氨基酸螯合微量元素的研究及其在水产动物中的应用

Research on amino acid-chelated trace elements and their application to aquatic animals

杨建梅, 王安利, 霍 湘

(华南师范大学 生命科学学院, 广东 广州 510631)

中图分类号: S963

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2008)01-0081-07

微量元素在水产动物的生命过程中是不可避免的,但是仅靠从水体中吸收是不能满足机体的正常需要的,还必须从饲料中摄取。至今,微量元素添加剂的发展经历了三代:第一代无机盐类,常用的为硫酸盐等。无机盐类的微量元素添加剂易潮易结块,易与维生素发生拮抗,在植酸等抗营养因子存在时,效果不好。但是因其价格低廉,至今仍得到广泛应用;第二代为简单的有机酸盐类,如柠檬酸盐、富马酸盐、乳酸盐等。其稳定性好,但流动性差;由于前两代来源的微量元素生物学效率低,影响饲料中其他有效成分,再加上人们的环保意识逐渐增强,促使第三代微量元素添加剂螯合盐产生。氨基酸螯合微量元素就是其中的一种,氨基酸螯合微量元素作为一种营养全面、适口性佳、吸收率高、安全性好、诱食作用强的新型饲料添加剂,可以明显改善水产动物的生长性能,增强免疫功能,还可减少微量元素在饲料中的添加量,减轻排泄物中微量元素对环境的污染。作者在介绍氨基酸螯合微量元素特点、种类的同时,还对其在水产动物中的应用进行探讨,以期在生产高产优质的水产品提供参考。

1 氨基酸螯合微量元素的特点

1.1 化学结构稳定 生物利用率高

美国饲料管理官员协会^[1]对微量元素氨基酸螯合物的定义是:由可溶性金属元素盐中的一个金属元素离子同氨基酸按一定摩尔比以共价键结合而成。水解氨基酸的平均分子量约为 150,所生成螯合物的分子量不超过 800。

通常情况下,氨基酸同 Mn, Cu, Zn 等离子形成配位数为 4 且摩尔比为 2:1(氨基酸:金属元素)的螯合物,而 Fe, Co 除形成配位数为 4 的螯合物,还可形成配位数为 6 的螯合物^[2]。微量元素在形成螯合物时作为中心离子,氨基酸作为配体,金属中心离子既能与氨基酸分子中的羧基以离子键结合,又能与

同一氨基酸分子中的氨基以配位键相结合,整个分子构成五员环或六员环,具有良好的稳定性。

螯合盐稳定的环状结构,能防止金属元素在肠道变成不溶解的化合物,因而具有较高的吸收率和生物利用率^[3,4]。鱼的中肠呈碱性^[5~10],无机态的微量元素在碱性条件下溶解度降低。氨基酸螯合微量元素生物利用率高的原因可能是金属元素与氨基酸形成螯合物后,分子内电荷趋于中性,能在消化道内保持良好的稳定性,受其它无机离子或拮抗物的影响小,不易被胶体吸附形成难溶物质。螯合物还可能直接通过细胞膜,以载体的形式促进微量元素的吸收、转运和利用^[11]。

无机态微量元素在生物体内受许多因素的影响,使其生物利用率低于 20%,例如消化道中的离子态 Zn 几乎不能透过肠壁细胞膜,必须与有机配体如氨基酸、单肽、二肽或类似的有机物形成螯合物,才能迅速通过黏膜细胞的类脂屏障^[12],Snedeker 等^[13]也报道 Zn 的利用受饲料中蛋白质、半胱氨酸和组氨酸含量的影响。后来又有学者报道^[14],体内组氨酸促进(Zn²⁺)转运是由刷状缘膜上的组氨酸受体介导的。Vercauteren^[15]指出在贻贝(*Mytilus edulis*)体内组氨酸锌(Zn-His)运输是便利的,Glover^[16]也提出虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)肠内可能存在一条通过 Zn-His 的特殊转运通道。最近,Glover^[17]在研究虹鳟肠内刷状缘膜泡 Zn(II)的吸收机制和组氨酸的螯合修饰作用时,指出在体外膜泡内 Zn 的吸收与 Zn-His 显著相关,而体内研究表明 Zn-His 能更有效地

收稿日期:2004-08-26;修回日期:2006-09-08

基金项目:广东省自然科学基金重点资助项目(021098);广东省科技计划资助项目(2002C20304);广州市科技攻关重点资助项目(2002Z2-E0102)

作者简介:杨建梅(1980-),女,山东烟台人,硕士,主要从事水生动物免疫营养学研究,E-mail:jianmei@126.com;王安利,通讯作者,博士,教授,博导,电话:020-85211375-8304,E-mail:wanganl@scau.edu.cn

介导 Zn^{2+} 的吸收,这可能是在体内 Zn 的吸收受复杂的内环境的影响。同期,董晓慧等^[18]也证实了 $Zn-His$ 的吸收几乎不受消化道内各种因素的影响。这些研究都证实了国外学者 Found^[19]的推测:位于具有五员环或六员环螯合物中心的金属元素可以通过小肠绒毛的刷状缘,而且所有螯合物都可能以氨基酸形式被肠壁直接吸收。即氨基酸复合微量元素可以不经过消化,直接进入机体组织。

