

饲料中维生素 B₆对皱纹盘鲍幼鲍蛋白质代谢的影响

冯秀妮, 张文兵, 麦康森, 付京花, 艾庆辉, 徐 玮, 刘付志国, 马洪明, 谭北平

(中国海洋大学 教育部海水养殖重点实验室, 山东 青岛 266003)

摘要:以皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai* Ino) 幼鲍为研究对象, 探讨维生素 B₆对其蛋白质代谢的影响。设计了 3 种维生素 B₆ 不同含量(0, 40, 4 000 mg/kg)的半精制饲料, 在循环水养殖系统中养殖幼鲍 240 d。结果表明, 皱纹盘鲍内脏团和肌肉中磷酸吡哆醛(PLP)的含量随饲料中维生素 B₆的添加而显著升高($P < 0.05$)。饲料中不同维生素 B₆水平对肌肉组织中蛋白含量没有显著影响($P > 0.05$), 而显著升高内脏团中蛋白质的含量($P < 0.05$)。内脏团和肌肉中的谷丙转氨酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)活力随着饲料中维生素 B₆添加量的升高而显著增强, 分别在维生素 B₆的添加量为 4 000 mg/kg 时取得最大值($P < 0.05$)。内脏团中所检测的各种氨基酸的含量与饲料中维生素 B₆添加量没有显著影响($P > 0.05$)。然而, 肌肉中的天冬氨酸(Asp)、苏氨酸(Thr)、丝氨酸(Ser)、牛磺酸(Tau)的含量随着饲料中维生素 B₆添加量的升高而显著增加, 并且分别在维生素 B₆添加量为 4 000 mg/kg 时取得最大值($P < 0.05$)。肌肉中甘氨酸(Gly)、丙氨酸(Ala)、缬氨酸(Val)、蛋氨酸(Met)的含量在两个维生素 B₆添加组(40 mg/kg 和 4 000 mg/kg)之间没有显著差异($P > 0.05$), 但均显著高于维生素 B₆缺乏组(0 mg/kg)的值($P < 0.05$)。

关键词: 皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai* Ino); 维生素 B₆; 蛋白质; 代谢

中图分类号: Q591

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2006)10-0052-09

维生素 B₆是维持机体正常代谢所必需的低分子有机化合物, 包括吡哆醇(PN)、吡哆醛(PL)、吡哆胺(PM)3种性质上密切相关, 具有潜在维生素 B₆活性的物质, 在体内主要作为 α -磷酸吡哆醛(PLP)和磷酸吡哆胺(PMP)的前体。磷酸吡哆醛是 100 多种酶的辅酶, 这些酶包括转氨酶、脱羧酶和消旋酶等^[1]。PLP 通过参与转氨作用将体内的氨基酸、碳水化合物和脂肪代谢联系起来; 通过参与脱羧作用可以生成多种活性物质, 如组胺、血清素、 γ -氨基丁酸(GABA)、乙醇胺、羟基酪胺和牛磺酸, 进而参与体内氨基酸及含氮化合物的非氧化降解反应^[2]。

动物体内缺乏维生素 B₆会影响氨基酸的消化吸收, 降低氨基酸代谢酶活力, 引起氨基酸代谢紊乱。当用²H₃ 标记亮氨酸和丝氨酸, ¹³C 标记蛋氨酸来探讨维生素 B₆对蛋白质周转代谢的影响时, 发现白鼠摄入维生素 B₆不足导致肝脏中丝氨酸转羟甲基酶活性降低, α -腺苷甲硫氨酸减少, 肝脏和全身的蛋白质周转速度降低^[3]。维生素 B₆缺乏引起哺乳动物生长受阻、皮炎、癫痫样抽搐、贫血等症状^[4,5]。虹鳟(*Salmo gairdneri*)、大西洋鲑(*Salmo salar*)、罗非鱼

(*Oreochromis niloticus* @ *O. aureus*)等缺乏维生素 B₆表现为厌食、水肿、抽搐、对刺激反应过敏和游动异常等症状^[2,6-9]。饲料中缺乏维生素 B₆时, 大西洋鲑肌肉中天冬氨酸转氨酶(AST)的活力降低^[8], 日本对虾(*Penaeus japonicus*)体组织蛋白质合成受阻、氨基酸转化利用率下降、氮代谢终产物)) 尿酸的排泄量增加, 虾体天冬氨酸、苏氨酸、甘氨酸、缬氨酸、酪氨酸等异常增加^[10]。

目前关于维生素 B₆对贝类机体蛋白质代谢影响的研究较少。朱伟^[11]通过生长参数和转氨酶活力两种指标确定皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai* Ino)幼鲍饲料中吡哆醇的适宜添加量为 40 mg/kg, 但没有对蛋白质代谢作进一步研究。陈宏^[12]研究了饲料中吡哆醇和蛋白质的交互作用对皱纹盘鲍成鲍体组织转氨酶活力和蛋白质含量的影响, 但缺乏幼鲍的相关

收稿日期: 20050603; 修回日期: 20050622

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30200215)

作者简介: 冯秀妮(1978), 女, 山东烟台人, 硕士研究生, 研究方向: 水产动物营养与饲料学, 电话: 0532-282032495, E-mail: kmai@ouc.edu.cn

