

## 天然叶黄素对黄颡鱼生长性能和皮肤着色的影响

王鲁波, 薛 敏\*, 王 嘉, 吴秀峰, 郑银桦, 曹春燕

(中国农业科学院饲料研究所, 国家水产饲料安全评价基地, 北京 100081)

**摘要:** 研究了天然叶黄素(源自万寿菊, 含量为 4.64%)的添加水平对黄颡鱼生长和皮肤着色效果的影响。在黄颡鱼基础饲料中, 分别添加 0%、0.15%、0.30%、0.60%、8.00% 的受试物, 在不影响饲料营养水平的基础上设计最高剂量组为可能摄入量组的 10 倍以上, 经挤压熟化工艺加工后, 实际检测叶黄素含量为未检出(检出限=0.5 mg/kg)、24.2、54.2、118.0、1 700.0 mg/kg, 依次命名为 C、L24.2、L54.2、L118、L1700。饲养 90 d 后发现, 添加天然叶黄素的 4 个剂量组的特定生长率和饲料效率、L24.2 组的蛋白沉积率、L54.2 组和 L118 组及 L1700 组的能量沉积率均显著高于对照组( $P<0.05$ )。体侧和腹部皮肤的黄度( $b^*$ )和饱和度( $C^*$ )随饲料中天然叶黄素含量的增加而逐步升高, L118 组可达到饱和, 并与 L1700 组之间没有显著差异( $P>0.05$ ), L118 组和最高剂量组皮肤中黄色素过度沉积, 并向肌肉中转移。皮肤中叶黄素的蓄积系数呈现先升高后下降的趋势, 最高为 76.25 mg/kg 饲料。结果表明, 24.2~1700 mg/kg 的天然叶黄素显著提高了初始体质量 21 g 的黄颡鱼的生长性能。天然叶黄素作为黄颡鱼皮肤着色剂的最适剂量为 76.25 mg/kg 饲料。

**关键词:** 黄颡鱼; 天然叶黄素; 生长; 着色

**中图分类号:** S 963

**文献标志码:** A

天然叶黄素是一类广泛存在于蔬菜、花卉、水果、植物和蛋黄中无维生素 A 活性的二羟基含氧类胡萝卜素, 呈桔红色或橙黄色, 其主要成分为叶黄素(lutein)和玉米黄质(zeaxanthin)<sup>[1]</sup>。目前主要用于家禽的皮肤、喙、爪和蛋黄的着色研究中, 研究表明: 积累在肉鸡皮下脂肪及鸡蛋蛋黄脂类物质中的黄色素主要是叶黄素和玉米黄质(zeaxanthin); Gomez 等<sup>[2]</sup>也发现叶黄素被吸收后, 能够在鸡的不同组织中检测出叶黄素; 万寿菊提取物还极显著的提高了肉鸡脚胫的着色程度<sup>[3]</sup>。叶黄素在胡子鲶(*Claris fuscus* Laeepede)<sup>[4]</sup>、黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)<sup>[5-7]</sup>等品种有零星的报道, 更多的研究主要集中在虾青素及其酯在肌肉中的沉积上。我国最新的《饲料添加剂品种目录》中只允许万寿菊提取的天然叶黄素在家禽饲料中使用, 尚未批准在水产动物饲料中使用(中华人民共和国农业部, 1126

公告)。欧盟和美国 FDA 在 2011 年新出的着色剂详细目录中也仅允许万寿菊提取物作为着色剂在家禽饲料中使用<sup>[8]</sup>。

中国水产养殖产量占全球 70%, 且品种繁多, 许多黄色系品种如黄颡鱼、大黄鱼(*Larimichthys crocea*)、中华鳖(*Pelodiscus sinensis*)、香鱼(*Plecoglossus altivelis*)、黄条鲷(*Seriola aureovittata*)、金鲳(*Trachinotus ovatus*)等野生状态下体色有自然的黄色。但在人工养殖条件下摄食配合饲料会导致体色退化, 品质降低, 影响到商品价格。因此, 改善养殖水产动物的体色与野生鱼虾的体色相接近, 一直是水产养殖领域里重要的研究和实践课题。本实验选择的靶动物为黄颡鱼, 野生的黄颡鱼体表呈黑黄相间的黄褐色, 但在高密度集约化养殖的过程中, 养殖周期缩短, 营养物质主要来源于配合饲料, 加之饲料中有效色素源较少并且

