

草鱼日粮中虾蛋白肽对幼龄草鱼生长性能的影响^{*}

冯 健¹, 高 玲², 刘永坚¹, 田丽霞¹, 刘栋辉¹, 梁桂英¹

(1. 中山大学水生经济动物研究所, 广东 广州510275;

2. 中山大学第一附属医院检验科, 广东 广州510089)

摘 要: 用300尾(3.74±0.23)g的草鱼 *Ctenopharyngodon idella* 作日粮中不同添加量虾蛋白肽(平均肽链长为3.61)对幼龄草鱼生长性能影响研究。实验分为4组, 每组75尾鱼, 每25尾鱼饲于0.25 m³的水族箱中, 每组设3个平行水族箱。试验1、2、3组日粮中分别添加 w 为0.25%虾蛋白肽+ w 为0.75%鱼粉、 w 为0.5%虾蛋白肽+ w 为0.5%鱼粉、 w 为1%虾蛋白肽, 对照组添加 w 为1%鱼粉。试验期56 d。结果表明: 试验各组草鱼其特定增长率、蛋白保留效率、饲料系数和血浆中磷、镁含量与小肽总量均高于对照组, 特别是试验2、3组与对照组有显著性差异($P < 0.05$); 草鱼日粮中适宜的虾蛋白肽添加量为 w 为0.5%。草鱼日粮中添加一定比例的虾蛋白肽均可提高饲料表观消化率和蛋白消化率, 增加血液循环中生物活性肽的含量, 提高机体对日粮中氨基酸的利用率, 从而增加体内氮沉积, 减少肝胰脏和肠系膜脂肪沉积。

关键词: 草鱼 *Ctenopharyngodon idella*; 营养生理; 小肽

中图分类号: S963.73⁺5 文献标识码: A 文章编号: 0529-6579(2004)02-0100-04

我国广东及海南是世界上最大对虾养殖与加工地区之一, 每年在对虾加工过程中产生大量的废弃虾头壳。数以万吨的虾头壳仅作为低价值的干虾头壳粉作为虾饲料原料出售。由于新鲜虾头壳极易腐败变质, 对加工场地与周围环境产生严重污染并使干虾头壳粉品质低下, 质量难以保证。新鲜虾头壳是一种十分有价值的生物材料, 通过混合酶水解技术可从中提取高价值、具有生物活性的肽蛋白, 富含虾青素和高不饱和脂肪酸。是一种资源丰富、廉价优质的肽蛋白制品, 可作为营养性添加剂广泛应用于食品工业与饲料工业。鱼类日粮中蛋白质不仅为氮沉积和利用提供氨基酸的来源, 而且蛋白质中所含的小肽可以在消化道中随着消化过程而释放, 其中具有生物活性的小肽可影响鱼类消化吸收和血液循环中小肽种类和含量, 从而影响机体吸收和对氨基酸的利用^[1,2]。据报道, 在猪禽日粮中, 添加一定比例的小肽制品可改善猪禽对日粮蛋白质的利用, 提高生长性能^[3,4]。但小肽在鱼类营养中的作用尚不清楚。因此, 了解不同添加量小肽在鱼类营养中的作用, 探讨其对鱼类生长的影响与机理具有重要的理论与实际意义。

1 材料与方法

1.1 试验鱼与基础日粮组成

300尾均质量为(3.74±0.23)g的草鱼由中山

大学水生经济动物研究所鱼场提供。饲料日粮配方组成见表1, 投饲为体质量3%, 每天投喂2次, 分别为9:00和16:00。每2周称量一次, 调整投饲量。

1.2 虾蛋白肽的制备与营养成分测定

参考Gilberg等^[5]方法, 由水产加工中废弃虾头壳中提取, 将新鲜废弃的虾头壳粉碎, 使用混合蛋白酶水解虾头壳提取其中的虾蛋白肽液体, 浓缩虾蛋白肽液体, 加入玉米淀粉, 真空干燥。根据水解前后虾蛋白肽中氨基酸含量计算平均链长, HPLC分析肽类。用Cu Sephadex G 10柱分离FAA后, 测定出肽含量。脂肪酸测定采用甲醇钠直接酯化法制备脂肪酸甲酯混合物, 并加入十七酸甲酯作为内标物测定脂肪酸种类。蛋白质中氨基酸使用日立全自动氨基酸分析仪测定。虾青素测定采用Britton等^[6]方法。其主要营养成分见表2。

