

DOI:10.15906/j.cnki.cn11-2975/s.20161709

饲料中不同维生素 E 水平对加州鲈生长和抗氧化性能的影响

朱旺明^{1,2*}, 崔祥东^{1,2}, 陈翠英^{1,2}, 蓝汉冰^{1,2}, 谭永刚¹, 黄永政^{1,2}, 朱志明², 陈玉敏²

(1.佛山市信豚生物科技有限公司,佛山南海 528211;2.广州市信豚水产技术有限公司,广州天河 510642)

[摘要] 以维生素 E 实际添加量分别为 20.50(对照组)、39.86、54.74、87.52 和 131.78 mg/kg 的 5 种等氮等脂的试验饲料饲养初始体重为 (34.27±0.26)g 的加州鲈幼鱼 8 周,研究不同维生素 E 水平对其生长及抗氧化性能的影响。结果表明,随着饲料维生素 E 添加水平的升高,加州鲈的增重率、特定生长率和蛋白质效率逐渐升高,但当饲料中维生素 E 添加量为 131.78 mg/kg 时,其增重率和特定生长率显著降低($P < 0.05$)。各维生素 E 添加组的脂体比显著低于对照组,而肥满度则显著高于对照组($P < 0.05$)。饲料中添加维生素 E 显著降低了血清丙二醛的含量($P < 0.05$),但对血清总抗氧化能力、过氧化氢酶、超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶的活性无显著影响($P > 0.05$)。由此可知,饲料中添加一定量的维生素 E 可促进加州鲈的生长,降低脂质过氧化产物的含量。以特定生长率和增重率为评价指标,经二次回归方程预测加州鲈饲料中维生素 E 的适宜添加水平为 63.33 ~ 69.44 mg/kg。

[关键词] 加州鲈;维生素 E;生长;抗氧化

[中图分类号] S816.7

[文献标识码] A

[文章编号] 1004-3314(2016)17-0032-06

[Abstract] To investigate the effects of dietary vitamin E on growth performance and antioxidant activity of *Micropterus salmoides*, five diets supplemented with graded levels of vitamin E 20.50 (control), 39.86, 54.74, 87.52 and 131.78 mg/kg dry weight, respectively were fed to triplicate treatments of 50 juveniles each with the initial weight of (34.27±0.26)g for 8 weeks. The results showed that the weight gain (WG) and special growth rate (SGR) and the protein efficiency ratio of fish were increased with vitamin E level in the diet increasing. But the weight gain (WG) and special growth rate (SGR) of fish fed the diet with 131.78 mg/kg vitamin E were significantly decreased ($P < 0.05$). The lipid/body rate of the fish fed the diet supplemented vitamin E was significantly lower than that of the control group. And the fullness of the fish fed the diet supplemented vitamin E was significantly higher than that of the control group ($P < 0.05$). The serum malondialdehyde (MDA) content of fish fed the diet added vitamin E was significantly lower than that of the control group ($P < 0.05$). But there was no significant effects on total antioxidant capacity (T-AOC), catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-PX) among groups ($P > 0.05$). The results indicated that vitamin E could increase the weight gain and decrease the lipid peroxide content of juvenile *Micropterus salmoides*, and the suitable level of dietary vitamin E was 63.33 ~ 69.44 mg/kg.

[Key words] *Micropterus salmoides*; vitamin E; growth; antioxidant activity

维生素 E 又名生育酚,为一类化学结构相似的酚类化合物,在清除自由基、维护生物膜结构、抗氧化和增强机体免疫力和抗病力等方面具有非常重要的作用 (Niki, 2014; Brigelius-Flohe, 2006)。研究发现,鱼类自身不能合成维生素 E 或合成的量太少,不能充分满足机体的需要,必需从外界摄入(通常是饲料)以维持机体的生长、繁

殖和健康。饲料中维生素 E 缺乏或不足时,容易导致鱼体出现一系列缺乏症,如红细胞生成障碍、贫血、组织水肿、皮下出血、肝脏和肌肉退化等 (Hamre, 2011)。

加州鲈 (*Micropterus salmoides*), 又名大口黑鲈,为肉食性温水鱼类,具有生长快、肉质鲜美、抗病力强等优点,是我国养殖的主要淡水鱼品种之一。当前加州鲈养殖以投喂冰鲜杂鱼为主,或采用冰鲜杂鱼与饲料混合投喂的方式,由于其营养需求、消化吸收和代谢机制的研究相对缺乏,人工配

基金项目:科技型中小企业创新基金项目(14C26214402665)

