

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

葉酸對產蛋雞卵巢濾泡生長,類固醇生成,產蛋性能和蛋品質之影響(2/2)

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC92-2313-B-002-132-

執行期間：92年08月01日至93年07月31日

執行單位：國立臺灣大學畜產學系暨研究所

計畫主持人：吳兩新

計畫參與人員：張克勝

報告類型：完整報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 93 年 11 月 2 日

葉酸對產蛋雞卵巢濾泡生長、類固醇生成、產蛋性能及蛋品質之影響(2/2)

一、摘要

本研究計劃目的在探討活性葉酸對產蛋雞之產蛋性能及蛋品質之影響。選產蛋正常之三十五週齡白色來亨蛋雞 60 隻，飼予低葉酸之基礎飼糧及各添加 1 mg/kg 氧化型與還原型葉酸之供試飼糧，為期八週。試驗期間收集血液及雞蛋樣本，測定：(1) 血漿及蛋中葉酸含量，(2) 血液及蛋黃脂肪酸組成。結果顯示，血漿及蛋黃中葉酸含量，葉酸添加組顯著($p < 0.05$)高於對照組；產蛋率以餵食還原型葉酸組為最佳，葉酸添加組顯著優於對照組。蛋黃中之脂肪酸組成則各組間無顯著差異，但 omega-3 多不飽和脂肪酸的次亞麻油酸、二十碳五烯酸及二十二碳六烯酸在葉酸添加組有較高的趨勢。

關鍵詞：活性葉酸、產蛋性能、蛋品質。

ABSTRACT

The objective of this study is to investigate the effects of active folate on egg productive performance and egg quality of laying hens. Leghorn laying hens of 35-week old were separated into three groups fed with corn-soybean basal diet and supplemented with oxidized or reduced form of folate. The experimental period lasted 8 weeks. Eggs and blood were collected for samples at two week interval. Plasma and egg yolk folate levels were determined by high-performance liquid chromatography with fluorescence detector. Fatty acid compositions of plasma and egg yolk were also analyzed. Folate contents in plasma and egg yolk of folate supplemental hens were significantly higher. The egg productivity in the reduced and oxidized folates were 96.59% and 94.22%. These were significantly better than 88.93% in no folacin supplemental group. Changes induced by folate treatments on fatty acids of egg yolk were no difference. But n-3 PUFA increased with folate addition.

Key words: Folate, egg productive performance, egg quality.

二、前言

葉酸 (folacin) 是指由蝶醯麩胺酸 (pteroylglutamic acid, PGA) 及其衍生物組成的一群物質，其還原型態(reduced form)的四氫葉酸(tetrahydrofolic acid, THF) 是動物體內許多單一碳單位 (single-carbon unit, C_1) 的轉移及代謝所不可或缺的活性輔酶(active coenzyme)。THF 及其多種 C_1 取代物在核酸合成 (Huennekens, 1968)、DNA 複製、細胞分裂及數種胺基酸代謝上扮演非常重要的角色(Stokstad and Koch, 1967)。因此快速生長及高度再生的組織 (卵巢濾泡、胚胎、血球及小腸粘膜等) 對葉酸的需要量特別高。雞是飼養的禽畜中最容易缺乏葉酸的動物 (McDowell, 1989)，蛋雞如果葉酸供應不足，會損害輸卵管對動情素的反應及

其形成白蛋白的能力(Anderson and Jackson, 1975; Burns and Jackson, 1979)。

雞隻需要的葉酸主要來自飼糧，而大部分存在於單味原料中的葉酸是含多麩胺酸的結合型(Cropper and Scott, 1966)，正常的動物腸道蛋白酶無法將其水解，而是由一些存在於腸道的共軛酶（conjugases：pteroylpolyglutamyl carboxypeptidases）將其水解成單麩胺酸的葉酸才能通過小腸刷狀緣膜（brush-border）；而且這種葉酸在貯存及製造時容易被氧化，家禽對其利用率有限，大約只有 20~30%（Luswigshafen *et al.*, 1992）。

