

带鱼酶解蛋白亚铁螯合肽对凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 生长、免疫及品质的影响*

梁营芳 林慧敏^① 石芸洁 邓尚贵

(浙江省海产品健康危害因素关键技术研究重点实验室 浙江海洋大学食品与医药学院 舟山 316022)

摘要 通过 56d 喂食添加带鱼酶解蛋白亚铁螯合物(Fe(II)-FPH)的饲料观察凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)的生长性能、免疫相关指标及品质的变化。Fe(II)-FPH 在饲料中的添加量分别为 0、500、1000、1500、2000、2500mg/kg, 不同饲料组分别设 4 个重复, 每个重复 40 尾对虾。结果显示, 当 Fe(II)-FPH 在饲料中的添加量在 1500—2500mg/kg 时, 凡纳滨对虾的成活率、增重率、特定生长率显著提高($P<0.05$); 当 Fe(II)-FPH 在饲料中的添加量为 2000—2500mg/kg 时, 对虾血清碱性磷酸酶(AKP)、溶菌酶(LZM)的活性均维持在一个较高的水平, 且显著高于对照组($P<0.05$); 高浓度(2000mg/kg)、较长时间(56d)的 Fe(II)-FPH 饲喂, 对虾肌肉组织弹性增强, 硬度加大, 水产品品质增强。结果表明, 饲料中添加适量的 Fe(II)-FPH 对凡纳滨对虾生长有一定的促进作用, Fe(II)-FPH 可以提高对虾的免疫相关指标, 并能提高水产品品质。

关键词 带鱼蛋白亚铁螯合物; 凡纳滨对虾; 生长特性; 非特异性免疫; 质构特性

中图分类号 TS254

doi: 10.11693/hyh20160700161

凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)是世界主要养殖对虾之一, 也是中国主要对虾养殖品种。在集约化养殖过程中, 传染性疾病的暴发是制约对虾养殖效益的主要因素(Karthikeyan *et al.*, 2015; Lin *et al.*, 2015)。药物防病有一定的优势, 但药物残留及病原菌耐药性风险的增加制约了药物的使用, 通过添加提高免疫机能的生物活性物质是营养饲料学的重要研究方向和热点。有关提高养殖对虾的免疫研究, 现有报道集中在微量元素如维生素(Lee *et al.*, 2004)、活性物质如多糖(Wang *et al.*, 2008; Yudiati *et al.*, 2016)以及中草药(Sha *et al.*, 2016)等免疫添加剂对免疫相关指标的影响。

蛋白水解肽能够与生物体内的必需微量金属元素相结合, 从而形成蛋白肽-金属的配合物, 该配合物在提高机体繁殖和生长能力、提高抗病免疫力, 以及对生理代谢的调节等方面具有不可替代的作用

(Ashmead *et al.*, 1989)。Lin 等(2014)以带鱼(*Trichiurus lepturus*)为原料, 经过复合酶解和金属螯合方法, 制备了带鱼酶解蛋白的亚铁螯合物[Fe(II)-FPH], 实验表明该物质具有较强的清除自由基以及体外抗氧化活性。研究还发现带鱼酶解蛋白亚铁螯合物对小鼠有抗贫血、抗疲劳、增强体内抗氧化能力的功效(Huang *et al.*, 2015; Lin *et al.*, 2016), 实验还证明带鱼酶解蛋白亚铁螯合物是相对安全的产品(Li *et al.*, 2016)。目前, 关于金属-水解肽螯合物对于凡纳滨对虾的生长和非特异性免疫、品质影响方面的成果尚未见报道。

本研究在制备 Fe(II)-FPH 基础上, 在养殖对虾饲料中添加 Fe(II)-FPH, 对养殖凡纳滨对虾的生长指标(特定增长率, 存活率, 增重率和出肉率)、免疫指标(血清和肝胰腺组织中非特异性免疫因子 LZM 和 AKP 活性)及质构指标(肌肉硬度、弹性、耐咀嚼)加以测定, 重点探讨 Fe(II)-FPH 对养殖对虾生长性能、

