

[文章编号] 1000-2782(1999)06-0097-05

肉仔鸡血浆游离氨基酸浓度变化规律的研究

姚军虎¹, 王康宁², 宋代军²

(1 西北农业大学动物科学与动物医学学院, 陕西杨陵 712100)

(2 四川农业大学动物营养研究所, 四川雅安 625014)

[摘 要] 给 4 组共 40 只肉仔鸡分别强饲无氮饲料 (NFD), NFD+ 32 g° kg⁻¹ 酶解酪蛋白 (EHC), 及以豆粕为惟一氮源的粗蛋白质量浓度为 50 和 200 g° kg⁻¹ 的饲料, 于强饲后 5 min, 4, 24, 36 及 48 h, 采集静脉血液, 观测去蛋白血浆中诸氨基酸 (PFAA) 的变化规律。结果表明, PFAA 浓度与采食饲料氨基酸含量及食后时间呈复杂的函数关系。PFAA 浓度仅可大致估计饲料氨基酸的有效性。

[关键词] 肉仔鸡; 饲料; 血浆氨基酸

[中图分类号] S831.5, S852.2 **[文献标识码]** A

血液是最容易获得的动物体组织^[1], 尤其是自离子交换色谱分析法诞生以来, 对血浆游离氨基酸 (PFAA) 组成模式的研究日渐增多^[1, 2]。PFAA 常被作为机体氨基酸库, 用以研究体内蛋白质代谢状况, 评定饲料氨基酸的有效性, 估测动物的氨基酸需要量。影响 PFAA 的因素很多, 其中以日粮组成和食后时间的影响最大。本研究旨在系统探讨强饲 4 种不同饲料的肉仔鸡不同采血时间的 PFAA 浓度, 为 PFAA 的代谢动力学研究提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 饲料

设计无氮饲料 (NFD), NFD+ 32 g° kg⁻¹ 酶解酪蛋白 (EHC), 及以豆粕为惟一氮源的粗蛋白质量浓度 50 和 200 g° kg⁻¹ 4 种半合成饲料 (表 1), 诸饲料代谢能 (13.81 MJ/kg), 粗纤维 (42 g° kg⁻¹), 钙 (10 g° kg⁻¹), 有效磷 (4 g° kg⁻¹) 含量以及维生素和微量元素的添加量均相等。

1.2 动物与饲喂

质量约 1.5 kg 的艾维茵肉公仔鸡 40 只, 随机等分 20 个区组, 每饲料 5 个重复共 10 只鸡。试鸡单笼喂养, 绝食 36 h, 按每千克质量 20 g 或 25 g 干物质的比例, 分别预强饲前 2 种或后 2 种饲料, 绝食 48 h, 之后正强饲相同数量同一饲料。绝食期间试鸡自由饮水。

[收稿日期] 1998-09-21

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (39970550)

[作者简介] 姚军虎 (1963-), 男, 副教授, 博士

表 1 试验饲料中粗蛋白及氨基酸含量

养 分	N F D	N F D+ EHC 32 g° kg ⁻¹	粗蛋白 50 g° kg ⁻¹	粗蛋白 200 g° kg ⁻¹
丙氨酸 (Ala)	0. 091 0	0. 172 6	0. 200 7	0. 670 5
精氨酸 (Arg)	0. 064 5	0. 151 0	0. 370 0	1. 253 0
天冬氨酸 (Asp)	0. 022 5	0. 068 7	0. 240 0	1. 744 4
谷氨酸 (Glu)	0. 036 6	0. 428 8	0. 653 7	3. 676 3
甘氨酸 (Gly)	0. 018 6	0. 043 5	0. 128 5	0. 637 9
组氨酸 (His)	0. 019 7	0. 023 3	0. 050 1	0. 361 6
异亮氨酸 (Ile)	0. 022 1	0. 114 8	0. 120 2	0. 705 3
亮氨酸 (Leu)	0. 026 9	0. 158 2	0. 182 1	1. 045 1
赖氨酸 (Lys)	0. 059 7	0. 240 7	0. 284 8	1. 008 9
蛋氨酸 (Met)	0. 027 7	0. 052 0	0. 040 1	0. 200 9
苯丙氨酸 (Phe)	0. 086 3	0. 232 3	0. 264 0	0. 853 0
脯氨酸 (Pro)	0. 045 9	0. 144 6	0. 086 0	0. 717 2
丝氨酸 (Ser)	0. 025 1	0. 109 8	0. 164 0	0. 713 7
苏氨酸 (Thr)	0. 029 9	0. 133 5	0. 172 2	0. 668 3
酪氨酸 (Tyr)	0. 028 7	0. 098 9	0. 138 9	0. 603 0
缬氨酸 (Val)	0. 072 7	0. 206 8	0. 211 8	0. 794 0
总氨基酸	0. 677 9	2. 379 5	3. 307 1	15. 653 1
粗蛋白 (CP)	0. 80	2. 71	5. 08	20. 74