化學合成的葉酸為氧化型(oxidized form)，在小腸粘膜吸收後需經二氫還原酶（dihydrofolate reductase；DHFR）還原成 THF。最近的研究指出這種形態的葉酸在豬的生物有效性非常低(Kokue *et al.*, 1994；Mizuno *et al.*, 1997)；即便高量口服，血漿中的 THF 及 5-甲基四氫葉酸（5-methyltetrahydrofolic acid；5MF）之濃度並未增加。葉酸近年來在人醫方面的研究如火如荼，很多報告證實葉酸對於防止胎兒神經管畸形（Scott *et al.*, 1995；Fleming, 2001）和預防心血管疾病（Boushey *et al.*, 1995；Nygard *et al.*, 1999）有重要的功效。同時還能降低直腸癌（Kim, 1999）、防止膽固醇變壞（Nakano *et al.*, 2001）與預防老年癡呆症的發生（Ames, 1998；Coudill, 2000）。因此，美國政府通過 FDA 要求(Food Standards, 1996) 規定從 1998 年一月一日起生產的穀類食品的業者要在產品中添加 140 μ g/100g 的葉酸。而產蛋雞有一相當有效的葉酸保存及遞送系統，能把吸收到血液中的葉酸透過卵巢濾泡細胞膜上的受體居間內胞飲作用（membrane receptor-mediated endocytosis）轉送入卵黃中（Kamen and Capdevila, 1986），貯積在蛋黃中的葉酸與血漿中的葉酸量成正比（Sherwood *et al.* 1993）。在所有雞需要的維生素中，葉酸是最少被研究的一種（Maxwell *et al.*, 1988），而有關不同葉酸來源在家禽方面的研究相當有限。故本研究旨在探討活性葉酸的添加是否能提高血漿中葉酸濃度，進而提高蛋雞產蛋性能以及雞蛋的葉酸含量，生產高葉酸之機能性產品。將所得結果資料供學術界及產業界參考與應用。

三、材料與方法

主要在探討活性葉酸的添加對產蛋性能及雞蛋品質的影響。

1. 供試雞隻及處理

75 隻 30 週齡之白色來航雞飼養於個別籠，餵予實用型以玉米-大豆粕為主之低葉酸蛋雞基礎飼糧；每日記錄其產蛋情況。光照計劃為 16L：8D，採用乳頭式飲水器，飼料和水予以任意採食和飲用。一個月後，選 60 隻產蛋正常之雞隻，分別飼予：(1) 基礎飼糧，(2) 添加氧化型葉酸 1 mg/kg 及 (3) 添加還原型葉酸 1 mg/kg 之供試飼糧。每飼糧處理組 20 隻，實驗為期八周，實驗期間每日收集蛋，並個別記錄蛋重。實驗結束時，雞隻於禁食八小時後，從翼下靜脈採血，檢測血液之一般性狀及葉酸與其代謝物之變化；並稱重及記錄飼料消耗量。

2. 檢測項目及測定方法

(1) 飼料中葉酸含量之分析：

飼料樣品中的葉酸經萃取、離心純化後，採用 Sherwood *et al.* (1993) 之

方法，以同位素稀釋分析法 (isotope dilution analysis) 測定。

(2) 血液總蛋白、白蛋白、葡萄糖、尿素氮、肌酸酐、膽固醇、三酸甘油酯、鹼性磷酸酶、丙胺酸轉化酶等血液生化分析，以血液生化分析儀 (Cobas Mira Plus, Roche 公司製造) 分析之。

(3) 血漿中葉酸及其代謝物之測定

採用 Mizuno *et al.* (1997) 之方法，以高性能液相層析儀-電子化學偵測器 (HPLC-ECD) 測定。

(4) 蛋黃及蛋白中葉酸及其代謝物之測定

蛋黃及蛋白分離、處理後 (White III *et al.*, 1992)，採用 Vahteristo *et al.* (1997) 之方法，以高性能液相層析儀-螢光檢測器測定。

(5) 蛋黃脂肪酸組成之分析：以氣相層析儀分析。

(6) 產蛋性能測定：

測定項目包括飼料採食量、體重、飼料轉換率，蛋重及產蛋率。

四、結果與討論

以飼糧中添加不同型態葉酸餵飼的產蛋雞與餵飼商用飼糧的對照組比較(表 1)，對照組的飼料採食量及蛋重有較低的趨勢，但各處理組間無顯著差異($p > 0.05$)。產蛋率以餵食還原型葉酸組為最佳，葉酸添加組顯著($p < 0.05$)優於對照組。血漿中葉酸含量,不同型態葉酸添加組顯著($p < 0.05$)高於對照組。

血液生化值列於表 2。血液之三酸甘油酯、尿素氮、肌酸酐、總膽紅素等所有血液生化值處理間皆無顯著差異。唯膽固醇與鹼性磷酸酶在對照組有較高的趨勢。

飼糧中添加不同型態葉酸對雞蛋蛋黃中葉酸含量之影響如表 3，葉酸添加組蛋黃中葉酸含量有較高的趨勢，而且餵食還原型葉酸組蛋黃中葉酸含量顯著($p < 0.05$)高於對照組。

