

新型蛋白源替代饲料中鱼粉对星斑川鲷(*Platichthys stellatus*)幼鱼氨基酸组成的影响*

段培昌^{1,2} 张利民¹ 王际英¹ 李宝山¹

(1. 山东省海洋水产研究所 烟台 264006; 2. 广东粤海饲料集团有限公司 湛江 524017)

摘要 以新型蛋白源(大豆浓缩蛋白、脱酚棉籽蛋白、喷雾血球蛋白粉)分别替代基础饲料(D0)中 17% (D17)、35% (D35)、52% (D52)和 69% (D69)的鱼粉, 配制 5 种等氮等能的饲料, 饲喂星斑川鲷幼鱼[初始体重(75.6±0.18)g] 60d, 以考察鱼粉替代对星斑川鲷幼鱼氨基酸组成的影响。结果表明, 试验组肌肉 Arg 和 His 含量显著增大($P<0.05$), Thr 含量差异不显著($P>0.05$), 其它必需氨基酸(EAA)含量均显著降低($P<0.05$); 试验组全鱼 EAA 总量无显著性差异($P>0.05$)。D69 组肝脏天冬氨酸氨基转移酶(AST)和天冬氨酸氨基转移酶/丙氨酸氨基转移酶(AST/ALT)显著低于其它各组($P<0.05$); 血清 AST 及 AST/ALT 随鱼粉替代量的增加显著增大($P<0.05$)。本试验条件下, 当替代饲料中 35% 的鱼粉时, 饲料 EAA 消化率及试验鱼肌肉和全鱼氨基酸组成均无显著性差异, 替代比例进一步加大, 会对试验鱼肝脏生理功能产生影响。

关键词 星斑川鲷, 鱼粉, 氨基酸, 丙氨酸氨基转移酶, 天冬氨酸氨基转移酶

中图分类号 S963

鱼粉由于其蛋白质量优、氨基酸平衡、具有良好的适口性以及未知的促生长因子, 已成为水产饲料中应用最广泛的蛋白源。然而, 近年来由于过度捕捞以及环境恶化等因素的影响, 鱼粉资源日益减少; 另外, 随着世界水产养殖规模的不断扩大, 鱼粉的需求持续增加, 供给出现严重不足。因此, 为降低养殖成本, 减少鱼粉中多余磷的排放对环境的污染, 寻找新型蛋白源成为世界水产养殖业亟待解决的重要课题之一。已有的研究表明, 用动植物蛋白源替代鱼粉在其它海水鱼类中是可行的(Gomez-Requeni *et al*, 2004; Ai *et al*, 2006; Kikuchi, 1999; Chou *et al*, 2004; 柳学周等, 2009)。鱼类生长所必需的营养素大部分需要从饲料中直接获得, 饲料质量的好坏直接影响养殖对象的健康及其生长, 衡量饲料质量的优劣在于蛋白质含量的高低及其氨基酸是否平衡。

星斑川鲷(*Platichthys stellatus*), 隶属鲷形目

(Pleuronectiformes)、鲷科(Pleuronectida)、星鲷属(*Verasper*), 具生长速度快、抗病力强、易于养殖管理等特点, 是继牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)、大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)以后被认为最有发展前景的海水养殖鱼类之一。目前关于星斑川鲷的研究主要集中在不同蛋白质源的饲料对消化酶的影响(Santigosa *et al*, 2008; 王红权等, 2000)、不同蛋白质水平的饲料对消化酶的影响(Debnath *et al*, 2007; 邵庆均等, 2004)、饲料种类及成分对消化酶的影响(Perrin *et al*, 2004)、饲料添加剂对消化酶的影响(黎军胜等, 2005; 杨代勤等, 2006)等方面, 而用新型动植物蛋白源替代鱼粉对其氨基酸组成和转氨酶的影响尚未见报道。

本实验选用几种新型蛋白源(大豆浓缩蛋白、脱酚棉籽蛋白、喷雾血球蛋白粉), 通过调节氨基酸平衡, 配制不同的等氮等能饲料, 以星斑川鲷幼鱼为实验对象, 经过 60 天养殖试验, 比较肌肉、全鱼及血清中

* 现代农业产业技术体系项目, nycyt-50 号; 国家科技部农转资金项目, 03EFN213700155 号; 山东省科技发展计划项目, 2010—2013; 山东省水生动物营养与饲料泰山学者岗位经费资助, HYK201004 号。段培昌, E-mail: pchduan@163.com

通讯作者: 张利民, 研究员, E-mail: ytzlm@139.com

收稿日期: 2010-04-26, 收修改稿日期: 2010-06-25

氨基酸含量的差异, 并分析影响氨基酸转化相关的酶类, 为星斑川鲈幼鱼饲料中鱼粉的替代提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验饲料的配制