数据。作者研究了维生素 B₆对皱纹盘鲍幼鲍蛋白代谢的影响。

1 材料和方法

1.1 饲料的配制

基础饲料参照 Mai 等^[13] 的配方, 见表 1。以酪蛋白和明胶作为蛋白源, 大豆油和鲱鱼油(1B1)作为脂肪源, 糊精作为主要的糖源。维生素和无机盐参照 Uki 等^[14] 的配方。以吡哆醇盐酸盐(Sigma, St. Lou2 is, MO, USA)作为饲料中维生素 B₆的来源, 采用微被膜技术进行包膜处理^[15], 以减少维生素 B₆在水中的溶失。饲料中维生素 B₆的 3 个添加水平分别为: 0, 40, 4 000 mg/kg, 用 HPLC 测得饲料中维生素 B₆的实际质量比为 0.15、37.95、3 857.64 mg/kg。饲料制作参照 Mai 等^[13] 的方法, 制好的饲料密封在样品袋中, - 20e 冰柜中保存待用。

表 1 基础饲料的组成和成分分析

Tab.1 Diet formulation and chemical composition of basal diet

原料	质量分数(%)
酪蛋白	25.00
明胶	6.00
糊精	34.00
羧甲基纤维素	5.00
褐藻酸钠	20.00
维生素混合物 ¹⁾	2.00
无机盐混合物 ²⁾	4.00
豆油和鲱鱼油 ³⁾	3.50
氯化胆碱	0.50
主要成分	
粗蛋白	30.32
粗脂肪	3.42
灰分	10.15

1) 维生素混合物: 每 1 000 g 饲料中含有盐酸硫胺素 120 mg; 核黄素 100 mg; 叶酸 30 mg; 尼克酸 800 mg; 泛酸钙 200 mg; 肌醇 4 000 mg; 生物素 12 mg; 维生素 B₁₂ 0.18 mg; 维生素 C 4 000 mg; 维生素 A 100 000 IU; 维生素 D 10 000IU; 维生素 E 450 mg; 维生素 K 80 mg
2) 无机盐混合物: 每 1 000 g 饲料中含有 NaCl 0.4 g; MgSO₄ # 7H₂O 6.0 g; NaH₂ PO₄ # 2H₂ O 10.0 g; KH₂ PO₄ 12.8 g; Ca(H₂ PO₄)₂ # H₂ O 8.0 g; C₆ H₅ O₇ Fe# 5H₂ O 1.0 g; C₆ H₁₀ CaO₆ # 5H₂ O 1.4 g; ZnSO₄ # 7H₂ O 141.2 mg; MnSO₄ # 4H₂ O 64.8 mg; CuSO₄ # 5H₂ O 12.4 mg; CoCl₂ # 6H₂ O 0.4 mg; KIO₃ 1.2 mg
3) 豆油: 鲱鱼油 = 1B1

1.2 实验分组及管理

皱纹盘鲍幼鲍购于青岛大麦岛鲍鱼养殖场, 初始体质量: 0.834 g? 0.002 g; 初始壳长: 1.668 cm? 0.003 cm。实验开始前, 用基础饲料驯化鲍鱼 14 d,

然后随机分成 3 组, 每组设 3 个重复, 每个重复放养 50 只鲍鱼。于 2004 年 1~ 9 月在中国海洋大学室内循环水系统中进行养殖实验, 共持续 240 d。每日下午 17B 00 投喂饲料, 次日早 8:00 清除残饵。养殖过程中水温保持在 17.5~ 19.0e, 盐度为 31~ 34, pH 值为 7.4~ 7.9, 溶解氧质量浓度不低于 7 mg/L。

1.3 样品的采集和处理

养殖实验结束时, 所有鲍鱼禁食 3 d 以排空肠道内容物。准确称量和记录鲍鱼的体质量和壳长, 将鲍鱼在270e 下保存, 待分析。

1.4 样品分析

饲料中粗蛋白、粗脂肪、粗灰分含量的测定参照 AOAC^[16] 的方法。鲍鱼的内脏团和肌肉经冷冻干燥后, 其粗蛋白含量的测定参照 AOAC^[16] 的方法。

1.4.1 维生素 B₆含量的测定

饲料、内脏团和肌肉组织中维生素 B₆含量的测定采用高效液相色谱仪(HPLC)进行^[17, 18]。称取 1 g 饲料(或 5 g 鲍鱼组织), 加入 6 mL 冰冷的 0.1 mol/L 的磷酸盐缓冲液(pH= 7.2)匀浆, 再加入 2 mL 高氯酸沉淀蛋白后, 在 4e、10 222 r/min 条件下离心 20 min。取 10 LL 上清液经 0.22 Lm 滤膜过滤后上 HPLC(HP1100, Aquasil C18 柱: 5 Lm, 4@250 mm)。流动相由 0.1 mol/L KH₂ PO₄、0.1 mol/L NaClO₄、0.5 g/L NaHSO₃ 组成, pH 3.0。流速 1.0 mL/min, 检测器为荧光检测器, 激发光为 300 nm, 发射光为 400 nm, 柱温 40e。

1.4.2 谷草转氨酶和谷丙转氨酶活力的测定

内脏团和肌肉中谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)活力的测定采用赖氏法。样品的前处理参考 Giri 等^[10] 的方法: 称取在冰浴中解冻的鲍鱼内脏团或肌肉 1 g, 加入 4 mL 冰冷的提取缓冲液(0.1 mol/L PBS, pH 7.2; 20% 甘油; 0.02% 曲拉通 X2100; 1.5 m mol/L二硫苏糖醇), 在 6 000 r/min 条件下匀浆 2 min。随后在 4e、10 222 r/min 离心 20 min, 吸取上清液再离心 20 min。取上清液进行酶活力测定, 在所得标准曲线上求得相应酶活力。单位酶活力定义为: 组织中每毫克蛋白在 25e 下反应1 min生成的丙酮酸使 NADH 氧化成 NAD⁺ 而引起吸光值下降 0.001 所需要的酶量。

