

不同淀粉来源日粮对断奶仔猪内脏组织蛋白质合成的影响

谭碧娥^{1, 2}, 宾石玉^{1, 3}, 孔祥峰¹, 褚武英¹, 黄瑞林¹, 李铁军^{1, 2}, 印遇龙¹

(1 中国科学院亚热带农业生态研究所动物生态营养与健康实验室, 湖南 长沙 410125;

2 中国科学院研究生院, 北京 100049; 3 广西师范大学 生命科学学院, 广西 桂林 541004)

摘要: 为了研究玉米、糙米、糯米和抗性淀粉等不同谷物淀粉对断奶仔猪内脏组织蛋白质合成率(FSR)的影响, 以16头28日龄断奶的杜×长×大三元杂交母猪(体重 (8.0 ± 0.4) kg)为试验对象, 一次性大剂量腹腔注射L-[²H₅]苯丙氨酸溶液后, 测定了内脏组织蛋白质周转状况。结果表明, 来源于玉米日粮组的淀粉促进了断奶仔猪内脏组织蛋白质的合成, 其FSR高于糙米和抗性淀粉日粮组, 显著高于糯米日粮组, 且十二指肠、空肠、回肠、结肠、胰脏和肝脏的FSR分别比糯米日粮组高85.87%, 47.47%, 37.29%, 56.29%, 43.55%和17.63%。可见, 日粮淀粉来源不同, 对仔猪内脏组织FSR的影响也不同。

关键词: 淀粉来源; 断奶仔猪; 内脏组织; 蛋白质合成

中图分类号: S858.28 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2007)03-0188-05

The Effects of Dietary Starch Sources on Protein Synthesis of Splanchnic Tissue in Weaned Female Piglets

TAN Bi-e^{1, 2}, BIN Shi-yu^{1, 3}, KONG Xiang-feng¹, CHU Wu-ying¹, HUANG Rui-lin¹,
LI Tie-jun^{1, 2}, YIN Yu-long¹

(1. Laboratory of Animal Nutrition and Health, Institute of Subtropical Agriculture, the Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125, China; 2. The Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. College of Life Sciences, Guangxi Normal University, Guilin 541004, China)

Abstract: A total of sixteen Duroc×Landrace×Yordshire female piglets (average BW of (8.0 ± 0.4) kg) weaned at 28 day of age were used to determine the effects of different starch sources on fractional synthesis rate (FSR) of splanchnic tissues by an intraperitoneal injection of a flooding dose of L-[²H₅] phenylalanine (1.5 mmol/kg BW). The results showed that the starch in corn diet enhanced the FSR of splanchnic tissues in weaning piglets. The FSR of corn groups was higher than other three groups. The FSR of duodenum, jejunum, ileum, colon, pancreas and liver in corn group were 85.87%, 47.47%, 37.29%, 56.29%, 43.55% and 17.63% higher compared with the stick rice group, respectively. These findings suggested that the different source starches affected significantly the FSR of splanchnic tissues in weaned female piglets.

Key words: Starch source; Weaned piglet; Splanchnic tissue; Fractional synthesis rate

玉米和早籼稻糙米是中国南方畜禽常用的能量饲料, 糯米是人们常食的粮食作物, 在动物营养方面的研究前人已有报道^[1-3], 但目前尚未见关于这些饲料中淀粉含量和组成对断奶仔猪内脏组织蛋白质合成率(FSR)影响的报道。动物对蛋白质利用的效

率, 一直是动物营养学研究所关注的重点领域之一。在传统营养学中, 氮平衡试验所获得的数据是蛋白质代谢的静态反应, 而从动态角度着手, 对动物体内蛋白质代谢与氨基酸利用过程进行研究, 才能真正

收稿日期: 2007-03-20

基金项目: 国家“973”项目(2004CB117502); 国家自然科学基金项目(30671517; 30528006); 中国科学院海外杰出学者基金(2005-1-4)

