

文章编号: 1000-0615(2016)09-1359-09

DOI: 10.11964/jfc.20150109700

## 蛋氨酸水平对吉富罗非鱼肌肉氨基酸组成及血清抗氧化能力的影响

向 泉<sup>1\*</sup>, 周兴华<sup>1</sup>, 曾本和<sup>1</sup>, 罗 莉<sup>2</sup>, 文 华<sup>3</sup>

(1. 西南大学荣昌校区水产系, 淡水鱼类资源与生殖发育教育部重点实验室,

水产科学重庆市市级重点实验室 重庆 402460;

2. 西南大学动物科技学院, 重庆 400715;

3. 中国水产科学院长江水产研究所, 中国水产科学院淡水生态与健康养殖重点开放实验室, 湖北 荆州 434000)

**摘要:** 为探讨蛋氨酸水平对吉富罗非鱼生长过程中肌肉氨基酸组成及血清抗氧化能力的影响, 通过在半精制基础饲料中添加DL-蛋氨酸, 配制成蛋氨酸水平分别为0.26%、0.55%、0.85%、1.14%、1.44%和1.73%的6种等氮等能(32.09%粗蛋白质, 17.82 kJ/g总能)的实验饲料。以初始体质量(66.76±2.29) g的吉富罗非鱼为实验对象, 每种实验饲料设3个重复, 每个重复放养实验鱼25尾, 养殖系统为室内养殖系统, 每天表观饱食投喂3次, 养殖时间为60 d。结果显示, 随着饲料蛋氨酸水平的升高, 罗非鱼肌肉中各种氨基酸的含量、必需氨基酸总量( $\Sigma$ EAA)、氨基酸总量( $\Sigma$ TAA)、鲜味氨基酸总量( $\Sigma$ DAA)均呈先升后降的变化趋势, 且均在1.14%水平组达到最大。但各实验组中必需氨基酸与氨基酸总量的比值( $\Sigma$ EAA/ $\Sigma$ TAA)、鲜味氨基酸与氨基酸总量的比值( $\Sigma$ DAA/ $\Sigma$ TAA)及支链氨基酸与芳香氨基酸的比值( $\Sigma$ BCAA/ $\Sigma$ AAA)均无明显差异( $P>0.05$ ); 随着饲料蛋氨酸水平的升高, 罗非鱼血清中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的活性随饲料蛋氨酸水平的升高均呈先升后降的变化趋势, 而丙二醛(MDA)则呈先降低后趋于稳定的变化趋势。研究表明, 适宜的蛋氨酸水平能有效地改善罗非鱼肌肉的氨基酸组成, 改善肌肉的品质, 增强其抗氧化能力。

**关键词:** 吉富罗非鱼; 蛋氨酸; 氨基酸组成; 抗氧化能力

**中图分类号:** S 963.7

**文献标志码:** A

蛋氨酸是一种重要的必需氨基酸, 对维持人体和水产动物蛋白质合成的动态平衡发挥着重要作用, 在其生长过程中, 蛋氨酸还直接参与肾上腺素、胆碱等物质的合成。蛋氨酸在动物体内以S-腺苷甲硫氨酸的形式将活性甲基基团转移给核酸和磷脂等生物活性物质<sup>[1]</sup>, 使膜流动性和Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶作用增强<sup>[2]</sup>, 减少胆汁酸在肝内聚积, 加强其解毒作用。Hoffman等<sup>[3]</sup>认为当肝脏中蛋氨酸缺乏时将导致DNA甲基化不足,

从而引起肝胰脏和肠道的代谢异常, 导致自由基的大量生成。因此, 蛋氨酸具有抗击动物体内氧自由基氧化、脂质过氧化物损害的作用。蛋氨酸的不足或缺乏不仅导致氨基酸的不平衡, 使人和动物体内蛋白质的合成受阻, 而且影响动物肌肉品质和其抗氧化的能力。在鲤(*Cyprinus carpio*)饲料中添加0.2%蛋氨酸可促进饲料营养的平衡, 提高其肌肉品质和营养物质的含量, 增强其无机盐的转化率<sup>[4]</sup>; 贾鹏等<sup>[5]</sup>研究表明, 补

收稿日期: 2015-01-30 修回日期: 2015-10-31

资助项目: 重庆市基础与前沿研究计划(cstc2013jcyjA80033); 国家罗非鱼现代产业技术体系建设项目(CARS-49); 公益性行业(农业)科研专项(201003020)

通信作者: 向泉, E-mail: howlet@126.com

充DL-蛋氨酸可显著提高异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)鱼体的粗蛋白质含量,有效促进必需氨基酸在鱼体内的沉积;在高棉粕比例饲料中补充蛋氨酸可提高中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)幼苗的抗氧化能力<sup>[6]</sup>。因此,在饲料中补充适量的蛋氨酸能提高鱼类肌肉品质,改善其抗氧化能力。本实验以吉富罗非鱼(*GIFT Oreochromis niloticus*)为研究对象,探讨饲料中不同蛋氨酸水平对吉富罗非鱼肌肉氨基酸组成及血清抗氧化能力的影响,丰富和完善其营养生理和消化生理,为通过营养调控途径改善水产品品质提供参考资料。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验动物及饲料

