

# 乌贼肝粉和鱼浆蛋白饲料对中华鳖抗氧化能力的影响

贾艳菊<sup>①</sup> 杨虹<sup>①</sup> 侯金良<sup>②</sup> 张金良<sup>①</sup> 周薇<sup>①</sup>

① 河北经贸大学生物科学与工程学院 石家庄 050061; ② 河北省水产技术推广站 石家庄 050051

**摘要:** 本实验研究了饲料中添加乌贼肝粉和鱼浆蛋白对中华鳖抗氧化能力的影响。设计了3个实验组, 对照组(白鱼粉组)、乌贼肝粉组和鱼浆蛋白组。3种实验饲料的营养成分相近, 主要区别是乌贼肝粉组和鱼浆蛋白组的饲料中分别用乌贼肝粉和鱼浆蛋白取代了对照组饲料中5%的白鱼粉。用3种饲料分别养殖中华鳖(*Pelodiscus sinensis*)稚鳖8周, 测定了稚鳖血清和肝组织的超氧化物歧化酶(SOD)活性、丙二醛(MDA)含量、总抗氧化能力(T-AOC)以及血清碱性磷酸酶(AKP)和溶菌酶(LZM)的活性。结果发现, 乌贼肝粉组稚鳖血清和肝MDA含量显著低于对照组, T-AOC高于对照组; 鱼浆蛋白组稚鳖血清和肝MDA含量、血清T-AOC与对照组没有显著差异, 但肝T-AOC显著低于对照组。实验结果表明, 饲料中添加5%的乌贼肝粉能提高稚鳖的抗氧化能力。

**关键词:** 乌贼肝粉; 鱼浆蛋白; 抗氧化能力; 中华鳖

中图分类号: Q955 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263(2014)03-384-07

## Effects of Squid Liver Meal and Soluble Fish Protein Concentrates Feeds on Antioxidant Capacity of *Pelodiscus sinensis*

JIA Yan-Ju<sup>①</sup> YANG Hong<sup>①</sup> HOU Jin-Liang<sup>②</sup> ZHANG Jin-Liang<sup>①</sup> ZHOU Wei<sup>①</sup>

① College of Biological Science and Engineering, Hebei University of Economics and Business,

Shijiazhuang 050061; ② Fisheries Technology Extension Station of Hebei Province, Shijiazhuang 050051, China

**Abstract:** Fish meal is the main protein source in the feed of Chinese soft-shelled turtle (*Pelodiscus sinensis*). Squid liver meal and soluble fish protein concentrates have high protein content and many nutritional materials, and may be the alternatives to fish meal in turtle feed. Changes in feed composition can affect the antioxidant capacity of animals. Effects of supplementation of squid liver meal and soluble fish protein concentrates in feed on the antioxidant capacity of *P. sinensis* were studied in this experiment, with an attempt to explore which would be more suitable to replace fish meal in turtle feed. Three experimental groups were designed: control group (white fish meal group, WFM), squid liver meal (SLM) group and soluble fish protein concentrates (SFP) group. Nutritional compositions of three diets were similar. For the diets of SLM and SFP, 5% white fishmeal of control diet was replaced with squid liver meal or soluble fish protein concentrates. The culture experiment lasted for 8 weeks. Activity of superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA) content and total antioxidant capacity (T-AOC) of liver and serum of turtle and activities of serum alkaline phosphatase and

基金项目 河北省科技支撑计划项目[No. 11230405D-7(2013)];

第一作者介绍 贾艳菊,女,副教授;研究方向:水生生物学;E-mail: jiajanju@163.com。

收稿日期: 2013-08-08, 修回日期: 2013-11-08

lysozyme were determined. The experimental data were analyzed with one-way ANOVA and Duncan's test. MDAs of liver and serum of SLM were both significantly lower than those of control group, and T-AOC of liver and serum of SLM were both higher than those of control group. No significant difference was showed in MDA of liver and serum and T-AOC of serum between SFP and control group, but liver T-AOC of SFP was significantly lower than that of control group. The results show that 5% supplementation of squid liver meal in diet can improve the turtle's antioxidant capacity, and supplementation of squid liver meal in diet is better than soluble fish protein concentrates for Chinese turtle.

