

不同处理方法对浒苔饲喂稚幼刺参效果的影响

朱建新¹ 曲克明¹ 李健¹ 王家林¹ 刘慧¹
王诗欢² 薛志宁² 孙阳²

(¹中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

(²大连獐子岛渔业集团股份有限公司, 116001)

摘要 浒苔 *Enteromorpha prolifera* 是一种能形成绿潮的大型海藻, 含有丰富的蛋白质、脂肪和微量元素。用蛋白酶、纤维素酶、甲酸及自然发酵等方法处理浒苔, 并作为饲料喂养刺参 *Apostichopus japonicus*。结果表明, 用蛋白酶处理的浒苔能显著提高刺参的生长率。说明用适当的方法加工后, 浒苔可以作为刺参的良好饲料, 实现浒苔的资源化利用。

关键词 浒苔 刺参 蛋白酶 饲料

中图分类号 S968.9; S963 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2009)05-0108-05

Growth of young sea cucumber *Apostichopus japonicus* fed on processed *Enteromorpha prolifera*

ZHU Jian-xin¹ QU Ke-ming¹ LI Jian¹ WANG Jia-lin¹ LIU Hui¹
WANG Shi-huan² XUE Zhi-ning² SUN Yang²

(¹Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

(²Dalian Zhangzidao Fishery Group Co., Ltd., 116001)

ABSTRACT *Enteromorpha prolifera* is a seaweed species that is responsible for widespread green tides. It is also a seafood species and contains relatively high levels of protein, fatty acids and trace elements. In this study, fresh *E. prolifera* was treated by protease, cellulase, formic acid and natural fermentation, before being used as feed for young sea cucumber *Apostichopus japonicus*. The protease treated *E. prolifera* obtained good growth in sea cucumbers. It is suggested that, after proper treatment and processing, *E. prolifera* may be a good feed source for sea cucumbers, and this is a feasible way to utilize this green tide species as a resource.

KEY WORDS *Enteromorpha prolifera* Sea cucumber *Apostichopus japonicus*
Protease Feed

浒苔 *Enteromorpha prolifera* (Muller) J. Agardh 属绿藻门 Chlorophyta, 石莼科 Ulvaceae 浒苔属中的一种。浒苔藻体管状中空, 内含气泡, 分枝细长众多。它广泛分布于世界各地沿海, 自然繁殖能力特别强, 不仅可

国家 863 计划项目(2006AA100305)、国家科技支撑计划项目(2006BAD09A03)、山东省自然科学基金项目(Y2008D04)和中国水产科学研究院黄海水产研究所基本科研业务费项目(20060302/2-Y17)共同资助

收稿日期: 2009-01-21; 接受日期: 2009-03-15

作者简介: 朱建新(1966-), 男, 高级工程师, 主要从事海水养殖和水生动物营养学研究。E-mail: zhujx@ysfri.ac.cn

以利用配子和孢子进行繁殖,而且可以通过叶状体片段以及体细胞营养生殖方式进行再生(叶乃好等 2008; 张晓雯等 2009);因而,浒苔也是形成大规模绿潮的主要藻类之一(梁宗英等 2008)。浒苔有很多种,其中有些浒苔是可食用的,在我国福建、浙江和邻国日本,浒苔都被作为普通的食用海藻。2008年夏天,浒苔在青岛沿海大规模暴发,仅青岛市就打捞鲜浒苔 $1\ 000 \times 10^4$ t。这些打捞上来的浒苔绝大多数被深埋处理,加工成肥料和饲料的部分不足 60 t。因此,如何开发利用这一资源,变害为宝是摆在我们面前的紧迫任务。

青岛浒苔干物质中蛋白质含量 11.16%、粗脂肪 1.50%、粗纤维 6.70%;总氨基酸含量 9.58%,占粗蛋白质的 85.84%,且必需氨基酸种类齐全,EAA 占总氨基酸(TAA)的 43%,呈味氨基酸占总量的 56%以上;微量元素丰富,特别是 Fe、Cu 和 Zn 3 种动物必需微量元素的含量均明显高于同海域生长的其他藻类;因此,浒苔是一种极具开发价值的海洋藻类饲料资源(林英庭等 2009),非常适合用作海水鱼、虾和贝类的饲料配料或添加剂。

