

水产动物的维生素 C 营养

维生素 C 又名抗坏血酸，是一具六个碳原子的酸性多羟基化合物，在动物体内的代谢过程中起着十分重要的作用。由于大多数水产动物不能合成 VC，且 VC 的化学性质不稳定，易被氧化而失去生物活性，故长期以来 VC 一直是水产动物营养研究中的一个重点。

1 鱼虾合成 VC 的能力

大多数鸟类和哺乳类能以葡萄糖为原料合成 VC，其途径大致为：葡萄糖一磷酸→尿苷二磷酸葡萄糖→尿苷二磷酸葡萄糖醛酸→葡萄糖醛酸一磷酸→葡萄糖醛酸→L—古洛糖酸→L—古洛内酯→2—氧—L—古洛内酯→L—抗坏血酸，其中从 L—古洛内酯→2—氧—L—古洛内酯的过程中需要 L—古洛内酯氧化酶，这是 VC 合成过程中的关键步骤和限速步骤。人、灵长类、豚鼠等因肝脏中缺乏此酶，故不能在体内合成 VC，而必须从食物中获取。

关于鱼虾类合成 VC 的能力，则因种类不同而有所不同。鲤鱼的 VC 代谢在鱼虾类中占有特殊地位。池田氏给鲤鱼注射同位素标记的 D—葡萄糖(1—C14)，经过一段时间后检测到体内 VC 含 C14，而且 D—葡萄糖的第 1 位 C14 变成了 VC 的第 6 位，因此推测鲤鱼和陆上高等动物具有类似的 VC 合成途径；山本氏认为可以通过鱼体内 L—古洛内酯氧化酶的活性来判别鱼类合成 VC 的能力，鲤鱼肝脏中的 L—古洛内酯氧化酶活性约相当于大白鼠肝中此酶活性的 1/3，但大多数鱼类，如虹鳟、鳗鱼、罗非鱼、香鱼等则未检测出 L—古洛内酯氧化酶活性的存在(荻野珍吉，1984)。因此大多数鱼虾类不具备合成 VC 的能力，尽管少数鱼类如鲤鱼具有合成 VC 的能力，但在集约化养殖条件下，其合成不能满足需要。所以，对水产动物而言，VC 是饲料中必须添加的一种非常重要的维生素。

生物技术的发展，为解决鱼虾不能合成 VC 的难题带来了希望。由于 VC 合成的关键酶是 L—古洛内酯氧化酶，而大多数鱼虾缺乏此酶，故可考虑将 L—古洛内酯氧化酶的 cDNA 导入鱼体内，使其表达并产生 VC。然而试验并未获得成功，这种在胚胎期导入鼠的 L—古洛内酯氧化酶 cDNA 的转基因虹鳟体内并未检测出 L—古洛内酯氧化酶活性，给这种转基因虹鳟饲喂不含 VC 的饲料

或将 L-古洛内酯注入其体内，也未检测出 VC 的生成 (Krasnov 等，1999)。这表明虹鳟体内可能不存在生成 L-古洛内酯氧化酶或保持其活性的条件，但这为水产动物的 VC 营养研究提供了新的思路，对于其它鱼虾类是否具有这样的条件，值得进一步研究。

2 VC 的功能

VC 在动物体内起着十分广泛而重要的生理作用，主要表现在以下几个方面：

2.1 VC 与体内羟化反应

2.1.1 参与胶原蛋白形成这是 VC 最重要的一项生理功能。胶原蛋白是结缔组织、上皮组织、骨组织的重要组成成分，富含羟脯氨酸和羟赖氨酸(为胶原蛋白特有)，VC 作为脯氨酸羟化酶和赖氨酸羟化酶的辅酶催化羟脯氨酸、羟赖氨酸的形成。因此 VC 不足时，会导致毛细血管脆性增加，易破裂出血，骨骼畸形，伤口不易愈合等。