1.2 降低拮抗作用 减缓过氧化反应

以无机盐形式存在的微量元素之间及与维生素等其它营养素无论在饲料中还是鱼体内都存在严重的拮抗现象,而氨基酸螯合微量元素则可以在一定程度上避免这种现象,保证了饲料的营养全面并防止浪费。

Rojas^[20]报道,饲料中添加高水平蛋氨酸锌($Zn-Met$)或赖氨酸锌($Zn-Lys$)对血清铜及组织铜浓度没有影响,这表明 $Zn-Met$ 或 $Zn-Lys$ 与 $CuSO_4$ 之间不存在拮抗^[21]。当多种金属离子共存时,拮抗作用也可显著减轻。

Marchetti 等^[22]报道:将维生素 A,维生素 D_3 , 维生素 E,维生素 K,维生素 B_1 ,核黄素,维生素 B_6 , 维生素 B_{12} ,维生素 C,烟碱,泛酸,叶酸,生物素与 Cu, Zn, Fe, Mn, Co 的硫酸盐或与其氨基酸的螯合物相混合,混合物一半 37.3 保存,另一半 20.3 保存,在 0, 90, 180 d 时测定维生素含量。结果表明在 37.3 时维生素 B_6 、核黄素以及在 20.3 时维生素 A、维生素 C、维生素 K 在硫酸盐混合物中的含量明显减少,但是在氨基酸螯合微量元素中却几乎未少。这说明氨基酸螯合微量元素与维生素共存时,会相对减少维生素的氧化。Jeppseni^[23]也指出氨基酸螯合铁($Fe-AA$)比 Fe 离子更能降低不饱和脂肪酸和维生素的过氧化反应。

1.3 适口性好 诱食性强 吸收较快

氨基酸螯合微量元素融氨基酸和微量元素于一体,并具有氨基酸特有的鲜香味,对鱼虾有诱食作用^[24],从而弥补了普通饲料适口性差的缺点。

氨基酸螯合微量元素进入机体以后,按不同组织和酶系统对氨基酸的需要,将被氨基酸螯合的微量元素直接运输到特定的靶组织和酶系统中,通过酶和组织的作用释放出微量元素,以满足机体的需要^[25]。这样就省去了吸收无机态元素所需的时间,促使氨基酸螯合微量元素在体内被快速高效地利用。

1.4 提高免疫力 减少病害

氨基酸金属螯合物在结构上与动物体内酶的形

态相似^[26],如 Cu 与赖氨酸、半胱氨酸和色氨酸螯合时具有细胞色素还原酶活性^[27],可以提高细胞免疫和体液免疫功能^[28],增强杀菌能力、防止病害侵袭和抗氧化的能力。氨基酸螯合微量元素还可提供缓冲系统的作用:金属离子和有机配位体的反应为金属离子在介质中的浓度提供了一个缓冲系统,通过螯合物的离解或形成来保证金属离子浓度恒定,而机体又可以通过控制肠道及组织中 pH 的水平反过来调节缓冲系统中游离金属离子的水平,为机体提供了一个可利用的金属离子蓄存池,使其维持在动物所需但无毒的浓度水平^[29]。

现在一些饲料是通过单独添加无机态微量元素和合成氨基酸来保证营养全面,但是对虾等水生生物摄食缓慢,而合成氨基酸很快会从饲料中溶出,所以当饲料被对虾摄食时,其中的合成氨基酸已所剩无几,此外,合成氨基酸的溶失造成严重的浪费和环境污染^[30]。添加氨基酸螯合微量元素的饲料在投喂后能被迅速摄食,水中溶失的营养素少,有利于保持良好水质。营养全面合理,如蛋白质氨基酸平衡性好,代谢产生的氨氮就少,水中的氨氮含量也随之降低,从而减轻养殖环境对水产动物的危害。

氨基酸螯合微量元素能够提高水产动物的免疫力,可以减少抗生素的使用,从而缓解抗生素在饲料中应用所带来的压力^[31]。

氨基酸螯合微量元素具有明显的促生长作用。水产动物生长越快,养殖周期就越短。这样就可以缩短被病害侵袭的时间,甚至有望避开发病高峰期。

1.5 其他

周桂莲^[32]在体外酶反应体系同时加入 Fe^{2+} 和甘氨酸,对血红素合成有明显的促进作用,因而推测:细胞内有 $Fe-AA$ 存在,与丙氨酸合成酶的控制中心结合,与血红素竞争结合调控位点,而有利于血红素合成。

