MW2	MW3	γ30	γ45	γ60			
瘤胃降解参数 Rumen degradation parameters													
瘤胃可降解部分降解率 Kd/(%/h)	63.66	60.47	48.56	50.90	54.12	56.22	55.23	31.17	42.25	56.96	3.19	0.59	
瘤胃可溶部分 S/% CP	75.69 ^{ab}	74.70 ^{bc}	74.88 ^{bc}	75.99 ^a	74.88 ^{bc}	75.65 ^{ab}	75.96 ^a	74.30 ^c	74.38 ^c	74.10 ^c	0.15	<0.01	
瘤胃可降解部分 D/% CP	9.86 ^c	10.67 ^{bc}	12.21 ^a	10.75 ^{bc}	11.64 ^{ab}	10.19 ^c	9.66 ^c	9.46 ^{cd}	8.14 ^{de}	7.03 ^e	0.30	<0.01	
瘤胃不可降解部分 U/% CP	12.90 ^f	13.26 ^{ef}	14.44 ^d	14.57 ^d	13.48 ^{def}	14.15 ^{de}	14.38 ^d	16.24 ^c	17.48 ^b	18.87 ^a	0.35	<0.01	
蛋白质瘤胃有效降解率 EDCP/% CP	85.56 ^a	85.54 ^a	84.67 ^a	84.40 ^a	85.28 ^a	84.85 ^a	84.56 ^a	82.18 ^b	81.48 ^{bc}	80.45 ^c	0.34	<0.01	
小肠消化部分 Intestinal digestion part/% CP													
瘤胃非降解蛋白质的 小肠消化率 Idg	63.53	63.46	61.70	60.90	63.44	62.90	62.43	59.67	58.95	58.00	0.52	0.08	
小肠可消化蛋白质 IDP	9.17 ^a	9.18 ^a	9.46 ^a	9.50 ^a	9.34 ^a	9.53 ^a	9.64 ^a	10.63 ^b	10.92 ^b	11.34 ^b	0.15	<0.01	
总可消化蛋白质 TDP	94.74 ^a	94.72 ^a	94.13 ^a	93.90 ^{ab}	94.62 ^a	94.38 ^a	94.20 ^a	92.81 ^{bc}	92.40 ^c	91.79 ^c	0.21	<0.01	

表 4 不同热处理对棉籽中蛋白质分子结构的影响

Table 4 Effects of different heat treatments on protein molecular structure in cottonseed

项目 Items	组别 Groups											SEM	P 值 P-value
	C	T140	T150	T160	MW1	MW2	MW3	γ30	γ45	γ60			
蛋白质酰胺带参数 Protein amide parameters													
酰胺 I 带峰高 Amide I_H	0.36 ^a	0.56 ^{bcd}	0.53 ^{bc}	0.52 ^{bc}	0.60 ^{cd}	0.52 ^{bc}	0.43 ^{ab}	0.68 ^d	1.12 ^e	0.55 ^{bc}	0.04	<0.01	
酰胺 II 带峰高 Amide II_H	0.14 ^a	0.22 ^{bcd}	0.21 ^{bc}	0.21 ^{bc}	0.24 ^{cd}	0.22 ^{bcd}	0.18 ^{ab}	0.27 ^d	0.47 ^c	0.21 ^{bc}	0.02	<0.01	
酰胺 I 带与酰胺 II 带峰高比 HR_Amide I_II	2.59	2.50	2.46	2.41	2.50	2.40	2.39	2.56	2.42	2.55	0.02	0.39	
酰胺 I 带峰面积 Amide I_A	25.76 ^a	40.46 ^c	37.64 ^{bc}	37.59 ^{bc}	43.44 ^{cd}	38.16 ^{bc}	31.20 ^{ab}	49.08 ^d	83.10 ^e	39.83 ^{bc}	2.84	<0.01	
酰胺 II 带峰面积 Amide II_A	7.38 ^a	12.70 ^{bcd}	11.37 ^{bc}	10.33 ^{bc}	12.47 ^{cd}	11.54 ^{bcd}	9.57 ^{ab}	14.00 ^d	24.71 ^e	11.04 ^{bc}	0.84	<0.01	
酰胺 I 带与酰胺 II 带峰面积比 AR_Amide I_II	3.46	3.46	3.32	3.31	3.48	3.31	3.26	3.52	3.37	3.60	0.03	0.31	
蛋白质二级结构参数 Protein second structure parameters													
α-螺旋峰高 α-helix_H	0.024 ^a	0.034 ^{ab}	0.035 ^{ab}	0.036 ^{ab}	0.034 ^{ab}	0.038 ^{abc}	0.042 ^{bcd}	0.054 ^{cde}	0.059 ^e	0.055 ^{de}	0.002	<0.01	
β-折叠峰高 β-sheet_H	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.001	0.26	
α-螺旋与 β-折叠峰高比 HR_α-helix_β-sheet	1.32 ^a	1.49 ^a	1.57 ^a	1.60 ^a	1.41 ^a	1.51 ^a	1.56 ^a	1.94 ^{ab}	2.42 ^b	2.23 ^b	0.080	<0.01	

