

A review on methodology for evaluation of an aquaculture dietary protein source

李二超¹, 陈立侨¹, 顾顺樟¹, 蔡永久²

(1. 华东师范大学 生命科学学院, 上海 200062; 2. 美国 ADM 公司, 香港 999077)

中图分类号: Q493

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2009)07-0113-05

随着养殖业的快速发展和养殖规模的不断扩大,对饲料的需要量不断增加,致使饲料供求,特别是饲料蛋白源的供求矛盾日益突出。与其他蛋白源相比,鱼粉具有得天独厚的优点,多年来一直被广泛用作水产饲料蛋白源。但近年来,由于人为的过度捕捞和环境的变化等原因,世界上的鱼粉年产量日趋下降。另一方面,水产养殖业蓬勃发展,也加剧了鱼粉资源供求短缺的矛盾^[1]。饲料蛋白源的短缺将成为中国饲料工业发展的主要制约因素,并将直接影响中国的饲料工业和养殖业的持续和稳定发展,因此必须加强新水产饲料蛋白源的开发和应用研究。

近年来,人们已经开始认识到开发饲料蛋白源的紧迫性和重要性,并着手开展了一系列卓有成效的工作^[2,3],如人造鱼粉的研制,植物蛋白、单细胞藻类及其他动物性蛋白源的开发。但是在饲料蛋白源开发利用,尤其是蛋白源营养价值的评价方面尚存在不少问题,研究方法的不统一和不规范,导致试验的可比性差,其学术价值和应用价值都存在较大的缺陷。

作者在大量相关研究的基础上,从目前水产饲料蛋白源评价的研究现状着手,综述了水产饲料蛋白源开发利用的评价方法,并比较、总结了不同方法的优缺点,以期建立一套有效的水产饲料蛋白源开发和利用评价方法提供参考。

1 生物评定法

生物评定法是目前国内外常用的方法之一,该方法用已知蛋白含量的饲料来喂鱼、虾,经过一

定时间(如8周左右)后测定各种生物学指标,并通过这些指标的比较来评定该蛋白源的应用效果,这类指标通常有增重率(weight gain)、蛋白质效率(protein efficiency ratio, PER)、净蛋白质效率(net protein ratio, NPR)、蛋白质净利用率(net protein utilization, NPU)、蛋白质生物价(Protein score)等^[4,5]。此外,不少营养学家也经常根据鱼、虾对饲料的摄食和利用情况来作为评定蛋白源优劣的参考,常见的指标有:摄食率(intake rate)、饵料系数(food index)等^[6]。同时根据研究对象不同,评价指标也稍有不同,如研究虾蟹类饲料蛋白源时,虾蟹类的蜕壳率经常被视为一个非常重要的指标^[7]。应注意的是,单一指标并不能很好地说明该饲料蛋白源的好坏,还要结合考虑其他指标及其变化的趋势。饵料蛋白质的营养价主要由其氨基酸、特别是必需氨基酸的种类组成和消化吸收率决定。陈立侨等^[7]指出,蛋白质营养价值可用饵料转化率、蛋白质效率和蛋白质利用率等指标来评价,饵料转化率与饵料的蛋白质含量和能量水平密切相关。此外,由于甲壳动物的生长过程是伴随蜕壳而进行的,蜕壳时吸

收稿日期: 2007-05-10; 修回日期: 2007-08-12

基金项目: 国家自然科学基金项目(30771670); 高等学校博士点基金项目(200802690012); 上海市曙光计划跟踪项目(06GG06); 上海市科技兴农重点攻关项目(沪农科攻 2006 年第 6-4 号); 国家基础研究计划项目(2009CB118702); 华东师范大学 2007 年优秀博士研究生培养基金项目
作者简介: 李二超 (1979-), 男, 河北沧州人, 博士, 助理研究员, 主要从事水产动物营养和水产养殖研究, 电话: 021-62233579, E-mail: ecl@bio.ecnu.edu.cn; 陈立侨, 通信作者, 教授, 博士生导师, 电话: 021-62233637; E-mail: lqchen@bio.ecnu.edu.cn

收大量水分,湿质量迅速增加,而后的蜕壳间期的生长中,机体的水分逐渐为组织生长所代替。从营养学的含义可知,和体质量增长相比,采用蛋白质利用率能更客观地评价饵料蛋白质的营养价值^[7]。