根据试验要求, 选用新型蛋白源(大豆浓缩蛋白、脱酚棉籽蛋白、喷雾血球蛋白粉), 以脱脂鱼粉为对照, 通过调节试验饲料氨基酸水平, 配制 5 种等氮等能饲料(D0、D17、D35、D52 和 D69)(表 1), D0(添加 58% 脱脂鱼粉)为对照组, D17、D35、D52 和 D69 分别替代 17%、35%、52%和 69%鱼粉, 为试验饲料组。所有原料分析营养成分后, 粉碎过 80 目筛, 按配比称量后, 添加 0.1%的 Cr_2O_3 作外源性指示剂, 加适量水混合均匀, 经螺旋挤压机加工成 $2.5\text{mm} \times 3\text{mm}$ 的颗粒, 70 ℃ 烘干, 置于通风干燥处保存、使用。

1.2 试验鱼的养殖管理

养殖试验在山东省海洋水产研究所全封闭水循

环系统中进行。试验所用鱼购自荣成市港西水产养殖场, 为当年繁殖的同一批鱼苗, 平均初始体重为 $(75.60 \pm 0.18)\text{g}$ 。正式试验前, 实验鱼在养殖系统中驯化 2 周后, 随机分组, 试验共分 5 组, 每组设 3 个平行, 每个平行 20 尾鱼, 分别放于 $70\text{cm} \times 80\text{cm}$ 的圆柱形养殖桶中, 控制水深 40cm 左右, 试验期 60d。微流水养殖, 保证溶氧 $>5\text{mg/L}$, 氨氮、亚硝酸氮均 $<0.1\text{mg/L}$, 控制水温在 (19.0 ± 0.5) ℃, pH 7.8—8.2, 盐度 28—30。每天饱食投喂饲料两次(08:00, 17:00)。投喂 15min 后, 从系统自带的排水口将残饵排出, 数颗粒, 计算残饵量。养殖试验最后两周, 投饵 3h 后从系统自带的粪便收集系统收集粪便, 置于 -80 ℃ 下保存, 待分析。

1.3 样品采集与分析

试验结束后, 每桶取 6 尾鱼, 其中 3 尾取血离心收集血清, 备测血清中 AST 和 ALT, 取肝脏用于测定 AST 和 ALT 等, 然后取侧线上侧背肌, 用于测定氨基酸组成, 其余 3 尾鱼留作全鱼测定氨基酸组成。

表 1 试验饲料配方(%)
Tab.1 The compositions of the experimental fish diets (%)

原料	饲料				
	D0	D17	D35	D52	D69
脱脂鱼粉	58	48	38	28	18
大豆浓缩蛋白	4	8	12	16	20
脱酚棉籽蛋白	2	6	10	14	18
花生粕	8	8	8	8	8
喷雾血球蛋白粉	0	1	2.7	4.5	6.2
乌贼内脏粉	3	3	3	3	3
鱼油	4	5.4	6.8	8.2	9.4
豆油	3	3	3	3	3
复合矿物质 ^a	2	2	2	2	2
复合维生素 ^b	1	1	1	1	1
氯化胆碱	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
黏合剂(α -淀粉)	2.24	2.24	2.24	2.24	2.24
填充剂(面粉)	12.1	9.595	6.317	3.048	0
抗氧化剂	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06
赖氨酸	0	0.153	0.386	0.509	0.712
蛋氨酸	0	0.142	0.284	0.426	0.568
磷酸二氢钙	0	1	2	3	4
氯化钙	0	0.8	1.6	2.4	3.2
植酸酶(5000U)	0	0.01	0.013	0.017	0.02
Cr_2O_3	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
合计	100	100	100	100	100

注: a. 复合矿物质(mg/kg 饲料): $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 5068; KCl 3020.5; $\text{KAl}(\text{SO}_4)_2$ 12.3; CoCl_2 40.0; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 253.0; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 10.0; KI 8.0; $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 73.1; Na_2SeO_3 2.5; $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Fe} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1633.0; NaCl 100.0; NaF 4.0。b. 复合维生素(mg/kg 饲料): 维生素 A 38.0; 维生素 D_3 13.2; α -生育酚 210.0; 硫胺素 115.0; 核黄素 380.0; 盐酸吡哆醇 88.0; 泛酸 368.0; 烟酸 1030.0; 生物素 10.0; 叶酸 20.0; 维生素 B_{12} 1.3; 肌醇 4000.0; 抗坏血酸 500.0

表 2 全鱼及试验饲料营养组成(%干物质)
Tab.2 Nutrient compositions of whole fish fed with the experimental diets (% DM)

