

新型复合动植物蛋白源部分替代鱼粉对 大菱鲆幼鱼生长和肉质的影响*

刘运正, 何 良**, 麦康森, 徐 玮, 周慧慧

(中国海洋大学农业部水产动物营养与饲料重点实验室, 山东 青岛 266003)

摘 要: 本文旨在研究新型复合动植物蛋白源在大菱鲆饲料中替代部分鱼粉对大菱鲆幼鱼生长和肌肉质地的影响。实验设计了4组等氮等能的饲料,以含鱼粉60%的处理组为对照饲料(FM),以小麦粉、豆粕等作为植物蛋白与酶解动物软骨蛋白复合分别替代其中40%、50%和60%鱼粉,设置了40I、50I和60I 3个试验组。选用初始体质量(8.63±0.03)g的大菱鲆幼鱼(*Scophthalmus maximus* L.),分别用上述4种饲料饲养8周。试验表明:与鱼粉组相比,随着替代水平的升高,大菱鲆幼鱼的终末体重、增重率和特定生长率显著降低($P<0.05$),50I和60I鱼粉替代处理组饲料效率显著低于FM组和40I处理组($P<0.05$)。各处理组大菱鲆幼鱼水分、粗蛋白、脂肪和灰分无显著差异($P>0.05$),肥满度、肝体比和脏体比无显著差异($P>0.05$)。饲料干物质和蛋白的消化率随着替代水平的升高呈下降趋势。以酶解动物软骨蛋白粉和植物蛋白复合替代鱼粉对大菱鲆幼鱼肌肉硬度、咀嚼性和弹性没有显著影响($P>0.05$)。结果表明,酶解动物软骨蛋白粉与植物蛋白复合后可替代大菱鲆幼鱼饲料中40%鱼粉而不影响其生长、摄食、存活和体组成,并能保持其肉质。

关键词: 大菱鲆;鱼粉;蛋白源替代;肉质

中图分类号: S963.71

文献标志码: A

文章编号: 1672-5174(2016)01-033-07

DOI: 10.16441/j.cnki.hdx.20140145

引用格式: 刘运正, 何 良, 麦康森, 等. 新型复合动植物蛋白源部分替代鱼粉对大菱鲆幼鱼生长和肉质的影响[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2016, 46(1): 33-39.

LIU Yun-Zheng, HE Gen, MAI Kang-Sen, et al. Effect of partial replacement of dietary fishmeal with an animal and plant protein mixture on the growth performance and muscle texture of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) [J]. Periodical of Ocean University of China, 2016, 46(1): 33-39.

鱼粉是水产饲料行业中最重要、使用最广泛的蛋白源。近年来,人类直接消费的远洋捕捞量的增加以及厄尔尼诺现象的影响使鱼粉的产量持续下跌,一直徘徊在历史最低值(2008年产量为2080 t)^[1]。中国鱼粉产量一直较少,质量参差不齐,远远不能满足中国饲料工业发展和养殖业的需要。大量的鱼粉依靠进口,受到国外供应的严重制约。未来的十几年中,水产养殖业的产量在全球水产总量中所占的比重将逐年升高,这意味着对水产饲料工业的依赖性进一步加大,届时中国的水产养殖产量占全球水产养殖总产量的比例将达到70%^[1],这势必会加剧中国水产饲料行业对于鱼粉的依赖。所以,为了饲料工业的健康发展,用其他蛋白源替代鱼粉是唯一正确的策略。

目前大多数蛋白源替代的研究集中在动物蛋白源^[2-6](血粉、肉骨粉和羽毛粉等)和植物蛋白源^[7-11](豆

粕、菜籽粕、棉籽粕和玉米蛋白等)。动物蛋白源存在来源不稳定、产品质量得不到保证等问题。而植物蛋白源替代后往往造成生长速度降低^[12]、饲料效率降低^[13]和肉质变差^[14-15]等问题。因此,寻找合适的蛋白源是水产养殖亟待解决的问题。

与单一蛋白源替代鱼粉不同,复合蛋白源因兼具动植物蛋白的优点而倍受青睐,不同类型的蛋白源组合有利于营养成分互补和氨基酸平衡,从而促进动物体的吸收利用和生长发育。同时,已有研究表明,肌肉中的胶原蛋白是影响大西洋庸鲽^[16]和大西洋鲑^[17]肌肉质地的重要因素,羟脯氨酸作为胶原蛋白中特有且含量丰富的氨基酸,对于改善养殖鱼类肉质有重要作用。酶解动物软骨蛋白粉(Enzyme Hydrolyzed Animal Protein, EHAP)是一种羟脯氨酸含量相对较高的蛋白源,以优质动物软骨组织中的胶原蛋白为原料,通

* 基金项目: 公益性(农业)行业科研专项项目(201303053);山东省杰出青年基金项目(JQ201206)资助

Supported by Special Fund for Agro-scientific Research in the public Interest(201303053); Shandong Provincial Natural Science Foundation(JQ201206)