2.1.2 参与某些氨基酸的代谢苯丙氨酸羟化为酪氨酸的反应，酪氨酸转变为儿茶酚胺的反应(酪氨酸→多巴→多巴胺→去甲肾上腺素的过程中需经过一系列的羟化反应)，色氨酸转化为 5-色胺的反应等均需 VC 参与，而上述反应的产物儿茶酚胺、5-色胺是重要的神经递质。

2.1.3 与胆固醇代谢的关系正常情况下，体内胆固醇中的大部分以胆酸(盐)的形式排出，胆固醇转变为胆酸的过程中需要经历有 VC 参与的羟化反应。

此外，VC 还参与体内其它的一些羟化反应，如由 VD₃ 形成其活性形式的过程中进行的羟化反应： $VD_3 \rightarrow 25(OH)VD_3 \rightarrow 1,25(OH)_2VD_3$ ；赫曲霉素代谢产物 4-羟-赫曲霉素，是在 P-450 细胞色素参与下的羟化反应。

2.2 VC 与体内的生物氧化还原反应

VC 可作为受氢体，也可作为供氢体参与体内的多种生物氧化还原反应。

2.2.1 VC 与巯基(-SH)的关系 VC 能使含巯基酶类分子中的巯基维持在还原状态，保持其活性。VC 与谷胱甘肽的氧化还原关系密切。还原型谷胱甘肽(GSH)使体内代谢产生的脂质过氧化物还原，以消除其对组织细胞的破坏作用，此过程中 GSH 变为氧化型谷胱甘肽(GSSG)，VC 能使 GSSG 还原为 GSH，使 GSH 得

到不断补充，保证对机体的多方面作用。

2.2.2VC 与红细胞内的氧化还原过程 VC 参与红细胞内的 NADH—高铁血红蛋白还原酶系统，使高铁血红蛋白还原为血红蛋白，恢复其运输氧气的能力。

2.2.3VC 能促进肠道内铁的吸收 ($\text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{Fe}^{2+}$)，促使血浆运铁蛋白中的 Fe^{3+} 还原为肝脏铁蛋白中的 Fe^{2+} 。

2.2.4VC 可促进叶酸转变为有生理活性的四氢叶酸。

2.3 VC 与解毒作用

由于 VC 及其脱氢衍生物(脱氢 VC) 参与体内氧化还原反应, 故具解毒作用。重金属离子能与体内巯基酶类的巯基相结合而使其失活, VC 能使 GSSG 还原为 GSH, 与重金属离子结合而排出体外, 从而起到解毒和保护含巯基酶类的作用。

2.4 VC 与免疫

VC 与免疫系统间存在明显的交互作用。VC 直接参与体液免疫, 可加速淋巴细胞的产生, 刺激血细胞中吞噬细胞和网状内皮系统的功能, 促进抗体生成, 提高机体的抗感染力。

2.5 VC 的其它功能

VC 与糖代谢有关, 患坏血病动物的血糖水平上升, 肝糖元减少, 糖耐量下降; 体内赖氨酸和蛋氨酸生成肉碱的过程中需要 VC 参与; 此外, VC 能抑制许多致癌物质如亚硝胺的活性。

3 VC 与水产动物的免疫、抗病、解毒作用

在大规模和高密度人工养殖环境条件下, 鱼虾类等养殖对象对病原的敏感性大大提高, 从而造成病害的发生和流行, 单纯依靠药物防治已不能解决问题。因此, 从提高水产动物的免疫抗病力入手, 成为另一条有效途径。在这方面, VC 因有广泛而重要的生理功能而受到特别重视。目前, 水产动物的 VC 营养研究主要集中在 VC 与免疫、抗病、解毒等方面。

VC 通过促进胶原蛋白的形成而参与表皮、粘液、鳞片的形成, 在抗病过程中发挥着第一道屏障的作用。VC 促进伤口愈合的功能已在早期研究中得到证实, 摄入充足 VC 的虹鳟, 其背皮剥离处的表皮再生速度明显高于摄入 VC 不足或 VC 缺乏的虹鳟(荻野珍吉, 1985)。关于 VC 对鱼类特异性和非特异性免疫保护的影响, 已有较多的研究报道。秦启伟等(2000)研究了冰冻小杂鱼

