



## 在体外模拟瘤胃发酵条件下N-乙酰-DL-蛋氨酸稳定性的研究

作者:武安泉 杨开伦 胡炳义等

期号:2007年第2期

**摘要** 通过两个试验,研究在体外模拟瘤胃发酵条件下N-乙酰-DL-蛋氨酸的降解率。试验1:N-乙酰-DL-蛋氨酸在pH值6.5、温度为39℃的缓冲液中孵育9h,其降解率为3.3%。试验2:运用瘤胃体外发酵技术研究N-乙酰-DL-蛋氨酸不同添加量对pH值、氨态氮、微生物蛋白动态变化的影响。结果表明,添加0.4、0.6g N-乙酰-DL-蛋氨酸发酵3~6h,均能够显著降低体系的pH值;添加0.6g N-乙酰-DL-蛋氨酸发酵12h能够显著提高氨态氮的浓度;N-乙酰-DL-蛋氨酸在发酵过程中不影响微生物蛋白产量。以上结果显示,N-乙酰-DL-蛋氨酸在体外模拟瘤胃发酵的条件下可以稳定存在。

**关键词** N-乙酰-DL-蛋氨酸;体外发酵;稳定性  
中图分类号 S816.6

Study on the stability of N-Acetyl-DL-Methionine in vitro simulating rumen fermentation system

Wu Anquan, Yang Kailun, Hu Bingyi, Zhu Zixue, Hu Jianyong, Niu Chaofeng, Li Wenhua

**Abstract** Two experiments are conducted in this paper to study the degradation rates of N-Acetyl-DL-Methionine in vitro simulating rumen fermentation system. In Exp.1, under the conditions of pH 6.5 and 39℃, the degradation rate is about 3.3% after 9 hours of culture. In Exp.2, the kinetic effects of gradient doses of N-Acetyl-DL-Methionine were carried out on pH value and concentrations of ammonia nitrogen and microbial protein. The results indicated: that pH value is reduced significantly by the dosage of 0.4 and 0.6 g respectively after adding 3~6 hours that the concentrations of ammonia nitrogen is increased significantly by the dosage of 0.6 g after fermenting 12 hours. During the fermentation, the microbial protein was not affected. It is inferred that N-Acetyl-DL-Methionine is stable under the condition of in vitro simulating rumen fermentation system.

**Key words** N-Acetyl-DL-Methionine; in vitro; stability

蛋氨酸作为高产反刍家畜限制性氨基酸之一,越来越受人们重视。Chalupa (1976) 研究发现,蛋氨酸在瘤胃内3h几乎完全降解,日粮中添加蛋氨酸对于反刍动物来说不能被有效利用。因此,人们试图用蛋氨酸的化学衍生物取代蛋氨酸,但首先要解决瘤胃降解问题。Ayoade等(1982)研究发现,蛋氨酸的衍生物——油酰蛋氨酸(OM)、蛋氨酸乙酯盐酸盐(MEE-HCl)、蛋氨酸羧基类似物甲酯(MHAM)可以耐受瘤胃微生物的降解,并能被动物所利用。作为蛋氨酸的另一化学衍生物——N-乙酰-DL-蛋氨酸,它在瘤胃内能否稳定存在,国内外报道不多,结果也不一致。Amos等(1974)做的绵羊体内试验表明,日粮中添加的N-乙酰-DL-蛋氨酸在真胃中的回收率很低,在瘤胃内很容易降解。而Digenis(1974)的体外试验研究发现,N-乙酰-DL-蛋氨酸可以稳定存在。因此,我们对N-乙酰-DL-蛋氨酸在接近瘤胃的pH值和模拟瘤胃环境下的稳定性进行了试验研究。

