

# 雛の成育におよぼすクエン酸アンモニウムの影響

富田裕一郎・武元和郎\*・林 国興

(昭和52年8月29日 受理)

## The Effects of Diammonium Citrate on Growth in the Chicks

Yūichirō TOMITA, Kazuro TAKEMOTO and Kunioki HAYASHI

(Laboratory of Animal Nutrition)

### 緒 言

雛における非蛋白態窒素 (NPN) の利用に関する研究は数多くあるが、その結果は必ずしも一致しない。Sullivan と Bird<sup>16)</sup> はメチオニンを添加した飼料に尿素やクエン酸二アンモニウム (DAC) を加えると雛の成育が顕著に増すことを報告した。Fetherston ら<sup>4)</sup> も半精製飼料を与えた雛により尿素や DAC は有効に利用されるとし、Lee と Blair<sup>10)</sup> は必須アミノ酸を十分に含む精製飼料に尿素、DAC あるいはクエン酸三アンモニウムを添加すると雛の増体が有意に増すことを認めている。これに対し、Bice と Dean<sup>2)</sup> は給与飼料の蛋白質を尿素と置換えたとき、有意の増体減を認め、Machlin と Gordon<sup>12)</sup>、Moran ら<sup>14)</sup>、Balloun と Kazemi<sup>11)</sup>、Trakulchang と Balloun<sup>17)</sup> あるいは Kagan と Balloun<sup>7)</sup> は低蛋白質飼料に DAC や尿素を添加したとき、増体が劣ることを報告している。また、尿素や DAC を含む飼料では雛の窒素利用率が低下することも知られている<sup>10)</sup>。

このように雛がアンモニウム化合物を有効に利用するか否かは、飼料の蛋白質 (窒素) の種類、量、カロリーとの関係、アミノ酸の量、比などを含めた飼料の条件とアンモニウム化合物自体の毒性などにより左右されるようである。

本報では、大豆蛋白質を唯一の窒素源とした基礎飼料の蛋白質レベルを高および低レベルとして調製し、NPN として DAC を大豆蛋白質と置換、あるいは添加した実験飼料を雛に給与したときの、増体ならびに肝臓および血中成分への影響について検討した。肝臓成分としては粗脂肪、蛋白質含量の、血液成分とし

ては血漿中尿酸、アンモニウム量の比較検討を行ない、またヘマトクリット値についても検討した。

### 材 料 と 方 法

#### 1. 供試動物および飼養条件

供試動物としては白色レグホン産卵鶏の初生雄雛を用い、電熱金網バッテリーを利用して保温育雛した。

飼料は試験開始直前に調製し、試験期間中冷蔵庫中に貯蔵した。実験-1 および-2 の基礎飼料と各試験飼料組成を Table 1 に示した。実験-1 では粗蛋白質 (C.P.) を 20% 含む基礎飼料-1 と 16% 含む 16S 区は大豆蛋白質のみを唯一の蛋白質源とし、また C.P. 換算 2 および 4% 相当の DAC で大豆蛋白質を置き換え、C.P. 20% を含む 18S+2D と 16S+4D 区の 4 試料を調製した。実験-2 では大豆蛋白質のみを蛋白質源とし、C.P. 10% の基礎飼料-2 とこれに C.P. 換算 0.5%、1.0% および 1.5% 相当の 0.65% DAC、1.29% および 1.94% の DAC を添加した 0.65% DAC、1.29% DAC および 1.94% DAC 区の 4 試料を調製した。

実験-1. 孵化 2 日後体重の近似した雛 80 羽を選抜し、20 羽ずつの 4 区に分け、基礎飼料-1 を与える対照区、DAC を C.P. 換算 2% および 4% 含む 18S+2D 区および 16S+4D 区、大豆蛋白質のみを C.P. 16% 含む 16S の 4 区とし、28 日間給与した。

実験-2. 市販育雛用飼料を孵化後 1 週間、続いて C.P. 10% 含有の基礎飼料-2 を 5 日間給与し、予備飼育後、体重の近似する 40 羽を選抜し、1 群 5 羽、1 区 2 群の 4 区に分け、対照区 (基礎飼料-2 給与区)、基礎飼料-2 に DAC を添加した 0.65% DAC、1.29% DAC および 1.94% DAC の 3 試験飼料給与区の 4 区とし、13 日令より 28 日令までの 15 日間試験した。

#### 2. 測定項目および方法

本研究は昭和51年度西日本畜産学会大会 (第27回)、那覇市、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.