中添加 VC 对青石斑鱼非特异性的体液和细胞免疫调节作用的影响,结果表明随 VC 添加量的增加,青石斑鱼血清补体经典型溶解羊红细胞单能力显著增强。在其另一项研究中,添加 VC 则提高了青石斑鱼的抗体水平,影响其特异性体液反应。Ortuo 等(1999)添加 VC 投喂金头鳊,其非特异性指标头肾白细胞吞噬活力和溶血补体活力均显著提高;VC 对虹鳟的非特异性免疫指标也有明显促进作用,且与葡聚糖联合使用具有加强效应(Verlhac 等,1998);体内注射 VC 的虹鳟,其淋巴细胞的增殖能力明显高于未注射对照组(Hardie 等,1993);体外培养试验表明,VC 或 VE 可促进金头鳊头肾白细胞迁移率和吞噬活力(Mulero 等,1998);在中国对虾的研究表明,添加适量的 VC 可提高中国对虾的脱壳频率和耐缺氧能力,增强血清对副溶血弧菌和溶藻弧菌的杀菌活力,增强血细胞对金黄色葡萄球菌的吞噬作用和对虾的免疫抵抗力(李爱杰等,1998)。

VC 对免疫指标的影响也存在一些不同报道。Johnson 等(1991)的试验中,提高饲料中的 VC 浓度,并未增强头肾白细胞对细菌的吞噬功能;美洲河鲈对爱德华氏菌的吞噬杀灭作用不受饲料 VC 的影响(Hardie 等,1991);VC 对青石斑鱼血清杀菌活性和非特异性细胞免疫活动(包括白细胞和头肾细胞的吞噬活动)也没有影响(秦启伟等,2000)。这些研究表明,VC 促进免疫功能提高的具体机制还有待进一步研究。

免疫机能增强,提高了鱼虾的抗病能力。随饲料中 VC 添加量的增加,虹鳟的增重率和成活率均上升,感染鳃弧菌(注射或浸泡)的虹鳟成活率也随 VC 摄入量的增加而上升(Navarre 等,1989)。Li 和 Lovell 等(1985)也有类似报道。由于 VC 能增强水产动物的免疫抗病力,生产上多超量添加 VC。Navarre 等(1989)建议,添加 5~10 倍于生长所需剂量的 VC 可促进虹鳟抗体生成,提高其在细菌感染条件下的成活率。

由于环境污染的加剧,水体中存在着较多的有毒有害物质,如重金属离子、农药等,危害鱼体健康乃至人体健康(通过食物链传递),VC 因与巯基的密切关系而在解毒过程中发挥重要作用。山本氏的研究表明,VC 有抑制铜在鲤鱼体内蓄积的效果,而蓄积在肝胰脏的铜会阻碍 VC 合成,使鲤鱼体内 VC 含量下降(荻野珍吉,1985);水环境中过量的镍离子(Nanda,1997)、铬离子

(Raddy 等, 1998)也降低了囊鳃鲇、攀鲈体内的 VC 蓄积量,其原因可能与重金属离子增加了对 VC 的消耗量有关。林丹(一种有机氯杀虫剂)显著降低了虹鳟血清溶菌酶活性、血浆铜兰蛋白含量和 β -淋巴细胞的增殖能力,但高剂量 VC (2000mg/kg)可使上述指标恢复正常(Dunier 等,1995)。高剂量 VC (7720~7950mg/kg)可降低高铁血红蛋白的含量和比例,因而可有效预防亚硝酸盐中毒(Wise, 1988)。上述研究表明,对于水体中不断增加的有毒有害物质,鱼虾需要更多的 VC 以充分发挥解毒作用。

