

文章编号 :1006-267X (2005)01-0013-07

猪内源氨基酸测定技术评述

赵晓芳¹, 张宏福², 林 海¹

(1. 山东农业大学动物科技学院, 山东 泰安 271018 2. 中国农业科学院畜牧所, 北京 100094)

摘要 :氨基酸的真消化率是评价饲料蛋白质生物学效价的重要指标,而要测定氨基酸的真消化率,就必须对内源氨基酸排泄量进行估测。本文就目前内源氨基酸的测定方法进行了综述,并对各种方法的优缺点进行了评述。在内源氨基酸的测定方法中,以传统方法(无氮日粮法、回归外延法和完全可消化蛋白源或静脉灌注平衡氨基酸法)最为常用,但存在种种缺陷。为克服传统方法的缺陷,学者们提出了新的估测内源氨基酸的方法,如同位素标记法、高精氨酸法、肽营养超滤技术、氨基糖测定法以及体内体外结合测定法,但这些方法也存在或多或少的缺陷,还有待于改进。

关键词 :猪 ; 内源氨基酸 ; 测定方法

中图分类号 S828.5

文献标识码 :A

THE REVIEW ON THE MEASURING TECHNIQUES OF ENDOGENOUS AMINO ACIDS IN PIGS

ZHAO Xiao-fang¹, ZHANG Hong-fu², LIN Hai¹

(1. College of Animal Science and Technology, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China;

2. Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100094, China)

ABSTRACT: True acid amino digestibility is main index of evaluating biological availability of feedstuffs, for which correction of the endogenous amino acids is an essential step loss. This article reviewed the measuring techniques of endogenous amino acids, and the merits and demerits of every technique were discussed. Traditionally, endogenous amino acids are determined by feeding nitrogen-free diets, the regression method or complete digestible protein or intravenous injection AAs, but these techniques contain both desirable and undesirable features. To overcome the shortcoming of traditional techniques, various alternative techniques are now available to estimate the endogenous amino acids, such as isotope dilution technique, homoarginine technique, peptide alimentation ultrafiltration method. But each of these techniques still has some limitations, and need to be further perfected.

Key words : swine ; endogenous amino acids ; measuring techniques

氨基酸的消化率是评定单胃动物饲料蛋白质营养价值的重要参数。在氨基酸的消化率中,回肠末端真消化率因其有更好的可加性(Nyachoti等, 1997),合理性和准确性而被广泛采用。而要测定回肠末端真消化率,就必需正确评估动物的内源性氨

基酸的排泄量。本文拟对目前存在的内源性氨基酸的测定方法进行评述。

1 内源氨基酸测定的传统方法

内源氨基酸测定的传统方法都不能与日粮原料的测定同时进行,因此也有人称之为“非生理状态测定法”,且把此法测出的内源氨基酸含量称为“最低内源氨基酸排泄量(basal losses)”(Vincent

收稿日期:2003-11-03

作者简介:赵晓芳(1979),女,汉族,籍贯河南南阳,主攻方向单动动物营养,硕士研究生。

Hess 等,1998)。

1.1 无氮日粮法(NFD)

无氮日粮法是测定猪内源氨基酸排泄量最经典的方法,是由 Mitchell 在 1924 年建立的。其假定条件是动物采食无氮日粮后,进入食糜或粪中的蛋白质、氨基酸即为内源性氨基酸,并且在日粮组成不同的条件下,动物内源性氨基酸的排泄量及氨基酸组成是相同或相似的。然而事实上却并非如此。无氮日粮使动物处于非正常生理状态,影响动物体正常的蛋白质代谢过程(Millward,1976),从而减少进入肠道的含氮化合物的量(Darragh 等,1988)。例如 Ozimek 等(1985)发现,动物采食无氮日粮后,胰腺分泌的消化酶,如胰蛋白酶、糜蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶减少,肠道分泌的蛋白总量也减少。研究还发现,无氮日粮不仅改变了动物内源氮的排泄量,也使内源氨基酸的组成发生了变化,大大增加了内源脯氨酸和甘氨酸的损失(de Lange,1989)。这是因为动物采食无氮日粮时,由于动物体维持正常生命活动和生产活动所需的蛋白质无法从无氮日粮中摄取,于是动用肌肉组织释放大量的氨基酸,其中以谷氨酰胺最多,谷氨酰胺又代谢成谷氨酸、脯氨酸等,因此猪采食无氮日粮时,食糜中脯氨酸含量增加,而且随着无氮日粮中纤维素水平的升高,回肠末端食糜中甘氨酸和脯氨酸含量也显著增加(de Lange 等,1989; Leterme 等,1992; Mariscal-Landin 等,1995)。这是由于日粮中的纤维素刺激了唾液和胆汁分泌的结果(Low,1982),唾液和胆汁分泌的糖蛋白中含有大量的甘氨酸和脯氨酸。