**Key words:** Squid liver meal; Soluble fish protein concentrate; Antioxidant capacity; *Pelodiscus sinensis*

中华鳖 (*Pelodiscus sinensis*) 具有很高的经济价值和药用价值, 是我国一种重要的经济水产养殖动物。白鱼粉是当前中华鳖人工配合饲料中最主要的蛋白源(贾艳菊等 2007)。由于白鱼粉价格昂贵, 其在饲料中的用量直接影响着饲料的价格。乌贼内脏粉蛋白含量在 50% 左右, 具有强烈的诱食效果, 是水产饲料中常用的一种诱食剂(刘智禹等 2005)。鱼浆蛋白是由鱼粉加工后的废水浓缩制成的, 蛋白含量较高, 诱食性较好, 近年来在饲料行业开始应用(陈宜芳等 2005)。乌贼肝粉和鱼浆蛋白价格低于白鱼粉, 在饲料中部分替代白鱼粉可降低中华鳖饲料的成本。饲料的营养组成和原料组成不仅影响动物的生长速度, 而且也会影响动物的健康状况。自由基与生物体许多疾病密切相关(Pham-Huy et al. 2008), 动物机体抗氧化能力的变化可以一定程度上反映机体的健康状况。目前, 中华鳖饲料中通常也会添加乌贼肝粉, 但饲料中添加乌贼内脏粉对中华鳖抗氧化能力的影响尚未见相关报道。鱼浆蛋白在水产饲料中应用的研究报道较少, 对水生动物抗氧化能力影响的研究报道尚未见到。本实验研究饲料中添加鱼浆蛋白和乌贼肝粉对中华鳖抗氧化能力的影响, 为这两种物质在鳖用人工配合饲料中的应用提供理论依据。

## 1 材料与方 法

**1.1 实验饲料和实验动物** 本实验设置了 3 个实验组, 白鱼粉组 (white fishmeal group, WFM, 即对照组)、乌贼肝粉组 (squid liver meal group, SLM) 和鱼浆蛋白组 (soluble fish protein

concentrates group, SFP)。配制了营养组成相近的 3 种饲料, 主要区别是乌贼肝粉组和鱼浆蛋白组的饲料是用乌贼肝粉和鱼浆蛋白分别替代对照组饲料中 5% 的白鱼粉, 具体饲料组成和营养成分见表 1。乌贼肝粉购买于洞头县泰利德鱼粉有限公司, 鱼浆蛋白购买于上海西王淀粉糖有限公司。乌贼肝粉蛋白含量为 44.51%, 脂肪含量为 16.4%, 能量为 19.79 kJ/g; 鱼浆蛋白的蛋白含量为 74.91%, 脂肪含量为 12.20%, 能量为 22.69 kJ/kg。

实验所用动物为中华鳖稚鳖 (体重约 6.8 g), 购买于石家庄市李村中华鳖养殖场。为了避免稚鳖之间相互打斗造成死亡, 实验采用单养的方式。每个实验组设置 28 个重复。圆形养殖桶直径为 50 cm, 被平分成 4 个扇形的区域, 每个区域养殖 1 只稚鳖。养殖水深为 10 cm。驯化期共进行了 14 d, 驯化期间的管理和正式实验期相同。

**1.2 养殖管理与样品的采集** 养殖实验共进行了 8 周。水温控制在  $(30 \pm 1)^\circ\text{C}$ ; 光周期随着外界环境条件的变化而变化; 每天更换养殖水体 1/2; pH 维持在 7~8。稚鳖一天投喂 2 次, 分别在 8:00 时和 16:00 时。投喂后 0.5 h 用虹吸法收集残饵, 将残饵在干燥箱中  $65^\circ\text{C}$  下烘干, 称重记录。

养殖实验结束后分别从各处理组随机抽取 12 只鳖, 用断头法处死, 采集血液于 2 ml 离心管, 在室温静置 1 h 后, 3 000 r/min 离心 20 min 后获得血清样品; 对稚鳖进行解剖, 取内脏, 肝称重, 肝样品放入液氮进行速冻。由于稚鳖血量较少, 将 2 只鳖的血合并为一个样品。将