刺参 *Apostichopus japonicus* 属棘皮动物门 Echinodermata,海参纲 Holothuroidea,是我国北方重要海产经济动物。近年来,刺参养殖在我国北方沿海各地蓬勃开展。2004年,仅山东省的海参存养量就达到 13 亿头,产量为 57 000 t,产值达 70 亿元以上。海参主要摄食泥沙中的单细胞藻类、原生动物、细菌、海藻碎片、有机碎屑和腐殖质等。在养殖过程中,也有用海藻粉、地瓜粉、杂鱼虾粉、麸皮以及刮取富有底栖硅藻的海泥等(朱建新等 2007)。目前的海参饲料主要是用鼠尾藻或海带加工而成的干粉再适量添加海泥制成。随着鼠尾藻自然资源的枯竭和海带价格的不断提高,寻求充足而廉价的替代产品已成为当务之急。

为了研究利用浒苔加工海参饲料的可行性,以及海参对通过不同方法初步加工处理的浒苔的吸收利用情况,作者开展了本次实验,以期为绿潮藻类的合理利用和减灾提供参考。

1 材料与方 法

1.1 海参的来源及规格

实验用刺参幼参来源于大连獐子岛渔业集团股份有限公司原良种育苗厂 2008 年春季产卵培育的苗种,大小约 80 日龄。从生产车间随机获取样品后又进行了适当筛选,剔除大小差异显著、畸形或患病个体。实验用的 1 500 头海参体长为 2.60 ± 0.04 cm,体重为 0.28 ± 0.04 g。

1.2 实验用饵料的来源、主要成分及加工方法

实验用浒苔于 2008 年 7 月采自青岛海滨,经清洗和去泥沙后,分别利用蛋白酶、纤维素酶、甲酸及自然发酵等方法对其进行了处理。具体处理方法如下:

A. 空白组(未处理)

鲜浒苔直接晒干,用粉碎机碾磨成粒径小于 $100 \mu\text{m}$ 的干粉。

B. 自然发酵处理组

鲜浒苔直接在 20°C 下发酵 72h,晒干后用粉碎机碾磨成粒径小于 $100 \mu\text{m}$ 的干粉。

C. 纤维酶 R-10(由日本 Yakult Honsha 公司提供)处理组

按浒苔鲜重的 1%添加纤维酶 R-10,充分搅拌后,在 20°C 下发酵 24 h,晒干后用粉碎机碾磨成粒径小于 $100 \mu\text{m}$ 的干粉。

D. 水解蛋白酶 Alcalase 2.4 L FG(由诺维信中国有限公司提供)处理组

按浒苔鲜重的 1%添加水解蛋白酶 Alcalase 2.4 L FG,充分搅拌后,在 20°C 下发酵 24 h,晒干后用粉碎机碾磨成粒径小于 $100 \mu\text{m}$ 的干粉。

E. 甲酸处理组

按浒苔鲜重的 2%添加甲酸,充分搅拌后,在 20°C 下发酵 24h,晒干后用粉碎机碾磨成粒径小于 $100 \mu\text{m}$ 的干粉。

1.3 实验方法

实验方法参照朱建新等(2007)。海参取样后放于实验容器中适应3 d后开始投喂不同饵料;各处理组投喂的饵料分别为经过各种方法处理的浒苔,不需添加其他成分。实验时间为2008年10月10~11月29日。实验期间,海参培养采用自然水温,温度从17.9℃逐渐下降到10.5℃,日波动范围不超过0.5℃(图1)。采用自然光照周期,L:D=12:12 h。

实验用海参培养在15个100 L白塑料桶中,每桶饲养60头海参。实验设5个处理组,每组设3个重复。每个塑料桶放置3片PVC波纹板;为了使饵料分布均匀,波纹板按30°倾角摆放。

每天早、晚两次投喂饵料,采取过量投喂法,干饲料日投喂量2g/桶,约占海参体重的8%,与杨秀兰等(2005)幼参投喂量相当;每天早晨换水1次,换水量100%。换水时清理残饵,且每10 d彻底清洗培养容器。

实验开始后,每10 d从各桶随机抽取10个海参样品测量体长和体重。体长测量方法是把样品放在培养皿中,加适量海水后静置,测量其自然伸展后的长度;体重的测量方法是把样品从培养皿中轻轻取出后,在干滤纸上放置30 s后再称量。为了减少操作误差,实验过程中体长和体重的测量均由同一固定实验人员完成。测量完毕,将海参再放回原来的桶中。

