

アミノ酸飼料給与雛に対するクエン酸アンモニウムの効果

富田 裕一郎・林 国興
武元 和郎*・荒武 正則**
(昭和52年8月31日 受理)

The Effects of Diammonium Citrate on the chicks fed Essential Amino Acid Diets

Yūichirō TOMITA, Kunioki HAYASHI, Kazuro TAKEMOTO*
and Masanori ARATAKE**

(Laboratory of Animal Nutrition)

緒 言

結晶アミノ酸混合物を窒素源として調製した精製飼料を用いて、アンモニウム化合物の雛による利用性を検討した研究は数多く報告されている^{5,13,14,16}。これらの中で良く利用されているアンモニウム化合物としては、クエン酸二アンモニウム (DAC) とグルタミン酸 (Glu) などがある。DAC に関しては、Scott¹⁴ は5~6%以下の低レベルであれば、また Renner¹³ は適当な炭水化物を含むならば、L-Glu と同程度利用されるとしている。

これらの結果から、アンモニウム化合物や尿素の窒素は家禽において可欠アミノ酸の役割を果たしうるものの一種であると考えられるが、これは必須アミノ酸が最低要求量を、またバランスされて含まれ、しかも可欠アミノ酸を含まないときに最大の効果を示すものと考えられる。

前報^{19,20} では、大豆蛋白質精製飼料で、DACを添加したときの雛の成育に対する影響を検討したが、増体効果は認められなかった。

本報では、結晶必須アミノ酸混合物精製飼料を用い、DACの雛成育に対する影響について検討し、肝臓脂質、蛋白質、およびアンモニウム量、GOT (グルタミン酸-オキサロ酢酸トランスアミナーゼ)、GPT (グルタミン酸-ピルビン酸トランスアミナーゼ)、および

XDH (キサンチンデヒドロゲナーゼ) などの酵素活性、さらに血中尿酸、アンモニウム量、血漿遊離アミノ酸量の変動についても測定し、また Glu 添加飼料の影響についても比較検討した。

材料と方法

1. 供試動物および飼養条件

1) 供試動物および羽数

前報^{19,20} と同様白レグ産卵鶏雄初生雛を下記の条件で予備飼育後、実験-1 では5羽を1群とし、1区を2群の4区を設定した。実験-2 では5羽を1群とし、2群を1区とした6区を設けた。

2) 予備飼育条件

実験-1 では7日間市販育雛用飼料で、引続く7日間すなわち8日令から14日令までは前報²⁰ で用いた基礎飼料 (大豆蛋白質飼料) で飼育した。実験-2 では10日間市販飼料で、続く7日間を前報²⁰ の基礎飼料で予備飼育した。

3) 試験飼育条件

予備飼育後、実験毎に所定の羽数を体重がほぼ近似したものから選抜し、試験飼料 (Table 1) を給与した。実験-1, -2 いずれも12日間であった。なお、飼料および飲水は自由摂取とした。

4) 試験区

実験-1. 窒素源として必須アミノ酸混合物を用い調製した精製飼料を基礎飼料 (C.P. として9.1%) とし、これのみを給与した対照の基礎飼料区、この基礎飼料に2.58%のDAC (C.P. 換算2%相当) を添加した2.58% DAC区、3.36% Glu (C.P. 2%相当) 添加の3.36% Glu区および12.91% DAC (C.P. 10%相当) の12.91% DAC区の4区について比較検討した。

本研究は昭和52年度日本栄養食糧学会西日本支部会、宮崎市において発表した。

* 日本配合飼料株式会社、横浜市; Nippon Formula Feed Manufacturing Co., Yokohama.

** 宮崎県総合農業試験場酪農支場、西諸県郡高原町; Miyazaki Agricultural Experiment Station, Blanch of Dairy Research, Nishimorokata gun, Miyazaki Ken.

Table 1. Composition of basal and experimental diets (%)

	Experiment 1				Experiment 2					
	(Basal) Control	2.58% DAC	3.36% Glu	12.91% DAC	(Basal) Control	6.46% DAC	12.91% DAC	19.37% DAC	DAC Glu	16.81% Glu
Corn Starch	51.65	49.07	48.29	38.74	51.65	45.19	38.74	32.28	36.79	34.84
Soybean oil	15.00	"	"	"	15.00	"	"	"	"	"
Sucrose	10.00	"	"	"	10.00	"	"	"	"	"
Cellulose	3.00	"	"	"	3.00	"	"	"	"	"
Mineral mix.*1	6.00	"	"	"	6.00	"	"	"	"	"
Vitamin B mix.*1	2.00	"	"	"	2.00	"	"	"	"	"
Choline-HCl	0.40	"	"	"	0.40	"	"	"	"	"
Anti-acid*2	1.00	"	"	"	1.00	"	"	"	"	"
NaHCO ₃	1.00	"	"	"	1.00	"	"	"	"	"
Vitamin A, D ₃ *3	+	"	"	"	+	"	"	"	"	"
α -Tocopheryl acetate*4	+	"	"	"	+	"	"	"	"	"
Amino acid mix.*5	9.95	"	"	"	9.95	"	"	"	"	"
DAC*6	—	2.58 (2)*8	—	12.91 (10)	—	6.46 (5)	12.91 (10)	19.37 (15)	6.46 (5)	—
Glu*7	—	—	3.36 (2)*8	—	—	—	—	—	8.40 (5)	16.81 (10)

*1: Composition described previously.¹⁹⁾

*2: Consisting of equal parts of aluminium hydroxide and magnesium trisilicate.

*3: Vitamin A: 15,000IU/kg diet, Vitamin D₃: 1,500I.U./kg diet

*4: 15mg/kg

*5: provided the following: (g/kg diet, only the L-isomer) Arg-HCl, 15.0; His-HCl, 4.0; Lys-HCl, 12.5; Tyr, 7.0; Trp, 2.0; Phe, 7.0; Met, 5.0; Cys, 3.0; Thr, 6.0; Leu, 14.0; Ile, 6.0; Val, 8.0; Gly, 10.0.