收稿日期: 2014-04-22; 修订日期: 2015-06-02

作者简介: 刘运正(1988-),男,硕士生。E-mail: liuyznutrition@sina.com

** 通讯作者: E-mail: hegen@ouc.edu.cn

过生物活性酶酶解制备而成,其蛋白含量高,必需氨基酸种类齐全,性能优越。本研究选取产量丰富、实际生产中使用广泛的常规植物蛋白源和动物性蛋白源酶解动物软骨蛋白粉相互复合搭配,用其部分替代饲料中不同水平鱼粉,对大菱鲆幼鱼生长状况、体成分及肉质指标进行初步研究,旨在尽可能替代更多的鱼粉并解决鱼粉替代后产生的肉质变差等问题,通过综合评价,为大菱鲆配合饲料的研究提供科学理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验饲料和试验设计

试验所用酶解动物软骨蛋白粉来自青岛贝尔特生物科技有限公司,其氨基酸组成和主要营养成分见表1。以红鱼粉、酶解动物软骨蛋白粉、豆粕、玉米蛋白粉、谷朊粉、花生粕和啤酒酵母为主要蛋白源,鱼油和

表1 酶解动物软骨蛋白粉氨基酸组成和主要营养成分

Table 1 Amino acid and nutrient contents of EHAP

| 氨基酸和主要营养成分 Amino acid and nutrient contents | 酶解动物软骨蛋白粉 Enzyme Hydrolyzed Animal Protein |
|--|--|
| 必需氨基酸 EAA/g · 100g ⁻¹ | |
| 精氨酸 Arg | 5.86 |
| 组氨酸 His | 1.12 |
| 异亮氨酸 Ile | 2.39 |
| 亮氨酸 Leu | 4.32 |
| 赖氨酸 Lys | 4.61 |
| 蛋氨酸 Met | 1.46 |
| 苯丙氨酸 Phe | 2.19 |
| 苏氨酸 Thr | 2.71 |
| 缬氨酸 Val | 2.88 |
| 非必需氨基酸 NEAA/g · 100g ⁻¹ | |
| 丙氨酸 Ala | 6.08 |
| 天冬氨酸 Asp | 5.66 |
| 谷氨酸 Glu | 9.55 |
| 甘氨酸 Gly | 10.9 |
| 丝氨酸 Ser | 2.24 |
| 酪氨酸 Tyr | 1.26 |
| 脯氨酸 Pro | 7.28 |
| 羟脯氨酸 Hyp | 4.39 |
| 常规营养成分 Nutrient contents/% | |
| 水分 Moisture | 3.40 |
| 粗蛋白 Crude protein | 82.2 |
| 粗脂肪 Crude lipid | 0.62 |
| 灰分 Ash | 15.6 |

卵磷脂为主要脂肪源,小麦粉为糖源。实验共设置共4个等氮等能的处理组,分别是含鱼粉60%的全鱼粉组(FM),以及用13%酶解动物软骨蛋白粉(羟脯氨酸含量约为0.6%,是维持大菱鲆末体重和特定生长率最高的最适添加值^[18])与复合植物蛋白为整体分别替代40%、50%和60%鱼粉的40I、50I和60I3个替代组(见表2)。分别添加赖氨酸硫酸盐、DL-蛋氨酸、L-苏氨酸和L-组氨酸使各处理组必需氨基酸达到FM组的水平。

1.2 试验用鱼和养殖过程

试验大菱鲆幼鱼来源于烟台市莱州养殖厂。养殖实验在山东海阳黄海水产有限公司开展,试验前将试验鱼暂养在养殖系统中2周以适应养殖环境,期间投喂商业饲料。驯化结束后挑选规格均一、体格健壮的大菱鲆幼鱼(初重(8.63±0.03)g)随机分组。每个处理随机分配到4个养殖桶(60cm×60cm×60cm),每个重复30尾鱼。养殖过程中海水经水泵持续的抽送

表2 试验饲料配方和主要营养成分(干物质)

Table 2 Formulation and proximate chemical composition of the tested diets (dry matter) /%

| 原料 Ingredients | 处理组 Treatments | | | |
|--|----------------|-------|-------|-------|
| | FM | 40I | 50I | 60I |
| 鱼粉 Fish meal ^a | 60.00 | 36.00 | 30.00 | 24.00 |
| 酶解动物软骨蛋白粉 EHAP | 0 | 13.00 | 13.00 | 13.00 |
| 小麦粉 Wheat flour ^a | 27.50 | 20.24 | 17.52 | 14.79 |
| 豆粕 Soybean meal ^a | 0.00 | 5.88 | 9.80 | 13.72 |
| 玉米蛋白粉 Corn gluten meal ^a | 0.00 | 3.00 | 5.00 | 7.00 |
| 谷朊粉 Wheat gluten meal ^a | 0.00 | 1.92 | 3.20 | 4.48 |
| 花生粕 Peanut meal ^a | 0.00 | 1.20 | 2.00 | 2.80 |
| 啤酒酵母 Beer yeast ^a | 2.50 | 2.50 | 2.50 | 2.50 |
| 维生素预混料 Vitamin premix ^b | 2.00 | 2.00 | 2.00 | 2.00 |
| 矿物质预混料 Mineral premix ^c | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 |
| 复合诱食剂 Attract ^d | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 |
| 牛磺酸 Taurine | 0.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 |
| 褐藻酸钠 Sodium alginate | 0.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 |
| DL-蛋氨酸 DL-Methionine | 0.00 | 0.26 | 0.32 | 0.38 |
| L-苏氨酸 L-Threonine | 0.00 | 0.18 | 0.22 | 0.26 |
| L-组氨酸 L-Histidine | 0.00 | 0.19 | 0.23 | 0.27 |
| 赖氨酸硫酸盐 Lys-H ₂ SO ₄ | 0.00 | 0.74 | 0.92 | 1.10 |
| 鱼油 Fish oil | 3.00 | 5.50 | 5.90 | 6.30 |
| 大豆卵磷脂 Soybean lecithin | 2.50 | 2.50 | 2.50 | 2.50 |
| 氯化胆碱 Choline chloride | 0.25 | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| 磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂ | 0.00 | 0.40 | 0.40 | 0.40 |