实验用罗非鱼购自重庆白市驿渔场,选用健康、无伤病的500尾鱼作为实验鱼,体质量(66.76±2.29)g。购回后先用3%~5%的食盐水消毒后放入暂养池暂养备用。实验饲料以明胶、鱼粉、花生粕、包膜氨基酸混合物为主要蛋白质源,豆油为脂肪源。氨基酸混合物的包膜参照王冠<sup>[7]</sup>的方法。除蛋氨酸和甘氨酸(平衡氮)水平不同外,其余的必需和非必需氨基酸参照罗非鱼全鱼氨基酸组成模式。配制成低蛋氨酸的基础饲料(表1),并设定为对照组。在基础饲料中分别添加0、0.3%、0.6%、0.9%、1.2%和1.5%的DL-蛋氨酸,同时通过调节饲料中L-甘氨酸的含量,以0.3%的水平递减,来调节饲料中氮的水平。设计6种等氮(粗蛋白质含量为32.09%)等能(总能为17.82 kJ/g)的实验饲料。各原料均粉碎过80目筛,称重后混匀,量少的组分采用逐级扩大法混合,用实验室小型绞肉机制成直径为2 mm的颗粒,自然晾干后于-20 °C保存。经测定6种实验饲料中蛋氨酸的质量分数分别为0.26%、0.55%、0.85%、1.14%、1.44%和1.73%,占饲料蛋白质的质量分数分别为0.81%、1.71%、2.65%、3.55%、4.49%和5.39%。饲料的氨基酸组成见表2。

### 1.2 实验设计及饲养管理

实验罗非鱼用商品饲料暂养7 d后,进行24 h饥饿处理,选择健康、无伤病的罗非鱼450尾,分成6组,每组3个重复,每个重复25尾鱼,随机投入18个实验水泥池(150 cm×100 cm×50 cm)中,分别投喂6种不同蛋氨酸水平的实验饲料。每天

表 1 基础饲料配方及主要营养成分(风干基础)

Tab. 1 Composition and nutrient level of basal diets (air-dry basis)

项目 items	含量 content
<b>原料 ingredients</b>	
鱼粉/% fish meal	8.00
明胶/% gelatin	5.00
花生粕/% peanut meal	15.00
氨基酸混合物 <sup>1</sup> /% amino acid mixture	13.50
小麦精粉/% wheat starch	18.50
α-淀粉/% α-starch	20.00
大豆油/% soybean oil	5.00
氯化胆碱/% choline chloride	0.50
复合预混料 <sup>2</sup> /% compound premix	1.00
磷酸二氢钙/% Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	2.00
微晶纤维素/% microcrystalline cellulose	10.00
DL-蛋氨酸/% DL-methionine	0.00
L-甘氨酸/% L-glycine	1.50
合计/%	100.00
<b>成分分析(干物质) proximate analysis(dry matter)</b>	
蛋氨酸/% methionine	0.26
水分/% moisture	10.34
粗蛋白质/% crude protein	32.09
粗脂肪/% crude lipid	6.15
灰分/% ash	3.52
总能/(KJ/g) total energy	17.86

注: 1.氨基酸混合物组成见表2; 2.复合预混料为每千克饲料提供: 维生素A 2000 IU, 维生素C 300 mg, 维生素D<sub>3</sub> 2000 IU, 维生素E 100 mg, 维生素K<sub>3</sub> 10 mg, 维生素B<sub>1</sub> 5 mg, 维生素B<sub>2</sub> 10 mg, 尼克酸 100 mg, 泛酸钙 40 mg, 维生素B<sub>6</sub> 10 mg, 维生素B<sub>12</sub> 0.02 mg, 生物素 1 mg, 叶酸 5 mg, 肌醇 100 mg, FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 600 mg, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 15 mg, MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 80 mg, ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 300 mg, KI (1%) 60 mg, Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O (1%) 60 mg, CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O (1%) 7 mg  
Notes: 1. The amino acid mixture composition are shown in tab. 2. 2. The compound premix provides vitamin and mineral for a kilogram of diets: vitamin A 2000 IU, vitamin C 300 mg, vitamin D<sub>3</sub> 2000 IU, vitamin E 100 mg, vitamin K<sub>3</sub> 10 mg, vitamin B<sub>1</sub> 5 mg, vitamin B<sub>2</sub> 10 mg, nicotinic acid 100 mg, calcium pantothenate 40 mg, vitamin B<sub>6</sub> 10 mg, vitamin B<sub>12</sub> 0.02 mg, Biotin 1 mg, folic acid 5 mg, inositol 100 mg, FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 600 mg, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 15 mg, MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 80 mg, ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 300 mg, KI (1%) 60 mg, Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O (1%) 60 mg, CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O (1%) 7 mg

按实验鱼体质量的3%~5%表观饱食投喂(每天8:00、13:00和16:00各投饲喂1次)。养殖期间每天换水1次,每次换水量为养殖水体的1/3。实验用

表 2 基础饲料中氨基酸组成分析(干物质)  
Tab. 2 Analyzed amino acid composition of the basal diets (dry matter) %

氨基酸 amino acid	鱼粉-明胶-花生粕- 小麦精粉提供 provided by fish meal- gelatin- gelatin-wheat starch	氨基酸混合物 provided by AA mixture	32%肌肉氨基酸模式 amount in 32% muscle protein	基础饲料 AA in basal diet (measured value)
缬氨酸 valine	0.68	0.64	1.32	1.43
色氨酸 tryptophane	0.15	0.24	0.39	-
苏氨酸 threonine	0.50	0.94	1.44	1.46
苯丙氨酸 phenylalanine	0.73	0.58	1.31	1.32
蛋氨酸 methionine	0.26	0.78	1.04	0.26
精氨酸 arginine	1.42	0.50	1.92	2.06
赖氨酸 lysine	0.80	1.93	2.73	2.81
组氨酸 histidine	0.38	0.37	0.74	0.88
亮氨酸 leucine	1.05	1.62	2.67	2.70
异亮氨酸 isoleucine	0.55	0.91	1.46	1.47
甘氨酸 glycine	1.85	0.00	1.85	3.35
丙氨酸 alanine	1.07	0.86	1.94	1.95
丝氨酸 serine	0.66	0.62	1.28	1.29
胱氨酸 cystine	0.15	0.15	0.30	0.30
谷氨酸 glutamic acid	2.98	2.14	5.12	5.15
酪氨酸 tyrosine	0.50	0.52	1.02	1.03
脯氨酸 proline	1.16	0.00	1.08	1.16
天冬氨酸 aspartic acid	1.47	1.67	3.14	3.17

