

小麦低聚肽对肉羊体外瘤胃发酵参数的影响

吕可欣¹ 敖长金^{1*} 赵亚星¹ 安雅雯¹ 段嘉钰¹ 张昊¹ 张喜胜²

(1.内蒙古农业大学动物科学学院,内蒙古自治区高校动物营养与饲料科学重点实验室,呼和浩特 010018;

2.锡林浩特市鼎安生物科技有限公司,锡林浩特 026000)

摘要: 本试验旨在利用体外批次培养法研究饲料中添加不同水平的小麦低聚肽对肉羊瘤胃发酵参数的影响,以筛选小麦低聚肽在肉羊饲料中的适宜添加量。试验选取6只年龄、体况相近的健康小尾寒羊作为瘤胃液的供体,采用单因素试验设计,设1个对照组和6个试验组,每组6个重复。对照组采用基础培养底物(基础饲料),试验组在基础培养底物中分别添加0.05%、0.10%、0.15%、0.25%、0.35%和0.45%的小麦低聚肽。分别于体外发酵2、4、8、12和24 h后,测定培养液的pH、氨态氮(NH₃-N)、菌体蛋白(MCP)、挥发性脂肪酸(VFA)浓度以及干物质降解率,并应用多项指标综合指数(MFAEI)进行评定。结果表明:1)发酵2 h时,0.25%组的pH显著低于对照组($P<0.05$);发酵12和24 h,除0.05%组外其他试验组pH均显著低于对照组($P<0.05$)。2)发酵4 h,0.25%组的NH₃-N浓度显著高于对照组($P<0.05$);发酵8 h,0.35%组的NH₃-N浓度显著高于对照组($P<0.05$);发酵24 h,0.25%、0.35%和0.45%组的NH₃-N浓度显著高于对照组($P<0.05$)。3)发酵2 h,0.15%、0.25%和0.45%组的MCP浓度显著高于对照组($P<0.05$);发酵8 h,各试验组的MCP浓度均显著高于对照组($P<0.05$);发酵24 h,0.10%、0.15%和0.25%组的MCP浓度显著高于对照组($P<0.05$)。4)发酵2和4 h,试验组的乙酸和丙酸浓度均显著低于对照组($P<0.05$);发酵8、12和24 h,试验组乙酸和丙酸浓度均显著高于对照组($P<0.05$);发酵8 h,0.25%和0.35%组乙丙比显著低于对照组($P<0.05$);发酵24 h,0.45%组乙丙比显著高于对照组($P<0.05$)。5)发酵12 h,0.05%、0.10%和0.15%组的干物质降解率显著高于对照组($P<0.05$)。6)MFAEI由高到低排序为0.25%组>0.35%组>0.45%组>0.15%组>0.10%组>0.05%组。综上所述,在本试验体外培养条件下,饲料中添加小麦低聚肽可有效促进肉羊体外瘤胃发酵,且最佳添加量为0.25%。

关键词: 小麦低聚肽;体外批次培养;瘤胃发酵;肉羊

中图分类号:S826

文献标识码:A

文章编号:1006-267X(2021)06-3400-10

植物源生物活性肽主要是豆类蛋白和谷物蛋白的水解产物,常见的有大豆肽、花生肽、大米肽、玉米肽和小麦肽等,可作为功能性饲料添加剂,在畜禽养殖业中应用前景广阔。植物源肽除了参与机体的消化、吸收和代谢的调节外,还具有降低胆固醇^[1]、降血压^[2]、抗肿瘤^[3]、提高机体免疫力和抗氧化能力^[4-5]及改善骨结构^[6]等生理机能。研

究表明,饲料中添加大豆活性肽可以提高母猪血清中功能性氨基酸含量并改善其抗氧化性能,缩短产仔间隔,提高哺乳仔猪的生长性能^[7];提高育雏鸡的日增重和免疫器官指数^[8]。小麦低聚肽则能提高急性酒精中毒小鼠体内的抗氧化能力,并对肝损伤具有一定的缓解作用^[9]。饲料中添加大豆肽可以改善肉牛瘤胃发酵,提高瘤胃微生物含

收稿日期:2020-11-23

基金项目:国家自然科学基金项目(31260558,31460611)

作者简介:吕可欣(1995—),女,内蒙古通辽人,硕士研究生,从事动物营养与畜产品品质研究。E-mail: 1619993567@qq.com

*通信作者:敖长金,教授,博士生导师,E-mail: changjiniao@aliyun.com

量^[10],提高鲁西黄牛瘤胃中氨、丙酸和总挥发性脂肪酸(TVFA)的浓度,改善其营养物质的消化和瘤胃发酵^[11];灌注大豆肽可提高瘤胃内菌体蛋白(MCP)产量,增加氮沉积,改善肠道氨基酸平衡^[12]。在饲料中添加抗菌肽可改善山羊瘤胃微生物群结构,改变瘤胃发酵模式,提高饲料利用效率从而提高了潜在的生长性能^[13-14]。目前关于植物源生物活性肽的国内外研究多集中于单胃动物,而对肉羊瘤胃微生物活性和瘤胃代谢的影响却鲜有报道。因此,本试验通过研究不同添加水平的小麦低聚肽对肉羊体外瘤胃发酵参数的影响,从而筛选出其适宜添加量,以期小麦低聚肽在肉羊生产中进一步应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

小麦低聚肽产品由锡林浩特市某生物科技有限公司提供。小麦低聚肽以谷朊粉为原材料,采用复配专用蛋白酶进行深层水解,总蛋白质含量达到80%以上,其中游离氨基酸含量在10%左右,肽含量在70%左右。