### 1 材料与试验方法

#### 1.1 试验材料

##### 1.1.1 N-乙酰-DL-蛋氨酸和pH值为6.5的缓冲液

N-乙酰-DL-蛋氨酸购自国内某公司,其纯度为98.5%以上,产品不含任何氨基酸。pH值6.5的缓冲液,采用磷酸二氢钾-氢氧化钠缓冲液。

##### 1.1.2 瘤胃液、人工唾液、培养底物

###### 1.1.2.1 瘤胃液

取自4只(每天饲喂400g混合精料)安装瘤胃瘘管的健康中国美利奴新疆细毛山羊。混合精料分两次饲喂,自由采食玉米秸秆、自由饮水。瘤胃食糜液采集后,用4层纱布过滤,将滤液直接盛于预先装满二氧化碳并预热的医用输液瓶中,然后盖紧瓶塞放在预热的39℃左右的保温桶中,带回实验室备用。

###### 1.1.2.2 人工唾液

按照 Mc.Dougall(1948)的配方,使用前向其中通入二氧化碳,使其pH值在7.35左右,并在39℃的水中温浴30 min。

###### 1.1.2.3 培养底物

淀粉3g、氯化铵0.1729g、硫酸钠0.0269g,以上试剂均为分析纯。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 试验1

用pH值为6.5的缓冲液配制浓度为1.67mg/ml N-乙酰-DL-蛋氨酸,置于39℃水浴锅中孵育,在孵育后的1、3、6、9h,分别取1ml孵育液,测定孵育液中蛋氨酸含量,推算N-乙酰-DL-蛋氨酸的量,计算其降解率。将孵育1h的降解率设为对照,其它各点降解率与之比较,进行3个重复。

#### 1.2.2 试验2

将N-乙酰-DL-蛋氨酸按照0、0.2、0.4、0.6g分别添加在预先盛放培养底物的4个三角瓶中,设为试验1、2、3、4组,每组设4个重复。将试验1组作为对照组,其余为试验组。每个发酵瓶分别加入60ml瘤胃液和120ml人工唾液,充入二氧化碳后,盖紧瓶塞置于水浴摇床上,39.5℃左右进行培养,并缓慢摇动摇床。并在培养开始混匀后0、1.5、3、6、9、12h,分别采集样品20ml,立刻测定其pH值。

#### 1.3 样品的保存

采集的样品加入2~3滴饱和氯化汞后,立即放入冰箱冻存。

#### 1.4 测定指标

pH值用model SA720 pH计直接测定;氨态氮含量测定按照冯宗慈、高民(1993)的比色法进行;微生物蛋白含量采用赵小刚(2004)的方法测定;蛋氨酸含量按照张龙翔等(1997)茚三酮显色法测定。

#### 1.5 数据统计

数据采用平均数±标准差(X±SD)表示。采用SPSS 11.0统计软件中的One-Way ANOVA进行统计分析,显著性检验采用邓肯氏新复极差法。

### 2 结果与分析

#### 2.1 N-乙酰-DL-蛋氨酸的降解规律(见表1)

### 相关文章

- 不同酸度条件对紫花苜蓿叶蛋...
- 不同酶解条件对豆粕降解的影...
- 四种植物活性提取物对菜籽油...
- 富含β-胡萝卜素的菌体饲料制...
- 两种氨基酸水杨醛席夫碱及其...
- 包埋法制备凝胶珠条件的试验...
- 氧化时长对不同油脂过氧化指...
- 脂肪酸钙生产工艺参数的筛选...
- 压力传感器产气体系与注射器...
- 碱式碳酸铜生物效价的研究
- 脱毒油茶粕饲料在罗非鱼养殖...
- 不同铬源在高添加水平下对肉...