续表 2

| 原料 Ingredients | 处理组 Treatments | | | |
|---|----------------|-------|-------|-------|
| | FM | 40I | 50I | 60I |
| 植酸酶 Phytase | 0.00 | 0.20 | 0.20 | 0.20 |
| 三氧化二钇 Y ₂ O ₃ | 0.10 | 0.10 | 0.10 | 0.10 |
| 丙酸钙 Calcium propionate | 0.10 | 0.10 | 0.10 | 0.10 |
| 乙氧基喹啉 Ethoxyquin | 0.05 | 0.05 | 0.05 | 0.05 |
| 一水硫酸亚铁 FeSO ₄ · H ₂ O | 0.00 | 0.05 | 0.05 | 0.05 |
| 一水硫酸锌 ZnSO ₄ · H ₂ O | 0.00 | 0.03 | 0.03 | 0.03 |
| 营养组成(干物质)/% | | | | |
| 水分 Moisture | 3.90 | 4.97 | 4.92 | 5.09 |
| 粗蛋白 Crude protein | 50.75 | 51.25 | 51.47 | 51.77 |
| 粗脂肪 Crude lipid | 10.95 | 11.20 | 11.36 | 10.95 |
| 灰分 Ash | 11.64 | 11.20 | 10.53 | 9.94 |
| 总能量 Gross energy/kJ · g ⁻¹ | 20.23 | 20.21 | 20.38 | 20.38 |

注:FM:全鱼粉对照组;40I:酶解动物软骨蛋白粉与复合植物蛋白替代 40%鱼粉组;50I:酶解动物软骨蛋白粉与复合植物蛋白替代 50%鱼粉组;60I:酶解动物软骨蛋白粉与复合植物蛋白替代 60%鱼粉组。^a由青岛七好生物科技有限公司提供;红鱼粉,粗蛋白,73.38%,粗脂肪,10.42%;小麦粉,粗蛋白,17.05%,粗脂肪,2.29%;豆粕,粗蛋白,55.04%,粗脂肪,2.02%;玉米蛋白粉,粗蛋白,70.45%,粗脂肪,1.67%;谷朊粉,粗蛋白,80.27%,粗脂肪,1.24%;花生粕,粗蛋白,50.82%,粗脂肪,2.90%;啤酒酵母,粗蛋白,49.78%,粗脂肪,1.61%。^b维生素预混料(mg kg⁻¹ diet):维生素 A,32;维生素 D,5;维生素 E,240;维生素 K,10;维生素 B₁,25;维生素 B₂,45;维生素 B₆,20;维生素 B₁₂,10;泛酸钙,60;烟酸,200;叶酸,20;生物素,60;肌醇,800;维生素 C 磷酸酯,2 000;微晶纤维素,16 473。^c矿物质预混料(mg · kg⁻¹ diet):MgSO₄ · 7H₂O,1 200;CuSO₄ · 5H₂O,10;FeSO₄ · H₂O,80;ZnSO₄ · H₂O,50;MnSO₄ · H₂O,45;CoCl₂ · 6H₂O(1%),50;Na₂SeO₃(1%),20;碘酸钙,60;沸石粉,8 485。^d复合诱食剂:甜菜碱:二甲基-丙氨酸噁亭:甘氨酸:丙氨酸:5-磷酸肌苷=4:2:2:1:1。
Note:FM: diet fish meal; 40I: replacement of 40% fish meal by EHAP and plant protein mixture; 50I: replacement of 50% fish meal by EHAP and plant protein mixture; 60I: replacement of 60% fish meal by EHAP and plant protein mixture.^a Supplied by Qihao Biotech. Co., Ltd. (Qingdao, Shandong); Red fish meal, crude protein, 73.38%, crude lipid, 10.42%; Wheat flour, crude protein, 17.05%, crude lipid, 2.29%; Soybean meal, crude protein, 55.04%, crude lipid 2.02%; Corn gluten meal, crude protein, 70.45%, crude lipid, 1.67%; Wheat gluten meal, crude protein, 80.27%, crude lipid, 1.24%; Peanut meal, crude protein, 50.82%, crude lipid, 2.90%; Beer yeast, crude protein, 49.78%, crude lipid, 1.61%.^b Vitamin premix(mg kg⁻¹ diet): retinal palmitate, 32; cholecalciferol, 5; DL- α -tocopherol acetate, 240; menadi-one, 10; thiamin-HCl, 25; riboflavin, 45; pyridoxine-HCl, 20; cyanocobalamin, 10; D-calcium pantothenate, 60; amine nicotinic acid, 200; folic acid, 20; biotin, 60; mesoinositol, 800; ascorbyl polyphosphate (contained 35% ascorbic acid), 2000; microcrystalline cellulose, 16 473.^c Mineral premix(mg kg⁻¹ diet): MgSO₄ · 7H₂O, 1200; CuSO₄ · 5H₂O, 10; FeSO₄ · H₂O, 80; ZnSO₄ · H₂O, 50; MnSO₄ · H₂O, 45; CoCl₂ · 6H₂O (1%), 50; Na₂SeO₃ (1%), 20; calcium iodine, 60; zeolite, 8485.^d Attractant: betaine: dimethyl-propiothetin: glycine: alanine: 5-phosphate inosine=4:2:2:1:1.