赵元凤等^[33]对尼罗罗非鱼(*Tilapia nilotica*)、鲤鱼(*Cyprinus carpio*)的试验表明,添加氨基酸螯合微量元素的实验组其耗氧率明显低于添加无机态微量元素的对照组,而生态生长效率和组织生长效率大大高于对照组,说明在饲料中添加螯合态微量元素添加剂有利于鱼类对其所摄食的能量合理利用;且添加螯合盐的各实验组鱼肌肉的蛋白与脂肪的比值都略高于对照组,说明螯合盐不仅能促进鱼体快速生长,还可以改善肌肉的营养水平。

氨基酸螯合微量元素的生物学效率高,诱食性好,促生长效果明显,可以显著降低饵料系数,缩短养殖周期,并可以在一定程度上降低养殖成本。

2 氨基酸螯合微量元素的种类

可作为螯合物中心离子的微量元素主要有 Cu, Fe, Zn, Mn, Cr, Co 等,使用的配位体有蛋氨酸,赖氨酸,甘氨酸等。目前市场上所售较多的氨基酸螯合物主要有 Zn-Met, 蛋氨酸铁 (Fe-Met), 蛋氨酸铜 (Cu-Met), 蛋氨酸锰 (Mn-Met), 蛋氨酸铬 (Cr-Met), 赖氨酸铜 (Cu-Lys), Zn-Lys, 甘氨酸铁 (Fe-Gly), 氨基酸铜 (Cu-AA), Fe-AA, 组氨酸锌 (Zn-His), 氨基酸锌 (Zn-AA) 等产品。

3 氨基酸螯合微量元素在水产动物中的应用

3.1 在鱼类养殖中的应用

3.1.1 国外的研究概况

近十几年,国外学者利用氨基酸螯合微量元素做了大量的养殖试验,但是研究主要集中在虹鳟 (*Salmo gairdneri*) 和斑点叉尾鲷 (*Ictalurus punctatus*) 两种鱼上。

早在 1987 年,Hardy 等^[34]就报道了投喂氨基酸螯合锌 (Zn-AA) 的虹鳟其体内的 Zn 含量明显高于投喂 ZnSO₄ 的虹鳟。2001 年,Apines^[35]也对 2 g 虹鳟进行了 15 周的投喂试验,在饲料中分别添加了 ZnSO₄ 和 Zn-AA (Zn 的添加量分别为 20 mg/kg 和 40 mg/kg),虽然生长率和摄食率没有显著差异,但是添加 Zn-AA 的虹鳟其碱性磷酸酶活性显著高于添加 ZnSO₄ 的虹鳟;在该作者所进行的另一个试验中,95 g 的虹鳟用上述相同饲料投喂,Zn-AA 的吸收量明显高于他组,且在 Zn 的添加量为 20 mg/kg 时,Zn-AA 的保持力比其他的明显要高。这可能与机体对微量元素的吸收利用有关。曾有研究表明,动物成体所能吸收饲料中的 Cu 不超过 5%~10%,而动物幼体则可吸收 15%~30%,所以在相同饲养条件下,所有组织 Cu 的含量都随年龄的增长而降低,Zn 在单胃动物体内吸收也有类似趋势^[36]。许梓荣^[37]也认为动物成体在 Fe 代谢过程中,由于红细胞分解时释放出来的卟啉铁几乎全被重新用于合成血红蛋白,故与动物幼体相比需要饲料中的 Fe 较少。

虽然 Zn 的来源不能显著影响鱼的生长速度^[38],但是 Zn-AA 可以增加机体的 Zn 含量,从而促进了碳酸酐酶、胰羧肽酶、谷氨酸脱氢酶、吡啶核苷酸脱氢酶的形成,激活了碱式磷酸酶等的活性,更好得维持胰岛素、核蛋白和前列腺素的代谢功能。

氨基酸螯合锰 (Mn-AA) 能够显著提高虹鳟的生长速度,Satoh^[39]对平均体质量为 1.30 g 的虹鳟分

别投喂质量比为 714 mg/kg 和 14 mg/kg 两种水平的 MnSO₄ 和 Mn-AA 的饵料 12 周,结果表明在两个水平上,摄食添加 Mn-AA 的虹鳟其生长率明显高于摄食 MnSO₄ 者,且整个鱼体内 Mn 含量及骨骼中的沉积量也明显要高。说明 Mn-AA 的生物利用率相对较高。

Apines 等^[40]用 3 种含有不同形式微量元素的饵料投喂 1.11 g 的虹鳟 15 周,第一种为 ZnSO₄、MnSO₄、CuSO₄,第二种为 ZnSO₄、MnSO₄ 和 Cu-AA,第三种为 Zn-AA、Mn-AA、Cu-AA。结果表明 Zn-AA、Mn-AA、Cu-AA 组的碱性磷酸酶活性显著高于其他组,且微量元素吸收效果也好于前两种。

