

不同维生素 C 的稳定性及其对中国对虾的生物学作用研究

STUDIES ON THE STABILITY OF VARIOUS VITAMIN C AND THEIR EFFECT ON *Penaeus chinensis*

辛建杰 王 雷 黄维岐 李光友

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

维生素 C(Vc)即 L-抗坏血酸,人和某些水产动物(如鱼、虾等)自身不能合成,因此从水产养殖角度看,有必要对是鱼、虾饵料进行人为添加。Vc 参与胶原的形成,在细胞氧化过程中可能参与氧化还原,对脊椎动物免疫系统中白细胞的吞噬活性、网状内皮系统、抗体的形成有促进作用。对虾饵料中缺乏 Vc 会发生生长缓慢、壳软、脱壳率降低、脱壳周期延长,产生红腿病、黑白斑病、黑鳃等症状。

Vc 的性质很不稳定,在温度、氧、pH 和微量元素等环境因素作用下容易被氧化^[1,2,3],在中性或碱性条件

下,晶体 Vc 更容易被氧化。氧分子、过渡金属元素或其他氧化剂对 Vc 的破坏作用会因潮湿、受热、光照而加剧^[4],在水产饲料加工和贮存过程中氧化反应进行得很快。Vc 的不稳定性和在饵料中的巨大损失,已引起饲料工业的极大关注。

为了改善 Vc 的稳定性,各国科学家先后研制开发出多种稳定性好的 Vc 如:(1)包膜 Vc,如乙基纤维素包膜、氢化植物油包膜、硅酮包膜等,其中 Takeda 研制的

收稿日期:1996 年 1 月 30 日

一种包膜 Vc-CVC F-90 由 90%L-抗坏血酸和 10%氢化植物油包膜而成。由于氢化植物油包膜能有效地隔绝空气,从而大大提高了 Vc 的稳定性,由于 Vc 未加任何修饰,机体更容易吸收。(2) Vc-2 硫酸酯,为抗坏血酸的衍生物,稳定性好,但生物有效性有待探讨。(3) Vc-2-多聚磷酸酯,即 LAPP,主要成分是 L-抗坏血酸-三聚磷酸酯的钠盐,这类产品具有较高的稳定性和生物有效性,但有些产品有效价比较低,价格比较昂贵。(4) Vc-脂肪酸酯,这种 Vc 衍生物具有极高的稳定性和广泛的用途,但由于合成工艺复杂成本很高,没有被水产饲料工业所接受。

自 1993 年中国对虾出现暴发性流行病以来,养殖业户越来越重视对虾的营养及防病,Vc 的稳定性和生物活性亦引起人们的高度重视,因此我们选择了 3 种 Vc 即: CVC-F90, 国产 LAPP, Showa Denko (日本) 产 Phosphate Vc, 对它们在饵料加工贮存中的稳定性及室内条件下对中国对虾养殖过程中的生物学作用进行了试验。

1 材料和方法

1.1 3 种 Vc

1.1.1 CVC F-90 由 Takeda. (日本) 生产, 氢化植物油包膜 L-抗坏血酸, 有效含量 $\geq 90\%$ 。

1.1.2 国产 LAPP Vc-2-多聚磷酸酯, 有效含量 $\geq 10\%$ 。

1.1.3 Phospitan C 由 Showa Denko (日本) 生产, 是磷酸化 Vc。

1.2 3 种 Vc 在饵料加工、贮存过程中的稳定性

1.2.1 饵料配方 主要原料为鱼粉、豆饼、花生饼、虾糠、粘合剂、添加剂等, 其中 Vc 添加量按 1.3.6 进行。

1.2.2 饵料加工 原料粉碎→混合(添加 Vc)→调制→制粒→烘干(50~60℃, 12h)→粉碎及筛选→贮存 Vc。

1.2.3 贮存条件 装入塑料袋中, 外包两层牛皮纸, 室温干燥处保存。

1.2.4 饵料中 Vc 的提取条件 (1) 磷酸化 Vc 的提取: 饵料研细→称重→加入提取液(4%偏磷酸溶液)→振荡→离心→上清液过滤→收集滤液。(2) CVC F-90 的提取: 饵料研细、称重→加入异丙醇→搅拌煮沸→加入氩气饱和提取液→氩气条件下搅拌煮沸→冰水浴冷却→定容→离心→上清液过滤→收集滤液。

1996 年第 4 期

1.2.5 用 HPLC 技术测定 Vc 含量 (1) 标准曲线制作: 用标准 Vc 原粉及提取液配制的溶液所测定的数据制作标准曲线。柱型: ODS5C18 柱; 柱温: 40℃; 流速: 1.8ml/min。(3) 检测波长 257nm; 流动相: KH_2PO_4 为 0.1mol/L。