* 国家自然科学基金项目, 31301597 号, 31471609 号; 海洋公益性行业科研专项经费资助, 201305013 号。梁营芳, E-mail: 790884924@qq.com

通讯作者: 林慧敏, 博士, 副教授, E-mail: linhuixiaomin@126.com

收稿日期: 2016-07-27, 收修改稿日期: 2016-08-09

非特异性免疫及品质的影响。以期为 Fe(II)-FPH 在养殖水产动物免疫力调节和品质提高中的应用提供资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

带鱼鱼糜由浙江兴业集团有限公司提供。用锯子将冷冻鱼糜分装成 100—200g/袋, 置于-20℃冰箱中保存, 使用前一晚放至 4℃冷藏室中缓慢解冻。木瓜蛋白酶(papain, 酶活力 20000IU/g), 购自上海金穗生物科技有限公司, LZM、AKP 试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

1.2 Fe(II)-FPH 制备

取解冻后的带鱼鱼糜约 50g, 置于 500mL 去离子水中融化, 调节混合浆液的 pH 至 6.5±0.1, 于 35—40℃ 下保温 10min 后加入木瓜蛋白酶(按 20000U/g 比例), 45℃ 水浴、磁力搅拌酶解 8h (控制酶解液 pH 在 6.5 左右)。于 95℃ 的水浴中加热 10min 用来钝化木瓜蛋白酶, 将所得水解产物以 5000r/min 转速离心 20min, 所得的中间清液即为 FPH。将 FPH 溶液用 NaOH 溶液(1.0mol/L)调节至 pH=7.0, 添加 1mol/L 的 FeCl₂ 溶液(按体积的 1.0%, 同时加 0.1% Vc 保护), 于 30℃ 的水浴进行振荡 30min, 并于 10000r/min 离心 15min, 将所得上清液采用实验室的纳滤膜分离设备截留 1000—5000Da 分子量的部分, 经冷冻干燥后得灰白色粉末状物质即为带鱼酶解蛋白亚铁螯合肽(记为 Fe(II)-FPH)。

1.3 对虾饲料的制备及其组成

基础配料为: 35.0%鱼粉, 10.0%玉米粉, 15.0%小麦粉, 28.0%豆粕, 2.5%大豆油, 2.5%鱼油, 以及 5.0%复合维生素和符合矿物质元素, 2.0%羧甲基纤维素钠。测定结果表明基础饲料营养水平: 粗脂肪为 6.0%, 粗蛋白为 26.5%, 碳水化合物为 40.0%, 粗灰分为 8.0%。对上述组分加以粉碎至 60 目并均匀混合, 添加 0, 500, 1000, 1500, 2000 以及 2500mg/kg 的带鱼酶解蛋白亚铁螯合肽, 加少许水均匀搅拌。用双螺杆压条机, 制成颗粒饲料(直径为 1.5—2.0mm), 于 55℃ 熟化烘干 2h, 室温晾干后于 4℃ 保存备用。

1.4 实验分组和管理

实验对虾由舟山海洋研究所虾苗场提供, 挑选规格整齐(8.5±0.3)cm、质量(0.92±0.01)g、活力好的健康活泼的凡纳滨虾 960 尾随机分为 6 组, 每个饲料组设置 4 组重复, 每组重复饲养 40 对尾, 在试验场内驯养 1 周以适应环境。在 56d 实验期间, 每天 3 次喂

料, 时间分别在 8:30、14:30 和 20:30, 根据对虾的摄食情况来调节投喂率, 日投喂率为对虾体质量的 10%—20%。实验养虾用水采用循环过滤水系统, 期间保持充氧, 控制水体 pH 7.8—8.0、温度 25±0.2℃ 盐度为 5.2 左右, NH₄⁺水平低于 0.005mg/L, 溶解氧高于 6.0mg/L。

试验分组: 第 1 组对照组: 基础饲料饲喂; 第 2—6 组到为 Fe(II)-FPH 饲喂组: 分别以添加 500、1000、1500、2000、2500mg/kg 的 Fe(II)-FPH 基础饲料饲喂。

1.5 对虾生长指标的测定及公式

于饲养试验第 0、28 和 56 天, 将各箱内的对虾分别计数并称重, 计算成活率、增重率、特定增长率和出肉率(\bar{X})。

计算公式为:

成活率(%) = 成活对虾尾数/实验初投放的对虾尾数×100%。

特定增长率(%/d) = ln(试验末期对虾重量/试验初期对虾重量)/饲养天数×100%。

增重率(%) = (试验末期对虾重量 - 试验初期对虾重量)/试验初期对虾体重量×100%。

出肉率(%) = 对虾肌肉重量/对虾整体重量×100%。

1.6 对虾生化成分的测定

将待测样品称重, 置培养皿中, 于 65℃ 下烘干, 置于 105℃ 烘箱内烘至恒重, 称重, 并计算其干物质的含量。对虾灰分含量采用 GB 5009.4-2010《食品中灰分的测定》测定; 粗脂肪含量使用全自动索氏抽提仪测定; 粗蛋白含量使用全自动凯氏定氮仪测定。

1.7 对虾非特异性免疫指标测定

血清和肝胰腺中 LZM、AKP 参照南京建成生物工程研究所试剂盒说明书。所制备样品均在 12h 内完成测定。

1.8 质构分析

对虾的硬度、弹性和耐咀嚼性的测定采用美国 TMS-PRO 物性分析仪。质构剖面分析(texture profile analysis, TPA)特性检测参数为: 平底柱形探头 P/50 (直径 50mm); 选取距离头部 3 cm 处背部的肌肉组织为测定部位; 测试速度为 1mm/s, 样品的压缩形变量 25.0%。

2 结果与分析

2.1 Fe(II)-FPH 对对虾生长性能的影响

Fe(II)-FPH 饲喂对凡纳滨对虾的成活率、增重率、

特定生长率和出肉率的影响见表 1。由表 1 可知, 饲喂至第 28 天, 添加 0、500 和 1000mg/kg 的 Fe(II)-FPH 对对虾的基本生长性能没有显著影响($P>0.05$); 随着 Fe(II)-FPH 浓度增加(1500—2500mg/kg), Fe(II)-FPH 对对虾的生长表现出显著促进作用($P<0.05$)。与空白组相比较, 1500—2500mg/kg 的 Fe(II)-FPH 提高对虾成活率(3.98%—4.13%)、增重率(5.43%—5.84%)和特定生长率(0.22%—0.39%/d)。饲喂至第 56 天, 500mg/kg Fe(II)-FPH 对对虾的成活率(5.23%)有显著提高($P<0.05$), 但对其增重率、特定生长率及出肉率影响不显著($P>0.05$); 添加 1000—2500mg/kg Fe(II)-FPH 显著提高对虾成活率(8.03%—9.09%)、增重率

(5.89%—8.72%)、特定生长率(0.41%/d—0.49%/d)和出肉率(1.60%—2.05%) ($P<0.05$)。

大量研究表明, 多种不同来源的(分子量较小)水解肽, 通过 N 端氨基、C 端羧基及氨基酸侧链基团与金属元素形成的配合物, 体内外稳定性更佳(Kurzak *et al*, 2004; Buglyó *et al*, 2007), 同时表现出较为特殊的生物体内转运机制和生理活性, 例如: 激素样活性, 抗菌活性, 酶抑制, 免疫和生理调节功能等(Fisher *et al*, 2005; Megias *et al*, 2008)。本实验制备的 Fe(II)-FPH 饲喂对虾, 对其生长性能的影响机制极有可能为: 摄入体内的 Fe(II)-FPH 可以通过增强机体的非特异性免疫能力, 从而起到改善其生长活力的效果。

表 1 饲喂 Fe(II)-FPH 对对虾生长性能的影响
Tab.1 Growth performance of *L. vannamei* fed with Fe(II)-FPH