* 通讯作者

合饲料的研制一直未能取得重大突破。目前,有关加州鲈蛋白质、脂肪和维生素需要的研究已有报道(Chen等,2015,2013;梁勤朗,2012;肖温温,2012),但对加州鲈维生素E营养需求的研究不多。Chen等(2015)研究发现,在大口黑鲈饲料中硒添加量为1.9 mg/kg的基础上添加维生素E 160 mg/kg,能在一定程度上减轻鱼油氧化带来的负面影响。而Zhu等(2012)认为饲料中维生素E的水平为400 IU/kg时,大口黑鲈的生长速度最快。本试验通过在配合饲料中添加不同剂量的维生素E,研究维生素E对加州鲈生长性能及抗氧化性能的影响,旨在探讨加州鲈对配合饲料中维生素E的需求,以期为加州鲈的人工配合饲料的开发提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验饲料 饲料以维生素E醋酸酯作为添加源,分别按照维生素E含量为0(对照组)、20、40、80、160 mg/kg添加,以微晶纤维素为填充剂,使各试验组饲料其他营养水平保持一致。维生素E醋酸酯购自浙江医药股份有限公司,有效含量为50%。采用反相高效液相色谱法测得上述5组饲料中维生素E的实际添加量分别为20.50(对照组)、39.86、54.74、87.52、131.78 mg/kg。所有饲料原料经80目过筛,充分混匀后制成粒径为3 mm的膨化饲料,烘干后置于4℃冰箱保存备用。基础饲料成分及营养水平见表1。

1.2 试验鱼与饲养管理 试验于2015年7—9月在佛山市信豚生物科技有限公司南沙中试实验中心进行,加州鲈购于广东省佛山市南海区优鲈1号养殖场,先放入暂养箱中用基础饲料(对照组饲料)驯养2周至其完全适应池塘网箱试验环境。驯养结束后,选取平均体重为(34.27±0.26)g的健康加州鲈幼鱼750尾,随机分在15个网箱(1.5 m×1.5 m×2 m)中,每个网箱50尾,分别投喂5组饲料,每组饲料3个重复,饲养周期为8周。每天投喂两次(8:00和17:00),投喂率为体重的2%~4%,同时根据水温、天气和鱼的摄食情况调整投喂量。每天记录投喂量和试验鱼的死亡数据,并定期检查水体的氨氮、亚硝酸盐、溶解氧等理化因子。试验期间水温为28.0~32.0℃,露天养殖,自然光照,pH值为7.2~7.8,水中氨氮含量0.1~0.2 mg/L,亚硝酸盐小于0.05 mg/L,溶氧大于5.0 mg/L。

表1 加州鲈试验饲料组成与营养水平 %

项目	维生素E添加水平/(mg/kg干物质)				
	20.50	39.86	54.74	87.52	131.78
饲料组成					
鱼粉	65.0	65.0	65.0	65.0	65.0
豆粕	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
面粉	18.0	18.0	18.0	18.0	18.0
鱼油	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
磷酸二氢钙	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
复合维生素	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
复合矿物质	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
维生素E预混剂	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
其他物质	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
营养水平					
水分	8.85	7.79	7.95	8.46	8.38
粗蛋白质	45.49	46.55	46.29	46.78	45.51
粗脂肪	11.07	10.77	10.59	10.32	10.74
粗灰分	13.67	13.80	14.83	13.83	13.66
维生素E含量	20.50	39.86	54.74	87.52	131.78

注:(1)复合维生素(IU或mg/kg干饲料)定制不添加维生素E的维生素预混料,由佛山市信豚生物科技有限公司提供,其中每千克干饲料中含维生素A 5 mg,维生素D₃ 15000 IU,维生素K₃ 50.4 mg,维生素C 250 mg,维生素B₁ 28.47 mg,维生素B₂ 25.13 mg,维生素B₆ 30.78 mg,维生素B₁₂ 0.22 mg,烟酰胺 55.42 mg,叶酸 2.91 mg,D-泛酸钙 84.10 mg,D-生物素 1.02 mg,肌醇 280 mg,氯化胆碱 1500 mg;(2)复合矿物质元素(mg/kg干饲料)由佛山市信豚生物科技有限公司提供,其中每千克干饲料中含镁 52.71 mg,铁 31.65 mg,铜 2.61 mg,锌 68.80 mg,锰 6.21 mg,硒 0.18 mg,碘 1.96 mg,钴 0.36 mg;(3)维生素E预混剂:根据不同添加量配制5组预混剂,载体为微晶纤维素;(4)其他物质为载体、抗氧化剂等。