组织提取液蛋白含量测定采用福林酚法^[19], 以牛血清白蛋白作为标准蛋白。

1.4.3 组织中氨基酸含量的测定

将鲍鱼内脏团和肌肉分别冷冻干燥, 加入液氮研磨成粉末。称取 0.013 g 样品, 加入 6 mol/L 的盐酸(含 5j 巯基乙醇)10 mL, 110e 真空水解 20 h, 过

滤。取 1 mL 滤液进行真空旋转蒸发,用 0.02 mol/L HCl 溶解,定容至 5 mL。用日立 83250 型高效氨基酸分析仪 (HITACHI, Ltd. Tokyo) 进行分析,茚三酮显色,检测波长: 570 nm,柱温: 53 e ,分析周期 70 min。

1.4.4 实验饲料中维生素 B₆ 稳定性的测定

饲料维生素 B₆ 的溶失检验参照 Coote 等^[20] 的方法。将饲料放入 100 Lm 的筛绢中,悬于养殖系统中实验桶的底部。实验条件与养殖条件相同。分别在 0,1,2,6,12 h 取出饲料,冻干后用上述方法检测维生素 B₆ 的含量。

1.5 统计分析

在进行单因素方差分析之前,将所有以百分数表示的数据进行反正弦平方根转换。当方差分析结果

表 2 饲料中维生素 B₆ 在养殖水系统中的保持率 (%)

饲料中维生素 B ₆ (mg/ kg)		保持率 (%)				
		沉浸时间(h)				
		0	1	2	6	12
0		2	2	2	2	2
40		100	90.8? 3.1	85.4? 3.2	67.4? 2.8	45.5? 2.4
4 000		100	89.6? 2.7	84.5? 2.9	65.7? 3.1	44.7? 3.4
方差分析						
F 值			18.543	25.843	21.265	32.461
P 值			0.084	0.103	0.214	0.079

注:/20表示未检出

表 3 饲料中维生素 B₆对皱纹盘鲍幼鲍内脏团和肌肉中磷酸吡哆醛(PLP)含量的影响

Tab. 3 Effects of dietary vitamin B₆ on the contents of pyridoxal25phosphate(PLP) in viscera and muscle of abalone, Haliotis discus hannai Ino

饲料维生素 B ₆ (mg/ kg)	磷酸吡哆醛(Lg/ g)	
	内脏团	肌肉
0	0.775? 0.003 ^c	0.538? 0.036 ^c
40	1.067? 0.006 ^b	0.947? 0.017 ^b
4 000	1.539? 0.014 ^a	1.466? 0.027 ^a
方差分析		
F 值	107.379	75.447
P 值	0.000	0.000

注:在同一个数据栏中,具有不同上标字母的平均值之间统计学差异显著(2检验,P< 0.05,平均值? 标准误,n= 3)

2.2 内脏团和肌肉中磷酸吡哆醛的含量

饲料中维生素 B₆ 水平对皱纹盘鲍内脏团和肌肉

果为 P < 0.05 时,表示统计学差异显著,然后用 Tukey 多重比较来进行差异显著性检验。所有的统计分析都是用 Microsoft Excel 2000 和 SPSS 12.0 软件进行。

2 结果

2.1 饲料中维生素 B₆ 溶失检验

饲料中维生素 B₆ 在养殖水体的溶失结果见表 2。维生素 B₆ 的含量随饲料在水中的浸泡时间延长而降低。不同维生素 B₆ 添加量(40 mg/ kg 和 4 000 mg/ kg)的饲料浸泡 2 h 后其吡哆醇的量分别为制备饲料中实际含量(37.95 mg/ kg 和 3 857.64 mg/ kg)的 85.4%和 84.5%。

中磷酸吡哆醛(PLP)含量的影响见表 3。内脏团和肌肉中的 PLP 含量随饲料中维生素 B₆ 添加量的升高而显著上升(P < 0.05)。当饲料维生素 B₆ 的添加量为 0 mg/ kg 时,内脏团和肌肉中的 PLP 含量均取得最低值,分别为 0.775 Lg/ g ? 0.003 Lg/ g 和 0.538 Lg/ g ? 0.036 Lg/ g;当饲料中维生素 B₆ 的添加量为 4 000 mg/ kg 时,内脏团和肌肉中的 PLP 含量均取得最高值,分别为 1.539 Lg/ g ? 0.014 Lg/ g 和 1.466 Lg/ g ? 0.027 Lg/ g。

2.3 内脏团和肌肉中蛋白质的含量

饲料中维生素 B₆ 水平对内脏团和肌肉中蛋白质含量的影响见表 4。内脏团蛋白质的含量随饲料中维生素 B₆ 添加量的增加而显著升高,维生素 B₆ 缺乏组(0 mg/ kg)的蛋白质质量分数(53.852% ? 0.071%)显著低于维生素 B₆ 过量添加组(4 000 mg/ kg)的值(56.406% ? 0.291%),P < 0.05。肌肉中的蛋白质含量不受饲料中维生素 B₆ 添加量的显著影响(P > 0.05)。

表 4 饲料中维生素 B₆对皱纹盘鲍幼鲍内脏团和肌肉中蛋白质含量的影响

Tab. 4 Effects of dietary vitamin B₆ on the contents of protein in viscera and muscle of abalone, *Haliotis discus hannai* Ino