Fe(II)-FPH (mg/kg)	成活率(%)		增重率(%)		特定增长率(%/d)		出肉率(%)
	28d	56d	28d	56d	28d	56d	56d
0	86.31±2.23 ^a	75.46±4.19 ^a	109.63±3.45 ^a	209.41±5.52 ^a	2.51±0.26 ^a	4.24±0.10 ^a	13.13±1.93 ^a
500	86.56±3.29 ^a	79.69±3.69 ^b	110.51±3.90 ^a	211.16±5.57 ^a	2.56±0.64 ^a	4.47±0.27 ^a	13.28±2.01 ^a
1000	87.42±2.34 ^a	83.48±2.57 ^c	111.40±2.74 ^b	215.21±4.16 ^b	2.60±0.40 ^a	4.65±0.28 ^b	14.74±1.53 ^b
1500	89.67±1.97 ^b	84.56±3.49 ^d	115.25±4.51 ^c	217.96±4.62 ^c	2.71±0.40 ^b	4.71±0.26 ^c	15.03±1.62 ^b
2000	91.36±1.63 ^b	84.78±3.09 ^d	116.28±3.41 ^c	218.58±5.68 ^c	2.73±0.68 ^c	4.67±0.47 ^c	15.47±1.59 ^c
2500	89.45±2.11 ^b	84.35±3.36 ^d	116.73±3.52 ^c	218.67±4.57 ^c	2.83±0.36 ^c	4.73±0.25 ^c	16.29±1.93 ^c

注: 于饲喂第 0, 28 和 56 天对各组实验动物的平均生长性能指标分别统计。同一列数据上标不同的小写字母表示差异显著($P<0.05$)

2.2 Fe(II)-FPH 对实验对虾的生化特性影响

由表 2 可知, 饲喂开始时, 空白组的干物质、粗蛋白、粗脂肪和灰分的含量依次为 43.52%、69.95%、5.22%及 15.75%。添加 500—1500mg/kg Fe(II)-FPH 对对虾的粗蛋白和粗脂肪含量影响不显著($P>0.05$), 2000mg/kg 和 2500mg/kg 的 Fe(II)-FPH 对粗蛋白和粗

脂肪含量的提高分别为 0.62%—0.92%和 0.14%—0.17%, 与空白组相比为显著性差异($P<0.05$)。1000—2500mg/kg Fe(II)-FPH 饲喂效果对干物质及灰分含量的影响显著($P<0.05$)。由此可知, 在 Fe(II)-FPH 的添加量为 2000mg/kg 和 2500mg/kg 时, 对于饲喂对虾的基本生化特性指标有显著的提高作用。

表 2 饲喂 Fe(II)-FPH 对对虾成分的影响
Tab.2 Composition change of *L. vannamei* fed with Fe(II)-FPH

Fe(II)-FPH (mg/kg)	干物质(%)	粗脂肪(%)	粗蛋白质(%)	灰分(%)
0	43.52±1.25 ^a	5.22±1.02 ^a	68.85±0.86 ^a	15.75±1.16 ^a
500	46.28±1.56 ^a	5.13±0.78 ^a	70.04±1.12 ^a	15.36±1.82 ^a
1000	46.77±2.01 ^b	5.27±1.62 ^a	70.17±1.07 ^a	16.50±1.22 ^b
1500	47.62±2.32 ^c	5.25±2.10 ^a	60.12±1.46 ^a	16.41±1.89 ^c
2000	47.73±2.54 ^c	5.39±2.24 ^b	70.56±0.67 ^b	16.26±2.35 ^c
2500	47.90±3.02 ^c	5.36±1.62 ^b	70.67±0.67 ^b	16.33±2.39 ^c

注: 于饲喂第 56 天对各组动物取 10 尾全虾, 打碎匀浆后测定其生化特性指标; 同一列数据上标不同的小写字母表示差异显著($P<0.05$)

2.3 Fe(II)-FPH 对对虾 LZM 活性的影响

对虾血细胞吞噬异物后会分泌一些碱性蛋白质, 可以切断细菌肽聚糖中的 β -1,4 糖苷键从而破坏细胞壁的支架, 导致细胞胀裂而死亡。这些碱性

蛋白质即溶菌酶(LZM), LZM 广泛存在于虾体血清及其他组织液中, 是对虾非特异性免疫系统的主要成分(Bončina *et al*, 2008), 健康对虾血清中 LZM 溶菌活力较强, 而濒临死亡的对虾其溶菌活力基本