1.2 试验动物及饲料

选取6只年龄相同(1.5岁)、体重 $[(68.00 \pm 1.56) \text{ kg}]$ 相近、装有永久性瘤胃瘘管的健康小尾寒羊作为瘤胃液供体动物,供体羊自由饮水,于每日08:00和17:00饲喂基础饲料。

1.3 试验设计

试验采用单因素完全随机试验设计,共分为7个组,对照组采用基础培养底物(基础饲料),试验组在基础培养底物中分别添加0.05%、0.10%、0.15%、0.25%、0.35%和0.45%的小麦低聚肽,每组6个重复,每个重复取1g培养底物在体外进行瘤胃发酵,分别培养2、4、8、12和24h。基础饲料的精粗比为30:70,其组成及营养水平见表1。

表1 基础饲料组成及营养水平(干物质基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of the

basal diet (DM basis) %

项目 Items	含量 Content
原料 Ingredients	
苜蓿 Alfalfa	27.78
玉米 Corn	19.25
全株玉米青贮 Whole corn silage	15.52

续表1

项目 Items	含量 Content
葫芦籽皮 Gourd seed skin	12.15
干酒糟及其可溶物 DDGS	4.33
亚麻籽饼 Flax seed meal	4.62
向日葵仁饼 Sunflower seed meal	6.09
小麦麸 Wheat bran	4.29
红枣 Red dates	1.68
石粉 Limestone	1.48
磷酸氢钙 CaHPO_4	0.69
食盐 NaCl	0.72
预混料 Premix ¹⁾	1.40
合计 Total	100.00
营养水平 Nutrient levels ²⁾	
消化能 DE/(MJ/kg)	16.83
粗蛋白质 CP	15.32
酸性洗涤纤维 ADF	29.69
中性洗涤纤维 NDF	50.98
粗脂肪 EE	3.09
钙 Ca	1.02
磷 P	0.55

1) 预混料为每千克饲料提供 The premix provided the following per kg of the diet: Fe (as ferrous sulfate) 25 mg, Zn (as zinc sulfate) 29 mg, Cu (as copper sulfate) 8 mg, Mn (as manganese sulfate) 30 mg, I (as potassium iodide) 0.04 mg, Co (as cobaltous) 0.1 mg, VA 3 200 IU, VD₃ 1 200 IU, VE 20 IU。

2) 消化能为计算值,其他营养水平为实测值。DE was a calculated value, while the others were measured values.

1.4 体外瘤胃发酵培养

于晨饲前1h内进行瘤胃液采集,将采集到的瘤胃液灌入到预热至39℃并始终通有二氧化碳(CO₂)的保温瓶中,灌满后立即盖严瓶口,迅速带回实验室,经4层精细纱布过滤后持续冲入CO₂气体5min直至分装使用。体外培养液参考Menke等^[15]的方法进行配制。由瘤胃液与人工培养液以1:2的比例配制而成。装有培养底物的发酵瓶中加入培养液40mL和瘤胃液20mL,通入CO₂排尽空气,保持无氧环境,盖紧瓶塞,放于39℃水浴摇床上开始厌氧培养24h。

1.5 样品收集与处理

待各时间点培养结束后,立即将发酵瓶置于冰上进行冷却,以确保各发酵瓶同时终止发酵,并按照如下操作依次进行取样:发酵至2、4、8、12和24h时,收集各时间点各组培养液,用4层纱布过

滤,收集滤液,去除残渣,将滤液摇匀倒入 50 mL 离心管内立即测定 pH 后,将离心管于 4 000 r/min 离心 15 min,用移液枪吸出 0.5 mL 上清液,置于预先装好 4.5 mL 0.2 mol/L HCl 的 10 mL 离心管中,并用手摇匀放入 -20 °C 冰箱,待测氨态氮 ($\text{NH}_3\text{-N}$) 浓度;再用 5 mL 的移液枪吸取 4 mL 上清液,移入预先装有 1 mL 25% 的偏磷酸 (HPO_3) 和蚁酸 (CH_2O_2) 混合液 (3:1) 的 10 mL 离心管中,冷藏于 -20 °C 冰箱,用来待测挥发性脂肪酸 (VFA) 浓度;剩余的上清液缓慢吸入 20 mL 离心管中,-20 °C 保存,用来测定 MCP 浓度;采样的过程中,每次样品采集结束后,该时间点的培养瓶弃用。

1.6 测定指标及方法

瘤胃液 pH 采用高精度便携式 pH 计 (pHS-3S) 测定。 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度参照冯宗慈等^[16] 改进的比色法进行测定,用酶标仪在 700 nm 波长下进行吸光度检测,将测得的吸光值代入标准曲线回归公式,计算样品中的 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度。MCP 浓度的测定采用差速离心法对体外培养液中的细菌进行分离,用超声波仪进行细胞壁的破碎,再采用考马斯

亮蓝法^[17] 对蛋白进行染色,利用酶标仪进行比色测定,根据测定的吸光值和标准曲线回归公式计算出 MCP 浓度。VFA 浓度参考曹庆云等^[18] 的气相色谱法进行测定。

1.7 数据统计与分析

试验数据采用 Excel 2010 软件进行初步整理,运用 SAS 9.2 软件进行单因素方差、线性和二次项分析,并采用 Duncan 氏法进行多重比较。当 $P < 0.05$ 时,表示组间差异显著。

2 结果

2.1 小麦低聚肽对肉羊体外瘤胃发酵液中 pH 的影响

由表 2 可知,发酵 2 h 时,0.25% 组 pH 显著低于对照组 ($P < 0.05$);发酵 4 和 8 h,0.25% 组 pH 显著高于对照组 ($P < 0.05$),其他试验组 pH 与对照组相比差异不显著 ($P > 0.05$)。发酵 12 h 时,0.10%、0.15%、0.35% 和 0.45% 组 pH 显著低于对照组 ($P < 0.05$);发酵 24 h 时,0.10%~0.45% 组 pH 均显著低于对照组 ($P < 0.05$),其中 0.25% 组 pH 最低。随着发酵时间的延长,pH 逐渐降低。