1.3 饵料添加不同 Vc 对中国对虾室内养殖的生物学作用测试条件

1.3.1 养殖地点 中国科学院海洋研究所培育楼。

1.3.2 养殖设备 体积 500L 的圆形水槽 $\Phi 800\text{mm} \times 1000\text{mm}$ 共 12 个。

1.3.3 养殖时间 自 1995 年 6 月 27 日~10 月 10 日共 15 周。

1.3.4 苗种来源 5 月 16 日从城阳区上马镇对虾养殖场购进中国对虾苗, 体长 1.0cm 左右, 经暂养后, 6 月 27 日正式分苗。

1.3.5 养殖密度 20 条虾/槽。

1.3.6 分组 12 个水槽共分 4 组, 每组有 3 个重复, 各水槽随机放置。4 组分别投喂 4 种不同的饵料, 分别为: A 组, 添加 LAPP 1000×10^{-6} 的饵料; B 组, 添加 CVC F-90 1000×10^{-6} 的饵料; C 组, 添加 Phospitan C 100×10^{-6} 的饵料; D 组, 不加 Vc 的饵料。

1.3.7 对虾饵料种类及成分分析 1 号饵料: 即幼虾饵料(体长 3~6cm), 粗蛋白 48.2%, 粗脂肪 4.0%, 钙 1.93%, 磷 1.7%, 纤维 3.0%, 灰分 10.7%。2 号饵料: 即养成期饵料(体长 6~9cm)。粗蛋白 40.5%, 粗脂肪 4.8%, 粗纤维 3.0%, 钙 1.8%, 磷 1.6%, 灰分 11.0%。3 号饵料: 即养成期(体长 9cm 以上)饵料, 粗蛋白 42.5%, 粗脂肪 4.4%, 粗纤维 3.7%, 灰分 10.5%。

1.3.8 日常管理 (1) 每天测定记录水温; (2) 每周测定记录盐度, pH 1 次; (3) 每天投饵 2 次, 投饵量根据每槽对虾平均体重及存活数换算; 每周每次投饵量 = 体重 $\times 5\% \times$ 虾存活条数; (4) 水槽中水体积保持 300L, 不间断充氧, 每天换水 2 次, 换水量每次 100L; (5) 每周测量各试验组平均体重, 并记录每组对虾存活数量; (6) 每次投饵前将水槽内污物吸出, 投饵后 3h 将残饵吸出, 烘干后每周累计称重每槽残饵总重量, 以计算饵料转化率。

饵料转化率 = (每槽投饵总量 - 残饵总量) /

(实验结束时虾总量 + 实验期死亡虾重量 - 始重)

1.3.9 肝胰脏和肌肉中 Vc 含量测定 (1) 实验结束每槽取 5 条虾分离肌肉和肝胰脏; (2) 提取过程: 肌肉(肝胰脏)分离→称重→加入提取液(4%偏磷酸溶

液)→用匀浆器抽提20 min→离心→上清液过滤(0.45μm)→滤液快速进行 HPLC 测定;(3) HPLC 条件同饵料中 Vc 含量测定。

2 结果与讨论

2.1 表 1 列出了 3 种 Vc 在 3 种对虾饵料加工后及贮存过程中 Vc 含量测定数据。可以看出磷酸化 Vc 的稳定性比较高,其中日本产磷酸化 Vc 更稳定,CVC F-90

稳定性较差。但从养殖过程中经济效益来看,饵料贮存 1 个月后 CVC F-90 的绝对含量为其他两种 Vc 的 6 倍和 10 倍(日本产磷酸化 Vc 的价格为 CVC F-90 的 15 倍,因此选择了 100×10^{-6} 作为添加量)。同时从不同养殖时期饵料的 Vc 在加工、贮存过程中的稳定性为:3 号饵料>2 号饵料>1 号饵料,说明随着加工粒度由大变小,营养成分由粗到精,Vc 在饵料中越来越不稳定。

表 1 1,2,3 号饵料加工贮存中 Vc 含量($\times 10^{-6}$)及 Vc 损失率(%)