Butts 等(1993)和 Donkoh 等(1995)研究表明,无氮日粮因缺乏刺激消化道的蛋白质物质,会低估回肠末端内源性氨基酸的含量。此外,日粮成分中的纤维物质、抗营养因子等可能提高内源性氨基酸的排泄量(Ikegami,1990; Liener 和 Kakade,1980),而无氮日粮中因缺乏这类物质,也会导致测定结果偏低。

1.2 回归外延法(REG)

Carlson 等(1970)发明了回归外延法,用以估测内源性氨基酸的排泄量。具体方法是:测定猪饲喂不同蛋白质梯度水平的日粮时粪或食糜中的蛋白质或氨基酸量,然后用数量统计的方法,外推出日粮蛋白质水平为零时粪或食糜中蛋白质或氨基酸的量,即为内源性蛋白质或氨基酸的排泄量。其基本假定是,消化道食糜中蛋白质氨基酸总流量或回肠表观可消化氨基酸流量与氨基酸摄入量呈

线性关系。理论上讲,回归外延法比无氮日粮法更可靠(Donkoh 等,1995)。Fan 等(1995)、Souffrant(1991)也认为该法对内源氮的损失估计比无氮日粮法有更高的准确性,因为这种方法考虑了不同品质的蛋白质和抗营养因子等对内源氮和氨基酸排出的影响。然而,大量的研究表明,回归外延法与无氮日粮法并没有显著差异(Taverner 等,1981; Furuya 等,1989; Donkoh 等,1995)。该方法虽然考虑了日粮蛋白质对内源性氨基酸排泄量的影响,但与无氮日粮法一样,在计算饲料氨基酸真消化率时,仍然存在从不同的饲料都扣除同量内源性氨基酸的缺点。另外, Souffrant(1991)研究发现,蛋白质采食量与内源性氨基酸排泄量不存在线性关系,而且饲料蛋白水平的增加总是与其它营养物质成分的改变相联系,因此影响了估测结果的准确性。

1.3 完全可消化蛋白源或静脉灌注平衡氨基酸法

为了克服负氮平衡对内源氨基酸排泄量测值的影响,Leibholz(1982)给生长猪饲喂以完全消化的酪蛋白为唯一氮源的日粮来估测内源氨基酸排泄量,结果发现,内源氮的排泄量与无氮日粮的测定值没有显著差异(分别为 3.4 和 3.0g/kgDMI)。而 Fuller 和 Cadenhead(1991)向无氮日粮中添加酪氨酸和合成氨基酸,结果表明,采食酪氨酸和合成氨基酸日粮猪的内源氮量的损失量低于采食无氮日粮的猪(分别为 4.3 和 5.8g/d),这与 Lange 等(1989)的研究结果一致。de Lang 等(1989)提出,在饲喂无氮日粮的同时,静脉连续灌注平衡氨基酸,使动物处于正常氨基酸平衡代谢状况下,测定内源氨基酸排泄量,并比较了静脉灌注平衡氨基酸与无氮日粮两种方法对生长猪内源氨基酸损失的差异,结果表明,静脉连续灌注平衡氨基酸测定的内源氨基酸损失(12.7kg/DMI)显著低于无氮日粮法测定的结果(18.5kg/DMI),这说明,处于正氮平衡状态下猪的内源性氨基酸的排泄量稍低于处于负氮平衡下内源氨基酸的排泄量。

Leterme 等(1994)比较了无氮日粮法、可消化酪蛋白法和静脉灌注平衡氨基酸法对回肠内氨基酸损失的影响,结果表明,静脉灌注平衡氨基酸法测定的内源氨基酸损失(除脯氨酸、胱氨酸和蛋氨酸外)与无氮日粮法没有明显差异,因为氨基酸并不能起到蛋白质或多肽刺激消化酶分泌的作用,但由于静脉灌注氨基酸可以消除氮平衡导致的体组织分解,因而可减少尿素氮损失。该法的前提条件是,