表 2 小麦低聚肽对肉羊体外瘤胃发酵液中 pH 的影响

Table 2 Effects of wheat oligopeptides on pH in rumen fermentation fluid of mutton sheep *in vitro*

时间 Time/h	小麦低聚肽添加量 Wheat oligopeptides addition amount/%							SEM	P 值 P-value		
	0(对照 control)	0.05	0.10	0.15	0.25	0.35	0.45		方差分析 ANOVA	线性 Linear	二次 Quadratic
2	6.75 ^a	6.72 ^a	6.70 ^a	6.71 ^a	6.58 ^b	6.71 ^a	6.70 ^a	0.014	0.013	0.054	0.034
4	6.84 ^{bc}	6.85 ^{bc}	6.81 ^c	6.85 ^{abc}	6.89 ^a	6.87 ^{ab}	6.88 ^{ab}	0.007	0.009	0.002	0.707
8	6.62 ^b	6.64 ^{ab}	6.65 ^{ab}	6.64 ^{ab}	6.70 ^a	6.60 ^b	6.63 ^b	0.008	0.087	0.974	0.093
12	6.51 ^a	6.46 ^{ab}	6.37 ^c	6.38 ^c	6.44 ^{abc}	6.37 ^c	6.41 ^{bc}	0.013	0.005	0.004	0.009
24	6.41 ^a	6.34 ^{ab}	6.27 ^{bc}	6.30 ^{bc}	6.24 ^c	6.29 ^{bc}	6.30 ^{bc}	0.014	0.021	0.008	0.007

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$),相同或无字母表示差异不显著 ($P > 0.05$)。下表同。

In the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference ($P < 0.05$), while with the same or no letter superscripts mean no significant difference ($P > 0.05$). The same as below.

2.2 小麦低聚肽对肉羊体外瘤胃发酵液中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度的影响

由表 3 可知,发酵 4、8 和 24 h 时,小麦低聚肽的不同添加水平对 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度均有显著影响 ($P < 0.05$)。发酵 4 h 时,0.25% 组 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度显著高于对照组 ($P < 0.05$),其他试验组间均不显著 ($P > 0.05$);发酵 8 h 时,0.35% 组 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度显著高于对照组 ($P < 0.05$);发酵 24 h 时,0.25%~0.45% 组

$\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度显著高于对照组 ($P < 0.05$),其中 0.25% 组 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度最高。发酵 2 和 12 h 时,试验组 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度与对照组相比均不显著 ($P > 0.05$)。 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度随发酵时间的增加,呈现先升高后降低再升高的趋势。

2.3 小麦低聚肽对肉羊体外瘤胃发酵液中 MCP 浓度的影响

由表 4 可知,发酵 2、8 和 24 h 时,小麦低聚肽

的不同添加水平对体外瘤胃发酵液中 MCP 浓度均有显著影响 ($P < 0.05$)。发酵 2 h 时, 0.15%、0.25% 和 0.45% 组的 MCP 浓度显著高于对照组 ($P < 0.05$); 发酵 8 h 时, 0.05% ~ 0.45% 组 MCP 浓度均显著高于对照组 ($P < 0.05$); 发酵 12 h 时,

0.45% 组 MCP 浓度显著高于对照组 ($P < 0.05$), 其余试验组均不显著 ($P > 0.05$); 发酵 24 h 时, 0.10% ~ 0.25% 组 MCP 浓度显著高于对照组 ($P < 0.05$), 其他试验组均不显著 ($P > 0.05$)。MCP 浓度随发酵时间的增加, 呈现先降低后升高的趋势。

表 3 小麦低聚肽对肉羊体外瘤胃发酵液 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度的影响

Table 3 Effects of wheat oligopeptides on concentration of $\text{NH}_3\text{-N}$ in rumen fermentation

时间 Time/h	fluid of mutton sheep <i>in vitro</i>								mg/dL		
	小麦低聚肽添加量 Wheat oligopeptides addition amount/%								P 值 P-value		
	0(对照 control)	0.05	0.10	0.15	0.25	0.35	0.45	SEM	方差分析 ANOVA	线性 Linear	二次 Quadratic
2	14.03	13.10	13.73	13.39	13.86	13.72	13.72	0.109	0.341	0.770	0.350
4	14.68 ^{bc}	14.23 ^c	14.85 ^{bc}	16.42 ^{ab}	17.06 ^a	15.79 ^{abc}	16.10 ^{abc}	0.285	0.044	0.009	0.192
8	13.44 ^{bc}	13.58 ^{bc}	17.06 ^{ab}	12.89 ^c	16.75 ^{ab}	17.43 ^a	13.61 ^{bc}	0.541	0.031	0.197	0.101
12	8.32	8.49	8.97	10.54	10.22	10.10	10.77	0.327	0.215	0.014	0.569
24	9.53 ^d	10.88 ^{cd}	13.17 ^{bcd}	13.26 ^{bcd}	17.92 ^a	16.96 ^{ab}	14.33 ^{abc}	0.733	0.002	0.000	0.029

表 4 小麦低聚肽对肉羊体外瘤胃发酵液中 MCP 浓度的影响

Table 4 Effects of wheat oligopeptides on concentration of MCP in rumen fermentation