1.3 样品采集 养殖试验结束前,停食24 h,然后对每个网箱中的所有加州鲈进行计数、称重,记录生长情况。从每个网箱随机捞取5尾鱼,测定体重、体长等相关指标,同时进行血液和肝脏样品的采集。用1 mL无菌注射器尾静脉采血,置于无菌离心管中,4℃静置12 h后,3500 g离心10 min,制备血清,-80℃保存备用。取肝脏组织,剔除其表面的结缔组织附着物,并按重量1:10加入PBS(pH 7.4)缓冲液,均浆机高速均浆后,3500 g低温离心20 min,取上清液,置于-80℃保存备用。另每箱随机取4尾鱼,擦干体表水分,经液氮速冻后保存于-20℃,用于全鱼常规营养成分的分析。

1.4 指标测定

1.4.1 生长性能指标的测定

成活率(SR,%)=试验结束时鱼尾数/试验开始时尾数×100;

增重率(WG,%)=(终末体重-初始体重)/初始体重×100;

特定生长率(SGR,%/d)=ln(试验鱼末重/试验鱼初重)/饲养时间×100;

表2 不同维生素E饲喂水平对加州鲈生长性能、饲料利用效率和形体指标的影响

维生素E的添加水平/(mg/kg)	初始重/g	终末重/g	增重率/%	特定生长率/(%/d)	饲料系数	蛋白质效率/%	脏体比	脂体比	肝体比	肥满度	成活率/%
20.50	34.33±0.33	65.87±1.17	91.76±1.58 ^{ab}	1.09±0.01 ^{ab}	1.09±0.01	2.01±0.02	6.96±0.01 ^a	1.43±0.04 ^a	2.60±0.01 ^a	2.02±0.01 ^b	89.33±4.67
39.86	34.00±0.58	66.47±1.30	95.50±2.93 ^{ab}	1.11±0.02 ^{ab}	1.08±0.04	2.00±0.07	6.92±0.06 ^{ab}	1.24±0.02 ^b	2.56±0.05 ^a	2.06±0.00 ^a	95.33±2.67
54.74	34.17±0.17	66.97±0.37	96.06±0.13 ^{ab}	1.12±0.00 ^{ab}	1.07±0.01	2.02±0.02	6.81±0.01 ^b	1.26±0.01 ^b	2.38±0.01 ^b	2.05±0.00 ^a	92.00±2.00
87.52	34.17±0.17	68.27±1.03	99.81±2.60 ^a	1.15±0.02 ^a	1.02±0.04	2.10±0.08	6.84±0.02 ^{ab}	1.25±0.00 ^b	2.41±0.02 ^b	2.05±0.00 ^a	93.33±1.33
131.78	34.67±0.17	64.63±1.43	86.46±3.66 ^b	1.04±0.03 ^b	1.17±0.09	1.88±0.08	6.83±0.01 ^{ab}	1.27±0.00 ^b	2.38±0.01 ^b	2.04±0.00 ^a	90.00±3.06

注:同列数据上标不同字母表示数据之间有显著差异($P < 0.05$);下同。

饲料系数(FCR)=饲料摄食量/试验鱼增重;

蛋白质效率(PER,%)=试验鱼增重/(试验鱼饲料摄食量×饲料蛋白含量)×100;

脏体比(VSI)=试验鱼内脏重/试验鱼体重×100;

肝体比(HIS)=试验鱼肝脏重/试验鱼体重×100;

鱼体肥满度(CF)=试验鱼体重/试验鱼体长³×100。

1.4.2 常规营养成分测定 饲料、全鱼和肝脏的粗蛋白质、粗脂肪、粗灰分和水分按照国标 GB/T 6432-1994、GB/T 6433-2006、GB/T 6438-2007 和 GB/T 6435-2014 的方法测定。饲料维生素E的含量按照国标 GB/T 17812-2008 中的皂化提取法进行提取,然后采用反相高效液相色谱法分析。

1.4.3 抗氧化性能指标的测定 血清总抗氧化能力(T-AOC)、过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)和丙二醛(MDA)均采用南京建成生物工程研究所试剂盒测定,具体测定方法参照试剂盒说明书进行。

1.5 统计分析 采用 SPSS 16.0 对所得数据进行统计分析。在单因素方差分析(One-Way ANOVA)达到显著水平时($P < 0.05$),采用 Turkey's 检验进行多重比较,数据表示为“平均数±标准误”。