注: - 色氨酸没有检测

Notes: -, tryptophane was not detected

水为曝气后的自来水, 水温维持在25~28 °C, 溶氧高于6.0 mg/L, pH为7.0~7.5。养殖时间60 d。

### 1.3 样品采集

结束前1天停食24 h, 每池随机取10尾实验鱼, 用50 mg/L的MS-222溶液麻醉, 测定体质量和体长后, 其中5尾实验鱼取其侧线上方背部肌肉(第一根背鳍至最后一根背鳍之间, 侧线以上白肌), 用液氮速冻后置于-80 °C中保存。用于肌肉氨基酸的检测; 另外5尾实验鱼用一次性注射器尾静脉采血, 放入2 mL离心管中, 于4 °C的冰箱中静置3 h后, 在3500 r/min转速下4 °C离心15 min, 提取血清, 用液氮速冻后转入-80 °C冰箱中保存备用, 用于测定血清抗氧化指标。

### 1.4 指标测定

实验鱼肌肉及饲料氨基酸的测定 实验鱼

肌肉及基础饲料中氨基酸含量用日立835-50型氨基酸分析仪测定。

实验鱼血清抗氧化指标的测定 超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性以及丙二醛(MDA)含量采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒进行测定。SOD活性定义为在37 °C条件下, 每1 mL反应液中SOD抑制率达50%时所对应的SOD量为一个SOD活性单位(U/mL); CAT活性定义为37 °C条件下每1 mL血清每秒钟分解1 μmol的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的量为一个CAT活性单位(U/mL); GSH-Px活性定义为37 °C条件下每1 L血清排除非酶促反应后, 1 min内可以催化1 μmol/L GSH氧化所需的酶量为一个GSH-Px活性单位(U/mL)。

### 1.5 数据处理方法

实验数据以平均值±标准误(means±SE)表示,

采用SPSS Statistics 19.0统计软件中进行单因素方差分析(Qne-Way ANOVA),若组间差异显著,再用Duncan氏进行多重比较,差异显著水平为 $P<0.05$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 蛋氨酸水平对罗非鱼肌肉氨基酸含量的影响

随着饲料蛋氨酸水平的升高,罗非鱼肌肉

中各种氨基酸的含量均呈先升后降的变化趋势,且各种氨基酸的含量均在1.14%水平组达到最大(表3)。但各实验组中组氨酸、丝氨酸和胱氨酸含量无明显差异( $P>0.05$ );缬氨酸、蛋氨酸、赖氨酸、亮氨酸、酪氨酸、天冬氨酸等的含量除与0.26%水平组的差异显著外( $P<0.05$ ),与其余各实验组差异不显著( $P>0.05$ );精氨酸、异亮氨酸、谷氨酸含量在蛋氨酸水平为0.55%~1.44%时差异不显著( $P>0.05$ ),但与其余各组有显著差

表3 蛋氨酸水平对罗非鱼肌肉氨基酸含量(干物质基础)的影响  
Tab. 3 Effect of dietary methionine levels on amino acid composition of GIFT tilapia(dry matter)