时间 Time/h	fluid of mutton sheep <i>in vitro</i>								mg/dL		
	小麦低聚肽添加量 Wheat oligopeptides addition amount/%								P 值 P-value		
	0(对照 control)	0.05	0.10	0.15	0.25	0.35	0.45	SEM	方差分析 ANOVA	线性 Linear	二次 Quadratic
2	6.75 ^c	7.71 ^{abc}	8.00 ^{abc}	9.95 ^a	9.47 ^{ab}	7.26 ^{bc}	9.11 ^{ab}	0.333	0.047	0.059	0.065
4	5.94 ^{ab}	6.51 ^{ab}	5.71 ^b	5.85 ^{ab}	7.96 ^a	7.63 ^{ab}	5.88 ^{ab}	0.279	0.118	0.220	0.378
8	6.43 ^b	13.52 ^a	11.98 ^a	16.12 ^a	16.00 ^a	13.70 ^a	14.13 ^a	0.806	0.003	0.002	0.003
12	21.24 ^b	20.51 ^b	25.92 ^{ab}	26.39 ^{ab}	20.77 ^b	29.30 ^{ab}	29.96 ^a	1.175	0.083	0.014	0.671
24	24.85 ^b	25.96 ^b	31.72 ^a	32.57 ^a	31.11 ^a	29.45 ^{ab}	29.77 ^{ab}	0.781	0.026	0.023	0.007

2.4 小麦低聚肽对肉羊体外瘤胃发酵液中 VFA 浓度的影响

由表 5 可知, 发酵 2 h 时, 0.35% 和 0.45% 组的乙酸浓度显著低于对照组 ($P < 0.05$); 发酵 4 h 时, 0.05% 组乙酸浓度显著低于对照组 ($P < 0.05$); 发酵 8 h 时, 0.25% 和 0.35% 组乙酸浓度显著高于对照组 ($P < 0.05$), 其他试验组显著低于对照组 ($P < 0.05$); 发酵 12 h 时, 0.45% 组乙酸浓度显著高于对照组 ($P < 0.05$), 其他试验组显著低于对照组 ($P < 0.05$); 发酵 24 h 时, 0.15%、0.25% 和 0.45% 组乙酸浓度显著高于对照组 ($P < 0.05$)。

由表 6 可知, 在发酵 2 h 时, 0.35% 组丙酸浓度显著低于对照组 ($P < 0.05$); 发酵 4 h 时, 0.05% 组丙酸浓度显著低于对照组 ($P < 0.05$); 发酵 8 h 时,

0.25% 和 0.35% 组丙酸浓度显著高于对照组 ($P < 0.05$), 0.05%、0.10% 和 0.15% 组丙酸浓度显著低于对照组 ($P < 0.05$); 发酵 12 h 时, 0.45% 组丙酸浓度显著高于对照组 ($P < 0.05$), 0.10%、0.25% 和 0.35% 组丙酸浓度显著低于对照组 ($P < 0.05$); 发酵 24 h 时, 0.15%、0.25%、0.35% 和 0.45% 组丙酸浓度显著高于对照组 ($P < 0.05$)。

由表 7 可知, 发酵 8 h 时, 0.25% 和 0.35% 组丁酸浓度显著高于对照组 ($P < 0.05$), 0.05% 和 0.15% 组丁酸浓度显著低于对照组 ($P < 0.05$)。发酵 12 h 时, 0.45% 组丁酸浓度显著高于对照组及其他试验组 ($P < 0.05$), 0.25% 和 0.35% 组丁酸浓度显著低于对照组 ($P < 0.05$)。发酵 24 h 时, 除 0.45% 组外, 其他试验组丁酸浓度均显著高于对照组 ($P < 0.05$)。

表5 小麦低聚肽对肉羊体外瘤胃发酵液中乙酸浓度的影响

Table 5 Effects of wheat oligopeptides on concentration of acetic acid in rumen fermentation

		fluid of mutton sheep <i>in vitro</i>							mmol/L		
		小麦低聚肽添加量 Wheat oligopeptides addition amount/%							P值 P-value		
时间 Time/h	0(对照 control)	0.05	0.10	0.15	0.25	0.35	0.45	SEM	方差分析 ANOVA	线性 Linear	二次 Quadratic
2	25.65 ^{ab}	25.14 ^{ab}	26.60 ^a	24.63 ^{bc}	25.82 ^{ab}	20.40 ^d	23.57 ^c	0.542	<0.001	<0.001	0.034
4	30.18 ^{ab}	26.92 ^c	28.75 ^{bc}	29.51 ^b	32.23 ^a	29.30 ^b	30.82 ^{ab}	0.460	0.008	0.031	0.560
8	37.07 ^c	17.46 ^f	33.25 ^d	27.25 ^e	46.11 ^a	42.21 ^b	34.58 ^d	2.448	<0.001	<0.001	0.107
12	56.28 ^b	53.58 ^c	51.02 ^{dc}	52.30 ^{dc}	50.52 ^e	51.23 ^{dc}	62.77 ^a	1.127	<0.001	0.001	<0.001
24	65.16 ^{dc}	64.13 ^e	66.29 ^{dc}	67.84 ^c	69.83 ^b	66.40 ^{dc}	72.23 ^a	0.736	<0.001	<0.001	0.044

表6 小麦低聚肽对肉羊体外瘤胃发酵液中丙酸浓度的影响

Table 6 Effects of wheat oligopeptides on concentration of propionic acid in rumen fermentation

		fluid of mutton sheep <i>in vitro</i>							mmol/L		
		小麦低聚肽添加量 Wheat oligopeptides addition amount/%							P值 P-value		
时间 Time/h	0(对照 control)	0.05	0.10	0.15	0.25	0.35	0.45	SEM	方差分析 ANOVA	线性 Linear	二次 Quadratic
2	10.33 ^{ab}	9.76 ^b	11.21 ^a	9.68 ^b	10.91 ^{ab}	8.05 ^c	10.05 ^{ab}	0.286	0.012	0.044	0.357
4	14.36 ^{abc}	12.39 ^d	13.47 ^{cd}	13.65 ^{bcd}	15.41 ^a	14.00 ^{abc}	14.96 ^{ab}	0.280	0.015	0.012	0.180
8	18.43 ^b	7.95 ^e	15.46 ^c	13.15 ^d	25.25 ^a	25.46 ^a	17.63 ^b	1.621	<0.001	<0.001	0.168
12	37.82 ^b	38.38 ^b	34.96 ^c	36.99 ^b	34.93 ^c	35.16 ^c	42.16 ^a	0.682	<0.001	0.136	<0.001
24	44.20 ^c	43.88 ^c	44.23 ^c	46.74 ^{ab}	46.93 ^a	45.62 ^b	46.15 ^{ab}	0.342	0.001	0.006	0.150

表7 小麦低聚肽对肉羊体外瘤胃发酵液中丁酸浓度的影响

Table 7 Effects of wheat oligopeptides on concentration of butyric acid in rumen fermentation

		fluid of mutton sheep <i>in vitro</i>							mmol/L		
		小麦低聚肽添加量 Wheat oligopeptides addition amount/%							P值 P-value		
时间 Time/h	0(对照 control)	0.05	0.10	0.15	0.25	0.35	0.45	SEM	方差分析 ANOVA	线性 Linear	二次 Quadratic
2	3.95 ^{ab}	3.77 ^{ab}	4.07 ^a	3.72 ^{ab}	4.08 ^a	3.02 ^b	3.82 ^{ab}	0.119	0.230	0.230	0.852
4	4.96 ^{ab}	4.29 ^b	4.78 ^{ab}	4.69 ^{ab}	5.36 ^a	4.74 ^{ab}	4.92 ^{ab}	0.101	0.138	0.332	0.907
8	6.44 ^b	3.49 ^c	5.53 ^b	4.18 ^c	8.68 ^a	9.10 ^a	6.26 ^b	0.546	<0.001	<0.001	0.109
12	11.95 ^{ab}	10.95 ^{bc}	11.60 ^{bc}	11.14 ^{bc}	10.56 ^{cd}	9.58 ^d	13.02 ^a	0.295	0.004	0.719	0.010
24	12.44 ^d	15.03 ^c	15.24 ^c	16.61 ^{ab}	15.71 ^{bc}	17.15 ^a	12.33 ^d	0.494	<0.001	0.015	<0.001

由表8可知,发酵8 h时,0.05%和0.10%组乙丙比显著高于对照组($P<0.05$),0.25%和0.35%组乙丙比显著低于对照组($P<0.05$);发酵24 h时,0.45%组乙丙比显著高于对照组及其他试验组($P<0.05$)。随着发酵时间的延长,由乙酸型发酵转变为丙酸型发酵。

2.5 小麦低聚肽对肉羊体外瘤胃发酵干物质降解率的影响

由表9可知,发酵12 h时,0.05%、0.10%和0.15%组干物质降解率显著高于对照组($P<0.05$),其他各时间点的试验组干物质降解率与对照组相比差异均不显著($P>0.05$)。同一试验组随着发酵时间的增加,干物质降解率均呈现上升的趋势。

表 8 小麦低聚肽对肉羊体外瘤胃发酵液中乙丙比的影响

Table 8 Effects of wheat oligopeptides on ratio of acetic acid to propionate in rumen fermentation fluid of mutton sheep *in vitro*

时间 Time/h	小麦低聚肽添加量 Wheat oligopeptides addition amount/%							SEM	P 值 P-value		
	0(对照 control)	0.05	0.10	0.15	0.25	0.35	0.45		方差分析 ANOVA	线性 Linear	二次 Quadratic
2	2.49	2.58	2.38	2.54	2.37	2.54	2.35	0.039	0.585	0.401	0.838
4	2.10	2.17	2.14	2.16	2.09	2.10	2.06	0.014	0.344	0.139	0.150
8	2.01 ^{bc}	2.20 ^a	2.15 ^a	2.07 ^b	1.83 ^d	1.66 ^e	1.96 ^c	0.049	<0.001	<0.001	0.429
12	1.49	1.40	1.46	1.41	1.45	1.46	1.49	0.011	0.225	0.379	0.040
24	1.47 ^{bcd}	1.46 ^{cd}	1.50 ^b	1.45 ^d	1.49 ^{bc}	1.46 ^{cd}	1.57 ^a	0.039	0.001	0.385	0.428

表 9 小麦低聚肽对肉羊体外瘤胃发酵液中干物质降解率的影响

Table 9 Effects of wheat oligopeptides on ruminal dry matter degradability of mutton sheep *in vitro* %

时间 Time/h	小麦低聚肽添加量 Wheat oligopeptides addition amount/%							SEM	P 值 P-value		
	0(对照 control)	0.05	0.10	0.15	0.25	0.35	0.45		方差分析 ANOVA	线性 Linear	二次 Quadratic
2	0.19	0.20	0.20	0.20	0.21	0.21	0.19	0.006	0.972	0.744	0.546
4	0.20	0.21	0.26	0.22	0.27	0.25	0.29	0.012	0.286	0.039	0.957
8	0.27	0.26	0.24	0.30	0.27	0.32	0.29	0.014	0.868	0.432	0.876
12	0.44 ^c	0.52 ^a	0.52 ^a	0.52 ^{ab}	0.45 ^{bc}	0.47 ^{abc}	0.46 ^{abc}	0.010	0.042	0.263	0.020
24	0.54	0.54	0.58	0.61	0.55	0.57	0.56	0.009	0.377	0.410	0.129

