

鋅螯合胺基酸對荷蘭牛瘤胃性狀之影響⁽¹⁾

陳坤照⁽²⁾ 楊德威⁽²⁾ 廖宗文⁽²⁾

黃瓊芬⁽³⁾ 詹德芳⁽³⁾

收件日期：90 年 2 月 12 日；接受日期：90 年 7 月 4 日

摘 要

本試驗目的在評估熱季中乳牛日糧添加鋅螯合胺基酸對荷蘭乾乳牛瘤胃性狀之影響。試驗以 4 頭瘤胃瘻管乾乳牛分配於等蛋白及等能量的四個處理飼糧：(A) 對照組，(B) 添加鋅螯合甲硫胺酸 0.125% 組，(C) 添加鋅螯合離胺酸 0.1% 組，(D) 添加鋅螯合甲硫胺酸 0.125% 及鋅螯合離胺酸 0.1% 組。試驗以 4×4 拉丁方格設計，定期輪換每期 14 天，最後 3 天為採樣期。試驗結果顯示，添加鋅螯合胺基酸對瘤胃液之 pH 值、氨態氮及總揮發性脂肪酸濃度無影響。個別揮發性脂肪酸中之乙酸莫耳百分比及乙酸／丙酸比於 D 組顯著較其他三組 ($P < 0.05$) 為高，丙酸之莫耳百分比則以 D 組顯著較其他組 ($P < 0.05$) 為低，丁酸與戊酸之莫耳百分比仍以 A、B 組顯著高於 C、D 兩組 ($P < 0.05$)，對異丁酸及異戊酸則無顯著影響。故乳牛飼糧中同時添加鋅螯合甲硫胺酸及離胺酸，會增加瘤胃之乙酸莫耳百分比及乙酸／丙酸比。

關鍵詞：乳牛、鋅螯合胺基酸、瘤胃性狀。

緒 言

本省酪農業面臨加入 WTO 之衝擊，除了致力於降低生產成本外，亦需提高牛乳品質諸如提高乳蛋白質率，降低體細胞數等。目前為提高乳牛之生產效率，除增加未降解蛋白質之攝取外，尤應注重蛋白質之品質及到達小腸可吸收之胺基酸之量是否平衡。飼糧中添加保護甲硫胺酸可以提高乳產量 (Schingoethe *et al.*, 1988)，但 Munneke *et al.* (1991) 指出單獨添加甲硫胺酸雖增加產乳量，但無法提高乳蛋白質率，且一般認為甲硫胺酸扮演脂質生化合成過程中重要之甲基供應者之角色，因此與乳脂產量息息相關 (Lehninger *et al.*, 1993)。早期認為泌乳牛添加離胺酸可直線增加產乳量 (Polan *et al.*, 1991)，而離胺酸之供給亦為乳蛋白質合成之關鍵 (King *et al.*, 1991)。

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 1063 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所畜牧場。

(3) 國立中興大學畜產系。

同時添加保護甲硫胺酸及離胺酸可以提高產乳量、乳脂肪及乳蛋白質量等 (Robinson *et al.*, 1995, 1998; Rogers *et al.*, 1989)。Spears (1989) 指出鋅螯合甲硫胺酸於瘤胃中有較低的降解率，可增加仔牛氮蓄積能力。Kincaid and Cronrath (1993) 報告指出同時添加鋅螯合甲硫胺酸及離胺酸顯著提高乳脂量及乳蛋白質率，且血液及乳中鋅之含量沒有影響，而作者以尼龍袋法追蹤結果發現鋅螯合甲硫胺酸在瘤胃有溶解現象。因此，本試驗旨在探討飼糧添加鋅螯合胺基酸對瘤胃性狀之影響，以期更進一步作為提高乳牛生產能力。

材料與方法

I. 試驗動物與飼養管理

採用四頭裝置瘤胃瘻管之荷蘭乾乳牛，其平均體重約 600 公斤，個別飼養於面積 25 平方公尺的水泥地欄舍，設有固定架及自動飲水器等。調配等蛋白及等能量四種飼糧（如表 1）。防止乾乳牛過度肥胖，採用泌乳牛飼糧精粗料比為 1：1 之配方，依體重 1.5% 之乾物量調配成完全混合飼糧，每日分兩次（0900 及 2100）給予。