4 水产动物的 VC 缺乏症状

饲料中 VC 长期缺乏或不足,会引起鲤鱼、真鲷生长不良;鳊鲃鳍和表皮出血,下颌糜烂;鲢鳙鱼类出现厌食,生长缓慢,脊柱前凸和侧凸,眼球出血性突出,腹水,贫血,肌肉出血,眼、鳃、鳍的支持组织异常;草鱼则表现出眼窝充血,鳃、鳍基部布满出血点,腹膜及肠系膜也有出血点,肝中 VC 含量下降。对虾饲料中 VC 不足,会引起虾体运动迟缓,红体病,黑死病,壳软,鳃混浊,蜕壳频率降低,蜕壳周期延长(李爱杰等,1994)。

5 VC 的稳定性

VC 由于其分子中第 2、3 位碳原子上的两个烯醇式羟基极易游离而释放出 H^+ ,使许多物质还原,故 VC 具还原剂性质,此时,VC 转变为脱氢 VC,此反应可逆,因此 VC 和脱氢 VC 具有相同的生理活性,但如果继续氧化生成 2,3 一二酮古洛糖酸,则完全失去生理活性(此反应不可逆)。

VC 具很强的还原性,极易被氧化而失活,光、热、重金属元素等会加速这一氧化过程,在饲料的加工、贮存过程中造成很大损失。在实际生产中往往以超过需要量 10~20 倍的剂量在饲料中添加,但由此引起饲料成本的大幅度提高,并易引起水质污染。因此寻求一种稳定的 VC 产品,一直是水产动物维生素营养研究的一个热点。目前,稳定的 VC 制剂主要有三大类:VC 盐类、包膜或微胶囊 VC、VC 酯类衍生物。

VC 盐类有 VC 钙盐和 VC 钠盐等,在某些情况下其化学性质相当稳定,但其水溶性较好,而水溶液不稳定,易被氧化,故限制了在饲料工业中的应用。

包膜 VC 所用的包被材料有乙基纤维素、硅酮、脂肪等。将 VC 分散在乙基纤维素的异丙醇溶液中,喷雾干燥或冷凝可形成乙基纤维素包覆的 VC 胶囊;

制作脂肪包被的 VC 胶囊时，将硬化油脂(有时也加入低熔点的植物油以降低混合油熔点)熔化，加入 VC 粉末，分散均匀并在冷凝过程中形成包覆(梁治齐，1999)。这是人类食品和医药工业中制备稳定型 VC 的两种主要方法。在饲料工业中，磨擦、挤压会使包膜遭到破坏，制粒或膨化的高温会使脂肪包膜溶解。故这一类产品在饲料中的稳定性不是很好。采用双层包膜可改善其稳定性。此类产品价格远较维生素 C 酯类衍生物低，根据存留率计算出的单位有效维生素 C 含量价格也较低，因而在目前生产中得到了广泛应用。

VC 的酯类衍生物是最受人们关注的一大类。由于 VC 的不稳定性主要是由分子中不饱和碳碳双键(C2 和 C3)上的烯醇式羟基引起，因此若能在 C2 羟基导入其它基团进行酯化，如脂肪酸、硫酸、磷酸(一个或多个)等，则可使 VC 被氧化的速度大大下降，从而达到提高稳定性的目的，这就是生产 VC 酯类衍生物的基本原理。这一类的产品包括 VC 棕榈酸酯、VC-2-硫酸酯、VC-2-单磷酸酯(VCMP)及其镁盐(VCMpMg)、VC-2-多聚磷酸酯(VCPP)等。VCMP 或 VCMpMg 对空气、水、热等均表现出良好的稳定性，但合成工艺复杂，成本较高，而且饲料中一般含有一定数量的磷酸酯酶，在存放过程中会导致磷酸酯键水解释放出 VC，失去磷酸基团原有的保护功能。VCDP 则较难大量合成，不易推广。VCPP 又称 L-抗坏血酸-2-多聚磷酸酯(LAPP)，其主要成分为 L-抗坏血酸-2-三聚磷酸酯，故又称 LATP 或 VCTP，市场上 LAPP、LATP、VCTP、VCPP、ASTP 等均指同一商品 VC-2-三聚磷酸酯。LAPP 只有在当饲料中的磷酸酯酶达到很高浓度时，最后一个磷酸基团被水解才会释放出游离 VC(在通常情况下不大可能发生)，故 LAPP 的稳定性大大提高，此外，LAPP 还具有供磷的作用。动物体内具有丰富的磷酸酯酶，故 VC 磷酸酯在体内可分解释放出 VC 而发挥其生理功能。VC-2-硫酸酯也具有较高的稳定性。表 1 列出了不同剂型的 VC 在不同条件下的保存率。

