

青饲料中氨基酸含量的分析

胡凤祖 刘晓达 王月华 师治贤

(中国科学院西北高原生物研究所)

摘要

本文采用沃特斯公司的高效液相色谱仪,离子交换柱分析测定了青海地区11种青饲料样品中氨基酸成分和含量的分布。并对树叶中各类氨基酸百分含量与谷类饲料麸皮中氨基酸百分含量进行了比较。进一步讨论了青海地区青饲料的开发和利用的前景。

关键词: 氨基酸; 青饲料; 高效液相色谱

随着家畜饲养业的发展,对饲料的需求量增大,对营养水平的要求也增高,要评定某种饲料的营养价值和利用前景,首先要了解其营养成分及含量,其中又以氨基酸成分的多少和含量的高低是一个很重要的指标(杨诗兴等,1981)。因此,准确测定青饲料中氨基酸的成分和含量,为合理搭配各种饲料,科学喂养家畜,提供理论依据。

一、实验部分

1. 仪器和试剂

仪器:沃特斯高效液相色谱仪。

试剂:氨基酸标准样品为日本进口的混合试剂,每种氨基酸标准样品的浓度为0.25微摩尔。柠檬酸三钠(上海试剂一厂),氢氧化钠、氢氧化钾、盐酸(北京化工厂)。上述试剂均为分析纯。硝酸、(G.R西安化学试剂厂)。去离子水本实验室自制。

2. 样品来源:青饲料样品由青海省饲料公司提供。

3. 样品的前处理与色谱条件

(1) 样品的水解:准确称取自然风干,磨碎的样品300毫克置5毫升安培瓶中,加5毫升6摩尔的盐酸,充氮气3—4分钟,立即熔封,在 $110 \pm 1^\circ\text{C}$ 的条件下水解24小时。取出放置室温,用6摩尔的氢氧化钠调pH至2.2—2.5,然后全部转移到25毫升的容量瓶中,用去离子水定容到刻度,摇匀,平衡一段时间,用0.45微米的过滤膜过滤,滤液待处理。

本文1990年7月9日收到。

(2) 滤液的处理: 样品虽经酸水解, 但仍有少量的蛋白质和多肽未被完全水解, 另外在样品溶液中还存在着水解蛋白时释放出来的微量金属离子, 如直接上机分析会污染氨基酸分析柱, 影响测定的准确性。样品溶液必须通过 sep-pak C₁₈ 柱, 该柱可将未完全水解的少量蛋白质、多肽和一些微量的金属离子吸附, 使样品进一步纯化。其纯化过程为: 取沃特斯公司的 sep-pak C₁₈ 柱安接在 10 毫升的玻璃注射器上, 先用 10 毫升的甲醇活化柱子, 再用 20 毫升的去离子水分别洗涤 2 次, 然后取 10 毫升 0.1% 的三氟醋酸溶液冲洗, 再用 10 毫升 0.1% 的三氟醋酸和甲醇 (8:2) 溶液冲洗, 最后取 2 毫升 0.1% 的三氟醋酸和甲醇 (7:3) 溶液与 1 毫升样品溶液混合, 一起通过 sep-pak C₁₈ 柱, 弃去先流出的 1 毫升, 收集后流出的 2 毫升置 -4°C 冰箱贮存。

(3) 色谱条件: 氨基酸分析柱, 其型号为 80002 (4 毫米×300 毫米)。洗脱液: A 液为 0.065 摩尔的柠檬酸三钠溶液, 用优级纯的硝酸在酸度计上准确调 pH 至 3.06—3.08; B 液为 0.25 摩尔的硝酸钠溶液, 用 6 摩尔的氢氧化钠在酸度计上准确调 pH 至 9.78—9.80。线性梯度洗脱: 0—48 分钟; 由 100% A→100% B, 48—75 分钟; 100% B, 75—76 分钟; 由 100% B→100% A。流速: 0.4 毫升/分。运行时间: 90 分钟。反应温度 62°C。反应液: A 液为含有 0.001% 的次氯酸钠的硼酸钾溶液, B 液为含有 0.07% 的邻苯二甲酰的硼酸钾溶液。反应液流速均为 0.4 毫升/分。柱压: 600—800 磅¹⁾。检测器、荧光检测; 激发波长 338 纳米; 发射波长 425 纳米。纸速: 0.25 厘米/分。上述溶液均通过 0.45 微米的滤膜过滤并脱气后才使用。(榆树叶中氨基酸分析色谱图见图 1)。