$n=3$

氨基酸 <sup>1</sup> amino acid	饲料蛋氨酸水平/% dietary methionine levels					
	0.26	0.55	0.85	1.14	1.44	1.73
缬氨酸 valine	3.91±0.03 <sup>a</sup>	4.02±0.04 <sup>ab</sup>	4.06±0.04 <sup>ab</sup>	4.08±0.08 <sup>b</sup>	4.04±0.04 <sup>ab</sup>	4.01±0.04 <sup>ab</sup>
苏氨酸 threonine	3.66±0.03 <sup>a</sup>	3.71±0.02 <sup>ab</sup>	3.75±0.03 <sup>bc</sup>	3.80±0.01 <sup>c</sup>	3.74±0.01 <sup>bc</sup>	3.72±0.02 <sup>ab</sup>
苯丙氨酸 phenylalanine	3.32±0.02 <sup>a</sup>	3.36±0.02 <sup>ab</sup>	3.37±0.01 <sup>bc</sup>	3.42±0.03 <sup>c</sup>	3.35±0.01 <sup>ab</sup>	3.34±0.01 <sup>ab</sup>
蛋氨酸 methionine	2.39±0.04 <sup>a</sup>	2.46±0.05 <sup>ab</sup>	2.51±0.04 <sup>ab</sup>	2.55±0.02 <sup>b</sup>	2.49±0.04 <sup>ab</sup>	2.42±0.02 <sup>ab</sup>
精氨酸 arginine	5.16±0.04 <sup>a</sup>	5.22±0.01 <sup>ab</sup>	5.28±0.04 <sup>ab</sup>	5.35±0.05 <sup>b</sup>	5.30±0.07 <sup>ab</sup>	5.18±0.04 <sup>a</sup>
赖氨酸 lysine	7.36±0.04 <sup>a</sup>	7.52±0.01 <sup>ab</sup>	7.53±0.02 <sup>ab</sup>	7.59±0.09 <sup>b</sup>	7.49±0.07 <sup>ab</sup>	7.42±0.03 <sup>ab</sup>
组氨酸 histidine	1.96±0.03	2.01±0.02	2.02±0.07	2.07±0.02	1.97±0.01	1.96±0.01
亮氨酸 leucine	6.71±0.09 <sup>a</sup>	6.87±0.02 <sup>ab</sup>	6.95±0.02 <sup>b</sup>	7.01±0.07 <sup>b</sup>	6.88±0.08 <sup>ab</sup>	6.81±0.05 <sup>ab</sup>
异亮氨酸 isoleucine	3.86±0.02 <sup>a</sup>	3.96±0.01 <sup>bc</sup>	3.97±0.05 <sup>bc</sup>	4.03±0.03 <sup>c</sup>	3.99±0.02 <sup>c</sup>	3.90±0.01 <sup>ab</sup>
甘氨酸 glycine	5.84±0.03 <sup>a</sup>	5.87±0.03 <sup>a</sup>	6.13±0.03 <sup>b</sup>	6.16±0.05 <sup>b</sup>	6.11±0.04 <sup>b</sup>	6.09±0.03 <sup>b</sup>
丙氨酸 alanine	5.72±0.02 <sup>a</sup>	5.73±0.03 <sup>a</sup>	5.82±0.04 <sup>b</sup>	5.86±0.06 <sup>b</sup>	5.84±0.02 <sup>b</sup>	5.83±0.03 <sup>b</sup>
丝氨酸 serine	3.18±0.01	3.23±0.02	3.24±0.02	3.25±0.05	3.23±0.01	3.22±0.04
胱氨酸 cystine	0.78±0.04	0.77±0.04	0.81±0.02	0.82±0.02	0.80±0.03	0.76±0.01
谷氨酸 glutamic acid	12.41±0.10 <sup>a</sup>	12.73±0.05 <sup>bc</sup>	12.98±0.09 <sup>c</sup>	13.02±0.12 <sup>c</sup>	12.76±0.04 <sup>bc</sup>	12.63±0.12 <sup>ab</sup>
酪氨酸 tyrosine	2.60±0.05 <sup>a</sup>	2.67±0.05 <sup>ab</sup>	2.72±0.01 <sup>b</sup>	2.74±0.02 <sup>b</sup>	2.67±0.03 <sup>ab</sup>	2.63±0.02 <sup>ab</sup>
脯氨酸 proline	3.20±0.04 <sup>a</sup>	3.23±0.02 <sup>ab</sup>	3.33±0.03 <sup>bc</sup>	3.38±0.04 <sup>c</sup>	3.34±0.03 <sup>c</sup>	3.23±0.03 <sup>ab</sup>
天冬氨酸 aspartic acid	8.40±0.01 <sup>a</sup>	8.49±0.05 <sup>ab</sup>	8.61±0.02 <sup>ab</sup>	8.69±0.10 <sup>b</sup>	8.62±0.09 <sup>ab</sup>	8.56±0.04 <sup>ab</sup>
ΣEAA <sup>2</sup>	38.32±0.08 <sup>a</sup>	39.10±0.03 <sup>bc</sup>	39.35±0.03 <sup>c</sup>	39.89±0.24 <sup>d</sup>	39.23±0.13 <sup>c</sup>	38.74±0.17 <sup>ab</sup>
ΣDAA <sup>3</sup>	37.54±0.20 <sup>a</sup>	38.03±0.16 <sup>ab</sup>	38.81±0.09 <sup>cd</sup>	39.08±0.28 <sup>d</sup>	38.68±0.16 <sup>cd</sup>	38.28±0.05 <sup>bc</sup>
ΣTAA <sup>4</sup>	80.43±0.22 <sup>a</sup>	81.79±0.03 <sup>b</sup>	82.98±0.12 <sup>cd</sup>	83.79±0.67 <sup>d</sup>	82.66±0.16 <sup>bc</sup>	81.70±0.05 <sup>b</sup>
ΣEAA/ΣTAA	0.48±0.00	0.48±0.00	0.47±0.00	0.48±0.01	0.48±0.01	0.48±0.01
ΣDAA/ΣTAA	0.47±0.00	0.47±0.01	0.47±0.00	0.47±0.00	0.47±0.00	0.47±0.00
ΣBCAA <sup>5</sup> /ΣAAA <sup>6</sup>	2.45±0.03	2.47±0.03	2.46±0.03	2.46±0.03	2.48±0.02	2.47±0.01

注: 1.色氨酸没有检测; 2.必需氨基酸总量; 3.鲜味氨基酸; 4.氨基酸总量; 5.支链氨基酸; 6.芳香氨基酸; 表格中同行肩标相同小写字母或无字母表示差异不显著( $P>0.05$ ),不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )。下同

Notes: 1. tryptophane was not detected, 2. gross of essential amino acid, 3. delicious amino acid, 4. gross of total amino acid, 5. branched chain amino acid, 6. aromatic amino acid. In the same row, values with same small letter superscripts or no letter superscripts mean no significant differences ( $P>0.05$ ), different small letter superscripts mean significant differences ( $P<0.05$ ). The same below

异( $P<0.05$ ); 苏氨酸、脯氨酸含量在蛋氨酸水平为0.85~1.44%时差异不显著( $P>0.05$ ), 与其余各组有显著差异( $P<0.05$ ); 苯丙氨酸含量在蛋氨酸水平为0.85~1.14%时差异不显著( $P>0.05$ ), 与其余各组有显著差异( $P<0.05$ ); 甘氨酸、丙氨酸在蛋氨酸水平大于0.85%时差异不显著( $P>0.05$ )。

罗非鱼肌肉中必需氨基酸总量( $\Sigma$ EAA)、鲜味氨基酸总量( $\Sigma$ DAA)、肌肉氨基酸总量( $\Sigma$ TAA)均随饲料蛋氨酸水平的升高而呈先上升后下降的变化趋势。且均在1.14%组时达到最大值。但各实验组中必需氨基酸与氨基酸总量的比值( $\Sigma$ EAA/ $\Sigma$ TAA)、鲜味氨基酸与氨基酸总量的比值( $\Sigma$ DAA/ $\Sigma$ TAA)及支链氨基酸与芳香氨基酸的比值( $\Sigma$ BCAA/ $\Sigma$ AAA)均无明显差异( $P>0.05$ ), 说明蛋氨酸水平可影响实验鱼肌肉中各种氨基酸的含量, 但对其肌肉中的各类氨基酸的比值无明显影响。