表 5 棉籽蛋白质分子结构与其营养价值之间的相关性

Table 5 Correlation between protein molecular structure and protein nutritional value in cottonseed

项目 Items	粗蛋白质 CP	中性洗涤不 溶蛋白质 NDICP	酸性洗涤不 溶蛋白质 ADICP	可溶性 蛋白质 SCP	非蛋白氮 NPN	瞬时降 解蛋白质 PA	快速降解 真蛋白质 PB1	中速降解 真蛋白质 PB2	慢速降解 真蛋白质 PB3	不可降解 蛋白质 PC
酰胺 I 带峰高 Amide I_H	-0.43	0.02	0.17	0.46	0.41	0.08	-0.43	-0.44	0.42	-0.06
酰胺 II 带峰高 Amide II_H	0.02	0.02	0.37	0.01	0.03	0.67	0.02	0.01	0.02	0.75
酰胺 I 带与酰胺 II 带峰高比 HR_Amide I_II	-0.35	-0.33	0.07	0.38	0.33	0.08	-0.34	-0.36	0.34	-0.07
酰胺 I 带峰面积 Amide I_A	0.06	0.08	0.71	0.04	0.07	0.67	0.07	0.05	0.07	0.71
酰胺 II 带峰面积 Amide II_A	0.73	0.80	-0.46	-0.75	-0.71	0.02	0.80	0.79	-0.76	0.07
酰胺 I 带与酰胺 II 带峰面积比 AR_Amide I_II	<0.01	<0.01	0.01	<0.01	<0.01	0.94	<0.01	<0.01	<0.01	0.70
酰胺 I 带峰面积 Amide I_A	0.86	0.92	-0.22	-0.90	-0.87	0.31	0.92	0.92	-0.91	0.01
酰胺 II 带峰面积 Amide II_A	<0.01	<0.01	0.25	<0.01	<0.01	0.09	<0.01	<0.01	<0.01	0.97
酰胺 I 带与酰胺 II 带峰面积比 AR_Amide I_II	-0.37	-0.36	0.10	0.40	0.35	0.08	-0.37	-0.38	0.36	-0.06
酰胺 I 带峰面积 Amide I_A	0.04	0.05	0.61	0.03	0.06	0.69	0.05	0.04	0.05	0.75
酰胺 II 带峰面积 Amide II_A	-0.66	-0.55	-0.03	0.56	0.55	0.86	-0.56	-0.56	0.55	-0.69
酰胺 I 带与酰胺 II 带峰面积比 AR_Amide I_II	<0.01	<0.01	0.86	0.01	0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

续表5

项目 Items	粗蛋白质 CP	中性洗涤不 溶蛋白质 NDICP	酸性洗涤不 溶蛋白质 ADICP	可溶性 蛋白质 SCP	非蛋白氮 NPN	瞬时降 解蛋白质 PA	快速降解 真蛋白质 PB1	中速降解 真蛋白质 PB2	慢速降解 真蛋白质 PB3	不可降解 蛋白质 PC
α -螺旋峰高	r	-0.95	0.03	0.94	0.91	0.08	-0.96	-0.95	0.95	-0.31
α -helix_H	P 值	<0.01	0.90	<0.01	<0.01	0.66	<0.01	<0.01	<0.01	0.10
β -折叠峰高	r	-0.16	0.38	0.09	0.14	-0.03	-0.17	-0.16	0.11	0.19
β -sheet_H	P 值	0.41	0.04	0.62	0.47	0.89	0.38	0.40	0.57	0.32
α -螺旋与 β -折叠峰高比	r	0.98	-0.16	-0.98	-0.94	-0.07	0.99	0.99	-0.99	0.29
HR_ α -helix_ β -sheet	P 值	<0.01	0.40	<0.01	<0.01	0.70	<0.01	<0.01	<0.01	0.13

