

牙鲆在低温无水保活过程中的生化变化

BIOCHEMICAL CHANGES OF THE BODY OF *PARALICHTHYS OLIVACEUS* IN KEEPING ALIVE WITHOUT WATER AND AT LOW TEMPERATURE CONDITION

刘 淇 殷邦忠 姚 健 王跃军

(中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

LIU Qi, YIN Bang-Zhong, YAO Jian, WANG Yue-Jun

(Yellow Sea Fisheries Research Institute, CAFS, Qingdao 266071)

关键词 牙鲆, 无水保活, 生化变化

KEYWORDS *Paralichthys olivaceus*, Keeping alive without water, Biochemical change

牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)属于鲽形目, 鲆科, 牙鲆属。近几年, 随着海水鱼类养殖业的发展, 牙鲆的养殖产量有了明显增加。以日本为代表的国外渔业发达国家相继开发了机械充氧高密度运输技术, 最近几年又将生态冰温技术开发应用于部分海产动物的无水干运, 并对日本对虾无水活运中的生化变化进行了研究[古庄真喜 1989]。在我国, 海水动物活运技术也得到了提高, 殷邦忠等[1994、1996]采用低温法无水活运菲律宾蛤仔、魁蚶获得了成功。但到目前为止, 国内外关于牙鲆低温无水保活过程中生化变化的研究未见报道。因此在研究并确定了牙鲆无水保活工艺基础上, 作者对其无水保活过程中的生化变化(水分、灰分、蛋白质、脂肪、ATP、乳酸、氨基酸)进行了详尽的研究。

1 材料和方法

1.1 材料

牙鲆取自青岛市青岛电厂水产养殖加工厂人工养殖的二龄健康活牙鲆, 规格400~500g/尾。LKB人工气雾室, 瑞典LKB公司产品。SBA-30型乳酸分析仪, 山东省科学院生物研究所生产。高效液相色谱分析仪, Waters公司产品。分离柱, DEAE-2SW。YQ-3型匀浆机。800型离心沉淀机, 0~4000r/min。WNY-150型数字温度计, 测温范围-70~150℃。

1.2 实验方法

取健康的活牙鲆, 经48h以上暂养后, 于海水中缓慢梯度降温至-0.5℃, 在无水条件下移入双层充气袋, 充入液氧密封, 放入人工气雾室中, 控制温度在-0.5~1.5℃之间。检活方法用目测法, 鳃部有呼吸或刺激鱼体有反应为活体, 反复刺激观察无反应即视为死亡。

按牙鲆的无水保活方法,取 30 尾活牙鲆,分成 3 个平行组,每组 10 尾,水分、灰分、蛋白质、脂肪、氨基酸分析分别在 0h 和 60h 取一次样。ATP、乳酸从 0~60h 区间每隔 10 小时取一次样,死亡的鱼不作为取样对象。

1.3 测定方法

ATP 的测定方法:称取碎鱼肉 1g,加入 2mL 冷却的 10%过氯酸,在冰冷条件下匀浆后移入离心管,再用 1mL 5%过氯酸洗涤匀浆管,并入离心管,以 3500 r/min 离心 3min。取出上清液,沉淀用 2mL 5%过氯酸洗涤,并在同上条件下离心,将上清液合并于小烧杯中,在冰冷条件下用 10mol/L 和 1mol/L 氢氧化钾溶液调节 pH 至 6.5~6.8 再以同上条件离心。收集上清液,将沉淀用 5%过氯酸中和液洗涤,再离心分离。合并上清液,用 5%过氯酸中和液定容至 10mL,在-25℃下冻结保存,待测。测定用 Waters 公司高效液相色谱仪进行。分离柱型号为 DEAE-2SW,流动相为 pH 6.8 磷酸缓冲溶液,流速 1~1.5mL/min,检测波长为 254nm。