2 结果与分析

2.1 不同维生素E水平对加州鲈生长性能和饲料利用率的影响 由表2可以看出,加州鲈幼鱼的增重率、特定生长率和蛋白质效率呈现相似的趋势,都随饲料中维生素E添加水平的升高先逐渐升高,在维生素E添加量为87.52 mg/kg时达到最高值,而后则开始下降,且增重率和特定生长率显著高于添加量最高组(131.78 mg/kg)($P < 0.05$)。相反,加州鲈的饲料系数随饲料中维生素E添加水平的升高逐渐降低,在维生素E添加量

为87.52 mg/kg时达到最低值,131.78 mg/kg维生素E添加组的饲料系数最高,但各组之间差异并不显著($P > 0.05$)。将维生素E添加水平与增重率和特定生长率作二次回归曲线分析可得,获得最大增重率时饲料中维生素E最低添加量分别为69.44 mg/kg(图1)和63.33 mg/kg(图2)。摄食添加39.86 mg/kg维生素E饲料组的成活率最高,但与其他各组差异不显著($P > 0.05$)。

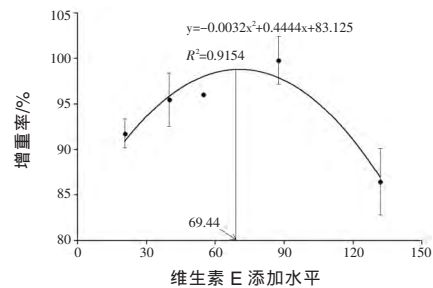


图1 加州鲈增重率与饲料维生素E添加水平的关系

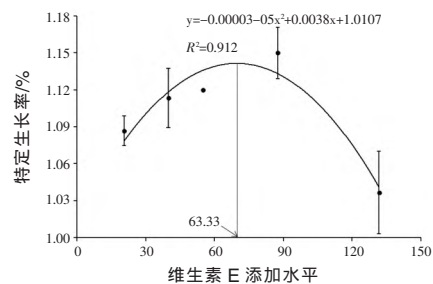


图2 加州鲈特定生长率与饲料维生素E添加水平的关系

2.2 不同维生素E水平对加州鲈形体指标和体成分的影响 由表2可知,与对照组相比,饲料中添加54.74 mg/kg维生素E显著降低了加州鲈的脏体比($P < 0.05$)。维生素E低水平组(20.50、39.86 mg/kg)的肝体比显著高于各维生素E高水平组(54.74、87.52、131.78 mg/kg)。对照组鱼的脂体比显著高于各维生素E添加组,而肥满度则显著低于各维生素E添加组($P < 0.05$)。不同维生

素 E 添加水平对加州鲈鱼体成分的影响不显著 ($P > 0.05$) (表 3)。

表 3 不同维生素 E 饲喂水平对加州鲈体成分的影响

维生素 E 添加水平/(mg/kg)	水分/%	粗蛋白质/%	粗脂肪/%	粗灰分/%
20.50	74.41±0.72	14.74±0.34	5.44±0.15	3.88±0.25
39.86	74.68±0.23	14.89±0.17	5.01±0.23	3.80±0.12
54.74	74.77±0.06	15.06±0.24	4.78±0.08	3.92±0.06
87.52	75.35±0.79	14.58±0.46	4.74±0.35	3.82±0.15
131.78	74.30±1.15	14.57±0.43	5.42±0.46	3.95±0.08

2.3 不同维生素 E 水平对加州鲈抗氧化性能的影响 由表 4 可知,随着饲料维生素 E 添加水平的提高,血清丙二醛的含量逐渐下降,且添加量最高组的丙二醛含量显著低于对照组 ($P < 0.05$),但不同维生素 E 添加水平对加州鲈血清抗氧化指标的影响均不显著 ($P > 0.05$)。饲料添加 54.74 mg/kg 维生素 E 组的血清总抗氧化能力最高,但其超氧化物歧化酶的活性却最低。各维生素 E 添加组的谷胱甘肽过氧化物酶的活性都高于对照组,但各组间差异并不显著 ($P > 0.05$)。

表 4 不同维生素 E 饲喂水平对加州鲈体成分的影响

维生素 E 添加水平/(mg/kg)	丙二醛/(U/mL)	总抗氧化能力/(U/mL)	过氧化氢酶/(U/mL)	超氧化物歧化酶/(U/mL)	谷胱甘肽过氧化物酶/(U/mL)
20.50	38.26±1.81 ^a	3.71±0.42	6.34±0.69	83.33±6.41	304.62±46.15
39.86	35.80±1.07 ^a	2.63±0.69	8.31±0.36	67.28±19.44	339.79±7.76
54.74	34.69±2.99 ^b	4.25±0.62	6.82±1.06	58.85±13.07	349.44±16.72
87.52	31.93±2.09 ^b	3.92±0.59	5.30±0.87	83.95±11.08	327.18±12.74
131.78	24.15±3.21 ^b	3.32±0.80	6.04±0.87	85.80±15.52	337.95±30.86