表6 棉籽蛋白质分子结构与其瘤胃降解特性和小肠消化率之间的相关关系

Table 6 Correlation between protein molecular structure and protein rumen degradation characteristics and small intestine digestibility in cottonseed

项目 Items	瘤胃可降解 部分的降解率 Kd	瘤胃 可溶部分 S	瘤胃可 降解部分 D	瘤胃不可 降解部分 U	蛋白质瘤胃 有效降解率 EDCP	瘤胃非降解蛋白质 的小肠消化率 Idg	小肠可消化 蛋白质 IDP	总可消化 蛋白质 TDP
酰胺 I 带峰高	r	-0.46	-0.35	0.49	0.54	-0.24	0.49	-0.46
Amide I_H	P 值	0.01	0.06	0.01	0.01	0.19	0.01	0.01
酰胺 II 带峰高	r	-0.42	-0.33	0.45	0.49	-0.24	0.49	-0.46
Amide II_H	P 值	0.02	0.08	0.01	0.01	0.20	0.01	0.01
酰胺 I 带与酰胺 II 带峰高比	r	-0.24	-0.21	0.28	0.30	-0.26	0.46	-0.42
HR_Amide I_II	P 值	0.20	0.27	0.14	0.11	0.16	0.01	0.02
酰胺 I 带峰面积	r	-0.44	-0.36	0.49	0.52	-0.26	0.45	-0.42
Amide I_A	P 值	0.01	0.06	0.01	0.01	0.17	0.01	0.02
酰胺 II 带峰面积	r	-0.40	-0.32	0.44	0.48	0.21	0.21	-0.22
Amide II_A	P 值	0.03	0.09	0.02	0.01	0.27	0.27	0.25
酰胺 I 带与酰胺 II 带峰面积比	r	-0.34	-0.27	0.37	0.34	0.19	0.32	-0.30
AR_Amide I_II	P 值	0.06	0.15	0.04	0.07	0.32	0.09	0.11
α -螺旋峰高	r	-0.34	-0.59	0.69	0.72	-0.35	0.69	-0.65
α -helix_H	P 值	0.07	0.01	<0.01	<0.01	0.06	<0.01	<0.01
β -折叠峰高	r	-0.21	-0.20	0.26	0.29	0.07	0.22	-0.17
β -sheet_H	P 值	0.27	0.30	0.17	0.12	0.72	0.24	0.37
α -螺旋与 β -折叠峰高比	r	-0.30	-0.59	0.67	0.69	-0.52	0.71	-0.70
HR_ α -helix_ β -sheet	P 值	0.11	0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

2.6 棉籽蛋白质分子结构与其营养价值之间的回归关系

由表 7 可知,棉籽蛋白质营养价值可以利用其蛋白质分子结构进行预测。其中,酰胺 I 带与酰胺 II 带峰面积比作为预测因子,可对棉籽中 NDICP ($R^2 = 0.99, P < 0.01$)、SCP ($R^2 = 0.96, P < 0.01$)、PB1 ($R^2 = 0.99, P < 0.01$)、PB2 ($R^2 = 0.99,$

$P < 0.01$) 和 PB3 ($R^2 = 0.94, P < 0.01$) 进行预测,且回归方程的 R^2 均在 0.9 以上。除了 PA 和 Kd 不能被拟合外,其余蛋白质营养价值、瘤胃降解参数和小肠消化率均能由蛋白质分子结构作为预测因子进行拟合,建立回归方程,但部分回归方程的 $R^2 < 0.6$ 。

表 7 棉籽蛋白质分子结构与其营养价值之间的回归关系

Table 7 Regression relationship between protein molecular structure and protein nutritional value in cottonseed