1.3 试验分组与水质条件

实验草鱼分4组, 对照组日粮中未加小肽制品, 试验1、2、3组日粮中分别添加 w 为0.25%、0.5%、1.0%的虾蛋白肽。每组75尾, 每25尾饲养于0.25 m³的水族箱中, 每组设3个平行水族箱。每天换水1/3, 饲养期为56 d。其水质条件为水温(26.7±3.1)℃, 溶解氧为(7.35±0.36)mg·L⁻¹, pH(7.03±0.04), 氨氮为(0.39±0.028)mg·L⁻¹, 总硬

^{*} 收稿日期: 2003-05-14

作者简介: 冯 健(1958年生), 男, 副教授; E-mail: fengjian08@163.com

表 1 试验饲料的组成

Tab 1 Composition of the experimetal diets w/%				
原料名称	对照组	试验 1 组	试验 2 组	试验 3 组
次粉	10.00	10.00	0.00	10.00
小麦麸	10.00	10.00	10.00	10.00
大豆粕	30.00	30.00	30.00	30.00
菜籽粕	18.00	18.00	18.00	18.00
麦芽根	15.70	15.70	15.70	15.70
统糠	7.50	7.50	7.50	7.50
鱼粉	1.00	0.75	0.50	0.00
虾蛋白肽	0.00	0.25	0.50	1.00
大豆油	2.00	2.00	2.00	2.00
沸石粉	3.00	3.00	3.00	3.00
胆碱	0.20	0.20	0.20	0.20
鱼复矿 ¹⁾	1.50	1.50	1.50	1.50
粘合剂	0.30	0.30	0.30	0.30
鱼多维 ²⁾	0.20	0.20	0.20	0.20
维 C 酯	0.10	0.10	0.10	0.10
Cr ₂ O ₃	0.50	0.50	0.50	0.50
主要营养参数(实际测量值)				
粗蛋白	28.14	28.02	28.31	28.22
粗脂肪	3.23	3.36	3.14	3.30
无氮浸出物	26.93	27.02	26.41	26.99
J ³⁾ /(kg·K)	1763.2	17423.2	1755.9	1771.8

1) 复合矿物质(w/%): Ca(HPO₄)₂ 61.71, Na₂(HPO₄)₂ 4.20, NaCl 3.23, K₂SO₄ 16.38, KCl 6.58, FeSO₄ 1.07, 柠檬酸铁 3.83, MgSO₄ 4.42, ZnSO₄ 0.47, MnSO₄ 0.033, CuSO₄ 0.022, CrCl₂ 0.043, KI 0.022;
2) 复合维生素(w/%): 肌醇 2, Vit C 1.11, Vit. A 0.83, Vit B₁ 0.22, Vit B₂ 0.56, Vit B₆ 0.06, Vit K 0.06, 叶酸 0.02, Vit B₁₂ 0.012, Vit. H 20.006, Vit. E 0.44, 纤维素 0.42;
3) J 指消化能, 按每 g 蛋白质 4.0 K, 脂肪 8.0 K, 糖 1.6 K 计算

表 2 虾蛋白肽营养成分分析值

Tab 2 Analyse values of shrimp protein peptides %			
指 标	分析值	指 标	分析值
蛋白质	50.12	组氨酸	1.56
脂肪	4.28	精氨酸	2.88
虾青素	0.035	亮氨酸	4.43
灰分	31.48	赖氨酸	4.16
钙	5.94	蛋氨酸	1.65
磷	2.46	苯丙氨酸	2.78
镁	0.20	苏氨酸	3.01
指 标 分析值			
小肽	40.51		
肽长	2~7		
平均肽链长	3.61		
总饱和脂肪酸	0.96		
总单不饱和脂肪酸	1.38		
总 n-6 多不饱和脂肪酸	0.32		
总 n-3 多不饱和脂肪酸	2.16		

度为(1.51±0.16), 钙含量为(25.8±0.2) mg·L⁻¹, 亚硝酸盐为(0.101±0.07) mg·L⁻¹, 硝酸盐为(0.110±0.014) mg·L⁻¹。