注: 1)养分含量均以干物质为基础; 2) N F D为无氮饲料; N F D+ EHC 32 g° kg⁻¹为 N F D饲料中加入 32 g° kg⁻¹ 酶解酪蛋白 (Sigma Chemical, st. Louis M O)

1. 3 血液采集与预处理

于正强饲后 5 min, 4, 24, 36及 48 h准时采集静脉血液 (1. 5 mL/次)。血液样品加抗凝剂 (肝素钠), 立即以 3 000 r/min离心 10 min, 分离血浆, 弃沉淀, 每 mL血浆样品加入 1 mL三氯乙酸 (100 g° L⁻¹), 离心 10 min, 弃沉淀, 得到去蛋白血浆样品。等比例混合同一区组 2只鸡同一时间去蛋白血浆样品, - 20℃ 密封保存。

1. 4 饲料及去蛋白血浆中氨基酸含量测定

按每 100 mg饲料样品加入 10 mL 6 mol° L⁻¹ HCl(含酚 1. 0 g° L⁻¹), 20μ L巯基乙醇, 110℃封管水解 24 h. 定容至 50 mL, 0. 45μ m滤膜过滤后, 用 Waters公司 Pico-Tag氨基酸分析仪 (Pico-Tag, Waters, Millipore, Mifford, M A)测定氨基酸含量。去蛋白血浆室温解冻 12 h, 0. 45μ m滤膜过滤后, 直接用 Hco-Tag AA分析仪测定氨基酸含量

1. 5 资料处理

利用 SPSS软件包对去蛋白血浆中诸氨基酸浓度进行差异显著性及回归分析。

2 试验结果

2. 1 饲料对 PFAA浓度的影响

强饲 4种半合成饲料时, 肉仔鸡 5个时间点平均 PFAA列于表 2. 血浆游离 Ala, Lys浓度各饲料组间无明显差异 (P> 0. 05), 本试验所检测的其余 15种氨基酸浓度均不同程度受强饲饲料之影响 (P< 0. 05或 P< 0. 01)。4种饲料时, PFAA总浓度依次为 108. 72, 119. 90, 112. 63及 127. 14μ mol° L⁻¹, 以粗蛋白 200 g° kg⁻¹饲料组显著高于其他 3组, N F D和粗蛋白 50 g° kg⁻¹组最低, N F D+ EHC (32 g° kg⁻¹) 组居中 (P< 0. 05)