预测变量 Predicted variables (Y)	预测回归方程 Prediction regression equations	R^2	残差标准误差 RSD	P 值 P-value
蛋白质成分 Protein composition/% DM				
粗蛋白质 CP	$Y = 2.17 - 0.05 \text{Amide I_H} + 9.26 \text{Amide II_H}$	0.99	0.53	<0.01
中性洗涤不溶蛋白质 NDICP	$Y = 0.59 + 0.68 \text{AR_Amide I_II}$	0.99	0.33	<0.01
酸性洗涤不溶蛋白质 ADICP	$Y = 2.98 + 6.23 \beta\text{-sheet_H}$	0.14	0.28	<0.05
可溶性蛋白质 SCP	$Y = 25.23 - 5.89 \text{AR_Amide I_II}$	0.96	1.86	<0.01
非蛋白氮 NPN	$Y = 5.57 - 0.16 \text{Amide I_A}$	0.90	2.31	<0.01
CNCPS 蛋白质组分 CNCPS protein components/% CP				
瞬时降解蛋白质 PA	—	—	—	—
快速降解真蛋白质 PB1	$Y = 2.23 + 4.67 \text{AR_Amide I_II}$	0.99	0.75	<0.01
中速降解真蛋白质 PB2	$Y = 18.24 + 13.08 \text{AR_Amide I_II}$	0.99	6.58	<0.01
慢速降解真蛋白质 PB3	$Y = 62.95 - 16.88 \text{AR_Amide I_II}$	0.97	10.49	<0.01
不可降解蛋白质 PC	$Y = 2.76 + 1.91 \text{Amide I_A} + 36.30 \beta\text{-sheet_H} - 14.74 \text{AR_Amide I_II}$	0.14	1.19	<0.05
瘤胃降解参数 Rumen degradation parameters/% CP				
瘤胃可降解部分的降解率 Kd/(%/h)	—	—	—	—
瘤胃可溶部分 S	$Y = 76.21 - 9.52 \text{Amide I_H} + 0.35 \text{Amide II_A}$	0.32	0.50	<0.01
瘤胃可降解部分 D	$Y = 13.65 - 2.16 \text{HR_}\alpha\text{-helix_}\beta\text{-sheet}$	0.35	1.76	<0.01
瘤胃不可降解部分 U	$Y = 1.01 + 2.96 \text{AR_Amide I_II} + 93.98 \alpha\text{-helix_H}$	0.55	1.82	<0.01
蛋白质瘤胃有效降解率 EDCP	$Y = 98.26 - 4.16 \text{HR_Amide I_II} - 98.82 \alpha\text{-helix_H}$	0.60	1.49	<0.01
小肠消化部分 Intestinal digestion part/% CP				
瘤胃非降解蛋白质的小肠消化率 Idg	$Y = 67.10 - 3.29 \text{HR_}\alpha\text{-helix_}\beta\text{-sheet}$	0.27	6.08	<0.01
小肠可消化蛋白质 IDP	$Y = 3.21 + 1.30 \text{AR_Amide I_II} + 1.30 \text{HR_}\alpha\text{-helix_}\beta\text{-sheet}$	0.58	0.31	<0.01
总可消化蛋白质 TDP	$Y = 103.39 - 2.60 \text{HR_Amide I_II} - 1.86 \text{HR_}\alpha\text{-helix_}\beta\text{-sheet}$	0.56	0.63	<0.01

3 讨论

3.1 不同热处理对棉籽蛋白质成分和 CNCPS 蛋白质组分的影响

饲料在热加工时会伴随美拉德反应的发生,

导致饲料中某些化学成分含量发生改变。影响美拉德反应的因素主要有饲料含水量、加热温度和加热时间等^[18]。Taghinejad-Roudbaneh 等^[19]发现干热、微波和辐照处理对棉籽蛋白质成分无显著影响。Ahmad 等^[20]和 Prates 等^[21]分别对亚麻籽

和大麦籽进行干热和微波处理后发现对蛋白质成分和 CNCPS 蛋白质组分均无显著影响,本试验结果支持了前人的研究。但李昕等^[22]和徐宏建等^[23]分别对豆渣和干酒糟及其可溶物(DDGS)进行干热处理后发现 SCP、NPN 和 PA 含量显著降低,NDICP、ADICP 和 PC 含量显著升高,与本试验结果不符。不同试验结果间的差异可能与饲料种类、加热温度、加热时间等因素有关。