收稿日期: 2011-12-12

修回日期: 2012-03-07

资助项目: 公益性行业(农业)科技专项(201203015; 201003020); “十二五”国家科技支撑计划 (20113AD26B04)

通讯作者: 薛敏, E-mail: xuemin@caas.net.cn

不稳定, 黄颡鱼只能获得少量的天然水生生物, 不能获得充足的天然色素源, 导致鱼体体色“变白”或“变黑”, 风味下降, 严重影响了肌肉质量和商品价值。本实验针对源自万寿菊的天然叶黄素对黄颡鱼生长性能和皮肤的着色效果进行研究, 为天然叶黄素在水产饲料中的应用提供依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 受试物

实验所用的天然叶黄素粉末(源自万寿菊, 含量为 4.64%)由广州立达尔生物科技股份有限公司提供, 主要含大部分的叶黄素及其酯和少量的玉米黄质及其酯, 无维生素 A 活性, 不溶于水, 易溶于油脂和脂肪性溶剂, 分子式为  $C_{40}H_{56}O_2$ , 分子结构如图 1 所示, 因其结构中有较多的共轭双键, 故其对光、氧、热不稳定。但叶黄素游离羟基与脂肪酸酯化后可使其对光热敏感性降低。

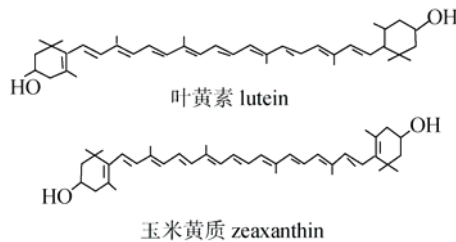


图 1 叶黄素和玉米黄质分子结构

Fig. 1 Molecular structure of lutein and zeaxanthin

### 1.2 实验饲料

实验分为 5 个处理组, 在黄颡鱼基础饲料中分别添加 0%、0.15%、0.30%、0.60%、8.00% 的天然叶黄素粉末, 充分混匀后挤压制成直径为 2.0 mm 的膨化沉性颗粒饲料, 自然晾干后贮存于  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  的冰箱中备用。其中制粒条件为投料部位  $90\text{ }^{\circ}\text{C}/5\text{ s}$ 、挤压部位  $130\text{ }^{\circ}\text{C}/3\text{ s}$ 、螺旋推进部位  $60\text{ }^{\circ}\text{C}/4\text{ s}$ (双螺杆挤压膨化机, TSE65, 北京洋工机械制造)。剂量设计原则依据 GB/T 22488-2008<sup>[9]</sup>和欧盟食品安全委员会(European Food Safety Authority, EFSA) 靶动物有效性和耐受性试验规程<sup>[10]</sup>, 在不影响饲料营养水平的基础上设计最高剂量组为可能摄入剂量组的 10 倍以上。最高剂量组为适宜剂量组的 10~20 倍, 适宜摄入量根据文献确定为可能最适剂量<sup>[5-7]</sup>。采用 GB/T23187-2008<sup>[11]</sup>中的高效液相色谱法实际检测饲料中的天然叶黄素含量分别为未检出(检出限=0.5 mg/kg)、24.2、54.2、118.0、

1 700.0 mg/kg, 并依次命名为 C、L24.2、L54.2、L118、L1700。实验饲料配方及营养成分分析(表 1)。

### 1.3 实验鱼及实验设计

实验用黄颡鱼为 2 龄幼鱼, 购自河北省水产研究所养殖场, 在国家水产饲料安全评价基地(北京, 南口)室内循环流水养殖系统。黄颡鱼适应环境并正常摄食无色素的配合饲料 2 周后, 禁食 24 h 进行正式实验, 初始体质量为  $(21.00\pm 0.01)\text{ g}$ 。