1.4 数据分析

用Minitab分析软件对于每次取样的体长和体重进行差异显著性检验(ANOVA),并进行Tukey多重比较;用Sigmaplot 9.0绘制统计图形。

2 实验结果

在实验过程中,水解蛋白酶组刺参生长较快,体长从 2.64 ± 0.06 cm增长为 2.95 ± 0.30 cm,体重从 0.24 ± 0.02 g增长为 0.53 ± 0.13 g。其他各处理组海参均未表现出明显的生长;其中,对照组刺参的体长从 2.53 ± 0.07 cm下降为 2.29 ± 0.20 cm,体重从 0.27 ± 0.02 g增长为 0.34 ± 0.08 g。不过,统计分析表明,各处理组海参的体长和体重增长都不显著($P > 0.05$)。另外,纤维酶R-10和甲酸组体长还有显著下降($P < 0.05$)(图2和图3)。

在50 d实验结束时,蛋白酶处理组海参的体长和体重平均值都大于其他处理组,其中体长显著大于自然发酵组、纤维酶R-10组和甲酸组($P < 0.05$),其他各组之间差异不显著($P > 0.05$);体重显著大于纤维酶R-10组和甲酸组($P < 0.05$),其他各组之间差异不显著($P > 0.05$)。

到实验结束时,实验海参的成活率在31.3%~37.3%之间。Tukey多重比较显示,各处理组与对照组之间海参的成活率没有显著差异,而大部分处理组之间也没有显著差异($P > 0.05$),只有自然发酵组的成活率显著低于甲酸处理组($P < 0.05$)(图4)。

3 讨论

在实验进行的50 d内,除了蛋白酶处理组外,各组海参的生长都比较缓慢。这可能与实验水槽中养殖的刺参密度偏大,以及实验期间水温下降速度过快有关。投喂用水解蛋白酶处理的浒苔的海参生长较快,在实验期间体长增加11.7%,体重增加量为120.8%。该组海参体重的增长之所以在统计学上不显著,是因为实验结束时个体差异增大,导致标准误差增大;而其他各组海参的生长都不显著,说明实验结果的系统误差较大。通

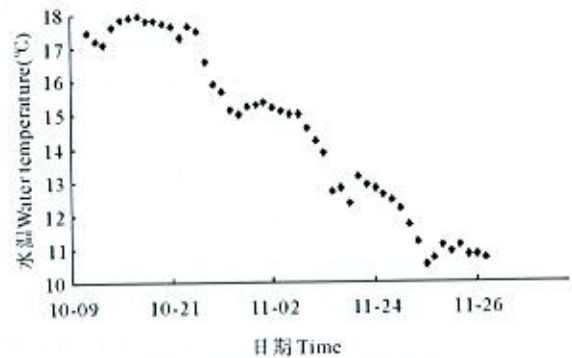
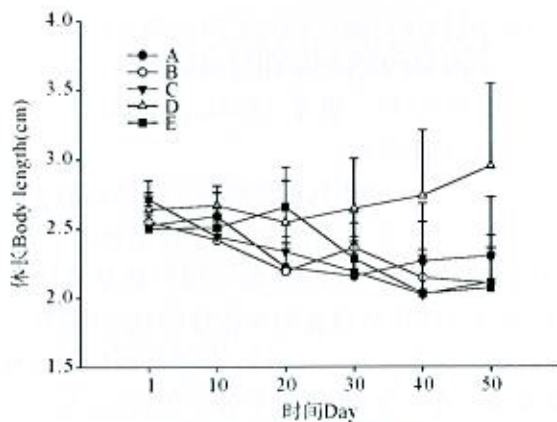


图1 实验期间水温变化情况

Fig. 1 Record of water temperature during the experiment

过综合比较,证明用水解蛋白处理后,浒苔更容易被稚幼参消化和吸收。

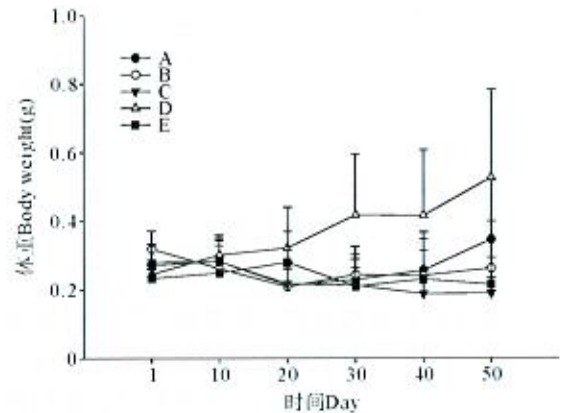


A. 空白(未处理), B. 自然发酵处理,

C. 纤维素酶处理, D. 水解蛋白酶处理, E. 甲酸处理。数值为 3 个重复的均值, 上侧误差标记代表 95% 置信区间

Treatment of *Enteromorpha Prolifera*: A. Control (untreated), B. Natural fermentation, C. Cellulase, D. Alcalase, E. Formic acid. All numbers are the average of three replicates. Upper error symbols indicate 95% Confidence Interval

