

正烷酵母饲养鲤鱼的试验*

汪锡钧 官伦祥 刘玉良 姚根娣

(上海市水产研究所)

提 要

本试验以高剂量和全剂量的正烷酵母,对鲤鱼作了亚急性的毒性试验,结果表明对增长具有鱼粉般的效果;试验鱼的血液有形成份。血液化学指标均正常;肌肉残毒量低于允许值;组织检查未发现异状或病变;繁殖力和后代的生长均较正常。

前 言

正烷酵母(暂定: *n*-Paraffin yeast)是一种新的饲料蛋白源,一般称为单细胞蛋白(single Cell protein)^[2],广泛试作动物饲料;但安全性问题至今尚未完全肯定,尤其是生产工艺的差异,残余物含量的不同,常引起不同结果。因此,研究正烷酵母的安全性,扩大饲料蛋白的来源对发展畜牧和水产养殖,具有一定意义。

国外从1964年开始进行了有组织的试验^[3],不少国家研究所、大学和民间机构也相继进行了研究^[4]。试验的目的在于了解短期、中期、长期地使用高浓度正烷酵母对实验动物的毒性作用,主要是指致癌性和影响繁殖的变异性。试验采用一般公认的方法,用一种以上的动物进行长期或多世代的饲养来进行观察。

我国于1968年开始进行综合性的动物饲养试验。本所进行了对鱼类的饲养及安全性方面的试验:

1975年,首先以75%正烷酵母组成的饵料进行河鳗饲养试验,结果,河鳗的日增重量为0.83%,用75%鱼粉为饵料饲养的对照组日增重为0.71%,说明了对河鳗的生长,正烷酵母的饵料效果不亚于鱼粉,通过血液学的分析和检查,未发现异常数值,对肠、肾、肝的组织切片检查,也未发现特异或病变症状⁽¹⁾。

1978年我们采用了高剂量和全剂量的正烷酵母,以鲤鱼为对象,进一步作了生长和毒性试验,本文即为这项试验的报告。

* 参加此试验工作的还有郭文玉,张蕙英,朱雅珠,陈世高同志。

(1) 上海市水产研究所:鳗鲡对几种蛋白饲料的消化吸收和代谢的研究(未刊稿)。

材料和方法

(一) 试验条件

(1) 鱼池 面积各为 16m² 的水泥池五只, 平行排列, 使用同一水源, 进行流水养殖, 流量大小保持一致, 池水深度为 80cm。

(2) 水质 试验期间, 水温变化范围为 18°—30°C, 水中含氧在 6.8~8.0mg/L 之间, 氨氮为 0.03—0.40mg/L, 亚硝酸氮为 0.003—0.166mg/L。就水质情况来说, 含氧较高, 氨氮含量较低, 很适于鱼类的生长。

(3) 试验鱼 各试验组鱼种均来自同批, 体质较健壮, 分组饲养前, 蓄养在同一池塘内。

(二) 试验组别及饲料配方

试验共分五组: 除对照组外, 其他四组分别为含 30%、50%、70%、98% 正烷酵母的试验组, 所用的正烷酵母由中科院有机化学研究所统一提供。各组使用的饵料配方如表一:

表 1 各试验组饵料配方

| 组别 配 方 | 对 照 组 | 30%正烷酵母组 | 50%正烷酵母组 | 70%正烷酵母组 | 98%正烷酵母组 |
|-----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| 鱼 粉 | 70 | — | — | — | — |
| 正烷酵母(双脱) | — | 30 | 50 | 70 | 98 |
| 豆 饼 粉 | 4 | 50 | 25 | 4 | — |
| 麸 皮 粉 | 10 | 14 | 20 | 10 | — |
| 高 岭 土 | 14 | 4 | 3 | 14 | — |
| 粘 合 剂 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 骨 粉 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| VAD 乳 剂 | 5cc/100斤 | 5cc/100斤 | 5cc/100斤 | 5cc/100斤 | 5cc/100斤 |