表 1 实验饲料的原料组成和营养组成

Table 1 Ingredients and chemical compositions of experimental diets

	对照组 (WFM) Control group	乌贼肝粉组 (SLM) Squid liver meal group	鱼浆蛋白组 (SFP) Soluble fish protein concentrates group
原料组成 Ingredients (%)			
白鱼粉 White fishmeal	53.50	48.50	48.50
乌贼肝粉 Squid liver meal	0.00	5.00	0.00
鱼浆蛋白 Soluble fish protein concentrates	0.00	0.00	5.00
a-淀粉粉 a-Starch	17.00	17.00	17.00
膨化大豆 Extruded soybean	8.00	8.00	8.00
酵母粉 Yeast meal	6.00	6.00	6.00
发酵豆粕 Fermented soybean meal	2.00	2.00	2.00
谷朊粉 Wheat gluten	6.00	6.00	6.00
鱼油 Fish oil	3.80	3.80	3.80
磷酸二氢钙 $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	1.20	1.20	1.20
三氧化二铬 $\text{Cr}_2\text{O}_3$	0.50	0.50	0.50
添加剂预混料 Vitamin and mineral premix	2.00	2.00	2.00
营养组成 Chemical composition (干物质, On dry mass)			
粗蛋白 Crude protein (%)	45.91	45.08	46.62
粗脂肪 Crude lipid (%)	8.64	9.36	9.24
灰分 Ash (%)	14.33	13.69	13.38
能量 Energy (kJ/g)	18.83	18.85	18.89

所有血清和速冻的肝样品存放在  $-20^\circ\text{C}$  冰箱中, 备以后样品分析使用。

**1.3 组织样品分析** 肝组织和生理盐水按照 1:9(重量/体积)的比例进行混合, 用玻璃匀浆器制成匀浆, 然后 2 500 r/min 离心 10 min, 取上清液进行分析测定。血清和肝组织的超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 含量、总抗氧化能力 (total antioxidant capacity, T-AOC)、血清中碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, AKP) 和溶菌酶 (lysozyme, LZM) 活性以及肝组织蛋白含量, 均采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒进行测定。每一个实验组肝组织样品 10 个, 血清样品 6 个。

**1.4 数据处理** 采用 Statistica 6.0 软件对实验数据进行统计分析, 所有数据均采用平均值  $\pm$  标准差表示。采用 one-way ANOVA 和 Duncan's 多重比较分析不同实验组间各项指标

的差异, 取  $P < 0.05$  为差异显著水平。

## 2 结果

**2.1 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性** 乌贼肝粉组稚鳖肝 SOD 值略低于对照组, 血清 SOD 值略高于对照组 (图 1)。鱼浆蛋白组肝 SOD 活性低于对照组, 血清 SOD 活性接近对照组。3 个实验组肝 ( $F_{(2,27)} = 1.99$ ,  $P = 0.15$ ) 和血清 ( $F_{(2,15)} = 0.45$ ,  $P = 0.65$ ) SOD 活性均无显著差异。

**2.2 丙二醛 (MDA) 含量** 不同饲料组肝 ( $F_{(2,27)} = 7.05$ ,  $P = 0.00$ ) 和血清 ( $F_{(2,15)} = 4.91$ ,  $P = 0.04$ ) MDA 含量存在显著差异 (图 2)。乌贼肝粉组稚鳖肝和血清 MDA 含量均显著低于对照组和鱼浆蛋白组, 对照组和鱼浆蛋白组在肝和血清 MDA 指标上的差异均不显著。