表 1. 試驗完全混合日糧之組成及營養成分

Table 1. Ingredients and nutrient composition of the experimental total mixed ration

Ingredients	Dietary treatment ¹			
	A	B	C	D
	% of DM			
Corn silage	35.00	35.00	35.00	35.00
Bermuda grass hay	15.00	15.00	15.00	15.00
Corn	28.90	28.77	28.80	28.67
Soybean meal	17.80	17.80	17.80	17.80
Dicalcium phosphate	1.10	1.10	1.10	1.10
Limestone	0.60	0.60	0.60	0.60
Salt	0.50	0.50	0.50	0.50
Sodium bicarbonate	1.00	1.00	1.00	1.00
Premix ²	0.10	0.10	0.10	0.10
Zinpro ³	—	0.13	—	0.13
Lyzin ⁴	—	—	0.10	0.10
Total	100.00	100.00	100.00	100.00
Analyzed value				
DM, %	65.40	64.80	65.20	65.00
CP, %	15.40	15.60	15.30	15.70
NDF, %	38.00	37.50	37.20	38.50
ADF, %	20.20	19.80	20.50	20.10
Ca, %	0.68	0.65	0.68	0.70
P, %	0.40	0.38	0.35	0.42

¹ A : control ; B : control+Met 0.125% ; C : control+Lys 0.1% ; D : control+Met 0.125%+Lys 0.1%.

² Each kilogram of premix contain : Vit. A, 10,000,000 IU ; Vit. E, 70,000 IU ; Vit. D₃, 1,600,000 IU ; Fe, 50g ; Cu, 10g ; Zn, 40g ; Mn, 40g ; I, 0.5g ; Se, 0.1g ; Co, 0.1g.

³ Zinpro 100® (Zinpro Corporation, Edina, MN. A) contains 10% Zn and 20% Met.

⁴ Lyzin 100® (Zinpro Corporation) contains 10% Zn and 25% Lys.

II. 試驗方法

以 4×4 拉丁方格設計。每期 14 日，每期之第 12~14 日連續三日於早上餵飼後 0、3、6、9、12 小時採集瘤胃液（採樣 5 次／日）。以 250 ml 採樣瓶，直接由瘻管伸入瘤胃腹囊底部，稍加攪拌後，採集瘤胃液約 200 ml，隨即以酸鹼度測定器（WPA Linton Cambridge Model CD 720）測定其 pH 值。再以四層紗布過濾瘤胃液後，取 100 ml 濾液以 25% H₂SO₄ 加入其中，充分混合使瘤胃液酸化至 pH 2 以下以殺死瘤胃微生物並固定氮態氮及揮發性脂肪酸，再分裝成四瓶保存於 -18℃ 冷凍櫃中，供日後分析之用。

III. 測定項目及方法

- (i) 飼糧採集及乾物質 (dry matter; DM) 測定：每週採集飼糧樣品各一公斤，以 58℃、72 小時通風乾燥測定乾物質，並以 1 mm 孔徑之篩網粉碎後，再置空氣中二日。冷凍貯存於 -18℃ 冷凍櫃以供日後分析鈣、磷、粗蛋白質、中性洗劑纖維及酸性洗劑纖維。
- (ii) 粗蛋白質 (crude protein; CP)：依 AOAC (1984) 之 Kjeldahl method 測定之。
- (iii) 中性洗劑纖維 (neutral detergent fiber; NDF)、酸性洗劑纖維 (acid detergent fiber; ADF)：依 Van Soest *et al.* (1991) 的方法測定。
- (iv) 瘤胃液氮態氮 (ammonia nitrogen; NH₃-N)：依 AOAC (1984) 之 Kjeldahl method (凱氏法) 硼酸接收法分析。瘤胃液解凍後取 3 ml 於粗蛋白分解瓶中，置於凱氏蒸餾裝置中進行六分鐘蒸餾，以含有指示劑之硼酸接收液接收氮態氮，此時接收液將由紫紅色轉為青綠色。並以 0.01 N H₂SO₄ 滴定之，再將由青綠色還原成紫紅色。依以下之公式計算即可得氮態氮之濃度：

$$\text{氮態氮濃度 (mg/dL)} = \frac{(\text{樣品滴定量} - \text{空白組滴定量}) \times 14.01 \times 0.01N \times 100}{3 \text{ ml}}$$