1.4 样品采集和分析

饲养期草鱼每 2 周称量一次, 计算其特定生长率与饲料系数, 试验结束时每箱取鱼 6 条, 测定其肝体比、内脏比与肠脂比; 分别采取血浆、肝胰脏低温冷冻保存。使用“日立”(Hitachi)全自动生化分析仪测定血浆中蛋白种类和钙、磷、镁含量等多项生化指标。各组草鱼饲料、全鱼、肝胰脏和虾蛋白肽中的蛋白用微量凯氏定氮法, 粗脂肪用索氏抽提法, 灰分用干法灰化法测定。使用 HPLC 测定草鱼血浆肽和虾蛋白肽中小肽总量, 使用分光光度计法测定草鱼对各组饲料表观消化率、蛋白消化率。

试验组间显著性变化采用 Newman Keuls's 试验。数据统计分析采用 Duncan's 多重比较法, 显著水平采用 0.05, 极显著水平采用 0.01。

2 结 果

2.1 各组草鱼的特定生长率、存活率、饲料系数和蛋白保留效率

饲养 56 d 后, 各组草鱼的存活率相似, 无显著性差异(P>0.05)。但相对生长率、饲料系数与蛋白保留效率试验各组较对照组表现好, 试验 2、3 组较对照组有显著性差异(P<0.05, 表 3)。表明日粮中添加一定比例的虾蛋白肽均可提高草鱼体内的蛋白质合成能力, 特别是在草鱼日粮中添加 w=0.5%与 1%的虾蛋白肽(表 3)。

表 3 各组草鱼特定生长率、存活率、饲料系数和蛋白保留效率

Tab 3 The relative growth rates, survival rates, feed modulus and protein reservation rate in fish				
项目	对照组	试验 1 组	试验 2 组	试验 3 组
始质量/g	3.73	3.70	3.76	3.78
末质量/g	6.38 ^a	6.63 ^a	7.43 ^b	7.34 ^b
相对生长率/%	1.27 ^a	1.41 ^a	1.74 ^b	1.68 ^b
存活率/%	100	100	98.7	98.7
饲料系数	2.26 ^a	2.03 ^{a,b}	1.84 ^b	1.89 ^b
蛋白保留效率/%	19.67 ^a	20.17 ^a	25.71 ^b	25.46 ^b

1) 同一列数据右上角不同上标小写字母代表有显著差异(P<0.05)

存活率= $\frac{\text{终末尾数}}{\text{初始尾数}} \times 100\%$;
特定生长率= $\frac{\text{末质量}-\text{初质量}}{\text{初质量} \times \text{饲养天数}} \times 100\%$;
饲料转换系数= $\frac{\text{摄食饲料总量}}{\text{末质量}-\text{初质量}}$;
蛋白质保留效率= $\frac{\text{末质量蛋白量}-\text{初质量蛋白量}}{\text{摄食蛋白总量}} \times 100\%$

2.2 试验各组草鱼肝体比、内脏比、肠脂比和肝胰脏脂肪含量

试验测试表明，对照组草鱼较试验各组肝体比、内脏比、肠脂比和肝胰脏脂肪质量分数普遍显著 ($P < 0.05$) 或极显著 ($P < 0.01$) 增高，表明对照组草鱼肝脏相对质量、肝脂肪质量分数和肠系膜脂肪相对质量均明显高于试验各组。在草鱼日粮中添加一定比例的虾蛋白肽可降低草鱼体内肝胰脏与肠系膜脂肪的储积。

表 4 试验各组草鱼肝体比、内脏比、肠脂质量比和肝胰脏脂肪质量分数

Tab 4 The rates of hepatopancreas/body, bowel/body, lipid in mesentery/body and lipid in hepatopancreas on fish				
项目	对照组	试验 1 组	试验 2 组	试验 3 组
w(肝体)/%	2.34 ^a	1.98 ^{a,b}	1.75 ^b	1.47 ^b
w(内脏)/%	12.16 ^a	10.58 ^{a,b}	9.47 ^b	9.72 ^b
w(肠脂)/%	3.96 ^a	2.45 ^b	1.45 ^B	1.47 ^b
w(肝胰脏脂肪)/%	11.49 ^a	8.36 ^c	4.52 ^B	4.57 ^b

1) 同一列数据右上角不同上标小写字母代表有显著差异 ($P < 0.05$), 大写字母代表有极显著差异 ($P < 0.01$)

2.3 试验各组草鱼体组成部分和饲料表观消化率, 蛋白消化率

试验测试表明，试验各组草鱼鱼体水分、灰分与蛋白质含量相似，但脂肪含量以对照组最高，且与试验 2、3 组有显著性差异 ($P < 0.05$)。饲料表观消化率与蛋白消化率有随着日粮添加小肽制品的比例而升高的趋势，但组间无显著性差异 ($P > 0.05$)。

