

超声波对青石斑鱼体表吸收氯霉素能力的影响*

周永灿^{1,2} 黄 晖³ 苏永全² 陈国华¹

(¹ 海南大学水产系 海口 570228)

(² 厦门大学海洋系 361005)

(³ 中国科学院南海海洋研究所 广州 510302)

摘要 应用超声波对 8~20 cm 青石斑鱼体表吸收能力的影响研究表明, 超声波的超声强度和作用时间以及所浸泡的氯霉素溶液的浓度都对青石斑鱼体表吸收氯霉素的能力有显著影响, 且呈正相关关系。此外, 不同的超声作用方法也能显著影响实验石斑鱼的体表吸收能力, 其中, 超声后浸泡比浸泡后超声以及脉冲超声比连续超声均能更显著地提高石斑鱼的体表吸收能力。

关键词 青石斑鱼 *Epinephelus awoom*, 超声波, 氯霉素, 体表吸收

由于高频超声透入生物活组织后, 能以其高频机械振动的能量产生各种效应, 因而在超声对水生生物作用的研究上, 常常应用超声作用来促进水生生物受精卵的胚胎发育以及提高幼苗的养殖成活率等。其实, 超声波对生物机体除具有机械振动作用外, 还具有空化作用和热作用等, 能显著增加生物体皮肤和肌肉的通透性, 根据超声波的这些作用原理, 在人体医学上已广泛应用超声波导入药物来进行疾病治疗。目前, 水产养殖病害防治中常用的浸泡法常因药物难以深入机体而影响防治效果, 为了改变这种状况, 作者利用氯霉素初步探讨了超声波对青石斑鱼体表吸收能力的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 青石斑鱼 分别来自广东湛江水产养殖公司和海南生利海水种苗繁育中心, 为体长 8~20 cm 的健康个体。

1.1.2 超声波仪和高效液相色谱仪 确定安全超声参数用的超声仪为本课题组根据需要自己组装; 超声吸收研究用超声波仪为广州市三和电子设备厂根据本研究需要特制的低频超声仪, 其频率为 35 kHz, 强度为 25~175 mW/cm² (均分 6 档可调); 高效液相色谱仪为 Waters 公司生产的 510 型高效液相色谱仪。

1.2 实验方法

1.2.1 8~20 cm 青石斑鱼安全超声强度和超

声频率的确定 在 2 W/cm², 200 mW/cm² 和 20 mW/cm² 的超声强度下, 分别选择低频 (30 kHz)、中频 (600 kHz) 和高频 (2 000 kHz) 的超声波各作用体长 8~20 cm 的青石斑鱼 10 min (每组 10 尾), 对照组为不经超声处理。实验后分别将它们在同条件下分组饲养 30 d, 比较研究不同频率和强度的超声波对实验鱼的影响情况和成活率, 初步确定安全超声范围。在初选的超声范围内进一步选择不同强度和频率的超声波对实验鱼连续作用 10 min, 经 30 d 养殖后, 确定安全超声参数。

1.2.2 不同强度超声波对石斑鱼体表吸收能力的影响 将 8~20 cm 的青石斑鱼放入 200×10⁻⁶ 的氯霉素溶液中, 在安全超声参数范围内立即分别选择强度为 0 (对照组, 无超声作用), 25, 55, 85, 115, 145 和 175 mW/cm² 的 35 kHz 超声波连续作用 3 min, 再将实验鱼分别用干净的自然海水清洗 10 min; 对照组为将鱼放入 200×10⁻⁶ 的氯霉素溶液中浸泡 10 min 后再在干净自然海水中清洗 10 min。心脏取血, 5 000 r/min 离心 10 min 后取除去血细胞的血浆 0.5 ml, 参照李好枝和施耀国提供的方法测定氯霉素的含量; 分别取鳃和背部肌肉组织 1 g, 加入等量生理盐水匀浆后, 按李兰生等提供的方法测定氯霉素的含量。

1.2.3 不同超声作用时间对石斑鱼体表吸收能力的影响 将 8~20 cm 的青石斑鱼放入 200×10⁻⁶

* 国家 863 计划海洋领域青年基金资助项目 819-Q11 号。

收稿日期: 2000-07-19; 修回日期: 2000-11-29

的氯霉素溶液中,立即用 115 mW/cm^2 , 35 kHz 的超声波分别连续作用 0 (对照组,为在无超声作用下浸泡 5 min), 1, 2, 3, 4 和 5 min, 再将实验鱼分别用干净的自然海水清洗 10 min 后, 按以上相同的方法分别测定鳃、肌肉和血液中的氯霉素含量。