丧失,因此可以将 LZM 活力作为检测虾体的免疫状态的参照指标(Liu *et al*, 2015)。Fe(II)-FPH 饲喂对对虾血清、肝胰腺组织中 LZM 活性影响,见表 3。空白组对虾血清和肝胰腺中, LZM 活性为 421.0—421.4U/mL 和 46.7—48.3U/mL。饲喂第 28 天, 1500—2500mg/kg Fe(II)-FPH 对于对虾血清和肝胰腺中 LZM 活性有显著提高($P<0.05$), 分别达 457.8—458.3U/mL 和 52.0—52.8U/mL。饲喂第 56 天, 1000—2500mg/kg Fe(II)-FPH 对对虾 LZM 活性表现出了显著增强作用($P<0.05$)。

有研究表明,生物体所必需的微量元素(如 Fe、Zn、Ca 及 Mn 等),可与小肽形成不同结构的螯合物,这些螯合物形成后,可有效抵御微量元素与其它物质生成难以溶解的无机盐(Ashmead, 2001),减少营养物质的损失,而且小肽类物质也能够增强其吸收

利用的效率。从本文结果来看,当 Fe(II)-FPH 的添加量为 1500—2500mg/kg 时,对对虾的血清及肝胰腺组织中的 LZM 活性有着显著的提高作用。因此在对虾的基础饲料添加 Fe(II)-FPH 有利于养殖对虾提高机体的非特异性免疫能力,进而可以抵抗环境污染物、病原体侵染,提高存活率。

2.4 Fe(II)-FPH 对对虾 AKP 活性的影响

AKP 是巨噬细胞溶酶体的标志酶,在体内直接参与磷酸基团的转移与代谢,是参与动物体内免疫活动重要的水解酶类(Pipe, 1990)。Fe(II)-FPH 饲喂对对虾血清、肝胰腺组织中 AKP 活性影响,见表 4。对于对虾血清,2000—2500mg/kg Fe(II)-FPH 可显著增强 AKP 活力($P<0.05$);对于对虾肝胰腺组织,1500—2500mg/kg Fe(II)-FPH 即可起到显著提高 AKP 活力的作用($P<0.05$)。

表 3 饲喂 Fe(II)-FPH 对对虾 LZM 活性的影响
Tab.3 LZM activity of *L. vannamei* fed with Fe(II)-FPH

Fe(II)-FPH (mg/kg)	血清中 LZM(U/mL)			肝胰腺中 LZM(U/mL)		
	0d	28d	56d	0d	28d	56d
0	419.4±3.7	456.5±2.8 ^a	458.5±3.7 ^a	49.4±2.1	51.2±1.7 ^a	52.2±1.9 ^a
500	419.3±3.0	456.2±3.1 ^a	458.6±3.5 ^a	48.9±1.9	50.9±1.8 ^a	53.3±2.0 ^a
1000	419.6±3.7	455.9±3.4 ^a	459.4±2.9 ^b	48.8±2.4	50.7±2.1 ^a	54.2±1.7 ^b
1500	419.7±3.9	457.8±2.8 ^b	459.6±3.1 ^b	49.1±1.8	52.0±1.9 ^b	54.5±2.0 ^b
2000	419.5±3.5	458.1±2.9 ^b	460.8±3.3 ^c	48.9±1.6	52.4±2.1 ^b	54.1±2.2 ^b
2500	419.8±3.19	458.3±3.4 ^b	460.7±4.2 ^c	49.2±1.9	52.8±2.1 ^b	55.4±1.8 ^c

注:于饲喂第 0, 28 和 56 天对各组实验动物取 10 尾全虾,分别制备血清和肝胰腺提取液,测定 LZM 活性;同一列数据上标不同的小写字母表示差异显著($P<0.05$)

表 4 饲喂 Fe(II)-FPH 对对虾 AKP 活性的影响
Tab.4 AKP activity of *L. vannamei* fed with Fe(II)-FPH