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

	Experiment 1				Experiment 2			
	Basal-1 (Control)	18S+2D	16S+4D	16S	Basal-2 (Control)	0.65% DAC	1.29% DAC	1.94% DAC
Isolated soy protein*1	24.70 (20)*3	22.22 (18)	19.75 (16)	19.75 (16)	12.35*2 (10)	12.35 (10)	12.35 (10)	12.35 (10)
Diammonium citrate	—	2.58 (2)*3	5.16 (4)	—	—	0.65 (0.5)	1.29 (1.0)	1.94 (1.5)
Sucrose	10.00	“	“	“	30.00	“	“	“
Cellulose	3.00	“	“	“	3.00	“	“	“
Soy bean oil	4.00*4	“	“	“	5.00*5	“	“	“
Mineral mix.*6	5.00	“	“	“	6.00	“	“	“
Vitamin mix.*7	2.00	“	“	“	2.00	“	“	“
Choline-HCl	0.40	“	“	“	0.40	“	“	“
Corn starch		made to 100				made to 100		

\*1: containing 81% of crude protein.

\*2: mixed 2.4% DL-methionine and 1.8% Glycine.

\*3: Values in parentheses indicated % protein equivalent.

\*4: mixed one part of liver oil with four part of soy bean oil.

\*5: dissolved in soy bean oil; (per kg diet) Vitamin A 10,000 IU; Vitamin D<sub>3</sub>, 2,000 IU and  $\alpha$ -Tocopheryl acetate, 10 mg.

\*6: provided the following; (g/kg diet) CaCO<sub>3</sub>, 23.0; CaHPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, 7.14; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, 15.48; NaCl, 7.2; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 6.0; FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0.63; MnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0.28; ZnCO<sub>3</sub>, 0.24; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O, 0.015; KI, 0.012; NaMoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, 0.0025.

\*7: provided the following: (mg/kg diet) thiamine-HCl, 11.8; riboflavin, 11.8; niacin, 58.8; Ca-pantothenate, 47.0; pyridine-HCl, 5.8; menadione, 1.2; biotin, 0.2; folic acid, 0.4; cyanocobalamin, 0.04; inositol, 235.2; ascorbic acid, 117.6; lactose to 2% of diet.

“: Same as basal.

(1) 体重. 実験-1 では1週間毎に, 実験-2 では3日毎に測定した. いずれも測定2時間前に飼料箱を除いた.

(2) 飼料摂取量. 自由摂取とし, 毎日13時に残食量を測定し, 給与量との差をもって各区の摂取量とした.

(3) 肝臓成分の測定. 試験終了後ただちに肝臓を摘出し, 秤量, 分析に供した. 水分含量および粗脂肪量は常法に従い, 蛋白質量はLowryらの方法<sup>14)</sup>に従い測定した.

(4) 血液成分の測定. 血液採取2時間前に飼料箱を除いた雛から, ヘパリン溶液で湿らせた注射筒で, 心臓より採血した. 血漿は血液を遠心分離(300 r.p.m., 15分間)して得た.

ヘマトクリット値の測定はヘマトクリット管により<sup>15)</sup>, また血中アンモニアの定量はコンウェイ・ユニットを用いる微量拡散法<sup>15)</sup>によった. 血漿中尿酸量の定量は本間と佐藤<sup>5)</sup>の方法に従い行った.

## 結 果

### 1. 生育および飼料摂取

実験-1 および-2 の増体曲線を Fig. 1 に, 1日1羽当りの飼料摂取量, 増体量, 飼料効率および蛋白効率を Table 2 にまとめて示した.

### (1) 実験-1

実験-1 は C.P. %を20%としたが, 雛の發育は全期を通じて対照の基礎飼料-1 を給与した区が終始優れ, 次いで DAC を C.P. 換算2%含む 18S+2D区, 次に DAC を加えず C.P. 16%の大豆蛋白質のみを含む 16S区の順となり, C.P. 換算4%相当量の DAC を含む 16S+4D区が最も劣る結果を得た. この増体量 (Table 2) は対照区に比べ, 他の3区は有意に劣り, また 16S+4D区は他の区に比べ有意に減少した.

飼料摂取量は 16S区が最も大で, 対照区に比べ約2.2%増, 18S+2D区は2.7%減となり, 16S+4D区が最も少なく5.4%減となった. 従って, 飼料効率の最も高いものは対照区であり, 16S+4D区が低い値を示す増体量の場合の順位と同傾向を示した. しかし乍ら, 蛋白効率は 16S が最も高く対照区に比べ約5%大で 16S+4D区は16.4%低い値を示した.

### (2) 実験-2

実験-2 では対照の基礎飼料-2 の C.P. %を10%としたが, 全期を通じ増体は対照区が優り, 試験開始後12日までは0.65% DAC および1.29% DAC 添加区はほぼ同程度の増体を示したが, その後の3日間の増体は1.29% DAC 区が大となり, 対照区との間に有意の差は認められなかった. 1.94% DAC 添