*6: Diammonium citrate,

*7: L-Glutamic acid.

*8: Values in parentheses indicated % crude proten equivalent.

": Same as basal.

実験-2. 対照区として実験-1と同組成の基礎飼料区と、これにDACを6.46% (C.P. 換算5%相当, 以下同様), 12.91% (C.P. 10%) および19.37% (C.P. 15%) のDAC区と各C.P. 5%相当の6.46% DACと8.40% Gluの両者を添加したDAC・Glu区, 16.81% Glu区 (C.P. 10%) の6区を設定した。

なお、アミノ酸は協和醸酵製のものを、Fetherstonら⁴⁾の無方法を参考にし混合した。また精製飼料の作成にはDeanとScott²⁾, SugaharaとAriyoshi¹⁶⁾, 吉田ら²¹⁾の方法を参考にした。

2. 肝臓および血液成分分析法

肝臓摘出法, 水分, 粗脂肪, 蛋白質量, アンモニヤ量測定法, GOT活性測定法, 採血法, 血漿分離法, 血中アンモニヤ量, 尿酸量, 血漿遊離アミノ酸量測定法などはいずれも前報^{19, 20)}と同様である。

1) 酵素液調製法

肝臓に冷脱イオン水を加え, ホモジナイザーで氷冷しつつ磨砕し, 希釈磨砕液を得る。GOTおよびGPT活性測定にはこのまま粗酵素液とし, XDH活性は0°Cで24,000×g, 20分間, 遠沈し粗酵素液とした。

各活性は日立101型分光光度計で25°C保温下で測定した。

2) 酵素活性測定

GOT, GPT活性は前報^{17, 18)}に記載の方法に従い測定した。XDH活性はStrittmatter¹⁵⁾の方法に従い, キサンチン溶液の濃度はDella CorteとStirpe³⁾に従った。

結 果

1. 増体ならびに飼料の効率

市販飼料で, 実験-1では7日間, 実験-2では10日間, 引続き前報²⁰⁾と同じく大豆蛋白質精製飼料で7日間予備飼育した14日令(実験-1)と17日令(実験-2)の雛に結晶アミノ酸精製飼料を基礎飼料とした対照区と共にDACあるいはGluを添加した試験飼料を12日間給与, 試験した。

実験-1および-2の平均体重の推移をFig. 1に, 飼料摂取量の1羽当たり各3日間毎の平均値(1日当たり)をFig. 2に, 全期間の平均摂取量, 増体量, 飼料効率および蛋白効率をTable 2に示した。

実験-1

Fig. 1 で明らかなように試験終了時 (12 日間) において、その平均体重は 12.91% DAC 添加区が最

も大となり、次いで 3.36% Glu 区、2.58% DAC 区の順となり、対照の基礎飼料区が最も劣る結果が得られ、試験区は対照区に比し有意に大であった。対照

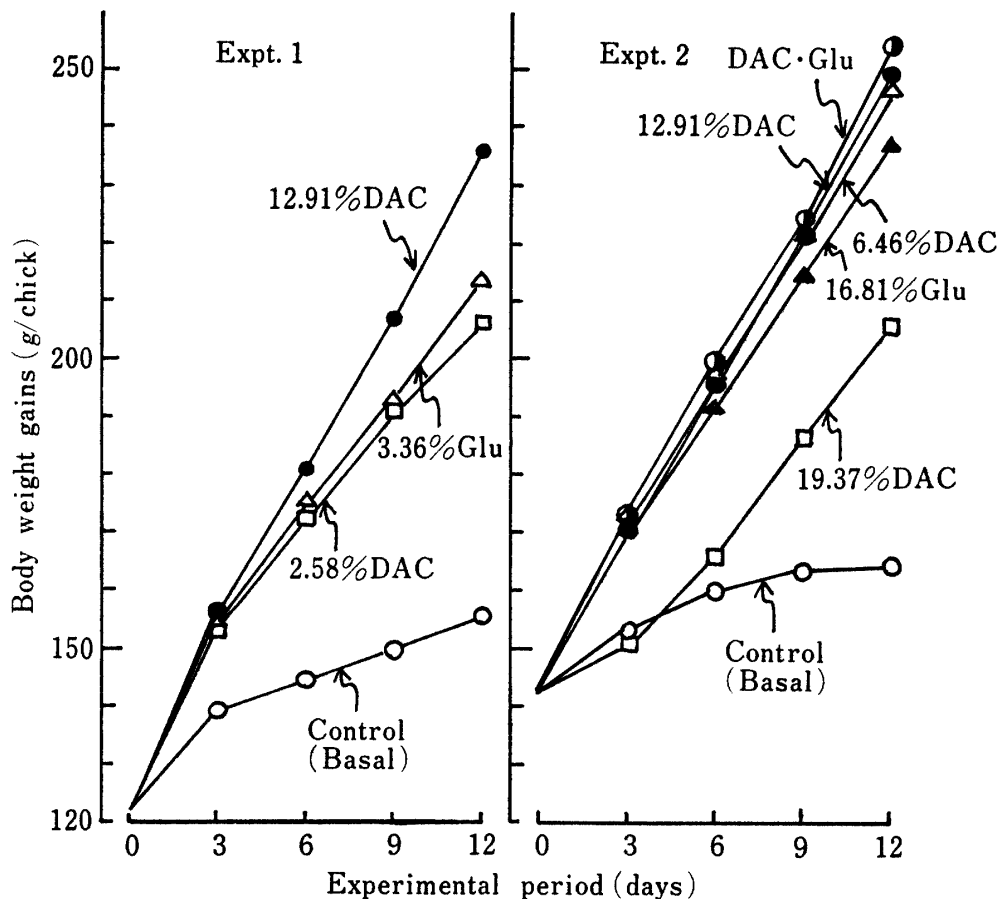


Fig. 1. Groth curves of chicks fed basal and experimental diets. Initial body weight: Expt. 1, 121.8±3.1g; Expt. 2, 141.8±3.8g.