3 讨论

研究表明,适量的维生素 E 可以促进鱼类健康生长、提高饲料利用率和成活率,而维生素 E 缺乏或过量均会使机体处于一种不良的生理状态,不利于自身的生长发育(Hamre,2011)。Huang 等(2004)报道,85 IU/kg 维生素 E 显著提高了奥尼罗非鱼(*Oreochromis niloticus*×*O.aureus*)的生长和饲料利用率,且饲料缺乏或添加过量(298 IU/kg)维生素 E 均导致奥尼罗非鱼生长和饲料利用率显著下降。饲料中添加适量维生素 E(27.8 ~ 107.5 mg/kg)可明显提高团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)幼鱼的增重率和摄食率(周明等,2013)。本试验也表明,适量添加维生素 E 能提高加州鲈幼鱼的增重率和特定生长率,而当饲料中维生素 E 含量在

131.78 mg/kg 时,生长性能显著下降。在本试验中,维生素 E 含量较低的对照组(20.50 mg/kg)未见有明显的维生素 E 外部缺乏症出现,这可能是由于试验鱼自身肝脏储存有一定量的维生素 E 且试验周期较短而不足以产生维生素 E 缺乏症。

以加州鲈特定生长率和增重率为指标,通过二次回归方程求得的饲料中维生素 E 的最低需要量为 63.33,69.44 mg/kg。这一结果与花鲈(*Lateolabrax japonicus*)(60.5mg/kg)(周立斌等,2009)和罗非鱼(50 ~ 100 mg/kg)(Huang 等,2004;Shiau 和 Shiau,2001)等相近,低于石斑鱼(*Epinephelus malabaricus*)(104 ~ 115 mg/kg)(Lin 和 Shiau,2005)、军曹鱼(*Rachycentron canadum*)(78 ~ 111 mg/kg)(Zhou 等,2013)和草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)(100 ~ 200 mg/kg)(Li 等,2014;Takeuchi 等,1992),但高于青鱼(*Mylopharyngodon piceus*)(45 mg/kg)(黄云等,2013)和杂交条纹鲈(*M.chrysops female*×*M.saxatilis*)(28 mg/kg)(Kocabas 和 Gatlin,1999)。不同鱼类对维生素 E 的消化吸收代谢不同,可能导致对维生素 E 需求量的不同。此外,饲料的组成、试验条件、试验鱼规格等多种因素都会影响鱼类对维生素 E 的需求量(NRC,2011;Hamre,2011)。

维生素 E 在鱼类上的抗氧化作用主要体现在以下三个方面:一是抗脂质过氧化,二是抗蛋白质过氧化,三是保护抗氧化酶活性(许友卿等,2010)。在脂质过氧化过程中,会产生大量的自由基和丙二醛(MDA),而维生素 E 能通过保护超氧化物歧化酶、清除自由基、降低或终止脂质过氧化反应而降低机体组织或血液中的MDA水平(王仁忠等,2009;Sahoo 等,2008),因此MDA 经常被作为测定脂质过氧化程度以及抗氧化物质抗氧化能力的一个重要指标(De Zwart 等,1999;Harats 等,1990)。大量研究表明,饲料中添加维生素 E 能显著降低草鱼(Li 等,2014)、黑鲷(Peng 等,2009;彭士明等,2008)、大鲮鱼(牛化欣等,2014)的MDA含量。本试验也同样发现,随着饲料中维生素 E 添加量的上升,加州鲈血清中的MDA含量明显降低。这表明饲料中添加维生素 E 能有效降低加州鲈体内脂质过氧化反应,降低血液中MDA水平。