作者简介: 谭碧娥(1979-), 女, 湖南宁乡人, 硕士, 主要从事单胃动物营养研究工作

通讯作者: 印遇龙(1956-), 男, 湖南桃源人, 研究员, 博导, 主要从事动物生态、营养与分子生物学研究工作。

反映机体蛋白质代谢的实际情况^[4]。门静脉回流内脏(PDV)组织的重量只占体重的5%,但其能量消耗却占全身的30%~35%;饲料中消化吸收的氨基酸也不是全部进入门静脉,而有相当一部分在PDV组织中进行代谢^[5-10],且这些代谢过程显著影响着肝脏和外周组织对氨基酸的利用。因此,本研究通过一次性大剂量腹腔注射含稳定性同位素L-[²H₅]苯丙氨酸的溶液,测定内脏组织中蛋白质周转的状况,研究日粮淀粉来源对断奶仔猪内脏组织蛋白质合成率的影响,为进一步调控碳水化合物和蛋白质的供给提供理论依据。

表1 试验日粮组成和营养水平

Tab 1 The ingredients and nutrient levels of experimental diets					%
原料 Ingredients	玉米日粮 Com diet	糙米日粮 Brown rice diet	糯米日粮 Sticky rice diet	抗性淀粉日粮 RS diet	
玉米 Com	47.08				
玉米淀粉 (86%) Com starch	11.30				
糙米 Brown rice		60.18			
糯米 Sticky rice			60.20		
玉米蛋白粉 Com gluten meal	1.99			8.50	
抗性淀粉 RS				50.30	
豆粕 Soyabean meal	18.50	18.50	18.50	18.50	
血浆蛋白粉 Blood plasma meal	4.00	4.00	4.00	4.00	
鱼粉 Fish meal	5.00	5.00	5.00	5.00	
乳清粉 Whey	5.00	5.00	5.00	5.00	
豆油 Soya oil	3.00	3.00	3.00	3.00	
石粉 CaCO ₃	0.37	1.04	1.02	0.41	
磷酸氢钙 CaHPO ₄	1.55	0.43	0.44	1.46	
食盐 NaCl	0.30	0.30	0.30	0.30	
预混料 Premix	1.00	1.00	1.00	1.00	
L-Lys (78%)	0.30	0.14	0.14	0.37	
DL-Met (98%)	0.12	0.12	0.12	0.16	
L-Thr (98%)	0.06	0.01	0.01	0.08	
稻谷壳粉 Rice hull	0.33	0.58	0.90	1.30	
膨润土 Bentonite	0.10	0.70	0.37	0.62	
营养水平 Nutrient levels					
总能 GE / (MJ/ kg)	16.12	16.28	16.01	16.02	
粗蛋白质 CP	19.85	19.86	20.07	19.98	
赖氨酸 Lys	1.35	1.35	1.35	1.35	
蛋氨酸+ 半胱氨酸 Meth+ Cys	0.76	0.76	0.76	0.76	
苏氨酸 Thr	0.86	0.86	0.86	0.86	
总淀粉 TS	38.73	38.63	38.90	39.20	
粗脂肪 EE	4.25	4.29	4.19	4.09	
粗纤维 CF	2.07	2.07	2.04	2.06	
灰分 Ash	5.33	5.79	5.09	5.26	

1.2 试验动物、饲养管理及分组

选择28日龄断奶的杜×长×大三元杂交仔猪猪16头,采用单因子试验设计,随机分为4个处理,每个处理4个重复,每个重复1头猪。试猪单栏饲养于塑料漏缝地板铁笼内,南北两列均匀分布,舍温控制在24~26℃,常规饲养管理及免疫,日喂3次,自由采食和饮水。试猪饲养8d后,于第9天上午饲喂日粮3.5h后,进行同位素引入试验。

1.3 稳定同位素注射处理

试猪称重后,将其两腿倒提,在倒数第2对乳头

1 材料和方法

1.1 试验日粮

选择饲料用玉米(产于河南)、早籼稻糙米(产于长沙)、糯米(产于江西)和抗性淀粉(Hi-Maize 1043,购于美国国民淀粉公司)作为淀粉来源,参照NRC(1998)营养需要标准,配制了4种试验日粮,并使日粮总能(GE)、粗蛋白(CP)、粗纤维(CF)、粗脂肪(EE)、总淀粉(TS)、赖氨酸(Lys)、蛋氨酸+半胱氨酸(Met+Cys)及苏氨酸(Thr)含量基本趋于一致(表1)。