Table 2. Feed consumption, body weight gain, feed efficiency and protein-efficiency ratios of chicks fed basal and experimental diets

	Feed Consumption (g/chick/day)	Weight gain*1 (g/chick/day)	Feed efficiency (%)	Protein-efficiency ratio
Experiment 1				
Control (Basal)	11.7	2.88±0.51 ^a	24.6	2.70
2.58% DAC*2	17.7	7.03±1.29 ^b	39.7	3.61
3.36% Glu*3	18.3	7.70±0.74 ^b	42.1	3.79
12.91% DAC	19.8	9.53±0.55 ^c	48.1	2.52
Experiment 2				
Control (Basal)	11.1	1.69±0.38 ^a	15.2	1.67
6.46% DAC	20.5	8.73±0.48 ^c	42.6	3.02
12.91% DAC	20.2	8.90±1.14 ^c	44.1	2.31
19.37% DAC	15.9	5.44±1.31 ^b	34.2	1.42
DAC·Glu	19.0	9.48±0.50 ^c	49.9	2.61
16.81% Glu	17.0	8.03±0.79 ^c	47.8	2.47

*1: Means±S.D. (10 birds). Values in a column not followed by a common superscript letter are significantly different, (P<0.05)

*2: Diammonium citrate.

*3: L-Glutamic acid.

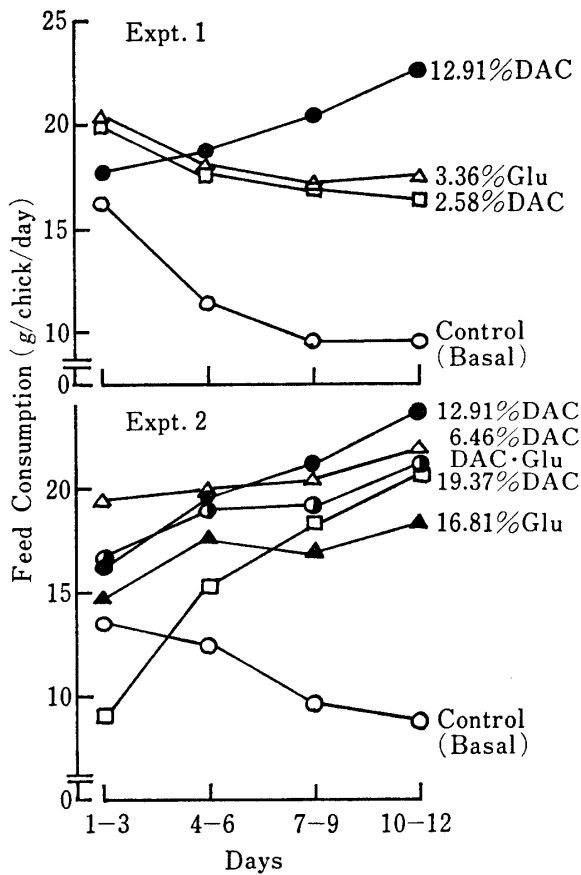


Fig. 2. Feed consumption during every three-days-period of chicks fed basal and experimental diets.

区は、試験開始3日目、すでに増体量が他区に比して有意に劣り、以降その差は大となった。増体量 (Table 2) は対照区に比し 12.91% DAC 区は約 3.3 倍、2.58% DAC 区で 2.4 倍、3.36% Glu 区で 2.7 倍の増体を示し、また 12.91% DAC 区は他区に比し有意に大となった。2.58% DAC と 3.36% Glu 区間には成長に関しては有意の差は認められなかったが、Fig. 1 のように 3.36% Glu 区の平均体重が終始大であった。

飼料摂取量の変化 (Fig. 2) は対照区の減少が顕著であり、2.58% DAC 区と 3.36% Glu 区はやや減少を示し、この両者はほぼ同程度の摂取量であったが、終始 Glu 区が大であった。12.91% DAC 区は前報^{19,20)} 大豆蛋白質飼料を用いた実験の DAC 添加区に見られたと同様に試験初期に摂取量減が認められたが、日令が進むにつれて摂取量も上昇した。飼料効率を見ると対照区は他の区に比べかなり劣り、12.91% DAC 区の約 1/2 であった。しかしながら、蛋白質効率は逆に対照区が 12.91% DAC 区よりやや勝り、

3.36% Glu 区が最も高い値を示した (Table 2)。

実験-2

15 日令から各 3 日毎の 12 日間の平均体重の推移を Fig. 1 に示した。12.91% DAC、16.81% Glu 区の 3 区は何れも同一の C.P. 換算量 10% を添加した試験区であるが、これらを給与したときの雛の成長は DAC・Glu 区が最も優れ、12.91% DAC 区と 16.81% Glu 区の順となった。C.P. 換算 5% の 6.46% DAC 区と 10% の 12.91% DAC 区はほぼ同程度の成長を示した。C.P. 換算 15% の 19.37% DAC 区はやはり初期に成長が抑制され、後半に回復が認められた。Table 2 の 1 日当りの増体量を比較すると明らかなように対照区は実験-1 同様に他区に比べ有意に増体が劣り、また 19.37% DAC 区は対照区以外の試験区との間に有意差が認められ、劣る結果が得られた。他の 4 試験区間には有意の差は認められなかった。

飼料摂取量の各 3 日毎の平均日量の変化を Fig. 2 に示したが、19.37% DAC 区は試験開始直後では最も少なく、この区の成長が Fig. 1 のように初期に劣ったのは、この摂取量の少ないことに起因することは明らかである。しかしながら、以後回復を示した。16.81% Glu 区の摂取量は 12.91% DAC 区に比し、終始少なかった。飼料効率 (Table 2) は DAC・Glu 区が最も優れ、以下 16.81% Glu、12.91% DAC、6.46% DAC、19.37% DAC および対照区の順となった。一方、蛋白質効率は 19.37% DAC 区が最も劣り、次いで対照の基礎飼料区となり、6.46% DAC 区が最も高い値を示した。