动物体内清除自由基的抗氧化酶系统主要包括超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧

化物酶、谷胱甘肽硫转移酶以及谷胱甘肽还原酶等(彭士明等,2008)。维生素 E 能清除动物体内的氧化应激物质对机体抗氧化酶系统的氧化胁迫,从而保护抗氧化酶,使其活性维持正常(Huang 等,2004)。在本试验结果中,饲料中添加维生素 E 能有效提高加州鲈血清中的谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性,但各组间没有显著差异。Mourente 等(2002)的试验结果同样表明,添加维生素 E 对金头鲷肝脏 GSH-Px 和 GR 活性没有显著影响。彭士明等(2008)报道也指出,投喂氧化鱼油的情况下,添加维生素 E 对黑头鲷肝脏的 GSH-Px 活性没有显著影响。但 Garg 等(2009)报道,维生素 E 能显著降低脂质过氧化水平,同时提高机体还原型谷胱甘肽(GSH)含量,显著提高谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和谷胱甘肽硫转移酶(GST)的活性。本试验中的超氧化物歧化酶(SOD)均略低于对照组,但与对照组均没有显著差异($P > 0.05$)。同样,陈聘等(2010)在黄颡鱼试验中发现,饲料中添加维生素 E 对黄颡鱼血液中的 SOD 活性没有显著影响,但也有研究表明,血液中的 SOD 活性随着饲料中维生素 E 含量的升高而上升(李志华等,2013;蔡中华等,2001;Wise 等,1993)。本试验中的过氧化氢酶(CAT)活性各组间没有明显差异。在大多数的有关饲料中添加氧化鱼油的前提下添加维生素 E 的研究结果表明,饲料中添加维生素 E 能显著降低机体组织中 CAT 的水平(唐筱等,2010;彭士明等,2008;Mourente 等,2002),这是否是因为在正常情况下(没有氧化油脂或其他胁迫条件下),机体内的 CAT 会保持一个相对平稳的水平还值得进一步研究。本试验结果表明,总抗氧化能力(T-AOC)在维生素 E 添加量为 54.74 mg/kg 时达到最高,而已有资料中有关饲料中添加维生素 E 对机体组织或血液中总抗氧化能力影响的研究较少。本试验中的各抗氧化酶活性指标与对照组之间并不存在显著差异,与其他研究者的研究结果存在一定差异,原因可能与试验饲料的设计以及试验对象有关,相对于其他试验饲料,本试验的对照组中维生素 E 的含量比较高,可能已满足机体维持各种酶活性处于正常水平的需要,因而导致各试验组与对照组之间没有显著差异,有关维生素 E 与抗氧化酶之间的关系还有待进一步的深入研究。

4 结论

本试验结果表明,在体重为(34.27±0.26)g 的加州鲈配合饲料中添加维生素 E 可促进加州鲈的生长,提高饲料蛋白质效率,降低血清中丙二醛水平,保持抗氧化酶活性稳定等。综合生长性能指标和抗氧化指标,建议加州鲈人工配合饲料中维生素 E 的添加量为 63.33 ~ 69.44 mg/kg。

参考文献

- [1] 蔡中华,邢克智,董双林.维生素 E 对鲤鱼健康的影响[J].动物学报,2001,47(专刊):120 ~ 124.
- [2] 陈聘,熊晶,左永松,马幸容,等.饲料中不同维生素 E 添加量对黄颡鱼幼鱼生长性能及免疫功能的影响[J].中国水产科学,2010,17(3):521 ~ 526.
- [3] 黄云,胡毅,文华,等.维生素 E 对青鱼幼鱼生长、免疫及抗氧化胁迫能力的影响[J].水生生物学报,2013,37(3):507 ~ 514.
- [4] 李志华,付京花,唐雪莲,等.维生素 E 在罗非鱼幼鱼饲料中的应用及耐受性研究[J].动物营养学报,2013,25(7):1648 ~ 1655.
- [5] 梁勤朗.饲料蛋白质水平与必需氨基酸补充对大口黑鲈生长、体组成和免疫力的影响[硕士学位论文][D].上海:上海海洋大学,2012.
- [6] 牛化欣,雷霖霖,常杰,等.维生素 E 对高脂饲料养殖大菱鲆生长脂类代谢和抗氧化性能的影响[J].中国水产科学,2014,21(2):291 ~ 299.
- [7] 彭士明,陈立侨,侯俊利,等.氧化鱼油饲料中添加 VE 对黑头幼鱼及肝脏抗氧化酶活性的影响[J].上海水产大学学报,2008,17(3):298 ~ 304.
- [8] 王仁忠,张能,吕立生,等.维生素 E 抗胰岛 β 细胞损伤的相关机制研究[J].西南国防医药,2009,19(1):45 ~ 47.
- [9] 肖温温.饲料中脂肪与蛋白质水平对大口黑鲈生长、体组成、非特异性免疫和血液学的影响[硕士学位论文][D].上海:上海海洋大学,2012.
- [10] 许友卿,李文龙,丁兆坤.添加剂维生素 E 对鱼类的抗氧化作用及其机理[J].饲料工业,2010,31(18):6 ~ 10.
- [11] 周立斌,张伟,王安利,等.饲料维生素 E 添加量对花鲈生长、组织中维生素 E 积累量和免疫指标的影响[J].水产学报,2009,33(1):95 ~ 102.
- [12] 周明,刘波,戈贤平,等.饲料维生素 E 添加水平对团头鲂生长性能及血液和肌肉理化指标的影响[J].动物营养学报,2013,25(7):1488 ~ 1496.
- [13] Brigelius-Flohe R. Bioactivity of vitamin E [J]. Nutr Res Rev, 2006, 19: 174 ~ 186.
- [14] Chen Y J, Liu Y J, Tian L X, et al. Effect of dietary vitamin E and selenium supplementation on growth, body composition and antioxidant defense mechanism in juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*) fed oxidized fish oil [J]. Fish Physiol Biochem, 2013, 39, 593 ~ 604.
- [15] Chen Y J, Yuan R M, Liu Y J, et al. Dietary vitamin C requirement and its effects on tissue antioxidant capacity of juvenile largemouth bass, *Micropterus salmoides* [J]. Aquaculture, 2015, 435: 431 ~ 436.
- [16] De Zwart L L, Meerman J H N, Commandeur J N M, et al. Biomarkers of free radical damage: applications in experimental animals and in humans [J]. Free Radic Biol Med, 1999, 26: 202 ~ 226.
- [17] Garg D P, Bansal A K, Malhotra A, et al. Methomyl induced hematological and biochemical alterations - protection by vitamin E [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2009: 1 ~ 6.
- [18] Hamre K. Metabolism, interactions, requirements and functions of vitamin E [M] in fish. Aquaculture Nutrition, 2011, 17: 98 ~ 115.
- [19] Huang C, Huang S. Effect of dietary vitamin E on growth, tissue lipid peroxidation, and liver glutathione level of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*, fed oxidized oil [J]. Aquaculture, 2004, 237: 381 ~ 389.
- [20] Kocabas A M, Gatlin D M. Dietary vitamin E requirement of hybrid