不同剂型的 VC，不仅稳定性不同，鱼虾对其的利用率也存在差异。表 2 列出了不同剂型 VC 对中国对虾生长的影响。从促生长的效果来看，VC 多聚磷酸酯优于包膜 VC；在 VC 的酯类衍生物中，以 VC 硫酸酯钾最佳，而 VC 多聚磷酸酯的存活率最高。鲢鳙鱼类能有效利用 VC 硫酸酯，但某些鱼类如青鱼则不能有效利用，即便饲料中的 VC 硫酸酯添加量高达 2083.3mg/kg(含

VC1000mg/kg), 青鱼仍表现出充血、畸形等典型的 VC 缺乏症状(王道尊等, 1993), 可能因为青鱼体内硫酸酯酶缺乏或不足的原故。添加包膜 VC 或 LAPP 均显著提高了青鱼鱼种的增重率, 其中, LAPP 的效果优于包膜 VC(冷向军等, 2001)。

6. 鱼虾类对 VC 的需要量受到许多因素的影响

6.1 鱼虾的种类和生长阶段。不同种类鱼虾, 对 VC 的需要量不同; 幼体生长快, 需要量高于成体。

6.2 鱼虾生理状况。高密度养殖条件下的应激, 环境条件恶化, 鱼体生病, 人为操作(放养、转塘、称重等), 均使需要量增加。

6.3 鱼类的食物来源及养殖业的集约化程度, 即对天然饵料的依赖程度。

6.4 VC 的剂型及加工、贮藏、投饲方法。不同剂型的 VC, 其稳定性和生物利用率不同; 不同加工、贮藏、投饲方法, 会对 VC 造成不同的损失和破坏(见表 1), 影响需要量的确定。

6.5 确定 VC 需要量的指标。Andrews 和 Murai(1975), Lim 和 Lovell(1978), Murai 等(1978), Durve 和 Lovell(1982), Li 和 Lovell(1985)采用不同标准确定了斑点叉尾对 VC 的需要量: ①不出现缺乏症状时的需要量为 25mg/kg; ②肝脏中 VC 积累达到最大时的需要量为 200mg/kg; ③达到最大生长时的需要量为 300mg/kg; ④产生最佳抗感染力和最佳抗体时的需要量为 3000mg/kg。可见采用不同的衡量标准, 会得到明显不同的结果。

不同种类鱼虾对 VC 不同的需要量。大剂量添加 VC, 从促生长和增强免疫抗病力的角度来看, 无疑是有利的, 但大剂量添加 VC, 增加了饲料成本。以每吨饲料添加 VC100g 计, 若采用稳定型 VC 胶囊, 吨成本增加约 10 元; 若采用 LAPP, 吨成本增加 20~30 元; 若制成 1%预混料, 则预混料每吨成本会增加 1000~3000 元。目前在市场上, 不同厂家所提供的 VC 标识含量相差很大(均折算为每吨饲料中的 VC 添加量)。一方面受价格和成本的制约, 另一方面也表明对鱼虾类的 VC 需要量还存在一些模糊认识。

7 结语

VC 在动物体内的代谢过程中发挥着重要作用, 大多数鱼虾不能合成 VC, 且 VC 不稳定, 故长期以来 VC 一直是鱼虾类营养研究的一个重点, 今后应当

进一步加强新型 VC 产品的开发，研制出一种既稳定又价格低廉的 VC 制剂；
另一方面，应加强基础研究工作，确定不同种类鱼虾对 VC 的适宜需要量，进一步研究 VC 与机体免疫抗病力之间的关系；规范操作过程，使众多研究结果间具有可比性。

冷向军 李小勤