实验共设 5 个处理, 每个处理设 4 个重复, 每个重复 30 尾鱼。以重复数为单位分配到 20 个容积为  $0.26\text{ m}^3$  的圆锥形养殖桶中, 试验用水为地下水, 循环使用。每天在 9:00 和 16:00 表观饱食投喂 2 次, 实验周期为 90 d。定期检测水质, 水质条件保持在溶氧  $\text{DO}>7.0\text{ mg/L}$ ; 总氮  $\text{NH}_4^+\text{-N}<0.3\text{ mg/L}$ ;  $\text{pH}=7.5\sim 8.5$ ; 水温  $(25\pm 3)\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 日光灯光照为 12 h:12 h。

### 1.4 样品采集及检测

实验结束前 24 h 禁食, 每桶鱼称重并采集样品, 每桶随机取出 4 尾鱼, 用 800 mg/L 三氯叔丁醇麻醉。用色差计 CR-400(KONICA MINOLTA)检测左侧、右侧、腹部皮肤的亮度  $L^*$ (lightness)、红度  $a^*$ (redness)、黄度  $b^*$ (yellowness)、饱和度  $c^*$ (chroma)。解剖取鱼体两侧的皮肤和肌肉, 0.7% 的生理盐水清洗、吸干、称重后, 将每 2 尾鱼的皮肤和肌肉合并为一个样品, 采用高效液相色谱法<sup>[11]</sup>检测皮肤和肌肉中的叶黄素含量。饲料和全鱼中的水分、灰分、粗蛋白质、粗脂肪和能量分别采用  $105\text{ }^{\circ}\text{C}$  常压干燥法、 $550\text{ }^{\circ}\text{C}$  灼烧法、凯氏定氮法、酸水解全脂肪测定法、IKA-C200 弹式热量计测定。

### 1.5 数据计算

存活率(survival rate, SR,%)= $100\times$ 存活鱼数量/初始鱼数量。

特定生长率(specific growth rate, SGR, %/d)= $100\times[\text{Ln}(\text{FBW})-\text{Ln}(\text{IBW})]/t$ ; 式中, IBW 为鱼体初始均重(g); FBW 为终末均重(g);  $t$  为实验天数(d)。

饲料系数(feed conversion ratio, FCR)= $C/(W_t+W_d-W_0)$ ;

摄食率(feeding rate, FR,%)= $100\times C/[(W_0+W_t+W_d)/2]/t$ , 式中  $W_0$  为鱼体初始总重(g);  $W_t$  为终末总重(g);  $W_d$  为死亡鱼体总重(g);  $C$  为摄食量(g);  $t$  为实验天数(d)。

表 1 基础饲料配方及成分分析(风干基础, %)  
Tab. 1 Formulation and compositions of experimental diets

原料 ingredients	C	L24.2	L54.2	L118	L1700
秘鲁鱼粉 Peru fish meal	31.5	31.5	31.5	31.5	31.5
大豆粕 soybean meal	20	20	20	20	20
血球蛋白粉 spray-dried blood meal	6	6	6	6	6
乌贼内脏粉 squid liver powder	3	3	3	3	3
面粉 wheat flour	32	32	32	32	25
微晶纤维素 $\alpha$ -cellulose	1	0.85	0.7	0.4	0
百泰 <sup>®</sup> -A GroBiotic <sup>®</sup> -A	1	1	1	1	1
大豆油 soy oil	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
鱼油 fish oil	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
胆碱油(70%) choline oil (70%)	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
磷酸二氢钙 $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2
预混料 premix <sup>1</sup>	1	1	1	1	1
天然叶黄素 <sup>2</sup> xanthophylls	0	0.15	0.3	0.6	8
合计	100	100	100	100	100
<b>成分分析(占干物质) analysed nutrients compositions (dry matter basis, %)</b>					
粗蛋白/% crude protein	45.05	44.65	44.94	44.92	44.98
粗脂肪/% total crude lipid	7.36	8.05	7.93	8.12	10.17
粗灰分/% crude ash	10.80	10.80	10.92	11.05	14.26
能量/(kJ/g) gross energy	19.65	19.62	19.57	19.39	19.68
天然叶黄素/(mg/kg) xanthophylls	未检出	24.2	54.2	118	1700