营养组成	全鱼及饲料					
	全鱼	D0	D17	D35	D52	D69
粗蛋白	60.91±0.08	54.58±0.04 ^a	54.77±0.03 ^a	54.29±0.06 ^a	54.25±0.09 ^a	54.41±0.035 ^a
粗脂肪	25.44±0.04	16.67±0.09 ^a	16.72±0.13 ^a	16.70±0.08 ^a	16.93±0.11 ^a	16.82±0.02 ^a
灰分	10.62±0.12	14.31±0.02 ^a	13.69±0.07 ^b	13.22±0.10 ^c	12.58±0.04 ^d	12.04±0.14 ^c
必需氨基酸						
苏氨酸	2.08±0.04	1.92±0.03 ^a	2.04±0.06 ^a	1.86±0.07 ^a	1.95±0.09 ^a	1.76±0.14 ^b
精氨酸	2.93±0.06	3.82±0.11 ^b	4.19±0.14 ^{ab}	3.98±0.09 ^b	4.62±0.24 ^a	4.44±0.15 ^a
缬氨酸	2.34±0.07	2.43±0.06 ^a	2.30±0.02 ^b	2.60±0.15 ^a	2.31±0.07 ^b	2.57±0.10 ^a
蛋氨酸	1.49±0.01	1.36±0.08 ^a	1.36±0.07 ^a	1.47±0.12 ^a	1.34±0.06 ^a	1.52±0.12 ^a
异亮氨酸	1.65±0.05	2.00±0.08 ^a	1.77±0.03 ^b	2.01±0.15 ^a	1.61±0.07 ^c	1.76±0.04 ^b
亮氨酸	3.39±0.03	3.71±0.04 ^b	3.49±0.10 ^c	4.02±0.14 ^a	3.63±0.07 ^b	3.98±0.05 ^a
苯丙氨酸	2.24±0.08	2.22±0.04 ^c	2.16±0.03 ^c	2.49±0.13 ^{ab}	2.37±0.08 ^b	2.61±0.01 ^a
赖氨酸	3.48±0.11	3.45±0.28 ^a	3.23±0.24 ^a	3.80±0.19 ^a	3.26±0.17 ^a	3.68±0.14 ^a
组氨酸	1.81±0.10	1.36±0.11 ^d	1.67±0.02 ^b	1.46±0.02 ^c	1.82±0.07 ^a	1.69±0.04 ^b
必需氨基酸总量	21.41±1.45	22.27±1.28 ^a	22.21±1.41 ^a	23.69±1.59 ^a	22.91±1.32 ^a	24.01±0.96 ^a
非必需氨基酸						
天冬氨酸	6.99±0.02	5.35±0.12 ^b	5.84±0.17 ^a	5.26±0.21 ^b	6.02±0.23 ^a	5.43±0.19 ^b
谷氨酸	9.93±0.07	8.77±0.14 ^c	9.46±0.19 ^b	8.75±0.11 ^c	9.74±0.27 ^a	8.99±0.33 ^{bc}
丝氨酸	3.56±0.06	2.36±0.07 ^{bc}	2.57±0.02 ^a	2.37±0.00 ^{cd}	2.63±0.08 ^a	2.42±0.03 ^b
甘氨酸	5.04±0.03	3.83±0.11 ^a	3.36±0.19 ^b	3.62±0.22 ^b	2.94±0.19 ^c	2.95±0.14 ^c
丙氨酸	3.95±0.01	3.25±0.03 ^a	3.10±0.10 ^b	3.16±0.14 ^b	2.89±0.07 ^c	2.80±0.05 ^c
脯氨酸	1.43±0.02	1.37±0.08 ^b	1.25±0.07 ^b	1.40±0.05 ^a	1.17±0.02 ^c	1.26±0.05 ^b
半胱氨酸	0.75±0.02	0.42±0.00 ^c	0.59±0.01 ^b	0.40±0.05 ^c	0.62±0.02 ^a	0.49±0.07 ^c
酪氨酸	1.37±0.10	1.83±0.09 ^a	1.68±0.11 ^a	1.72±0.08 ^a	1.63±0.05 ^a	1.69±0.05 ^a
非必需氨基酸总量	33.02±1.36	27.18±1.55 ^a	27.85±1.43 ^a	26.68±1.29 ^a	27.64±1.82 ^a	26.03±1.32 ^a

注: 色氨酸因酸水解破坏, 未测, 下同。表中数据为平均值±标准误(n=3)。D0—D69 组数据同行上标不同字母表示有显著差异(P<0.05)

1.3.1 常规营养成分分析 参照以下方法进行(AOAC, 2000): 干物质在 105 ℃下烘干至恒重, 通过失重法测定; 粗蛋白采用 FOSS 定氮仪(Kjeltec™ 2100)测定; 粗脂肪采用索氏抽提仪进行测定; 灰分在马福炉中 550 ℃灼烧 3h, 失重法测定。

1.3.2 表观消化率 饲料和粪便中 Cr₂O₃ 的测定参考顾宪红等(2006)、朱晓鸣等(2006)的方法, 经高氯酸和硝酸消化后, 用 AA-800 原子吸收分光光度计石墨炉法测定。

表观消化率(ADC)(%)

$$= \left(1 - \frac{\text{饲料中Cr}_2\text{O}_3}{\text{粪便中Cr}_2\text{O}_3} \times \frac{\text{粪便中某养分含量}}{\text{饲料中某养分含量}} \right) \times 100$$

1.3.3 氨基酸分析 肌肉和全鱼氨基酸分析采用(1+1)盐酸在 110 ℃下水解 22h, 利用 DABS 柱前衍生法在岛津 LC-10AT 型高效液相色谱仪上测定。

色谱条件:

柱子: Ultrasphere C18 250mm×4.6;

检测波长: 436nm; 流速: 1.4ml/min;

流动相: A: 11mmol/L 柠檬酸, 用 NaOH 调 pH 至 6.4, 含 4% DMF(二甲基甲酰胺); B: 30% A 液、70% 乙腈(含 4% DMF);