3.2 不同热处理对棉籽蛋白质瘤胃降解特性和小肠消化率的影响

饲料营养物质在瘤胃的降解特性反映出饲料的营养价值。研究显示加热会影响饲料蛋白质的瘤胃降解特性^[20,24-25]。Ahmad 等^[20]发现干热处理使亚麻仁蛋白质的 Kd 显著增加,但对 S、D 和 U 无显著影响;微波处理使亚麻籽蛋白质的 S 显著降低,对 Kd、D 和 U 无显著影响。Huang 等^[24]研究发现,干热使菜籽粕蛋白质的 Kd、S 和 D 显著增加,对 U 无显著影响。Ghanbari 等^[25]研究发现,辐照处理显著降低了棉籽粕蛋白质的 Kd 和 S,显著增加了 D 和 U。本试验结果与上述试验结果不符,可能是由于试验材料和加热条件的不同造成的。加热使饲料蛋白质的分子结构发生改变,如蛋白质分子折叠结构的展开,使蛋白质溶解度降低,抵抗瘤胃降解的能力增强,从而使蛋白质进入肠道内进行消化^[7]。本试验发现,随着加热时间的延长或强度的增加,棉籽 EDCP 逐渐降低,其中 $\gamma 60$ 组 EDCP 最低,该试验结果与 Ahmad 等^[20]和 Taghinejad 等^[26]的研究结果一致,说明加热可以有效降低棉籽蛋白质在瘤胃内的降解率,增加了过瘤胃蛋白质的含量。

Idg 和 IDP 是衡量过瘤胃蛋白质品质的关键指标。影响蛋白质在小肠中消化和吸收的因素主要有饲料的种类和加工工艺^[27]。饲料的加热不当会对蛋白质产生过度保护,虽然增加了蛋白质的过瘤胃率,但是也会使动物肠道对蛋白质的利用率降低,造成蛋白质资源的浪费。因此选择合适的热加工条件和评定饲料过瘤胃蛋白质的小肠消化率十分重要。研究表明加热在降低过瘤胃蛋白质小肠消化率的同时增加了 IDP 的含量^[23,27]。本试验中,随着加热时间的延长或者强度的增加,棉籽 Idg 和 TDP 的含量逐渐降低,IDP 的含量逐渐升高,支持了前人的研究结果。饲料蛋白质的吸收主要取决于 IDP 含量,这对高产奶牛的产奶量有

很重要的影响^[23]。本试验结果表明热处理提高了棉籽中蛋白质的利用率。

3.3 不同热处理对棉籽蛋白质分子结构的影响

蛋白质的分子结构反映了蛋白质的营养价值^[28]。蛋白质分子结构的改变会影响奶牛胃肠道微生物和蛋白质水解酶对蛋白质的利用,进而会影响到胃肠道对蛋白质的消化和吸收^[30]。蛋白质酰胺带参数与蛋白质的消化特性密切相关^[23],蛋白质二级结构与蛋白质营养价值和小肠利用率有密切联系^[21]。Ahmad 等^[20]发现微波和干热处理对亚麻籽酰胺 I 带与酰胺 II 带峰高比、面积比和 α -螺旋与 β -折叠峰高比无显著影响,但湿热处理显著降低了酰胺 I 带与酰胺 II 带峰高比、面积比和 α -螺旋与 β -折叠峰高比。Prates 等^[21]发现干热处理使大麦籽粒酰胺 I 带与酰胺 II 带峰高比显著升高,但湿热处理对大麦籽粒的蛋白质分子结构无显著影响。本试验结果与前人研究结果之间的差异说明了热处理方式不同对饲料蛋白质分子结构的影响不同。研究发现加热会破坏蛋白质的空间结构,使 α -螺旋与 β -折叠峰高比增加,峰高比的增加使蛋白质瘤胃降解率降低,更多的蛋白质流向小肠,增加小肠可利用蛋白质的数量,从而提高 IDP 的含量^[29]。本试验中 α -螺旋与 β -折叠峰高比因加热而升高的结果支持了 EDCP 降低和 IDP 含量升高的结果。