表 5 试验各组草鱼体组成部分和饲料表观消化率, 表观消化率

Tab 5 Compose of body and rates of apparent digest, protein digest on fish				
原料名称	对照组	试验 1 组	试验 2 组	试验 3 组
蛋白	13.63	13.49	12.53	14.13
脂肪	7.44 ^a	6.76 ^{a,b}	5.95 ^b	6.40 ^b
灰分	2.54	2.41	2.44	2.60
水分	75.95	76.28	77.87	75.06
表观消化率	73.72	76.04	77.39	78.12
蛋白消化率	75.55	77.32	78.93	78.70

1) 同一列数据右上角不同上标小写字母代表有显著差异 ($P < 0.05$), 大写字母代表有极显著差异 ($P < 0.01$)

2.4 试验各组草鱼的血浆钙、磷、镁和小肽总量

由表 6 可知，试验各组草鱼的血浆钙、磷、镁和小肽总量随着日粮中添加虾蛋白肽比例增加而上

升，其中血浆中磷、镁和小肽总量以试验 2、3 组最高，且与对照组有显著性差异 ($P < 0.05$)。表明日粮中添加一定比例的虾蛋白肽将会提高草鱼血浆中对矿元素的吸收和小肽的含量。

表 6 试验各组草鱼的血浆钙、磷、镁和小肽总量

Tab 6 Ca, P, Mg and peptides in blood plasma on fish

原料名称	对照组	试验 1 组	试验 2 组	试验 3 组
钙/(mmol·L ⁻¹)	1.93	1.97	2.10	2.17
磷/(mmol·L ⁻¹)	3.86 ^a	4.84 ^a	7.28 ^b	6.21 ^b
镁/(mmol·L ⁻¹)	1.35 ^a	1.67 ^a	1.84 ^{ab}	2.11 ^b
小肽总量 (10 ³ ×Uv2/100μL)	14 412 ^a	17 854 ^a	26 288 ^b	26 311 ^b

1) 同一列数据右上角不同上标小写字母代表有显著差异 ($P < 0.05$)。

3 讨论

本实验在草鱼日粮中添加 w 为 0.25%~1% 的虾蛋白肽后，均提高了草鱼的生长性能。表现为提高了草鱼特定生长率和蛋白保留效率，血浆中磷、镁的含量、降低了饲料系数和肝胰脏、肠系膜脂肪含量。特别是在日粮中添加 w 为 0.5% 以上的虾蛋白肽后，与对照组相比差异显著。日粮中添加虾蛋白肽后，其提供的氨基酸种类和数量与对照组仅有细微差异，所以添加虾蛋白肽后草鱼表现出更高的生长性能不能从增加日粮氨基酸的总量和改善氨基酸的平衡来解释。而可能与消化道中的小肽底物能够增加肠道小肽载体对小肽和游离氨基酸的转运能力，提高氨基酸的吸收速度。另外，虾蛋白肽中存在多种生物活性肽，如磷肽、阿片肽、内啡肽、促泌肽等，它们可在消化过程中释放出来，发挥其生理作用。促进消化道的蠕动，改善消化机能^[7,8]。这从本实验中添加虾蛋白肽后草鱼饲料表观消化率与蛋白消化率有所提高亦得到了一定程度的证实，所以，小肽的作用是氨基酸所不能替代的，因为某些肽的生理活性是与其特定的结构有关，在消化过程中发挥重要的生理功能。

对本实验草鱼血浆肽进行 HPLC 分析表明，日粮中添加不同剂量虾蛋白肽后，草鱼血浆中小肽含量较对照组提高，特别是在日粮中添加 w 为 0.5% 以上的虾蛋白肽后，与对照组相比差异显著。传统认为小肽可以完整进入肠上皮细胞内，在细胞浆肽酶的水解作用下主要以游离氨基酸 (FAA) 的形式进入血液循环，但越来越多的研究证实，一些小肽可完整地进入血液循环，血液循环中的小肽量可能受到日粮中肽的影响^[9]。本实验表明，草鱼血液循环中的肽量与其生长性能之间可能存在一定程度的