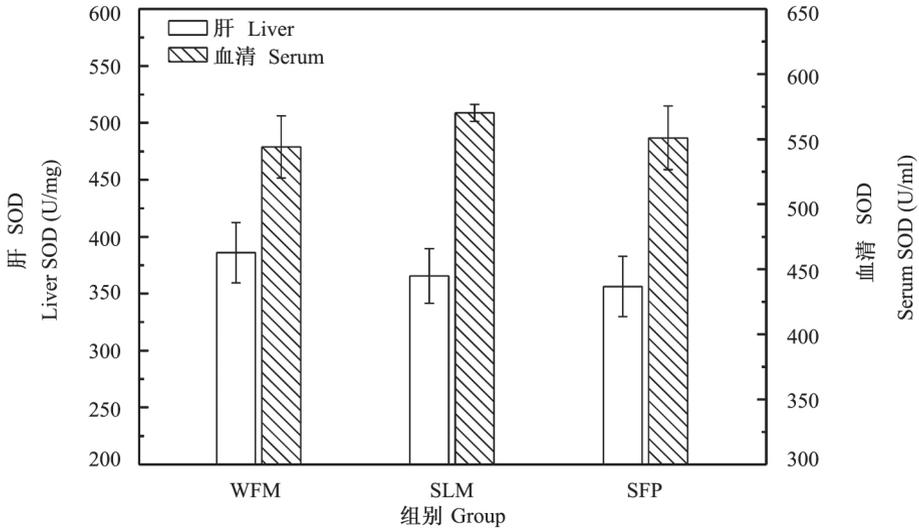


图 1 不同饲料组中华鳖肝和血清超氧化物歧化酶 (SOD) 的活性

Fig. 1 Activity of superoxide dismutase (SOD) in liver and serum of *Pelodiscus sinensis* fed with different diets

WFM. 对照组; SLM. 乌贼肝粉组; SFP. 鱼浆蛋白组。

WFM. Control group; SLM. Squid liver meal group; SFP. Soluble fish protein concentrates group.

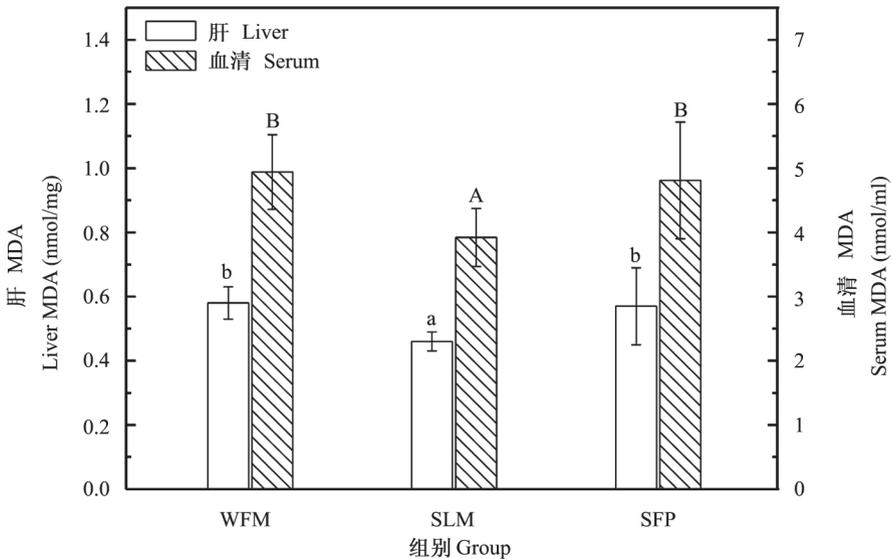


图 2 不同饲料组中华鳖肝和血清丙二醛 (MDA) 的含量

Fig. 2 Malondialdehyde (MDA) content in liver and serum of *Pelodiscus sinensis* fed with different diets

WFM. 对照组; SLM. 乌贼肝粉组; SFP. 鱼浆蛋白组。同一种组织的指标上标字母不同, 表示有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

WFM. Control group; SLM. Squid liver meal group; SFP. Soluble fish protein concentrates group.

Values with different letters in the same tissue indicate significant difference ( $P < 0.05$ ).