Apines-Amar^[41]将含有微量元素的饲料分为 3 组,第 1 组(微量元素以硫酸盐形式存在)和第 2 组(微量元素以氨基酸螯合物的形式存在)分别含有相同量的微量元素,第 3 组含氨基酸螯合微量元素但其微量元素的量仅为第 1 组和第 2 组的一半,每种饲料饲喂 3 组(每组 30 条)虹鳟 15 周。结果表明,第 2 组骨骼和肝脏中 Cu 的沉积量明显高于第 1 组 ($P < 0.01$, $P < 0.05$);第 3 组的血细胞比容和碱性磷酸酶活性明显高于第 1 组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$);第 3 组的 DNA 聚合酶和铜、锌超氧化物歧化酶也被高效表达 ($P < 0.05$),体内 Mn、Zn 含量也高于第 1 组 ($P < 0.05$),且证明了第 3 组和第 1 组的效果是等同的。

Satoh^[42]曾对斑点叉尾鲷进行了 12 周的投喂试验。结果表明饲料中六磷酸肌醇 (C₆H₁₈O₂₄P₆, 俗称植酸,简称 PH) 质量分数为 2.2% 时比含有 1.1% 时会降低增质量 (653:853) 和饵料效率 (0.90:1.02),在投喂添加 Zn 的 50 mg/kg 且 PH 质量分数为 0~2.2% 的饲料时,鱼的骨骼内 Zn 的质量比由 132.7 μg/g 降到 59.1 μg/g。这是因为植酸盐能与饲料中的 Zn、Mg 等矿物质以及赖氨酸、精氨酸等氨基酸反应生成难溶的化合物,降低了营养素的利用率^[43]。但是在植酸等抗营养因子存在时,氨基酸螯合微量元素则表现出明显的优势。Apines^[44]研究了氨基酸螯合微量元素在含有磷酸三钙 (Ca₃(PO₄)₂, 简称 TCP) 和 PH 抑制因子的饲料中的实际效果:对 1.6 g 的虹鳟每天投喂近饱和的试验饲料 18 周,所用的 6 组饲料中,第 1~2 组含有以硫酸盐形式存在的微量元素,第 3~6 组含有氨基酸螯合微量元素,且第 1、3 组中不含 TCP 和 PH,第 4 组仅含 TCP,第 5 组仅含 PH,而第 2 组和第 6 组则同时含有两种抑制因子。结果表明第 2 组的鱼生长率、饲料利用率明显比其他组低;含 AA 组的体内 Cu、Mn 含量显著高于硫酸盐态微量元素组;不论是否包含 TCP 和 PH,在

摄食含有氨基酸螯合物微量元素的饲料时鱼体和骨骼中 Zn 的含量明显比其他组高;摄食含氨基酸螯合物微量元素饲料的鱼体内碱性磷酸酶的活性明显比摄食硫酸盐态微量元素组的高,不论是否包含 TCP 和 PH,铜、锌超氧化物歧化酶和 DNA 聚合酶在氨基酸螯合物微量元素组显著高于硫酸盐态微量元素组。这表明氨基酸螯合物微量元素能够竞争过微量元素的抑制因子,使微量元素更好地被鱼体利用。

Paripatananont 和 Lovell^[45] 用添加 Zn-Met 或 ZnSO₄ 的以蛋清或大豆为基础的纯化饲料喂养 1 龄的斑点叉尾鲷 10 周。结果表明,在蛋清饲料组鱼体获得最大增质量时,Zn-Met 和 ZnSO₄ 的添加量分别为 5.58 mg/kg,18.94 mg/kg,骨骼中 Zn 达到最大沉积量时分别为 6.58 mg/kg 和 19.91 mg/kg;而以大豆为基础的饲料组鱼体获最大增质量时对 Zn-Met 和 ZnSO₄ 需求量为 5.91 mg/kg 和 30.19 mg/kg,骨骼中达到最大沉积量时相应的需求量则为 12.82 mg/kg 和 80 mg/kg。这充分证明了在蛋清饲料中 Zn-Met 用来增质量和骨骼沉积的生物利用率是 ZnSO₄ 的 3 倍,在含有植酸的实用饲料中 Zn-Met 用来增质量和骨骼沉积的生物利用率则达到 ZnSO₄ 的 5~6 倍。

3.1.2 国内的研究概况

国内的学者也用氨基酸螯合物微量元素进行了一些鱼类的养殖试验,但是研究主要集中在鲤鱼、罗非鱼等国内养殖规模较大的品种上。

赵元凤^[46] 将体质量 200 g 左右的鲤鱼在网箱内喂养 30 d,试验表明添加复合氨基酸螯合物微量元素的 3 个试验组分别比添加无机态微量元素的对照组的增质量率提高 21.7%,15.7%,13.1%,饵料系数下降 41.7%,33.3% 和 29.2%,差异显著。到 1997 年,又对鲫鱼 (*Carassius auratus*) 和罗非鱼进行养殖试验,结果表明,鲫鱼中添加螯合物微量元素的 3 个试验组分别比添加无机态微量元素的对照组多增质量 68.1%,46.9%,37.1%,添加螯合物微量元素的两个罗非鱼试验组比添加无机态微量元素的对照组分别多增质量 75.8%,86.5%,而且肉质有所改善。并进一步提出了螯合物微量元素的添加量要少于或等于微量元素的理论需求量;大于理论需求量时鱼的生长速度虽然也显著高于无机形式,但是不如少于或等于时效果好^[47]。同期在罗非鱼的养殖中也得到相似的结论,摄食添加螯合物微量元素饲料的 4 组罗非鱼与摄食添加无机态微量元素饲料的对照组相比,增质量分别提高 75.7%,86.5%,108.5%,86.0%,饵料系数分别下降 29.2%,33.4%,42.5%,33.7%,差异显著^[48]。