(上接第26页)

刺五加多糖的适宜添加量及合生元培养时间的依据上考虑到在实际生产中菌体形式的枯草芽孢杆菌产品活菌数下降的很快,因此以枯草芽孢杆菌活菌数和芽胞产率作为筛选合生元最佳培养时间的条件。结果表明,36 h时活菌数最高,芽胞产率达到了90%以上。

根据研究的菌种生物学特性,有针对地采用加工技术生产合生元制剂,防止产品失活、变质并使生产成本最低化,是生产过程中应考虑的重要问题之一(刘洪明,2009)。鉴于枯草芽孢杆菌对营养条件要求不高、耐受低pH值、不容易失活的特性,本试验将发酵好的菌液以细麸皮作为载体进行吸附后在45℃烘干制成干燥的细粉状产品,并闻到类似乳酸菌发酵制品典型的味道,符合对益生菌制剂产品的性状检测方面的要求(张日俊,2010)。另外,我国正式批准生产的微生物制剂中,对芽孢杆菌含菌量的规定为: 5×10^8 cfu/g(张日俊,2007)。本试验枯草芽孢杆菌-刺五加多糖合生元的活菌数大约为 5×10^9 cfu/g,并且杂菌很少,完全达到了国家对微生物制剂含菌量的要求,可以说本产品加工工艺简单、科学,易于推广。

4 小结

在本试验条件下,研制出了一种枯草芽孢杆菌-刺五加多糖发酵合生元,其制备参数为:种子液的培养时间为24 h,温度为37℃、转速为170 r/min,

接种量为4%,250 mL锥形瓶中装液量为50 mL,培养基初始pH值为7.0,刺五加多糖的添加量为1.6 mg/mL,合生元培养时间为36 h。枯草芽孢杆菌-刺五加多糖合生元产品活菌数为 5×10^9 cfu/g左右。