表 2 饲料对 PFAA 的影响

$\mu\text{mol}^{\circ}\text{L}^{-1}$

氨基酸	N FD	N FD+ 32 g $^{\circ}$ kg $^{-1}$ EHC	粗蛋白 50 g $^{\circ}$ kg $^{-1}$	粗蛋白 200 g $^{\circ}$ kg $^{-1}$
Ala	211. 7 $\pm$ 15. 17 ^a	216. 24 $\pm$ 14. 47 ^a	212. 87 $\pm$ 10. 50 ^a	245. 82 $\pm$ 16. 10 ^a
Arg	77. 82 $\pm$ 5. 21 ^a	92. 06 $\pm$ 9. 73 ^{ab}	81. 13 $\pm$ 4. 09 ^{ab}	101. 89 $\pm$ 9. 47 ^b
Asp	4. 90 $\pm$ 0. 79 ^a	9. 34 $\pm$ 0. 66 ^b	6. 30 $\pm$ 0. 88 ^a	10. 45 $\pm$ 1. 20 ^b
Cys	7. 90 $\pm$ 0. 63 ^a	9. 28 $\pm$ 0. 57 ^a	7. 69 $\pm$ 0. 74 ^a	13. 18 $\pm$ 0. 87 ^b
Glu	51. 69 $\pm$ 4. 77 ^a	67. 09 $\pm$ 4. 98 ^b	59. 48 $\pm$ 5. 91 ^a	79. 96 $\pm$ 4. 61 ^b
Gly	307. 42 $\pm$ 14. 56 ^a	362. 75 $\pm$ 23. 61 ^a	342. 34 $\pm$ 15. 66 ^a	344. 60 $\pm$ 18. 89 ^a
His	32. 04 $\pm$ 2. 93 ^a	46. 99 $\pm$ 2. 53 ^b	43. 09 $\pm$ 1. 38 ^b	44. 48 $\pm$ 2. 08 ^b
Ile	62. 21 $\pm$ 5. 48 ^{ab}	60. 40 $\pm$ 4. 39 ^a	58. 78 $\pm$ 3. 75 ^a	74. 17 $\pm$ 3. 32 ^b
Leu	37. 84 $\pm$ 2. 50 ^a	43. 88 $\pm$ 4. 25 ^{ab}	52. 14 $\pm$ 2. 62 ^b	66. 99 $\pm$ 2. 80 ^c
Lys	211. 24 $\pm$ 17. 80 ^a	198. 72 $\pm$ 15. 35 ^a	175. 78 $\pm$ 10. 48 ^a	196. 09 $\pm$ 10. 78 ^a
Met	13. 43 $\pm$ 1. 33 ^a	15. 14 $\pm$ 1. 08 ^{ab}	13. 76 $\pm$ 0. 78 ^a	18. 27 $\pm$ 1. 28 ^b
Phe	25. 91 $\pm$ 1. 59 ^a	26. 77 $\pm$ 1. 80 ^a	24. 68 $\pm$ 1. 49 ^a	32. 43 $\pm$ 1. 87 ^b
Pro	98. 19 $\pm$ 4. 77 ^a	103. 21 $\pm$ 4. 41 ^{ab}	95. 16 $\pm$ 4. 23 ^a	117. 15 $\pm$ 7. 62 ^b
Ser	325. 58 $\pm$ 15. 98 ^a	379. 79 $\pm$ 12. 88 ^b	375. 69 $\pm$ 18. 76 ^b	333. 68 $\pm$ 17. 32 ^{ab}
Thr	255. 57 $\pm$ 14. 97 ^a	248. 03 $\pm$ 10. 24 ^a	249. 48 $\pm$ 11. 41 ^a	293. 99 $\pm$ 11. 22 ^b
Tyr	25. 61 $\pm$ 1. 77 ^{ab}	20. 91 $\pm$ 1. 41 ^a	26. 64 $\pm$ 1. 47 ^b	34. 66 $\pm$ 2. 37 ^c
Val	99. 27 $\pm$ 8. 68 ^a	137. 93 $\pm$ 11. 08 ^b	89. 72 $\pm$ 5. 48 ^a	153. 50 $\pm$ 13. 43 ^b
总氨基酸	108. 73 $\pm$ 5. 44 ^a	119. 90 $\pm$ 7. 91 ^b	112. 63 $\pm$ 5. 52 ^a	127. 14 $\pm$ 7. 62 ^c

注: 1)表中数据为强饲后 5 个时间点平均 PFAA 浓度 ($\bar{X}\pm SD,n= 25$); 2)同行数据右肩标不同字母表示差异显著 ($P< 0. 05$),下表同.

2. 2 采血时间对 PFAA 浓度的影响

不同时间点, 4 种饲料组平均 PFAA 列于表 3.

表 3 采血时间对 PFAA 的影响

$\mu\text{mol}^{\circ}\text{L}^{-1}$

氨基酸	5 min	4 h	24 h	36 h	48 h
Ala	241. 88 $\pm$ 14. 99 ^b	251. 10 $\pm$ 18. 04 ^b	197. 69 $\pm$ 11. 25 ^a	239. 67 $\pm$ 17. 50 ^b	177. 97 $\pm$ 11. 46 ^c
Arg	100. 46 $\pm$ 10. 23 ^b	103. 86 $\pm$ 12. 06 ^b	63. 75 $\pm$ 3. 68 ^a	105. 13 $\pm$ 4. 32 ^b	67. 93 $\pm$ 3. 57 ^a
Asp	11. 58 $\pm$ 0. 94 ^c	8. 40 $\pm$ 1. 43 ^b	5. 14 $\pm$ 0. 78 ^a	4. 71 $\pm$ 0. 79 ^a	8. 91 $\pm$ 0. 80 ^{bc}
Cys	11. 10 $\pm$ 1. 09 ^a	9. 00 $\pm$ 0. 86 ^c	8. 57 $\pm$ 0. 84 ^a	9. 02 $\pm$ 1. 12 ^a	9. 88 $\pm$ 0. 62 ^a
Glu	83. 70 $\pm$ 5. 32 ^b	58. 59 $\pm$ 6. 01 ^a	60. 87 $\pm$ 5. 25 ^a	55. 51 $\pm$ 6. 97 ^a	64. 10 $\pm$ 5. 07 ^a
Gly	371. 74 $\pm$ 25. 32 ^b	329. 11 $\pm$ 23. 52 ^{ab}	324. 56 $\pm$ 13. 49 ^{ab}	293. 03 $\pm$ 16. 00 ^a	377. 93 $\pm$ 19. 35 ^b
His	46. 85 $\pm$ 3. 02 ^b	37. 56 $\pm$ 1. 86 ^c	37. 47 $\pm$ 2. 33 ^a	49. 00 $\pm$ 3. 49 ^b	37. 36 $\pm$ 2. 23 ^a
Ile	76. 47 $\pm$ 3. 93 ^b	51. 94 $\pm$ 4. 56 ^c	44. 25 $\pm$ 2. 34 ^a	69. 62 $\pm$ 4. 72 ^b	77. 17 $\pm$ 4. 01 ^b
Leu	56. 33 $\pm$ 3. 97 ^b	40. 76 $\pm$ 4. 13 ^a	38. 56 $\pm$ 3. 83 ^a	52. 79 $\pm$ 3. 67 ^b	62. 61 $\pm$ 3. 15 ^b
Lys	225. 77 $\pm$ 13. 48 ^b	129. 19 $\pm$ 9. 11 ^a	149. 84 $\pm$ 8. 72 ^b	245. 05 $\pm$ 15. 02 ^b	227. 44 $\pm$ 11. 54 ^b
Met	16. 11 $\pm$ 0. 96 ^c	13. 92 $\pm$ 1. 14 ^{ab}	11. 16 $\pm$ 1. 13 ^a	19. 80 $\pm$ 1. 60 ^c	14. 76 $\pm$ 1. 02 ^b
Phe	28. 32 $\pm$ 2. 32 ^{ab}	32. 73 $\pm$ 2. 24 ^b	23. 49 $\pm$ 1. 20 ^a	26. 68 $\pm$ 1. 69 ^a	26. 03 $\pm$ 1. 80 ^a
Pro	114. 12 $\pm$ 4. 48 ^b	113. 32 $\pm$ 10. 18 ^b	81. 78 $\pm$ 2. 23 ^a	103. 04 $\pm$ 4. 85 ^b	104. 87 $\pm$ 4. 16 ^b
Ser	314. 47 $\pm$ 14. 63 ^a	381. 50 $\pm$ 17. 75 ^b	372. 55 $\pm$ 19. 81 ^b	341. 06 $\pm$ 16. 35 ^{ab}	358. 84 $\pm$ 22. 60 ^{ab}
Thr	270. 77 $\pm$ 12. 46 ^{ab}	249. 01 $\pm$ 16. 67 ^{ab}	236. 77 $\pm$ 9. 88 ^a	286. 33 $\pm$ 14. 81 ^b	265. 98 $\pm$ 13. 72 ^{ab}
Tyr	27. 52 $\pm$ 1. 73 ^a	26. 09 $\pm$ 2. 61 ^a	25. 07 $\pm$ 2. 31 ^a	30. 63 $\pm$ 3. 05 ^a	25. 44 $\pm$ 1. 13 ^a
Val	128. 54 $\pm$ 8. 50 ^b	133. 90 $\pm$ 20. 50 ^b	85. 75 $\pm$ 8. 50 ^a	138. 09 $\pm$ 11. 25 ^b	114. 25 $\pm$ 6. 53 ^{ab}
总氨基酸	2125. 73 $\pm$ 185. 71 ^c	1970. 06 $\pm$ 157. 64 ^b	1767. 26 $\pm$ 167. 89 ^a	2069. 16 $\pm$ 227. 62 ^{bc}	2021. 47 $\pm$ 160. 78 ^{bc}

注: 数据为强饲 4 种饲料的平均 PFAA ($\bar{X}\pm SD,n= 20$).

由表 3 可见,血浆游离 Cys 及 Tyr 浓度不受采血时间的影响 ($P> 0. 05$). 所检测 17 种氨基酸总浓度,强饲后 5 min, 4, 24, 36 及 48 h 平均为 2 125. 73, 1 970. 06, 1 767. 26, 2 069. 16, 2 021. 47 $\mu\text{mol}^{\circ}\text{L}^{-1}$ (表 3).

1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2 069.16及 2 021.47 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,明显受采血时间之影响 ($P < 0.05$),并以 24 h最低, 5 min最高, 36 h, 48 h及 5 min间或 4 h, 36 h及 48 h间无显著差异 ($P > 0.05$)。其余氨基酸浓度与 17种氨基酸总浓度具有相同或相似的变化规律。

3 讨 论

3.1 饲粮氨基酸含量对 PFAA浓度的影响

本试验中,除 Met和 Pro外, NFD+ EHC(32 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)饲粮的诸氨基酸含量均低于粗蛋白 50 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 饲粮(表 1),而总 PFAA及绝大多数氨基酸浓度(表 2)显著高于 ($P < 0.05$)或趋向高于 ($P > 0.05$)粗蛋白 50 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 饲粮组,主要原因是 EHC的氨基酸组成模式更符合肉仔鸡的饲料理想蛋白模式,且 EHC的吸收率比豆粕高。对本试验数据的回归分析表明,饲粮氨基酸含量明显影响 PFAA,但两者间呈复杂的函数关系,增加饲粮氨基酸含量并不一定提高 PFAA。

生长猪采食粗蛋白 130和 200 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 饲粮,血浆诸氨基酸浓度呈不规律变化^[3,4]。大鼠饲粮中限制性氨基酸不足或饲粮氨基酸不平衡,明显改变采食性能,但不一定明显改变 PFAA浓度^[5]。采食 NFD时 PFAA下降,但采食含氮饲粮时, PFAA不一定提高^[2]。本试验结果与上述试验报道相吻合。

3.2 采血时间对 PFAA浓度的影响

本试验采用家禽代谢试验中公认的 Sibbald强饲法,强饲 5 min饲粮氨基酸不可能吸收入血液,此时 PFAA与 36, 48 h相似,且大量体蛋白降解进入血液,因此,此 3个时间点 PFAA多处于较高水平(表 3)。24 h的吸收高峰已过,但又可能不需动员体贮以维持生命活动必需的养分,此时 PFAA浓度较低^[6]。回归分析表明,强饲后 26 h左右 PFAA浓度急剧升高,表明此时体蛋白降解明显增加。