饲料维生素 B ₆ (mg/kg)	内脏团蛋白 质量分数(%)	肌肉蛋白 质量分数(%)
0	53.852? 0.071 ^b	77.232? 0.359
40	55.469? 0.683 ^{ab}	78.590? 0.330
4 000	56.406? 0.291 ^a	78.194? 0.386
方差分析		
F 值	9.012	3.783
P 值	0.044	0.151

注: 在同一个数据栏中,具有不同上标字母的平均值之间统计学差异显著(χ²检验, P< 0.05, 平均值? 标准误, n= 3)

2.4 内脏团和肌肉中谷丙转氨酶和谷草转氨酶活力

饲料中维生素 B₆水平内脏团和肌肉中谷丙转氨

表 5 饲料中维生素 B₆水平对皱纹盘鲍幼鲍内脏团和肌肉中谷丙转氨酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)活力的影响

Tab. 5 Effects of dietary vitamin B₆ on the activities of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) in viscera and muscle of abalone, *Haliotis discus hannai* Ino

饲料维生素 B ₆ (mg/kg)	ALT(U/mg)		AST(U/mg)	
	内脏团	肌肉	内脏团	肌肉
0	1.061? 0.060 ^b	11.241? 0.160 ^c	5.896? 0.201 ^c	13.448? 0.178 ^c
40	1.251? 0.028 ^a	15.648? 0.385 ^b	7.202? 0.199 ^b	18.183? 0.294 ^b
4 000	1.279? 0.052 ^a	17.581? 0.279 ^a	7.998? 0.069 ^a	23.414? 0.305 ^a
方差分析				
F 值	5.905	125.742	39.904	351.913
P 值	0.016	0.000	0.000	0.000

注: 在同一个数据栏中,具有不同上标字母的平均值之间统计学差异显著(χ²检验, P< 0.05, 平均值? 标准误, n= 3)

2.5 内脏团和肌肉中氨基酸的组成

饲料中不同维生素 B₆的添加量对内脏团和肌肉中氨基酸组成的影响分别见表 6 和表 7。在内脏团和肌肉组织中,含量较为丰富的氨基酸都是天冬氨酸(Asp)、谷氨酸(Glu)、缬氨酸(Val)、精氨酸(Arg)和牛磺酸(Tau),以上几种氨基酸分别约占内脏团总氨基酸含量的 9%、7%、10%、6%和 10%;约占肌肉总氨基酸含量的 8%、9%、8%、9%和 11%。饲料维生素 B₆添加水平对内脏团中各种氨基酸的含量没有显著影响(P> 0.05, 表 6)。

肌肉中的天冬氨酸(Asp)、苏氨酸(Thr)、丝氨酸

酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)活力的影响见表 5。内脏团和肌肉中 ALT 的活力随饲料维生素 B₆添加量的升高而显著增强(P< 0.05)。当饲料中维生素 B₆的添加量为 0 mg/kg 时,内脏团和肌肉中 ALT 的活力取得最低值,分别为 1.061 U/mg? 0.060 U/mg 和 11.241 U/mg? 0.160 U/mg;当饲料中维生素 B₆的添加量为 4 000 mg/kg 时,内脏团和肌肉中 ALT 的活力取得最高值,分别为 1.279 U/mg? 0.052 U/mg和 17.581 U/mg? 0.279 U/mg。肌肉中的 ALT 活力普遍高于内脏团中 ALT 的活力。

饲料维生素 B₆显著增强内脏团和肌肉中 AST 的活力(P< 0.05)。当饲料中维生素 B₆的添加量为 0 mg/kg 时,内脏团和肌肉中 AST 的活力取得最低值,分别为 5.896 U/mg? 0.201 U/mg 和 13.448 U/mg? 0.178 U/mg;当饲料中维生素 B₆的添加量为 4 000 mg/kg 时,内脏团和肌肉中 AST 的活力取得最高值,分别为 7.998 U/mg? 0.069 U/mg 和 23.414 U/mg? 0.305 U/mg。肌肉中 AST 的活力普遍高于内脏团中 AST 的活力。

(Ser)、牛磺酸(Tau)的含量随着饲料维生素 B₆添加量的升高而显著增加,并且分别在维生素 B₆添加量为 4 000 mg/kg 时取得最大值(P< 0.05, 表 7)。甘氨酸(Gly)、丙氨酸(Ala)、缬氨酸(Val)、蛋氨酸(Met)的含量在两个维生素 B₆添加组(40 mg/kg 和 4 000 mg/kg)之间没有显著差异(P> 0.05),但均显著高于维生素 B₆缺乏组(0 mg/kg)的值(P< 0.05)。亮氨酸(Leu)和脯氨酸(Pro)的含量则随饲料中维生素 B₆添加量的增加呈现先升高后降低的变化,在维生素 B₆添加量为 40 mg/kg 时均取得最大值。

表 6 饲料中添加不同水平的维生素 B₆对皱纹盘鲍幼鲍内脏团中氨基酸含量的影响

Tab. 6 Effects of dietary vitamin B₆ on the contents of amino acid in viscera of juvenile abalone, *Haliotis discus hannai* Ino