到过滤池中,经沙滤以约 1.5L · min⁻¹的速度流到养殖桶内。养殖 9 周期间,每天于 07:00 和 19:00 饱食投喂 2 次,每次摄食后收集残饵、吸底、换水以保证水质。每次投喂后对每个养殖桶的摄食量进行记录,残饵数量进行统计。整个养殖期间,水温控制在 19~22 °C, pH 为 7.5~8.0,盐度 30~33,氨氮含量低于 0.1 mg/L,亚硝酸盐含量低于 0.1 mg/L,溶解氧含量高于 6.0 mg/L。

1.3 样品采集和分析

试验开始前,从试验鱼中随机选取 20 尾鱼保存于 -20 °C 冰箱中用以测定初始鱼体组成。9 周养殖试验结束后,停食 24 h,以丁香酚(1:10 000)麻醉所有的实验鱼,然后计数,称重。每个养殖桶随机选取 5 条鱼保存于 -20 °C 冰箱中用以分析体组成;再从每桶中随机抽取 6 尾鱼麻醉,分别称重、测体长,解剖取内脏、肝脏和背部肌肉,对内脏、肝脏进行称重用以计算肝体比、脏体比,然后保存样品于 -80 °C 环境中待用。

1.4 样品分析测定

1.4.1 体组成 原料蛋白源、饲料和鱼体进行干物质、粗蛋白、粗脂肪的分析^[19]。样品在 105 °C 烘干至恒重后求得干物质含量;粗蛋白的测定采用全自动定氮仪(N/6.25);用索氏抽提法以乙醚为抽提剂测定粗脂肪含量;在电炉上将样品炭化后,于马福炉中(550 °C)灼烧 12 h 测得样品灰分;能量用氧弹仪测定^[19]。

1.4.2 表观消化率 饲料中添加 1%的三氧化二钇(Y₂O₃)作为指示剂测定干物质和粗蛋白的表观消化率。投喂试验饲料两周后开始粪便收集,直至收集的粪便量足够测定饲料干物质和蛋白消化率为止。每次投喂 2 h 后,用虹吸法收集粪便,保存于 -20 °C。饲料和粪便中的钇含量采用 Furukawa 和 Tsukahara^[20]的方法测定。饲料和粪便中钇含量是在高氯酸消解后用电感耦合等离子体原子发射光谱仪(ICP-OES, Vista-mpx, Varian, 美国)进行测定。

1.4.3 鱼肉组织质构分析 采用质构仪对鱼肉组织进行质构分析。以质构剖面分析法测定肌肉组织的质构特性(TPA 9)^[21]。测定时,选取大小相近的鱼取同一位置的背部肌肉,于室温下以 8 mm 圆柱形探针测定肌肉组织的硬度、咀嚼性、内聚性和弹性指标。

1.5 计算和统计方法

存活率 SR = 终末尾数 / 初始尾数 × 100%;

增重率 WGR = (鱼体末重 - 鱼体初重) / 鱼体初重 × 100%;

特定生长率 SGR = (ln 鱼体末重 - ln 鱼体初重) / 养殖天数 × 100%;

摄食率 FI(%/d) = 100 × 摄食饲料量 / [(鱼体初重 + 鱼体末重) / 2] / 养殖天数 × 100%;

饲料效率 FE = 鱼体增重 / 摄食饲料量 × 100%;

肥满度 $CF = \text{鱼体重}(\text{g}) / \text{鱼体长}(\text{cm})^3 \times 100\%$;

肝体比 $HSI = \text{肝重} / \text{体重} \times 100\%$;

脏体比 $VSI = \text{内脏重} / \text{体重} \times 100\%$;

表观消化率 $ADC = [1 - (\text{饲料中 } Y_2O_3 \% \times \text{粪便中营养成分} \%) / (\text{粪便中 } Y_2O_3 \% \times \text{饲料营养成分} \%)] \times 100\%$ 。

1.6 数据处理

所有实验数据均采用 SPSS 17.0 进行单因素方差分析(one-way ANOVA),若差异达到显著($P < 0.05$),则进行 Tukey 多重比较。

2 结果

2.1 生长性能

试验显示,用复合动植物蛋白替代饲料中不同水平鱼粉后,与 FM 组相比,末体重、增重率、特定生长率和饲料效率随着替代水平的提高显著降低($P < 0.05$),50I 和 60I 组显著低于 FM 组($P < 0.05$)。各处理组大菱鲆幼鱼摄食率无显著差异($P > 0.05$)(见表 3)。各组成活率均在 91.1%~93.3% 范围内,并未受到鱼粉替代水平的影响($P > 0.05$)。