关系, 因为消化道中底物肽能影响血液循环中肽含量, 而后者影响着草鱼机体蛋白质合成能力。实验组日粮中添加虾蛋白肽后, 提高了草鱼的生长性能的另一原因是提高了草鱼机体蛋白质合成能力, 降低了游离氨基酸转化为脂肪沉积在鱼体中。综上所述, 虾蛋白肽对草鱼生长性能的促进作用是通过影响蛋白质的消化吸收和蛋白质的代谢表现出来, 但进一步的机理尚需要深入研究。

最后, 实验表明, 在草鱼日粮中添加虾蛋白肽对其生长性能的改善与添加比例有关。例如当在日粮中添加虾蛋白肽 (w) 达到 0.5% 较 0.25% 效果好, 但当在日粮中添加 w 为 0.5% 以上时, 其生长性能并不能随着日粮中虾蛋白肽比例升高而增高。所以, 在草鱼日粮中添加虾蛋白肽不宜超过 w 为 0.5% 的限度。

参考文献:

- [1] TAKEDA M, TAKII K. Gustation and nutrition in fishes; application to aquaculture // HARA T J. Fish chemoreception[M]. London: Chapman & Hall, 1992: 271—287.
- [2] ERBA D, CIAPPELLANO S, TESTOLIN G. Effect of casein phosphopeptides on inhibition of calcium intestinal absorption due to phosphate[J]. Nutrition Research, 2001

(21): 649—656.

- [3] CARINE J, MINTER S, PEER F. Nutritional compositions containing beta caseomorphins[J]. UK patent Application, 1989, GB(2): 214810 A.
- [4] PARISINI P, SCICIPIONI P. Effects of peptide components in a proteolysate in piglet nutrition[J]. Zootecnica e Nutrizione animale, 1989, 15: 637—644.
- [5] GILDERG A, STENBERG E. A new process for advanced utilisation of shrimp waste[J]. Process Biochem, 2001, 36: 809—812.
- [6] BUCHMANN N B, BOZA J. Protein v. enzymic protein hydrolysates: Nitrogen utilization in starved rats[J]. J Agric Food Chem, 1979, 30: 583—589.
- [7] LEONARD A, MAYNARD A B. Animal nutrition[M]. 10th edit. New York: McGraw-Hill Book Company, 2000.
- [8] INFANTE J L Z. Nutritional rehabilitation of malnourished rats by di- and tripeptides: nitrogen metabolism and intestinal response[J]. J Nutr Biochem, 1992(3): 285—290.
- [9] DANEIL H, BAUMANN S A. Physiological importance and characteristics of peptide transport in intestinal epithelial cells[M]. New York: EAAP Publication, 1994.
- [10] MARIA K K, BAMBA T. Iron speciation in intestinal contents of rats fed meal composed of meat and non meat sources of protein and fat[J]. Food Chem, 1995, 52: 47—56.

The Effect of Small Peptides from Shrimp Waste in Diet on Growth Performance of Grass Carps *Ctenopharyngodon idella*

FENG Jian¹, GAO Ling², LIU Yong jian¹, TIAN Li xia¹, LIU Dong hui¹, LIANG Gui ying¹

(1. Institute of Aquatic Economic Animal, Sun Yat sen University, Guangzhou 510275, China;

2. Department of Analysis, 1st Hospital of Sun Yat sen University, Guangzhou 510089, China)

Abstract: Three hundred grass carps with (3.74 ± 0.23) g were used in an experiment, the effect of small peptides from shrimp waste in diet on growth performance of grass carps *Ctenopharyngodon idella*. The grass carps were divided into four groups and fed in 4 triplicate aquatic cases (25 grass carps 0.25 m^3) for 56 days. The diets of control group and test group 1, 2, 3 included 0%, 0.25%, 0.5%, 1% small peptides from shrimp waste. The experiment indicated: ① the relative growth rates (RGR), feed modulus (FM) and protein reservation rate (PRR) on grass carps, and the calcium, phosphorus, magnesium, total peptides in blood serum in test groups were higher than that of control group, especially in test group 2, 3 ($P < 0.05$); ② the feasible amount of small peptides from shrimp waste appending in diet of grass carp was 0.5%. These results indicated that small peptides from shrimp waste could improve the rates of apparent digest and protein digest, increase the total amount of small peptides in blood circulation and the sediment of nitrogen in fish body, reduce the store of fat in hepatopancreas and mesentery, accordingly to advance the utilization of amino acids in diet.

Key words: grass carp (*Ctenopharyngodon idella*); nutrition; small peptides