1.2.4 不同浓度的浸泡溶液对石斑鱼体表吸收能力的影响 将 8~20 cm 的青石斑鱼分别放入 0, 100×10^{-6} , 200×10^{-6} , 300×10^{-6} 和 400×10^{-6} 的氯霉素溶液中,立即用 115 mW/cm^2 , 35 kHz 的超声波连续作用 3 min, 再将实验鱼分别用干净的自然海水清洗 10 min, 分别测定鳃、肌肉和血液中的氯霉素含量。

1.2.5 不同超声作用方法对石斑鱼体表吸收能力的影响 将 8~20 cm 的青石斑鱼放入 200×10^{-6} 的氯霉素溶液中,用 115 mW/cm^2 , 35 kHz 的超声波作用一定时间,超声作用方法分别有以下 8 种:(1)连续超声 3 min;(2)浸泡 3 min 后连续超声 3 min;(3)连续超声 3 min 后浸泡 3 min;(4)浸泡 3 min 并连续超声 3 min 后再浸泡 3 min;(5)脉冲超声 6 min(脉冲超声的方法为:连续超声 30 s 后停 30 s,再连续超声 30 s 后再停 30 s, ……。因此,实际超声时间也为 3 min);(6)浸泡 3 min 后脉冲超声 6 min;(7)脉冲超声 6 min 后浸泡 3 min;(8)浸泡 3 min 并脉冲超声 6 min 后再浸泡 3 min。实验鱼经上述方法处理后分别用干净的自然海水清洗 10 min, 再分别测定其鳃、肌肉和血液中的氯霉素含量。

2 结果

2.1 青石斑鱼安全超声频率和强度的确定

8~20 cm 的青石斑鱼经不同强度和频率的超声波连续作用 10 min 后,经 30 d 养殖情况表明(表 1),在频率和强度这两种超声参数中,对石斑鱼的成活情况产生影响的主要因子为超声强度,在 10 min 的作用时间内, 2 W/cm^2 的超声波对实验石斑鱼有较大的影响,其 30 d 的养殖成活率比对照组和其他实验组都明显更低,而 200 mW/cm^2 和 20 mW/cm^2 的超声波对实验石斑鱼没有明显影响。

根据表 1 的结果,选择穿透能力较强的低频超声波进一步研究,表 2 的结果表明,在 10 min 的作用时间内, 600 mW/cm^2 的低频超声对 8~20 cm 的实验石斑鱼有一定的

影响,而强度为 400 mW/cm^2 以下的低频超声对实验石斑鱼没有明显影响。

2.2 不同强度超声波对青石斑鱼体表吸收能力的影响

浸泡于 200×10^{-6} 氯霉素中的 8~20 cm 青石斑鱼经不同强度的超声波作用 3 min 后,经体表吸收进入鳃、肌肉和血液中的氯霉素均比不经超声处理的对照组有显著增加,并且,虽然经体表进入鳃、肌肉和血液等组织的氯霉素数量相差很大,但进入各组织的氯霉素数量都随超声强度的增加而升高(图 1)。

表 1 不同强度和频率的超声波对 8~20 cm 青石斑鱼作用 10 min 的影响

Tab.1 The effects of different intensity and frequency of ultrasound on 8~20 cm *Epinephelus awara* after being treated in 10 min

超声频率 (kHz)	养殖 30 d 后实验青石斑鱼的成活率(%)		
	2 W/cm ²	200 mW/cm ²	20 mW/cm ²
2 000	70	100	100
600	50	100	100
30	60	100	90
对照组		90	

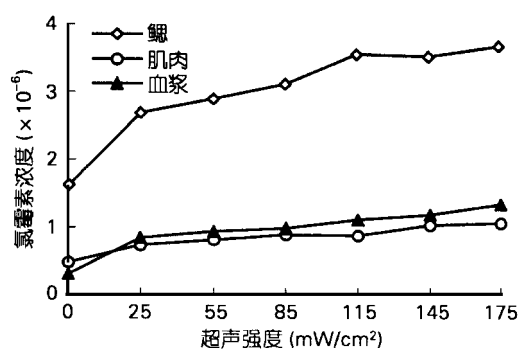


图 1 超声强度对机体吸收氯霉素的影响

Fig.1 The absorbability for chloramphenicol affected by the ultrasonic intensity

表 2 不同低频超声波对 8~20 cm 青石斑鱼作用 10 min 的影响

Tab.2 The effects of low frequency ultrasound on 8~20 cm *E. awara* after being treated in 10 min