2. 肝臓重、水分、脂肪、蛋白質および核酸含量

実験-1 におけるこれら成分を分析し、Table 3 に示した。

肝臓重量は非蛋白態窒素 (NPN) 添加区が有意に高い値を示し、また NPN 添加区内では DAC の添加量の異なる 12.91% DAC 区が 2.58% DAC 区より有意に大となった。しかしながら、体重 100 g 当りに換算すると 3.36% Glu 区が若干高いが、ほぼ一定で、体重に比例して肝臓も大きくなっていることを示している。肝臓水分量は NPN 添加区のうち 2.58% DAC と 3.36% Glu 添加区が高い値を示したが、この両者間には差は認められなかった。脂肪量は個体差が大きく、区間に差は認められなかったが、肝臓重量大なるものほど小となる傾向が認められた。蛋白質含量は全肝臓当りでは肝臓重量に比例して有意に高くなり、12.91% DAC 区が最も大なる値を示した。肝臓

Table 3. Concentrations of crude fat, protein and nucleic acid in liver of chicks fed basal and experimental diets*1 (Expt. 1)

	Control (Basal)	2.58% DAC	3.36% Glu	12.91% DAC
Liver				
Weight (g)	3.45 ± 0.33 ^a	4.86 ± 0.64 ^b	5.40 ± 1.15 ^{bc}	5.84 ± 0.49 ^c
Moisture (%)	72.8 ± 1.1	73.9 ± 1.2	74.2 ± 1.2	72.1 ± 0.2
Crude fat (%)	3.05 ± 0.14	2.85 ± 1.00	2.69 ± 0.66	2.52 ± 0.33
Protein (%)	19.53 ± 0.80 ^a	19.14 ± 1.66 ^{ab}	18.13 ± 0.90 ^b	21.43 ± 0.67 ^c
Protein, mg/liver	672.3 ± 44.4 ^a	929.9 ± 149.6 ^b	973.2 ± 182.4 ^b	1252.2 ± 128.2 ^c
RNA				
mg/liver	24.11 ± 2.18 ^a	37.41 ± 6.03 ^b	36.48 ± 6.07 ^b	49.31 ± 2.47 ^c
mg/100g, body wt.	15.71 ± 1.56 ^a	18.16 ± 2.45 ^{abc}	16.67 ± 2.04 ^{ab}	20.58 ± 0.94 ^c
mg/g, wet liver	7.0 ± 0.4 ^a	7.7 ± 0.5 ^{abc}	6.8 ± 0.5 ^{ab}	8.5 ± 0.6 ^c
Protein, mg/RNA, mg	27.94 ± 1.00 ^a	24.87 ± 0.85 ^b	26.60 ± 0.99 ^{ac}	25.37 ± 1.79 ^{bc}
DNA				
mg/liver	5.24 ± 0.91	5.64 ± 1.36	7.61 ± 2.53	8.42 ± 1.83
mg/100g, body wt.	3.40 ± 0.55	2.74 ± 0.90	3.45 ± 0.98	3.51 ± 0.75
mg/g, wet liver	1.5 ± 0.2	1.2 ± 0.4	1.4 ± 0.3	1.4 ± 0.2
Protein, mg/DNA, mg	130.5 ± 15.5 ^a	173.3 ± 38.6 ^b	134.5 ± 29.5 ^{ab}	152.0 ± 20.9 ^{ab}
RNA				
mg/DNA, mg	4.66 ± 0.53 ^a	7.15 ± 1.93 ^b	5.00 ± 1.00 ^{ab}	6.04 ± 1.11 ^{ab}

*1: Means ± S.D. (5 birds) Values in a horizontal row not followed by a common superscript letter are significantly different. (P < 0.05)

*2: Diammonium citrate.

Table 4. Enzyme activities in liver of chicks fed basal and experimental diets*1

	GOT*2 Karmen unit/g, wet liver	GPT*3	XDH*4 △AD ₂₉₀ /min/g, wet liver
Experiment 1			
Control (Basal)	46,300 ± 2,900 ^a	—	—
2.58% DAC*5	47,300 ± 5,200 ^a	—	—
3.36% Glu*6	43,800 ± 2,200 ^a	—	—
12.91% DAC	61,300 ± 8,700 ^b	—	—
Experiment 2			
Control (Basal)	—	987 ± 75	0.040 ± 0.012 ^a
12.91% DAC	—	1,010 ± 108	0.187 ± 0.038 ^b
16.81% Glu	—	1,000 ± 132	0.126 ± 0.050 ^b

*1: Means ± S.D. (5 birds). Values in a column not followed by a common superscript letter are significantly different (P < 0.05).

*2: Glutamic-oxaloacetic transaminase.

*3: Glutamic-pyruvic transaminase.

*4: Xanthine dehydrogenase.

*5: Diammonium citrate.

*6: L-Glutamic acid.