参考文献

- [1] 边连全,杜欣,刘显军.枯草芽孢杆菌-菊糖合生元对断奶仔猪生长性能及体液免疫功能的影响[J].动物营养学报,2012,24(2):280~284.
- [2] 黄秀梨,夏立秋.微生物学实验指导[M].北京:高等教育出版社,2000.8.
- [3] 刘文波.微生物制剂及其在畜牧业中的应用前景[J].饲料研究,2000,9:14~16.
- [4] 李树鹏,黄芪多糖和2株益生菌体外抑菌作用研究[J].河南农业科学,2007,4:86~88.
- [5] 刘洪明.益生菌-黄芪多糖合生元的研制及其对腹泻犊牛肠道菌群结构影响的研究:[硕士学位论文][D].陕西杨凌:西北农林科技大学,2009,2.
- [6] 潘宝海,孙东岩.合生发酵枯草芽孢杆菌对断奶仔猪生产性能的影响[J].饲料研究,2012,9:45~46.
- [7] 宋青龙,潘宝海,孙冬岩,等.微生物调节剂在水产养殖中的应用研究进展[J].新饲料,2007,40:19~22.
- [8] 王振国.苦豆籽粕-双歧杆菌合生元的研究:[硕士学位论文][D].内蒙古呼和浩特:内蒙古农业大学,2009.
- [9] 文字婷,边连全,杜欣,等.黄芪多糖枯草芽孢杆菌合生元菌液的研制[J].沈阳农业大学学报,2012,2,43(1):98~101.
- [10] 张丽霞.枯草芽孢杆菌B908发酵工艺优化研究:[硕士学位论文][D].内蒙古呼和浩特:内蒙古农业大学,2006.
- [11] 翟玲.枯草芽孢杆菌对肉鸡生产性能的影响及机理研究:[硕士学位论文][D].浙江杭州:浙江农业大学,2009.5.
- [12] 张媛媛,赵敏,张宁.复合益生菌芽孢杆菌发酵培养基及条件的优化[J].东北林业大学学报,2012,3,40(3):93~97.
- [13] 张日俊.微生物饲料添加剂的科学使用[J].饲料与畜牧,2007,6:5~8.
- [14] 张日俊.微生物制剂的质量鉴别与选择、检测指标和标准[J].饲料工业,2010,31(20):1~4.■
- [15] striped bass(*M. chrysops female* × *M. saxatilis*) [J]. Aquacult. Nutr, 1999, 5: 3~7.
- [16] Li J, Liang X F, Tan Q S, et al. Effects of vitamin E on growth performance and antioxidant status in juvenile grass carp *Ctenopharyngodon idellus* [J]. Aquaculture, 2014, 430: 21~27.
- [17] Lin Y H, Shiau S Y. Dietary vitamin E requirement for grouper, *Epinephelus malabaricus*, at two lipid levels, and their effects on immune responses [J]. Aquaculture, 2005, 248, 235~244.
- [18] Mourente G, Diaz-Salvago E, Bell J G, et al. Increased activities of hepatic antioxidant defence enzymes in juvenile gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) fed dietary oxidized oil: attenuation by dietary vitamin E [J]. Aquaculture, 2002, 214: 343~361.
- [19] Niki E. Role of vitamin E as a lipid-soluble peroxy radical scavenger: in vitro and in vivo evidence [J]. Free Radic Biol Med, 2014; 66: 3~12.
- [20] NRC (National Research Council). Nutrient requirements of fish and shrimp [M]. Washington D C USA: National Academic Press, 2011: 189~198.
- [21] Peng S, Chen L, Qin G J, et al. Effects of dietary vitamin E supplementation on growth performance, lipid peroxidation and tissue fatty acid composition of black sea bream (*Acanthopagrus schlegelii*) fed oxidized fish oil [J]. Aquaculture Nutrition, 2009, 15: 329~337.
- [22] Sahoo D K, Roy A, Chainy G B N. Protective effects of vitamin E and curcumin on L-thyroxine induced rat testicular oxidative stress [J]. Chemico-Biological interactions, 2008, 176: 121~128.
- [23] Shiau S Y, Shiau L F. Reevaluation of the vitamin E requirements of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus* [J]. Anim. Sci, 2001, 72, 529~534.
- [24] Takeuchi T, Watanabe K, Satoh S, et al. Requirement of grass carp fingerlings for α -tocopherol [J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1992, 58: 1743~1749.
- [25] Wise D J, Tomasso J R, Gatlin D M, et al. Effects of dietary selenium and vitamin E on red blood cell peroxidation, glutathione peroxidase activity, and macrophage superoxide anion production in channel catfish [J]. J Aquat Anim Health, 1993, 5(3): 177~182.
- [26] Zhou Q C, Wang L G, Wang H L, et al. Dietary vitamin E could improve growth performance, lipid peroxidation and non-specific immune responses for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*) [J]. Aquaculture Nutrition, 2013, 19(3): 421~429.
- [27] Zhu Y, Chen Y J, Liu Y J, et al. Effect of dietary selenium level on growth performance, body composition and hepatic glutathione peroxidase activities of largemouth bass *Micropterus salmoides* [J]. Aquaculture Research, 2012, 43(11): 1660~1668.■