Fe(II)-FPH (mg/kg)	血清中 AKP(U/100mL)			肝胰腺中 AKP(U/100mL)		
	0d	28d	56d	0d	28d	56d
0	2.26±0.09	2.44±0.12 ^a	2.61±0.18 ^a	6.53±0.31	6.88±0.35 ^a	7.39±0.37 ^a
500	2.24±0.08	2.46±0.08 ^a	2.58±0.19 ^a	6.51±0.28	6.85±0.26 ^a	7.41±0.34 ^a
1000	2.28±0.06	2.40±0.09 ^a	2.64±0.18 ^a	6.55±0.27	6.83±0.27 ^a	7.38±0.21 ^a
1500	2.22±0.08	2.49±0.06 ^a	2.64±0.17 ^a	6.51±0.33	6.96±0.33 ^b	7.45±0.24 ^b
2000	2.26±0.09	2.48±0.08 ^b	2.71±0.18 ^b	6.51±0.29	6.98±0.26 ^b	7.56±0.31 ^c
2500	2.25±0.07	2.52±0.07 ^b	2.72±0.19 ^b	6.52±0.31	7.12±0.29 ^c	7.61±0.28 ^c

注:于饲喂第 0, 28 和 56 天对各组实验动物取 10 尾全虾,分别制备血清和肝胰腺提取液,测定 AKP 活性;同一列数据上标不同的小写字母表示差异显著($P<0.05$)

2.5 Fe(II)-FPH 对对虾质构的影响

硬度和弹性是用臼齿第一下咬住样品所施的力,以及被咬样品恢复至原来状态的程度,这两者作为关键指标,一般决定着消费者对水产品的接受程度。

在饲料中添加 Fe(II)-FPH 对养殖凡纳滨对虾的质构指标产生的影响,见图 1。由图可知,随饲料中 Fe(II)-FPH 添加量的增加,各项指标均随 Fe(II)-FPH 添加比例的增加而升高。添加 Fe(II)-FPH 量在

500—1500mg/kg 时对肌肉硬度、弹性、耐嚼性无显著影响, 但当添加 2000—2500mg/kg 时则显著优于对照组及 500—1500mg/kg 添加组($P<0.05$)。随着饲料中 Fe(II)-FPH 添加比例的升高, 肌肉硬度升高的原因可能是由于虾体摄入 Fe(II)逐渐增多, 虾体肌肉肌纤维蛋白互相之间合力增强, Fe(II)强化了内部组织结构, 因而弹性增强, 硬度加大(Merkin *et al*, 2014)。