猪断食 18~ 24 h,血浆 Lys和 Cys浓度逐渐升高^[7]。饲喂后猪血浆必需氨基酸浓度逐渐升高,食后 2 h左右达到峰值,之后逐渐下降, 10~ 15 h达到正常水平,断食后 18~ 24 h又逐渐升高^[1,3]。绝食 24 h的雏鸡,血浆 Lys浓度是正常饲喂鸡的 4倍^[1]。本试验及上述试验均表明,食后时间显著影响 PFAA浓度,单独一个时间点的 PFAA浓度不能代表食后一段时间 PFAA浓度变化情况,因此,多次采血方可准确监测 PFAA浓度变化规律。

3.3 PFAA浓度与饲粮氨基酸有效性的关系

PFAA与饲粮氨基酸含量间呈复杂的函数关系,或在一定范围内某些 PFAA不受饲粮中相应氨基酸含量的影响。作者认为仅根据 PFAA浓度变化不能准确监测机体蛋白质营养状况,以 PFAA浓度估测动物氨基酸需要量可导致较大误差。对某些氨基酸,如果能选择合适的基准物质, PFAA浓度可对饲料氨基酸有效性及饲料限制性氨基酸作出大致估测。

4 结 论

PFAA浓度与采食饲粮氨基酸含量间呈复杂的函数关系,提高饲粮氨基酸含量并不一定增加 PFAA浓度。依 PFAA浓度可大致估计饲料氨基酸的有效性。

PFAA浓度与食后时间呈复杂的函数关系,观测 PFAA浓度时应多次采血或选择适

宜的采血时间。

参考文献]

- [1] Simon O. Metabolism of proteins and amino acids [A]. In Bock H D, Eggum B O, Low A G, et al. Protein metabolism in farm animals—evaluation, digestion, absorption and metabolism[C]. Oxford The University Press, 1989, 273~ 357.
- [2] Sibbald I R. Estimation of bioavailable amino acids in feedstuffs for poultry and pigs: a review with emphasis on balance experiments[J]. Can Anim Sci, 1987, 67: 221~ 300.
- [3] Davey R J, Phelps J W, Thomas C H. Plasma free amino acids of swine as influenced by diet protein level, animal age and time of sampling[J]. J Anim Sci, 1973, 37: 81~ 86.
- [4] Wykes L J, Fiorotto M, Burrin D G, et al. Chronic low protein intake reduces tissue protein synthesis in a pig model of protein malnutrition[J]. J Nutr, 1996, 126: 1481~ 1488.
- [5] Hrupka B J, Yu M L, Gietzen D W, et al. Small changes in essential amino acid concentrations alter diet selection in amino acid-deficient rats [J]. J Nutr, 1997, 127: 777~ 784.
- [6] 姚军虎. 一次注射 [^3H]Leu测定肉鸡内源氨基酸排泄量的研究 [D]. 四川雅安: 四川农业大学动物营养研究所, 1998.
- [7] Typpo J T, Meade R J, Nordstrom J W, et al. Influence of time of fast on concentrations of free amino acids in plasma and total amino acids in liver protein of young swine[J]. J Anim Sci, 1970, 31: 885~ 892.

Change regularity of plasma free amino acid content in broiler chicken

YAO Jun-hu¹, WANG Kang-ning², SONG Dai-jun²

(1 College of Animal Science and Veterinary Medicine, Northwestern Agricultural University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

(2 Animal Nutrition Institute, Sichuan Agricultural University, Ya'an, Sichuan 625014, China)

Abstract Four groups of total 40 broiler chickens were force-fed nitrogen-free diet (NFD), NFD+ 32 g·kg⁻¹ enzymatically hydrolyzed caesin (EHC) diet, and two other diets with crude protein contents of 5% and 20% in which soybean meal (sol.) was the sole nitrogen source, respectively. At 5 minutes, 4 hours, 24 hours, 36 hours and 48 hours after force-feeding, venous blood samples (1.5 mL each time per chicken) were taken to exam the contents of plasma free amino acids (PFAA). The results showed that the relationships between the PFAA contents and dietary amino acid contents, or between the PFAA contents and the time after feeding were complex and different for each amino acid, and PFAA contents could roughly estimate the availability of feed amino acid.

Key words broiler chicken; dietary amino acids; plasma free amino acids