中间处一次性大剂量腹腔注射含有0.060 mmol/mL稳定同位素L-[²H₅]Phe(纯度为98%;丰度为40%;美国Cambridge Isotope Laboratory产品)的溶液,注射剂量为10 mL/(kg·BW)。在此过程中,准确记录注射结束到组织样品处理完成的时间。

1.4 样品采集与处理

在试猪同位素注射前20 min和注射后30 min内,前腔静脉采血,每次7 mL,放入含有0.1 mL肝素钠溶液的离心管中,轻轻混匀后置于冰上。于4℃,2 500 r/min离心15 min,移取上清液,-70℃贮存,

供 L-[²H₅] Phe 分析。血样采集完毕,立即心脏注射戊巴比妥钠溶液(50 mg/(kg•BW)) 将试猪处死。迅速剖开腹腔, 将 PDV 组织(胃、脾脏、胰脏、十二指肠、空肠、回肠、盲肠和结肠) 和肝脏取出放入冰盒内, 然后迅速将胃、十二指肠、空肠、回肠、盲肠和结肠的食糜排空, 并用加有蛋白酶抑制剂的冷生理盐水冲洗, 迅速用液氮处理后, - 70 ℃ 贮存。

1.5 检测指标与方法

1.5.1 血浆游离氨基酸浓度和游离库及合成库中 L-[²H₅] Phe 丰度的测定 取 2 份 0. 75 mL 血浆分别用 2 mL 三氯乙酸溶液(2 mol/L) 沉淀蛋白, 再加入 0. 2 mL 正亮氨酸溶液(2. 5 mmol/L) 作内标, 混匀, 2 000 r/ min 4℃ 离心 20 min, 取一份上清液用离子交换柱分离、中性去离子水洗脱, 再用 NH₄OH 洗脱, 吸取洗脱液上 L-8800 型氨基酸自动分析仪(Beckman 公司) 测定血浆游离氨基酸的浓度; 另一份上清液通过 Dorwex AG50W-X8-H+ 型树脂过滤, 将氨基酸洗脱下来, 洗脱物经干燥后, 用 0. 5 mL 酯化试剂进行酯化, 再用 0. 2 mL 七氟丁酸酐(HFBA) 进行衍生化处理, 然后在 1. 0 mL 乙酸乙酯中溶解 HFBA 衍生物, 过滤, 用由 Hewlett-Packard 6890 型气相色谱仪与 Hewlett-Packard 5973 型质谱仪连接组成的 GC-MS 系统分析游离库及合成库的 L-[²H₅] Phe 的丰度^[11]。

1.5.2 组织样品游离氨基酸浓度和游离库及合成库中 L-[²H₅] Phe 丰度的测定 取 0. 5~ 1. 0 g 组织样品 2 份, 磨碎, 分别加 2 mL 三氯乙酸溶液(2 mol/L) , 匀浆 1 min, 以沉淀组织蛋白, 然后加入 0. 2 mL 正亮氨酸工作溶液(2. 5 μmol/mL) 作为内标, 混匀, 2 000 r/ min 4℃ 离心 20 min, 取上清液, 并分别测定上清液的最终体积。而沉淀物(组织蛋白) 用 3 mL HCl(6 mol/L) 在 110℃ 下水解 24 h, 2 000 r/ min 4℃ 离心 20 min, 取上清液, 分别与前部分上清液混匀, 用于测定游离氨基酸浓度和 L-[²H₅] Phe 的丰

度, 其步骤同血浆样品。

1.6 数据计算与统计分析

样品中 L-[²H₅] Phe 同位素丰度计算公式为: Et (molar, %) = a+ bR。其中: Et 为示踪物同位素丰度(%) , R 为所测示踪物和非示踪物指标(峰面积或峰高度) 的比值, a, b 为常数。

血浆和内脏组织 FSR 的计算公式为: FSR (% / d) = (E_{Bound} × 1440 × 100%) / (E_{free t} × t) 。其中, t 为测定时间, 即从腹腔注射[²H₅] Phe 结束到组织样品处理完成的时间; E_{Bound} 为进入组织蛋白质结合库中的示踪 Phe 丰度(mol, %) ; E_{free t} 为示踪 Phe 在游离库中, 在时间 t 内的丰度(mol, %) , 1 440 min = 1 d。在计算血浆和组织 FSR 时, 用血浆和内脏组织游离库的[²H₅] Phe 丰度作为血浆和内脏组织前体库中[²H₅] Phe 的丰度。