超声频率 (kHz)	养殖 30 d 后实验青石斑鱼的成活率(%)				
	600 mW/cm ²	400 mW/cm ²	200 mW/cm ²	100 mW/cm ²	50 mW/cm ²
100	90	90	100	100	100
50	80	100	100	90	100
20	80	100	100	100	100
对照组			100		

2.3 不同超声作用时间对青石斑鱼体表吸收能力的影响

8~20 cm 的青石斑鱼在 115 mW/cm^2 , 35 kHz 的超声作用下, 经体表吸收氯霉素的数量随着作用时间的增加而增加。与 2.2 的研究结果相似, 在检测的 3 种组织中, 鳃部氯霉素的含量最多, 血浆次之, 而肌肉中氯霉素含量最少(图 2)。

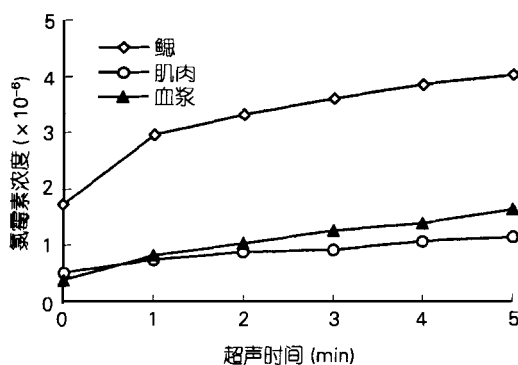


图 2 超声作用时间对机体吸收氯霉素的影响

Fig. 2 The absorbability for chloromycetin affected by the ultrasonic time

2.4 不同浓度的浸泡溶液对青石斑鱼体表吸收能力的影响

在超声作用下, 进入青石斑鱼鳃、肌肉和血液中的氯霉素的含量随着所浸泡的溶液的浓度的增加而

显著增加(图 3)。并且, 与超声强度和超声作用时间等因素相比, 溶液浓度对影响体表吸收能力的作用效果更为显著, 在浸泡的氯霉素溶液为 200×10^{-6} 时, 超声作用下经体表进入鳃、肌肉和血液的氯霉素浓度分别只有 3.44×10^{-6} , 0.92×10^{-6} 和 1.34×10^{-6} ; 而当氯霉素浓度为 500×10^{-6} 时, 相应组织氯霉素含量则分别达到 11.55×10^{-6} , 4.98×10^{-6} 和 6.21×10^{-6} 。

2.5 不同超声作用方法对青石斑鱼体表吸收能力的影响

表 3 的结果表明, 用不同的方法对 8~20 cm 青石斑鱼进行超声药物导入时, “超声后浸泡”比“浸泡后超声”更能显著提高机体对氯霉素的吸收数量; “脉冲超声”也要比“连续超声”更能显著提高机体对氯霉素的吸收数量; 而超声前的短时间浸泡对提高青石斑鱼体表对氯霉素的吸收能力没有明显影响。

3 讨论

超声药物导入是医学超声学的重要内容, 在人类医学上已得到广泛的应用, 如: 美国已应用超声波通过皮肤给糖尿病病人导入胰岛素; 林海和吴群群等也分别应用超声波透入中药成功地治疗肩腰腿痛病以及应用超声波透入碘化钾治疗手足癣等。不过, 目前对于超声药物导入的研究还主要局限于人类医学上, 在水生动物病害防治研究领域迄今尚属空白。本研究结果表明, 超声波不仅能增加人类等陆生动物皮肤和肌肉的通透性, 同样也可以显著增加鱼类等水生动物

表 3 不同超声方法对青石斑鱼体表吸收能力的影响

Tab.3 The external absorbability of *E. awoara* affected by the ultrasonic methods