3.4 棉籽蛋白质分子结构与其营养价值之间的相关关系

研究表明,蛋白质的营养价值能够利用其分子结构的光谱参数进行预测^[30]。李昕等^[22]发现酰胺 I 带峰面积、酰胺 I 带与酰胺 II 带峰面积比和 α -螺旋与 β -折叠峰高比与 CP 和 NDICP 含量存在显著正相关,与 PB3 存在显著负相关,本试验结果与此一致。本试验中,棉籽分子结构的光谱参数与 ADICP、SCP 和 NPN 含量之间相关性结果与丁雪等^[31]的研究结果不同,原因可能是热加工对蛋白质分子结构产生了影响,使得与营养价值之间的相关性有所不同。本试验中棉籽蛋白质瘤胃降解特性与蛋白质分子结构的相关性结果与 Zhang 等^[32]对混合 DDGS 瘤胃降解特性的研究结果一致。本试验结果表明,棉籽蛋白质分子结构的光谱参数与其营养价值存在相关性,利用蛋白质分子结构的光谱参数能够对蛋白质营养价值进行预测。已有研究表明,利用光谱参数建立预测

饲料营养价值的回归方程时, $R^2 < 0.4$ 为弱拟合, $R^2 < 0.6$ 为中高度拟合, $R^2 > 0.6$ 为强拟合^[33]。本试验中建立的预测 CP、NDICP、SCP、NPN、PB1、PB2 和 PB3 含量的回归方程的 $R^2 > 0.6$, 为强拟合, 其余预测回归方程的 $R^2 < 0.6$ 。由于本试验所建立的回归方程仅局限于一种棉籽的有限数据, 要想获得更加精确地预测模型, 需要进一步基于不同来源的大量棉籽样本进行研究。

4 结 论

① 不同热处理方式对棉籽蛋白质瘤胃降解参数和小肠消化率均产生了影响。热处理降低了棉籽 EDCP、Idg 和 TDP 含量, 增加了 IDP 的含量, 以辐照剂量为 60 kGy 时效果最佳。

② 不同热处理对棉籽蛋白质分子结构产生了影响, 棉籽蛋白质分子结构与其营养价值、瘤胃降解特性和小肠消化率之间存在相关性, 并能够建立回归方程, 但部分变量回归方程的 $R^2 < 0.6$, 仍需做进一步的研究。

参考文献:

[1] 王勇胜, 曹玉凤, 李秋凤, 等. 饲料全棉籽比例对荷斯坦公牛育肥性能、血清生化指标和养分表观消化率的影响 [J]. 动物营养学报, 2018, 30 (5): 1965–1972.

[2] GOMES V S, MANO S B, FREITAS M Q, et al. The effect of feed intake containing whole cottonseed on blood parameters of Nellore bulls [J]. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2017, 69 (3): 551–558.

[3] NOFTSGER S M, HOPKINS B A, DIAZ D E, et al. Effect of whole and expanded-expelled cottonseed on milk yield and blood gossypol [J]. Journal of Dairy Science, 2000, 83 (11): 2539–2547.

[4] DAYANI O, GHORBANI G R, ESMAILIZADEH A K. Supplementation with whole cottonseed changes milk composition and milk fatty acid profile in dairy cows [J]. Animal Production Science, 2011, 51 (2): 95–101.

[5] BLEVINS S, SIEGEL P B, BLODGETT D J, et al. Effects of silymarin on gossypol toxicosis in divergent lines of chickens [J]. Poultry Science, 2010, 89 (9): 1878–1886.

[6] KHAN N A, PENG Q, XIN H, et al. Vibrational spectroscopic investigation of heat-induced changes in

functional groups related to protein structural conformation in camelina seeds and their relationship to digestion in dairy cows [J]. Animal Production Science, 2015, 55 (2): 201–206.

[7] HE J E, LECHUGA M E T, LEI Y G, et al. Protein molecular structural, physicochemical and nutritional characteristics of warm-season adapted genotypes of sorghum grain; impact of heat-related processing [J]. Journal of Cereal Science, 2019, 85: 182–191.

[8] XIN H S, DING X, ZHANG L Y, et al. Investigation of the spectroscopic information on functional groups related to carbohydrates in different morphological fractions of corn Stover and their relationship to nutrient supply and biodegradation characteristics [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65 (20): 4035–4043.

[9] NRC. Nutrient requirements of dairy cattle [S]. 7th ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 2001.

[10] 国家技术监督局. GB/T 6432—1994 饲料中粗蛋白测定方法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 1994.

[11] LICITRA G, HERNANDEZ T M, VAN SOEST P J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds [J]. Animal Feed Science and Technology, 1996, 57 (4): 347–358.