所有试验数据均用 SAS 软件进行方差分析(ANOVA) 和 DUNCAN 氏多重比较, 以 P< 0. 05 作为差异显著性判断标准, 结果用平均数±标准误表示。

2 结果与分析

表 2 结果表明, 断奶仔猪采食不同来源谷物淀粉日粮后, 内脏组织的 FSR 存在差异。PDV 组织和肝脏的 FSR 均以玉米组最高, 糙米组和玉米组接近, 均高于抗性淀粉日粮组和糯米组, 糯米组最低。其中糯米组脾脏、胰脏、十二指肠、空肠、回肠、结肠的 FSR 依次为 19. 36%/ d, 37. 24%/ d, 31. 36%/ d, 38. 80%/ d, 32. 85%/ d 和 29. 08%/ d, 显著低于玉米组和糙米组, 分别比玉米组低 84. 76%, 30. 34%, 46. 20%, 32. 19%, 27. 16% 和 36. 02%, 比糙米组低 81. 97%, 21. 72%, 46. 15%, 30. 48%, 25. 14% 和 32. 78%, 比抗性淀粉组低 60. 49%, 17. 79%, 34. 10%, 23. 23%, 13. 0% 和 28. 9%; 糯米组胃、盲肠和肝脏的 FSR 也最低, 但与各组之间差异不显著。

表 2 不同谷物淀粉来源日粮对断奶仔猪内脏组织蛋白质合成率的影响

Tab. 2 Effects of different grain sources of dietary starch on FSR of viscera tissues in weaned femal piglets(n= 4) %/ d

处理 Treatment	玉米日粮 Corn diet	糙米日粮 Brown rice diet	糯米日粮 Sticky rice diet	抗性淀粉日粮 RS diet
胃 Stomach	30. 99 ± 20. 60	28. 80 ± 7. 85	17. 95 ± 6. 52	30. 67 ± 5. 65
胰脏 Pancreas	53. 46 ± 7. 43a	47. 57 ± 12. 99a	37. 24 ± 5. 78b	45. 30 ± 10. 85ab
脾脏 Spleen	35. 77 ± 3. 45a	35. 23 ± 2. 43a	19. 36 ± 4. 33b	31. 07 ± 5. 17a
十二指肠 Duodenum	58. 29 ± 4. 84a	58. 24 ± 6. 48a	31. 36 ± 4. 26b	47. 59 ± 11. 24a
空肠 Jejunum	57. 22 ± 6. 24a	55. 81 ± 6. 98a	38. 80 ± 6. 04b	50. 54 ± 13. 69ab
回肠 Ileum	45. 10 ± 4. 71a	43. 88 ± 3. 26a	32. 85 ± 7. 00b	37. 76 ± 5. 18ab
盲肠 Cecum	44. 61 ± 6. 59	43. 80 ± 10. 28	32. 30 ± 6. 82	43. 64 ± 6. 75
结肠 Colon	45. 45 ± 2. 71a	43. 26 ± 3. 12a	29. 08 ± 4. 83b	40. 93 ± 6. 13a
肝脏 Live	46. 98 ± 2. 47	46. 65 ± 12. 65	39. 94 ± 4. 32	44. 02 ± 2. 08

注: 同行数据不同字母者差异显著(P< 0 05)
Note: The data with different superscript letters in the same row differ significantly (P< 0 05)

3 讨论

本试验采用一次性大剂量腹腔注射稳定同位素苯丙氨酸溶液测定断奶仔猪内脏组织 FSR 技术, 在方法上与 Bregendahl 等^[12]类似, 也符合 Garlick 等^[13]提出的大剂量法要求。经腹腔注入可避免静脉直接注入时因手术造成的应激和感染, 且操作简单。内脏组织蛋白质合成是一个动态的过程, 在氨基酸迅速吸收、为蛋白质合成提供充足原料的条件下, 蛋白质合成速度较高, 而在吸收后的饥饿或半饥饿状态下, 蛋白质合成速度较低^[14]。本试验日粮除淀粉来源不同外, 日粮 GE, CP, CF, EE, St, Lys, Met+ Cys 及 Thr 的含量基本一致。故 PDV 组织和肝脏 FSR 的差异也反映了日粮淀粉来源(能量来源)的差异。