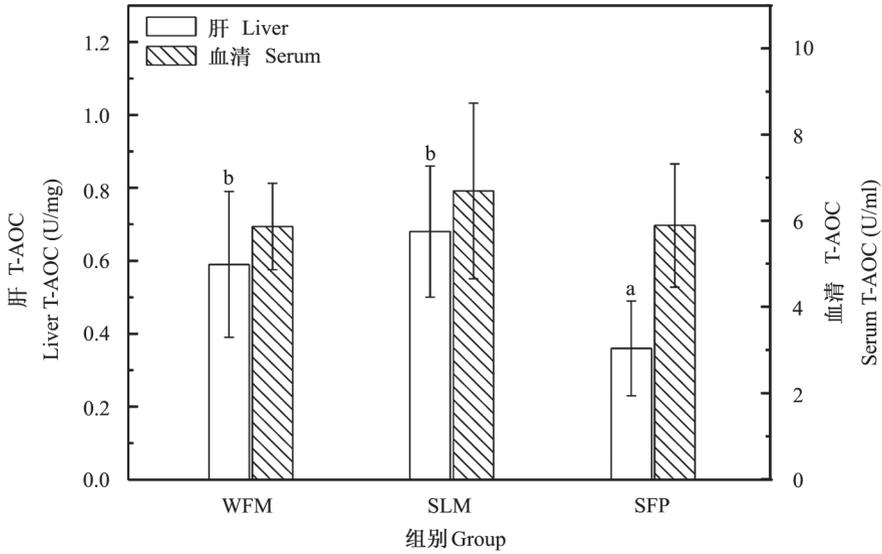


图3 不同饲料组中华鳖肝和血清的总抗氧化能力 (T-AOC)

Fig. 3 Total antioxidant capacity (T-AOC) in liver and serum of *Pelodiscus sinensis* fed with different diets

WFM. 对照组; SLM. 乌贼肝粉组; SFP. 鱼浆蛋白组。同一种组织的指标上标字母不同, 表示有显著性差异 ( $P < 0.05$ ) .

WFM. Control group; SLM. Squid liver meal group; SFP. Soluble fish protein concentrates group.

Values with different letters in the same tissue indicate significant difference ( $P < 0.05$ ) .

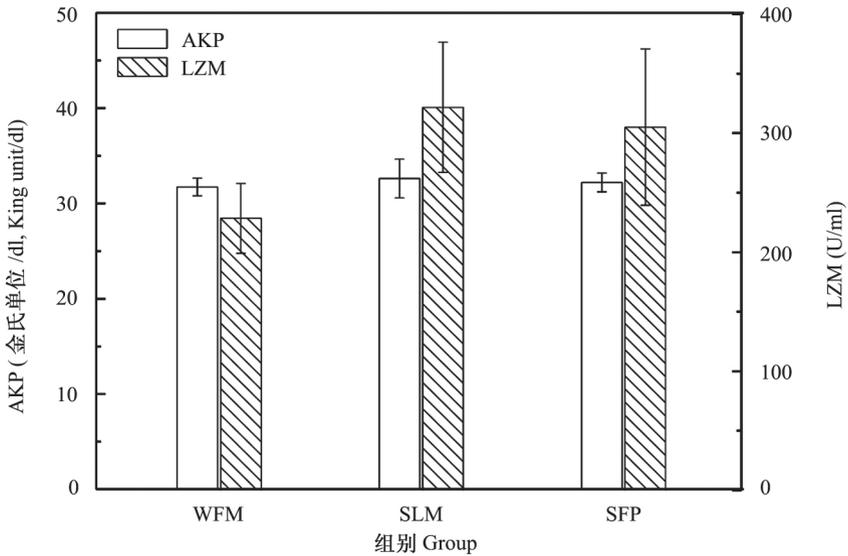


图4 不同饲料组中华鳖血清碱性磷酸酶 (AKP) 和溶菌酶 (LZM) 的活性

Fig. 4 Activities of serum alkaline phosphatase (AKP) and lysozyme (LZM) of *Pelodiscus sinensis* fed with different diets

WFM. 对照组; SLM. 乌贼肝粉组; SFP. 鱼浆蛋白组。

WFM. Control group; SLM. Squid liver meal group; SFP. Soluble fish protein concentrates group.