2.2 体组成

复合动植物蛋白替代大菱鲆饲料中不同水平鱼粉对大菱鲆幼鱼体水分含量、粗蛋白含量、粗脂肪含量和灰分含量均无显著影响($P > 0.05$)(见表 4)。

表 3 酶解动物软骨蛋白粉和植物蛋白替代鱼粉对大菱鲆幼鱼生长性能的影响

Table 3 Growth performance of juvenile turbot fed the experimental diets

| 处理组 ^① | 初重 ^② /g | 末重 ^③ /g | 增重率 ^④ /% | 特定生长率 ^⑤ /% | 摄食率 ^⑥ / % · d ⁻¹ | 饲料效率 ^⑦ | 成活率 ^⑧ /% |
|------------------|--------------------|----------------------------|-------------------------|---------------------------|--|-------------------------|---------------------|
| FM | 8.60±0.03 | 38.24 ± 0.27 ^a | 3.45±0.05 ^a | 2.67 ± 0.02 ^a | 2.15±0.06 | 1.00±0.02 ^a | 92.5±4.20 |
| 40I | 8.64±0.02 | 36.79 ± 0.81 ^{ab} | 3.25±0.09 ^{ab} | 2.58 ± 0.04 ^{ab} | 2.19±0.05 | 0.95±0.02 ^{ab} | 91.1±3.85 |
| 50I | 8.65±0.03 | 34.73 ± 0.80 ^{bc} | 3.01±0.10 ^{bc} | 2.49 ± 0.04 ^{bc} | 2.27±0.05 | 0.91±0.03 ^b | 93.3±4.71 |
| 60I | 8.64±0.02 | 32.42 ± 1.28 ^c | 2.76±0.14 ^c | 2.36 ± 0.06 ^c | 2.21±0.10 | 0.89±0.03 ^b | 91.7±3.33 |
| ANOVA | | | | | | | |
| F | 3.31 | 19.21 | 26.80 | 25.01 | 2.35 | 10.37 | 0.21 |
| P | 0.27 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.12 | 0.00 | 0.90 |

注:数据为平均值±标准误, $n=4$;同一排标有不同的上标表示显著性差异($P < 0.05$)。Values show with mean ± standard error, $n=4$. Values in the same row with different small letter superscript mean significant difference($P < 0.05$).

①Treatments;②Initial body weight,IBW;③Final body weight,FBW;④Weight gain rate,WGR;⑤Specific growth rate,SGR;⑥Feed intake,FI;⑦feed efficiency,FE;⑧Survival rate,SR

表 4 酶解动物软骨蛋白粉和植物蛋白替代鱼粉对大菱鲆幼鱼体组成的影响

Table 4 Whole body composition of juvenile turbot fed the experimental diets

| 处理组 Treatments | 水分 Moisture | 粗蛋白 Crude protein | 粗脂肪 Crude lipid | 灰分 Ash |
|----------------|-------------|-------------------|-----------------|-----------|
| FM | 76.64±0.88 | 16.24±0.28 | 3.51±0.13 | 3.91±0.02 |
| 40I | 77.15±0.27 | 16.00±0.12 | 3.58±0.12 | 3.87±0.06 |
| 50I | 76.97±0.13 | 16.06±0.29 | 3.50±0.11 | 3.81±0.08 |
| 60I | 76.57±0.97 | 16.20±0.16 | 3.52±0.19 | 3.86±0.11 |
| ANOVA | | | | |
| F | 0.51 | 1.48 | 0.23 | 0.69 |
| P | 0.69 | 0.26 | 0.87 | 0.58 |

注:数据为平均值±标准误, $n=4$;同一排标有不同的上标表示显著性差异($P < 0.05$)。Values show with mean ± standard error, $n=4$. Values in the same row with different small letter superscript mean significant difference($P < 0.05$).

2.3 肥满度、肝体比和脏体比

复合动植物蛋白替代大菱鲆饲料中不同水平鱼粉对大菱鲆幼鱼体肥满度、肝体比和脏体比均无显著影响($P > 0.05$)(见表 5)。

2.4 表观消化率

复合动植物蛋白替代大菱鲆饲料鱼粉后,随着鱼粉替代水平的提高,各处理组干物质表观消化率和蛋白表观消化率显著降低,鱼粉组显著高于其他处理组($P < 0.05$)(见表 6)。

2.5 肌肉硬度、弹性和咀嚼性

复合动植物蛋白替代大菱鲆饲料中不同水平鱼粉对大菱鲆幼鱼肌肉硬度、咀嚼性和肌肉弹性无显著性影响($P>0.05$)(见表 7)。

表 5 酶解动物软骨蛋白粉和植物蛋白替代鱼粉对大菱鲆幼鱼肥满度、肝体比和脏体比的影响

Table 5 Condition factor(CF), hepatosomatic index (HSI) and viscerosomatic index(VSI) of juvenile turbot fed the experimental diets /%

| 处理组 ^① | 肥满度 ^② | 肝体比 ^③ | 脏体比 ^④ |
|------------------|------------------|------------------|------------------|
| FM | 3.43±0.16 | 1.00±0.07 | 4.69±0.26 |
| 40I | 3.35±0.11 | 1.06±0.17 | 4.87±0.25 |
| 50I | 3.20±0.06 | 1.03±0.24 | 4.71±0.17 |
| 60I | 3.39±0.12 | 1.05±0.13 | 4.89±0.42 |
| ANOVA | | | |
| F | 2.09 | 1.25 | 0.46 |
| P | 0.18 | 0.30 | 0.72 |

注:数据为平均值±标准误, $n=4$;同一排标有不同的上标表示显著性差异($P<0.05$)。Values show with mean ± standard error, $n=4$. Values in the same row with different small letter superscript mean significant difference($P<0.05$).