用不同饲料蛋白源饲养动物后,动物体生化成分的变化,包括粗蛋白、粗脂肪、水分、灰分等,经常被用作评定饲料蛋白源优劣的一个指标。动物体组织生化含量的变化,一定程度上反映了动物对不同饲料蛋白源营养成分和能量利用的差异。一般来说,优质蛋白源中的蛋白质易被饲养动物消化吸收,并及时用来作为机体的生长和组织的更新,对动物体成分,尤其是粗蛋白和水分含量的影响不大。反之,劣质蛋白源因氨基酸种类和组成的不平衡,会导致动物消耗额外的能量来利用其中的营养物质。饲料蛋白源质量好坏对体成分的影响,从某种意义上来说,也是对鱼、虾蟹肌肉品质的影响。随着经济的发展,生活质量的提高,人们对于鱼、虾、蟹等食物的质量也有了更高的要求,包括水产品既要富有营养,又要清洁、卫生和安全,有利于健康并给人们以享受。因此,用体成分变化指标作为评价饲料蛋白源质量标准之一的研究具有现实的意义。

2 化学评定法

饲料蛋白源的化学评定法主要是从蛋白源的氨基酸组成及含量着手,通常利用蛋白价(protein score, PS)和必需氨基酸指数(essential amino acid index, EAAl)两个经典指标来评判某种蛋白源的优劣。这方面的研究很多,报道指出虹鳟及中国对虾的生长和饲料蛋白质中必需氨基酸指数之间有明显的正相关关系^[8]。化学评价法只是从蛋白质氨基酸方面来评定蛋白源好坏,并没有针对蛋白源综合营养成分进行评定。事实上,蛋白源中各种营养物质的组成和含量都应考虑在内,包括脂肪、糖(含纤维素)等,忽视任何一种相关成分的作用都会导致不正确的结论。如:与鱼粉相比,某些植物蛋白产品的蛋白质含量虽然较高,但其纤维素含量却偏高,而脂肪含量又较低,如果只考虑蛋白质,就会忽略饲料中纤维素、脂肪含量和种类对实验动物的影响。研究表明,饲料中脂肪、脂肪酸和纤维素含量及种类都是影响动物生长和健康的重要物质,因此,开发饲料蛋白源时,应综合考虑各种营养物质

种类和含量。近年来,随着交叉学科的发展,灰色关联度也曾一度作为一种分析方法被成功地应用于水产养殖的各个领域中。这种方法是灰色系统理论中的一个主要部分,是对一个发展变化着的系统进行发展态势量化比较的一种技术,用于分析系统中各因子相互的关联程度,较好地揭示事物变化的内在规律。该方法已经被很多水产研究者所接受,并应用于实际科学研究和生产实践中^[9]。

体外消化实验也常被用来初略评价蛋白源的优劣,该方法已经被国内外的学者所接受并应用^[10,11]。通过用从实验动物体内提取的酶液或商业用蛋白酶、淀粉酶等,并尽可能模仿体内环境,对研究用的蛋白源进行体外消化,用以初步鉴定某种蛋白源的可消化程度。

用化学评定法评定蛋白质营养价值,方法虽然简单,但该评定方法不能真正反映鱼、虾对蛋白质的消化吸收率和氨基酸的利用率,此外经加工后的蛋白质,其营养价值可有会发生某些改变,从而影响动物的消化利用。所以在使用此方法时,应注意以上述及的这些问题。

3 生物化学评定法

与生物评价法相比,生物化学评定法可在较短时间内初步了解实验用蛋白源对水产动物的影响,并以此来评定蛋白质质量的优劣。该方法主要是通过分析血液中的游离氨基酸含量,采用血浆的必需氨基酸平衡(balance of essential amino acid in plasma)和游离氨基酸模式(free amino acid model)两个经典指标来比较评价饲料蛋白质的营养价值,这种方法的应用也比较普遍^[12]。此外,近年来,有些营养学家采用血浆中的其他营养物质(如可溶性蛋白质、糖类等)作为参考来评定蛋白质的营养价值^[13]。因食物经摄取消化后,以某种形式进入血液,然后才被输送至身体各部分,以供机体同化利用。所以测定血液中各营养成分含量,可较好地反映各营养素被动物吸收利用的实际情况。