酪氨酸或平衡氨基酸在消化道内被完全吸收。而事实上,日粮中的粗纤维水平(Bergner等,1994)和抗营养因子含量(Huisman等,1992)都可能影响其吸收,只有当酪氨酸或平衡氨基酸的真消化率经试验证明达到100%时,该方法在实际应用中才能得到可靠的结果。除此之外,该法还存在以下缺陷:该法虽使动物保持正氮平衡,但采用的也非正常日粮,缺乏刺激内源氨基酸分泌的蛋白质和肽类,不能准确的估测内源氨基酸的排泄量,该法不能研究饲料粗蛋白质采食量对内源氨基酸排泄量的影响。

2 同位素标记法

同位素标记技术是直接测定猪采食含蛋白质日粮时内源氨基酸排泄量的一种方法。一般用 ^{15}N 或 ^{13}C 对饲料蛋白或动物体氨基酸库进行标记。

2.1 ^{15}N 同位素标记法

^{15}N 同位素标记技术可区分内源氮和非消化氮,而且可用于测定日粮成分变化对内源氮和氨基酸损失的影响,被认为是直接测定猪采食含蛋白质日粮时内源氮损失的一种最有效的方法(Souffrant等,1986)。 ^{15}N 同位素标记技术可通过两种途径进行,一是对饲料蛋白质进行标记(Leterme等,1994;Roos等,1994);二是对动物的氨基酸库即内源性氨基酸进行标记(de Lange,1989;Huisman等,1992;Schulze等,1994)。后者最为常用,这是因为 ^{15}N 标记的饲料非常昂贵且不易得到(Krawielitzi等,1977;Souffrant等,1981)。此法假定:当 ^{15}N 在体内各部位达到恒态后,回肠末端内源氮中 ^{15}N 丰度同内源氮的前体库,即血浆游离AA(FAA)中 ^{15}N 丰度相同,并假定各种正常日粮时内源氨基酸模式均与无氮日粮相同。其基本操作为:持续向动物静脉灌注标记的氨基酸(一般为7~9天),标记内源氮的前体库,当 ^{15}N 标记物在血浆FAA中达到稳定后,消化道内源氮 ^{15}N 丰度与血浆FAA中 ^{15}N 丰度相同,根据血浆FAA中 ^{15}N 丰度同回肠末端食糜中 ^{15}N 丰度之比即可推算出食糜中内源氮占总氮的比例。

在应用 ^{15}N 稀释技术时,被标记的含氮物的选择、内源氮前体库的选择和 ^{15}N 标记物在血液中的稳态的确定(^{15}N 丰度稳态的判断)(Moughan等,1992)都直接影响内源氮估计的准确性。在被标记的氨基酸的选择问题上,最好对各种氨基酸同时进行 ^{15}N 同位素标记(Lein等,1997a,b),但由于标记全部的氨基酸所需费用昂贵,在实际中仍然选择一

种氨基酸进行标记。在所有的氨基酸中,由于亮氨酸最为稳定,除蛋白质合成外没有其他重要的代谢功能(Grala等,1998),因此 ^{15}N 亮氨酸被普遍选作标记物,其灌注计量通常为4.0~40.0mg/kg·d。内源氮来自血液、尿液、胰液、肠黏膜等,但主要来源于血液。Grala等(1998)研究表明,回肠食糜内源 ^{15}N 的丰度与血清三氯乙酸(TCA)可溶部分(即血浆FAA)中 ^{15}N 的丰度相似,因此,一般选择血浆FAA为内源氮的前体库。在运用 ^{15}N 同位素稀释技术时,假定在采样时 ^{15}N 的富集已达到一个稳定状态,并以 ^{15}N 在血清TCA可溶部分中的稳定状态作为 ^{15}N 标记物的稳定态。但肠道氨基酸的再循环是十分迅速的,在血清总氮TCA可溶部分中, ^{15}N 的富集存在昼夜变化。因此,人们对血清TCA可溶部分是否存在 ^{15}N 富集的稳定态存在着质疑。但Schulze(1994)指出, ^{15}N 灌注5~8天后, ^{15}N 富集的稳定状态基本可以达到。

除此之外, ^{15}N 同位素标记法还存在很多问题。如,该法仅能直接测出一种氨基酸的消化率,而其它氨基酸的消化率是在假设其它氨基酸与此氨基酸的内源损失之间存在恒定的关系而估计出来的,这一方法的可行性尚有疑问(Lien等,1993),另外前体库中并非所有的含氮物是完全标记的(de Lang等,1992), ^{15}N 丰度的测定方法也影响测定结果,该法费用昂贵,在实际应用中受到很大的限制。