中の百分率で示すと 3.36% Glu 区が最も低い値を示した。また、12.91% DAC 区は他の 3 区より有意に高く、対照区も 3.36% Glu 区に比し有意に高い値を示した。

肝臓中の RNA 含量を見ると、まず全肝臓中の量は NPN 添加区が有意に高くなった。肝臓 100g 当りの蛋白質量と同様に 3.36% Glu 区が最も低く、12.91% DAC 区が最も高く対照区および 3.36% Glu 区に比し有意に高い値を示した。また、2.58% DAC 区

は 3.36% Glu 区に比し有意に高い値を示した。体重 100g 当りに換算しても、12.91% DAC 区は対照区、3.36% Glu 区に比べ有意に高い値を示し、また 2.58% DAC 区も有意差はないが対照区、3.36% Glu 区に比べ高くなった。このように DAC の添加により RNA 含量が増加する傾向が認められた。

肝臓中の DNA 含量については、肝臓重量に比例して増加する傾向があったが、有意な差は認められず、また肝臓 1g 当りにしても体重 100g 当りにしても、

2.58% DAC 区が若干低い傾向はみられたが、有意差はなかった。

DNA 1 mg に対する RNA 量比は 2.58% DAC 区で DNA 含量が最も低かったので、逆に高い値を示し、また 12.91% DAC 区も対照区、3.36% Glu 区よりも高く、DAC 添加による増加がみられた。

同様のことが DNA 当りの蛋白質質量比でも云え、DAC 添加区が他の区よりも高かった。しかし RNA 当りの蛋白質質量比では、対照区が最も高く、3.36% Glu 区、12.91% DAC 区、2.58% DAC 区の順となり、DAC 添加区が低い値を示した。

3. 肝臓中の酵素活性

実験-1 および-2 の酵素活性値を Table 4 に示した。

GOT 活性値は実験-1 についてのみ測定したが、

12.91% DAC 添加区が他の 3 区に比べ、有意に高い値を示した。他の 3 区間には有意差は認められなかった。

GOT 活性値は実験-2 において対照区と 12.91% DAC、16.81% Glu 区の 3 区についてのみ測定したが、何れも有意の差は認められなかった。

XDH 活性値は実験-2 についてのみ測定したが、対照区と 12.91% DAC、16.81% Glu 添加区間に有意差が認められた。

4. 血漿尿酸量

実験-1 および-2 の尿酸量を Table 5 に示した。

実験-1 においては、対照、2.58% DAC および 3.36% Glu 区間には有意差は認められないが、12.91% DAC 区はこれら 3 区に対し、有意に高い値を示した。一方、実験-2 においては 12.91% DAC 区が対

Table 5. Concentrations of uric acid in plasma of chicks fed basal and experimental diets*1

	Uric acid mg/100ml plasma		Uric acid mg/100ml plasma
Experiment 1		Experiment 2	
Control (Basal)	3.10 ± 0.36 ^a	Control (Basal)	3.15 ± 0.30 ^a
2.58% DAC*2	3.29 ± 0.34 ^a	12.91% DAC	3.73 ± 0.28 ^b
3.36% Glu*3	2.95 ± 0.38 ^a	16.81% Glu	3.38 ± 0.57 ^a
12.91% DAC	3.86 ± 0.49 ^b		

*1: Means ± S.D. (5 birds). Values in a column not followed by a common superscript letter are significantly different. (P < 0.05)

*2: Diammonium citrate.

*3: L-Glutamic acid.

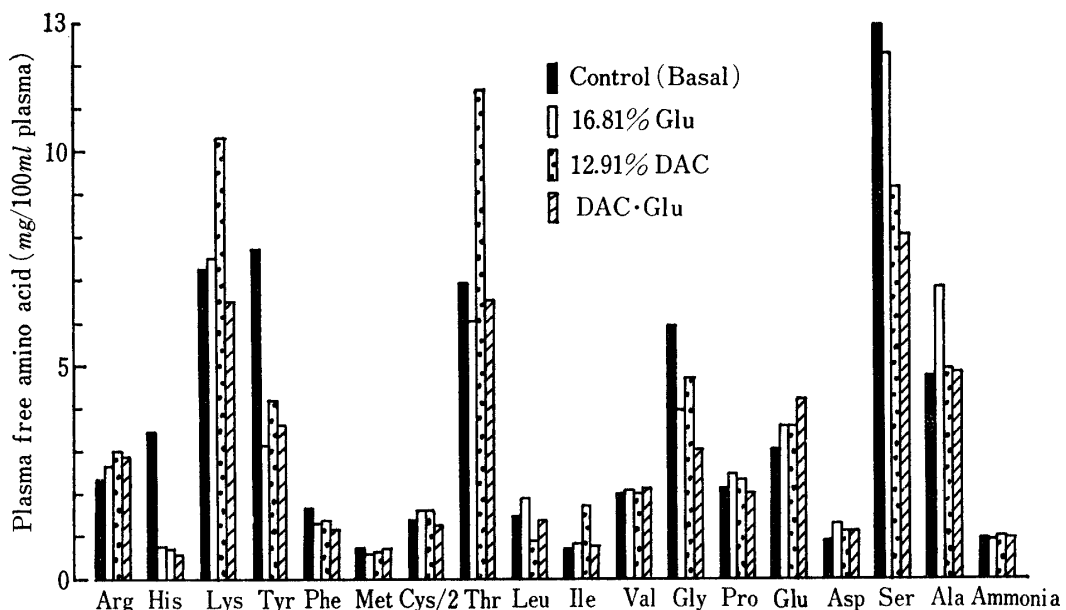


Fig. 3. Plasma free amino acid pattern of chicks fed basal and experimental diets (Expt. 2).

照区ならびに 16.81 % Glu 区に比べ有意に高い値を示し、16.81 % Glu 区は対照区よりやや高い値を示したが有意差は認められなかった。

5. 血漿中遊離アミノ酸量

実験-2 の対照区、12.91 % DAC、16.81 % Glu ならびに 6.46 % DAC と 8.40 % の Glu を混合し添加した DAC・Glu 区の 4 区についてのみ測定比較した。結果を Fig. 3 に示した。