营养素被吸收利用之前,首先要经过初步的消化至机体可以利用的形式,这一过程要归功于体内的各种消化酶。对水产动物消化生理的研究,尤其是研究机体消化酶对饲料中各种营养成分的潜在适应性和活力高低,不仅可以作为饵料蛋白源的评定指标,而且可以指导人工配合饲料的生产,提高

动物对营养物质的利用率,降低养殖成本。国内外在评价蛋白源优劣方面,用消化酶这一指标的例子很多^[14,15]。通过生物化学评定法,可以较好地了解营养素在动物体内被消化、吸收和利用的情况,不失为饲料蛋白源开发利用评价的敏感和有效工具之一。

4 组织学与免疫学评定法

饲料蛋白质的质和量与机体免疫水平有密切的关系。蛋白质是鱼虾生命生存的重要物质,是构成机体细胞、组织、器官的营养物质。水产动物正常生长需要饲料中有数量足够、容易消化吸收,而且各种氨基酸配比适宜的蛋白质。水产动物摄取蛋白质不足时,生长缓慢,机体免疫力下降,组织更新缓慢,创伤愈合力差,易患病;而蛋白质过量,未被消化的蛋白质以各种形式排出,不但会降低蛋白质的消化率,也易引起肠道疾病。研究营养和免疫之间的相互关系,可以指导饲料研制和养殖生产,故必须大力加强水产动物营养免疫学的研究。

水产动物蛋白源与免疫学的研究已有一些报道,免疫学指标在水产动物营养研究中的应用开始得到重视。Bransden 等^[13]在评价几种植物蛋白的营养效果时,率先将免疫指标应用于植物蛋白质替代动物蛋白源的实验研究,并取得了较好的效果。水产动物的免疫主要由非特异性免疫系统组成,机体虽然具有免疫球蛋白,但其组成和功能都不完善;而属于无脊椎动物的甲壳动物和软体动物等均缺乏免疫球蛋白,它们主要通过物理屏障(Physical barriers)、吞噬作用(Phagocytosis)、溶菌作用(Bacteriolysis)和凝集作用(agglutination reaction)等清除病原菌的侵入以及外来异物。所以,当研究营养素对动物免疫力影响时,应根据实验目的和需要,有针对性地选择相关的免疫指标来进行评价。

此外,相关报道指出,通过对鱼的生长性能、饲料利用效率、饲料消化率和鱼体组成分析来评价蛋白质的替代效果是最常用的方法和手段。然而,仅凭这些指标有时是不全面的,甚至可能得出错误的结论。Robaina 等^[16]用肉骨粉替代鱼粉的饲料喂金头鲷(*Sparus aurata*)时,发现肉骨粉替代高达40%的鱼粉时,鱼的生长情况良好,其生长指标和饲料利用率均高于全鱼粉对照组。但进一步的组织学研究却发现,当饲料中的肉骨粉超过20%时,鱼

的肺部发生了明显的病变。因此,作者认为金头鲷的饲料中,肉骨粉替代鱼粉的量不应高于20%。可见,生长实验结合免疫及组织学的研究,可使实验结论更为可靠。

5 分子生物学评定法

以往的营养学研究主要集中在对营养素的摄食、消化吸收、代谢等基础生理、生化过程,以及不同动物对各种营养素的“必需”与“非必需”及“需求量”等问题。但是随着研究的逐步深入、分子生物学的发展、营养学与遗传学科的交叉以及相互促进,人们开始认识到营养素与动物的基因表达之间存在密切的关系。营养作为一种重要的外界环境因子对遗传和变异必然产生一定的影响,营养作为一种调控物或调控因素通过多种途径,在分子水平上对生命活动中的基因表达进行调控。然而迄今,应用分子生物学方法来研究水产营养学的资料还不多。江洪波等^[17]以中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)为研究对象,探讨了不同蛋白质含量的饲料对胰蛋白酶、淀粉酶活性及胰蛋白酶 mRNA 丰度的影响。结果表明,在酶活性水平上,较高水平的饲料蛋白质对仔蟹肝胰腺胰蛋白酶有显著的促进作用,对淀粉酶则产生抑制作用;在分子水平上, mRNA 丰度随饲料蛋白质水平的递增而上升,这种变化趋势提示了饲料蛋白质对肝胰腺胰蛋白酶活性的促进作用是由于酶基因转录(transcription)水平的差异而造成的。之外,营养学家也从其他途径入手去评定蛋白源的优劣,国内外许多营养学专家就水产动物生长与 RNA 的关系进行了广泛的研究。Bullow 等^[18,19], Mustafa 等^[20]和 Buckley 等^[21,22]分别对一些鲤科水产动物以及蓝鳃太阳鱼、红点鲑、小口鲈等水产动物肌肉、肝脏中的 RNA/DNA 比率与摄取、生长的关系作了研究。结果表明, RNA/DNA 比率与水产动物生长率呈正相关,并确认这一比率是评定水产动物近期及长期生长的良好指标。该方法的优越性在于可以快速地反映水产动物营养状况的变化,大大缩短养殖周期,以避免长期养殖过程中的人为因素、天气突变、水质恶化、疾病等因素的影响,在较短时间内准确地评定饲料的营养价值^[23-25]。此外,也有人曾试图从各种蛋白源结构方面入手,以揭示动物对各种蛋白源不同的消化吸收率,如大豆蛋白消化率较低的原因之一是由于其中的不利于