### 合作伙伴



## 温度 39 °C 条件下的动态降解率(n=3)

时间(h)	1	3	6	9
降解率(%)	1.4±0.1 <sup>b</sup>	3.2±0.1 <sup>a</sup>	3.3±0.2 <sup>a</sup>	3.3±0.1 <sup>a</sup>

注:肩标小写字母不同表示差异显著(P<0.05),相同表示差异不显著(P>0.05)。下表同。

从表1可知, N-乙酰-DL-蛋氨酸在pH值6.5, 温度39 °C条件下, 随时间变化其降解率为1.4%~3.3%。在孵育的第3、6、9 h的降解率分别为3.2%、3.3%、3.3%, 显著地高于1 h时的降解率(1.4%) (P<0.05), 但是3~9 h间的降解率无显著差异(P>0.05), 可见它在此条件下是很稳定的。

2.2 不同水平的N-乙酰-DL-蛋氨酸对培养体系pH值的影响(见表2)

I 表2 不同水平的N-乙酰-DL-蛋氨酸对培养体系pH值的影响(n=4)

时间(h)	1组	2组	3组	4组
0	6.95±0.07 <sup>a</sup>	6.85±0.12 <sup>ab</sup>	6.74±0.12 <sup>b</sup>	6.77±0.10 <sup>b</sup>
1.5	6.80±0.02	6.72±0.10	6.72±0.14	6.65±0.13
3	6.70±0.04 <sup>a</sup>	6.68±0.08 <sup>ab</sup>	6.59±0.09 <sup>ab</sup>	6.56±0.10 <sup>b</sup>
6	6.44±0.07 <sup>a</sup>	6.33±0.12 <sup>ab</sup>	6.25±0.13 <sup>b</sup>	6.22±0.11 <sup>b</sup>
9	5.91±0.23	5.95±0.20	5.81±0.32	5.81±0.24
12	5.27±0.05	5.42±0.24	5.35±0.27	5.33±0.17

由表2可见,在培养即刻, 试验3、4组的pH值为6.74、6.77, 与对照组相比, 分别下降3.02%、2.59%, 差异显著(P<0.05)。这种差异可能与N-乙酰-DL-蛋氨酸本身酸性有关。在培养的第3 h, 试验4组的pH值为6.56, 显著地低于对照组(P<0.05), 降低2.09%; 在培养的第6 h, 试验3、4组的pH值为6.25、6.22, 比对照组降低2.95%、3.42%, 差异显著(P<0.05)。这可能与N-乙酰-DL-蛋氨酸的添加量有关, 每组的pH值均随培养时间的延长而降低, 表现为同样的变化趋势。在培养的第9、12 h各组之间的pH值无显著差异, 这可能是发酵底物中的淀粉持续发酵产酸对pH值的影响起主导作用的结果。

2.3 不同水平的N-乙酰-DL-蛋氨酸对发酵体系氨态氮浓度的影响(见表3)

表3 不同水平的N-乙酰-DL-蛋氨酸对发酵体系氨态氮浓度的影响(mg/dl, n=4)

时间(h)	1组	2组	3组	4组
0	26.1±1.0	24.3±8.3	27.7±2.9	28.8±2.0
1.5	27.9±1.5	24.1±5.5	29.5±3.6	28.4±3.4
3	25.5±3.6	23.1±6.3	25.1±4.6	22.1±1.6
6	18.1±7.6	15.5±5.5	15.6±2.8	17.4±3.5
9	12.1±7.5	10.2±3.7	11.4±3.5	12.1±3.1
12	3.6±2.9 <sup>b</sup>	5.0±2.9 <sup>ab</sup>	6.7±3.2 <sup>ab</sup>	8.5±2.1 <sup>a</sup>

由表3可见, 对照组和各试验组氨态氮浓度均随培养时间的延长而降低, 表现为相同的变化趋势。在培养的前9 h, 各试验组和对对照组之间并没有显著差异; 在培养的第12 h, 试验4组的氨态氮浓度为8.5 mg/dl, 显著的高于对照组(3.6 mg/dl)(P<0.05)。试验2、3、4组间差异不显著, 但随N-乙酰-DL-蛋氨酸添加量的增多呈上升趋势。氨态氮是评价瘤胃微生物发酵体系的一项综合指标, 其浓度的高低是含氮物质的分解释放和微生物利用氨态氮合成微生物蛋白二者共同作用的结果。在发酵的前9 h各组氨态氮浓度差异不显著, 说明N-乙酰-DL-蛋氨酸对发酵体系氨态氮浓度没有明显的影响。然而在发酵的第12 h, 试验4组的氨态氮浓度显著高于对照组, 这可能是部分的N-乙酰-DL-蛋氨酸降解所引起的。