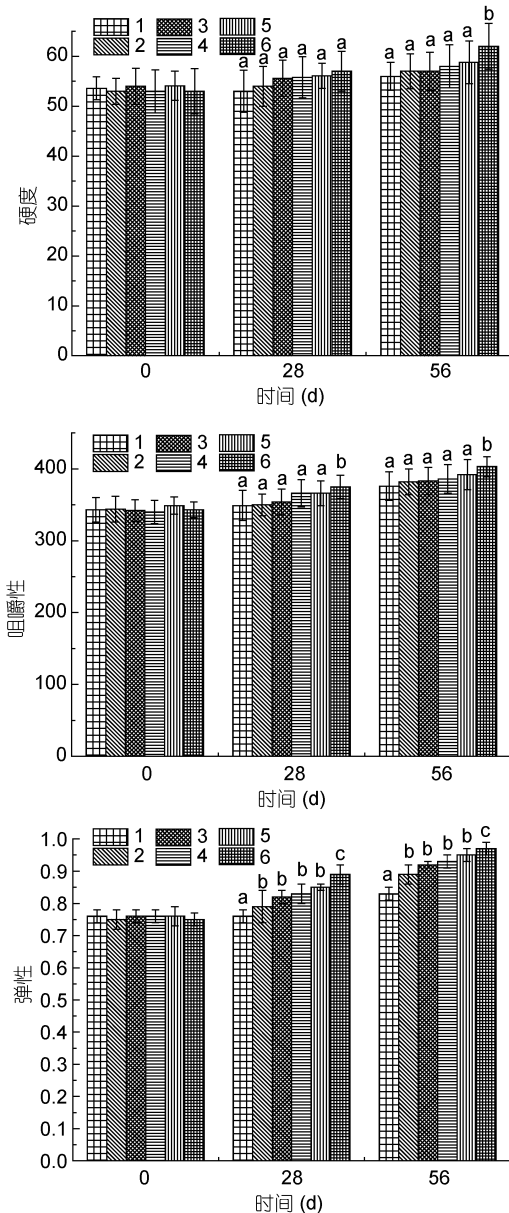


图1 饲喂 Fe(II)-FPH 对对虾质构的影响

Fig.1 Sensible quality characteristics of *L. vannamei* fed with Fe(II)-FPH

注: 试验分组: 1. 对照组: 基础饲料饲喂; 2. 添加 500mg/kg Fe(II)-FPH 饲喂; 3. 添加 1000mg/kg Fe(II)-FPH 饲喂; 4. 添加 1500mg/kg Fe(II)-FPH 饲喂; 5. 添加 2000mg/kg Fe(II)-FPH 饲喂; 6. 添加 2500mg/kg Fe(II)-FPH 饲喂。同一列数据上标不同的小写字母表示差异显著($P<0.05$)

3 结论

本研究在基础对虾饲料中, 添加了不同浓度带鱼蛋白水解肽-金属配合物(Fe(II)-FPH), 考察了 Fe(II)-FPH 对对虾的非特异性免疫增强效果和生长促进作用。研究表明 500mg/kg 和 1000mg/kg 的较低浓度、28d 的短时间饲喂 Fe(II)-FPH, 对凡纳滨对虾的机体生长性能和生化指标, 以及非特异性免疫酶活性的影响均无显著差异(相比于空白对照组)($P>0.05$); 而 2000mg/kg 以上的高浓度及 56d 的较长时间饲喂 Fe(II)-FPH, 均在一定程度上提升了凡纳滨对虾的生化指标、血清以及肝胰腺中的非特异性免疫酶活性(LZM 和 AKP)等, 究其原因, 作者认为有可能利用小分子量酶解肽在机体内的特殊转运和吸收的机制, 将酶解肽和金属螯合物一并吸收到特定的靶器官, 增强机体的非特异性免疫能力, 也同时提高了生物体对脂肪、蛋白质及维生素等营养物质的利用效率。同时, 高浓度(2000mg/kg)、较长时间(56d)的 Fe(II)-FPH 饲喂, 对虾肌肉组织弹性影响较明显, 虾体弹性加大, 水产品品质增强。

参 考 文 献

- Ashmead H D, 2001. The absorption and metabolism of iron amino acid chelate. *Archivos Latinoamericanos De Nutrición*, 51(1 Suppl 1): 13—21
- Ashmead H H, Ashmead D H, Graff D J, 1989. Amino acid chelated compositions for delivery to specific biological tissue sites: U.S., 4863898. 1989-09-05
- Bončina M, Reščič J, Vlady V, 2008. Solubility of lysozyme in polyethylene glycol-electrolyte mixtures: the depletion interaction and ion-specific effects. *Biophysical Journal*, 95(3): 1285—1294
- Buglyó P, Nagy E M, Farkas E *et al*, 2007. New insights into the metal ion-peptide hydroxamate interactions: metal complexes of primary hydroxamic acid derivatives of common dipeptides in aqueous solution. *Polyhedron*, 26(8): 1625—1633
- Fisher A E O, Naughton D P, 2005. Metal ion chelating peptides with superoxide dismutase activity. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 59(4): 158—162
- Huang S B, Lin H M, Deng S G, 2015. Study of anti-fatigue effect in rats of ferrous chelates including hairtail protein hydrolysates. *Nutrients*, 7(12): 9860—9871
- Karthikeyan V, Selvakumar P, Gopalakrishnan A, 2015. A novel report of fungal pathogen *Aspergillus awamori* causing black gill infection on *Litopenaeus vannamei* (pacific white shrimp). *Aquaculture*, 444: 36—40
- Kurzak B, Woźna A, Jezierska J *et al*, 2004. Copper(II) complexes of several monophosphono dipeptides: the role of phosphonic oxygen and thioether sulfur in complex