时间 (周)	饵料	Vc 含量($\times 10^{-6}$)			Vc 损失率(%)		
		A	B	C	A	B	C
0	1 号	92.4	641.7	49.5	90.2	69.0	87.1
1	1 号	88.7	606.6	48.5	86.6	65.5	86.4
2	1 号	86.3	566.7	46.5	84.3	60.9	82.0
4	1 号	79.3	436.2	45.1	77.4	46.9	79.4
6	1 号	67.5	357.4	41.5	65.9	38.4	73.0
8	1 号	58.4	282.1	37.6	67.0	30.3	66.1
12	1 号	46.1	203.8	31.1	45.0	28.3	54.7
0	2 号	93.1	667.8	51.1	90.9	71.8	90.0
1	2 号	90.3	636.2	48.1	88.2	68.4	84.7
2	2 号	88.4	578.9	46.5	86.3	62.1	81.9
4	2 号	83.9	482.9	45.3	81.9	51.9	79.8
6	2 号	70.4	390.4	42.1	68.8	42.0	74.1
8	2 号	61.3	204.5	38.3	59.9	32.7	67.4
12	2 号	48.5	235.8	31.7	47.4	25.3	55.8
0	3 号	95.0	699.3	52.0	92.7	75.2	91.5
1	3 号	93.1	667.9	50.3	90.9	71.6	88.6
2	3 号	91.2	627.3	48.7	89.1	66.8	85.7
4	3 号	86.6	439.6	46.3	84.6	47.2	81.5
6	3 号	70.4	351.2	41.6	68.8	37.7	73.2
8	3 号	62.1	293.8	36.6	60.6	29.4	64.4
12	3 号	50.3	212.0	29.9	49.1	22.7	52.6

2.2 通过对养殖完毕时对虾肝胰脏和肌肉中 Vc 含量的测定,(测定数据见表 2)可以看出,B 组肝胰脏和肌肉中 Vc 含量最高,相反 D 组未检出肌肉中的 Vc,说明随着 Vc 添加量的增加,肌肉和肝胰脏中 Vc 含量随之提高。

2.3 各试验组存活率、体重增长率、饵料转化率见表 3。养殖过程中,对照组发病率较高(主要是细菌性疾病),死亡率最高,在其他 3 组中,成活率最高的是 B 组,为 51.6%。添加 Vc 后对虾体重增长率有较大提高,其中 B 组为 910%,生长最快,添加 Vc 的实验组饵料转化率明显低于对照组。

2.4 利用 HPLC 技术测定饵料及虾体中 Vc 含量快速、简便、重复性好,为研究 Vc 在饵料中的分解动力学提供了方便。但由于 Vc 在水溶液中不稳定,因此提取完毕必须快速测定,才能得到较高的重现率。

2.5 从实验室内对虾养殖试验可以看出,由于养殖海水为砂滤水,缺乏天然饵料,仅靠投喂配合饵料,对虾生长较慢,死亡率也较高,因此必须选择全价的配合饵料进行试验。

总之,Vc 经磷酸化和氢化植物油包膜后都能提高其在加工贮存过程中的稳定性,选择物美价廉的稳定性好的 Vc 作为饵料添加剂,对对虾养殖业是至关重要的。

表 2 养殖对虾肝胰脏和肌肉中的 Vc 含量($\times 10^{-6}$)

对虾	Vc 含量 ($\times 10^{-6}$)							
	肝 胰 脏				肌 肉			
	A	B	C	D	A	B	C	D
1	84.5	91.3	80.5	74.5	10.4	11.4	3.7	未检出
2	71.2	120.1	64.2	90.2	7.2	13.0	未检出	未检出
3	82.0	98.6	73.7	102.0	11.3	12.6	2.6	未检出
4	63.0	83.1	86.3	95.0	7.5	9.3	4.3	未检出
5	56.4	112.3	95.7	99.0	9.0	7.2	6.4	未检出
平均	71.4	108.1	88.1	92.1	9.1	10.7	3.4	0
偏差	12.0	15.1	12.0	10.8	1.8	2.4	2.3	0

注:1,2,3,4,5,指每组取 5 条对虾分别提取 Vc。

表 3 各试验组存活率、体重增长率、饵料转化率

水槽	存活率(%)				体重增长率(%)				饵料转化率(%)			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
1	40.0	49.0	60.0	20.0	866	982	921	814	292	287	292	310
2	35.0	60.0	45.0	30.0	875	841	826	849	308	256	274	270
3	45.0	55.0	45.0	30.0	901	936	874	876	266	250	266	300
平均	40.0	51.6	50.0	26.0	880	910	873	846	288	264	277	293
偏差	5.0	10.4	8.6	5.7	18.1	71.9	47.5	31	21	20	13	21

注:1,2,3,指每试验组的 3 个重复。

参考文献

- [1] Wanninger, L. A., Jr. 1972. *Food Technol.* 26:42-45.
- [2] Hilton, J. W., Cho, C. Y. and Slinger, S. J. 1977. *J. Fish Res. Board Can.* 34:683-687.
- [3] Soliman, A. K., Jauncey, K. and Robert, R. J., 1987. *Aquaculture* 60:73-83.
- [4] O'Keefe, T. and Grant, B. F., 1991. *ASA Technical Bul.* AQ:29-1991.