饲料维生素		氨基酸质量比(@10 ^{- 2} mg/ mg)						
B ₆ (mg/ kg)	Asp	Thr	Ser	Glu	Gly	Ala	Val	
0	4. 615? 0. 003	2. 381? 0. 024	2. 172? 0. 009	3. 747? 0. 352	2. 525? 0. 022	2. 630? 0. 047	5. 361? 0. 004	9
40	4. 902? 0. 069	2. 543? 0. 003	2. 289? 0. 001	3. 650? 0. 142	2. 584? 0. 069	2. 748? 0. 000	5. 593? 0. 070	
4 000	3. 710? 0. 450	1. 906? 0. 242	1. 686? 0. 226	3. 802? 0. 843	1. 922? 0. 231	2. 090? 0. 260	4. 322? 0. 532	
方差分析								
F 值	5. 639	5. 743	5. 972	0. 021	0. 895	5. 299	4. 736	
P 值	0. 096	0. 094	0. 090	0. 979	0. 076	0. 104	0. 118	

饲料维生素 B ₆		氨基酸质量比(@10 ^{- 2} mg/ mg)						
(mg/ kg)	Leu	Tyr	Phe	Lys	His	Arg	Trp	
0	3. 513? 0. 002	2. 525? 0. 017	2. 353? 0. 013	2. 796? 0. 012	1. 211? 0. 013	3. 159? 0. 021	ND	
40	3. 700? 0. 002	2. 699? 0. 003	2. 525? 0. 023	2. 895? 0. 034	1. 297? 0. 007	3. 193? 0. 050	ND	
4 000	2. 821? 0. 393	2. 094? 0. 270	1. 949? 0. 267	2. 129? 0. 289	0. 975? 0. 143	2. 287? 0. 300	ND	
方差分析								
F 值	4. 165	3. 964	3. 626	6. 150	4. 038	8. 507		
P 值	0. 136	0. 144	0. 158	0. 087	0. 141	0. 058		

注: 在同一个数据栏中, 平均值之间统计学差异不显著(2检验, P> 0. 05, 平均值? 标准误, n= 3); ND: 未检出

表 7 饲料中添加不同水平的维生素 B₆对皱纹盘鲍幼鲍肌肉中氨基酸含量的影响

Tab. 7 Effects of dietary vitamin B₆ on the contents of amino acid in muscle of juvenile abalone, *Haliotis discus hannai* Ino

饲料维生素		氨基酸质量比(@10 ^{- 2} mg/ mg)						
B ₆ (mg/ kg)	Asp	Thr	Ser	Glu	Gly	Ala	Val	Met
0	5. 942? 0. 005 ^c	2. 668? 0. 019 ^c	3. 047? 0. 013 ^c	6. 984? 0. 343	5. 342? 0. 086 ^b	4. 202? 0. 039 ^b	6. 044? 0. 027	6 1. 893? 0. 028 ^b
40	6. 235? 0. 039 ^b	2. 790? 0. 023 ^b	3. 331? 0. 021 ^b	7. 061? 0. 713	6. 080? 0. 023 ^a	4. 529? 0. 020 ^a	6. 235? 0. 00	1. 995? 0. 010 ^{ab}
4 000	6. 732? 0. 013 ^a	2. 994? 0. 030 ^a	3. 511? 0. 011 ^a	8. 515? 1. 272	6. 107? 0. 196 ^a	4. 612? 0. 052 ^a	6. 481? 0. 1	2. 057? 0. 038 ^a
方差分析								
F 值	277. 599	45. 253	226. 109	0. 995	12. 205	33. 419	9. 245	8. 944
P 值	0. 000	0. 006	0. 001	0. 466	0. 036	0. 009	0. 049	0. 045

饲料维生素		氨基酸质量比(@10 ^{- 2} mg/ mg)						
B ₆ (mg/ kg)	Leu	Tyr	Phe	Lys	His	Arg	Trp	Pro
0	4. 811? 0. 029	2. 546? 0. 006	2. 428? 0. 000	3. 752? 0. 055	1. 141? 0. 050	6. 679? 0. 127	ND	2. 231? 0. 059
40	4. 975? 0. 020	2. 563? 0. 042	2. 521? 0. 018	3. 821? 0. 018	1. 138? 0. 033	6. 996? 0. 079	ND	2. 550? 0. 101
4 000	3. 066? 0. 073	2. 745? 0. 129	2. 585? 0. 161	3. 999? 0. 125	1. 208? 0. 105	7. 222? 0. 147	ND	1. 991? 0. 652
方差分析								
F 值	3. 788	1. 970	0. 706	2. 575	0. 319	5. 066		0. 538
P 值	0. 151	0. 284	0. 567	0. 223	0. 749	0. 109		0. 631

注: 在同一个数据栏中, 具有不同上标字母的平均值之间统计学差异显著(2检验, P< 0. 05, 平均值? 标准误, n= 3); ND: 未检出

3 讨论

所有氨基酸转氨酶的辅酶均是磷酸吡哆醛^[21], 转氨酶在机体生长代谢中发挥着极其重要的作用。血清或组织中丙氨酸和(或)天门冬氨酸转氨酶活性已被作为评价鲤鱼(*Cyprinus carpio*)、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)、大鳞大马哈鱼(*Chinook salmon*)、大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)和金鲷(*Sparus aurata*)等鱼类^[22]、草虾(*Penaeus monodon*)、日本对虾(*Penaeus japonicus*)等甲壳类动物^[10, 23]体内维生素B₆状态的指标。