[12] ROE M B. Techniques for measuring protein fractions in feedstuffs [C] // Proceedings of Conference for Feed Manufacturers. Department of Animal and Poultry and Avian Sciences. New York: Cornell University, 1990: 81–88.

[13] RUSSELL J B, O'CONNOR J D, FOX D G, et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminant fermentation [J]. Journal of Animal Science, 1992, 70 (11): 3551–3561.

[14] NUEZ-ORTÍN W G, YU P Q. Estimation of ruminal and intestinal digestion profiles, hourly effective degradation ratio and potential N to energy synchronization of co-products from bioethanol processing [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2010, 90 (12): 2058–2067.

[15] GARGALLO S, CALSAMIGLIA S, FERRET A. Technical note: a modified three-step *in vitro* procedure to determine intestinal digestion of proteins [J]. Journal of Animal Science, 2006, 84 (8): 2163–2167.

[16] ØRSKOV E R, MCDONALD I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage [J]. The Journal of Agricultural Science, 1979, 92 (2):

- 499-503.
- [17] PUBLISHING S. Base SAS 9.2 procedures guide: statistical procedures [M]//Base SAS 9.2 procedures guide: statistical procedures. [S.l.]: SAS Publishing, 2008.
- [18] JAEGER H, JANOSITZ A, KNORR D. The Maillard reaction and its control during food processing. The potential of emerging technologies[J]. *Pathologie Biologie*, 2010, 58(3): 207-213.
- [19] TAGHINEJAD-ROUDBANEH M, KAZEMI-BONCHENARI M, SALEM A Z M, et al. Influence of roasting, gamma ray irradiation and microwaving on ruminal dry matter and crude protein digestion of cottonseed[J]. *Italian Journal of Animal Science*, 2016, 15(1): 144-150.
- [20] AHMAD K N, BOOKER H, YU P Q. Effect of heating method on alteration of protein molecular structure in flaxseed: relationship with changes in protein subfraction profile and digestion in dairy cows[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2015, 63(4): 1057-1066.
- [21] PRATES L L, LEI Y G, REFAT B, et al. Effects of heat processing methods on protein subfractions and protein degradation kinetics in dairy cattle in relation to protein molecular structure of barley grain using advanced molecular spectroscopy[J]. *Journal of Cereal Science*, 2018, 80: 212-220.
- [22] 李昕, 徐宏建, 王楠, 等. 不同热处理豆渣中蛋白质分子结构与其营养价值及瘤胃降解特性的相关性研究[J]. *动物营养学报*, 2019, 31(1): 395-408.
- [23] 徐宏建, 李昕, 么恩悦, 等. 不同热处理 DDGS 蛋白质营养价值及瘤胃降解特性与其分子结构的相关性研究[J]. *中国畜牧杂志*, 2019, 55(1): 73-80.
- [24] HUANG X W, KHAN N A, ZHANG X W, et al. Effects of canola meal pellet conditioning temperature and time on ruminal and intestinal digestion, hourly effective degradation ratio, and potential nitrogen to energy synchronization in dairy cows [J]. *Journal of Dairy Science*, 2015, 98(12): 8836-8845.
- [25] GHANBARI F, GHOORCHI T, SHAWRANG P, et al. Comparison of electron beam and gamma ray irradiations effects on ruminal crude protein and amino acid degradation kinetics, and *in vitro* digestibility of cottonseed meal [J]. *Radiation Physics and Chemistry*, 2012, 81(6): 672-678.
- [26] TAGHINEJAD M, NIKKHAH A, SADEGHI A A, et al. Effects of gamma irradiation on chemical composition, antinutritional factors, ruminal degradation and *in vitro* protein digestibility of full-fat soybean [J]. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2009, 22(4): 534-541.
- [27] CHRENKOVÁ M, ČEREŠ ŇÁKOVÁ Z, FORMELOVÁ Z, et al. Chemical and nutritional characteristics of different types of DDGS for ruminants [J]. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 2012, 21(3): 425-435.
- [28] YU P. Application of advanced synchrotron radiation-based Fourier transform infrared (SR-FTIR) microspectroscopy to animal nutrition and feed science: a novel approach [J]. *British Journal of Nutrition*, 2004, 92(6): 869-885.
- [29] PENG Q H, KHAN N A, WANG Z S, et al. Moist and dry heating-induced changes in protein molecular structure, protein subfractions, and nutrient profiles in camelina seeds [J]. *Journal of Dairy Science*, 2014, 97(1): 446-457.
- [30] 李欣新. 双低菜粕和豆粕分子结构与营养特性和奶牛生产性能的关系 [D]. 博士学位论文. 哈尔滨: 东北农业大学, 2016: 61-65.
- [31] 丁雪, 张幸怡, 郝小燕, 等. 玉米秸秆不同部位的蛋白质营养价值与其分子结构相关关系的研究 [J]. *畜牧兽医学报*, 2016, 47(8): 1592-1600.
- [32] ZHANG X W, YU P Q. Relationship of carbohydrate molecular spectroscopic features in combined feeds to carbohydrate utilization and availability in ruminants [J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2012, 92: 225-233.
- [33] 张美美. 膨化和发酵大豆分子结构 FTIR 分析及其对瘤胃降解特性影响 [D]. 硕士学位论文. 哈尔滨: 东北农业大学, 2018: 13-15.