由消化道吸收的氨基酸首先经过 PDV 组织代谢, 然后再由门静脉进入肝脏代谢, 最后随动脉血流分布至全身组织^[15]。而氨基酸在肠道粘膜的代谢有相当一部分用于肠道供能^[16-20], 通过 PDV 组织和门静脉的氨基酸流量, 是随日粮和胃肠组织内能量载体物质的变化而改变的, 并受小肠葡萄糖供应量的影响^[21-23]。而小肠葡萄糖供应量与淀粉在小肠内的动态消化密切相关。由于糯米日粮淀粉的快速消化将导致血浆快速短时间的胰岛素水平上升, 但很快迅速降低, 这种升降幅度较大的胰岛素释放效应不利于蛋白质合成^[24]。这也可能是仔猪断奶饲喂糯米日粮, 其内脏组织 FSR 较低的原因。

关于不同淀粉来源对门静脉葡萄糖和氨基酸流量的影响研究表明, 尽管玉米淀粉和豌豆淀粉的回肠消化率并没有差别, 但玉米淀粉较豌豆淀粉消化快, 饲喂玉米淀粉组门静脉血中葡萄糖出现速度快, 葡萄糖净流量高, 但持续的时间较豌豆淀粉短, 门静脉血中必需氨基酸和氨基酸总量, 以豌豆淀粉日粮较高^[23]。这可能是由于豌豆淀粉在肠道中被逐渐消化, 能够连续不断地给肠道各部分组织提供葡萄糖, 从而减少氨基酸在肠道组织中氧化供能而提高门静脉血中氨基酸的流量^[25,26]。此外, 蛋白质和淀粉消化性能的差异也可缓解肠道内葡萄糖和氨基酸吸收的相互抑制从而增加肠道吸收的氨基酸数量^[27,28]。因此, 有必要对本次试验所采用的不同谷物淀粉来源日粮在断奶仔猪的消化代谢状况做进一步研究。综上所述, 来自糯米日粮的淀粉显著降低了断奶仔猪内脏组织的 FSR, 而来自玉米日粮的淀粉则显著提高了其内脏组织的 FSR, 这可为配制畜禽日粮时合理使用不同碳水化合物原料提供一定的理论依据。

参考文献:

- [1] 邓 敦, 李铁军, 黄瑞林, 等. 不同蛋白质水平对肥育猪氮排放量和生产性能的影响[J]. 华北农学报, 2006, 21(增刊): 166-171.
- [2] 张 军, 李铁军, 宾石玉, 等. 不同来源淀粉对断奶仔猪氮代谢的影响[J]. 华北农学报, 2006, 21(增刊): 177-180.
- [3] 李美香, 李铁军, 宾石玉, 等. 酶解酪蛋白法测定猪回肠内源性氨基酸排泄量的研究[J]. 华北农学报, 2006, 21(增刊): 181-185.
- [4] 周安国. 生长肉鸭体蛋白质周转的营养生理效应研究[J]. 畜牧兽医学报, 1995, 26(2): 97-103.
- [5] Wu G. Intestinal mucosal amino acid catabolism[J]. J Nutr, 1998, 128: 1249-1252.
- [6] Stoll B, Henry J, Reeds P J, *et al.* Catabolism dominates the first-pass intestinal metabolism of dietary essential amino acid in milk protein-fed piglets [J]. J Nutr, 1998, 128: 606-614.
- [7] Reeds P J, Stoll D G, Jahoor B, *et al.* Enteral glutamate is the preferential source for mucosal glutathione synthesis in fed piglets[J]. Am J Physiol, 1996, 270: E413-E418.
- [8] Deutz N E, Bruins M J, Soeters P B. Infusion of soy and casein protein meals affects interorgan amino acid Metabolism and urea kinetics differently in pigs [J]. J Nutr, 1998, 128(12): 2435-2445.
- [9] Van der Muelen, Bakker J G, Smiths B, *et al.* Effects of source of starch on net portal flux of glucose, lactate, volatile fatty acids in pig [J]. Br J Nutr, 1997, 78: 533-544.
- [10] Rerat A, Sinoes Nunes C, Mendy Z F, *et al.* Splanchnic fluxes of amino acids after duodenal infusion of carbohydrate solutions containing free amino acids or oligo-peptides in the non-anaesthetized pig [J]. Br J Nutr, 1992, 68: 111-138.
- [11] MacKenzie S L. Gas chromatographic analysis of amino acids as the n-heptafluorobutyl isobutyl esters [J]. J Assoc off Anal Chem, 1987, 70: 151-160.
- [12] Bregendahl K, Liu I, Fan M, *et al.* Measurements of fractional protein synthesis rates by an intraperitoneal injection of a flooding dose of L-[ring-²H₅] Phenylalanine [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2003, (Suppl 2): 3-16.
- [13] Garlick P J, McNurlan M A, Preedy V R. A rapid and convenient technique for measuring the rate of protein synthesis in tissues by injection of [³H] phenylalanine [J]. Biochem J, 1980, 192: 719-723.
- [14] Nieto R, Palmer R M, Fernandez-Figares I, *et al.* Effect of dietary protein quality, feed restriction and short-term fasting on protein synthesis and turnover in tissues of the growing chicken [J]. Br J Nutr, 1994, 72: 499-507.
- [15] 王 栋. 动物营养学[M]. 北京: 商务印书局出版,