注: 1. 维生素预混料(mg/kg 饲料):  $V_A$  20,  $V_{B1}$  10,  $V_{B2}$  15,  $V_{B6}$  15,  $V_{B12}$  8, 烟酰胺 100,  $V_C$  多聚磷酸酯钠(35%) 1000, 泛酸钙 40, 生物素 2, 肌醇 200, 叶酸 10,  $V_E$  400,  $V_{K3}$  20,  $V_{D3}$  10, 玉米蛋白粉 150; 矿物质预混料(mg/kg 饲料): 硫酸亚铁 450, 硫酸锌 150, 硫酸锰 37.5, 硫酸铜 15, 碘化钾(10%) 4.5, 亚硒酸钠 7.5, 氯化钴(10%) 7.5, 氯化钠 150, 沸石粉 678。2. 叶黄素在小料中添加, 取代饲料中微晶纤维素。

Notes: 1. Vitamin premix (mg/kg diet): Vitamin A, 20; Vitamin B<sub>1</sub>, 10; Vitamin B<sub>2</sub>, 15; Vitamin B<sub>6</sub>, 15; Vitamin B<sub>12</sub>, 8; Niacinamide, 100; L-ascorbyl-2-monophosphate-Na (35%), 1000; Ca-pantothenate, 40; Biotin, 2; Inositol, 200; Folic acid, 10; Vitamin E, 400; Vitamin K<sub>3</sub>, 20; Vitamin D<sub>3</sub>, 10; Corn protein powder, 150; Mineral premix (mg/kg diet): FeSO<sub>4</sub>-H<sub>2</sub>O, 450; ZnSO<sub>4</sub>-H<sub>2</sub>O, 150; MnSO<sub>4</sub>-H<sub>2</sub>O, 37.5; CuSO<sub>4</sub>-5H<sub>2</sub>O, 15; KI(10%), 4.5; Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>(10%Se), 7.5; CoCl<sub>2</sub>-6H<sub>2</sub>O(10%Co), 7.5; NaCl, 150; Zeolite, 678.

2. Xanthophylls were added into vitamin and mineral mixture instead of corresponding  $\alpha$ -cellulose

蛋白质沉积率(protein productive value, PPV, %)  
= 100×鱼体蛋白增加值/摄入蛋白值。

能量沉积率(energy productive value, EPV, %) =  
100×鱼体能量增加值/摄入能量值。

叶黄素日摄食剂量[daily intake of xanthophylls, DIX, mg/(kg BW·d)] = 摄食率×各组饲料中叶黄素的含量

蓄积系数(bioaccumulation factor, BCF) =  $C_b/C_f$   
式中,  $C_b$  为受试物在鱼体皮肤(肌肉)中蓄积高峰浓度;  $C_f$  为饲料中该受试物浓度。

## 1.6 统计分析

所有实验数据用 STATISTICA 6.0 中 ANOVA 进行单因子方差分析, Duncan 氏法进行多重比较, 显著性水平  $P < 0.05$ , 所有数据以平均数±标准误(mean ± SE)表示。

## 2 结果

### 2.1 对黄颡鱼生长性能的影响

在黄颡鱼饲料中添加不同水平的叶黄素对其生长性能的影响见表 2。各组间存活率没有显著差异( $P > 0.05$ )。FR(除 L1700 组)较对照组无显著差异, 4 个天然叶黄素添加组的 FBW 和 SGR 显著高于对照组, FCR 显著低于对照组, L24.2 组的 PPV、L54.2 组和 L118 组及 L1700 组的 EPV 显著高于对照组( $P < 0.05$ )。这说明 24.2 ~ 1700 mg/kg 的天然叶黄素能够提高饲料的利用率, 对黄颡鱼的生长有一定的促进作用。

### 2.2 对黄颡鱼皮肤着色效果, 皮肤、肌肉中天然叶黄素含量和皮肤色差值的影响

90 d 试验结束时, 肉眼可见黄颡鱼体侧、腹部

皮肤黄色随着饲料中天然叶黄素添加浓度增加逐渐加深。各组皮肤中天然叶黄素的含量随添加量增加而显著升高( $P<0.05$ ), L118 组和 L1700 组肌肉中天然叶黄素的含量差异不显著, C、L24.2、L54.2 组肌肉中未检出叶黄素含量(检出限=0.05 mg/kg)(表 3), 这说明皮肤是黄颡鱼沉积叶黄素的主要器

