

研究简报

饲料添加氧化油脂对鲤体内脂质过氧化
及血液指标的影响

EFFECTS OF ADD OXIDATIVE OIL IN DIET ON LIPID PEROXIDATION
AND HEMATOLOGICAL VALUES FOR COMMON CARPS

刘伟 张桂兰 陈海燕

(中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 哈尔滨 150070)

Liu Wei Zhang Guilan Chen Haiyan

(Heilongjiang River Fishery Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin, 150070)

关键词 氧化油脂, 鲤, 过氧化脂质, 血液指标

KEYWORDS Oxidative oil, Carp, Lipid peroxides, Hematological values

由于饲料脂质的氧化酸败而引起的养殖鱼类病害时有发生, 给水产养殖业造成很大损失, 如鲤瘦背病、鲢鱼^[7], 鳊鱼黄疽病等。病理学研究发现, 病鱼有溶血性贫血症状, 组织中的高度不饱和脂肪酸含量下降, 肝、脾、肾中有大量的血铁黄素沉积。而有关摄入氧化酸败脂质对鱼类体内脂质过氧化及其产物积累的影响研究报道甚少。一些实验动物研究表明, 体内过氧化脂质可造成细胞膜损伤, 膜内酶和蛋白质变性, 机体代谢异常, 致使发生多种疾病^[1]。因此体内过氧化脂质是机体发病的重要诱因。本文报道饲料添加大豆油脂的不同氧化酸败度对鲤体内过氧化脂质积累及血液指标的影响, 以探讨代谢过程中过氧化脂质的积累规律, 为科学预防养殖鱼类的有关疾病提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用当年鲤平均体重 $29.58 \pm 4.4\text{g}$, 体长 $10.6 \pm 1.8\text{cm}$, 取自黑龙江水产研究所松浦试验场。

试剂 脂质过氧化物标准品四乙氧基丙烷(1, 1, 3, 3-tetraethoxypropane)(瑞士产), 十二烷基硫酸钠(SDS)(日本产), 硫代巴比妥酸(TBA)(上海试剂二厂)。氧化酸败油脂系采用新鲜大豆油脚, 放置在室外, 最高气温 $28 \sim 30^\circ\text{C}$ 制得。

1.2 试验方法 饲料油脂过氧化值测定采用碘量法^[2]。

血清和肝组织过氧化脂质含量测定采用 TBA 法^[1]。取血清 0.2ml 加 0.1M HCl 2ml 混匀后加入 0.6% TBA 1ml , 混匀置沸水浴 30min , 冷却后以正丁醇 4ml 振摇抽提, 离心后取上清比色(532nm); 另取肝匀浆 0.2ml 加 8% SDS 0.2ml , 置室温 20min 后加 0.1M HCl 2ml 和 0.6% TBA 1ml , 置沸水浴 40min , 以下方法同血清。以四乙氧基丙烷为标准计算含量, 以每 ml 或每 g 组织湿重的 nmol 数表示。

收稿日期: 1996-08-28。

血液三项指标测定方法^[2]:血红蛋白—碱化法,压积—微量法,红细胞数—血细胞计数板。

数据处理采用两个小样本间 T 检验。

四种试验饲料(表 1)的过氧化值(%)分别是 0.13(1 组),0.30(2 组),0.50(3 组),1.09(4 组),用 90% 基础饲料(新鲜原料)和 10% 大豆油脂(新鲜豆油与氧化酸败油脂调配)制成,放 -20℃ 冰箱中保存备用。

表 1 试验饲料组成与营养成分分析(%)

Table 1 Composition of the experimental diet for carps (%)

组份 Ingredient	鱼粉 Fish meal	豆饼 Soybean cake	麦麸 Wheatbran	玉米面 Corn meal	维生素 Vit. compl	矿物质 Miner. compl	大豆油脂 Soy. oil	粗蛋白 Crudeprot	粗脂肪 Crude fat	灰份 Crude ash
	90%						10%			
%	23.5	40	15	10	0.5	1	10	33.5	13.7	7.4

* 每 Kg 饲料含 VA:8000IU, VD:1600IU, VE:50mg, VB₁:5mg, VB₂:20mg, VB₆:5mg; VC:100mg, 氯化胆碱:700mg, 泛酸钙:40mg, 烟酸:100mg, 肌醇:50mg, Ca(H₂PO₄)₂·H₂O:75.08g, MgSO₄·7H₂O:13.2g, Na₂HPO₄:8.72g, 柠檬酸铁:2.5g, ZnSO₄·7H₂O:0.3g, CoCl₂·6H₂O:10mg, MnSO₄·H₂O:80mg, KI:15mg, CuSO₄:10mg。

Contained: vitamin A:8000IU, vitamin D: 1600IU, α-tocopherol acetate:150mg, thiamine: 5mg, riboflavin:20mg, pyridoxine hydrochloride: 5mg, inositol: 100mg, choline chloride: 700mg, calcium pantothenate: 40mg, nicotinamide: 100mg, iron citrate: 2.5g ZnSO₄·7H₂O:0.3g, CoCl₂·6H₂O:10mg, MnSO₄·H₂O:80mg, KI:15mg, CuSO₄:10mg in per kg of diet.

按 4×2 随机将实验鱼分组,每组 20 尾,放入圆形水族箱(200L)中,日投喂试验饲料 2-3 次,占体重 2-3%,实验水温 20-23℃。实验 7 周定期测定鱼体生长(相对生长 = $W_t - W_0 / W_0$),实验结束时全部受试鱼尾部采血,分别用于制备血清和血液指标测定;部分做解剖观察并取出肝胰脏(以下称肝或肝组织),匀浆,立即分析。

2 结果

2.1 鲤种体内过氧化脂质含量与积累

鲤种血清、肝组织过氧化脂质含量的变化,随饲料氧化酸败油脂含量的增加而增加(表 2)。与 0.13% 组比较,血清、肝 TBA 值在添加油脂过氧化值 0.5% 时明显上升($P < 0.05$),增至 1.09% 时血清 TBA 值升高显著($P < 0.01$),但肝组织的 TBA 值增加不明显。

表 2 实验 7 周各组鲤种血清、肝过氧化脂质含量(TBA 值)

Table 2 TBA values in serum and liver of common carps fed different TBA diet for 49 days

组别 Groups	样品数 No.	TBA 值(TBA values)	
		血清 Serum (nmol/ml)	肝 Liver (nmol/g)
1	10	2.28 ± 0.74	1330 ± 377
2	10	3.05 ± 0.69	1418 ± 324
3	10	3.94 ± 0.50*	1846 ± 427*
4	10	5.78 ± 1.12**	1945 ± 345*

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 。

2.2 实验鲤血液指标及生长的测定结果

试验鲤血液三项指标无明显贫血症状(表 3)。与 0.13% 组比较,饲料过氧化值在 0.3% 时,全血红血球数,血红蛋白含量有升高现象;在 0.5% 以上又呈下降趋势。血样溶血现象逐渐增加。实验中期(20 天)以后,各组实验鱼出现生长差异。3、4 组可见眼球凹陷,体黑等瘦弱病症;解剖发现部分病鱼胆囊增大呈兰色。

表 3 实验 7 周鲤鱼种血液(RBC, Hb, Ht)指标检验结果

Table 3 Resulte in hematological values (RBC, Hb, Ht) of test carps for 49 days

组别 Groups	初重(g) Start wt.	终重(g) End wt.	相对生长 RG	红血球数(万/mm ³) RBC	血红蛋白(g%) Hb	压积(%) Ht
1	26.5	43.1	0.60	142 ± 34.94	6.54 ± 1.97	53.3 ± 9.6
2	29.4	46.6	0.58	176 ± 30.15	6.83 ± 0.69	51.0 ± 2.1
3	33.0	49.8	0.51	135 ± 31.62	6.81 ± 0.58	51.5 ± 6.9
4	30.8	45.3	0.46	130 ± 29.67	6.43 ± 0.77	52.3 ± 4.4

初始值(Start value)RBC:145.55 ± 47.69, Hb:5.5 ± 2.79, Ht:37.43 ± 12.1

3 讨论

3.1 饲料氧化酸败脂质与鱼体内脂质过氧化

试验结果表明,鲤鱼种摄入氧化酸败大豆油脂导致鱼体内过氧化脂质含量增加,明显加速了体内脂质过氧化和血清、肝过氧化脂质积累;当 POV 值由 0.13% 至 1.09% 时血清中的积累显著增加(达 2 倍多),证实了体内抗氧化能力改变与饲料脂质氧化酸败度明显相关。这种外源氧化酸败脂质对鱼体内脂质过氧化作用与用褐变鱼粉喂养鳊鱼 30 天引起血浆、肝过氧化脂质升高结果相似^[4]。实验动物研究表明,对小鼠连续(21 天)投喂过氧化玉米油可诱使体内过氧化脂质升高^[1],而这种增加与一定生理状况下,机体代谢过程产生的自由基引起的体内(如生物膜)高度不饱和脂肪酸氧化反应机理是否相同,还不清楚。已知,动物的抗氧化酶类主要存在于肝和红细胞中,是机体重要的抗氧化防御系统,如果该组织脂质过氧化加重,说明自身抗氧化活性受到干扰,将对整个机体过氧化脂质的代谢和自由基的清除产生直接影响。可见血清,肝 LPO 含量变化是反应机体脂质过氧化和抗氧化能力的敏感性指标,肝、血清过氧化脂质对鱼体其它组织的影响,还待深入研究。

3.2 过氧化脂质积累与鱼体发病的关系

本实验发现,饲料脂质过氧化程度直接影响体内过氧化脂质的积累水平,添加油脂过氧化值在 0.50 以上时已经对体内抗氧化系统产生明显影响,致使有害的过氧化脂质积累,发生了病理变化,实验鱼虽未发生贫血症状,但却产生溶血现象,血液指标也有不同程度的改变,可能还与鱼类本身的生理状况和持续作用时间有关。众所周知,饲料脂肪变质可导致鱼类生长缓慢,患病,甚至死亡。越盐梭介(1994)发现,当对虾饲料添加油脂过氧化值达 13mEq/kg(0.16%)时,幼虾生长发育受到影响^[5];鲤在饲料过氧化值为 150mEq/kg(1.9%)时发生瘦背病;鲶类在食过氧化值 100mEq/kg 生饵时即可能致死^[3]。近来病理研究发现,一些炎症疾病如鲤鳃炎病等与体内过氧化脂质、自由基产生有关^[6]。因此,需要逐步揭示饲料不同含量有害脂质在机体内代谢、积累和致病特性。

参 考 文 献

- 1 钱伯初等,1989. 蜂花粉对小鼠体内外脂质过氧化的影响. 营养学报, 11(4):355—358.
- 2 于守洋等,1989. 营养与食品卫生监督检验方法指南, 286—288. 人民卫生出版社.
- 3 洪平,1995. 影响水产饲料品质之非配方因素—鱼虾营养研究进展, 379—390. 中山大学出版社.
- 4 关屋朝裕等,1994. フリ組織中の2-チオバルビシル酸値およびα-トコフェノール含量に及ぼす飼料魚粉の品質の影響. 日水志, 60(4):505—508.
- 5 越盐梭介等,1994. クルマエビに及ぼす飼料添加油脂の酸化強度. 日水志, 60(4):561—566.
- 6 Nemcsok J. Vig E., 1993 Role of free radicals in swimbladder inflammation of carp. J. Fish Dis. 16(2): 131—136.
- 7 Pearson M D. Chinabut S, 1994. Jaundice disease in the farmed catfish hybrid, *Clarias macleophthalmus* (Günther) × *C. gariepinus* (Burchell), in Thailand. J. Fish Dis., 17(4): 325—336.