- stabilization. *Polyhedron*, 23(11): 1939—1946
- Lee M H, Shiau S Y, 2004. Vitamin E requirements of juvenile grass shrimp, *Penaeus monodon*, and effects on non-specific immune responses. *Fish & Shellfish Immunology*, 16(4): 475—485
- Li Y J, Lin H M, Deng S G *et al*, 2016. Genotoxicity and acute oral toxicity of peptides ferrous chelates of hairtail protein. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 9(2): 4047—4052
- Lin H M, Deng S G, Huang S B, 2014. Antioxidant activities of ferrous-chelating peptides isolated from five types of low-value fish protein hydrolysates. *Journal of Food Biochemistry*, 38(6): 627—633
- Lin H M, Deng S G, Huang S B *et al*, 2016. The effect of ferrous-chelating hairtail peptides on iron deficiency and intestinal flora in rats. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(8): 2839—2844
- Lin Y C, Chen J C, Chen Y Y *et al*, 2015. Crowding of white shrimp *Litopenaeus vannamei* depresses their immunity to and resistance against *Vibrio alginolyticus* and white spot syndrome virus. *Fish & Shellfish Immunology*, 45(1): 104—111
- Liu H T, Wang J, Mao Y *et al*, 2015. Identification and expression analysis of a new invertebrate lysozyme in Kuruma shrimp (*Marsupenaeus japonicus*). *Fish & Shellfish Immunology*, 49: 336—343
- Megías C, Pedroche J, Yust M M *et al*, 2008. Production of copper-chelating peptides after hydrolysis of sunflower proteins with pepsin and pancreatin. *LWT-Food Science and Technology*, 41(10): 1973—1977
- Merkin G V, Stien L H, Pittman K *et al*, 2014. The effect of stunning methods and season on muscle texture hardness in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Journal of Food Science*, 79(6): E1137—E1141
- Pipe R K, 1990. Hydrolytic enzymes associated with the granular haemocytes of the marine mussel *Mytilus edulis*. *The Histochemical Journal*, 22(11): 595—603
- Sha Y J, Wang L, Liu M *et al*, 2016. Effects of lactic acid bacteria and the corresponding supernatant on the survival, growth performance, immune response and disease resistance of *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 452: 28—36
- Wang Y C, Chang P S, Chen H Y, 2008. Differential time-series expression of immune-related genes of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* in response to dietary inclusion of β -1, 3-glucan. *Fish & Shellfish Immunology*, 24(1): 113—121
- Yudiati E, Isnansetyo A, Murwantoko *et al*, 2016. Innate immune-stimulating and immune genes up-regulating activities of three types of alginate from *Sargassum siliquosum* in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology*, 54: 46—53

EFFECTS OF HAIRTAIL PROTEIN FERROUS CHELATING PEPTIDE FEED ON GROWTH, IMMUNE PERFORMANCE, AND QUALITY CHARACTERISTICS OF *LITOPENAEUS VANNAMEI*

LIANG Ying-Fang, LIN Hui-Min, SHI Yun-Jie, DENG Shang-Gui

(Zhejiang Provincial Key Laboratory of Health Risk Factors for Seafood, College of Food and Pharmacy, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China)

Abstract A 56-d experiment was conducted to study the impact of dietary addition of Fe(II)-FPH (hairtail protein ferrous chelating peptide) on shrimp (*Litopenaeus vannamei*) growth performance, nonspecific immunity, and quality characteristics. Fe(II)-FPH was added into feed in amounts of 0, 500, 1000, 1500, 2000, 2500mg/kg. The results showed that at dosage 1500—2500mg/kg, Fe(II)-FPH could significantly increase shrimp survival rate, weight gain, and specific growth rate ($P < 0.05$); at dosage 2000—2500mg/kg, the serum alkaline phosphatase AKP, LZM lysozyme activity were significantly enhanced ($P < 0.05$); and at a high concentration (2000mg/kg) for a longer time (56d), the shrimp muscle tissue elasticity, hardness, and sensible quality of the aquatic products were improved. Therefore, an appropriate amount of dietary Fe(II)-FPH addition would have positive impacts on *L. vannamei* farming and its seafood quality.

Key words hairtail protein ferrous chelating peptide; *Litopenaeus vannamei*; growth performance; nonspecific immunity; quality characteristics