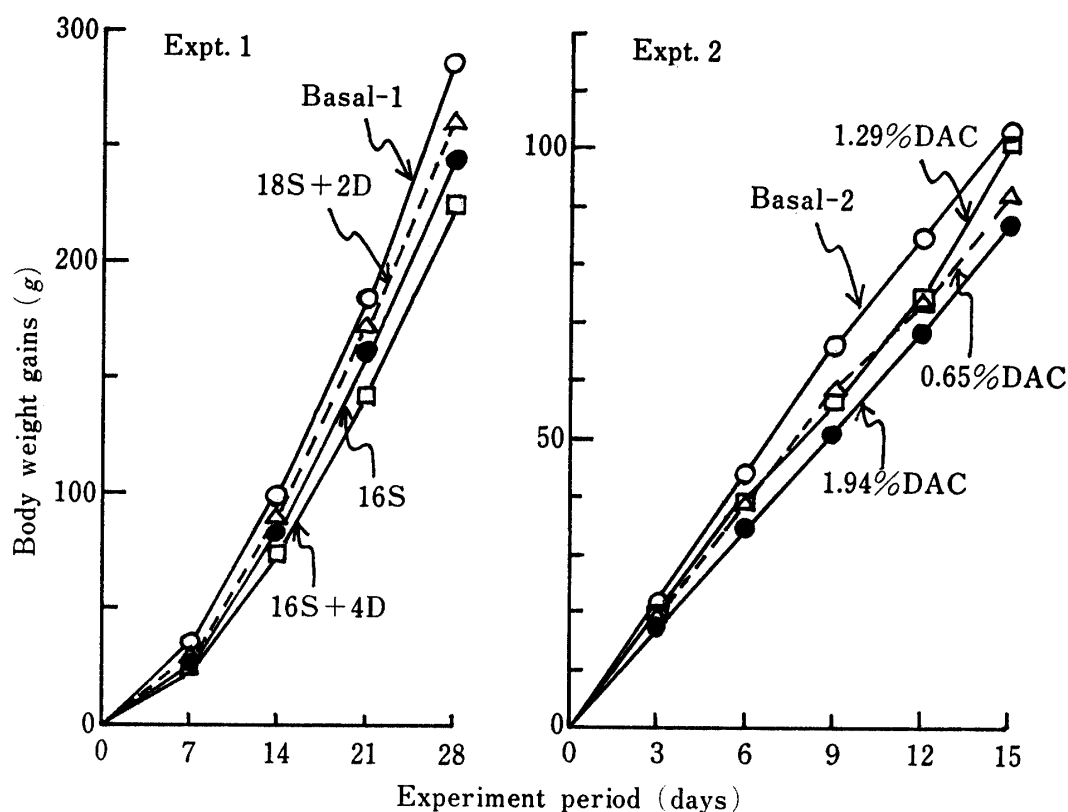


Fig. 1. Growth curves of chicks fed basal and experimental diets.  
S: Isolated soy bean protein, D: DAC

Table 2. Feed consumption, 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
<b>Experiment 1</b>				
Basal-1	18.6	10.18 ± 0.95 <sup>a</sup>	54.7	2.74
18S+2D	18.1	9.15 ± 0.92 <sup>b</sup>	50.6	2.53
16S+4D	17.6	8.05 ± 0.66 <sup>c</sup>	45.7	2.29
16S	19.0	8.77 ± 0.64 <sup>d</sup>	46.2	2.88
<b>Experiment 2</b>				
Basal-2	18.3	6.90 ± 0.56 <sup>a</sup>	37.7	3.77
0.65% DAC*2	17.2	6.21 ± 0.61 <sup>b</sup>	36.1	3.44
1.29% DAC	18.9	6.77 ± 0.82 <sup>ab</sup>	35.8	3.26
1.94% DAC	16.3	5.81 ± 1.21 <sup>b</sup>	35.6	3.10

\*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

加区は最も劣ったが、DAC 添加の3区間には有意差は認められず、対照区との間に0.65% DAC区とともに有意差が認められた。またDAC添加区の標準偏差はDAC添加量が増すと共に大となる傾向が認められた。

飼料摂取量は1.29% DAC添加区が最も大で対照区に比べ約3%大で、1.94% DAC添加区は11%減

となったが、飼料効率はDAC添加量が増すと共に、小となる傾向が認められ、また蛋白効率も同様の傾向を示した。

実験-1 および-2ともに増体率の変化をFig. 2に示したが、これを見ると明らかのように、実験開始初期すなわちDACを与えると対照区に比べ増体が低下することが明らかで、後回復するが、回復の程度は

Table 3. Hematocrit value, plasma uric acid, blood ammonia, liver-fat and liver-protein of chicks fed basal and experimental diets\*1

	Hematocrit	Uric acid (mg/100 ml plasma)	Ammonia (mg/100 ml plasma)	Liver Wt. (g)	Liver crude fat (%)	Liver protein (%)
Experiment 1						
Basal-1	29.2±2.2(10)	2.6±0.7 <sup>a</sup> (5)	1.62±0.14 (5)			
18S+2D	29.2±1.3(10)	3.8±0.7 <sup>b</sup> (5)	1.77±0.06 (5)			
16S+4D	29.4±1.6(8)	4.2±0.8 <sup>b</sup> (5)	1.59±0.06 (5)			
16S	—	2.3±0.4 <sup>a</sup> (5)	1.64±0.08 (5)			
Experiment 2						
Basal-2	29.8±1.3(10)	3.1±0.5 <sup>a</sup> (5)	1.21±0.02 <sup>a</sup> (5)	6.98±1.33(9)	3.12±0.85(9)	17.7±0.92(9)
0.65% DAC*4	30.0±1.2(10)	3.9±0.7 <sup>ab</sup> (5)	1.30±0.05 <sup>b</sup> (5)	7.23±0.63(8)	3.25±1.04(8)	18.3±0.68(8)
1.29% DAC	29.8±2.2(10)	3.9±0.8 <sup>ab</sup> (5)	1.24±0.06 <sup>ab</sup> (5)	7.45±1.44(8)	3.00±0.28(8)	18.2±1.41(8)
1.94% DAC	29.3±1.3(10)	4.3±0.8 <sup>b</sup> (5)	1.31±0.05 <sup>b</sup> (5)	6.40±0.99(10)	3.06±0.64(10)	18.9±1.22(10)

\*1: Means±S.D.

\*2: Values in parentheses indicated the number of chicks.

\*3: Values in a column not followed by a common superscript letter, are significantly different. (P&lt;0.05)

\*4: Diammonium citrate.

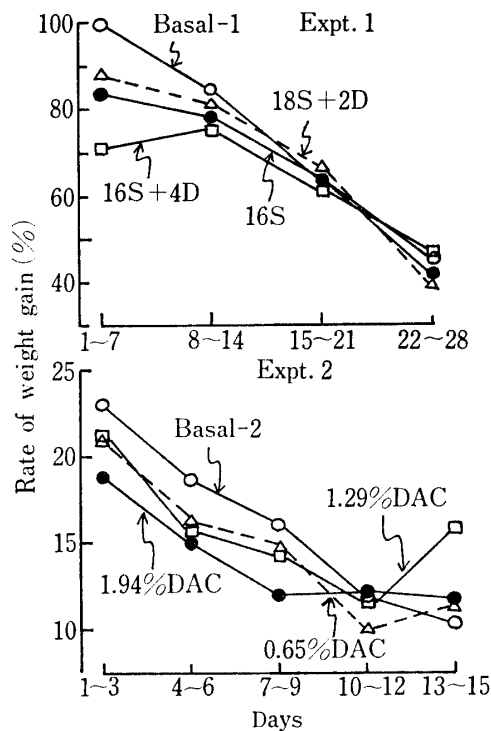


Fig. 2. Rate of weight gain in every seven-days-period in experiment 1, and in every three-days-period in experiment 2.

S: Isolated soy bean protein, D: DAC

DAC 添加量の異なる区が遅くなる傾向がある。

## 2. 血中ヘマトクリット値, 尿酸量およびアンモニヤ量

これらの結果を Table 3 に示した。ヘマトクリット値は, 実験-1 および-2 とともに各区間に有意差は認め

られなかった。

血漿尿酸量は実験-1, -2 とともに DAC 含有区は含まない区に比べ, 有意に高くなった。DAC 添加区間内では添加量の増すに従い, 尿酸量もやや増加する傾向があるが, これらの区間には有意差は認められなかった。

血中アンモニヤは実験-1 においては有意差は認められなかったが, 実験-2 においては対照区と 0.65% および 1.94% DAC 添加区間に有意差が認められた。しかし, 1.29% DAC 区は対照区との間には差が認められず, Fig. 1 の増体曲線および Fig. 2 の増体率の変化からも明らかなように試験の最終期の3日間における増体が大であったことと関連があるものと考えられる。

## 3. 肝臓脂肪および蛋白質量

Table 3 にこの測定値を示した。

肝臓重量, 粗脂肪量および蛋白質量共に DAC 添加区と対照区間に有意差は認められなかった。蛋白質量は DAC の添加によりやや増す傾向が認められたが, 重量および脂肪量では必ずしもその様な傾向は認められなかった。

## 考 察

実験-1 において, C. P. 2% および 4% 相当量の DAC を大豆蛋白質と置換えた 18S+2D, と 16S+4D 区は対照の基礎飼料-1 と同一蛋白質含量 C. P. 20% を含有するが, 試験期間を通じ終始生育が劣り, しかも, 16S+4D 区の1週間目の体重は対照区に比し, 5%水準で有意に劣り, また, 3週令まで 16S+

4S区は16S区よりも有意に体重が劣ることが認められた。しかし乍ら、4週令時の体重は対照区以外の3者間には有意差は認められなくなった。これは雛のDACに対する適応には個体差が大きく影響していることを示すと考えられる。全期間に亘る増体量で見ると16S+4D区は他区に比し有意に劣る結果をえたが、Fig. 2の増体率は初期に特に劣り、飼料摂取量はこの期間(1~7日目まで)において対照区に比し、86%と約14%減を示した。その後、徐々に回復し、8~14日目までは93%、15~21日目間では96%、最終の22~28日目間では97%となり、これに従い増体もやや大となり、この初期における摂取量の低下が増体に大きく影響していることが推察される。これは実験-2においても同様の傾向が認められた。この現象すなわち、一般にアンモニウム塩を与えると最初の1日は体重が低下し、まもなく回復するが、DACの添加量を増すと回復が遅れ、この最初の体重減少が全期間の体重増加量を対照区より低くしている主たる理由であることを市原ら<sup>9)</sup>はシロネズミを用いた実験で明らかにしており、これと一致することと云えよう。

Youngら<sup>18)</sup>は産卵鶏で、蛋白質含量を13%に下げ、C.P. 3%相当量のDACを添加し、C.P. 16%にした飼料を給与しても、C.P. 16%の蛋白質飼料給与時の産卵成績と同程度の成績を得たことを報告し、またChavezら<sup>9)</sup>も12.75%蛋白質飼料を用い、DACやリン酸二アンモニウムが利用されたことを報告している。しかし、必須アミノ酸のバランスが良い飼料であることとしており、従って雛でなく成鶏ではC.P. 16%以下でも利用されうると考えられる。

実験-2では成長の早い雛の時期であるので、含まれる蛋白質の利用効率が大きであるように生物価の高い、すなわち蛋白質レベルを落とし、C.P. 10%の大豆蛋白質飼料を基礎飼料として試験した。試験期間内ではDAC添加によっても、対照区に比べて増体が大となる結果は得られなかったが、1.0% DAC添加区の増体は対照区に近い値を示した。増体率の変化をFig. 2に示しているが、対照区の示すように日令が進むに従い増体率が下向をたどるのが普通であるので、DAC添加区は実験-1同様初期の成長の低下が後半回復し、対照区の増体率に近い値を示したと推察される。しかし、13~15日目の3日間にはDAC添加区の増体率は対照区より高い値を示しており、ことに1.29% DAC区は、上昇が大である。この上昇が以後も継続することは、通常増体率の変化から考えられないので、また、下降をたどるはずである。従っ

て、雛がDAC添加飼料に順馳され利用率が高まるとは必ずしも云い難く、初期の成長の遅れが、飼料摂取量増に伴ない後半回復したと考えられる。

これらの結果はBiceとDean<sup>2)</sup>をはじめ多くのDACが雛に利用され難いとする結果と同様である<sup>1, 7, 8, 12, 14, 17)</sup>。

ヘマトクリット値に関して、NPNを与えたときの影響について検討した報告は少なく、Kornegayら<sup>9)</sup>が、育成豚の飼料中に尿素を添加すると有意に低下することを報告しているが、本実験においては影響は認められなかった。

DACの添加により血漿尿酸量は有意に増したが、これはMarchとBiely<sup>13)</sup>が尿素の添加量を増すに従い、血清尿酸量が有意に増加したとする報告と一致する。家禽の生体内における窒素の排泄は尿素でなく尿酸の形で行なわれるが、DACの添加により血中尿酸の増加は、DACの分解が行なわれ、アンモニア解毒の最終産物として生成されたことによると考えられる。血中のアンモニア量は実験-2において、DAC添加区では1.29% DAC区を除き、他の2区では有意に高い値が得られたが、この場合は増体がやや劣る結果を得たことと関連があるのか不明であるが検討を要する問題であろう。

## 要 約

雛に対する非蛋白態窒素化合物であるクエン酸二アンモニウム(DAC)の影響について検討した。

蛋白質含量20%相当量の大豆蛋白質を含む基礎飼料の蛋白質の2あるいは4%をDACで置換すると、増体は有意に減少し、血漿尿酸量は有意に増加した。10%の蛋白質量を含む基礎飼料に0.65%(0.5%粗蛋白質=C.P.に相当)あるいは1.94%(1.5% C.P.) DACを添加すると成育は有意に劣るが、1.29%(1.0% C.P.) DAC添加では有意差は認められなかった。