- 1959: 26– 28
- [16] Dudley M A, Wykes L J, Dudley A W, *et al.* Parenteral nutrition selectively decreases synthesis in the small intestine [J] . Am J Physio, 1998, 274: 131– 137.
- [17] Stoll B , Burrin D G , Henry J , *et al.* Substrate oxidation by the portal drained viscera of fed piglets [J] . Am J Physiol, 1999, 277: 168– 175.
- [18] Pell J M, Caldarone E M, Bergman E N. Leucine and α -ketoisocaproate metabolism and interconversion in fed and fasted sheep [J] . Metabolism, 1986, 35: 1005– 1016.
- [19] Cappelli F P, Seal C J, Parker D S. Glucose and [^{13}C] – leucine metabolism by the portal drained viscera of sheep fed on dried grass with acute intravenous and intraduodenal infusions of glucose [J] . Br J Nutr, 1997, 78: 9631– 946.
- [20] Yu F, Bruce L A, Calder, *et al.* Subclinical infection with the nematode trichostrongylus colubriformis increases gastrointestinal tract leucine metabolism and reduces availability of leucine for other tissues [J] . J Anim Sci, 2000, 78: 380– 390.
- [21] Van der Meulen, Bakker J G, Smiths B , *et al.* Effects of source of starch on net portal flux of glucose, lactate, volatile fatty acids in pig [J] . Br J Nutr, 1997, 78: 533– 544.
- [22] Seal C J, Parker D S. Glucose utilization by portal drained viscera of steers receiving intraruminal propionate infusion [J] . J Anim Sci, 1992, 70(Spppl 1): 294
- [23] Seal C J, Parker D S. Effect of intraruminal propionic acid infusion on metabolism of mesenteric and portal-drained viscera in growing steers fed a forage diet: II Ammonia, urea, amino acids, and peptides [J] . J Anim Sci, 1996, 74: 245 – 256.
- [24] Wolever T M S. Dietary carbohydrates and insulin action in humans [J] . B J Nutr, 2000, 83 (Suppl 1): S97– S102.
- [25] Events H, Dekker R A, Smits B, *et al.* The digestion of maize and native pea starch in the small intestine of pigs [C] . Proceedings of the Nutrition Society, 1996, 55: 59A.
- [26] Giusi-Perier A, Fiszlewicz M, Rera A. Influence of diet composition on intestinal volatile fatty and nutrient absorption in unanesthetized pigs [J] . J Anim Sci, 1989, 67: 386– 402.
- [27] Vinardell M P. Mutual inhibition of sugars and amino acid intestinal absorption [J] . Comp Biochem and Physiol, 1990, 95: 17– 21.
- [28] Rerat A, Vaissade P, Vaugelade P. Comparative digestion of malitol and maltose in unanesthetized pigs [J] . J Nutr, 1991, 121: 737– 744.