赵元凤等^[49] 又在罗非鱼和鲤鱼的配合饲料中,分别用添加氨基酸螯合物微量元素添加剂和无机态微量元素添加剂对罗非鱼、鲤鱼在水簇箱中进行了对比喂养试验。结果表明氨基酸螯合物微量元素较无机态微量元素具有显著促生长作用:添加螯合物微量元素的 2 个试验组罗非鱼其平均特定生长率分别比无机态微量元素对照组提高 89.25%,79.61%,差异极显著 ($P < 0.01$),且罗非鱼螯合物微量元素组饵料系数为 2.2、2.3,大大低于饵料系数为 3.3 的对照组;鲤鱼螯合物微量元素试验组比对照组平均特定生长率提高 55%,差异显著 ($P < 0.05$),且饵料系数为 1.6,也显著低于饵料系数为 2.7 的无机态微量元素对照组。

李爱杰等^[50] 曾对罗非鱼进行水泥池内网箱养殖,结果表明氨基酸螯合物微量元素组比对照组增质量 17.84%,饵料系数下降 8.6%。同时该作者对鲤鱼也进行了喂养试验,结果表明氨基酸螯合物微量元素可以提高微量元素吸收率,Co,Cu,Zn,Fe,Mn 的吸收率分别提高了 46.48%,41.37%,16.17%,15%,5.82%,其中 Co,Cu,Zn,Fe 差异极显著。

宋进美等^[51] 也曾对鲤鱼和罗非鱼进行大规模的饲养试验,再次证实了添加氨基酸螯合物微量元素试验组的增质量率、成活率及饲料转化率均高于对照组:其中添加氨基酸螯合物微量元素组的鲤鱼比添加无机态微量元素的对照组增质量率提高 17.5%~39.6%,成活率提高 0.4%~0.8%,饲料转化率提高 18.0%~38.3%;罗非鱼增质量率提高 15%~36%,成活率提高 8.8%~9.2%,饲料转化率提高 16.4%~31.7%。1999 年 8 月 1 日~9 月 17 日,又在枣庄市峄城区龙泉庄水库进行了不同剂型微量元素饲喂鲤鱼的试验,氨基酸螯合物微量元素比添加无机态微量元素组的增质量率提高了 8.8%;且饵料转化率为 73.5%,比无机态微量元素组提高 10.2%;氨基酸螯合物微量元素组鱼肌肉的水分含量最低,而粗蛋白、粗脂肪的含量都是各试验组中最高的。从而得出:氨基酸微量元素在促进鱼体快速生长的同时,使饵料中各营养成分在鱼类自身的物质合成过程中的利用更为合理,因而使鱼体营养水平得以提高,且肌肉中 Fe,Cu,Zn,Mn 的质量比分别为 29.3 mg/kg,11.5 mg/kg,41.0 mg/kg,1.20 mg/kg,明显高于添加无机态微量元素组的 27.1 mg/kg,8.5 mg/kg,40.5 mg/kg,0.95 mg/kg^[52]。

3.2 在鲍养殖中的应用

国外学者 Tan 等^[53] 以 Zn-Met 和 ZnSO₄·7H₂O 作为 Zn 的来源,对皱纹盘鲍 (*Haliotis discus han-*

nai)的3组稚鲍投喂添加 Zn 为 5.6~84.6 mg/kg 的两种 Zn 源的饵料 16 周。结果表明,鲍生长率最大时需要的 Zn-Met 和 ZnSO₄·7H₂O 分别为 15.49 mg/kg 和 34.10 mg/kg,日贝壳增长率最大时分别需 15.16 mg/kg 和 33.99 mg/kg,软体组织的碱性磷酸酶活性最大时分别为 15.49 mg/kg 和 34.10 mg/kg,软体组织的 Zn 的沉积量最大时分别为 15.54 mg/kg 和 31.91 mg/kg,且 Zn 的最大富集量几乎保持不变。进而得出皱纹盘鲍对 Zn-Met 的生物利用率几乎是 ZnSO₄·7H₂O 的 2 倍。