DACを添加しても、ヘマトクリット、肝臓重量、粗脂肪量および蛋白質量には有意の変動は認められなかった。

大豆蛋白質を提供していただいた味の素(株)に感謝します。

## 文 献

- 1) Balloun, S. L. and Kazemi, R.: Growth inhibition of broilers by diammonium citrate. *Poultry Sci.*, **54**, 307-309 (1975)

- 2) Bice, C. M. and Dean, L. A.: Utilization of urea nitrogen by growing chicks. *Poultry Sci.*, **21**, 15-17 (1942)
- 3) Chavez, R., Thomas, J. M. and Reid, B. L.: The utilization of non-protein nitrogen by laying hens. *Poultry Sci.*, **45**, 547-553 (1966)
- 4) 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)
- 5) 本間運隆・佐藤孝二: 鶏の血漿, 排泄物及び臓器中の尿酸の定量に就いて. *日本獣医学雑誌*, **22**, 363-368 (1960)
- 6) 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)
- 7) Kagan, A. and Balloun, L.: L-Aspartic acid and urea supplementation of low-protein layer diets. *Brit. Poultry Sci.*, **17**, 371-377 (1976)
- 8) Kazemi, R. and Balloun, S. L.: Effect of urea and diammonium citrate on fecal components of chicken hens. *Poultry Sci.*, **51**, 1480-1481 (1972)
- 9) Kornegay, E. T., Mosanghini, V. and Snee, R. D.: Urea and amino acid supplementation of swine diets. *J. Nutr.*, **100**, 330-340 (1970)
- 10) Lee, D. J. W. and Blair, R.: Effects on chick growth of adding various nonprotein nitrogen sources or dried autoclaved poultry manure to diets containing crystalline essential amino acids. *Brit. Poultry Sci.*, **13**, 243-249 (1972)
- 11) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J.: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275 (1951)
- 12) Machlin, J. L. and Gordon, R. S.: Effect of protein level on the requirement of the chick for non-specific nitrogen, glycine and sulfur amino acids. *Poultry Sci.*, **36**, 1137 (1957)
- 13) March, B. E. and Biely, J.: Urea tolerance in growing and adult chickens. *Poultry Sci.*, **50**, 1977-1980 (1971)
- 14) Moran, E. T. Jr., Summers, J. D. and Pepper, W. F.: Effect of non-protein nitrogen supplementation of low protein rations on laying hen performance with a note on essential amino acid requirements. *Poultry Sci.*, **46**, 1134-1144 (1967)
- 15) 森本宏監修: 動物栄養試験法. p. 320-322, p. 438-439, 養賢堂 (1971)
- 16) Sullivan, T. W. and Bird, H. R.: Effect of quantity and source of dietary nitrogen on the utilization of the hydroxy analogues of methionine and glycine by chicks. *J. Nutr.*, **62**, 143-150 (1957)
- 17) Trakulchang, N. and Bolloun, L.: Non-protein nitrogen for growing chickens. *Poultry Sci.*, **54**, 591-594 (1975)
- 18) 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 male chicks, to investigate the effectiveness of diammonium citrate (DAC) as a source of non-protein nitrogen (NPN).

When 2 or 4% of the protein constituents of the basal diet, containing 20% protein equivalent was replaced by DAC in isolated soy protein, weight-gains were significantly depressed and plasma uric acid-levels were significantly increased. When the level of protein in the basal diet was reduced to 10%, and 0.65% (0.5% C.P.) or 1.94% DAC (1.5% C.P.) was added as source of NPN, there appeared significant depression in growth, while there was some increase in plasma uric acid and blood ammonia, but no difference from the control was brought forth by the addition of 1.29% DAC (1.0% C.P.). No significant effect was noted on hematocrit, weights, contents of crude fats and proteins in liver in the addition of DAC.