洗脱过程持续 39.9min, 流动相 B 的百分含量在 0、17.2、23.2、29.2 和 39.9min 分别调整为 56%、86%、100%、25%和 25%。

1.3.4 肝脏及血清中 AST 及 ALT 的测定 采用速率法(试剂购自北京利德曼生化技术有限公司), 在日立 2010 全自动生化仪上操作。

2 结果

2.1 试验鱼对不同饲料必需氨基酸消化利用状况

由表 3 可见, 当用新型蛋白源替代鱼粉的 17%和 35%时, 9 种必需氨基酸的消化率与对照组相比均无

显著性差异($P>0.05$), 当替代比例超过 52%时, 9 种必需氨基酸的消化率表现为显著降低($P<0.05$)。

2.2 试验鱼肌肉中氨基酸含量

表 4 结果显示, 当用新型蛋白源替代鱼粉的 69% 时, 必需氨基酸中 Val、Met、Ile、Leu、Phe 及 Lys 均表现出显著降低($P<0.05$), 而 Arg 和 His 却显著增

大($P<0.05$), Thr 无显著性差异($P>0.05$)。非必需氨基酸中 Gly、Ala、Pro 和 Tyr 含量均有降低的趋势。除 Gly 外, D17、D35、D52 组其它各氨基酸含量与对照组均无显著性差异($P>0.05$)。

2.3 试验鱼全鱼氨基酸的比较

如表 5 所示, 随着新型蛋白源替代鱼粉的增大,

表 3 试验鱼对不同饲料必需氨基酸的利用状况(%)
Tab.3 Utilization of EAA for different diets (%)

氨基酸	饲料				
	D0	D17	D35	D52	D69
苏氨酸	90.2±0.50 ^a	92.2±0.75 ^a	89.8±0.86 ^a	73.5±0.22 ^b	74.8±3.39 ^b
精氨酸	94.5±0.56 ^a	94.7±1.11 ^a	93.4±0.66 ^a	82.7±0.42 ^b	83.3±2.45 ^b
缬氨酸	91.6±0.29 ^a	92.8±1.03 ^a	91.1±0.37 ^a	76.0±2.83 ^c	81.9±0.69 ^b
蛋氨酸	93.7±0.28 ^a	94.9±0.78 ^a	93.7±1.54 ^a	84.0±2.09 ^b	90.9±0.16 ^a
异亮氨酸	92.6±0.55 ^a	93.8±1.54 ^a	91.1±0.35 ^a	74.4±3.78 ^c	82.6±1.51 ^b
亮氨酸	93.2±2.39 ^a	94.2±1.23 ^a	92.2±0.42 ^a	77.8±2.87 ^b	83.0±0.62 ^b
苯丙氨酸	92.2±0.53 ^a	92.5±1.80 ^a	91.5±0.53 ^a	77.3±2.49 ^b	82.4±0.08 ^b
赖氨酸	94.9±0.42 ^a	95.5±0.99 ^a	94.1±0.37 ^a	82.6±2.15 ^c	87.8±0.32 ^b
组氨酸	91.5±0.45 ^a	92.8±1.57 ^a	91.7±0.88 ^a	79.1±1.35 ^b	76.7±4.08 ^b

注: 表中数据为平均值±标准误($n=3$), 同一行右上角不同字母表示有显著差异($P<0.05$), 下同

表 4 试验鱼肌肉中氨基酸含量(%干物质)
Tab.4 Amino acids contents in muscle for different diets (% DM)

氨基酸	饲料				
	D0	D17	D35	D52	D69
必需氨基酸					
苏氨酸	2.89±0.09	2.98±0.06	3.13±0.09	3.10±0.04	3.19±0.26
精氨酸	4.17±0.40 ^b	4.32±0.08 ^{ab}	4.60±0.11 ^{ab}	4.57±0.07 ^{ab}	4.89±0.45 ^a
缬氨酸	3.70±0.09 ^a	3.76±0.03 ^a	3.99±0.11 ^a	3.89±0.04 ^a	3.03±0.46 ^b
蛋氨酸	2.41±0.08 ^{ab}	2.48±0.02 ^{ab}	2.57±0.15 ^{ab}	2.65±0.02 ^a	2.13±0.28 ^b
异亮氨酸	3.42±0.10 ^a	3.47±0.03 ^a	3.66±0.09 ^a	3.60±0.05 ^a	2.68±0.53 ^b
亮氨酸	6.18±0.18 ^{ab}	6.25±0.04 ^{ab}	6.59±0.20 ^a	6.55±0.08 ^a	5.14±0.77 ^b
苯丙氨酸	3.08±0.07 ^{ab}	3.12±0.02 ^{ab}	3.35±0.08 ^a	3.29±0.04 ^a	2.64±0.30 ^b
赖氨酸	6.69±0.16 ^{ab}	6.77±0.08 ^{ab}	7.28±0.22 ^a	7.20±0.11 ^a	5.73±0.93 ^b
组氨酸	1.48±0.04 ^b	1.54±0.06 ^b	1.73±0.03 ^{ab}	1.71±0.02 ^b	2.11±0.40 ^a
必需氨基酸总量	34.02	34.69	36.90	36.56	31.54
非必需氨基酸					
天冬氨酸	7.51±0.15	7.61±0.19	7.87±0.27	8.11±0.06	8.22±0.24
谷氨酸	11.30±0.21	11.52±0.19	11.86±0.24	11.99±0.11	12.03±0.22
丝氨酸	3.08±0.05	3.17±0.05	3.32±0.11	3.35±0.04	3.44±0.22
甘氨酸	3.82±0.14 ^b	3.89±0.03 ^{ab}	4.07±0.14 ^a	3.99±0.08 ^a	3.19±0.13 ^b
丙氨酸	4.48±0.09 ^{ab}	4.56±0.04 ^{ab}	4.86±0.14 ^a	4.81±0.06 ^{ab}	4.21±0.13 ^b
脯氨酸	1.33±0.05 ^{ab}	1.33±0.04 ^{ab}	1.43±0.10 ^a	1.38±0.02 ^a	1.12±0.11 ^b
半胱氨酸	0.46±0.01 ^b	0.51±0.03 ^b	0.52±0.01 ^b	0.53±0.01 ^b	0.82±0.01 ^a
酪氨酸	2.87±0.11 ^{ab}	3.01±0.05 ^a	3.14±0.02 ^a	3.12±0.04 ^a	2.23±0.03 ^b
非必需氨基酸总量	34.85	35.60	37.07	37.28	35.26