（空白組以蒸餾水 3 ml，測其中所含氮態氮濃度）

- (v) 揮發性脂肪酸之測定：依據 Erwin *et al.* (1961) 方法，使用氣相色層分析儀 (G-5000A Gas Chromatography, Hitachi, Japan) 分析之。樣品前處理，解凍後瘤胃液以遠心分離機 (KS-5000 Kubota, Japan) 2800 r.p.m. 離心 20 分鐘，取上清液 0.6 μl 注入氣相色層分析儀中，經由積分儀 (D-2500 Chromato-Integrator, Hitachi, Japan) 尖峰面積與標準液之數值相比較，可得揮發性脂肪酸之乙酸、丙酸、丁酸、異丁酸、戊酸、異戊酸濃度 (mM)；而將單一揮發性脂肪酸除以總揮發性脂肪酸，則為該種揮發性脂肪酸之莫耳百分比 (mol/100 mol)。
- (vi) 統計分析：本試驗所得數據以統計分析套裝程式 (SAS, 1997) 進行統計分析，並使用一般線性模式程序 (General Linear Model Procedure; GLM) 進行變方分析，再以 Least square mean 估計並比較各處理間平均值差異之顯著性。

結果與討論

本試驗添加鋅螯合胺基酸之瘤胃液 pH 平均值，於四處理組間分別為 6.51、6.52、6.58 及 6.54 (表 2)；且 pH 值在餵飼後不同時間點 (0、3、6、9、12 h) 之變化列於表 3。餵飼後 3 小時之 pH 值最低，而後隨著時間而上升。試驗之餵飼時間為上午 9:00 及下午 9:00，顯示乾乳牛在空腹情況下瘤胃液 pH 值最高。各處理組之瘤胃液 pH 值無顯著差異，且試驗期間之 pH 值皆在於正常範圍內 (6.2~6.8)，顯示添加螯合胺基酸並不影響乾乳牛瘤胃之 pH 值。

表 2. 飼糧中添加鋅螯合胺基酸對瘤胃廢管牛瘤胃 pH 值、氨態氮及揮發性脂肪酸濃度之影響

Table 2. Effects of dietary treatment with zinc chelated-amino acids on ruminal fluid pH value, $\text{NH}_3\text{-N}$, and VFAs concentration of cannulated cows

Item	Dietary treatment ¹				SE
	A	B	C	D	
pH	6.51	6.52	6.58	6.54	0.04
$\text{NH}_3\text{-N}$, (mg/dl)	19.93	20.02	19.17	18.94	1.23
Total VFA, mM/L	119.00	121.34	120.14	115.32	12.86
VFA, mol/100 mol	VFA, mol/100 mol				
Acetate (A)	62.35 ^b	62.76 ^b	64.04 ^{ab}	65.20 ^a	0.66
Propionate (P)	18.87 ^a	19.17 ^a	19.38 ^a	17.94 ^b	0.30
A : P	3.34 ^b	3.28 ^b	3.33 ^b	3.65 ^a	0.09
Butyrate	12.90 ^a	12.52 ^a	11.03 ^b	11.28 ^b	0.38
Isobutyrate	1.68	1.53	1.63	1.63	0.15
Valerate	1.48 ^a	1.37 ^{ab}	1.14 ^b	1.14 ^b	0.17
Isovalerate	2.71	2.66	2.79	2.80	0.09

¹ A : control ; B : control+Met 0.125% ; C : control+Lys 0.1% ; D: control+Met 0.125%+Lys 0.1%.^{a b c} Means with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

表 3. 飼糧添加鋅螯合胺基酸對廢管牛瘤胃液 pH 值變化之影響

Table 3. Effects of dietary zinc chelated-amino acids supplementation on ruminal fluid pH of cannulated cows

Hours postfeeding	Dietary treatment ¹				SE
	A	B	C	D	
	pH value				
0	6.62	6.59	6.69	6.66	0.04
3	6.36	6.38	6.44	6.36	0.05
6	6.38	6.41	6.45	6.48	0.04
9	6.54	6.54	6.62	6.51	0.04
12	6.64	6.65	6.73	6.67	0.03

¹ A : control ; B : control+Met 0.125% ; C : control+Lys 0.1% ; D: control+Met 0.125%+Lys 0.1%.

瘤胃液氨態氮濃度方面，四個處理分別為 19.93 mg/dL、20.02 mg/dL、19.17 mg/dL 及 18.94 mg/dL 各處理間皆無顯著差異，顯示添加鋅螯合胺基酸於瘤胃中不影響蛋白質降解程度。

本試驗所採用之保護型胺基酸為金屬螯合胺基酸 (metal chelated-amino acids)，其保護原理與聚合物包覆 (coating) 原理相似，其產品於正常瘤胃 pH 值近中性環境下降解率低，於皺胃低 pH 情況下被溶解釋出胺基酸，亦可同時補充礦物質。鋅螯合胺基酸之使用，同樣具有低瘤胃降解率 (Heinrich and Conrad, 1983 ; Kincaid *et al.*, 1997 ; Robinson *et al.*, 1995)，可增加限制胺基酸之吸收。

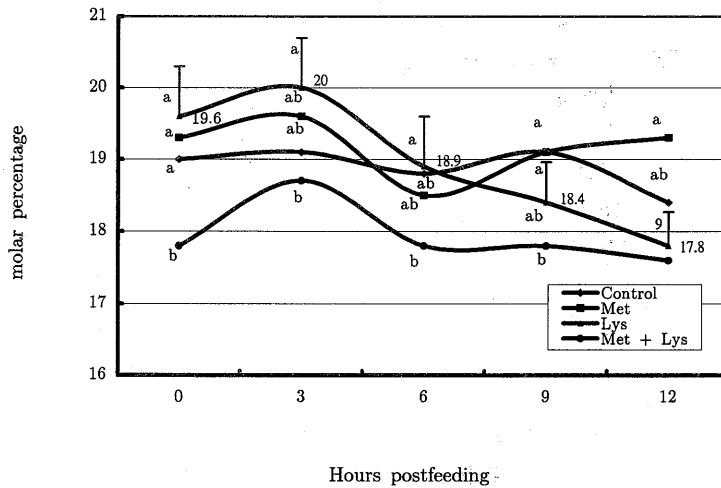


圖 1. 添加鋅螯合胺基酸飼糧餵飼後瘤胃液乙酸莫耳百分比變化之影響。

Fig. 1. Effects of dietary treatment with zinc chelated-amino acids on ruminal fluid acetate molar percentage of cannulated cows after feeding.

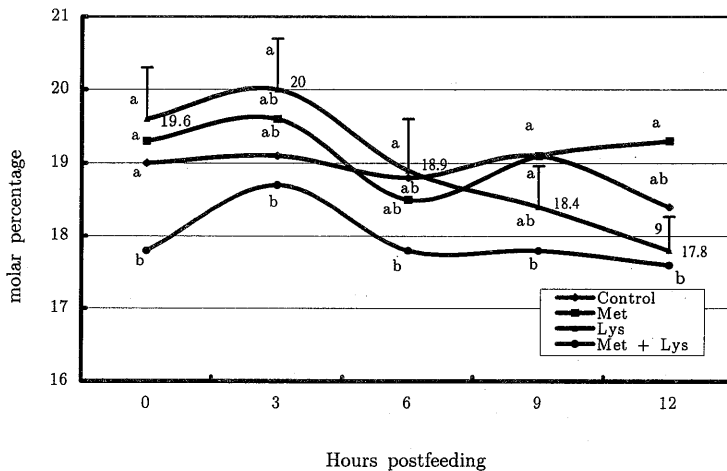


圖 2. 添加鋅螯合胺基酸飼糧餵飼後瘤胃液丙酸莫耳百分比變化之影響。

Fig. 2. Effect of dietary zinc chelated-amino acids supplementation on the molar percentage of propionate in ruminal fluid for cannulated cows after feeding.