血漿遊離アミノ酸の中で最も量的に多いものは対照区ではセリンであり、測定したアミノ酸の全量(65.56 mg/100 ml 血漿)の約 20 %を占め、次いでチロシン約 12 %, リジン 11 %, スレオニン 10.5 %, グリシン 9 %, アラニン 7 %の順となった。C. P. 換算 10 %相当量の 16.81 % Glu 添加区においても、最も多量に含まれたアミノ酸はセリンで、全アミノ酸量(58.85 mg/100 ml 血漿)の約 21 %を占めた。次いでリジン 13 %, アラニン 11 %, スレオニン 10 %, グリシン 7 %, グルタミン酸 6 %, チロシン 5 %の順であった。C. P. 換算 10 %相当量の 12.91 % DAC 添加区では、上述の対照区ならびに Glu 単独添加区と異なり、最多量含まれたアミノ酸はスレオニンで、全アミノ酸量(63.43 mg/100 ml 血漿)の 18 %を占めていた。次いで、リジン 16 %, セリン 14 %, グリシン 7 %, アラニン 7 %, チロシン 6.5 %, グルタミン酸 5.5 %の順となった。各 5 %の C. P. 相当量を含む DAC・Glu 区は、Glu および DAC 各単独添加区の両者の影響をうけた結果となった。最も多量含まれたアミノ酸はセリンで全アミノ酸量(51.10 mg/100 ml 血漿)の約 16 %を占め、次いでリジン 13 %, スレオニン 12.5 %, アラニン 9 %, グルタミン酸 8 %, チロシン 7 %, グリシン 6 %の順となった。

個々のアミノ酸について、対照区の含量と比較すると、まず Glu 単独添加区の 16.81 % Glu 区では、30 %以上の増加が認められたアミノ酸として、アスパラギン酸約 50 %, アラニン 40 %, ロイシン 30 %の増が認められ、30 %以上の減少が認められたものに、ヒスチジン約 80 %, チロシン 60 %, グリシン 35 %減が認められた。12.91 % DAC 添加区では増加が認められたものにイソロイシンの 140 %, スレオニンの 65 %, リジンの 40 %, アスパラギン酸の 35 %, アルギニンの 30 %があり、減少したものにヒスチジンの 80 %, チロシンの 45 %, ロイシンの 40 %, セリンの 30 %があった。DAC・Glu 区ではグルタミン酸の 40 %, アスパラギン酸の 30 %の増、ヒスチジンの 85 %, チロシンの 55 %, グリシンの 50 %, セリンの

35 %減が顕著であった。これらの中で NPN 添加により 3 区とも増加の傾向を示したものはアルギニン、グルタミン酸、アスパラギン酸の 3 者であり、アスパラギン酸は何れも 30 %以上の増加を示し、逆に減少を示したものは、ヒスチジン、チロシン、フェニルアラニン、メチオニン、グリシン、セリンがあり、ヒスチジンは何れも約 80 %の減、チロシンは 45 %以上の減を示した。

考 察

基礎飼料を必須アミノ酸の最低要求量水準で調製したのは、必須アミノ酸から非必須アミノ酸への窒素の転用を可及的に抑制することにより、NPN の利用度がより明確になると考えられからである。本研究では、NPN が雛の増体に対して有効に利用されていることが明らかになった。また、この条件下では、雛の増体に関して DAC と Glu の添加量が C. P. 10 %相当量までは、この両者間に有意の差は認められなかった。すなわち、両者は同程度の増体効果を示すものと云えよう。これは Scott ら¹⁴⁾ や Young ら²²⁾ が DAC の効果に関して認めたことと一致する結果である。また、Renner¹³⁾ や Sugahara と Ariyoshi¹⁶⁾ をはじめ多くの報告が、Glu はアスパラギン酸と共に NPN の中では優れた窒素源となりうるとしており、また DAC は他のセリン、グリシンやアラニンなどよりも優れているとしており、本実験からも DAC や Glu が、必須アミノ酸を窒素源とした飼料に添加されたときには良質の窒素源として雛の成長に対し有効に利用されると云えよう。DAC と Glu の添加量が C. P. 10 %相当量の場合に両者間に有意の差は認められなかったとは云え、DAC 区がやや大である。(実験-2, Table 2), これに対し、添加量が C. P. 2 %相当量の場合 (Fig. 1, Table 2 の実験-1) Glu 添加区の増体がやや大である。さらに、C. P. 15 %相当量の DAC 添加区の増体量 (実験-2, Table 2) は 10 %相当量の DAC 添加区の約 60 %に低下を来している。従って、この条件下では DAC の添加量が C. P. 10~15 %の間に最高の効率を示す添加量が存在するものと推定される。また、前報^{19,20)} の大豆蛋白質飼料に DAC を添加したとき C. P. 1.0 %相当量の添加が 0.5 %相当量の添加よりも増体がやや優れていた結果と併せて考察すると飼料中に含まれる窒素源の質あるいは量により利用可能な DAC の添加量の適量が、あるいは効率が決定されるものと推察される。C. P. 15 %相当量の DAC 添加区の増体減は、飼料摂

取量の低下がその主要因と考えられるが、この他に、Scott¹⁴⁾が結晶アミノ酸精製飼料中の10%のGlu全部をDACで置換すると20%の増体減をもたらしたと報告しているので、これから考えるならば、アミノ酸とDACの間に、ある一定のバランスが存在することも推察される。

本研究では雛の成長に対するDACの効果を調べると同時に窒素代謝の変化を調べる目的で肝臓の核酸量、GOT、GPT、XDH活性ならびに血漿尿酸量を調べた。

正常な状態において、哺乳動物では摂取した窒素の90%以上を尿素として排泄し、鳥類では尿酸として約65%、アンモニアとして約17%、尿素として約10%排泄することから鳥類におけるアンモニアの処理機構が哺乳動物と異なることは明らかであるが、いまだ十分解明されているわけではない¹⁾。

鳥類ではカルバミル燐酸シンセターゼ活性が弱くそのためにオルニチン・尿素サイクルはほとんど機能しないと考えられている。したがって、鳥類における主要なアンモニア固定反応はグルタミン酸からのグルタミンの合成、 α -ケトグルタル酸からのグルタミン酸の合成およびアスパラギン酸からのアスパラギンの合成の三者であり、固定されたアンモニアの多くはグリシン、プリンを経由して尿酸として排泄されると考えられている¹⁾。