必需氨基酸含量在统计上虽然无显著性差异,但却表现出下降的趋势,尤其 Val 和 Met 下降显著($P<0.05$), 非必需氨基酸含量则无显著性差异($P>0.05$)。

2.4 试验鱼肝脏及血清 AST、ALT 和 AST/ALT

比较肝脏中 AST 和 AST/ALT 的大小(表 6), D69 组显著低于对照组 D0 组($P<0.05$), 与其它组相比均呈现下降趋势; 而血清中 AST 及 AST/ALT 的大小随着鱼粉替代量的增加却有显著增大趋势($P<0.05$),

ALT 虽然在统计上无显著性差异,但同样有增大趋势。

3 讨论

与鱼粉相比, 植物蛋白源的必需氨基酸含量较低, 缺乏某种或某几种必需氨基酸, 其中蛋氨酸和赖氨酸为最主要的限制性氨基酸(Bautista-Teruel *et al*, 2003; Hasan *et al*, 1997)。故在植物性蛋白源替代鱼粉的研究中往往补充晶体氨基酸。已有的研究表明,

表 5 试验鱼全鱼氨基酸含量(%干物质)
Tab.5 Amino acids contents in whole fish for different diets (%DM)

氨基酸	饲料				
	D0	D17	D35	D52	D69
必需氨基酸					
苏氨酸	2.17±0.07	2.21±0.13	2.26±0.22	2.14±0.02	2.32±0.08
精氨酸	2.79±0.14	3.19±0.10	2.93±0.12	2.80±0.09	2.73±0.08
缬氨酸	2.91±0.09 ^a	2.85±0.10 ^{ab}	2.69±0.13 ^{ab}	2.65±0.04 ^{ab}	2.57±0.05 ^b
蛋氨酸	1.83±0.07 ^a	1.77±0.05 ^{ab}	1.72±0.09 ^{ab}	1.61±0.06 ^b	1.67±0.05 ^{ab}
异亮氨酸	2.58±0.10	2.50±0.13	2.35±0.17	2.29±0.07	2.26±0.02
亮氨酸	4.51±0.16	4.42±0.17	4.22±0.20	4.14±0.12	4.22±0.09
苯丙氨酸	2.47±0.10	2.43±0.09	2.30±0.08	2.27±0.06	2.30±0.03
赖氨酸	4.60±0.16	4.54±0.15	4.44±0.17	4.38±0.16	4.35±0.05
组氨酸	1.09±0.38	1.19±0.13	1.27±0.20	1.17±0.01	1.16±0.09
必需氨基酸总量	24.95	25.10	24.18	23.45	23.58
非必需氨基酸					
天冬氨酸	5.45±0.22	5.57±0.25	5.48±0.11	5.23±0.04	5.33±0.10
谷氨酸	7.98±0.31	8.14±0.23	8.10±0.12	7.67±0.11	7.74±0.13
丝氨酸	2.64±0.09	4.60±0.14	2.73±0.08	2.62±0.02	3.11±0.08
甘氨酸	5.68±0.31	5.42±0.22	5.23±0.23	5.55±0.26	5.24±0.04
丙氨酸	4.11±0.18	4.01±0.19	3.92±0.20	3.96±0.10	4.17±0.05
脯氨酸	1.67±0.09	1.59±0.04	1.57±0.11	1.65±0.07	1.62±0.02
半胱氨酸	0.33±0.03	0.34±0.05	0.42±0.01	0.33±0.01	0.32±0.02
酪氨酸	2.10±0.09	2.08±0.13	1.96±0.09	1.95±0.02	2.07±0.05
非必需氨基酸总量	29.96	31.75	29.41	28.96	29.60

表 6 试验鱼肝脏及血清 AST、ALT 和 AST/ALT
Tab.6 AST, ALT and AST/ALT ratios in liver and blood serum for different diets

氨基酸	饲料				
	D0	D17	D35	D52	D69
肝脏					
AST(U/g protein)	337.91±7.38 ^b	332.66±7.49 ^b	335.50±9.10 ^b	349.40±2.93 ^a	322.37±5.89 ^c
ALT(U/g protein)	289.88±4.71	283.74±7.67	277.26±4.38	300.60±4.42	290.74±8.34
AST/ALT	1.17±0.01 ^a	1.18±0.00 ^a	1.21±0.02 ^a	1.17±0.02 ^a	1.11±0.01 ^b
血清					
AST(U/L)	54.05±0.95 ^d	54.00±2.30 ^d	73.95±2.42 ^c	102.25±2.38 ^a	90.70±4.90 ^b
ALT(U/L)	16.55±0.55	18.15±0.35	20.70±1.53	24.40±1.36	23.90±1.27
AST/ALT	3.27±0.05 ^d	2.98±0.03 ^d	3.59±0.02 ^c	4.18±0.02 ^a	3.82±0.02 ^b

海水鱼类能够有效利用饲料中的晶体氨基酸。Peres 等(2005)用复合晶体氨基酸替代饲料部分鱼粉中蛋白含量,结果表明,当替代量达到 25%时,试验饲料对试验鱼的生长并未产生任何不利影响。对尖吻鲈(*Lates calcarifer*) (Williams *et al*, 2001)、五条鲷(Watanabe *et al*, 2001)、真鲷(*Pagrus major*) (Takagi *et al*, 2001)的研究结果也表明,饲料中补充 Lys 和 Met,可有效促进其生长。本试验结果表明,当新型蛋白源对鱼粉替代量达到 52%时,肌肉中必需氨基酸的含量与对照组相比,不仅无显著性差异,反而有增加趋势(表 4、表 5),但当替代饲料中 69%的鱼粉时,即便在饲料中添加了 Lys 和 Met,肌肉中 Lys 和 Met 的含量仍表现出下降趋势,在全鱼中除 Val 和 Met 有显著性差异外,其它必需氨基酸在统计上无显著性差异,但在数值上有下降趋势,说明星斑川鲷幼鱼对外源性氨基酸利用有限。本研究认为,影响试验鱼体氨基酸含量的因素包括以下几点:

3.1 试验饲料氨基酸含量及其消化率

随着试验饲料中花生粕含量的增加,饲料中 Arg 含量也逐渐增大,从而引起肌肉中 Arg 含量呈增加趋势(表 4)。刘立鹤等(2008)用花生粕替代鱼粉对对虾的研究结果也表明,随着花生粕替代鱼粉量的增加,对虾体内氨基酸含量不断增大。被消化吸收的氨基酸首先进入血液,然后一部分进入肝脏,另一部分随血液循环进入不同的组织,参与组织蛋白的合成以及其它功能酶类的合成等。本实验结果表明,当鱼粉替代量达到 52%时,9 种必需氨基酸的消化率均呈现显著降低趋势(表 3),而氨基酸消化吸收率的降低直接影响组织蛋白的合成。

3.2 肝脏中 AST、ALT 及 AST/ALT 的大小

转氨酶是催化氨基酸氧化分解时将氨基转移到 α -酮酸的酶,氨基转移是氨基酸代谢中基本生化反应之一,在鱼体内存在着多种氨基转移酶,丙氨酸氨基转移酶(ALT)和天冬氨酸氨基转移酶(AST)是其中最重要的两种。正常情况下,AST 和 ALT 主要存在于肝脏中,血清中含量却很低。肝脏中 AST 能使氨基在 Ala 和 Glu 之间转移,在非必需氨基酸的合成和蛋白质的分解过程中起着重要的中介作用,AST 活性升高,尤其 AST/ALT 比值的升高表明氨基酸代谢旺盛,蛋

白质分解代谢下降,而合成代谢增强,有利于氮在体内的沉积(邓君明, 2006)¹⁾。血清转氨酶活力反应了肝脏受损伤的程度,血清 AST、ALT 酶活力越高表明肝脏受损伤越严重。表 6 结果显示,随着新型蛋白源替代鱼粉量的增大,肝脏中 AST 和 AST/ALT 均呈下降趋势,相反,血清中 AST 和 AST/ALT 却呈增大趋势,说明试验饲料中的某些成分抑制了肝脏中 AST 的活力,并对肝脏产生了不同程度的损伤。当菜粕和棉粕用量达到 58%时试验鱼血清 AST、ALT 活力显著升高,表明罗非鱼肝功能已受到损害(林仕梅等, 2007)。Viyakarn 等(1992)对鲮鱼的研究表明,在较高替代水平(40%或 50%的大豆蛋白)下鱼体的 AST 和 ALT 均高于较低的替代水平(0%—30%大豆蛋白)。Go'mez-Requeni 等(2004)以玉米蛋白粉、小麦面筋蛋白、挤压豌豆和菜籽粕等植物性蛋白为原料替代鱼粉,通过调节试验饲料的必需氨基酸水平,对金头鲷(*Sparus aurata*)幼鱼的生长和氨基酸利用率等进行研究,结果表明,各试验组间肝脏中 AST 及 ALT 活力并无显著性差异,这可能是试验鱼种间差异引起的,具体原因有待试验进一步证实。

3.3 饲料中一些抗营养因子的影响

植物蛋白源中的抗营养因子(ANFS)是影响其广泛应用的重要因素。大豆蛋白源中的抗营养因子如凝集素、蛋白酶抑制因子、热稳定并具有免疫活性的球状蛋白如大豆球蛋白等往往影响养殖对象的生长(Francis *et al*, 2001),其中胰蛋白酶抑制剂(TIA)能够抑制蛋白酶活性,影响蛋白质的消化吸收利用。花生粕中也含有少量的胰蛋白酶抑制剂和黄曲霉素,其中黄曲霉素能扰乱水生动物正常的生理功能,从而对其产生毒害作用(Hasan *et al*, 1997)。胰蛋白酶抑制剂的作用机理是胰蛋白酶抑制剂与小肠中的胰蛋白酶及糜蛋白酶结合,形成稳定的复合物,使酶失活(艾庆辉等, 2002; Kaushik *et al*, 1995; Escaffre *et al*, 1997),导致食物蛋白质的消化率降低,引起外源性氮的损失,另外,胰蛋白酶抑制剂还可引起胰腺分泌活动增强,导致胰蛋白酶和糜蛋白酶的过度分泌,使原本用于合成体组织蛋白的这些氨基酸转而用于合成蛋白酶,并与抑制剂形成复合物而最终通过粪便排出体外,从而导致内源性氮的大量损失(张璐, 2007)²⁾。

1) 邓君明, 2006. 动植物蛋白源对牙鲆摄食、生长和蛋白质及脂肪代谢的影响. 青岛: 中国海洋大学博士学位论文, 27—39

2) 张 璐, 2007. 饲料蛋白源及抗营养因子对中华绒螯蟹生理生化影响的初步研究. 上海: 华东师范大学硕士学位论文,

4 小结

在本试验中, 用新型蛋白源替代饲料中部分鱼粉, 并调节饲料氨基酸水平, 当替代比例达到 35%时, 饲料必需氨基酸消化率及试验鱼肌肉和全鱼氨基酸组成均未受到显著影响, 当替代比例达到 69%时, 肝脏可能会受到不同程度的损伤, 从而影响氨基酸的合成转运, 导致试验鱼肌肉和全鱼氨基酸含量下降。

参 考 文 献

- 王红权, 孙桂芳, 赵玉蓉, 2000. 异育银鲫摄食 5 种不同动物蛋白源饲料后消化酶活性变动比较. 内陆水产, 2: 9—11
- 艾庆辉, 谢小军, 2002. 南方鲇的营养学研究: 饲料中大豆蛋白水平对生长的影响. 水生生物学报, 26(1): 57—65
- 朱晓鸣, 解绶启, 雷 武等, 2006. 鱼类消化率测定方法. 中华人民共和国水产行业标准, SC/T1089-2006. 北京: 中国农业出版社, 1—9
- 刘立鹤, 黄 峰, 侯永清等, 2008. 饲料中用花生粕替代鱼粉对凡纳对虾生长和氨基酸组成的影响. 大连水产学院学报, 23(5): 370—375
- 杨代勤, 陈 芳, 阮国良, 2006. 饲料中添加胆碱对黄鳝生长、组织脂肪含量及消化酶活性的影响. 水产学报, 30(5): 676—682
- 邵庆均, 苏小凤, 许梓荣, 2004. 饲料蛋白水平对宝石鲈增重和胃肠道消化酶活性影响. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 30(5): 553—556
- 林仕梅, 麦康森, 谭北平, 2007. 菜粕、棉粕替代豆粕对奥尼罗非鱼(*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*)生长、体组成和免疫力的影响. 海洋与湖沼, 38(2): 168—173
- 柳学周, 徐永江, 刘新富等, 2009. 条斑星鲃(*Verasper moseri*)的早期生长发育特征. 海洋与湖沼, 40(6): 699—706
- 顾宪红, 李文英, 张 萍, 2006. 饲料中铬的测定. 中华人民共和国国家标准, GB/T13088-2006. 北京: 中国标准出版社, 1—16
- 黎军胜, 李建林, 吴婷婷, 2005. 外源酶和柠檬酸对奥尼罗非鱼内源消化酶活性的影响. 南京农业大学学报, 28(3): 97—101
- Ai Q H, Mai K S, Tan B P, 2006. Replacement of fish meal by meat and bone meal in diets for large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*. Aquaculture, 260: 255—263
- Bautista-Teruel M N, Fermin A C, Koshio S S, 2003. Diet development and evaluation for juvenile abalone, *Haliotis asinina*: animal and plant protein sources. Aquaculture, 219: 645—653
- Chou R L, Her B Y, Su M S, 2004. Substituting fish meal with soybean meal in diets of juvenile cobia *Rachycentron canadum*. Aquaculture, 229: 325—333
- Debnath D, Pal A K, Sahu N P *et al*, 2007. Digestive enzymes and metabolic profile of *Labeo rohita* fingerlings fed diets with different crude protein levels. Comparative Biochemistry and Physiology Part B, 146(1): 107—114
- Escaffre A M, Infante J L Z, Cahu C L *et al*, 1997. Nutritional value of soy protein concentrate for larvae of common carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzyme activities. Aquaculture, 153: 63—80
- Francis G, Makkar H P S, Becker K, 2001. Anti-nutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. Aquaculture, 199: 197—227
- Go'mez-Requeni P, Mingarro M, Caldach-Giner J A, 2004. Protein growth performance, amino acid utilization and somatotropic axis responsiveness to fish meal replacement by plant protein sources in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Aquaculture, 232: 493—510
- Hasan M R, Macintosh D J, Jauncey K, 1997. Evaluation of some plant ingredients as dietary protein sources for common carp (*Cyprinus carpio* L.) fry. Aquaculture, 151: 55—70
- Kaushik S J, Cravedi J P, Lalles J P *et al*, 1995. Partial or total replacement of fish meal by soybean protein on growth, protein utilization, potential estrogenic or antigenic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture, 133: 257—274
- Kikuchi K, 1999. Use of defatted soybean meal as a substitute for fish meal in diets of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture, 179: 3—11
- Peres H, Oliva-Teles A, 2005. The effect of dietary protein replacement by crystalline amino acid on growth and nitrogen utilization of turbot *Scophthalmus maximus* juveniles. Aquaculture, 250: 755—764
- Perrin A, Le Bihan E, Koueta N, 2004. Experimental study of enriched frozen diet on digestive enzymes and growth of juvenile cuttlefish *Sepia officinalis* L. (Mollusca Cephalopoda). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 311: 267—285
- Santigosa E, Sánchez J, Méndez F *et al*, 2008. Modifications of digestive enzymes in trout (*Oncorhynchus mykiss*) and sea bream (*Sparus aurata*) in response to dietary fish meal replacement by plant protein sources. Aquaculture, 282: 68—74
- Takagi S, Shimeno S, Hosokawa H *et al*, 2001. Effect of lysine and methionine supplementation to a soy protein concentrate diet for red sea bream *Pagrus major*. Fish Sci, 67: 1088—1096
- Viyakarn V, Watanabe T, Aoki H *et al*, 1992. Use of soybean meal as a substitute for fish meal in a newly developed soft-dry pellet for yellowtail. Nippon Suisan Gakkaishi, 58: 1991—2000
- Watanabe T, Aoki H, Watanabe K *et al*, 2001. Quality evaluation of different types of non-fish meal diets for yellowtail. Fish Sci, 67: 461—469
- Williams K, Barlow C, Rodgers L, 2001. Efficacy of crystalline and protein-bound amino acids for amino acid enrichment of diets for barramundi / Asian seabass (*Lates calcarifer* Bloch). Aquaculture Research, 32: 415—429

THE EFFECTS OF NEW PROTEIN SOURCES SUBSTITUTE FISHMEAL ON THE AMINO ACID COMPOSITIONS OF JUVENILE STARRY FLOUNDER *PLATICHTHYS STELLATUS*

DUAN Pei-Chang^{1,2}, ZHANG Li-Min¹, WANG Ji-Ying¹, LI Bao-Shan¹

(1. Marine Fisheries Research Institute of Shandong Province, Yantai, 264006;

2. Guangdong Yuehai Feed Group Co. Ltd, Zhanjiang, 524017)

Abstract Starry flounder *Platichthys stellatus* is a type of large carnivorous fish and their diet requires high level of protein. Using juvenile fish with initial body weight of (75.6 ± 0.18) g, we tested the effects of different fishmeal substitutes on the starry flounder. Five isonitrogenous and isoenergetic diets were formulated by adjusting amino acid level using three different protein sources (soy protein concentrate, dephenolized cottonseed protein, spray-dried blood protein), crystalline Lysine and Methionine. D0 with 58% defatted fishmeal as the control group, and added the fishmeal substitutes at four levels of 17% (D17), 35% (D35), 52% (D52), 69% (D69) to the fish diet. Five groups in triplicate were divided randomly for the following 60-day feeding experiment. We found that the D17 and D35 groups were not significantly different from the control group in the digestibility of essential amino acids (EAA) ($P>0.05$), although their EAA contents were significantly higher than those in the D52 and D69 groups ($P<0.05$). Compared with the control group, except arginine, histidine and threonine, the contents of other EAA in the fish muscles decreased significantly ($P<0.05$), although the total contents of the EAA did not exhibit significant difference in whole fish ($P>0.05$). Furthermore, the contents of valine and methionine declined markedly ($P<0.05$). In the D69 treatment group, liver AST and AST/ALT ratio were significantly lower than other groups ($P<0.05$), whereas serum AST and AST/ALT ratio increased dramatically with increasing substituting protein. Our results showed that there was no significant difference on apparent digestibility of EAA in diets, muscle and whole fish EAA contents when up to 35% of the fishmeal was substituted by the alternative protein sources, but the liver function of the experimental fish was affected at higher alternative protein levels.

Key words Starry flounder *Platichthys stellatus*, Fishmeal, Amino acid, Alanine aminotransferase (ALT), Aspartate aminotransferase (AST)