## 2.2 蛋氨酸水平对罗非鱼血清抗氧化指标的影响

罗非鱼血清中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的活性随饲料蛋氨酸水平的升高均呈先升后降的变化趋势(表4)。SOD、GSH-Px的活性均在蛋氨酸水平为1.14%达到最大, 分别比0.26%水平组提高了124.80%和26.50%, SOD活性除与1.44%组差异不显著外( $P>0.05$ ), 与其余各实验组差异显著( $P<0.05$ ), GSH-Px活性则与其余各实验组均有显著差异( $P<0.05$ )。CAT活性则在蛋氨酸水平为1.44%时达到最大, 比0.26%组提高了93.64%, 除与1.14%组差异不显著外( $P>0.05$ ), 与其余各实验组差异显著( $P<0.05$ )。丙二醛(MDA)含量则随饲料蛋氨酸水平的升高呈先降低后趋于稳定的变化趋势。在蛋氨酸水平为1.14%时达到最低, 较0.26%组降低了43.70%。且当饲料蛋氨酸含量大

表 4 蛋氨酸水平对罗非鱼血清抗氧化指标的影响

Tab. 4 Effect of dietary methionine levels on serum antioxidant index of GIFT tilapia

n=26

抗氧化指标 antioxidant index	饲料蛋氨酸水平/% dietary methionine levels					
	0.26	0.55	0.85	1.14	1.44	1.73
超氧化物歧化酶/(U/mL) SOD	46.49±4.57 <sup>a</sup>	53.10±4.24 <sup>a</sup>	65.55±6.07 <sup>b</sup>	104.51±6.08 <sup>d</sup>	95.79±4.70 <sup>d</sup>	80.64±8.97 <sup>c</sup>
过氧化氢酶/(U/mL) CAT	2.36±0.43 <sup>a</sup>	3.05±0.54 <sup>ab</sup>	3.66±0.26 <sup>bc</sup>	4.26±0.25 <sup>cd</sup>	4.57±0.38 <sup>d</sup>	3.73±0.45 <sup>bc</sup>
谷胱甘肽过氧化物酶/(U/mL) GSH-Px	108.71±3.79 <sup>a</sup>	129.17±2.85 <sup>c</sup>	125.93±1.65 <sup>c</sup>	137.52±2.43 <sup>d</sup>	120.71±2.64 <sup>b</sup>	128.47±2.32 <sup>c</sup>
丙二醛/(nmol/mL) MDA	22.47±1.30 <sup>d</sup>	18.87±0.63 <sup>c</sup>	15.56±0.45 <sup>b</sup>	12.65±1.06 <sup>a</sup>	13.04±0.71 <sup>a</sup>	13.57±0.81 <sup>a</sup>

于1.14%时差异不显著( $P>0.05$ )。说明适量的蛋氨酸能有效地提高罗非鱼的抗氧化能力。

## 3 讨论

### 3.1 蛋氨酸水平对罗非鱼肌肉中氨基酸含量的影响

蛋氨酸是人和动物必需氨基酸中唯一含有硫的氨基酸, 是合成蛋白质的原料。Keembiyehetty等<sup>[8]</sup>认为, 饲料中蛋氨酸的不足, 不仅导致饲料氨基酸的不平衡, 饲料蛋白转化率降低, 机体蛋白质合成降低; 且蛋氨酸不足还会引起鱼类生长受阻<sup>[9-10]</sup>。饲料中添加一定量的蛋氨酸可显著提高异育银鲫<sup>[5]</sup>、黑鲷(*Sparus macrocephalus*)<sup>[11]</sup>等的蛋白质沉积率; 向泉等<sup>[12]</sup>发现, 罗非鱼的增重率、特定生长率及蛋白质沉积率随饲料蛋氨

酸水平的升高呈先升后降的变化趋势。人和动物对蛋白质的积累是通过饲料中氨基酸的合成来实现的。Alam等<sup>[13]</sup>认为, 牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)的体蛋白结合态氨基酸的组成和数量受饲料中的氨基酸模式的影响; 饲料蛋氨酸平衡组的大黄鱼(*Larimichthys crocea*)稚鱼体的必需氨基酸的含量要高于蛋氨酸缺乏组和过量组<sup>[14]</sup>; Mai等<sup>[15]</sup>研究表明, 随饲料蛋氨酸水平的升高, 大黄鱼肌肉中蛋氨酸和异亮氨酸的含量呈现先升高后稳定的趋势, 但其他必需氨基酸的含量无明显变化; 本实验中, 罗非鱼肌肉中各种氨基酸的含量、必需氨基酸总量及氨基酸总量均随饲料中蛋氨酸水平的升高呈先升后降的变化趋势。与上述研究结果基本一致。其可能的原因为, 动物体组织中必需氨基酸水平和饲料的