**2.3 总抗氧化能力 (T-AOC)** 3 个实验组稚鳖肝 T-AOC 存在显著差异 ( $F_{(2,27)} = 9.11, P = 0.00$ ), 乌贼肝粉组的 T-AOC 值最高, 与对照组差异不显著(图 3); 鱼浆蛋白组 T-AOC 值最低, 显著低于对照组和乌贼肝粉组。3 个实验组稚鳖血清的 T-AOC 值差异不显著 ( $F_{(2,15)} = 0.55, P = 0.59$ ), 以乌贼肝粉组的最高。

**2.4 血清碱性磷酸酶 (AKP) 和溶菌酶 (LZM) 活性** 在 3 个实验组中乌贼肝粉组血清 AKP 和 LZM 活性均是最高(图 4), 对照组最低, 但 3 个实验组血清 AKP ( $F_{(2,15)} = 0.58, P = 0.57$ ) 和 LZM ( $F_{(2,15)} = 1.95, P = 0.18$ ) 活性均无显著差异。

### 3 讨论

活性氧(reactive oxygen species, ROS)是需氧生物生命活动中的代谢产物, 动物体可以通过体内的抗氧化剂和抗氧化酶系统来清除自由基。活性氧可破坏机体中的生物大分子, 使其功能发生改变或者丧失, 如引起脂质过氧化、蛋白质功能改变、DNA 断裂等, 造成细胞损伤 (Li et al. 2002)。当机体产生过量 ROS 或者抗氧化能力降低时, 生物就受到自由基的氧化胁迫 (Hermes-Lima et al. 2002)。一些实验已经表明, 改变饲料的组成可能会影响中华鳖机体抗氧化防御系统的响应 (温安祥等 2010, 吴宁燕 2012)。本实验研究了饲料中添加乌贼肝粉和鱼浆蛋白粉对中华鳖抗氧化能力的影响。

已有很多研究报道, 饲料中添加乌贼内脏粉对水产动物的摄食、生长和饲料利用的影响 (林建云 1996, 姜瑞丽等 2008), 但对水生动物抗氧化能力影响的研究报道很少。MDA 是不饱和脂肪酸过氧化的一种终产物, 其含量高低可以代表机体或组织的氧化水平的高低 (Viarengo et al. 1995, Li et al. 2010)。T-AOC 表示机体内的总抗氧化能力, 是机体抗氧化酶系和抗氧化剂两方面综合作用的表现 (Kusano et al. 2008)。红鱼粉容易存在酸价高、组氨高的问题, 用红鱼粉大量替代白鱼粉 (50%) 养殖中华鳖 60 d 时, 整体血清 MDA 含量显著增加

(吴宁燕 2012)。乌贼内脏粉在加工、贮运过程中易出现霉变、脂肪酸败以及镉含量过高的问题 (刘智禹等 2005, Mai et al. 2006)。一些学者认为乌贼肝粉在饲料中含量不超过 5%, 不会影响配合饲料的质量 (刘智禹等 2005)。本实验中用乌贼肝粉替代对照饲料中的 5% 白鱼粉, 乌贼肝粉组稚鳖的血清和肝中 MDA 均显著低于对照组, 而 T-AOC 指标高于对照组。这一实验结果说明饲料中添加 5% 的乌贼肝粉会提高稚鳖的抗氧化能力。乌贼内脏粉中究竟什么物质提高了稚鳖的抗氧化能力? 这个问题有待研究。

鱼浆蛋白是由新鲜鱼类在制作鱼粉的过程中压榨出的鱼溶浆液, 经浓缩、酶解、喷雾干燥而成 (黄国平等 2008)。研究表明鱼浆蛋白对一些动物具有诱食作用、促生长作用和免疫增强作用 (陈宜芳等 2005)。本实验中饲料中添加鱼浆蛋白, 稚鳖肝和血清 SOD 酶活性、MDA 含量以及血清 T-AOC 没有显著变化。这部分实验结果与张海琪等 (2013) 的研究结果类似, 用蝇蛆蛋白粉替代中华鳖常规饲料中 50% 的鱼粉, 对中华鳖日本品系血清的 SOD 和 MDA 没有显著影响。但是, 鱼浆蛋白组稚鳖肝 T-AOC 指标显著低于对照组。这说明饲料中添加 5% 鱼浆蛋白会降低稚鳖肝组织的抗氧化能力。

血清溶菌酶和碱性磷酸酶活性是反映动物非特异性免疫能力常用的指标 (林仕梅等 2011)。本实验中还分析了乌贼肝粉和鱼浆蛋白粉对稚鳖血清溶菌酶和碱性磷酸酶活性的影响。乌贼肝粉组血清溶菌酶和碱性磷酸酶活性最高, 白鱼粉组的最低, 但 3 个实验组之间的差异不显著。这个实验结果有可能说明, 饲料中添加 5% 的乌贼肝粉和鱼浆蛋白粉不会影响稚鳖的非特异性免疫能力。本实验所测的免疫指标较少, 乌贼肝粉和鱼浆蛋白粉对稚鳖免疫能力的影响尚需要更为详细的研究。