(4) 样品的定性与定量: 用保留时间定性法来分析样品中氨基酸的成分。用计算机控制采用外标法计算样品中各类氨基酸的百分含量。分析结果见表 1。

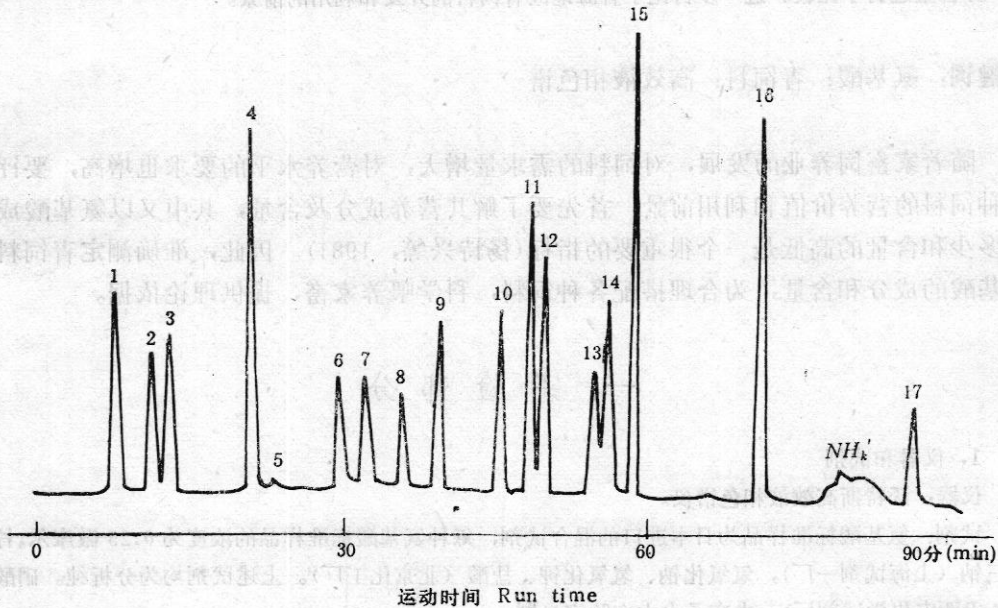


图1 榆树叶中氨基酸分析色谱图

Fig.1 Chromatogram of amino acids in Ulmus leaf

1. 天冬氨酸 Asp; 2. 苏氨酸 Thr; 3. 丝氨酸 Ser; 4. 谷氨酸 Glu; 5. 脯氨酸 Pro; 6. 甘氨酸 Gly; 7. 丙氨酸 Ala; 8. 胱氨酸 Cys; 9. 缬氨酸 Val; 10. 蛋氨酸 Met; 11. 异亮氨酸 Ile; 12. 亮氨酸 Leu; 13. 酪氨酸 Tyr; 14. 苯丙氨酸 Phe; 15. 组氨酸 His; 16. 赖氨酸 Lys; 17. 精氨酸 Arg

1) 1 磅=0.453592 千克。

二、结果与讨论

1. 从表1可以看出：在11种青饲料中，家畜所需的13种氨基酸基本齐全。各类氨基酸含量最高为毛苕子，其百分含量总和为12.42%。苜蓿、榆树叶、白刺叶和柳树叶中各类氨基酸含量平均在6%以上。这些均是家畜爱吃的饲料，且在青海地区能正常生长，分布也比较广。

表1 青饲料中氨基酸成分和含量(%)¹⁾

Table 1 Compositions and contents of amino acids in green feeds

氨基酸 Amino acids	青蚕豆秧 Green Vicia fada feeding	青豌豆秧 Green Pisum sativum feeding	苜蓿 Medicago sativa	青玉米 Green Zea mays	洋芋茎叶 Solanum tuberosum stem and leaf	毛苕子 Vicia villosa	青燕麦 Green Avena sativa	柳树叶 Salix sp. leaf	榆树叶 Ulmus sp. leaf	白刺叶 Nitraria sp. leaf	胡萝卜叶 Daucus carota var. sativa leaf
赖氨酸 Lys	0.78	0.75	0.78	0.78	0.48	1.47	0.42	0.86	0.96	0.75	0.63
色氨酸 Trp ²⁾	0.019	0.035	0.03	0.025	0.02	0.05	0.018	0.025	0.022	0.03	0.025
蛋氨酸 Met	0.025	0.03	0.03	0.09	0.03	0.09	0.09	0.06	0.04	0.033	0.028
胱氨酸 Cys	0.026	0.031	0.026	0.027	0.02	0.04	0.026	0.035	0.038	0.031	0.019
苏氨酸 Thr	0.54	0.84	0.72	0.99	0.72	1.47	0.33	0.87	0.81	1.17	0.54
异亮氨酸 Ile	0.45	0.51	0.42	0.54	0.30	0.96	0.30	0.60	0.66	0.45	0.54
组氨酸 His	0.27	0.84	0.72	0.75	0.30	0.63	0.51	0.18	0.54	0.69	0.63
缬氨酸 Val	0.63	0.75	1.02	0.36	0.51	1.68	0.45	0.84	1.02	0.66	0.66
亮氨酸 Leu	0.84	0.86	0.72	0.90	0.84	1.68	0.54	1.08	1.77	0.87	0.90
苯丙氨酸 Phe	0.48	0.45	0.36	0.66	0.45	1.14	0.27	0.48	0.66	0.51	0.54
精氨酸 Arg	0.18	0.57	0.57	0.33	0.84	1.32	0.33	0.46	0.71	0.69	0.24
甘氨酸 Gly	0.60	0.75	0.60	0.60	0.39	1.29	0.33	0.72	0.93	0.78	0.60
酪氨酸 Tyr	0.27	0.24	0.20	0.27	0.15	0.60	0.15	0.27	0.45	0.45	0.30
总量 Amount	5.11	6.64	6.27	6.23	4.96	12.42	3.67	6.48	8.61	7.11	5.65

1) 系每个氨基酸占青饲料样品干重的百分数 Showing each amino acid percent of the dry weight of green feed.