同期,国内学者也在鲍的养殖方面做了一些研究。2000 年,吕景才等^[54]在相同的皱纹盘鲍基础饲料中分别添加几种不同形态的微量元素与不添加微量元素进行了喂养幼鲍的试验。结果表明,螯合态微量元素处理的鲍鱼其增质量率比对照组高 85.23%,无机态微量元素处理的比对照组高 27.08%。这说明鲍鱼基础饲料中微量元素的含量不能满足其快速生长的需求,如不额外添加,势必严重制约鲍鱼的生长、延长养殖周期、增加养殖成本。该试验中,无机态微量元素和螯合态微量元素处理的基础饲料和各微量元素的种类和质量分数完全相同,但螯合态微量元素处理的鲍鱼其生长效果却大大优于无机态微量元素,且差异极显著。这表明微量元素的形态对鲍鱼的生长也有很大影响,无机态的微量元素吸收率低、适口性差、生物利用率低,从而制约了鲍鱼的快速生长,且差异不显著,这就是很长一段时间人们都以为鲍的饲料不需添加微量元素的原因。

赵元凤^[33]的试验得到相似的结论:添加螯合态微量元素的 2 个试验组皱纹盘鲍的平均特定生长率分别比对照组提高 36.45% 和 64.49%,差异显著 ($P < 0.05$)。

3.3 在对虾养殖中的应用

阳会军等^[55]的研究表明,在基础饲料中添加 Cu-Met 和 CuSO₄ 两种不同形式的铜都能促进斑节对虾 (*Penaeus monodon*) 生长,但斑节对虾对氨基酸螯合微量元素的利用率比无机态的要高得多:以酪蛋白为蛋白源的基础饲料中添加 15 mg/kg Cu-AA 足以满足斑节对虾生长的需要,但若以 CuSO₄·5H₂O 为铜源,需要量在 30 mg/kg 以上。且添加前者可以显著提高增质量率,降低饲料系数。

同期,肖怀平等^[56]选用体长为 1.0~1.2 cm 的斑节对虾进行大塘养殖试验,投喂 112 d 发现,试验组每 667 m² 虾塘增产 4.23%;饵料系数下降 0.05,饲料利用率提高 2.75%,且每 667 m² 增加收益 926.4

元,经济效益显著。同时发现,试验组的摄食时间比对照组缩短 21.21%,也表明氨基酸螯合微量元素具有较强的诱食作用。

4 问题与展望

氨基酸螯合微量元素在水产动物中的优势是显而易见的,但是其生产工艺复杂,成本及市售价格较高,限制了其广泛应用。应根据生产需要和当地原料,充分利用动植物蛋白废弃物(如毛发、蹄角、虾头等),制取氨基酸再与微量元素螯合或在酶法水解过程中加入适量微量元素等方法,并不断改进生产工艺,从而降低加工成本,生产出符合市场需要的氨基酸螯合微量元素产品。

氨基酸螯合微量元素在水产动物中的应用现在主要集中在营养学方面,如对生长率和增质量率等传统指标的研究,其作用机理还有待于进一步研究。氨基酸螯合微量元素能否影响水产动物免疫功能的研究报道也很少,例如氨基酸螯合微量元素能否影响水产动物的细胞免疫和体液免疫水平等。

设计配方时,若饲料中添加氨基酸螯合微量元素,则可以将微量元素的添加量减少一半以上。但是还应考虑到氨基酸的平衡,并相应减少与微量元素螯合的氨基酸的量。

参考文献:

- [1] Terry L W,胡少超译.有机微量元素在断奶仔猪日粮中的应用[J].国外畜牧学——猪与禽,1998,1:8-12.
- [2] 藤冰,韩文友.微量元素氨基酸螯合物及其应用中的若干问题[J].饲料博览,1999,11(5):9-12.
- [3] 刘学剑.新型微量元素添加剂——氨基酸络(螯)合盐[J].饲料博览,1994,1:34-36.
- [4] 周毓平.动物营养研究进展[M].北京:中国农业出版社,1994.141-149.
- [5] 陈章宝,郑曙明.淡水白鲢、团头鲂、黄颡鱼主要消化酶活性研究[J].四川畜牧兽医学院学报,2001,15(3):10-15.
- [6] 庆宁,吕凤义,陈曼娜,等.不同 pH 条件下鳊鱼消化道蛋白酶活性研究[J].华南师范大学学报(自然科学版),2003,4:89-92.
- [7] 余涛,史立才,曲东风,等.黄颡鱼消化酶活性的初步研究[J].吉林农业大学,2002,24(5):92-94.
- [8] Hidalgo M C, Urea E, Sanz A. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Proteolytic and amylase activities [J]. *Aquaculture*, 1999,17(3-4):267-283.
- [9] Natalia Y, Hashim R, Ali A, et al. Characterization of digestive enzymes in a carnivorous ornamental fish, the Asian bony tongue *Scleropages formosus* (Osteoglossidae)