需要量之间有一定的相关性<sup>[16]</sup>，饲料中各种氨基酸平衡时，鱼类体内合成代谢大于分解代谢，氨基酸或蛋白质被储存<sup>[11]</sup>；而当饲料中蛋氨酸缺乏或不足时，机体内分解代谢大于合成代谢，体内其他正常水平的氨基酸被当作能量而被氧化分解，降低其合成蛋白质的能力，减少其在肌肉中的沉积；另一方面，过量添加蛋氨酸会导致蛋氨酸的氧化及有毒代谢物质的积聚<sup>[17]</sup>，会造成“氨基酸中毒症”而产生负面的影响<sup>[18]</sup>。但Luo等<sup>[19]</sup>在使用大豆浓缩蛋白和晶体氨基酸混合物替代鱼粉的实验中发现，点带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)肌肉中必需氨基酸含量随饲料蛋氨酸含量的提高而增大；虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)肝脏和肌肉中蛋氨酸和胱氨酸含量随着饲料中L-蛋氨酸含量的升高而逐渐增加，但谷氨酸和牛磺酸含量无影响<sup>[20]</sup>；林仕梅等<sup>[21]</sup>在实用饲料中补充结晶D-蛋氨酸后发现，随着蛋氨酸添加水平的提高，奥尼罗非鱼(*Oreochromis niloticus* ♂×*O. aureus* ♀)的蛋白质沉积量增加，且其血清中蛋氨酸的含量显著提高，但对鱼体氨基酸含量无显著影响。朱选等<sup>[22]</sup>也认为补充外源蛋氨酸对罗非鱼肌肉氨基酸组成无明显影响。说明蛋氨酸对不同鱼类肌肉中氨基酸的影响有一定的差异，可能与实验动物所处阶段、实验饲料的组成及饲养管理等的差异有关，其具体原因还有待于进一步研究；本实验中罗非鱼肌肉中的鲜味氨基酸(谷氨酸、甘氨酸、丙氨酸、精氨酸和天冬氨酸)总量呈先上升后下降的趋势。说明适宜的蛋氨酸水平能改善肌肉的品质。当饲料中蛋氨酸的供应不足或过量时，在氨基酸的合成和转化的过程中受原料供应数量和转化速率影响，将导致氨基酸间积累的不平衡，风味氨基酸的积累下降。

### 3.2 蛋氨酸水平对罗非鱼血清抗氧化能力的影响

在动物的代谢过程中，一些正常的生理生化反应需要氧自由基的参与，并通过动物体内有关酶性和非酶性抗氧化系统清除过量的氧自由基，以维持动物体内氧化与抗氧化的动态平衡。MDA是脂质过氧化的产物，其含量的多少间接反映活性氧自由基的含量及组织细胞脂质过氧化的强度<sup>[23]</sup>。Li等<sup>[24]</sup>研究表明，蛋氨酸羧基类似物(MHA)可以降低杂交条纹鲈(*Morone*

*chrysops*×*M. saxatilis*)肝脏MDA含量。饲料中MHA在一定范围内升高时，可显著降低建鲤(*Cyprinus carpio* var. *jian*)血清、肠道、肝胰脏和肌肉组织中MDA的含量<sup>[25]</sup>。本实验中，饲料中蛋氨酸水平小于1.14%时，罗非鱼血清中MDA含量随蛋氨酸水平的升高而显著降低，而当饲料中蛋氨酸水平大于等于1.14%时，罗非鱼血清中MDA含量则变化不明显。孙立梅等<sup>[6]</sup>发现，补充蛋氨酸可降低中华绒螯蟹幼蟹血清MDA含量，Feng等<sup>[26]</sup>认为饲料中添加过量的MHA将显著升高建鲤幼鱼肝胰脏和肠道的MDA含量。蛋氨酸缺乏时，中期草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)肌肉和肝胰脏中的MDA含量升高。且随着饲料蛋氨酸水平的提高，其肌肉、肝胰脏、血清和肠道中的MDA含量则显著降低<sup>[27]</sup>。说明适宜蛋氨酸水平能够降低鱼类体内脂质过氧化毒性产物MDA的含量，降低其机体的氧化损伤程度。

SOD、CAT、GSH-Px等抗氧化酶则是动物机体内清除氧自由基的重要酶，对动物机体的氧化与抗氧化平衡有重要的作用，可使动物细胞免受损伤。SOD主要负责清除体内的 $O_2^-$ ，将其转化为 $H_2O_2$ <sup>[28]</sup>；CAT和GSH-Px则主要在微粒体、胞浆及线粒体基质中清除 $H_2O_2$ <sup>[29]</sup>，同时，GSH-Px可清除生物膜中的脂质过氧化产物，进而减轻细胞膜中多不饱和脂肪酸的过氧化作用，保护细胞膜结构和功能的完整性<sup>[30]</sup>。本实验中，罗非鱼血清中SOD、CAT、GSH-Px的活性均随饲料蛋氨酸水平的升高均呈先升后降的变化趋势。有研究表明，适量的蛋氨酸能显著提高生长中期草鱼血清、肝胰脏、肠道和肌肉中的SOD、CAT及GSH-Px的活性<sup>[27]</sup>，补充蛋氨酸可显著提高中华绒螯蟹幼蟹血清中SOD和GSH-Px活性<sup>[6]</sup>；MHA可显著提高建鲤幼鱼肝胰脏和肠道的SOD、CAT和GSH-Px的活性<sup>[26]</sup>。与本研究结果基本相一致。说明适宜的蛋氨酸水平可有效地提高鱼类的抗氧化酶活性，促进机体内自由基的清除，增强机体的抗氧化能力，提高其清除自由基的能力。

## 4 小结

本实验条件下，饲料蛋氨酸水平对罗非鱼肌肉中各种氨基酸的含量、肌肉氨基酸总量、必需氨基酸总量及鲜味氨基酸总量均有显著影

响。蛋氨酸能有效地改善罗非鱼肌肉的氨基酸组成, 改善其肌肉品质; 同时蛋氨酸能有效地降低罗非鱼血清中MDA的含量, 提高SOD、CAT、GSH-Px活性, 因此, 适量的蛋氨酸可增强罗非鱼的抗氧化能力。