图 2 实验中摄食不同处理浒苔饵料的海参体长
Fig. 2 Measurements of sea cucumber body length on different days of sampling



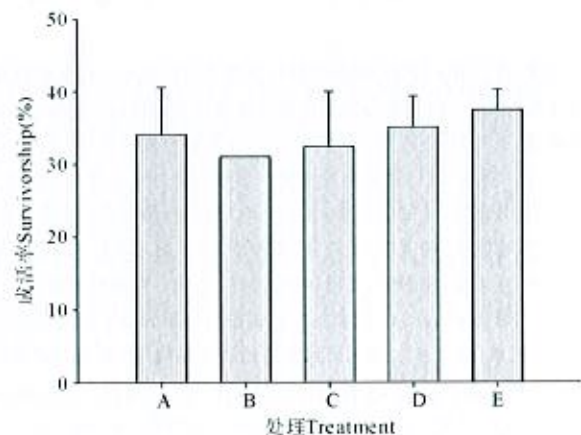
各组浒苔饵料处理方式: A. 空白(未处理), B. 自然发酵处理, C. 纤维素酶处理, D. 水解蛋白酶处理, E. 甲酸处理。数值为 3 个重复的均值, 上侧误差标记代表 95% 置信区间

Treatment of *Enteromorpha Prolifera*: A. Control (untreated), B. Natural fermentation, C. Cellulase, D. Alcalase, E. Formic acid. All numbers are the average of three replicates. Upper error symbols indicate 95% Confidence Interval

图 3 实验中摄食不同处理浒苔饵料的海参体重
Fig. 3 Measurements of sea cucumber body weight on different days of sampling

有关研究表明,刺参消化道内容物以不同粒径的沙泥和贝壳片等为主,还有以硅藻类(60种)为主的浮游植物、海藻碎片、螺类及双壳类的幼贝、桡足类、虾蟹类的脱皮壳、大叶藻、多数的原生动物(14种)和细菌类等。刺参摄食经发酵后的藻类,对氮的吸收率可由原来的 20% 提高到 52.7% (袁成玉 2005)。氮吸收率的增加显然与蛋白质吸收率的增加有直接关系;因此,本实验的结果进一步证实了上述观点。不过,本实验中所用饵料为纯藻粉,而没有添加海泥或沙泥;根据 Liu 等 (2009) 的研究结果,单纯投喂藻粉会增加海参的排泄能耗,所以不利于海参的生长。这也可以看做本实验中海参生长相对缓慢的部分原因。

浒苔是高蛋白、高膳食纤维、低脂肪、低能量,且富含矿物质和维生素的天然理想营养食品的原料(林文庭 2007)。在饲料中添加浒苔不仅能促进肉兔的生长,而且能显著降低肉兔的血液胆固醇和甘油三酯的含量(周 蔚等 2001)。可见,浒苔作为饲料原料具有较高的营养价值。不过,刺参在饲料中粗蛋白水平为 18.21%~24.18%、粗脂肪水平为 5% 时获得最大生长率(朱 伟等 2005);相



各组浒苔饵料处理方式: A. 空白(未处理), B. 自然发酵处理, C. 纤维素酶处理, D. 水解蛋白酶处理, E. 甲酸处理。数值为 3 个重复的均值, 上侧误差标记代表 95% 置信区间

Treatment of *Enteromorpha Prolifera*: A. Control (untreated), B. Natural fermentation, C. Cellulase, D. Alcalase, E. Formic acid. All numbers are the average of three replicates. Upper error symbols indicate 95% Confidence Interval

图 4 实验中摄食不同处理浒苔饵料的海参成活率
Fig. 4 Survivorship of sea cucumbers fed on *Enteromorpha Prolifera*

对而言,浒苔的蛋白和脂肪含量都偏低,如果搭配蛋白和脂肪含量更高的饲料成分,投喂效果会更好。对于如何按比例搭配其他饲料成分以满足刺参的营养需求,有必要开展更加深入的研究。

本实验结果表明,用不同方法处理的浒苔投喂刺参,效果明显不同;这可能是因为不同实验方法所获得的浒苔的水解产物不同。纤维素酶是由多种能水解纤维素的酶组成的酶系;不仅能破坏植物细胞壁和促进营养物质的吸收,还能消除抗营养因子,提高代谢水平和改善动物微生态环境(周娟等 2007)。虽然添加纤维素酶对反刍动物等具有很好的促消化作用,但在本实验中对海参的作用并不明显。

蛋白酶能有效水解植物蛋白,产生蛋白胨、肽类和游离氨基酸;其中,某些生物活性肽由于其特殊的生理功能,更容易被动物吸收利用。不同分子量的生物活性肽其功能特性是不一样的,有的可以促进动物的生长,有的能够提高动物的免疫能力。王家林等(2006年)在鲈鱼饲料中添加 12.4% 的鳕鱼下脚料酶解后的寡肽 FPH-1,其促生长效果显著。碱性蛋白酶能很好地水解酪蛋白,改善其性质从而更利于人体吸收利用(孙浩等 2003)。使用碱性蛋白酶能减少螺旋藻的腥味,提高其营养价值(冯志彪等 2001)。陈季旺等(2004)对米糠蛋白的研究发现,自然状态下的米糠蛋白多与植酸和半纤维素结合在一起,阻碍了它的消化吸收;而利用不同的水解蛋白酶对其酶解处理后所得水解物的分子量不同:胰蛋白酶和碱性蛋白酶水解产物的分子量分布范围分别集中在 200~600 和 200~550 之间;中性蛋白酶、Flavourzyme 水解产物的分子量主要集中在 7 000~25 000 和 50 000 以上;而胰酶、Protamax 水解产物的分子量分布在 4 000~30 000 之间。本实验表明,利用碱性蛋白酶水解的浒苔对刺参的生长有一定促进作用;这一结果有助于我们了解刺参的营养需求以及刺参对不同植物水解产物的消化吸收,并为进一步研究水解蛋白酶在海参饲料中的应用提供参考。

总之,本实验结果证明,用蛋白酶处理的浒苔可以作为刺参的优质饲料,具有比较好的促生长作用。在今后的研究中,应进一步探讨蛋白酶的添加量和处理时间以及其他处理条件,使刺参对浒苔营养成分的吸收利用率最大化。

参 考 文 献

- 王家林,梁盟青,詹青. 2006. 饲料中蛋白寡聚肽对鲈鱼和小白鼠蛋白消化率和蛋白沉积率的影响. 海洋水产研究, 27(5): 68~73
- 冯志彪,李冬梅. 2001. 碱性蛋白酶水解螺旋藻蛋白质的研究. 食品与机械, 81: 29~30
- 叶乃好,张晓雯,毛玉洋,庄志猛,王清印. 2008. 黄海绿潮浒苔(*Enteromorpha prolifera*)生活史的初步研究. 中国水产科学, 15(5): 853~859
- 孙浩,蔡兴旺. 2003. 碱性蛋白酶对酪蛋白水解的最适宜条件. 大连轻工业学院学报, 22(1): 25~27
- 朱伟,麦康森,张百刚,王福振,徐桂玉. 2005. 刺参稚参对蛋白质和脂肪需求量的初步研究. 海洋科学, 29(3): 53~58
- 朱建新,刘慧,冷凯良,曲克明,王诗欢,薛志宁,孙阳. 2007. 几种常用饲料对稚幼参生长影响的初步研究. 海洋水产研究, 28(5): 48~53
- 张晓雯,毛玉洋,庄志猛,柳淑芳,王清印,叶乃好. 2009. 黄海绿潮浒苔的形态学观察及分子鉴定. 中国水产科学, 15(5): 822~829
- 陈季旺,姚惠源,陈尚卫. 2004. 米糠可溶性蛋白酶解物的分子量分布的研究. 中国油脂, 29(1): 36~39
- 周娟,潘振亮,杨焱民. 2007. 饲料纤维素酶的研究与应用. 畜牧与饲料科学, 1: 50~53
- 周蔚,徐小明,嵇珍,史善富,姜锦鹏,高和坤. 2001. 浒苔用作肉兔饲料的研究. 江苏农业科学, 6: 68~69
- 林文庭. 2007. 浅论浒苔的开发与利用. 中国食物与营养, 9: 23~25
- 林英庭,朱风华,徐坤,刘鹏起,贾玉辉. 2009. 青岛海域浒苔营养成分分析与评价. 饲料工业, 30(3): 45~49
- 袁成玉. 2005. 海参饲料研究的现状与发展方向. 水产科学, 24(12): 54~56
- 梁宗英,林祥志,马牧,张静,闫晓波,刘涛. 2008. 浒苔藻流聚集绿潮现象的初步分析. 中国海洋大学学报, 38(4): 601~604
- Liu, Y., Dong, L., Tian, X., Wang, F., and Gao, Q. 2009. Effects of dietary sea mud and yellow soil on growth and energy budget of the sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka). *Aquaculture*, 256(3-4): 265~270