3 讨论

3.1 小麦低聚肽对肉羊体外瘤胃发酵 pH 的影响

瘤胃 pH 是衡量瘤胃发酵状况的重要指标之一,主要受饲料组成、唾液分泌和有机酸积累的影响。研究表明,瘤胃液 pH 的变化范围在 6.0~7.0 时有利于 MCP 的生物合成^[19]。当 pH 低于 6.2 时,纤维素分解菌的活性将受到抑制,并降低粗饲料在反刍动物瘤胃内的消化率,但瘤胃内 pH 的下降,会加快瘤胃上皮细胞对挥发性脂肪酸的吸收速度。本试验中,发酵 2、12 和 24 h 时,添加不同水平的小麦低聚肽可显著降低其体外瘤胃发酵的 pH,但其值均在瘤胃微生物代谢的适宜范围内,说明不同水平的小麦低聚肽能促进瘤胃微生物对底物的发酵而增加了酸的生成量,这与殷云浩^[20]的研究结果一致,即与对照组相比,各时间点试验组 pH 均显著降低,其原因可能是发酵瓶中产生的气体不能及时排出所致。

3.2 小麦低聚肽对肉羊体外瘤胃发酵液 NH₃-N 浓度的影响

反刍动物瘤胃内 NH₃-N 主要是由饲料中的蛋白质、氨基酸等含氮物质的脱氨基作用而产生,是反映瘤胃内氮代谢的重要指标之一。瘤胃内 NH₃-N 浓度的高低与微生物对饲料中蛋白质的降解和利用机制有关^[21]。因此,通过瘤胃内 NH₃-N 浓度的动态曲线可间接了解反刍动物瘤胃内发酵过程的变化。瘤胃 NH₃-N 浓度的适宜范围为 5~30 mg/dL^[22],在本试验中,NH₃-N 浓度在 10.92~12.74 mg/dL,均处于 NH₃-N 浓度最适范围内,如果超出范围就说明瘤胃 NH₃-N 利用处于失衡状态。柏峻等^[23]研究报告,NH₃-N 浓度一旦超过瘤胃微生物利用氨氮合成 MCP 的最大限度,多余的 NH₃-N 不仅会加重机体氮代谢的负担,还会抑制瘤胃微生物的生长繁殖,破坏瘤胃微环境稳态,不利于瘤胃发酵。本试验中,0.45% 组除发酵 24 h 外,其余各时间点间 NH₃-N 浓度均无显著差异。原因可能是在发酵前期,瘤胃微生物加快瘤胃蛋白质及非蛋白氮的降解,提高氮利用率,从而加快

合成 MCP 的速率。随着发酵时间的延长,各组 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度表现为先降低后升高再降低的趋势。

3.3 小麦低聚肽对肉羊体外瘤胃发酵液 MCP 浓度的影响

MCP 可为反刍动物提供重要的蛋白质来源,其浓度是衡量瘤胃发酵最重要的指标之一。MCP 是瘤胃微生物利用非蛋白氮进行合成的,可为机体提供氨基酸合成蛋白质。有研究发现,在饲料中添加小肽可增加瘤胃发酵液中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 和 MCP 的浓度^[24];Wang 等^[11]将大豆小肽注入到黄牛瘤胃中可增加 MCP 的合成,其原因可能是氨氮利用率的提高和发酵液之间的同步性改善。本试验中,发酵 2、8 和 24 h 时,不同水平的小麦低聚肽对微生物的促进效果显著升高,说明小麦低聚肽可促进反刍动物瘤胃发酵,提高 MCP 的产量。

3.4 小麦低聚肽对肉羊体外瘤胃发酵液 VFA 浓度的影响

瘤胃中的 VFA 主要是由瘤胃内的微生物降解碳水化合物而产生,其中乙酸、丙酸和丁酸是最主要的 VFA,占 TVFA 的 95%^[25]。VFA 作为瘤胃微生物发酵碳水化合物的终产物之一,是反刍动物主要的能源。本试验中,0.25%、0.35% 和 0.45% 组的乙酸浓度在发酵 8 h 后显著高于对照组;0.15%、0.25%、0.35% 和 0.45% 组的丙酸浓度在发酵 24 h 后显著高于对照组,说明不同水平的小麦低聚肽均可促进瘤胃微生物对碳水化合物的发酵,从而提高瘤胃对营养物质的利用率。

3.5 小麦低聚肽对肉羊体外瘤胃干物质降解率的影响

饲料干物质在瘤胃中的降解率是衡量瘤胃发酵的重要参数,它与饲料蛋白质降解率、氨基酸降解率、淀粉降解率都有一定的相关性。本试验结果表明,在发酵 12 h,添加小麦低聚肽对肉羊瘤胃干物质降解率有显著影响,且随着发酵时间的延长,干物质降解率呈逐渐升高的趋势。

4 结 论

① 在本试验体外培养条件下,添加小麦低聚肽可显著降低瘤胃液 pH,提高 $\text{NH}_3\text{-N}$ 和 VFA 浓度,促进瘤胃内 MCP 的合成,降低乙酸/丙酸,从而提高瘤胃发酵速率,改善瘤胃发酵内环境。

② 多项指标综合指数表明,饲料中添加小麦低聚肽可有效促进肉羊体外瘤胃发酵,且最佳添

加量为 0.25%。

参考文献:

- [1] 侍荣华.苦荞活性肽对脂代谢的调节作用及机理研究[D].硕士学位论文.上海:上海应用技术大学,2019.
SHI R H.Effects of *Tartary buckwheat* bioactive peptides on lipid metabolism and its mechanism [D]. Master's Thesis. Shanghai: Shanghai University of Applied Sciences,2019.(in Chinese)
- [2] ALUKO R E.Structure and function of plant protein-derived antihypertensive peptides[J].Current Opinion in Food Science,2015,4:44-50.
- [3] VENDRELY V, PEUCHANT E, BUSCAIL E, et al. Resveratrol and capsaicin used together as food complements reduce tumor growth and rescue full efficiency of low dose gemcitabine in a pancreatic cancer model[J].Cancer Letters,2017,390:91-102.
- [4] 张健,李雯晖,赵博雅,等.大豆蛋白与大豆低聚肽对负氮平衡老年小鼠表皮创伤感染下的免疫调节作用[J].食品科学,2018,39(17):145-151.
ZHANG J,LI W H,ZHAO B Y, et al.Immune regulation of soybean protein and soybean oligopeptide on epidermal trauma infection in elderli mice with negative nitrogen balance [J]. Food Science, 2018, 39 (17):145-151.(in Chinese)
- [5] CHEN Z Q,LI W W,SANTHANAM R K, et al.Bioactive peptide with antioxidant and anticancer activities from black soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] byproduct: isolation, identification and molecular docking study[J].European Food Research and Technology, 2019,245(3):677-689.
- [6] YUAN X Y,BAO X L,FENG G X, et al.Effects of peptide-calcium complexes from sunflower seeds and peanuts on enhancing bone mineral density [J].International Journal of Food Science & Technology,2020,55(8):2942-2953.
- [7] ZHUO Y,CAO M,LI Y, et al.Soybean bioactive peptides supplementation during late gestation and lactation affect the reproductive performance, free amino acid composition in plasma and milk of sows [J]. Livestock Science,2020,237:104064.
- [8] 孟可爱,刘小飞,马玉勇.大豆肽对育雏鸡生产性能、免疫器官指数和血液生化指标的影响[J].河南农业科学,2019,48(12):128-132.
MENG K A,LIU X F,MA Y Y.Effects of soybean peptide on production performance, immune organ in-

- dex and blood biochemical index of brooding chicken [J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2019, 48 (12): 128-132. (in Chinese)
- [9] 于兰兰,刘伟,周雅琳,等.小麦低聚肽对急性酒精中毒小鼠抗氧化功能的影响[J]. *食品科学*, 2020, 41 (7): 159-163.
YU L L, LIU W, ZHOU Y L, et al. Effects of wheat oligopeptides on antioxidant function of mice with acute alcoholism [J]. *Food Science*, 2020, 41 (7): 159-163. (in Chinese)
- [10] 田梅,赵义良,刘松雁,等.大豆小肽对肉牛瘤胃发酵和养分消化的影响[J]. *中国饲料*, 2020 (16): 55-58.
TIAN M, ZHAO Y L, LIU S Y, et al. Effect of soybean peptides on rumen fermentation and nutrient apparent digestibility in beef cattle [J]. *China Feed*, 2020 (16): 55-58. (in Chinese)
- [11] WANG W J, YANG W R, WANG Y, et al. Effects of soybean small peptides on rumen fermentation and on intestinal and total tract digestion of *Luxi* yellow cattle [J]. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2013, 26 (1): 72-81.
- [12] 王文娟.瘤胃灌注小肽对肉牛瘤胃发酵与营养物质消化代谢的影响[D].硕士学位论文.泰安:山东农业大学, 2011.
WANG W J. The effect of rumen infusion of small peptides on rumen fermentation and nutrient digestion and metabolism of beef cattle [D]. Master's Thesis. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2011. (in Chinese)
- [13] 高爽.复合抗菌肽“态康利保”对山羊瘤胃消化代谢及血清生长相关激素含量的影响[D].硕士学位论文.雅安:四川农业大学, 2017.
GAO S. Effect of compound antimicrobial peptide “*Taikang Libao*” on rumen digestion and metabolism and serum growth-related hormone levels in goats [D]. Master's Thesis. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2017. (in Chinese)
- [14] REN Z H, YAO R J, LIU Q, et al. Effects of antibacterial peptides on rumen fermentation function and rumen microorganisms in goats [J]. *PLoS One*, 2019, 14 (8): e0221815.
- [15] MENKE K H, RAAB L, SALEWSKI A, et al. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro* [J]. *The Journal of Agricultural Science*, 1979, 93 (1): 217-222.
- [16] 冯宗慈,高民.通过比色测定瘤胃液氨氮含量方法的改进[J]. *畜牧与饲料科学*, 2010, 31 (6/7): 37.
FENG Z C, GAO M. Improvement of the method for determination of ammonia nitrogen content in rumen fluid by colorimetry [J]. *Animal Husbandry and Feed Science*, 2010, 31 (6/7): 37. (in Chinese)
- [17] 宋晓伟,康健,林滢.改良的考马斯亮蓝 G-250 染色法简便快速测定微量蛋白浓度[J]. *洛阳医学专学报*, 1997, 16 (3): 150-152.
SONG X W, KANG J, LIN Y. A simple and rapid method for the quantitation of microgram concentrations of protein utilizing the principle of commas' dye binding to protein [J]. *Journal of Luoyang Medical College*, 1997, 16 (3): 150-152. (in Chinese)
- [18] 曹庆云,周武艺,朱贵钊,等.气相色谱测定羊瘤胃液中挥发性脂肪酸方法研究[J]. *中国饲料*, 2006 (24): 26-28.
CAO Q Y, ZHOU W Y, ZHU G Z, et al. Study on determination of volatile fatty acids in rumen liquid of sheep by gas chromatography [J]. *China Feed*, 2006 (24): 26-28. (in Chinese)
- [19] KRAUSE D O, RUSSELL J B. How many ruminal bacteria are there? [J]. *Journal of Dairy Science*, 1996, 79 (8): 1467-1475.
- [20] 殷云浩.不同氮硫比尿素饲料条件下小肽对南江黄羊瘤胃体外发酵特性的影响[D].硕士学位论文.雅安:四川农业大学, 2012.
YIN Y H. Effects of small peptides on *in vitro* fermentation characteristics in the rumen of *Nanjiang* yellow sheep under different nitrogen-sulfur ratios of urea [D]. Master's Thesis. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2012. (in Chinese)
- [21] 林波,王迪铭.反刍动物瘤胃内氨氮产生的微生物机制与调控手段[J]. *中国饲料*, 2010 (19): 9-13.
LIN B, WANG D M. The microbial mechanism and regulation of ammonia nitrogen production in the rumen of ruminants [J]. *China Feed*, 2010 (19): 9-13. (in Chinese)
- [22] 霍路曼,曹玉凤,高艳霞,等.饲料能量水平对荷斯坦育成牛生长性能和瘤胃发酵的影响[J]. *畜牧兽医学报*, 2019, 50 (2): 332-342.
HUO L M, CAO Y F, GAO Y X, et al. The effect of dietary energy levels on growth performance and rumen fermentation in Chinese holstein heifers [J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2019, 50 (2): 332-342. (in Chinese)