试 验 结 果

(一) 正烷酵母对鲤鱼生长的影响

试验中采用了高剂量和全剂量的亚急性毒性试验, 从 30% 剂量添加起, 直到全量, 这种剂量尚未见国内外报导过, 日本星合^[8], 进行过在饵料中添加 40% 和 45% 的正烷酵母饲养鲤鱼和河鳗的试验。Jnittino 曾做过添加 30% 正烷酵母饲养鳟鱼的试验^[9]。我们的试验从 1978 年 7 月 24 日开始到 10 月 30 日结束。鲤鱼的生长情况如表 2。

从表 2 结果来看, 各组放养鱼种, 其尾数相同, 个体重也基本相似, 但凡添加或全部使用正烷酵母的各组, 其个体增重都超过对照组。增重最大的是 30% 组, 个体增重率均超过对照组, 所有试验组鲤鱼的生长情况都比对照组迅速(图 1, 图版 I-I)。即使全部使用正烷酵母饲养的鲤鱼, 在生长上也未发现不良影响。

表 2 各组饲养结果

| 项 目 | | 对 照 组 | 30%正烷酵母组 | 50%正烷酵母组 | 70%正烷酵母组 | 98%正烷酵母组 |
|-----|----------|-------|----------|----------|----------|----------|
| 放 养 | 尾 数 | 80 | 80 | 80 | 80 | 80 |
| | 重 量(克) | 7500 | 6000 | 7750 | 8250 | 8500 |
| | 平均每尾重(克) | 94 | 88 | 94 | 103 | 106 |
| 起 捕 | 存 活 尾 数 | 68 | 77 | 74 | 78 | 73 |
| | 总 重 量(克) | 18950 | 34800 | 29800 | 27550 | 29550 |
| | 平均每尾重(克) | 279 | 452 | 401 | 353 | 405 |
| | 平均每尾增长% | 196.8 | 413.6 | 326.6 | 242.7 | 282.1 |
| | 饵 料 系 数 | 4.1 | 2.0 | 2.0 | 2.0 | 2.1 |

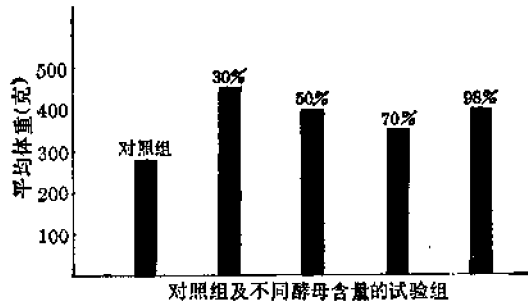


图 1 各种鲤鱼平均体重

(二) 正烷酵母饲料对鲤鱼繁殖的影响

为了解正烷酵母饲养后的鲤鱼,其繁殖情况有无异常,将试验组和对照组的全部鲤鱼饲养过冬,于 1979 年进行了繁殖试验。

1. 成熟度检查

1979 年 4 月 20 日全部鱼体进行产前检查。

所有各组雄性个体 90% 以上均能挤出精液,抽样检查中除 50% 酵母组和对照组情况相似外,其他各酵母组的雄鲤,精液浓度和数量均超过对照组。

雌鲤怀卵量检查,各组抽样五尾,解剖检查,情况见表 3。

表 3 雌鲤怀卵量比较

| 项 目 | 平均体重(克) | 成熟度(一)(%) | 绝对怀卵量 (二) (万粒) | 相对怀卵量 (三) (粒/克) |
|--------|---------|-----------|----------------------|-----------------------|
| 对照组 | 223 | 21 | 4.3 | 190 |
| 30%酵母组 | 299 | 20 | 5.7 | 189 |
| 50%酵母组 | 342 | 23 | 12.0 | 369 |
| 70%酵母组 | 387 | 26 | 12.0 | 315 |
| 98%酵母组 | 294 | 25 | 8.9 | 304 |

注: (一) 成熟度(%) = 性腺重(克)/体重(克) × 100%

(二) 绝对怀卵量(粒) = 卵巢全重(克) × 每克卵子的粒数

(三) 相对怀卵量(粒/克) = 绝对怀卵量(粒)/体重(克)

2. 后代生长情况

所有各组鲤鱼在4月27日~30日繁殖,为了解后代的生长情况,留下98%酵母组繁殖的鱼苗,继续以98%的酵母饵料进行饲养,从5月27日起到10月8日,成活率约90%,当年由鱼苗平均生长到92克,大的已达150—200克,生长速度较快,鱼体也很健壮。

从表3的怀卵情况来看,各酵母组雌鲤的成熟度以及相对怀卵量,均与对照组相似或超过,由于各组鱼的年龄和其他饲养条件均相同,因此生殖腺出现的差异,主要是营养方面的原因造成的,情况至少可说明使用正烷酵母,对卵细胞的增殖没有不良影响!从全量酵母一组的后代来看,其生长情况也是正常的。

(三) 鱼体的化学成分

1. 鱼体营养成分比较

为了解正烷酵母喂养的鲤鱼,其可食部分的营养成分有何变化,取肌肉进行了分析。酵母及鱼肉蛋白质中氨基酸成分,由中科院有机化学研究所协助分析,其结果见表4:

表4 各组鱼肉营养成分比较

| 组别 | 蛋白质(%) | 脂肪(%) | 灰分(%) |
|----------|--------|-------|-------|
| 对照组 | 18.89 | 5.15 | 1.67 |
| 30%正烷酵母组 | 17.76 | 1.54 | 1.13 |
| 50%正烷酵母组 | 20.29 | 2.10 | 1.28 |
| 70%正烷酵母组 | 18.89 | 1.59 | 1.20 |
| 98%正烷酵母组 | 18.70 | 1.49 | 1.50 |

从表4可见,各酵母组的鱼肉中,所含蛋白质质量,与对照组基本相同,约在18%左右,正常范围为(17—20%)^[4]。而各酵母组的肌肉含脂量较低,只有对照组的33%左右。未列入表中的肌肉水分含量,各酵母组为78%左右,略高于对照组。就其它分析资料来看^[4],鲤鱼可食部分的含脂量一般为17—21%,水分含量为76—78%,可见各酵母组的肌肉成份都在正常范围之内,未发现由于摄食正烷酵母后引起体内化学成份的明显变化。

2. 氨基酸成分比较

作为鱼类的合适饲料,其所含的氨基酸成分最好能与鱼体蛋白的氨基酸成分相适应,尤其是保证鱼类生长的十种必须的氨基酸(Cowey等1970)。为此列出鲤鱼肌肉及正烷酵母中必须氨基酸的组成,以作比较。

对鱼类生长来说,在体内不能进行任何生物合成的这十种必须氨基酸,在正烷酵母蛋白中均有存在,而且含量丰富,除蛋氨酸含量须进一步查明外,其它各种均超过鱼肉中的含量。试验结果也表明,98%正烷酵母组中,除少量(约0.25%)的骨粉蛋白外,没有其它

表5 鲤鱼肌肉及正烷酵母中氨基酸组成 单位:克/100克

| 种类 类别 | 酥氨酸 | 色氨酸 | 异亮氨酸 | 亮氨酸 | 赖氨酸 | 组氨酸 | 苯丙氨酸 | 缬氨酸 | 精氨酸 | 蛋氨酸 |
|----------|------|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 鲜鲤鱼 | 0.83 | — | 0.96 | 1.64 | 1.37 | 0.46 | 0.76 | 1.01 | 1.14 | 0.39 |
| 正烷酵母 | 2.8 | 1.0 | 3.0 | 4.2 | 3.0 | 1.1 | 2.6 | 3.3 | 2.3 | 0.1 |

蛋白源,然而鱼生长良好,因此就正烷酵母作为鱼类的蛋白源来说,是一种较为完全的饲料。

(四) 致毒情况试验

为了查明正烷酵母的致癌性及其他致毒性,进行了血液有形成份、血液化学及肠、肾、肌肉的组织切片检查,并与对照组作比较,了解有无异常。

1. 血液有形成份

各酵母组随机取样8尾,对照组挑选生长良好外观健壮的个体,从尾动脉取血,进行血球计量、血球沉降等的检查,结果以平均值表示,对照组除平均值外,还附以最高最低值,以此作为正常范围(表6)。

表6 各组血液成分比较

| 项目 组别 | 红血球数(万/mm ³) | 白血球数(万/mm ³) | 血球沉降(m.m) | 红血球容积(%) |
|----------|--------------------------|--------------------------|--------------|-----------------|
| 对照组 | (140~200) 158 | (0.5~2.1) 1.39 | (1~2) 1.7 | (42~54) 48.5 |
| 30%正烷酵母组 | 137 | 1.18 | 2.3 | 45.5 |
| 50%正烷酵母组 | 141 | 1.15 | 2.0 | 45.7 |
| 70%正烷酵母组 | 164 | 1.65 | 2.5 | 44.0 |
| 98%正烷酵母组 | 167 | 1.28 | 1.6 | 50.0 |

红血球数量的降低,往往由于物理、化学或生物因素作用以及造血机能的损害和营养代谢障碍而引起。白血球数量大幅度下降,往往由于营养不良或发生疾病而引起。而白血球数量的升高则和炎症有关。血红蛋白(血色素)的变化一般和红血球量的增减相对应。

就表6数据来看,各酵母组无论是红血球、白血球的数量和红血球容积等均在正常范围内。各酵母组之间,虽然有关数值略有随着酵母用量的提高而增加的趋势,但在正常范围的这种变化,尚无足够资料和依据,能说明存在着某种潜在的问题。对血沉而言,30%和70%酵母组略大于正常范围,但就98%酵母组来看,血沉的速率依然在对照组的正常范围内,说明在这方面并不存在某种规律。

2. 血液化学

在检查血球有形成份的同时,抽取同个体的血液,制成血清,进行了胆固醇、血清淀粉

酶、转氨酶以及血磷、血钙等的测定。(胆固醇为叶氏快速法;血清淀粉酶为温斯罗法;转氨酶为赖氏法;血磷为孔雀绿法;血钙为二胺四乙酸二钠滴定法。)测定结果如表7。

表7 血液化学指标比较

| 项目 组别 | 胆固醇 (mg/100ml) | 血清淀粉酶 (单位) | 谷丙转氨酶 (单位) | 血磷 (mg/100ml) | 血钙 (mg/100ml) | 硫酸锌浊度 (单位) | 麝香草酚浊度 (单位) |
|----------|-------------------|---------------|---------------|------------------|------------------|---------------|----------------|
| 对照组 | 164~236 | 8~32 | 10~35 | 5.7 | 9.8 | 2.8~5.4 | 0.4 |
| 90%酵母组 | 213.1 | 32 | 47 | 17.6 | 11.4 | 3.9 | 0.7 |
| 50%酵母组 | 181.1 | 19 | 21 | 11.1 | 13.8 | 2.5 | 2.8 |
| 70%酵母组 | 194.2 | 16 | 17 | 7.9 | 10.9 | 2.9 | 1.4 |
| 98%酵母组 | 163.4 | 16 | 24 | 12.4 | 13.4 | 2.4 | 2.5 |

由于国内外对鱼类血液化学及血液病理方面的研究工作过去进行得较少,资料也不多见,如以本试验中测定的有关数值,作为诊断依据还无把握,但通过和对照组的对比,应当认为使用正烷酵母饲养的各组鲤鱼,其血液方面的有关指标与使用鱼粉的无大差异,也可以说有关血液指标是在正常范围内。

3. 肌肉残毒量

正烷酵母饲养的鱼类,体内残毒量是个重要的问题。由于3·4苯并芘目前认为是强烈的致癌物质,所以必须查明其含量(残毒量由中科院有机化学研究所协助给予测定)。测定用的肌肉样品,采自于取血的全数个体,每组八尾。每尾取尾柄到头基部紧贴脊椎剖下左右两侧的全部肌肉,去皮和肋骨,粗切混合后由搅肉机捣碎,随机取样400克送验。经测定,结果如表8。

表8 3·4苯并芘含量比较(单位:微克/公斤)

| 项目 组别 | 对照组 | 30%正烷酵母组 | 50%正烷酵母组 | 70%正烷酵母组 | 98%正烷酵母组 | 允许含量 |
|----------|-----------|-----------|----------|-----------|-----------|------|
| 3·4苯并芘含量 | 0.11~0.12 | 0.10~0.24 | 0.14 | 0.07~0.09 | 0.11~0.14 | 1.00 |

上列数据表明,喂用正烷酵母的鱼体,其肌肉中残留3·4苯并芘的含量均在允许含量以下,而且各酵母组与对照组基本相同,也不存在残毒随摄食正烷酵母量的增加而增加的现象。说明使用正烷酵母甚至是完全使用正烷酵母饲养的鲤鱼,肌肉内的残毒远未超出允许含量。

4. 组织检查

用肉眼检查和组织切片进行检查。

肉眼检查:

肝脏——颜色、光泽、大小、手检有无肿块。

肠——肠外表颜色是否正常,有无充血、粒状肿块或淤血。以纵向剖开后括去内容物,检查内壁有无异样。

肾脏——颜色。

结果,所有被检鱼体,肝胰脏均为淡红、鲜红或棕黄色;肝表面组织细嫩,有光泽,肝量正常,未发现明显肿大或斑点,也未发现有明显的异常组织(颗粒突起或硬化),也未发现脂肪肝。肠道整体外观肉红色,肠系膜或脂肪乳白色,肠管亦无充血或淤血现象,纵向剖检情况亦正常,无任何突起或异常组织。肾脏呈深红色或紫红色,外观正常。

切片检查:

从目检后的肝、肾、前肠、中肠及后肠五种组织中,各取同部位的样品一块,经波恩氏液固定,石蜡包埋,切片厚度为 $6\sim 8\mu$ 。以苏木精染色、伊红复染,同一样品制片五块,以供镜检。

镜检结果:

每一组织样品通过 $100\sim 200$ 个切面的镜检,均未发现有异形细胞。各组织细胞和细胞核的形状、大小均属正常(见图版 I-II_{A-B}, II_{A'-B'};图版 II-II_{C-E}, II_{C'-E'})。

肝细胞网状,呈多边形,核大而圆,血管、胆小管等均属正常,未发现畸形细胞。

肠管,从咽部到肠管第一弯曲处作为前肠,最后弯曲处开始到肛门一段为后肠,其余为中肠。通过镜检其柱状细胞排列整齐、层次清楚,无萎缩及溃烂现象,杯状细胞分布等均属正常,也未发现有异形细胞,其它各层组织的结构及厚度也无异常。

肾脏,肾小球、肾小体和球状体结构清楚,界线分明,无细胞溃散、异状现象,毛细血管和毛细肾小管也无异常。

(五) 品 味 情 况

1978年对各试验组的鲤鱼进行了两次品味试验,1979年对用30%不脱正烷酵母饲养的鲤鱼、草鱼、青鱼及河蟹进行品味试验,参加品味的有正烷酵母试验协作组及本所有关人员,前后共239人次,其中有15%的人次认为有异味(火油味),而河蟹一致认为无异味。

不经仔细对比品味,一般难以发觉异味,可能存在异味的部位,多为腹部(脂肪含量较高处),但即使使用不脱酵母饲养的品种,存在的异味也较轻微。在品尝过程中,也常有人对98%酵母组中的个体评价最佳,因此在本所试验条件下,即使使用全量正烷酵母,也可说未影响到成品的上市质量。

讨 论 和 小 结

为了解以正烷酵母作为鱼饲料的效果和安全性,本试验以鲤鱼为代表,作了饲养和致毒分析。

就试验鱼生长情况来看,正烷酵母不仅不影响鱼类生长,而且很适合于鱼类的需要。对用正烷酵母饲养的鲤鱼的繁殖能力也作了分析观察,各试验组均在常规的繁殖期间进行了繁殖,未发现任何繁殖异常的情况。喂用全量正烷酵母的鲤鱼后代生长也很正常。由此说明正烷酵母不仅可以用于一般鱼类的饲养,同时也适用于苗种的培育。

就安全性来看,本试验以高剂量,甚至全剂量的正烷酵母,对鲤鱼进行了连续三个月

的饲养,通过对鱼体血液有形成分、血液化学、肌肉残毒量的测定,以及脏器的组织检查,其结果均与对照组相似,未发现有任何明显的异常现象,即使是以98%正烷酵母饲养的个体,也未在有关检测项目中出现任何感受反应。

各组试验鱼肌肉中3,4-苯并芘的残余量均低于允许含量,与对照组含量相同或相似,而且残毒量并不随正烷酵母的用量增加而提高。

鱼肉中略存有异味,不经仔细品尝是难以觉察,但异味的强度和正烷酵母的用量无关。

参 考 文 献

- [1] 中国医学科学院卫生研究所,1977。食物成分表(第二版),246。人民卫生出版社。
 [2] Elizabeth Gatamel,1977。SCPの毒性学的ならび栄養学的試験に関する诸问题。発酵と工業,35(2):124—130
 [3] Shacklady, G. A., 1977。n-パラフィン法酵母—動物飼料としての安全性と栄養価に関する考察一。発酵と工業,35(1):52—57。

AN EXPERIMENT ON RAISING COMMON CARP BY USING N-PARAFFIN YEAST

Wang Xijun, Gong Lunxiang, Liu Yuliang and Yao Gendi

(Fisheries Research Institute of Shanghai)

Abstract

N-paraffin yeast is a new source of protein for animal food. Recently, experiments with high and full doses of n-paraffin yeast have been made to confirm whether it is safe to feed the fish. The food used in test groups was mixed with n-paraffin yeast in different percentage 30%, 50%, 70%, and 98%, while the control group was fed on 70% of fish meal. After three months raising, the results are as follows:

1. The growth rates of the test groups were higher than that of the control group, while the group with 30% of n-paraffin yeast was found to be the best of them.

2. The amount of red blood cells and white blood cells, and the volume of red blood cells were all within the range in the control group.

3. The chemical indices of fish blood were as follows: cholesterol, serum amylase and ZnSO₄ turbidity were all within the range of those in control group, but glutamic-pyruvic transaminase in the test group of 30% was found somewhat little higher. The reactions of the thymol turbidity showed weak positive.

4. The amount of 3,4 benzo pyrene remaining in the muscle were all within the range of 0.70—0.14 p. p. b., under the permissible level (1.00 p. p. b.).

5. No abnormality was found in the appearance of internal organs (liver,

kidney and instestine) and microscopic examinations.

6. Generally, the maturity and the absolute and relative broods in test groups were higher than those in the control group.

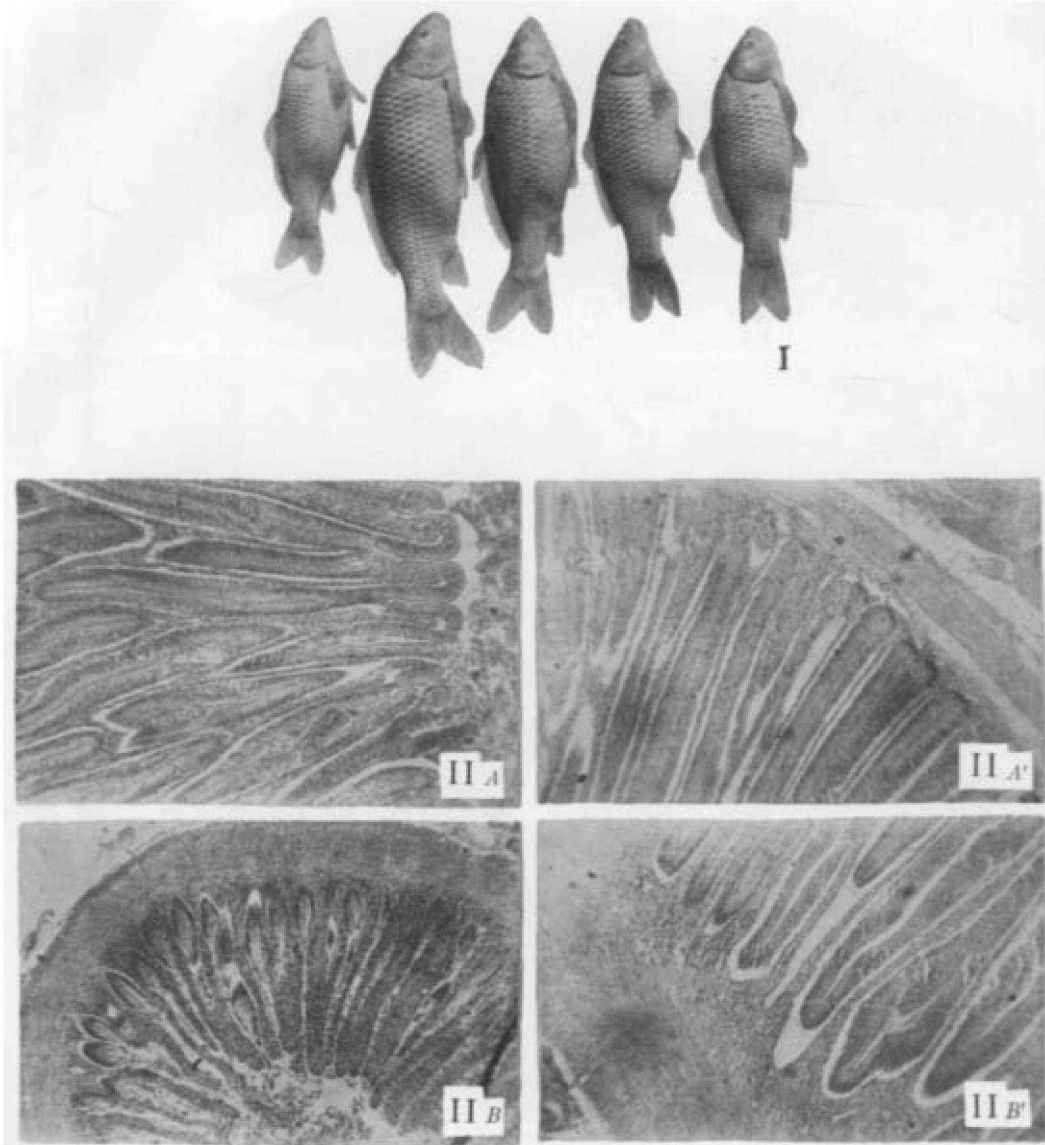
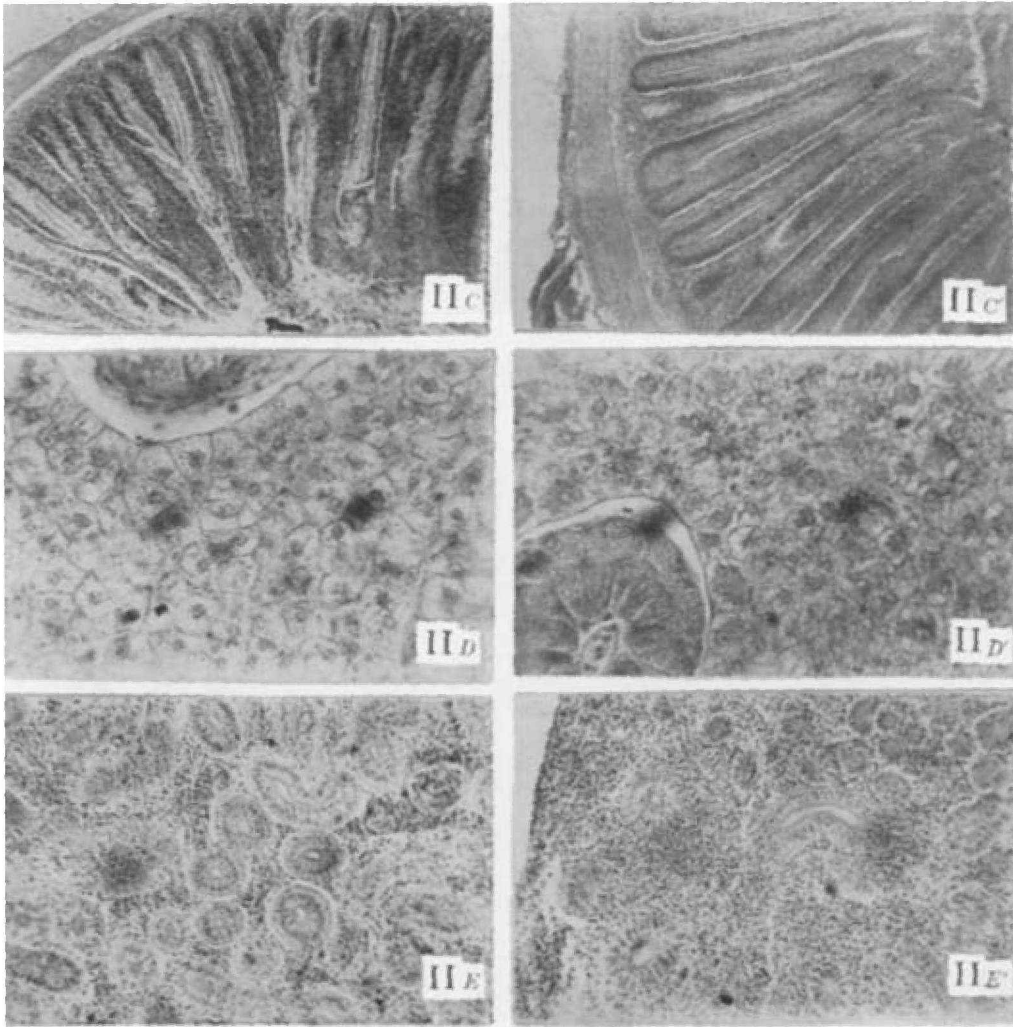


图 版 I

I 各试验组鲤鱼,自左至右为:对照组、30%酵母组、50%酵母组、70%酵母组、98%酵母组
II_A 对照组鲤鱼前肠切片
II_{A'} 98%酵母试验组鲤鱼前肠切片
II_B 对照组鲤鱼中肠切片
II_{B'} 98%酵母试验组鲤鱼中肠切片



图版 II

- II_c 对照组鲤鱼后肠切片
- II_{c'} 98%酵母组试验组鲤鱼后肠切片
- II_D 对照组鲤鱼肝脏切片
- II_{D'} 98%酵母组试验组鲤鱼肝脏切片
- II_E 对照组鲤鱼肾脏切片
- II_{E'} 98%酵母组鲤鱼肾脏切片