本実験ではDACの添加量が2.58%から19.37%の範囲内ではDAC添加による顕著な成長促進作用が認められたので、DACの添加によって問題にすべきほどのアンモニア中毒は生じなかったと考えられる。また、DACおよびGlu添加によって血漿尿酸量が増加し、XDH活性も増加した事実は哺乳動物におけるオルニチン・尿素サイクルと同様に鳥類の尿酸合成系も適応的に変化することを示唆している。FeatherstonとScholz⁶⁾、HeviaとClifford⁷⁾、Karasawaら⁹⁾、Okumuraら¹²⁾の報告はこの見解を支持している。

肝臓GOT活性はDACを2.58%添加したときには対照区と変わらず、12.91%添加したときには明らかに増加した。一方、肝臓GPT活性はDACを12.91%添加したときにも対照区とほとんど変わらなかった。したがって、GOTはDACの添加量が多くなれば誘導されて代謝系に対するアスパラギン酸の供給を増加させると考えられるが、GPTについては雛肝にはもともと十分な活性が存在し、酵素の誘導を伴うことなく代謝系に対して十分なアラニンを供給

できるのではないかと考えられる。

組織のDNA含量は細胞数に比例し、RNA含量は蛋白質の合成量に比例することが知られている¹³⁾。

本実験では、肝臓のDNAおよびRNA含量はいずれもDAC添加によって増加した。これらの事実はDAC添加によって細胞分裂が促進され、それに伴って蛋白質の合成が促進されたことを示している。つまり、DAC無添加の区(対照区)では窒素不足のために正常な細胞分裂が阻害され、DACの添加によって細胞分裂が起こり、正常な成長が生じたと考えられる。また、RNA/DNA比が増加した事実は細胞1個あたりの蛋白質合成量もDAC添加によって増加したことを示している。

血漿中の遊離アミノ酸濃度を測定した結果(Fig. 3)、とくに目立った相違は対照区に比して、12.91% DAC添加区のリジン、スレオニン、イソロイシンの増加、16.81% Glu区のアラニンの増加であった。また減少が目立ったものはヒスチジン、チロシン、グリシン、セリンで、これらのアミノ酸は、NPN添加の3区共低下を示した。

市原ら⁸⁾はシロネズミに必須アミノ酸飼料を与え、アンモニウム塩の各種を添加し給与すると、非必須アミノ酸を加えた対照に比して、全て、セリン、グリシンが著しく低下し、次いでスレオニン、アラニンが低下していることを報告している。また桐山ら¹⁰⁾は、同じく必須アミノ酸飼料にDACとGluを添加して給与したシロネズミでは、アラニンの低下が認められなかったことを報告している。またDAC含有飼料では非必須アミノ酸(NEAA)を含む対照区よりスレオニン、バリン、イソロイシン等の必須アミノ酸(EAA)濃度が常に低い傾向を示し、塩基性アミノ酸のリジン、ヒスチジン、アルギニンなどで高い傾向を示したといっている。

これらシロネズミの場合と本実験では条件の異なる点もあるが、前報²⁰⁾の結果とも併せて考察すると、シロネズミと雛とでは若干パターンが異なる点がある。ことに塩基性アミノ酸の挙動が異なる傾向があり、今後この点についてはなお検討する必要があると考えられる。

要 約

必須アミノ酸混合物を唯一の窒素源とした基礎飼料に、非蛋白態窒素源としてクエン酸二アンモニウム(DAC)とL-グルタミン酸(Glu)を添加したときの、白色レグホン雄雛の成育に対する効果について検

討するため2回の実験を行なった。実験期間は、実験-1では15日令から27日令までの12日間、実験-2では18日令から29日令までの15日間である。その結果は次の通りである。

1. 実験-1, -2を通じて基礎飼料にDACおよびGluを単独にあるいは両者を混合して添加すると対照の基礎飼料給与区に比して有意に増体量の増加をもたらした。

実験-1では、12.91% DAC (10%粗蛋白質量に相当) 単独添加区の増体量が、他の2.58% DAC (2% C.P.) および3.36% Glu (2% C.P.) の両非蛋白態窒素添加区よりも大であった。

実験-2では、6.46% DAC (5% C.P.) と8.42% Glu (5% C.P.) の混合添加区の増体がDAC 6.46% (5% C.P.), 12.91% (10% C.P.), 19.37% (15% C.P.) およびGluの16.81% (10% C.P.) 各単独添加区の増体に比して大であり、19.37% DAC添加区の増体量は他の非蛋白態窒素添加による増体量に比べ、有意に低した。

2. 飼料摂取量、飼料効率は非蛋白態窒素の添加により高くなり、また肝臓重、肝臓中の蛋白質量、RNAおよびDNA量、GOT、GPTおよびXDH活性、さらに血漿尿酸量が増加した。

3. 血漿中の遊離アミノ酸濃度を測定した結果、対照の基礎飼料給与区に比して、12.91% DAC単独添加区ではイソロイミン、スレオニン、リジンの増加、ヒスチジン、チロシンおよびロイシンの低下が顕著であった。16.81% Glu単独添加区では、アスパラギン酸、アラニンの増加、ヒスチジン、チロシン、グリシンの低下が大であった。DACとGlu両者を添加した区ではグルタミン酸の増加、ヒスチジン、チロシン、グリシン、セリンの減少が大であった。

文 献

- 1) Brown, G. W. Jr.: Nitrogen metabolism of birds. In Campbell, J. W. (ed.), *Comparative biochemistry nitrogen metabolism*, p. 711-793, Academic Press, London (1970)
- 2) Dean, W. H. and Scott, H. M.: The development of amino acid reference diet for the early growth of chicks, *Poultry Sci.*, **44**, 803-808 (1965)
- 3) Della-Corte, E. and Stirpe, F.: Regulation of xanthine dehydrogenase in chick liver. Further experiments on the effects of inosine, actinomycin D and other factors, *Biochem. J.*, **102**, 520-524 (1967)
- 4) Featherston, W. R., Bird, H. R. and Harper, A. E.: The effectiveness of different sources of nitrogen for the synthesis of non-essential amino acids, *Poultry Sci.*, **40**, 1401 (1961)
- 5) Featherston, W. R., Bird, H. R. and Harper, A. E.: Ability of the chick to utilize D- and excess L-indispensable amino acid nitrogen in the synthesis of dispensable amino acids, *J. Nutr.*, **78**, 95-100 (1962)
- 6) Featherston, W. R. and Scholz, R. W.: Changes in liver xanthine dehydrogenase and uric acid excretion in chicks during adaptation to a high protein diet, *J. Nutr.*, **95**, 393-398 (1968)
- 7) Hevia, P. and Clifford, A. J.: Protein intake, uric acid metabolism and protein efficiency ratio in growing chicks, *J. Nutr.*, **107**, 959-964 (1977)
- 8) 市原百合子・桐山修八・吉田昭: シロネズミにおけるアンモニウム塩の利用(I)成長速度、肝トランスアミナーゼ活性および血漿アミノ酸パターンにおよぼす影響。栄養と食糧, **23**, 526-531 (1970)
- 9) Karasawa, Y., Tasaki, I., Yokota, H. and Shibata, F.: Comparative effect of intravenously administered nitrogenous compounds on uric acid synthesis in chickens fed a 20% protein diet, *J. Nutr.*, **103**, 1208-1211 (1973)
- 10) 桐山修八・市原百合子・吉田昭: 非必須アミノ酸単独添加が血漿アミノ酸濃度におよぼす影響。栄養と食糧, **24**, 336-344 (1971)
- 11) Munro, H. N.: Evolution of protein metabolism in mammals. In Munro, H. N. (ed.), *Mammalian protein metabolism*, Vol. 3, p. 133-182, Academic Press, New York (1969)
- 12) Okumura, J. I., Karasawa, Y. and Tasaki, I.: Effect of dietary protein level on xanthine dehydrogenase and glutaminase activities in liver and kidney of growing chicks, *Jap. J. Zootech. Sci.*, **44**, 122-124 (1973)
- 13) Renner, R.: Effectiveness of various sources of nonessential nitrogen in promoting growth of chicks fed carbohydrate-containing and "carbohydrate-free" diets, *J. Nutr.*, **98**, 297-302 (1969)
- 14) Scott, H. M., Dean, W. F. and Smith, R. E.: Studies on the non-specific nitrogen requirement of chicks fed a crystalline amino acid diet, *Poultry Sci.*, **42**, 1305 (1963)
- 15) Strittmatter, C. F.: Studies on avian xanthine dehydrogenases. Properties and

- patterns of appearance during development. *J. Biol. Chem.*, **240**, 2557-2564 (1965)
- 16) Sugahara, M. and Ariyoshi, S.: The nutritional value of the individual nonessential amino acid as the nitrogen source in the chick nutrition. *Agr. Biol. Chem.*, **31**, 1270-1275 (1967)
- 17) 富田裕一郎・林 国興・本坊敏郎：自然換羽鶏における換羽，産卵，肝臓中の酵素活性および血清無機成分に及ぼすクエン酸の影響。鹿大農学術報告，**No. 27**，165-170 (1977)
- 18) 富田裕一郎・本坊敏郎・林国興：強制換羽鶏の産卵，卵殻質および血中成分におよぼすクエン酸の影響。鹿大農学術報告，**No. 28**，141-147 (1978)
- 19) 富田裕一郎・武元和郎・林国興：雛の成育におよぼすクエン酸アンモニウムの影響。鹿大農学術報告，**No. 28**，149-154 (1978)
- 20) 富田裕一郎・武元和郎・荒武正則・林国興：雛の肝臓核酸，血漿アミノ酸におよぼすクエン酸アンモニウムの影響。鹿大農学術報告，**No. 28**，155-162 (1978)
- 21) 吉田実・星井 博・森本 宏：雛に対する精製飼料の調製（第4報）結晶アミノ酸飼料について。農化，**37**，187-191 (1963)
- 22) Young, R. J., Griffith, M., Desai, I. D. and Scott, M. L.: The response of laying hens fed low protein diets to glutamic acid and diammonium citrate. *Poultry Sci.*, **44**, 1428 (1965)

Summary

Two experiments were conducted with White Leghorn male chicks to examine the effects of diammonium citrate (DAC) and L-glutamic acid (Glu) added to the basal diet containing only essential amino acid mixture (9.1 g/100 g basal diet) as a source of non-protein nitrogen (NPN).

The experimental periods were 12 days, from 15 to 27 days of age in experiment 1; and 12 days from 18 to 29 days of age in experiment 2.

In the both experiments 1 and 2, the addition of DAC and/or of Glu to basal diet caused a significant increase in weight gain. In experiment 1, the addition of 12.91% DAC had a higher effect on growth than the addition of 2.58% DAC or 3.36% Glu. In experiment 2, addition of mixture of 6.46% DAC and 8.40% Glu was more effective than the addition of either DAC alone at the levels 6.46, 12.91 and 19.37% or 16.81% Glu alone. The addition of 19.37% DAC resulted in a significant decrease in weight gain.

A higher value for liver weights, liver protein contents, liver GOT, GPT and XDH activities as well as plasma uric acid levels was observed in those fed diets containing NPN.

Plasma free amino acid determination was conducted on chicks in the control, 12.91% DAC, 16.81% Glu and the mixture of NPN source groups in experiment 2. Addition of either DAC or Glu alone caused a decrease in both histidine and tyrosine, DAC alone further caused a decrease in leucine and an increase in the concentration of isoleucine, threonine and lysine. Addition of Glu alone also further caused a decrease in glycine and an increase in aspartic acid and alanine. The group fed a mixture of NPN source was found to have a higher concentration of glutamic acid, aspartic acid, and a lower concentration of histidine, glycine and serine than those of the control.