大豆蛋白消化的三级结构^[26,27] ,但这方面的研究今后还有大量的工作要做。

6 环境生态学评定法

残余饵料、粪便和排泄废物是水产养殖对水环境产生影响的主要途径。而水产动物正常生长均有一定的氮和磷排泄,如何使非必要排泄的氮和磷减少到最低限度,减少对养殖水体的污染,是营养学家和水产养殖者共同关注的问题^[28]。Cheng 等^[29]研究表明,用植物蛋白作为饵料蛋白源,适量添加赖氨酸,可以降低虹鳟的氮磷排泄率。李二超等^[30]研究了大豆浓缩蛋白作为饵料蛋白源替代鱼粉后,对中华绒螯蟹氮、磷排泄的影响,结果发现,磷排泄率随大豆浓缩蛋白含量的升高而显著下降。饵料和残饵是水产养殖最大的有机污染源,所以开发饲料蛋白源时,应把饲料-养殖动物-养殖生态环境三者作为一个整体来考虑。传统的人工配合饲料研制均以追求最大增质量或增长速度为目标,饵料氮磷含量高,且多超量投喂,这样的饵料和投喂方式往往造成水质败坏乃至危及鱼、虾、蟹的生存。为了减少残饵和排泄物对养殖生态环境的污染,饵料蛋白源开发时,必须重视动物对各种氨基酸的利用情况,大力开发低蛋白高能量且蛋白质可高消化、磷可被高利用的饲料,以减少氮和磷排出体外。

7 结论

水产饵料蛋白源的科学开发和利用,要综合生态学、营养学、发育生物学、分子生物学、免疫和病理学等学科的方法与技术,辅以电镜技术、组织学、组织化学手段以及现代先进的分析检测手段,从饲料的营养生化组成、对养殖动物生长的影响入手,同时研究对饲料蛋白源的消化吸收及利用率,使饲料中的蛋白质、氨基酸等营养成分,既要满足养殖动物的营养需求,又要兼顾养殖模式和对象所处的生态环境,以提高对饲料的利用效率,降低对水环境的污染,促进水产养殖业的可持续发展。

参考文献:

[1] Tacon, A G J. Trends in aquaculture production, with particular reference to low-income food-deficit countries 1984-1993[J]. *FAO Aquaculture Newsletter*, 1996.12: 6-9.

[2] Eusebio P S, Coloso R M. Nutritional evaluation of various plant protein sources in diets for Asian sea bass *Lates calcarifer* [J]. *Appl Ichthyol*, 2000,16(2):56-60.

[3] 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.

[4] Adrian E, Shim K F. The influence of replacing fish meal partially in the diet with soybean meal on growth and body composition of juvenile tile foil barb(*Barbodes altus*)[J]. *Aquaculture*,2000,189(2):133-144.

[5] Berge G M, Grisdale-Helland B, Helland S J. Soy protein concentrate in diets for atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) [J]. *Aquaculture*, 1999,178(2):139-148.

[6] Kotaro 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.

[7] 陈立侨,堵南山.中华绒螯蟹配种配饵中豆饼替代部分鱼粉的适宜含量[J].*水产学报*. 1994,18(1):75-80.

[8] 侯文璞,汪哲夫.对虾配合饲料学[M].北京:海洋出版社,1990.43-81.

[9] 陈昌齐.灰色关联分析法的渔业应用[J].*水利渔业*, 1991,5:25-28

[10] Bassompierre M, Larsen K L, Zimmermann W, et al., Comparison of chemical, electrophoretic and in vitro digestion methods for predicting fish meal nutritive quality[J].*Aquacult Nutr*, 1998,4(4):233-239.