2.4 不同水平的N-乙酰-DL-蛋氨酸对发酵体系微生物蛋白含量的影响(见表4)

表4 不同水平的N-乙酰-DL-蛋氨酸对发酵体系微生物蛋白含量的影响(mg/g, n=4)

时间(h)	1组	2组	3组	4组
0	2.90±0.49	2.81±1.04	2.52±1.03	2.57±0.56
1.5	2.68±0.53	2.47±0.28	2.39±0.87	2.90±1.45
3	2.60±0.60	3.20±0.96	3.29±1.15	3.48±1.46
6	2.35±0.65	2.46±0.89	3.61±2.14	2.85±1.31
9	2.82±1.23	4.32±2.33	2.73±0.76	3.23±2.04
12	2.92±0.60	4.38±1.54	4.74±1.33	3.35±0.68
平均值	2.71±0.58	3.27±0.71	3.21±0.96	3.06±1.01

由表4可见, 试验各组在发酵的各个时间点的微生物蛋白的量与对照组相应的时间点的含量无显著差异(P>0.05)。在培养的第3、12 h试验组发酵体系微生物蛋白含量均高于对照组。而且各组随培养时间的延长, 微生物蛋白含量有增加的趋势。微生物蛋白的合成需要充足的氮源和能量, 可见, 试验各组与对照组相比各时间点微生物蛋白含量没有显著的差异, 可能是由于N-乙酰-DL-蛋氨酸在瘤胃微生物的作用下很稳定, 这一点和氨态氮浓度的变化是相吻合的。

### 3 小结

N-乙酰-DL-蛋氨酸在pH值6.5、温度39 ° C条件下的降解率仅为3.3%。在本试验条件下，添加不同水平的N-乙酰-DL-蛋氨酸对人工瘤胃发酵体系的pH值影响呈降低趋势，尤其是添0.4、0.6 g N-乙酰-DL-蛋氨酸发酵3~6 h，均能够显著降低体系的pH值；对氨态氮、微生物蛋白含量没有显著影响。以上结果显示，N-乙酰-DL-蛋氨酸在体外模拟瘤胃体系中是相当稳定的。

### 参考文献

- 1 Amos H E, C. O. Little, G. A. Digenis, et al. Methionine,DL-homocysteine thiolactone and N-Acetyl-DL-methionine for ruminants[J]. J. Animal Science, 1974, 39(3):612~617
- 2 Digenis G A, H. E. Amos, K. Yang, et al. Methionine substitutes in ruminant nutrition. 1. Stability of nitrogenous compounds related to methionine during in vitro incubation with rumen microorganisms[J]. J. Pharm. Sci., 1974, 63(5): 745~751
- 3 John A. Ayoade, Peter J. Buttery, Dyfed Lewis. Studies on methionine derivatives as possible sources of protected methionine in ruminant rations[J]. J. Sci. Food Agric., 1982(33): 949~956
- 4 Patterson J A, L. Kung. Metabolism of Met and MHA by rumen Microorganism[J]. J. Dairy Sci., 1988(71):3 292~3 301
- 5 William Chalupa. Degradation of amino acids by the rumen microbial population[J]. J. Anim.Sci., 1976, 43(4):828~834
- 6 冯宗慈, 高民.通过比色法测定瘤胃液氨态氮含量方法的改进[J].内蒙古农业科学,1993(4): 40~41
- 7 杨凤.动物营养学[M].北京:中国农业出版社(第一版),1991
- 8 张龙翔, 张廷芳, 李令媛主编.生化实验方法和技术(第二版)[M].北京:高等教育出版社, 1997  
(编辑: 高 雁, snowyan78@tom.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)