- [J]. *Aquaculture*, 2004, **233**(1-4):305-320.
- [10] 刘金兰, 严安生. 乌鳢消化系统蛋白酶活性研究[J]. 湖北农学院学报, 1997, **4**(17):265-270.
- [11] 张格丽, 李丽立. 氨基酸金属螯合物在动物营养中的应用效果研究进展[J]. 畜牧生态, 1998, **19**(4):41-44.
- [12] Sherman B R, Rowland R D. Mineral chelates: piggyback nutrients[J]. *Feed Management*, 1990, **41**(5):35-40.
- [13] Snedeker S M, Greger J L. Metabolism of zinc, copper and iron as affected by dietary protein, cysteine and histidine[J]. *The Journal of Nutrition*, 1983, **113**(3):644-652.
- [14] Wapnir R A, Garcia-Aranda J A, Mevorach D E K, *et al.* Differential absorption of zinc and low-molecular weight ligands in the rat gut in protein-energy malnutrition[J]. *J Nutr*, 1985, **115**:900-908.
- [15] Vercauteren K, Blust R. Bioavailability of dissolved zinc to the common mussel *Mytilus edulis* in complexing environments[J]. *Marine Ecology*, 1996, **137**:123-132.
- [16] Glover C N, Hogstrand C. Amino acid modulation of in vivo intestinal zinc uptake in freshwater rainbow trout[J]. *J Exp Biol*, 2002, **205**:151-158.
- [17] Glover C N, Bury N R, Hogstrand C. Zinc uptake across the apical membrane of freshwater rainbow trout intestine is mediated by high affinity, low affinity, and histidine-facilitated pathways[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2003, **1614**:211-219.
- [18] 董晓慧, 韩友文, 许丽. 内源配体对氨基酸螯合锌吸收的影响[J]. 饲料工业, 2003, **24**(7):10-13.
- [19] Found M T. Chelation and chelated elements[J]. *Appl Nutr*, 1974, **26**:6.
- [20] Rojas L X, *et al.* Relative bioavailability of two organic and inorganic sources fed to sheep[J]. *Animal science*, 1995, **73**(4):120-122.
- [21] Du Z, Hemken R W, Harmon R J. Copper metabolism of Holstein and Jersey cows and heifers fed diets high in cupric sulfate or copper proteinate[J]. *Dairy Sci*, 1996, **79**(10):1873-1880.
- [22] Marchetti M, Ashmead H D, Tossani N, *et al.* Comparison of the rates of B vitamin degradation when mixed with metal sulphates or metal amino acid chelates[J]. *Journal of food composition and analysis*, 2000, **13**:875-884.
- [23] Jeppseni R B, Borzelleca J F. Safety evaluation of ferrous bisglycinate chelate[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 1999, **37**:723-731.
- [24] Nelson E W. The amino acid as chemical temptation for trout and salmon[J]. *Feed Management*, 1991, **42**(3):6-10.
- [25] 袁书林, 刘益娟, 杨明君, 经荣斌. 微量元素氨基酸螯合物的研究与应用[J]. 饲料博览, 2002, **4**:9-11.
- [26] 张格丽, 李丽立. 氨基酸金属螯合物在动物营养中的应用效果研究进展[J]. 畜牧生态, 1998, **19**(4):41-44.
- [27] Joester K E, Jung G, Weber U, *et al.* Superoxide dismutase activity of Cu²⁺-amino acid chelates[J]. *FEBS Letters*, 1972, **25**(1):25-28.
- [28] 张洪波. 微量元素氨基酸螯合物及其应用[J]. 甘肃畜牧兽医, 2003, **169**:40-41.
- [29] 钟国清. 氨基酸微量元素螯合物的合成及其在养殖业中的应用[J]. 兽药与饲料添加剂, 2003, **8**(5):13-16.
- [30] 曾虹. 用理想蛋白设计对虾饲料配方[J]. 中国水产, 2001, **2**:83.
- [31] 易正戟. 氨基酸螯合物的营养及应用研究进展[J]. 兽药与饲料添加剂, 2001, **6**:26-29.
- [32] 周桂莲, 韩友文, 滕冰, 等. 氨基酸螯合铁对血红素合成的影响[J]. 营养学报, 2002, **24**(2):195-196.
- [33] 赵元凤, 吕景才, 刘靖. 复合螯合微量元素添加剂对鱼、贝生长及能量转化的影响[J]. 吉林农业大学学报, 2001, **23**(2):96-100.
- [34] Hardy R W, Sullivan C V, Koziol A M. Absorption, body distribution, and excretion of dietary zinc by rainbow trout (*Salmo gairdneri*) [J]. *Fish Physiol Biochem*, 1987, **3**:133-143.
- [35] Apines M J, Apines S, Satoh V, Kiron T, *et al.* Bioavailability of amino acid chelated and glass embedded zinc to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fingerlings [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2001, **7**(4):221-228.
- [36] 汪世新, 经荣斌. 氨基酸螯合铜的合成及应用研究[J]. 中国畜牧杂志, 1997, **33**(2):27-28.
- [37] 许梓荣. 畜禽矿物营养[M]. 浙江:浙江大学出版社, 1992, 151-190.
- [38] Maage A, Julshamn K, Berge G E. Zinc gluconate and zinc sulphate as dietary zinc sources for Atlantic salmon[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2001, **7**(4):183-187.
- [39] Satoh S, Apines M J, Tsukioka T, *et al.* Bioavailability of amino acid chelated and glass embedded manganese to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fingerlings [J]. *Aquac Res*, 2001, **32**:18-25.
- [40] Apines M J S, Satoh S, Kiron V, *et al.* Bioavailability and tissue distribution of amino acid-chelated trace elements in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* [J]. *Fisheries Science*, 2003, **69**(4):722-730.
- [41] Apines-Amar M J S, Satoh S, Caipang C M A, *et al.* Amino acid-chelate: a better source of Zn, Mn and Cu for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* [J]. *Aquaculture*, 2004, **240**(1-4):345-358.
- [42] Satoh S, Poe W E, Wilson R P. Effect of supplemental phytate and/or tricalcium phosphate on weight gain, feed efficiency and zinc content in vertebrae of channel