2) 色氨酸用荧光分光法测定 Determination of Trp by fluorescence spectrometer method.

2. 榆树叶、柳树叶、白刺叶与麸皮中各类氨基酸百分含量的比较：在我省，家畜的传统喂法是将麸皮作为精饲料拌在粗饲料中进行喂养，因此麸皮便成为家畜必不可少的精饲料但麸皮的来源有限，其营养水平并不理想。图2所示的是几种树叶与普通麸皮和优麸皮中各类氨基酸总百分含量的分布图，可以看出：麸皮中氨基酸的含量均低于几种树叶中氨基酸的量。如果将这些树叶作为青饲料而充分利用，并作进一步的加工，也可以代替麸皮(于天水，1989)，缓解谷类饲料的不足。

3. 青饲料开发和利用的前景：从上述分析的结果来看，这11种青饲料中氨基酸的百分含量均高于一些谷类饲料中的氨基酸含量。在M. E. 恩斯明格等著的《饲料与营养》

一书中指出：“苜蓿汁中蛋白质含量高达 24% 以上，可作为家畜的蛋白型添加饲料”。象毛苕子、榆树叶等几种青饲料样品中氨基酸含量均高于苜蓿中氨基酸的量，如将这几种青饲料新鲜采集，加工成汁添加在其它类型的饲料中来喂养家畜，可补充蛋白型饲料的不足。另外这些青饲料中赖氨酸的含量均在 0.78% 以上(表 1)，且在青海地区分布广，易成活，如能合理开发利用，将是一个十分广阔，而又廉价富有营养的新型饲料来源。

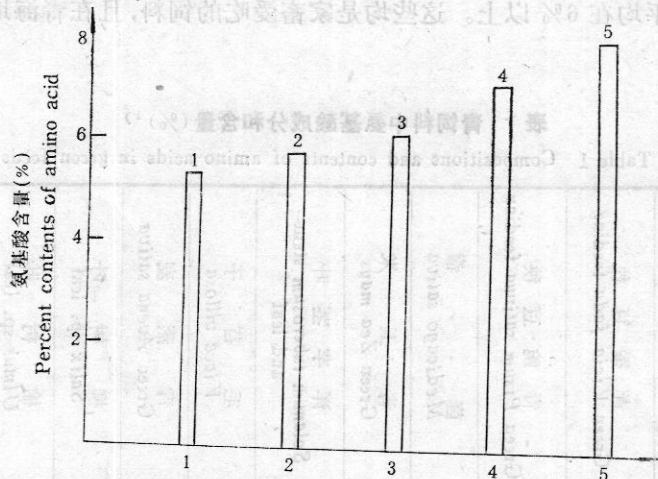


图2 麸皮与柳树叶、白刺叶和榆树叶中总氨基酸百分含量的比较

Fig. 2 Comparison on the percent of amino acids in *Salix* sp. leaf, *Nitraria* sp. leaf, *Ulmus* sp. leaf, bran and good bran.

1. 麸皮 Bran; 2. 优麸 Good bran; 3. 柳树叶 *Salix* sp. leaf; 4. 白刺叶 *Nitraria* sp. leaf; 5. 榆树叶 *Ulmus* sp. leaf.

参 考 文 献

- 于天水, 1989, 杨树叶代替麸皮喂猪的实验, 饲料研究, 3: 19—24。
 杨诗兴, 彭大惠编译, 1981, 国外家畜饲养与营养资料选编, 农业出版社, 6—11。
 陈家华, 1987, 荧光法测定食品中的色氨酸, 食品化学, 1: 35—39。
 M.E. 恩斯明格, C.G. 奥伦廷著, 1978, (秦礼让译, 1985), 饲料与营养, 农业出版社, 14—27。

ANALYSIS OF CONTENTS OF AMINO ACIDS IN GREEN FEED

Hu Fengzu, Liu Xiaoda, Wang Yuehua and Shi Zhixian

(Northwest Plateau Institute of Biology, The Chinese Academy of Sciences, Xining)

This paper deals with analysis of amino acids in green feed by high performance liquid chromatograph with cation exchange column. Eleven kinds of green feed in Qinghai were analysed. According to the analytical data we have also discussed amino acids compositions, contents and exploitation of green feed in Qinghai.

Key words: Amino acid; Green feed; High performance liquid chromatograph (HPLC)