Correlation between Protein Molecular Structure and Protein Nutritional Value or Ruminal Degradation Characteristics in Different Heat-Treated Cottonseeds

XU Wenbin GAO Bolan ZHU Quanchao QI Danjie GAO Yue LI Haoran SUN Manji*
(College of Animal Science and Technology of Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: The objective of this experiment was to explore the effects of different heat treatments on nutritional value, rumen degradation characteristics, small intestinal digestibility and molecular structure of cottonseed protein, and to discuss whether there was a correlation between protein molecular structure and protein nutritional value, rumen degradation characteristics or small intestinal digestibility in cottonseed. Cottonseed was treated by dry heat (heating at 140, 150 and 160 °C for 1 h, respectively), microwave (heating at 700 W for 1, 2 and 3 min, respectively) and γ -irradiation (doses were 30, 45 and 60 kGy, respectively), respectively. The protein nutritional value, rumen degradation characteristics and small intestinal digestibility of different heat-treated cottonseeds were determined by traditional chemical analysis combined with Cornell net carbohydrate-net protein system (CNCPS), nylon bag method and modified three-step *in vitro* method. Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) technology was used to analyze the protein molecular structure of different heat-treated cottonseeds, and then to analyze the correlation relationships between protein molecular structure and protein nutritional value, rumen degradation characteristics or small intestinal digestibility in cottonseed. The results showed as follows: 1) different heat treatments had no significant effects on protein composition and CNCPS protein components of cottonseed ($P>0.05$). 2) Different heat treatments extremely significantly affected the rumen soluble part, rumen degradable part, rumen undegradable part, rumen protein effective degradation rate and the contents of small intestinal degradable protein and total degradable protein ($P<0.01$). With heat treatment time or strength increasing, the rumen protein effective degradation rate and total degradable protein content and the small intestinal digestibility of rumen undegradable protein were gradually decreased, while the small intestinal degradable protein content was gradually increased. 3) Different heat treatments extremely significantly affected amide I band peak height and peak area, amide II band peak height and peak area, α -helix peak height and α -helix and β -sheet peak height ratio ($P<0.01$). Except microwave heating at 3 min, other heat treatments all significantly increased the amide I band peak height and peak area, amide II band peak height and peak area ($P<0.05$), and 45 and 60 kGy γ -irradiation also significantly increased the α -helix peak height and α -helix and β -sheet peak height ratio ($P<0.05$). 4) The molecular structure of cottonseed protein was correlated with its nutritional value, rumen degradation characteristics and small intestinal digestibility, and regression equations could be established. The R^2 of regression equations for neutral detergent insoluble protein, soluble protein, rapidly degradable true protein, intermediately degradable true protein and slowly degradable true protein all exceed 0.9, but the R^2 of part regression equations lowed 0.6. In summary, three heat treatments have effects on the rumen degradation characteristics, small intestinal digestibility and molecular structure of cottonseed protein. Heat treatment can increase the contents of ruminal protein and small intestinal digestible protein, and the effect is the best when the irradiation dose is 60 kGy. The molecular structure of cottonseed protein has a correlation with its nutritional value, rumen degradation characteristics and small intestinal digestibility, and can establish regression equations. However, the R^2 of some regression equations is less than 0.6, still need further research. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2020, 32(3):1272-1283]

Key words: heat treatment; cottonseed; FTIR; protein molecular structure; nutritional value; correlation