#### 参考文献:

- [ 1 ] Pérez-Jiménez A, Peres H, Cruz R V, *et al.* The effect of dietary methionine and white tea on oxidative status of gilthead sea bream (*Sparus aurata*)[J]. *British Journal of Nutrition*, 2012, 108(7): 1202-1209.
- [ 2 ] Tang L, Wang G X, Jiang J, *et al.* Effect of methionine on intestinal enzymes activities, microflora and humoral immune of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. *jian*)[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2009, 15(5): 477-483.
- [ 3 ] Hoffman R M. Altered methionine metabolism, DNA methylation and oncogene expression in carcinogenesis: a review and synthesis[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1984, 738(1-2): 49-87.
- [ 4 ] 张满隆, 冯丽芝. 鲤鱼饲料中添加蛋氨酸的应用试验[J]. *河北渔业*, 2002(2): 32-33.  
Zhang M L, Feng L Z. The experiment of adding methionine in carp feed[J]. *Hebei Fisheries*, 2002(2): 32-33 (in Chinese).
- [ 5 ] 贾鹏, 薛敏, 朱选, 等. 饲料蛋氨酸水平对异育银鲫幼鱼生长性能影响的研究[J]. *水生生物学报*, 2013, 37(2): 217-226.  
Jia P, Xue M, Zhu X, *et al.* Effects of dietary methionine levels on the growth performance of juvenile Gibel carp (*carassius auratus gibelio*)[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2013, 37(2): 217-226 (in Chinese).
- [ 6 ] 孙立梅, 陈立桥, 李二超, 等. 高比例棉粕饲料中补充蛋氨酸对中华绒螯蟹幼蟹摄食、生长及抗氧化酶活性的影响[J]. *水生生物学报*, 2013, 37(2): 336-343.  
Sun L M, Chen L Q, Li E C, *et al.* Effects of dietary methionine supplementation on feeding, growth and antioxidant ability of juvenile Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2013, 37(2): 336-343 (in Chinese).
- [ 7 ] 王冠. 晶体氨基酸经微胶囊技术处理后对异育银鲫生长影响的研究[D]. 上海: 上海水产大学, 2005.  
Wang G. Study on the technology of micro-capsule improving the effect of free amino acid on the growth of *Carassius auratus gibelio*[D]. Shanghai: Shanghai Fisheries University, 2005 (in Chinese).
- [ 8 ] Keembiyehetty C N, Gatlin D M. Performance of sunshine bass fed soybean- meal-based diets supplemented with different methionine compounds[J]. *The Progressive Fish-Culturist*, 1997, 59(1): 25-30.
- [ 9 ] Rønnestad I, Conceição L E, Aragão C, *et al.* Free amino acids are absorbed faster and assimilated more efficiently than protein in postlarval Senegal sole (*Solea senegalensis*)[J]. *Journal of Nutrition*, 2000, 130(11): 2809-2812.
- [10] Takagi S, Shimeno S, Hosokawa H, *et al.* Effect of lysine and methionine supplementation to a soy protein concentrate diet for red sea bream *Pagrus major*[J]. *Fisheries Science*, 2001, 67(6): 1088-1096.
- [11] Ngandzali B O. Dietary L-methionine requirement of juvenile black sea bream (*Sparus macrocephalus*) at a constant dietary cystine level[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2011, 17(5): 469-481.
- [12] 向泉, 周兴华, 罗莉, 等. 饲料蛋氨酸水平对吉富罗非鱼生长、饲料利用率和体成分的影响[J]. *水产学报*, 2014, 38(4): 545-556.  
Xiang X, Zhou X H, Luo L, *et al.* Effects of dietary methionine levels on the growth performance, feed utilization and body composition of GIFT Tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2014, 38(4): 545-556 (in Chinese).
- [13] Alam M S, Teshima S, Ishikawa M, *et al.* Methionine requirement of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* estimated by the oxidation of radioactive methionine[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2001, 7(3): 201-209.
- [14] 于海瑞, 艾庆辉, 麦康森, 等. 大黄鱼稚鱼L-蛋氨酸需要量的研究[J]. *水生生物学报*, 2013, 37(6): 1094-1102.  
Yu H R, Ai Q H, Mai K S, *et al.* L-methionine requirement of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea* R.) larvae[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2013, 37(6): 1094-1102 (in Chinese).
- [15] Mai K S, Wan J L, Ai Q H, *et al.* Dietary methionine requirement of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R.[J]. *Aquaculture*, 2006, 253(1-4): 564-572.
- [16] Coloso R M, Murillo-Gurrea D P, Borlongan I G, *et al.* Sulphur amino acid requirement of juvenile Asian sea