2.2 ^{13}C 标记法

^{13}C 标记法的原理是利用植物中自然富集的 ^{13}C 作为标记。已知大气中二氧化碳约含有1.1%同位素 ^{13}C 和98.9%的 ^{12}C 。在光合作用时,植物是排斥 ^{13}C 的(O'Leary,1981)。但植物通过二羧途径(C_4 途径)固定二氧化碳时,比通过Calvin(C_3 途径)循环对 ^{13}C 的排斥程度低(Minson等,1975)。玉米、高粱、甘蔗是 C_4 植物,而小麦、大麦和大豆是 C_3 植物。而动物在利用日粮氨基酸合成体蛋白时并不排斥 ^{13}C (Minson,1975)。因此,用 ^{13}C 富集程度不同的日粮饲喂动物时,若能相应产生不同程度的标记,且在多种组织的标记率不同,利用同位素比率质谱仪就可以用于测定 ^{13}C 的自然富集,从而对内源氮和氨基酸损失进行估计,测定不同日粮蛋白质和氨基酸的真消化率(Arenston等,1995)。Arentson等(1995)用 ^{13}C 作为标记,用小肠氨基酸 ^{13}C 的富集程度作为内源蛋白质标记的指数把回肠蛋白质区分为内源和未消化蛋白质两部分,测定了不同日粮的真氨基

酸消化率。结果表明, ^{13}C 标记方法可用于测定氨基酸的内源损失,但这种方法仍有与 ^{15}N 相同的缺点,即标记物再循环,动物氮库的标记方法及代表内源氮分泌的组织选择问题。但因为 ^{13}C 在饲料中是自然富集的,并不需要另行标记,因此 ^{13}C 方法比标记 ^{15}N 的费用要低得多,但仍需要昂贵的同位素比率质谱仪。

3 高精氨酸法

高精氨酸技术是由 Hagemeister 和 Erbesdobler (1985)首先提出的。原理是在一定条件下,通过甲基异脲(Methylisourea)与日粮赖氨酸(Lys)发生胍基化反应将日粮赖氨酸转化为高精氨酸(HA)。当高精氨酸被动物体吸收后,在肝脏中精氨酸酶的作用下,又被重新转变为赖氨酸,同时释放出尿素。高精氨酸被机体吸收后不能用于蛋白质合成(即不构成内源氮),因此吸收后的高精氨酸不会重新出现在肠道中,回肠食糜中存在的高精氨酸应该全部是外源性的,即为饲料中未被消化道吸收的外源蛋白质,其数量代表了未被消化的外源蛋白质的量(Souffrant, 1991; Schmitz 等, 1991)。高精氨酸技术应用的前提条件有:①待测日粮蛋白中赖氨酸的胍基化反应必须完全(至少保证日粮中绝大多数的赖氨酸都能转化为高精氨酸);②胍基化反应不会影响动物对日粮蛋白质的消化吸收;③高精氨酸不会在肠道中水解为赖氨酸和尿素;④高精氨酸同其它氨基酸一样进行吸收代谢;⑤吸收后的高精氨酸不会重新出现在肠道中;⑥血液或肠道内的高精氨酸不会影响内源氮的损失(Drescher 等, 1994; Marty 等, 1994)。

试验表明,高精氨酸法基本符合上述前提条件。首先,高精氨酸可以在相对温和的条件(pH10.5)和中离子浓度(0.2mol/L)下得到,不会改变日粮成分;其次,侧链的电荷并不会剧烈改变,胍基化后的蛋白质的三级结构变化不大,生物活性并不发生改变;第三,动物对胍基化的日粮蛋白质和天然蛋白质具有相似的蛋白酶分解能力和吸收能力。Souffrant(1991)研究表明,猪对高精氨酸标记过的酪蛋白和大豆分离蛋白的回肠吸收率高达97%,且只有微量(<0.2%)的高精氨酸从血液中重新返回到肠腔中。Ravindran 等(1998)也研究表明,胍基化对酪蛋白、豆粕、棉粕和可可粕的回肠末端表观消化率没有影响,不会干扰动物对饲料的消化吸收。虽然饲料中赖氨酸的胍基化反应一般是不完全的,

但只要保证胍基反应的完全随机化,就可使用此法测定内源氨基酸的排泄量。饲喂不完全胍基化的蛋白质为唯一氮源日粮是:

内源 Lys 排泄量=食糜中 Lys 总量-(日粮 Lys 供量-Lys 真消化率 \times 日粮 Lys 供量)

其中:Lys 真消化率=HA 消化率 \times (日粮 HA 含量-食糜 HA 含量)/日粮中 HA 含量

由上可知,高精氨酸技术可用于直接测定内源赖氨酸和日粮赖氨酸真消化率(Rutherford 和 Moughan, 1990; Schmitz 等, 1991; Marty 等, 1994; Nyachoti 等, 2002)。但用此方法测定热损坏蛋白质的内源赖氨酸损失和赖氨酸真消化率时,须给予特别注意。因为只有当高精氨酸在待测饲料蛋白质中均匀分布时,样品才具有代表性,否则影响测定结果。如果饲料蛋白质中的赖氨酸侧链被封闭,特别是经 Maillard 反应后被封闭,赖氨酸的侧链就不能与甲基异脲反应而转化为高精氨酸,造成饲料蛋白质标记不完全,不具有代表性。在这种情况下,待测饲料高精氨酸的消化率只代表了未被热损害的部分蛋白质,而非整个待测饲料蛋白质的消化率,从而导致对内源赖氨酸损失及待测饲料赖氨酸真消化率的估测不准确(Schulze 等, 1994)。另外,值得注意的是,胍基化的条件需严格控制,否则会降低动物对饲料的消化吸收,影响对内源氨基酸的估测和真消化率的测定。

高精氨酸技术是一种相对简单而且经济的测定内源氨基酸和饲料真消化率的方法,但仍存在以下质疑:①高精氨酸技术虽然可直接测定内源赖氨酸的损失情况和日粮赖氨酸的真消化率,而其它氨基酸的内源损失和真消化率则由假设其它氨基酸与赖氨酸的内源损失之间存在恒定的关系式而估计出来的(de Lange 等, 1990; Marty 等, 1994),因此,应用高精氨酸技术估计赖氨酸之外的其它氨基酸的内源损失和真消化率的准确性还需进一步探讨。②由于日粮赖氨酸胍基化反应的完全程度随日粮蛋白质来源的不同而有所差异,所以该方法更适用于日粮的蛋白质来源唯一时的情况。而在实际生产中,日粮蛋白质是多种蛋白源共同组成,所以,能否利用其测定内源氨基酸还有待于确定。Nyachoti 等(1997)用高精氨酸技术测定不同蛋白质原料对内源赖氨酸排出量的影响时,得出的结果变化范围为586~1429mg/kgDMI。③HA 不能长期饲用,否则会造成赖氨酸的缺乏和电解质失调(Bryden

等,1996)。

4 肽营养超滤技术

Moughan 等(1990)及 Butts(1991)建立了肽营养超滤法。该技术的原理和过程如下:给动物饲喂含酶解酪蛋白(Enzyme hydrolysed casein,EHC)分子量低于 $8.25 \times 10^{-21} \text{g}$ 作为唯一蛋白质来源的半纯合日粮,然后收集回肠末端食糜,立即通过离心和超滤等方法,将食糜中的大分子蛋白质(分子量大于 $1.65 \times 10^{-20} \text{g}$)与小分子蛋白质(分子量小于 $1.65 \times 10^{-21} \text{g}$)迅速分离开来,大分子量蛋白质即为内源性,而小分子量蛋白质是饲料中未被吸收的部分。事实上,分离出的小分子蛋白质不完全是外源的氨基酸和小肽,还包括一小部分内源的氨基酸和小肽,而这部分会导致低估实际的内源氨基酸的损失。Moughan 和 Schutter(1991)报道内源氮损失中小分子的游离氨基酸和小肽大约占11%,而 Butts 等(1992)和 Marty 等(1994)报道的这一数据分别为21%和9.2%。这说明内源氮损失中游离氨基酸和小肽所占比例变异较大。

此法考虑了肽对消化酶分泌的刺激作用,并设法使动物处于氮平衡状态,比 NFD 和 REG 法无疑有较大的改进(Donkoh 等,1995)。Butts 等(1991)将该方法成功地运用于生长大鼠的内源性氨基酸排泄的测定,结果表明,该方法的测定值高于无氮日粮法,而与 ^{15}N 同位素标记法的结果相当。说明该方法在评估动物的内源性氨基酸排泄上有相同的准确性。但是,肽营养技术的一个主要的不足是该方法没有考虑日粮因素,如日粮成分和高水平的抗营养因子等对内源氮损失的影响,仅适用于含低纤维物质和无抗营养因子的蛋白质饲料的内源校正(Moughan 等,1992;Donkoh 等,1995)。且这种方法不能用于研究饲料粗纤维、抗营养因子及日粮粗蛋白水平对内源氮排泄量的影响。此外,肽营养超滤法存在的一个问题是超滤技术不适于定量分离。Leterme 等(1994)比较了超滤和凝胶两种分离技术后认为,在分离可溶性组分时两种方法有较大的差异,其中以凝胶过滤法效果较好。Donkoh 等(1995)指出,肽营养超滤技术适用于日粮蛋白质来源为动物性成分(如骨粉)的内源氮损失的估测。

5 氨基糖测定法

Fuller 等(1991)提出可以用氨基糖作为估测回肠

末端内源氮损失的指示物,氨基糖是粘蛋白的组成成分。Seve 等(1994)对内源氮及氨基糖随日粮蛋白质水平和粗纤维含量的变化规律进行的研究发现,氨基葡萄糖与氨基半乳糖的比值不受日粮成分变化的影响,为2.1~2.3,接近于粘蛋白中的比例,这表明到达回肠末端的氨基糖是一个较为稳定的指标。同时试验还表明,随日粮纤维水平的提高,氨基糖未能表现出与内源氮相似的变化规律,氨基糖虽可作为内源氮的指示物,但它反映的更可能是粘蛋白的分泌情况,而非真正的内源氨基酸损失。由此可见,该方法的实际应用还需对氨基糖的分泌和影响因素以及与内源氮分泌规律间的关系作进一步研究。

6 体内、体外结合测定

Boizen 和 Fernandez(1995)提出这一方法,体外测定部分模拟体内的消化过程,对饲料样品进行处理。具体方法为:将1g饲料样品(<1mm)置于25ml磷酸缓冲液(0.1M,pH=6.0),加入10ml 0.2M HCl溶液,调节pH值至2.0,再加入1ml新鲜制备的胃蛋白溶液(猪,2000FIP-v/g)39℃下孵育6小时,然后调节pH至6.8,加入1ml胰酶溶液(50mg/ml;猪,4级)39℃下消化18小时,将未消化的蛋白质沉淀后,根据饲料与消化残余物间的差值求出蛋白质的体外消化率。再用体内消化法测定出饲料的表观回肠末端蛋白质消化率,这两者的差值就是内源氮的损失部分(Boizen 和 Fernandez,1994)。其与体外测定部分中的体外未降解干物质间的回归关系为:

$$\text{EPL}=13.2+0.66 \times \text{UDM} \quad (r^2=0.61)$$

其中,EPL—内源氮损失(g/kgDM),UDM—体外未降解干物质(g/kgDM)。

该方法简便、省时、省力,可较好地比较饲料消化性的优劣,并通过消化率差值法研究日粮粗蛋白摄入量对内源氨基酸排泄量的相对影响,是很有前途的方法之一。但目前尚存在一些疑问,如,如何在体外模拟体内的消化吸收过程;体外未降解干物质是否为内源蛋白质、氨基酸的适宜指示物,因体外未降解干物质受许多饲料因素的影响,这些饲料因素在体内对内源物质分泌的影响规律未必与其在体外的消化情况相符等。

7 结语

随着内源氨基酸的测定方法的不断改进,内源氮和氨基酸测定的准确性也大大提高了。但迄今为

止,直接测定内源氨基酸的方法尚存在技术上或经济上的困难,因此,这一领域还待于进一步深入研究,以便找出一种经济、简便、实用的测定内源氨基酸的方法,更准确地评价蛋白质的营养价值,从而为饲料配方提供信息,也为进一步提高饲料蛋白质的利用效率提供理论依据。

参考文献

- Alison Darrage, *et al.* 1990. The effect of amino acid and peptide alimentation on the determination of endogenous amino acid flow at the terminal ileum of the rat[J]. *J Sci. Food Agric.*, 51:47-56.
- Arenston R A, *et al.* 1995. True digestibility of amino acids and protein in pigs with ^{13}C as a label to determine endogenous amino acid excretion [J]. *J Anim. Sci.*, 73:1077-1085.
- Bergner, *et al.* 1994. Secretion of endogenous protein in dependence of protein and fibre intake of-labeled pigs[A]. In: Souffran W B, H Hagemeyer, Ed., 6th International Symposium on Digestive Physiology in Pigs[C]. P11-13.
- Boisen, *et al.* 1995. Prediction of the apparent ileal digestibility of protein and amino acids in feedstuffs and feed mixtures for pigs by *in vitro* analysis [J]. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 51:29-43.
- Butts, *et al.* 1992. Protein nitrogen, peptide nitrogen and free amino acid nitrogen in endogenous digesta nitrogen at the terminal ileum of the rat [J]. *J Sci. Food Agric.*, 59:291-298.
- Butts, *et al.* 1993. Endogenous lysine and other amino acid flows at the terminal ileum of the growing pigs (20kg body weight): the effect of protein-free, synthetic amino acid, peptide and protein alimentation [J]. *J Sci. Food Agric.*, 61:31-40.
- C F M de Lange, *et al.* 1989. The effect of feeding different protein-free diets on the recovery and protein collected from the distal ileum and feces in pigs[J]. *J Anim. Sci.*, 67:745-754.
- C F M de Lange, *et al.* 1990. Real ileal protein and amino acid digestibilities in feedstuffs for growing pigs as determined with the ^{15}N -isotope dilution technique [J]. *J Anim. Sci.*, 68:409-418.
- C F M de Lange, *et al.* 1992. ^{15}N -leucine and ^{15}N -isoleucine isotope dilution techniques versus the ^{15}N -isotope dilution technique for determining the recovery of endogenous protein and amino acids in digesta collected from the distal ileum in pigs[J]. *J Anim. Sci.*, 70:1848-1856.
- Donkoh, *et al.* 1995. Comparison of methods to determine the endogenous amino acid flow at the terminal ileum of the growing rat[J]. *J Sci. Food Agric.*, 67:359-366.
- Donkoh, *et al.* 1999. Endogenous ileal nitrogen and amino acid flows in the growing pig receiving a protein-free diet and diets containing enzymically hydrolysed casein or graded levels of meat and bone meal [J]. *J Anim. Sci.*, 68:511-518.
- Fan, *et al.* 1995. Estimation by regression analysis of endogenous amino acid levels in digesta collected from the distal ileum of pigs[J]. *J Anim. Sci.*, 73:2319-2328.
- Fuller M F, *et al.* 1991. Effect of amount and composition of the diet on galactosamine flow from the small intestine [A]. In: Digestive physiology in pigs Proceeding of the 5th symposium on digestive physiology in pigs[C]. Wageningen, Netherlands. P24-26.
- Furuya, *et al.* 1989. Estimation of the true ileal digestibility of amino acids and nitrogen for their apparent values for growing pigs [J]. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 26:271-285.
- Grala, *et al.* 1998. Nitrogen utilization in pigs fed diets with soybean and rapeseed products leading to different ileal endogenous nitrogen losses[J]. *J Anim. Sci.*, 76:569-577.
- Huisman, *et al.* 1992. True protein digestibility and amounts of endogenous protein measured with the ^{15}N -dilution technique in piglets fed on peas (*pisum sativum*) and common beans (*phaseolus vulgaris*) [J]. *Br. J Nutr.*, 68:101-110.
- Krawielitzi, *et al.* 1977. Versuche zur bestimmung des endogenen und exogenen faekalen [J]. *Arch Tierernaehr.*, 28:317-328.
- Leibholz. 1982. The flow of endogenous nitrogen in the digestive tract of young pigs[J]. *Brit. J Nutr.*, 48:509-517.
- Leterme, *et al.* 1992. A note on the effect of wood cellulose level in protein-free diets on the recovery and composition of endogenous protein collected from the ileum in pigs[J]. *Anim. Prod.*, 54:163-165.
- K A Lien. 1995. Evaluation of the ^{15}N -isotope dilution technique for determining the recovery of endogenous protein in ileal digestion of pigs: effect of dilution in the precursor pool for endogenous nitrogen secretion[J]. *J Anim. Sci.*, 75:148-158.
- K A Lien. 1995. Evaluation of the ^{15}N -isotope dilution technique for determining the recovery of endogenous protein in ileal digestion of pigs: effect of pattern of blood sampling, precursor pools, and isotope dilution technique[J]. *J Anim. Sci.*, 75:159-169.
- Low A G. 1980. Nutrient absorption in pigs[J]. *J Sci. Food*

Agric.,31:1087.

Low A G.1982.Digestibility and availability of amino acids from feedstuffs for pigs:a review [J].*Livest.Prod.Sci.*,9: 511-520.

Manscal-Landin,*et al.*1995.Endogenous amino nitrogen collected from pigs with end-to-end ileorectal anastomosis is affected by the method of estimation and altered by dietary fiber[J].*J Nutr.*,125:136-146.

Marty,*et al.*1994.Recovery of amino acids at the distal ileum for determining apparent and true amino acid digestibilities in growing pigs fed various heat-processed full-fat soybean products[J].*J Anim.Sci.*,72:2029-2037.

Moughan,*et al.*1992.Evaluation of the isotope dilution technique for determining ileal endogenous nitrogen excretion in the rat[J].*J Sci.Food Agric.*,58:165-172.

Moughan *et al.*1990.Endogenous flow of total lysine and other amino acids at the distal ileum of the protein-or peptide fed rat:The chemical labelling of gelatin protein by transformation of lysine to homoarginine[J].*J Sci.Food Agric.*, 52:179-192.

Nyachoti C M,*et al.*1997.Estimating endogenous amino acid flows at the terminal ileum and true ileal amino acid digestibilities in feedstuffs for growing pigs using the homoarginine method[J].*J Anim.Sci.*,75:3206-3213.

Nyachoti C M,*et al.*1997.Significance of endogenous gut nitrogen losses in the nutrition of growing pigs:A review

[J].*Can.J Anim.Sci.*,77:149-163.

Nyachoti C M,*et al.*2002.Evaluation of the homoarginine technique for measuring true ileal amino acid digestibilities in pigs fed a barley-canola meal-based diet [J].*J Anim.Sci.*, 80:440-448.

Ravindran,*et al.*1998.Influence of guanidination on apparent ileal amino acid digestibility in some protein sources for broilers[J].*Poult.Sci.*,77:873-877.

Roos,*et al.*1994.Labelling with ¹⁵N as compared with homoarginine suggests a lower prececal digestibility of casein in pigs[J].*J Nutr.*,124:2404-2409.

Schmitz,*et al.*1991.Homoarginine labeling is suitable for determination of protein absorption in miniature pigs[J].*J Nutr.*,121:1575-1580.

Seve,*et al.*1994.Ileal endogenous amino acid and amino sugar flows in pigs fed graded levels of protein or fiber [A].In:Souffrant W B and H Hagemeiser,Ed.,6th International Symposium on Digestive Physiology in Pigs[C].

Souffrant W B,*et al.*1991.Endogenous nitrogen losses during digestion in pigs [A].In (Verstegen M W *et al.*Ed.)Digestive Physiology in Pigs [C].Wageningen,Netherlands:EAAP Publication.54:147-165.

Vincent Hess,*et al.*1998.The ¹⁵N amino acid dilution method allows the determination of the real digestibility and of the ileal endogenous losses of the respective amino acid in pigs[J].*J Nutr.*,128:1969-1977.

肉鸭的体脂肪含量与血清脂类成分变化规律的研究 STUDY ON BODY FAT CONTENT AND VARIATION OF THE SERUM LIPID COMPONENTS OF MEAT-TYPE DUCKS

周长海¹,田中桂一²

(1.吉林大学生物与农业工程学院,吉林 长春 130022 2.日本北海道大学农学部,札幌,日本 060-0809)

ZHOU Chang-hai¹,Kei-ichi Tanaka²

(1.School of Biological and Agricultural Engineering JiLin University,Changchun 130022,China ;

2.Graduate School of Agriculture,Hokkaido University,Sapporo 060-0809,Japan)

试验测定了肉鸭不同生长阶段体脂肪含量及血清中各种脂类成分含量。结果表明,伴随肉鸭日龄的增加,肉鸭腹腔脂肪含量及体脂肪含量逐渐增加,血清中酯型胆固醇和游离型胆固醇含量递减,三磷酸甘油酯递增,磷脂无规律性变化。说明腹腔脂肪含量是判断体脂肪积累状况的重要指标。血清中三磷酸甘油酯浓度不仅与体脂肪含量成比较强的正相关,而且可以作为肉鸭体脂肪合成与积累的判断指标。

关键词:肉鸭;体脂肪;血清脂类成分

Key words: meat-type duck; body fat; serum lipid content

收稿日期:2004-03-25