综上所述, 饲料中添加 5% 的乌贼肝粉对鳖的非特异性免疫能力没有显著影响, 但会显著提高增强中华鳖的抗氧化能力; 饲料中添加

5% 的鱼浆蛋白对鳖的非特异性免疫能力也没有显著影响,但是会显著降低中华鳖肝组织的抗氧化能力。在白鱼粉、乌贼肝粉和鱼浆蛋白 3 种饲料原料中,乌贼肝粉价格最低,根据本实验结果,我们认为乌贼肝粉比鱼浆蛋白粉更适宜做中华鳖的诱食剂。

## 参 考 文 献

- Hermes-Lima M, Zenteno-Savin T. 2002. Animal response to drastic changes in oxygen availability and physiological oxidative stress. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 133(4): 537 - 556.
- Kusano C, Ferrari B. 2008. Total Antioxidant Capacity: a biomarker in biomedical and nutritional studies. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 7(1): 1 - 15.
- Li C, Jackson R M. 2002. Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury. *American Journal of Physiology: Cell Physiology*, 282(2): 227 - 242.
- Li G L, Tang T, Peng M J, et al. 2010. Direct reaction of taurine with malondialdehyde: evidence for taurine as a scavenger of reactive carbonyl species. *Redox Report*, 15(6): 268 - 274.
- Mai K, Li H T, Ai Q H, et al. 2006. Effects of dietary squid viscera meal on growth and cadmium accumulation in tissues of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* (Cuvier 1828). *Aquaculture Research*, 37(11): 1063 - 1069.
- Pham-Huy L A, He H, Pham-Huy C. 2008. Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science*, 4(2): 89 - 96.
- Viarengo A, Canesi L, Garcia Martinez P, et al. 1995. Pro-oxidant processes and antioxidant defense systems in the tissues of the Antarctic scallop (*Adamussium colbecki*) compared with the Mediterranean scallop (*Pecten jacobaeus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 111(1): 119 - 126.
- 陈宜芳, 任泽林, 何瑞国. 2005. 鱼浆蛋白粉加工进展及其应用前景. *广东饲料*, 14(6): 30 - 31.
- 黄国平, 林建国. 2008. 鱼浆蛋白的开发利用. *饲料工业*, 29(24): 54 - 56.
- 贾艳菊, 杨振才. 2007. 膨化饲料动植物蛋白比对中华鳖稚鳖生长特性的影响. *水生生物学报*, 31(4): 570 - 575.
- 姜瑞丽, 王岩, 薛敏, 等. 2008. 在饲料中添加乌贼内脏粉对罗非鱼摄食、生长和饲料利用的影响. *饲料工业*, 29(14): 20 - 22.
- 林建云. 1996. 乌贼内脏粉的富镉问题及其饲料价值. *台湾海峡*, 15(增刊): 29 - 31.
- 林仕梅, 潘瑜, 罗莉, 等. 2011. 不同来源微量元素铁、锌、锰、铜对罗非鱼生长、代谢和非特异性免疫力的影响. *动物营养学报*, 23(5): 763 - 770.
- 刘智禹, 江琴. 2005. 乌贼内脏粉的营养价值及其安全性研究. *福建农业学报*, 20(4): 271 - 274.
- 温安祥, 舒辉, 肖洋. 2010. 绿原酸对中华鳖生产性能及抗氧化能力的影响. *动物营养学报*, 22(3): 729 - 733.
- 吴宁燕. 2012. 红鱼粉替代白鱼粉对中华鳖饲料性能的影响. 石家庄: 河北师范大学硕士学位论文, 20.
- 张海琪, 周凡, 王卫平, 等. 2013. 蝇蛆蛋白粉替代鱼粉对中华鳖日本品系生长、肌肉品质、免疫及抗氧化指标的影响. *浙江农业学报*, 25(2): 225 - 229.