谷丙转氨酶(ALT)的活性器官是肝和肾, 谷草转氨酶(AST)的活性器官是肝, 两种酶的活性可作为鱼肝、肾功能破坏的检测指标^[24]。缺乏维生素B₆导致小鼠、大西洋鲑、日本对虾和鲶鱼(*Heteropneustes fossilis*)等动物体内谷丙转氨酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)活力下降^[7, 8, 10, 25, 26]。朱伟^[11]报道: 饲料中添加吡哆醇能显著提高皱纹盘鲍幼鲍内脏团和肌肉中ALT和AST的活力。本研究发现, 随着饲料吡哆醇添加量的升高(0, 40, 4 000 mg/kg), 皱纹盘鲍幼鲍内脏团和肌肉中ALT和AST的活力显著提高, 而当饲料中缺乏吡哆醇时, 内脏团和肌肉中这两种酶的活力都显著降低(表5), 这与先前在鱼类和皱纹盘鲍中的报道结果一致。同时, 本研究还发现饲料中吡哆醇添加量的增加会导致皱纹盘鲍幼鲍内脏团和肌肉中磷酸吡哆醛(PLP)的含量显著升高(表3)。近年来的研究表明 PLP 参与天冬氨酸转氨酶(cAspAT)的基因表达^[27]。吡哆醇缺乏, 导致小鼠肝中通过氧化可的松进行的cAspAT的诱导水平降低^[28], 因为cAspAT基因的5'调节区域存在与糖皮质激素反应因素相似的序列, 当吡哆醇缺乏时, 糖皮质激素受体的DNA结合活性升高, 与cAspAT基因的5'调节区域结合, 最终导致小鼠肝中cAspAT mRNA水平升高, 而cAspAT基因表达水平下降^[29]。当然, 本研究内脏团和肌肉中AST和ALT活力的升高是否与PLP含量的升高有必然的联系还需要进一步的研究。

维生素B₆被认为是/蛋白质维生素0, 因为它与氨基酸的代谢密切相关。缺乏维生素B₆会导致一些依赖PLP的酶的活力下降, 使得体内氨基酸代谢异常, 这些酶包括犬尿氨酸酶^[1, 30]、鸟氨酸脱羧酶和鸟

氨酸转氨酶^[1]、苏氨酸和丝氨酸降解酶^[31]等。但是, 缺乏维生素B₆在不同种类动物体内受影响的氨基酸种类和变化情况也不同。缺乏维生素B₆会导致家蚕(*Bombyx mori*)体液中Leu、Val、Ile等支链氨基酸的分解代谢受阻, 因此其含量增加; Lys、Pro、Arg、Met和Glu的分解代谢亢进, 因此其含量减少^[32, 33]。Swendseid等^[34]研究认为: 缺乏维生素B₆会导致鼠血浆中Gly/Ser的值、Asp、Cys的含量升高, 而Ala的含量降低。本研究发现皱纹盘鲍幼鲍内脏团的氨基酸组成不受饲料中维生素B₆添加量的显著影响(表6), 而肌肉中的Asp、Thr、Ser、Tau的含量随着饲料维生素B₆添加量的升高而显著增加, 并且分别在维生素B₆添加量为4 000 mg/kg时取得最大值。肌肉中Gly、Ala、Val、Met的含量在两个维生素B₆添加组(40 mg/kg和4 000 mg/kg)之间没有显著差异, 但均显著高于维生素B₆缺乏组(0 mg/kg)的值(表7)。鲍鱼的肌肉富含Ala、Gly、Arg^[35], 而这些氨基酸同无脊椎动物缺氧状态下糖酵解途径密切相关, 对于维持机体异常状态下的能量代谢非常重要, 所以这些氨基酸在肌肉中的代谢强度比在肝胰脏中的大^[36], 这可能是本研究中饲料维生素B₆的添加量对肌肉中的氨基酸组成有显著影响而对内脏团中的氨基酸组成没有显著影响的原因之一。而维生素B₆对肌肉中特定氨基酸的含量的影响机制还有待于进一步的研究。

如果氨基酸代谢异常必然引起动物体蛋白质合成受阻。维生素B₆缺乏时, 赖氨酸氧化酶(磷酸吡哆醛依赖酶)活性下降, 影响胶原蛋白和弹性蛋白的形成; 脑中的抑制递质))) 2-氨基丁酸是12谷氨酸在PLP参加下通过12谷氨酸脱羧酶的催化作用而生成的, 此酶是蛋白质代谢过程中的一个极其重要的辅酶^[37]。这说明维生素B₆为动物体内合成蛋白质所必需。研究证明: 在维生素B₆添加情况下, 摄食的蛋白质能有效地在对虾体内沉积^[10]; 当饲料中添加较高含量的吡哆醇时, 大西洋鲑体内合成更多的蛋白质^[8]。本研究结果显示, 饲料中正常添加维生素B₆(40 mg/kg)时皱纹盘鲍内脏团中蛋白质的含量与维生素B₆过量添加(4 000 mg/kg)和零添加(0 mg/kg)组没有显著差异, 只有维生素B₆过量添加组的内脏团蛋白质质量分数显著高于零添加组; 同时, 饲料中维生素B₆的添加量对肌肉中蛋白质的含量没有显著影响(表4), 由此可见本研究皱纹盘鲍幼鲍体组织中蛋

白质的含量对饲料中维生素 B₆ 的添加量不是十分敏感。而陈宏^[12] 在研究饲料吡哆醇和蛋白质水平对皱纹盘鲍成鲍血清、肝胰脏和肌肉中蛋白质含量的影响时,发现当饲料中蛋白质质量分数为 30%,添加 0 ~ 80 mg/kg 吡哆醇对鲍鱼血清、肝胰脏和肌肉中蛋白质含量都没有显著影响。究其原因可能是:在饲料低蛋白质水平(30%)条件下,蛋白质中含氮化合物的代谢强度较低,对饲料中维生素 B₆ 的需求量也较低。饲料中的高水平蛋白质将增加机体对维生素 B₆ 的需要量^[38, 39]。在陈宏^[12] 的研究中同时也发现当饲料蛋白质质量分数为 45%,再以正常蛋白质(30%)的标准提供吡哆醇时,导致体组织蛋白质含量下降。所以,一定水平饲料蛋白质需要一定量的饲料维生素 B₆ 作为其代谢过程中辅酶的前体。本研究中,在 30% 饲料蛋白质水平下,40 mg/kg 的维生素 B₆ 足以满足皱纹盘鲍体内含氮化合物的代谢需求。