乳酸的测定方法:称取碎鱼肉 1g 加入 2mL 蒸馏水,在匀浆机匀浆后移入离心管,以 3500r/min 离心分离 3min,取上清液,用 SBA-30 型乳酸分析仪测定。

氨基酸的测定方法:用高效液相色谱分析仪测定。

水分、灰分、蛋白质、脂肪按[中华人民共和国国家标准 GB5009-85]的方法测定。

2 结果与讨论

2.1 牙鲆的无水保活时间与其成活率

按牙鲆无水保活方法,取 30 尾牙鲆,分 3 组,每组 10 尾,每隔 2h 观察鱼体状态,记录鱼死亡时间和数量,鱼死亡率达 50%时试验结束。结果见图 1。由图可见,在 52h 以前,牙鲆的成活率为 100%,至 60h 时,为 90%,至 70h 时急剧下降至 50%。这说明 52h 以后,牙鲆的机体状况已到了极限,鱼开始死亡。

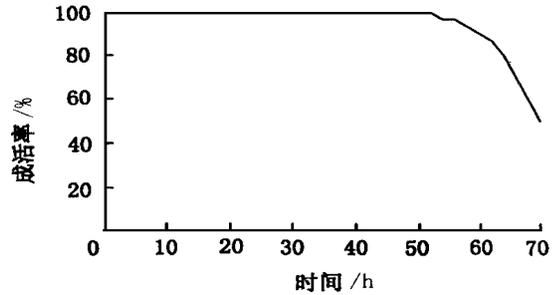


图 1 牙鲆的无水保活时间与成活率

Fig. 1 The survival rate and time of *P. divaceus* without water condition

2.2 牙鲆无水保活过程中水分、灰分、蛋白质、脂肪的变化

牙鲆在-0.5~1.5℃温度下经 60h 无水保活后,其肌肉的一般化学组成变化均小于正常的实验误差,因此可以认为其基本化学组成不变(表 1)。

2.3 氨基酸的变化

牙鲆在低温无水状态下,连续保活 60h 肌肉的氨基酸组成发生了一系列变化,其中天冬氨酸(Asp)、丝氨酸(Ser)、丙氨酸(Ala)、精氨酸(Arg)下降程度超过 10%,而半胱氨酸(Cys)则增加了 27.3%,NH₃增加了 11.4%,这是因为在低温无水保活过程中,牙鲆的正常代谢受到了一定影响,造成其氨基酸含量发生变化;同时由于其排泄受阻,引起体内 NH₃ 含量增加(表 2)。

表 1 牙鲆无水保活过程中水分、灰分、蛋白质、脂肪的变化

Tab. 1 The changes of moisture, ash, protein and fatty of the body of *P. olivaceus* in keeping alive without water condition

	水分(%)	灰分(%)	蛋白质(%)	脂肪(%)
0h	76.21	1.84	19.42	3.01
60h	76.04	1.85	19.50	2.98

2.4 牙鲆无水保活过程中 ATP 的变化

ATP 在无水保活过程中由开始的 $1050 \mu\text{g/g}$ 逐渐减少至 $494 \mu\text{g/g}$ (图 2), 说明牙鲆在无水保活过程中由于体内正常代谢受到影响, 体内的能量 ATP 不断被消耗而得不到有效的补充, 造成 ATP 含量下降, 从而进一步影响鱼体的正常代谢, 成为引起鱼体 52h 后出现死亡的原因之一。

2.5 乳酸的变化

牙鲆无水保活过程中乳酸的变化见图 3。从图 3 可以看出, 牙鲆肌肉中乳酸由开始的 $8.7 \mu\text{mol/g}$ 逐渐上升, 到 70h 达到最高, 为 $22.1 \mu\text{mol/g}$ 特别是 50h 后上升速率加快。这是因为牙鲆离开水后, 由于失去水的支持, 鳃瓣相互靠紧, 造成鳃的呼吸效率下降, 体内氧气供应不足, 同时鱼体排泄系统也受到影响, 造成鱼体肌肉中乳酸含量过高。我们将乳酸的变化曲线与成活率曲线(图 1)相比较分析, 可以看到乳酸含量的变化曲线与成活率曲线呈负相关, 随着乳酸含量的上升, 鱼体疲劳度增加, 特别是 50h 以后乳酸含量上升加快, 牙鲆的成活率也随之下降。这说明牙鲆对乳酸的耐受程度在 $16.9 \mu\text{mol/g}$ 左右, 超过这一限度, 鱼开始出现死亡。