飼糧中添加葉酸對機蛋蛋黃中脂肪酸組成之影響如表 4 所示，所有蛋黃中之脂肪酸處理間皆無顯著差異，但 omega-3 多不飽和脂肪酸的次亞麻油酸、二十碳五烯酸及二十二碳六烯酸在葉酸添加組有較高的趨勢。

五、計畫成果自評

本計劃順利完成，研究成果可供訂定蛋雞之葉酸需求量及調配蛋雞飼料時選擇何種型態葉酸之參考。藉活性葉酸的添加對產蛋雞之產蛋性能及蛋品質之影響，不但能降低產蛋成本，同時將雞蛋提升為兼具營養及機能性功能(高葉酸及 n-3 PUFA 含量)的優良食品。一方面能促進雞蛋的消費，一方面能達成國人更建健康。

六、参考文献

- Anderson, R., and N. Jackson. 1975. The effect of folate deficiency on the in vitro incorporation of serine into the oviduct of oestrogen-treated immature female domestic fowl. *Int. J. Biochem.* 6: 34.
- Burns, R. A. and N. Jackson. 1979. The effects of folate deficiency and oestradiol administration on the plasma free amino acid concentrations of the immature hen. *Br. Poult. Sci.* 20: 131-138.
- Fleming, Angelle. 2001. The role of folate in the prevention of neural tube defects: Human and animal studies. *Nutrition Reviews.* 59: S13—S23.
- Food standards: amendment of the standards of identity for enriched grain products to require addition of folic acid. Final rule 1996. *Federal Register* 61: 8787~8797
- Huenekens, F. M. 1968. Folic acid coenzymes in the biosynthesis of purines and pyrimidines. *Vitam. Horm.* 26: 375-381.
- Kim, Y. I. 1999. Folate and carcinogenesis: Evidence, mechanisms, and implications. *J. Nutr. Biochem.* 10: 66-88.
- Ludwigshafen, N. A., G. B. BONN, D. D. Elmshorn, W. K. Hess, and H. L. Grenzach. 1992. Vitamins in animal nutrition. *Arbeitsgemeinschaft für Wirkstoffe in der Tiernahrung*, Bonn.
- Mizuno, Y., E. Kokue, N. Ohnishi and Y. Toride. 1997. Effect of oral administration of folate sources on plasma folate levels in pigs: Comparison between reduced and oxidized forms of folate. *Can. J. Anim. Sci.* 77: 497.
- Nakano E., J. A. Higgins and H. J. Powers. 2001. Folate protects against oxidative modification of human LDL. *Br. J. Nutr.* 86: 637-639.
- Scott, M. L., M. C. Nesheim and R. J. Young. 1982. *Nutrition of the chicken*, 3rd ed. p.231. Ithaca, New York.
- Sunde, M. L., W. W. Cravens, C. A. Elvehjem and J. G. Jalpin. 1950b. The effect of folic acid on embryonic development of the domestic fowl. *Poultry Sci.* 29: 696.
- Sherwood, T. A., R. L. Alphin, W. W. Saylor and H. B. White III. 1993. Folate metabolism and deposition in eggs by laying hen. *Arch. Biochem. Biophys.* 307: 66-72.
- Vohteristo, L., V. Olliainen and P. Varo. 1997. Liquid chromatographic determination of folate monoglutamates in fish, meat, egg and dairy products consumed in Finland. *J. AOAC Int.* 80: 373—378.
- White III H. B., E. F. Nuwaysir, S. P. Komara, D. A. Anderson, S. J. Chang, T. A. Sherwood, R. L. Alphin, and W. W. Saylor. 1992. Effect of riboflavin-binding protein deficiency on riboflavin metabolism in the laying hen. *Arch. Biochem. Biophys.* 295: 29-34.

表 1. 飼糧中添加不同型態葉酸對蛋雞產蛋性能之影響

Table 1. The effect of folic acid on egg productive performance and plasma folate concentrations in laying hen

	Control	Oxidized folacin	Reduced folacin
Feed intake,g/day/bird	96.54 ± 3.89	98.32 ± 1.34a	98.04 ± 1.33a
egg weight,g	58.53 ± 1.03 ^a	59.09 ± 1.32 ^a	59.33 ± 0.74 ^a
Egg productivity, %	88.93 ± 1.73 ^a	94.22 ± 2.52 ^b	96.59 ± 2.13 ^b
Feed conversion ratio	1.65 ± 0.66 ^a	1.66 ± 0.01 ^a	1.65 ± 0.05 ^a
Plasma folate concentration,ng/ml	9.51 ± 0.66 ^a	21.32 ± 2.52 ^b	25.34 ± 2.13 ^b

^{a,b} Within a row, values followed by different letters differ significantly ($p < 0.05$).