瘤胃液揮發性脂肪酸濃度之平均值如表 2，總揮發性脂肪酸濃度四處理組分別為 119.00 mM/L、121.34 mM/L、120.14 mM/L 及 115.32 mM/L，各處理間無顯著差異。個別揮發性脂肪酸莫耳百分比中乙酸分別為 62.35 mol/100 mol、62.76 mol/100 mol、64.04 mol/100 mol 及 65.20 mol/100 mol，D 組顯著較 A、B 兩組為高 ($P < 0.05$)，C 組與各組間無顯著差異。餵飼後不同時間乙酸之變化 (圖 1)，顯示同時添加鋅螯合甲硫胺酸及離胺酸，增加乙酸量。丙酸莫耳百分比分別為 18.87 mol/100 mol、19.17 mol/100 mol、19.38 mol/100 mol 及 17.94 mol/100 mol，D 組顯著較 A、B、C 三組低 ($P < 0.05$)，而 A、B、C 三組間無顯著差異。採食後不同時間

點丙酸之變化，D 組呈現較其他組為低的狀態，顯示丙酸受鋅螯合甲硫胺酸及離胺酸之同時添加而降低（圖 2）。故比較乙酸／丙酸比之結果，分別為 3.34、3.28、3.33 及 3.65，D 組顯著較其他三處理組高（ $P < 0.05$ ），其原因為添加鋅螯合甲硫胺酸及離胺酸使乙酸提高而丙酸降低，使其比例值顯著增加。本試驗結果發現，飼糧中同時添加鋅螯合甲硫胺酸及離胺酸，可提高乙酸莫耳百分比及乙酸／丙酸比，此結果可進一步運用至泌乳牛飼糧之調配，此與 Kincaid and Cronrath (1993) 之試驗同時添加 0.275% 螯合甲硫胺酸及離胺酸顯著增加乳脂產量及乳蛋白率之結果相印證，也與前人研究指出，飼糧同時添加保護之甲硫胺酸及離胺酸，可增加產乳量、乳脂率及其他乳成分 (Robinson *et al.*, 1995, 1998; Rogers *et al.*, 1989) 之結果相似。

其他揮發性脂肪酸之變化，各組丁酸、戊酸莫耳百分比分別為 12.90、12.52、11.03 及 11.28 mol/100 mol 與 1.48、1.37、1.14 及 1.14 mol/100mol (表 2)，顯示 A、B 兩組顯著較 C、D 兩組為高（ $P < 0.05$ ）（A、B 及 C、D 組間無顯著差異）。異丁酸及異戊酸莫耳百分比，各處理組間無顯著差異。異丁酸及異戊酸屬支鏈揮發性脂肪酸 (branched-chain volatile fatty acids)，來自支鏈胺基酸發酵產生，提供瘤胃細菌碳鏈骨架之來源或與瘤胃中氨合成菌體胺基酸之用 (NRC, 1989)，更是一些分解纖維的瘤胃細菌，維持生長所必需之揮發性脂肪酸。

致 謝

本研究承蒙前台灣省政府農林廳經費（87－畜試－營－03）支助，試驗期間陳文慶先生、郭俊巖先生、陳妙津小姐協助採樣及化驗分析，特此申謝。

參考文獻

- AOAC, 1984. Official Methods of Analysis. (14th Ed.) Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C.
- Erwin, E. S., G. J. Marco and E. M. Emery. 1961. Volatile fatty acid analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. J. Dairy Sci. 44 : 1768~1770.
- Heinrichs, A. J. and H. R. Conrad. 1983. Rumen solubility and breakdown of metal proteinate compounds. J. Dairy Sci. 66 (suppl. 1) : 147 (Abstr.)
- Kincaid, R. L. and J. D. Cronrath. 1993. Effects of added dietary fat and amino acids on performance of lactating cows. J. Dairy Sci. 76 : 1601~1606.
- Kincaid, R. L., B. P. Chew and J. D. Cronrath. 1997. Zinc oxide and amino acids as source of dietary zinc for calves: effects on uptake and immunity. J. Dairy Sci. 80 : 1381~1388.
- King, K. J., W. G. Bergen, C. J. Sniffen, A. L. Grant, D. B. Grieve, V. L. King and N. K. Ames. 1991. An assessment of absorbable lysine requirements in lactating cows. J. Dairy Sci. 74 : 2530~2539.
- Lehninger, A. B., D. Nelson and M.M. Cox. 1993. Protein metabolism. in: Principles of Biochemistry. By Worth Publishers Inc., New York. pp. 916~922.