[11] Bassompierre M, Borresen T, Sandfeld P, et al. An evaluation of open and closed systems for in vitro protein diestion of fish meal[J]. *Aquacult Nutr*, 1997,3(3),153-160.

[12] Aoki A, Akimoto A, Watanabe T, et al.Periodical changes of plasma free amino acid level and feed digesta in yellowtail after feeding non-fishmeal diets with or without supplemental crystalline amino acids[J]. *Fisheries Sci*, 2001,67(4):614-618.

[13] Brandsden M P, Carter C G, Nowal B F. Effects of protein source on growth, immune function, blood chemistry and disease resistance of Altantic samon(*Salmo salar* L.)

- [J]. *Animal Sci*, 2001, **73**(1):105-113.
- [14] 董云伟,牛翠娟.豆粕替代鱼粉对罗氏沼虾生长和消化酶活性的影响[J]. 北京师范大学学报(自然科学版), 2000, **36**(2):260-263.
- [15] Tovar D, Zambonino J, Cahu C, *et al*. Effect of live yeast incorporation in compound diet on digestive enzyme activity in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae[J]. *Aquaculture*, 2002, **204**(2):113-123.
- [16] Robaina L, Moyano E J, Izquierdo M S, *et al*. Corn gluten meal and meat and bone meals as protein sources in diets for gilthead seabream *Sparus auraria*: nutritional and histological implications[J]. *Aquaculture*, 1997, **157**(4):347-359.
- [17] 江洪波,陈立侨,王群,等.饲料蛋白质对中华绒螯蟹仔蟹消化酶活性及胰蛋白酶 mRNA 丰度的影响[J].水产学报, 2005, **29**(2):162-168.
- [18] Bullow F J. RNA/DNA ratio as indicator of recent growth rates of a fish[J]. *J Fish Res*, 1970, **27**(4):2343-2349.
- [19] Bullow F J. Selection of suitable tissues for use in the RNA-DNA ratio technique of assessing recent growth rate of a fish[J]. *State J Sci*, 1971, **46**(1):71-78.
- [20] Mustafa S. Influence of Maturation on the concentrations of RNA and DNA in the flesh of the catfish. *Clarias batrachus*[J]. *Trans Am Fish Soc*, 1977, **106**(5):449-451.
- [21] Buckley L J. Relationships between RNA/DNA ratio, prey density, and growth rate in Atlantic cod (*Gadus morhua*) larvae[J]. *J Fish Res Bd Can*, 1979, **36**(12):1497-1502.
- [22] Buckley L J. RNA-DNA ratio: an index of larval fish growth in the sea[J]. *Marine Biology*, 1984, **80**(3):291-298.
- [23] 司亚东,余有坤,周洪琪,等.鲤鱼白肌中 RNA/DNA 值与其生长的关系[J].上海水产大学学报, 1997, **3-4**:159-167.
- [24] 赵振山,林可椒,张益明,等.用 RNA/DNA 比率评定鲤的生长及其配合饲料的营养价值[J].水产学报, 1994, **18**(4):257-264.
- [25] 周洪琪.鉴定水产动物生长的新指标——RNA/DNA[J].水利渔业, 1988, **3**:14-18.
- [26] Andrews J W, Page J W. Growth factors in the fish meal component of catfish diets[J]. *J Nutr*, 1974, **104**(4):1091-1096.
- [27] Viola S, Mokady S, Arieli Y. Effects of soybean processing methods on the growth of carp (*Cyprinus carpio*)[J]. *Aquaculture*, 1983, **32**(1):27-38.
- [28] 林仁梅,叶元土,罗莉.水产养殖的绿色饲料开发研究[J].中国饲料, 1999, **15**:23-25.
- [29] Cheng Z J, Ronald W, James L U. Plant protein ingredients with lysine supplementation reduce dietary protein level in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets, and reduce ammonia nitrogen and soluble phosphorus excretion[J]. *Aquaculture*, 2003, **218**(4):553-565.
- [30] 李二超,于丰军,陈立侨,等.配饵中不同大豆浓缩蛋白含量对中华绒螯蟹氮、磷排泄的影响[J].水产科学, 2005, **24**(4):12-16.

(本文编辑:张培新)

删除的内容: