

酪蛋白小肽对幼龄草鱼生长和饲料利用的影响

于 辉^{1,2} 冯 健¹ 刘栋辉¹ 梁桂英¹

(1. 中山大学生命科学学院, 广州 510275; 2. 佛山科技学院生命科学院, 佛山 528231)

摘要: 本实验为酪蛋白小肽在幼龄草鱼营养生理上的意义研究。225 尾(3. 76±0. 16g) 草鱼分为 3 组, 每组 75 尾鱼, 每 25 尾鱼饲于 0. 25m³ 的水族箱中, 每组设 3 个平行水族箱。对照组添加 0. 5% 酪蛋白, 试验组 1、2 日粮中分别添加 0. 5% 酶解酪蛋白(80% 以上为小肽, 平均链长 2. 98), 0. 5% 酸解酪蛋白(80% 以上为游离氨基酸)。试验期 56d, 水温为 27. 6±3. 1℃。结果表明: 添加 0. 5% 酶解酪蛋白组草鱼相对生长率、蛋白效率比、饲料效率比和血浆中镁含量与小肽总量均显著高于添加 0. 5% 酪蛋白组和 0. 5% 酸解酪蛋白组(*P* < 0. 05)。草鱼日粮中添加一定比例的小肽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, 减少肝胰脏和肠系膜脂肪储积, 提高机体对日粮中氨基酸的利用率, 从而增加体内氮沉积, 提高生长速度。

关键词: 草鱼; 小肽; 营养; 生长
中图分类号: S963. 16 文献标识码: A 文章编号: 1009-3207(2004)05-0526-05

在猪、禽、鼠等动物日粮中小肽不仅为氮沉积和利用提供氨基酸的来源, 而且其中具有生物活性的小肽可影响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, 添加一定比例的小肽可改善对日粮蛋白质的利用, 提高生长性能^[1-4]。但小肽在鱼类营养生理中的是否具有相同作用尚不清楚。因此, 了解小肽在鱼类营养生理中的作用, 探讨其对鱼类生长的影响与机理具有重要的理论意义。

1 材料与方

1.1 试验鱼与基础日粮组成 225 尾均重约为 3. 76±0. 16g 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, 其中粗蛋白为 28. 30%、粗脂肪为 3. 23%、粗纤维为 6. 69%、粗灰分为

7. 31%、无氮浸出物为 27. 11%、可利用磷为 0. 61%、消化能为 7544KJ/kg (按蛋白质 17. 1J/g, 脂肪 34. 2J/g, 糖 6. 9J/g 计算)。投饲为体重 4—3%, 每天投喂 2 次, 分别为 9. 00 和 16. 00。每 2 周称重一次, 调整投饲量。

1.2 酶解酪蛋白、酸解酪蛋白的制备 酪蛋白自由 Sigma 公司提供, 含氮量 12. 7%。酶解酪蛋白参考 Buchmann 等人方法, 由胰酶、肠肽酶水解酪蛋白制备^[5,6], 根据水解前后氨基酸含量计算酶解酪蛋白的平均链长为 2. 98。HPLC 分析结果表明酶解酪蛋白主要含的为二、三肽。用 Car Sephadex G 10 柱分离 FAA 后, 测定出肽占 82. 36%。酸解酪蛋白由酪蛋白经 6mol/L HCl, 在真空条件下于 110℃ 水解 24h (含 0. 1% 酚), 用 Car Sephadex G 10 柱分离游离氨基酸(FAA) 后, 测定出游离氨基酸含量为 87. 65%。

表 1 试验饲料的组成(%)
Tab. 1 Composition of the experimental diets(%)

原料名称 Ingredient	对照组 Control group	试验 1 组 Test group 1	试验 2 组 Test group 2
次粉 Wheat meal by product	10. 00	10. 00	10. 00
小麦麸 Wheat bran	10. 00	10. 00	10. 00
大豆粕 Soybean meal	30. 00	30. 00	30. 00

收稿日期: 2002-11-21; 修订日期: 2004-03-20
基金项目: 广东省自然科学基金(223) 资助
作者简介: 于 辉(1971—) 男, 黑龙江呼兰人, 硕士, 从事鱼类营养研究
通讯作者: 冯健 E-mail: fengjian581108@sina. com

续表			
原料名称 Ingredient	对照组 Control group	试验 1 组 Test group 1	试验 2 组 Test group 2
菜籽粕 Rapeseed meal	18.00	18.00	18.00
麦芽根 Root of malt	15.70	15.70	15.70
统糠 Crude rice bran	7.50	7.50	7.50
秘鲁鱼粉 Peru fish meal	0.50	0.50	0.50
酪蛋白 Casein	0.50	0.00	0.00
酶解酪蛋白 Enzymatic casein	0.00	0.50	0.00
酸解酪蛋白 Acidolysic casein	0.00	0.00	0.50
大豆油 Soybean oil	2.00	2.00	2.00
沸石粉 Zeolite meal	3.00	3.00	3.00
胆碱 Choline	0.20	0.20	0.20
鱼复矿 Minerals premix	1.50	1.50	1.50
黏合剂 Binder	0.30	0.30	0.30
鱼多维 b Vitamins premix	0.20	0.20	0.20
维 C 磷酸酯 Ascorbic acid phosphate ester	0.10	0.10	0.10
Cr2O3	0.50	0.50	0.50

注: a 复合矿物盐 Minerals premix(%): Ca(HPO₄)₂ 61.71, Na₂(HPO₄)₂ 4.20, NaCl 3.23, K₂SO₄ 16.38, KCl 6.58, FeSO₄ 1.07, Citric acid ion 3.83, MgSO₄ 4.42, ZnSO₄ 0.47, MnSO₄ 0.033, CuSO₄ 0.022, CrCl₂ 0.043, KI 0.022。 b 复合维生素 Vitamins premix(%): Inositol 2.22, Vc 1.11, V_A 0.83, V_{B1} 0.22, V_{B2} 0.56, V_{B6} 0.06, V_K 0.06, Folic acid 0.02, V_{B12} 0.012, V_{pp}0.006, V_E 0.44, Cellulose 94.42。 c 可消化能: 按蛋白质 17.1J/g, 脂肪 34.2J/g, 糖 6.9J/g 计算。 Digestible energy: Protein= 17.1J/g, Lipid= 34.2J/g, Carbohydrate= 6.9J/g。

1.3 试验分组与水质条件 实验草鱼分 3 组, 驯化一周后开始正式实验。对照组日粮中添加 0.5% 酪蛋白, 试验 1、2 组日粮中分别添加 0.5% 酶解酪蛋白和 0.5% 酸解酪蛋白。每天上午 9:00 和下午 16:00 各投饲一次, 按鱼体重 3% 投喂。每半个月鱼体称重一次并调整投饲量。每组 75 尾鱼, 每 25 尾饲养于 0.25m³ 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 56d。每日光照时间为 14h, 每半个月测试一次水质。水温 26.7±3.1℃, 溶解氧为 7.35±0.36mg/L, pH7.03±0.4, 氨氮为 0.39±0.28mg/L, 总硬度为 1.51±0.16, 钙含量为 25.8±0.2mg/L, 亚硝酸盐为 0.101±0.07mg/L, 硝酸盐为 0.110±0.014mg/L。

1.4 样品采集和分析 饲养期草鱼每 2 周称重一次, 计算其相对生长率与饲料系数, 试验结束时每箱随机取鱼 6 尾, 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 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, 其方法参考日立血生化分析指南。各组草鱼饲料、全鱼、肝胰脏中的蛋白用微量凯氏定氮法测定, 粗脂肪用索氏抽提法, 灰分用干法灰化法。使用 HPLC(HP) 测定草鱼血浆肽中小肽总量和各肽段小肽含量。使用 HP 分光光度计测定草鱼对各组饲料表观消化率、蛋白消化率。

数据统计分析采用 SAS 软件进行多重比较, 显著水平采用 0.05。

2 结果

2.1 各组草鱼的相对生长率、存活率、饲料系数和蛋白保留效率

饲养 56d 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、饲料系数与蛋白效率比对照组和试验 2 组相似, 而试验 1 组显著性好于对照组和试验 2 组(*P* < 0.05)(表 2)。表明日粮中添加酶解酪蛋白小肽较添加酪蛋白和酸解酪蛋白可提高草鱼生长速度和体内的蛋白质沉积能力。

表 2 各组草鱼相对生长率、存活率、饲料系数和蛋白保留效率
Tab. 2 The relative growth ratio(RGR) , survival ratio(SR), feed conversion ratio(FCR) and protein retention ratio(PRR) in fish

组别 Group	始重(g) IBW	末体重(g) FBM	相对生长率(%) RGR	存活率(%) SR	饲料系数 FCR	蛋白保留效率(%) PRR
对照组 Control Group	3. 75±0. 18	6. 41±0. 36	1. 27±0. 14 ^a	100	2. 26±0. 18 ^a	19. 67±1. 47 ^a
试验 1 组 Test group 1	3. 77±0. 13	7. 40±0. 29	1. 72±0. 10 ^b	100	1. 85±0. 20 ^b	25. 91±2. 66 ^b
试验 2 组 Test group 2	3. 73±0. 16	6. 61±0. 27	1. 38±0. 13 ^a	100	2. 29±0. 07 ^a	19. 96±1. 08 ^a

注: 同一行数据右上角不同上标小写字母代表有显著差异。存活率(%)= 终末尾数/ 初始尾数×100; 相对生长率(%)= (末重- 初重)/ 初重/ 饲养天数×100; 饲料转换系数= 摄食饲料总量/(末重- 初重); 蛋白质保留效率(%)= (末重蛋白量- 初重蛋白量)/ 摄食蛋白总量。
Notes: Values with different small superscript letters within same column are significantly different(*P*< 0. 05). Survival rate(SR) % = (the number of fish at the end of test the number of fish at the beginning of test) × 100; Relative growth rate(RGR) % = (Initial body weight(FBW) - Final body weight(IBW)) / IBM × 100; feed conversion ratio(FCR) = Total amount of feed fed fish/ (FBW- IBW) ; protein retention ratio(PRR) = (FBM of body protein- IBM of body protein) / total amount of feed protein fed fish.

2.2 试验各组草鱼各阶段生长情况

试验各组草鱼在试验第2周末生长速度相似, 第4周末其生长趋势以日粮中添加酶解酪蛋白组为

好, 从第6周末起, 对照组和试验2组较试验1组草鱼生长速度呈显著性降低(*P*< 0. 05), 试验结束时, 这种差异进一步扩大(表3)。

表 3 草鱼各阶段生长体重
Tab. 3 The body weight of fish at varied period

组别 Group	0	2 Week	4 Week	6 Week	8 Week
对照组 Control group	3. 75±0. 18	4. 24±0. 12	4. 74±0. 24	5. 53±0. 21 ^a	6. 41±0. 36
试验组 1 Test group 1	3. 77±0. 13	4. 37±0. 15	5. 01±0. 19	6. 10±0. 24 ^b	7. 40±0. 29 ^b
试验组 2 Test group 2	3. 73±0. 16	4. 20±0. 08	4. 68±0. 17	5. 60±0. 19 ^a	6. 61±0. 27

注: 同一行数据右上角不同上标小写字母代表有显著差异。Values with different small superscript letters within same column are significantly different.

2.3 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, 对照组和试验2组草鱼较试验1组肝体比、内脏比、肠脂比和肝胰脏脂肪含量普遍显著

(*P*< 0. 05) 或极显著(*P*< 0. 01) 增高, 表明对照组和试验2组草鱼肝脏相对重量、肝脂肪含量和肠系膜脂肪相对重量均明显高于试验1组。在草鱼日粮中添加0. 5% 酶解酪蛋白可降低草鱼体内肝胰脏与肠系膜中脂肪的储积(表4)。

表 4 试验各组草鱼肝体比、内脏比、肠脂比和肝胰脏脂肪含量(%)
Tab. 4 The ratio of hepatopancreas/ body, viscera/ body, lipid in mesentery/ body and the contents of lipid in hepatopancreas on fish(%)

组别 Group	肝体比 Hepatopancreas/ body	内脏比 Viscera/ body	肠脂比 Lipid in Mesentery/ body	肝胰脏脂肪含量(湿重) Content of lipid in epatopancreas(wet)
对照组 Control group	2. 29±0. 23	11. 96±0. 78 ^a	3. 76±0. 54 ^a	10. 89±1. 53 ^a
试验 1 组 Test group 1	1. 88±0. 36	9. 65+ 1. 16 ^b	1. 44+ 0. 22 ^B	8. 08+ 1. 01 ^b
试验 2 组 Test group 2	2. 39+ 0. 41	12. 15+ 1. 43 ^b	3. 94+ 0. 63 ^a	11. 04+ 0. 72 ^a

注: 同一行数据右上角不同上标小写字母代表有显著差异, 大写字母代表有极显著差异。
Notes: Values with different superscript small letters within same column are significantly different; Values with different superscript capital letters within same column are significantly highly different.

2.4 试验各组草鱼鱼体组成和饲料表观消化率, 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与试验2组高、饲料表观消化率与蛋白消化率以试验1组高, 但组间无显著性差异(*P* = 0. 05) (表5)。

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 Body composition and ratio of apparent digest(ADGI), protein digest(ADGP) on fish

组别 Group	蛋白质 Protein	脂肪 Fat	灰分 Ash	水分 Water	表观消化率 ADGI	蛋白消化率 ADGP
对照组 Control Group	13.56±0.21	7.39±0.11 ^a	2.46±0.06	75.99±1.04	74.22±3.17	75.22±5.03
试验 1 组 Test group 1	13.34±0.24	6.83±0.16 ^b	2.33±0.08	76.10±0.69	77.58±5.22	77.02±6.33
试验 2 组 Test group 2	13.43±0.15	7.28±0.06 ^a	2.40±0.09	76.01±0.52	75.44±5.33	75.44±4.48

表注同表 3。

2.5 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、磷含量相似, 但试验 1 组草鱼血浆镁含量和小肽总量最高, 较

对照组和试验 2 组有显著性差异($P < 0.05$)。表明日粮中添加一定比例的小肽均会不同程度提高草鱼血浆中一些矿元素和小肽的含量。

表 6 试验各组草鱼的血浆钙、磷、镁和小肽总量
Tab. 6 Contents of Ca, P, Mg and small peptides in blood serum in fish

组别 Group	钙 Ca mmol/l	磷 P mmol/l	镁 Mg mmol/l	小肽总量 Total peptides $10^3 \times U_v/100\mu l$
对照组 Control group	1.83±0.48	3.91±0.89	1.35±0.21 ^a	16874±3798 ^a
试验 1 组 Test group 1	1.92±0.38	4.34±0.67 ^a	2.35±0.58 ^b	24224±4012 ^b
试验 2 组 Test group 2	1.88±0.24	3.80±0.70	1.56±0.19 ^a	15312±3312 ^a

表注同表 3。

3 讨论

本实验在草鱼日粮中添加 0.5% 的酶解酪蛋白(80% 以上为小肽形式)后, 较添加同样比例的酪蛋白和酸解酪蛋白(80% 以上为游离氨基酸形式), 提高了草鱼的生长性能。表现为显著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^[7,8]。草鱼日粮中添加酶解酪蛋白小肽后, 其日粮提供的蛋白质、氨基酸种类和数量与添加同样比例的酪蛋白和酸解酪蛋白并无差异, 所以添加酶解酪蛋白小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, 提高血液循环中游离氨基酸和小肽合成蛋白的能力有关^[9,10]。小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^[11]。这从实验中添加酶解酪蛋白组草鱼饲料表观消化率与蛋白消化率较添加酪蛋白和酸解酪蛋白组草鱼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。

对草鱼血浆肽进行 HPLC 分析表明, 7) 10 日粮

中添加酶解酪蛋白小肽后, 草鱼血浆中小肽含量较添加酪蛋白和游离氨基酸(FAA)显著提高。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^[11]。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。实验组日粮中添加酶解酪蛋白小肽后, 较添加同样比例的酪蛋白和酸解酪蛋白显著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^[12]。综上所述, 酶解酪蛋白小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。

参考文献:

[1] Takeda M, Takii KI Gustation and nutrition in fishes: application to aquaculture[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] Xue M, Xie S Q, et al Advances in studies on fish feeding stimulants[J] Acta Hydrobiologia Sinica, 2003, 27(6): 639) 643 [薛敏, 解

授后,崔奕波,等1 鱼类促摄食物质研究进展1 水生生物学报, 2003, **27**(6): 639) 643]

[4] Parisini P, Scicpioni PI Effects of peptide compents in a proteolysate in piglet nutrition [J] 1 *Zootecnica e Nutrizione2animale* 1989, (15) : 637) 644

[5] Huang F, Yan A S, Zhang G R, et all Effect of different dietary protein content on activities of pepsin and amylase of silurus meridionalis then [J]1 *Acta Hydrobiologia Sinica*, 2003, **27**(5) : 451) 456[黄峰, 严安生, 张桂蓉, 等1 不同蛋白含量饲料对南方鲇胃蛋白酶和淀粉酶活性的影响 水生生物学报, 2003, **27**(5) : 451) 456]

[6] Gilderg AI, Stenberg E A new process for advanced utilization of shrimp waste[J] 1 *Process Biochem* 2001, **36**: 809) 812

[7] Buchmannl NIB, Boza J Protein VI enzymic protein hydrolysates: Nitrogen utilization in starved rats[J]1 *JIAgric1 Food Chem* 1979, **30**: 583) 589

[8] Leonard A, Maynard AI BI Animal nutrition[M] 1 New York: McGraw2 Hill Book Company, 20001236) 249

[9] Infante J L Z Nutritional rehabilation of mahaurished rats by d2and tripep2 tides: nitrigon metabolism and intestinal response[J] 1 *J1 Nutr1 Biochem* 1, 1992, (3) : 285) 290

[10] Tian LX, Lin DI Changes in digestive enzyme activities in grass carp *Ctenopharyngodon idellus* after feeding of two test diets[J] 1 *Acta Hy2 drobiologia Sinica*, 1993, **17**(1) : 58) 65[田丽霞、林鼎, 草鱼摄食两种蛋白质饲料后消化酶活性变动比较1 水生生物学报, 1993, **17**(1) : 58) 65]

[11] Daneil H, Baumann SA 1 Physiological importance and characteristics of peptide transport in intestinal epithelial cells[M] 1 New York: EAAP Publication, 1994

[12] Maria KIKI, Bamba TI Iron speciation in intestinal contents of rats fed meal composed of meat and non meat sources of protein and fat[J] 1 *Food Chem* 1995, **52**: 47) 56

EFFECT OF SMALL PEPTIDES FROM CASEIN ON GROWTH AND FEED UTILIZATION IN JUVENILE GRASS CARP CTENOPHARYNGODON IDELLA

YU Hui^{1,2}, FENG Jian¹, LIU Dong2Hui¹ and LIANG Gu2Ying¹

(11 School of Life Sciences, Zhongshan University, Guangzhou 510275; 21 Animal Science Department, Foshan University, Foshan 528231)

Abstract: 225 grass carps of 3174? 0123g were used in an experiment, the effect of small peptides on growth performace of grass carp *Ctenopharyngodon idella*1The fish was divided into three diet groups and reared in 3 triplicate aquarium(0125m³) with 25 fishes in each aquarium for 56 days. The diets of test group 1, 2 and control group included in 015% enzymatic casein(small peptides and aver2 age length of peptides 2198), 015% acidolysic casein(free amino acids) and 015% casein. The result showed that the relative growth rates(RGR), feed conversion ratio(FCR), protein efficiency ratio(PER), contents of magnesium and small peptides in blood plasma on fish in 015% enzymatic casein group were significantly higher than those in 015% casein group and 015% acidolysic casein group (*p* < 0105) 1These results indicated that small peptides could improve the ratio of apparent digestion and protein digestion and increase the total amount of small peptides in blood circulation and the retention of nitrogen in body, accordingly reducing the store of lipid in hepatopancreas and mesentery, and to advance the utilization of protein in diet.

Key words: *Ctenopharyngodon idella*; Small peptides; Nutrition; Growth