参考文献:

- [1] Sauberlich H E. Interaction of vitamin B₆ status as assessment: past and present[A]. Leklem J E. Methods in vitamin B₆ nutrition[C]. New York: Plenum Press, 1985. 202239.
- [2] Halver J E. The vitamins [A]. Halver J E. Fish Nutrition [C]. 2nd edn. New York, NY: Academic Press, 1989. 22103.
- [3] Mauricio M, Gerraldine J C, Williamson J, et al. Vitamin B₆ deficiency in rats reduces hepatic serine hydroxymethyltransferase and cystathionine β -synthase activities and rates of in vivo protein turnover, homocysteine remethylation and transsulfuration [J]. J Nutr, 2000, 130: 11121123.
- [4] Gualarte T R, Miceli R C, Moran T H. Effects of dietary vitamin B₆ restriction on the locomotor behavior of the developing rat [J]. Brain Res Bull, 1991, 26: 852865.
- [5] Wei I L, Huang Y H, Wang G S. Vitamin B₆ deficiency decreases the glucose utilization in cognitive brain structures of rats[J]. J Nutr Biochem, 1999, 10: 5252531.
- [6] Smith C E, Birn M, Halver J E. Biochemical, physiological, and pathological changes in pyridoxine deficient rainbow trout (*Salmo gairdneri*) [J]. J Fish Res Bd Can, 1974, 31: 18921898.

- [7] Herman R L. Histopathology associated with pyridoxine deficiency in Atlantic salmon (*Salmo salar*) [J]. Aquaculture, 1985, 46: 172177.
- [8] Albrektsen S, Waabgo R, Sandnes K. Tissue vitamin B₆ concentration and aspartate aminotransferase activity in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed graded dietary levels of vitamin B₆ [J]. Fik Dir Skr Ser Ernaring, 1993, 6: 2234.
- [9] Lim C, LeaMaster B R, Brock J A. Pyridoxine requirement of fingerling red hybrid tilapia grown in seawater [J]. J Appl Aquacult, 1995, 5: 49260.
- [10] Giri I N A, Teshima S I, Kanazawa A, et al. Effects of dietary pyridoxine and protein levels on growth, Vitamin B sub(6) content, and free amino acid profile of juvenile *Penaeus japonicus* [J]. Aquaculture, 1997, 157: 2612273.
- [11] 朱伟. 皱纹盘鲍 (*Haliotis discus hannai*) B 族维生素营养生理及营养需求的研究 [D]. 青岛海洋大学博士学位论文, 2001. 112138.
- [12] 陈宏. B 族维生素影响皱纹盘鲍 (*Haliotis discus hannai*) 主要营养物质代谢机理的研究 [D]. 中国海洋大学博士学位论文, 2004. 92112.
- [13] Mai K, Mercer J P, Donlon J. Comparative studies on the nutrition of two species of abalone, *Haliotis tuberculata* L. and *Haliotis discus hannai* Ino. $\hat{O}$. Optimum dietary protein levels for growth [J]. Aquaculture, 1995, 136: 1652180.
- [14] Uki N, Kemuyama A, Watanabe T. Development of semipurified test diets for abalone [J]. Bull Jpn Soc Sci Fish, 1985, 51: 18221833.
- [15] Wu G T, Mai K S, Tan B P, et al. Dietary biotin requirement of juvenile abalone, *Haliotis discus hannai* Ino [J]. Journal of Shellfish Research, 2002, 21(1): 2112217.
- [16] AOAC. Official Methods of Analysis of Official Analytical Chemists International [M]. 16th edn. Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists Inc, 1995.
- [17] Kimura M, Kanehira K, Yokoi K. Highly sensitive and simple liquid chromatographic determination in plasma of B₆ vitamers, especially pyridoxal2-phosphate [J]. Journal of Chromatography, 1996, 722B: 2952401.
- [18] Deitrick C L, Katholi R E, Huddleston D J, et al.