①Treatments; ②Condition factor; ③hepatosomatic index; ④viscerosomatic index

表 6 酶解动物软骨蛋白粉和植物蛋白替代鱼粉对饲料干物质和粗蛋白表观消化率的影响(ADC)

Table 6 Apparent digestibility coefficients (ADC) for dry matter and crude protein /%

| 处理组 | 干物质 | 粗蛋白 |
|------------|-------------------------|-------------------------|
| Treatments | Dry matter | Crude protein |
| FM | 59.38±0.37 ^a | 91.21±0.17 ^a |
| 40I | 55.27±0.42 ^b | 87.23±0.72 ^b |
| 50I | 52.21±0.79 ^c | 86.64±0.58 ^b |
| 60I | 48.97±0.44 ^d | 83.48±1.09 ^c |
| ANOVA | | |
| F | 209.59 | 58.19 |
| P | 0.00 | 0.00 |

注:数据为平均值±标准误, $n=4$;同一排标有不同的上标表示显著性差异($P<0.05$)。Values show with mean ± standard error, $n=4$. Values in the same row with different small letter superscript mean significant difference($P<0.05$).

3 讨论

以往研究大菱鲆蛋白源替代的工作表明,复合植物蛋白替代大菱鲆饲料中 30%鱼粉会显著降低大菱鲆的摄食率、特定生长率和饲料效率^[22];饲料酵母可替代大菱鲆饲料中 17%的鱼粉,替代后仍保持较高的增重

表 7 酶解动物软骨蛋白粉和植物蛋白替代鱼粉对大菱鲆幼鱼肌肉质地的影响

Table 7 Muscle texture analysis of juvenile turbot fed the experimental diets

| 处理组 | 硬度/gf | 咀嚼性/mJ | 肌肉弹性/mm |
|------------|------------|------------|-------------|
| Treatments | Hardness | Chewiness | Springiness |
| FM | 555.1±83.2 | 173.9±28.2 | 0.99±0.19 |
| 40I | 537.7±89.2 | 181.2±19.7 | 1.00±0.18 |
| 50I | 547.4±44.2 | 182.5±14.3 | 1.06±0.06 |
| 60I | 489.2±66.4 | 172.4±20.4 | 1.03±0.12 |
| ANOVA | | | |
| F | 1.04 | 0.21 | 0.16 |
| P | 0.39 | 0.89 | 0.92 |

注:数据为平均值±标准误, $n=4$;同一排标有不同的上标表示显著性差异($P<0.05$)。Values show with mean ± standard error, $n=4$. Values in the same row with different small letter superscript mean significant difference($P<0.05$).

率和特定生长率^[23];以单一玉米蛋白粉为蛋白源可替代大菱鲆饲料中 33%鱼粉而不影响其生长状况和饲料效率^[24];谷朊粉作为氨基酸组成相对平衡的蛋白源可替代 67%鱼粉而不影响大菱鲆的生长^[25];而饲料行业中应用最广泛的大豆浓缩蛋白只能替代饲料中 25%的鱼粉而不影响大菱鲆生长^[26]。动物蛋白源也只能替代鲆鲽类饲料中较低水平的鱼粉, Kikuchi 等^[6]的研究表明肉骨粉最多可替代牙鲆饲料 20%鱼粉而不与鱼粉组生长状况产生差异。在本研究中,酶解动物软骨蛋白粉与复合植物蛋白可共同替代饲料中 40%鱼粉而不降低其生长状况和饲料效率,这表明酶解动物软骨蛋白粉在饲料蛋白源替代的研究中的潜力。较高的鱼粉替代水平对大菱鲆幼鱼的生长有抑制作用,可能是由于酶解动物软骨蛋白粉与各植物蛋白源之间的配比未达到平衡氨基酸、改善适口性的作用。另外,生长受限还可能归因于高复合植物蛋白中的抗营养因子含量的升高,复合植物蛋白中的豆粕含有单宁、植酸、大豆凝集素和胰蛋白酶抑制因子等多种抗营养因子。研究表明,单宁不仅影响饲料的适口性,而且会降低干物质和蛋白的消化率^[27]。在本研究中,随着鱼粉替代水平的升高,饲料干物质和蛋白的表观消化率均显著降低,极有可能是抗营养因子含量的增加导致饲料蛋白未得到充分利用从而影响生长。但酶解动物软骨蛋白粉作为一种蛋白源对于肉食性大菱鲆的消化率究竟如何还需进一步的研究。

大菱鲆幼鱼对食物因子的变化反应比较敏感,当饲料中添加大量动植物蛋白源后,可能会导致肝体比和脏体比等变化。从肥满度等形态指标上看,各组与

对照组无显著差异,表明大菱鲆生长状态和营养状况良好,酶解动物软骨蛋白粉和复合植物蛋白替代鱼粉后并未对大菱鲆幼鱼形体生长产生不利影响,可以利用其替部分代饲料中的鱼粉。