表 2. 飼糧中添加不同型態葉酸對蛋雞血液生化值之影響

Table 2. The effect of folic acid on blood biological values in laying hen

		Control	Oxidized folacin	Reduced folacin
Glucose	mg/dl	236.67 ± 24.91	231.33 ± 22.48	229.33 ± 17.62
Cholesterol	mg/dl	115.33 ± 15.37	90.67 ± 17.47	94.00 ± 8.83
Urea	mg/dl	3.00 ± 0.00	3.00 ± 0.00	3.00 ± 0.00
nitrogen				
Creatinine	mg/dl	0.27 ± 0.06	0.23 ± 0.06	0.27 ± 0.06
Triglyceride	mg/dl	204.33 ± 15.96	248.33 ± 15.45	230.33 ± 4.04
Total protein	g/dl	5.35 ± 0.36	5.07 ± 0.32	5.37 ± 0.32
Albumin	g/dl	1.72 ± 0.10	1.90 ± 0.11	1.87 ± 0.12
AST	U/l	3.00 ± 0.00	3.20 ± 0.03	3.20 ± 0.03
ALT	U/l	153.67 ± 8.13	141.53 ± 11.24	160.01 ± 7.12
ALKP	U/l	232.33 ± 17.67	128.01 ± 8.66	123.00 ± 13.98
Total bilirubin	mg/dl	0.30 ± 0.17	0.13 ± 0.06	0.10 ± 0.00

表 3. 飼料中添加不同型態葉酸對雞蛋蛋黃中葉酸含量之影響

Table 3. The effect of dietary folate on folacin content of egg yolk in laying hen

	Control	Oxidized folacin	Reduced folacin
Folate, µg/100 g yolk			
Tetrahydrofolate	3.98 ± 0.34 ^a	5.16 ± 0.25 ^{ab}	7.08 ± 0.25 ^b
5-methyltetrahydrofolate	125.48 ± 0.75 ^a	142.70 ± 0.71 ^{ab}	153.64 ± 0.84 ^b
10-formyltetrahydrofolate	11.02 ± 0.15 ^a	14.23 ± 0.21 ^{ab}	17.31 ± 0.22 ^b

^{a,b} Within a row, values followed by different letters differ significantly ($p < 0.05$).

表 4. 飼糧中添加不同型態葉酸對雞蛋蛋黃中脂肪酸組成之影響

Table 4. The effect of dietary folate on fatty acid compositions of egg yolk in laying hen

	Control	Oxidized folacin	Reduced folacin
16 : 0 (%)	22.50 ± 1.38	21.71 ± 0.90	21.45 ± 1.54
16 : 1 (%)	1.98 ± 0.34	2.16 ± 0.25	2.08 ± 0.25
18 : 0 (%)	8.48 ± 0.75	8.70 ± 0.71	8.64 ± 0.84
18 : 1 (%)	34.31 ± 1.24	34.10 ± 1.23	33.90 ± 0.61
18 : 2 n-6 (%)	22.73 ± 1.09	23.64 ± 2.01	23.16 ± 1.28
18 : 3 n-6 (%)	0.25 ± 0.06	0.24 ± 0.03	0.26 ± 0.04
18 : 3 n-3 (%)	1.31 ± 0.15	1.58 ± 0.23	1.37 ± 0.19
20 : 4 n-6 (%)	2.36 ± 0.48	2.37 ± 0.51	2.37 ± 0.18
20 : 5 n-3 (%)	0.40 ± 0.12	0.38 ± 0.09	0.33 ± 0.11
22 : 4 n-6 (%)	1.36 ± 0.15	1.39 ± 0.18	1.43 ± 0.11
22 : 6 n-3 (%)	4.12 ± 0.34	4.36 ± 0.39	4.74 ± 0.44
ΣSFA (%)	30.98 ± 1.27	30.41 ± 1.67	30.09 ± 1.13
ΣMUFA (%)	36.29 ± 1.26	36.26 ± 1.03	36.16 ± 1.58
ΣPUFA (%)	32.83 ± 0.90	33.36 ± 1.99	33.76 ± 1.43
Σn-3 (%)	6.13 ± 0.58	6.32 ± 0.53	6.54 ± 0.59
Σn-6 (%)	26.06 ± 0.74	26.74 ± 1.38	27.22 ± 1.28
n-6/n-3	4.36 ± 0.28	4.21 ± 0.37	4.16 ± 0.42