- [23] 柏峻,文露华,瞿明仁,等.柠檬酸稀土对锦江黄牛瘤胃体外发酵特性的影响[J].中国饲料,2018(15):65-68.
BAI J, WEN L H, QU M R, et al. Effects of rare earth citrate on rumen fermentation characteristics of *Jinjiang* yellow cattle [J]. *China Feed*, 2018(15): 65-68. (in Chinese)
- [24] 王梦芝,喻礼怀,王洪荣,等.不同分子形式氮源对瘤胃微生物发酵及蛋白合成的影响[J].中国畜牧杂志,2010,46(5):20-24.
WANG M Z, YU L H, WANG H R, et al. Study on effects of different nitrogen forms on rumen microbial fermentation and protein synthesis [J]. *Chinese Journal of Animal Science*, 2010, 46(5): 20-24. (in Chinese)
- [25] 冯仰廉.反刍动物营养学[M].北京:科学出版社,2004.
FENG Y L. *Ruminant nutrition* [M]. Beijing: Science Press, 2004. (in Chinese)

Effects of Wheat Oligopeptides on Rumen Fermentation Parameters of Mutton Sheep *in Vitro*

LYU Kexin¹ AO Changjin^{1*} ZHAO Yaxing¹ AN Yawen¹ DUAN Jiayu¹
ZHANG Hao¹ ZHANG Xisheng²

(1. Key Laboratory of Animal Nutrition and Feed Science, School of Animal Science, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China; 2. Xilinhot Dingan Biological Technology Co., Ltd., Xilinhot 026000, China)

Abstract: The purpose of this experiment was to study the effects of different levels of wheat oligopeptides added in diets, on rumen fermentation parameters of mutton sheep by batch culture *in vitro*, and to screen the appropriate amount of wheat oligopeptides added in meat sheep diet. The experiment selected 6 small-tailed *Han* sheep of similar age and body condition as the donor of rumen liquor. A single factor experiment design with 1 control group and 6 experimental groups with 6 replicates in each group was adopted. The control group contained basic culture substrate (basal diet) and the experimental groups were added 0.05%, 0.10%, 0.15%, 0.25%, 0.35% and 0.45% wheat oligopeptides on the basis of the basic culture substrate. After culturing *in vitro* for 2, 4, 8, 12 and 24 h, the pH, ammonia nitrogen (NH₃-N), bacterial protein (MCP), volatile fatty acid (VFA) concentrations and dry matter degradation rate was evaluated using a comprehensive index of multiple indicators (MFAEI). The results showed as follows: 1) when fermentation for 2 h, the pH of the 0.25% group was significantly lower than that of the control group ($P < 0.05$); the pH of the experimental groups was significantly lower than that of the control group except the 0.05% group for fermentation 12 and 24 h ($P < 0.05$). 2) After 4 h of fermentation, the NH₃-N concentration of 0.25% group was significantly higher than that of the control group ($P < 0.05$); after 8 h of fermentation, the NH₃-N concentration of 0.35% group was significantly higher than that of the control group ($P < 0.05$); fermentation 24 h, the NH₃-N concentration of 0.25%, 0.35% and 0.45% groups was significantly higher than that of the control group ($P < 0.05$). 3) After 2 h of fermentation, the MCP concentration of 0.15%, 0.25% and 0.45% groups was significantly higher than that of the control group ($P < 0.05$); after 8 h of fermentation, the MCP concentration of each experimental group was significantly higher than that of the control group ($P < 0.05$); fermentation for 24 h, the MCP concentration of 0.10%, 0.15% and 0.25% groups was significantly higher than that of the control group ($P < 0.05$). 4) After fermentation for 2 and 4 h, the concentrations of acetic acid and propionic acid of the experimental groups were significantly lower than those of the control group ($P < 0.05$); after fermentation for 8, 12 and 24 h, the concentrations of acetic acid and propionic acid of the experimental groups

* Corresponding author, professor, E-mail: changjiniao@aliyun.com

were significantly higher than those of the control group ($P<0.05$); after 8 h of fermentation, acetic acid/propionic acid of 0.25% and 0.35% groups was significantly lower than that of the control group ($P<0.05$); after 24 h of fermentation, acetic acid/propionic acid of 0.45% group was significantly higher than that of the control group ($P<0.05$). 5) After 12 h of fermentation, the dry matter degradation rate of 0.05%, 0.10% and 0.15% groups was significantly higher than that of the control group ($P<0.05$). 6) The order of MFAEI from high to low was 0.25% group>0.35% group>0.45% group>0.15% group>0.10% group>0.05% group. In conclusion, under *in vitro* culture conditions, dietary supplementation with wheat oligopeptides can effectively promote rumen fermentation of meat sheep *in vitro*, and the optimal addition amount is 0.25%. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2021, 33(6):3400-3409]

Key words: wheat oligopeptides; batch culture *in vitro*; rumen fermentation; mutton sheep