与野生鱼类相比,养殖鱼类往往质地柔软,风味较差。类似的现象在大西洋鲑^[28],斑点叉尾鮰^[14]和海鲷^[15]都有出现。这些因素导致消费者往往更多的选择捕获的野生品种而不是养殖品种。Johnston等^[29]的研究表明,野生大西洋鲑肌肉硬度显著高于同尺寸养殖品种,这说明养殖鱼类肌肉硬度较低。究其原因,饲料和养殖环境影响了养殖鱼类的肌肉结构和组成^[30],动植物蛋白源替代鱼粉在造成养殖种类生长状况降低的同时,也导致了肌肉质地和风味变差,这也是饲料工业面临的问题之一。本研究显示,复合酶解动物软骨蛋白粉和植物蛋白替代鱼粉后,大菱鲆肌肉硬度、咀嚼性和肌肉弹性与全鱼粉组无显著差异,这说明植物蛋白替代鱼粉后添加酶解动物软骨蛋白粉可以显著改善养殖种类的肌肉质地,提高养殖品质,推测其原因可能是酶解动物软骨蛋白粉中的羟脯氨酸促进了大菱鲆肌肉中胶原蛋白的合成,羟脯氨酸是结缔组织中胶原蛋白所特有的,可用来对胶原蛋白定量,是稳定胶原蛋白三螺旋结构必不可少的物质^[31],Hagen和Li等认为,胶原蛋白的含量和交联作用可以影响大西洋庸鲽^[16]和大西洋鲑^[17]的肌肉质地,从而使替代鱼粉后的大菱鲆肌肉质地依然保持鱼粉组水平。这一结果与Albrektsen^[32]等的结论一致,在其对大西洋鲑的研究中发现,饲料中添加羟脯氨酸可以显著提高肌肉胶原蛋白的含量,并能使肌肉硬度提高10%。综上所述,酶解动物软骨蛋白粉中含量相对较高的羟脯氨酸保证了植物蛋白替代鱼粉后大菱鲆依旧较高的肉质水平。

总之,本研究初步揭示了复合酶解动物软骨蛋白粉和植物蛋白在大菱鲆饲料替代蛋白源方面的研究价值,但如何确定合适的添加量以及与复合植物蛋白的配比仍需要进一步的研究。

参考文献:

- [1] Fao F A A O. The state of world fisheries and aquaculture [Z]. Italy: FAO Rome, 2010.
- [2] Bureau D P, Harris A M, Bevan D J, et al. Feather meals and meat and bone meals from different origins as protein sources in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets [J]. Aquaculture, 2000, 181(3): 281-291.
- [3] Kureshy N, Davis D A, Arnold C R. Partial replacement of fish meal with meat-and-bone meal, flash-dried poultry by-product meal, and enzyme-digested poultry by-product meal in practical diets for juvenile red drum [J]. North American Journal of Aquaculture, 2000, 62(4): 266-272.
- [4] Millamena O M. Replacement of fish meal by animal by-product meals in a practical diet for grow-out culture of grouper *Epinephelus coioides* [J]. Aquaculture, 2002, 204(1): 75-84.
- [5] Wang Y, Guo J, Bureau D P, et al. Replacement of fish meal by rendered animal protein ingredients in feeds for cuneate drum (*Nibeamiichthioides*) [J]. Aquaculture, 2006, 252(2): 476-483.
- [6] Kikuchi K, Sato T, Furuta T, et al. Use of meat and bone meal as a protein source in the diet of juvenile Japanese flounder [J]. Fisheries Science, 1997, 63(1): 29-32.
- [7] Webster C D, Tiu L G, Tidwell J H, et al. Growth and body composition of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fed diets containing various percentages of canola meal [J]. Aquaculture, 1997, 150(1): 103-112.
- [8] Davies S J, Morris P C. Influence of multiple amino acid supplementation on the performance of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), fed soya based diets [J]. Aquaculture Research, 1997, 28(1): 65-74.
- [9] Lim S J, Lee K J. Supplemental iron and phosphorus increase dietary inclusion of cottonseed and soybean meal in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) [J]. Aquaculture Nutrition, 2008, 14(5): 423-430.
- [10] Stickney R R, Hardy R W, Koch K, et al. The effects of substituting selected oilseed protein concentrates for fish meal in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* diets [J]. Journal of the World Aquaculture Society, 1996, 27(1): 57-63.
- [11] Kikuchi K. Use of defatted soybean meal as a substitute for fish meal in diets of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) [J]. Aquaculture, 1999, 179(1): 3-11.
- [12] Carter C G, Hauler R C. Fish meal replacement by plant meals in extruded feeds for Atlantic salmon, *Salmo salar* L. [J]. Aquaculture, 2000, 185(3): 299-311.
- [13] Krogdahl Å, Bakke Mckellep A M, Baeverfjord G. Effects of graded levels of standard soybean meal on intestinal structure, mucosal enzyme activities, and pancreatic response in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) [J]. Aquaculture Nutrition, 2003, 9(6): 361-371.
- [14] Webster C D, Tidwell J H, Goodgame L S, et al. Growth, body composition, and organoleptic evaluation of channel catfish fed diets containing different percentages of distillers' grains with solubles [J]. The Progressive Fish-Culturist, 1993, 55(2): 95-100.
- [15] Grigorakis K, Taylor K, Alexis M N. Organoleptic and volatile aroma compounds comparison of wild and cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*): sensory differences and possible chemical basis [J]. Aquaculture, 2003, 225(1): 109-119.
- [16] Hagen Ø, Solberg C, Sirnes E, et al. Biochemical and structural factors contributing to seasonal variation in the texture of farmed Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) flesh [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(14): 5803-5808.
- [17] Li X, Bickerdike R, Lindsay E, et al. Hydroxylysylpyridinoline cross-link concentration affects the textural properties of fresh and smoked Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) flesh [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(17): 6844-6850.
- [18] Zhang K, Ai Q, Mai K, et al. Effects of dietary hydroxyproline on growth performance, body composition, hydroxyproline and collagen concentrations in tissues in relation to prolyl 4-hydroxylase α (I) gene expression of juvenile turbot, *Scophthalmus maximus* L. fed