- bass *Lates calcarifer*[J]. Journal of Applied Ichthyology, 1999, 15(2): 54-58.
- [17] Murthy H S, Varghese T J. Total sulphur amino acid requirement of the Indian major carp, *Labeo rohita* (Hamilton)[J]. Aquaculture Nutrition, 1998, 4(1): 61-65.
- [18] 谭兴智, 荣凤梅. 浅析蛋氨酸对动物生产性能的影响[J]. 山东畜牧兽医, 2010, 31(7): 90-92.
- Tan X Z, Rong F M. Brief analysis the effect of methionine on the animal production performance[J]. Shandong Journal of Animal Science and Veterinary Medicine, 2010, 31(7): 90-92 (in Chinese).
- [19] Luo Z, Liu Y J, Mai K S, *et al.* Dietary L-methionine requirement of juvenile grouper *Epinephelus coioides* at a constant dietary cystine level[J]. Aquaculture, 2005, 249(1-4): 409-418.
- [20] Yokoyama M, Nakazoe J I. Accumulation and excretion of taurine in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets supplemented with methionine, cystine and taurine[J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Physiology, 1992, 102(3): 565-568.
- [21] 林仕梅, 麦康森, 谭北平. 实用饲料中添加结晶蛋氨酸对罗非鱼生长、体组成的影响[J]. 水生生物学报, 2008, 32(5): 741-749.
- Lin S M, Mai K S, Tan B P. Influence of practical diet supplementation with free D-methionine on the growth and body composition in tilapia *Oreochromis niloticus* × *o. aureus*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2008, 32(5): 741-749 (in Chinese).
- [22] 朱选, 曹俊明, 许丰孟, 等. 饲料中添加赖氨酸及蛋氨酸对罗非鱼生长的影响[J]. 食品与生物技术学报, 2009, 28(4): 466-473.
- Zhu X, Cao J M, Xu F M, *et al.* Effect of lysin/methionine on Tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2009, 28(4): 466-473 (in Chinese).
- [23] Kanner J, Lapidot T. The stomach as a bioreactor: dietary lipid peroxidation in the gastric fluid and the effects of plant-derived antioxidants[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2001, 31(11): 1388-1395.
- [24] Li P, Burr G S, Wen Q, *et al.* Dietary sufficiency of sulfur amino acid compounds influences plasma ascorbic acid concentrations and liver peroxidation of juvenile hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*)[J]. Aquaculture, 2009, 287(3-4): 414-418.
- [25] 肖伟伟. 蛋氨酸羟基类似物对幼建鲤消化吸收能力、抗氧化能力和免疫功能的影响[D]. 雅安: 四川农业大学, 2010.
- Xiao W W. Effects of dietary methionine hydroxy analogue on digestive ability, antioxidative ability and immune function of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. *jian*)[D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2010 (in Chinese).
- [26] Feng L, Xiao W W, Liu Y, *et al.* Methionine hydroxy analogue prevents oxidative damage and improves antioxidant status of intestine and hepatopancreas for juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. *jian*)[J]. Aquaculture Nutrition, 2011, 17(6): 595-604.
- [27] 唐炳荣. 蛋氨酸对生长中期草鱼消化吸收能力和抗氧化能力影响的研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2012.
- Tang B R. Effects of dietary methionine on digestive and absorptive ability an antioxidative ability of young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2012 (in Chinese).
- [28] McCord J M. The evolution of free radicals and oxidative stress[J]. The American Journal of Medicine, 2000, 108(8): 652-659.
- [29] David M, Munaswamy V, Halappa R, *et al.* Impact of sodium cyanide on catalase activity in the freshwater exotic carp, *Cyprinus carpio* (Linnaeus)[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2008, 92(1): 15-18.
- [30] Ferrari A, Venturino A, de D'Angelo A M P. Effects of carbaryl and azinphos methyl on juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) detoxifying enzymes[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2007, 88(2): 134-142.



## Effects of dietary methionine levels on muscle amino acids composition and serum antioxidant ability of GIFT *Oreochromis niloticus*

XIANG Xiao<sup>1\*</sup>, ZHOU Xinghua<sup>1</sup>, ZENG Benhe<sup>1</sup>, LUO Li<sup>2</sup>, WEN Hua<sup>3</sup>

(1. Key Laboratory of Freshwater Fish Reproduction and Development, Ministry of Education, Key Laboratory of Aquatic Science of Chongqing, Department of Fisheries, Rongchang Campus, Southwest University, Chongqing 402460, China;

2. Department of Fishery Science, College of Animal and Technology of Southwest University, Chongqing 400715, China;

3. Key Laboratory of Freshwater Ecology and Aquaculture, Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Jingzhou 434000, China)

**Abstract:** A feeding trial was conducted to evaluate the effects of dietary methionine levels on muscle amino acids composition and serum antioxidant ability of GIFT tilapia (*Oreochromis niloticus*) [initial body weight of (66.76±2.29) g]. Six isonitrogenous and isoenergetic semi-purified diets were formulated to contain 32.09% crude protein, 17.82% kJ/g gross energy and six levels of methionine 0.26%, 0.55%, 0.85%, 1.14%, 1.44% and 1.73% respectively (dry matter basis). Each diet was randomly assigned to triplicate groups of 25 fish and fed to apparent satiation by hand thrice daily (8:00, 13:00 and 16:00) for 60 days in indoor farming system. The results showed that the all amino acids content, gross of essential amino acid ( $\Sigma$ EAA), gross of total amino acid ( $\Sigma$ TAA), gross of total delicious amino acid ( $\Sigma$ DAA) in muscle initially increased with increasing dietary methionine levels but then decreased. All the indexes were highest when the dietary methionine level was 1.14% ( $P < 0.05$ ). The ratio of essential amino acids to total amino acids ( $\Sigma$ EAA/ $\Sigma$ TAA), the ratio of delicious amino acid to total amino acids ( $\Sigma$ DAA/ $\Sigma$ TAA), the ratio of branched chain amino acid to aromatic amino acids ( $\Sigma$ BCAA/ $\Sigma$ AAA) had no significant differences ( $P > 0.05$ ). With the increase of dietary methionine level, the activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-Px) in serum first decreased, then increased, at the same time, the malondialdehyde (MDA) in serum first increased, then towards stability. Results of above show that the optimum dietary methionine level could effectively improve the muscle amino acid composition and the quality of the muscles, and enhance the serum antioxidant capacity of GIFT tilapia.

**Key words:** GIFT *Oreochromis niloticus*; methionine; amino acid composition; anti-oxidant ability

**Corresponding author:** XIANG Xiao. E-mail: xiangx@126.com

**Funding projects:** Basic and Advanced Research Projects in Chongqing (cstc2013jcyjA80033); National Project on the Construction of the Modern Industrial Technology System of Tilapia (CARS-49); National Special Research Fund for Non-Profit Sector (Agriculture) (201003020)