组织	组织中氯霉素的浓度 ($\times 10^{-6}$)							
	CU	I+CU	CU+I	I+CU+I	PU	I+PU	PU+I	I+PU+I
鳃	3.32	3.48	3.95	3.91	4.54	4.63	4.77	4.74
肌肉	0.91	0.84	1.09	1.15	1.31	1.26	1.38	1.41
血浆	1.15	1.13	1.36	1.37	1.69	1.75	1.80	1.82

注: CU:连续超声; I:浸泡; PU:脉冲超声。

皮肤和肌肉的通透性, 说明应用超声药物导入法对水生动物进行疾病防治同样是可行的。

其实, 与超声药物导入在人类医学上的应用效果相比, 超声药物导入在水生动物病害防治上将具有更好的前景。由于缺乏合适的超声传导介质, 目前超声药物导入在人类医学上的应用主要还只是局部的药物导入; 而水生动物生活在水中, 水作为良好的超声传导介质, 为水生动物的全身性超声药物导入提供了得天独厚的便利条件, 使其在导入药物的数量和操作

便利程度上均优于人类医学的超声药物导入。本研究结果还表明, 在青石斑鱼的鳃、肌肉和血液这 3 种组织中, 经各种超声作用后, 通过体表透入氯霉素的量均以鳃部最多, 血液次之, 肌肉最少, 说明鱼类等水生动物鳃是超声药物导入的主要结构, 并且, 由于鱼类等水生动物鳃部具有丰富的血管, 药物通过鳃部导入后便快速进入血液, 使血液中的药物浓度也快速升高, 并通过循环系统使全身的各个部位均能快速达到较高的药物浓度, 从而对体内病原的防除发挥理

想的效果。

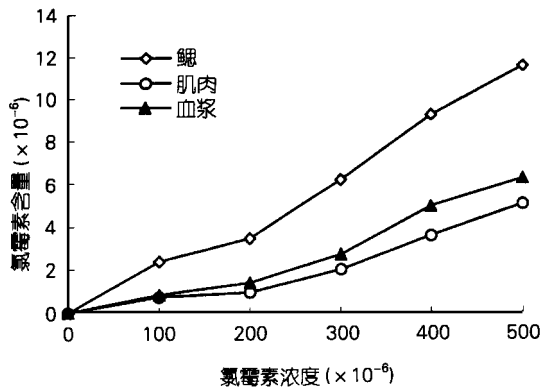


图3 超声作用下浸泡浓度对机体吸收氯霉素的影响

Fig.3 The absorbability for chloramphenicol affected by the concentration of the immersed solution

由于本研究所使用的超声发生仪在频率和强度上无法实行连续可调,因此,对最佳超声频率和强度的确定上还有待更进一步的工作。另外,作者在氯霉素超声导入时采用的超声时间比确定安全超声参数时所采用的时间要短,主要是为了确保超声作用鱼类的安全。实际上,在3 min的超声时间下,实验鱼类对超声强度的耐受力还能进一步提高,对药物的吸收率也还能进一步增强。

根据低频超声能有效增加水生动物皮肤和肌肉通透性的特点,超声波对水生动物的另一潜在应用为应用超声波导入鱼病疫苗进行鱼病疫苗的免疫接种,从而从根本上解决目前鱼病疫苗推广使用过程中因缺乏合适的免疫接种方法而面临的巨大困难,为鱼病疫苗的研究开发与推广使用提供新的前景。

参考文献(略)

THE EFFECT OF ULTRASOUND ON THE EXTERNAL ABSORBABILITY OF *Epinephelus awoara*

ZHOU Yongcan^{1,2} HUANG Hui³ SU Yongquan² CHEN Guohua¹

(¹ Fisheries Department, Hainan University, Haikou, 570228)

(² Oceanology Department, Xiamen University, 361005)

(³ South China Sea Institute of Oceanology, CAS, Guangzhou, 510301)

Received: Jul., 19, 2000

Key Words: *Epinephelus awoara*, Ultrasound, Chloramphenicol, External absorbability

Abstracts

The study on the effect of ultrasound on the external absorbability of *Epinephelus awoara* shows that all the intensity and ultrasonic time of the ultrasound and the concentration of the immersed chloramphenicol solution have the positive effect. Besides, the ultrasonic methods also have distinct effects on the external absorbability of *E. awoara*. Compared with the methods 'ultrasound after immerse' and 'continuous ultrasound', the methods 'immerse after ultrasound' and 'pulse ultrasound' have the better effect on improving the external absorbability of *E. awoara*.

(本文编辑:刘珊珊)