- Clinical adaptation of a high performance liquid chromatographic method for the assay of pyridoxal 5-phosphate in human plasma [J]. *Journal of Chromatography B*, 2001, 751: 383-387.
- [19] Lowry O H, Rosebrough N J, Faw A L, et al. Protein measurement with the Folin-phenol reagent [J]. *J Biol Chem*, 1951, 193: 265-275.
- [20] Coote T A, Hone P W, Kenyon R, et al. The effect of different combinations of dietary calcium and phosphorus on the growth of juvenile *Haliotis laevis* [J]. *Aquaculture*, 1996, 145: 267-279.
- [21] McDowell L R. *Vitamins in Animal Nutrition: Comparative Aspects to Human Nutrition* [M]. San Diego: Academic Press, Inc. 1989. 236-255.
- [22] National Research Council (NRC). *Nutrient Requirements of Fish* [M]. Washington, DC: National Academy Press, 1993.
- [23] Shiau S Y, Wu M H. Dietary vitamin B₆ requirement of grass shrimp, *Penaeus monodon* [J]. *Aquaculture*, 2003, 225: 397-404.
- [24] Casillas E, Sundquist J, Ames W E. Optimization of assay conditions for, and the selected tissue distribution of, alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase of English Sole, *Parophrys vetulus* Girard [J]. *J Fish Biol*, 1982, 21: 197-204.
- [25] Brin M, Thiele V F. Relationships between vitamin B₆ content and the activities of two transaminase enzyme in rat tissues at varying intake of vitamin B₆ [J]. *J Nutr*, 1967, 93: 213-221.
- [26] Mohamed J S. Dietary pyridoxine requirement of the Indian catfish, *Heteropneustes fossilis* [J]. *Aquaculture*, 2001, 194: 327-335.
- [27] Natori Y, Oka T. Vitamin B₆ modulation of gene expression [J]. *Nutrition Research*, 1997, 17(7): 119-1207.
- [28] Kondo T, Okada M. Effect of pyridoxine administration on the induction of cytosolic aspartate aminotransferase in the liver of rats treated with hydrocortisone [J]. *J Nutr Sci Vitaminol*, 1985, 31: 50-517.
- [29] Oka T, Komori N, Kuwahata M, et al. Pyridoxal 5-phosphate modulate expression of cytosolic aspartate aminotransferase gene by in activation of glucocorticoid receptor [J]. *J Nutr Sci Vitaminol*, 1995, 41: 363-375.
- [30] Sundaram T K, Sarma P S. Tryptophan metabolism in rice moth larva (*Corcyra cephalonica*) [J]. *Nature*, 1962, 196: 193-194.
- [31] Okada M, Suzuki K. Amino acid metabolism in rats fed a high protein diet without pyridoxine [J]. *J Nutr*, 1974, 104: 287-293.
- [32] Horii Y, Watanabe K. Effects of dietary pyridoxine on larval growth, free amino acid pattern in haemolymph and uric acid excretion in silkworm, *Bombyx mori* [J]. *Insect Biochem*, 1983, 13(2): 205-212.
- [33] 张剑韵, 黄龙全. 家蚕体内因缺乏维生素 B₆ 而引起的若干代谢变动 [J]. *昆虫学报*. 2003, 46 (4): 436-440.
- [34] Swedseid M E, Villalobos J, Friedrich B. Free amino acids in plasma and tissues of rats fed a vitamin B₆ deficient diet [J]. *J Nutr*, 1964, 82: 206-208.
- [35] King R H, Rayner C J, Kerr M, et al. The composition and amino acid balance of abalone (*Haliotis rubra*) tissue [J]. *Aquaculture*, 1996, 140: 109-113.
- [36] G de G, Grieshaber M K. Pyruvate reductases catalyze the formation of lactate and opines in anaerobic invertebrates [J]. *Comp Biochem Physiol*, 1986, 83B: 25-272.
- [37] Merrill A H, Burnham F S. Vitamin B₆ [A]. Brown M L. *Present Knowledge in Nutrition* [C]. Washington, DC USA: International Life Sciences Institute. Nutrition Foundation Inc, 1990. 15-162.
- [38] Shiau S Y, Hsieh H L. Vitamin B₆ requirements of tilapia *Oreochromis niloticus* @ *O. aureus* fed two dietary protein concentrations [J]. *Fish Sci*, 1997, 63: 100-107.
- [39] Okada M, Shibuya M, Akazawa T, et al. Dietary protein as a factor affecting vitamin B₆ requirement [J]. *J Nutr Sci Vitaminol*, 1998, 44(1): 37-45.

Effect of dietary vitamin B₆ on the protein metabolism in juvenile abalone *Haliotis discus hannai* Ino

FENG Xiu²ni, ZHANG Wen²bing, MAI Kang²sen, FU Jing²hua, AI Qing²hui, XU Wei, LIUFU Zh²guo, MA Hong²ming, TAN Be²ping

(Key Laboratory of Mariculture, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Received: Jun., 3, 2005

Key words: *Haliotis discus hannai* Ino; vitamin B₆; protein; metabolism

Abstract: A 240day growth experiment was conducted in a recirculated water system to investigate the effect of dietary vitamin B₆ on the protein metabolism of abalone *Haliotis discus hannai* Ino. Juvenile abalone (initial weight: 0.834 ± 0.002 g; initial shell length: 1.668 ± 0.003 cm) was fed to satiation with one of 3 semipurified diets containing vitamin B₆ 0, 40, 4 000 mg/kg. Results showed that the contents of pyridoxal phosphate (PLP) in viscera and muscle of abalone significantly increased with the dietary vitamin B₆ supplements ($P < 0.05$). Dietary vitamin B₆ significantly increased protein contents in viscera ($P < 0.05$), not in muscle ($P > 0.05$) of abalone. The activities of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) both in viscera and muscle were significantly enhanced by dietary vitamin B₆ ($P < 0.05$), and their highest values were found in the treatment with 4000mg/kg dietary vitamin B₆ supplement. There were no significant effects of dietary vitamin B₆ on the contents of analyzed amino acids in viscera. The contents of Asp, Thr, Ser and Tau in the muscle of abalone were significantly increased by dietary vitamin B₆ ($P < 0.05$). There were no significant differences in the contents of Gly, Ala, Val, and Met in the muscle of abalone between the two vitamin B₆ supplemented treatments (40 mg/kg and 4 000 mg/kg) ($P > 0.05$), but were significantly higher than those in the dietary vitamin B₆ deficient treatment (0 mg/kg) ($P < 0.05$).

(本文编辑:张培新)