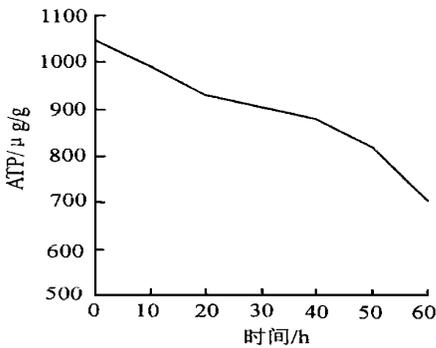


图 2 牙鲆无水保活过程中 ATP 的变化曲线

Fig. 2 The ATP change curve of the body of *P. olivaceus* in keeping alive without water condition

表 2 牙鲆无水保活过程中氨基酸的变化

Tab. 2 The amino acid changes of the body of *P. olivaceus* in keeping alive without water condition

项目	0h(g/100g)	60h(g/100g)	变化(%)
Asp	2.34	2.09	-10.7
Thr	0.88	0.89	1.1
Ser	0.87	0.77	-13.0
Glu	6.96	6.74	-3.2
Ala	1.69	1.49	-11.8
Cys	0.22	0.28	27.3
Val	1.24	1.26	1.6
Met	0.51	0.48	-5.9
Ileu	1.03	0.98	-4.9
Leu	2.41	2.31	-4.1
Tyr	0.52	0.54	3.8
Phe	0.58	0.56	-3.4
Lys	1.03	1.07	3.9
NH ₃	0.88	0.98	11.4
His	0.51	0.49	-3.9
Arg	1.08	0.96	-11.1
Pro	0.91	0.95	4.4
Gly	1.89	1.96	3.7

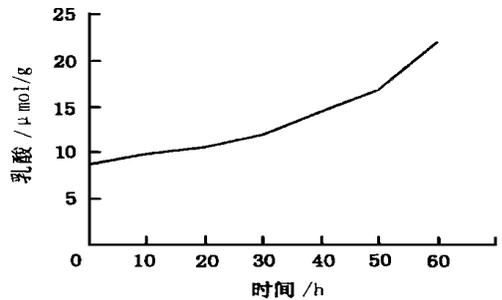


图 3 牙鲆无水保活过程中乳酸变化曲线

Fig. 3 The lactic acid change curve of the body of *P. olivaceus* in keeping alive without water condition

3 结语

在 $-0.5 \sim 1.5^\circ\text{C}$ 低温下, 牙鲆处于半休眠状态, 体内的新陈代谢处于低水平, 随着保活时间的延长, 其体内的能量物质 ATP 不断被消耗而得不到有效的补充, 而乳酸由于其呼吸排泄受阻而含量上升, 引起鱼体疲劳

度的增加,当超过其极限时,鱼体开始出现死亡。

参 考 文 献

- 殷邦忠,滕 瑜,江尧森. 1994. 魁蚶保活技术研究. 齐鲁渔业, 11(2): 6~8
- 殷邦忠,滕 瑜,刘 淇等. 1996. 不同保活方法对菲律宾蛤仔保活效果的研究. 海洋水产研究, 17(1): 76~81
- GB5009—85 食品卫生检验方法理化部分. 1985. 北京: 中国标准出版社. 16~24
- 古庄真喜. 1989. オガあくズ内におけるクルマエビの生理变化. 养殖, 26(2): 64~67