- Munneke, R. L., D. J. Schingoethe and D. P. Caser. 1991. Lactation of ruminally protected methionine in diets containing extruded soybeans and urea. *J. Dairy Sci.* 74(1) : 227~233.
- National Research Council. 1989. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 6th rev. ed Natl. Acad. Sci. Washington, D.C.
- Polan, C. E., K. A. Cummins, C. J. Sniffen, T. V. Muscato, J. L. Vicini, B. A. Crooker, J. H. Clark, D. G. Johnson, D. E. Otterby, B. Guillaume, L. D. Muller, G. A. Varga, R. A. Murray, and S. B. Peirce-Sandner. 1991. Responses of dairy cows to supplemental rumen-protected forms of methionine and lysine. *J. Dairy Sci.* 74 : 2997~3013.
- Robinson, P. H., A. H. Fredden, W. Chalupa, W. E. Julien, H. Sato, T. Fujieda and H. Suzuki. 1995. Ruminally protected lysine and methionine for lactating dairy cows fed a diet designed to meet requirements for microbial and postruminal protein. *J. Dairy Sci.* 78 : 582~594.
- Robinson, P. H., A. H. Fredden, W. Chalupa, W. E. Julien, H. Sato, T. Fujieda and H. Suzuki. 1998. Ruminally protected lysine or lysine and methionine for lactating dairy cows fed a diet designed to meet requirements for microbial and postruminal protein. *J. Dairy Sci.* 81 : 1364~1373.
- Rogers, J. A., S. B. Peirce-Sandner, A. M. Papas, C. E. Polan, C. J. Sniffen, T. V. Muscato, C. R. Staples, and J. H. Clark. 1989. Production responses of dairy cows fed various amounts of rumen-protected methionine and lysine. *J. Dairy Sci.* 72 : 1800~1817.
- SAS Institute Inc. 1997. SAS User's Guide: Statistics (Version 6.2). SAS Institute, Cary, NC.
- Schingoethe, D. J., D. P. Casper, C. Yang, D. J. Illg, J. L. Sommerfeldt and C. R. Mueller. 1988. Lactational response to soybean meal, heated soybean meal, and extruded soybeans with ruminally protected methionine. *J. Dairy Sci.* 71 : 173~180.
- Spears, J. W. 1989. Zinc methionine for ruminants: relative bioavailability of zinc in lambs and effects of growth and performance of growing heifers. *J. Anim. Sci.* 67:835~843.
- Van Soest, P. J., J. B. Roberson and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74 : 3583~3597.

Effect of Supplementing Zinc Chelated-Amino Acids on Ruminal Characteristics of Holstein Cows⁽¹⁾

K. J. Chen⁽²⁾, D. W. Yang⁽²⁾,
C. W. Liao⁽²⁾, C. F. Huang⁽³⁾ and D. F. Jan⁽³⁾

Received Feb. 12, 2001 ; Accepted July. 4, 2001

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the effects of supplementation of zinc chelated-amino acids on ruminal characteristics of Holstein dry cows during summer. Four rumen cannulated dry cows were allotted into four dietary treatments which were isocaloric and isonitrogen: (A) control, (B) supplemented with 0.125% (DM basis) of zinc chelated-methionine, (C) supplemented with 0.1% of zinc chelated-lysine, (D) supplemented with 0.125% of zinc chelated-methionine and 0.1% of zinc chelated-lysine. This experiment was designed as 4 × 4 Latin square. The experiment was conducted four periods of time, each period being 14 days which included 11 days of adaptation and last 3 days sample collecting. The results showed that the pH value, ammonia nitrogen, and total volatile fatty acids concentrations of ruminal fluid were not significantly affected by the treatments. The acetate molar percentage and acetate/propionate ratio in Group D were higher than those of the other treatments ($P < 0.05$). The propionate molar percentage in Group D was lower than the others ($P < 0.05$). Groups A and B demonstrated a higher butyrate and valerate molar percentage than Group C or D ($P < 0.05$). However, the isobutyrate and isovalerate molar percentages in rumen fluid were not significantly different among the treatments. Therefore, feeding a diet supplemented with zinc chelated-methionine plus zinc chelated-lysine for dairy dry cows could increase the acetate molar percentage and acetate/propionate ratio in rumen fluid.

Key words : Dairy cows, Zinc chelated-amino acids, Rumen characteristics.

(1) Contribution No. 1063 from Taiwan Livestock Research Institute, Council of Agriculture.

(2) Livestock Farm, COA-TLRI, Hsinhua, Tainan, Taiwan, R.O.C.

(3) Department of Animal Science, National Chung-Hsing University, Taichung, Taiwan, R.O.C.