- high plant protein diets [J]. *Aquaculture*, 2013, 404: 77-84.
- [19] Aoac I. Official methods of analysis of AOAC International [M]. USA: AOAC International, 1995.
- [20] Furukawa-Nippon Suisan Gakkaishi. On the acid digestion method for the determination of chromic oxide as an index substance in the study of digestibility of fish feed [J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1966, 32: 502-506.
- [21] Bourne M C. Texture profile analysis [J]. *Food technology*, 1978, 32(7):62-66.
- [22] 陈超, 陈京华. 牛磺酸、晶体氨基酸对大菱鲆摄食、生长和饲料利用率的影响[J]. *中国农学通报*, 2012, 28(23): 108-112.
Chen Chao, Chen Jinghua. Effects of taurine and Compound Crystalline amino acid on feed intake, growth and feed utilization of turbot(*Scophthalmus maximus* L.)[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2012, 28(23): 108-112.
- [23] Cui Min, Guo Ran, Xia Hui. Effects of replacement of fish meal by feed yeast on growth performance and immunity in turbot *Scophthalmus maximus*[J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2012, 27(1): 58-63.
- [24] Regost C, Arzel J, Kaushik S J. Partial or total replacement of fish meal by corn gluten meal in diet for turbot (*Psetta maxima*) [J]. *Aquaculture*, 1999, 180(1): 99-117.
- [25] Dietz C, Kroeckel S, Schulz C, et al. Energy requirement for maintenance and efficiency of energy utilization for growth in juvenile turbot (*Psetta maxima*, L.): The effect of strain and replacement of dietary fish meal by wheat gluten [J]. *Aquaculture*, 2012, 358: 98-107.
- [26] Day O J, González H G. Soybean protein concentrate as a protein source for turbot *Scophthalmus maximus* L. [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2000, 6(4): 221-228.
- [27] Mccurdy S M, March B E. Processing of canola meal for incorporation in trout and salmon diets [J]. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 1992, 69(3): 213-220.
- [28] Sylvia G, Morrissey M T, Graham T, et al. Organoleptic qualities of farmed and wild salmon [J]. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 1995, 4(1): 51-64.
- [29] Johnston I A, Li X, Vieira V L, et al. Muscle and flesh quality traits in wild and farmed Atlantic salmon [J]. *Aquaculture*, 2006, 256(1): 323-336.
- [30] Periago M J, Ayala M D, López-Albors O, et al. Muscle cellularity and flesh quality of wild and farmed sea bass, *Dicentrarchus labrax* L. [J]. *Aquaculture*, 2005, 249(1): 175-188.
- [31] Brinckmann J, Notbohm H, Müller P K. Collagen: Primer in Structure, Processing and Assembly [M]. USA: Springer Science & Business Media, 2005.
- [32] Albrektsen S, Sirnes E, Aksnes A, et al. Impacts of dietary hydroxyproline on growth, muscle firmness, collagen and PYD cross-links formation in Atlantic salmon (*Salmo salar*) [C]. Qingdao: Program and Abstracts of the 14th International Symposium on Fish Nutrition and Feeding, 2010.

Effect of Partial Replacement of Dietary Fishmeal With an Animal and Plant Protein Mixture on the Growth Performance and Muscle Texture of Juvenile Turbot (*Scophthalmus maximus* L.)

LIU Yun-Zheng, HE Gen, MAI Kang-Sen, XU Wei, ZHOU Hui-Hui

(The Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Agriculture, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: A feeding trial was conducted to evaluate the effect of replacement of fish meal by mixed animal and plant proteins on the growth performance and muscle texture of turbot (*Scophthalmus maximus* L.). Four isonitrogenous and isoenergetic diets were formulated; a reference diet (FM) containing 60% fish meal, and three other diets 40I, 50I and 60I in which 40%, 50% and 60% fish meal was substituted by a mixture of EHAP and plant proteins, respectively. The juveniles (8.63 ± 0.03)g were distributed at a density of 30 fish per aquarium. Each diet was randomly fed to quadruplicate groups of fish twice daily for 8 weeks. The results showed that final body weight (FBW), weight gain rate (WGR) and specific growth rate (SGR) significantly decreased with the increase of replacement level of fish meal ($P < 0.05$). Feed efficiency ratio (FER) was significantly higher in fish fed FM and 40I compared with 50I and 60I. No difference was observed in feed intake (FI) and survival rate (SR) ($P > 0.05$). No difference was found in fish body composition and condition factor (CF) ($P > 0.05$). Apparent digestibility coefficients for dry matter and crude protein decreased significantly with increasing replacement level of fish meal ($P < 0.05$). There was no difference in muscle hardness, chewiness and springiness in fish fed four experimental diets ($P > 0.05$). In conclusion, replacement of fish meal by EHAP and plant protein at 40% can be considered as an optimum replacement level without decreasing the growth performance and flesh quality.

Key words: Turbot; fish meal; alternative protein source; muscle texture

责任编辑 朱宝象