- catfish [J]. *Aquaculture*, 1989, **80**(1-2) :155-161.
- [43] 曾虹,姚斌,周文豪,等. 中性植酸酶在鲤鱼饲料中的应用效果[J]. 中国水产, 2001, 5 :87.
- [44] Apines M J S, Satoh S, Kiron V, *et al.* Availability of supplemental amino acid-chelated trace elements in diets containing tricalcium phosphate and phytate to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* [J]. *Aquaculture*, 2003, **25**(1-4) :431-444.
- [45] Paripatananont T, Lovell R T. Chelated zinc reduces the dietary zinc requirement of channel catfish, *Ictalurus punctatus*[J]. *Aquaculture*, 1995, **133**(1) :73-82.
- [46] 赵元凤,吕景才. 氨基酸螯合盐在鲤鱼饲养中的应用[J]. 中国饲料, 1994, 3 :27-28.
- [47] 赵元凤,吕景才. 氨基酸微量元素螯合物的生产与应用[J]. 水产学报, 1997, **21**(3) :263-268.
- [48] 赵元凤,吕景才,郭庆,等. 氨基酸螯合盐对罗非鱼促生长作用的研究[J]. 中国水产科学, 1997, **4**(2) :40-43.
- [49] 赵元凤,赵睿,吕景才. 氨基酸螯合盐对罗非鱼鲤鱼的促长效果[J]. 西南农业大学学报, 2000, **22**(2) :131-133.
- [50] 李爱杰,李静,王凤雷,等. 不同剂型微量元素对杂食性鱼生长和消化率的影响[J]. 中国饲料, 1994, 7 :15-19.
- [51] 宋进美,任培桃,王玉华,等. 复合氨基酸欲混剂的研究及饲喂鲤鱼罗非鱼试验[J]. 中国饲料, 1996, 8 :16-19.
- [52] 宋进美,王介银,王玉先. 不同剂型微量元素对鲤鱼生长及肌肉营养状况的影响[J]. 浙江海洋学院学报(自然科学版), 2001, 20 :137-141.
- [53] Tan B, Mai K. Zinc methionine and zinc sulfate as sources of dietary zinc for juvenile abalone, *Haliotis discus hannai* Ino[J]. *Aquaculture*, 2001, **192**(1) :67-84.
- [54] 吕景才,赵元凤,张晓晨,等. 微量元素添加剂形态对皱纹盘鲍生长的影响[J]. 西南农业大学学报, 2000, **22**(1) :71-73.
- [55] 阳会军,谭北平,方怀义. 饲料中添加蛋氨酸铜和硫酸铜对斑节对虾生长和存活的影响[J]. 饲料工业, 2001, **22**(10) :15-16.
- [56] 肖怀平,娄雪彪. 复合氨基酸微量元素在对虾养殖业的应用试验[J]. 浙江畜牧兽医, 2001, 2 :7-8.

(本文编辑:谭雪静)

(上接第 40 页)

Experimental studies on antiproliferation activities and early apoptosis inducement of polysaccharides from *Spirulina platensis*

YU Hong¹, L Ü Rui¹, ZHANG Xue-cheng²

(1. College of Medicine, Qingdao University, Qingdao 266021, China; 2. College of Marine Life Science, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Received: Dec. 20, 2005

Key words: polysaccharides from *Spirulina platensis* (PSP); antitumor effect; apoptosis; annexin V/PI

Abstract: In vitro experiments the antiproliferation activities of polysaccharides from *Spirulina platensis* (PSP) were evaluated on Hela cells and Hep G2 cells by MTT assay, the results showed that PSP (2.5 ~ 40 mg/L, 48 ~ 72 h) exhibited dose and time inhibition effects on the cell growth. The early apoptosis of Hela cells was detected by flow cytometry analysis with a combination of Annexin V-FITC and PI double staining, the apoptosis rates induced by PSP (5, 10, 20, 40 mg/L) were 30.3%, 32.6%, 34.8% and 38.8% respectively, which were higher than those of the normal control group ($P < 0.05$). Meanwhile, the apoptosis rate treated by PSP (40 mg/L) also increased in time-dependent manner. These results suggested that one of the anti-tumor mechanisms of PSP may be related to inhibition on cell proliferation and induction of notable apoptosis.

(本文编辑:张培新)