官。BCF 呈现先升高后下降的趋势, L54.2 组与 L118 组没有显著差异, 显著高于 C、L24.2 组、L1700 组( $P<0.05$ ), 使用二次多项式回归分析得知, 黄颡鱼皮肤对天然叶黄素的最适蓄积量为 76.25 mg/kg 饲料, 此时黄颡鱼皮肤的蓄积效率最高(图 2)。

表 2 不同处理组对黄颡鱼生长性能的影响

Tab. 2 Effects of dietary xanthophylls on the growth performance of *P. fulvidraco*

项目 items	C	L24.2	L54.2	L118	L1700
鱼体初均重/g IBW	21.00±0.01	21.00±0.01	20.99±0.01	20.99±0.01	20.98±0.01
鱼体末均重/g FBW	34.47±1.52 <sup>a</sup>	39.88±1.82 <sup>b</sup>	41.10±1.76 <sup>b</sup>	41.53±0.69 <sup>b</sup>	40.33±2.34 <sup>b</sup>
存活率/% SR	100.0±0.00	100.0±0.00	100.0±0.00	100.0±0.00	97.5±2.5
特定生长率/% SGR	0.55±0.05 <sup>a</sup>	0.71±0.05 <sup>b</sup>	0.74±0.05 <sup>b</sup>	0.76±0.02 <sup>b</sup>	0.72±0.06 <sup>b</sup>
饲料系数 FCR	2.36±0.41 <sup>b</sup>	1.87±0.13 <sup>a</sup>	1.86±0.07 <sup>a</sup>	1.76±0.06 <sup>a</sup>	1.98±0.10 <sup>a</sup>
摄食率/% FR	1.25±0.03 <sup>a</sup>	1.26±0.02 <sup>a</sup>	1.33±0.05 <sup>ab</sup>	1.28±0.02 <sup>a</sup>	1.38±0.02 <sup>b</sup>
蛋白沉积率/% PPV	16.84±1.33 <sup>a</sup>	21.42±1.20 <sup>b</sup>	20.88±0.75 <sup>ab</sup>	20.62±0.55 <sup>ab</sup>	17.92±2.14 <sup>ab</sup>
能量沉积率/% EPV	27.79±1.49 <sup>a</sup>	31.94±2.11 <sup>ab</sup>	36.29±1.11 <sup>bc</sup>	40.51±2.30 <sup>b</sup>	34.90±5.13 <sup>bc</sup>
叶黄素日摄入量 /[mg/(kg·d)] DIX	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.31±0.01 <sup>ab</sup>	0.72±0.02 <sup>b</sup>	1.52±0.03 <sup>c</sup>	23.48±0.33 <sup>d</sup>

注: 表中每行不同的字母表示差异显著( $P<0.05$ ), 下表注释同此。

Notes: Different letters in the same row showed significant difference( $P<0.05$ ), the same as the following.

表 3 天然叶黄素对黄颡鱼皮肤、肌肉中的叶黄素含量和皮肤中蓄积系数的影响

Tab. 3 Effects of dietary xanthophylls on the concentration in skin and muscle of *P. fulvidraco* and BCF in skin

处理 treatments	皮肤中叶黄素的含量/(mg/kg) concentration of xanthophylls in skin	肌肉中叶黄素的含量/(mg/kg) concentration of xanthophylls in muscle	皮肤中蓄积系数 BCF in skin
C	1.19 ± 0.06 <sup>a</sup>	未检出	-
L24.2	5.93 ± 0.35 <sup>b</sup>	未检出	0.25 ± 0.02 <sup>b</sup>
L54.2	24.05 ± 1.74 <sup>c</sup>	未检出	0.44 ± 0.03 <sup>c</sup>
L118	45.38 ± 2.94 <sup>d</sup>	0.55 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.38 ± 0.01 <sup>c</sup>
L1700	57.73 ± 2.99 <sup>c</sup>	0.57 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.04 ± 0.00 <sup>a</sup>

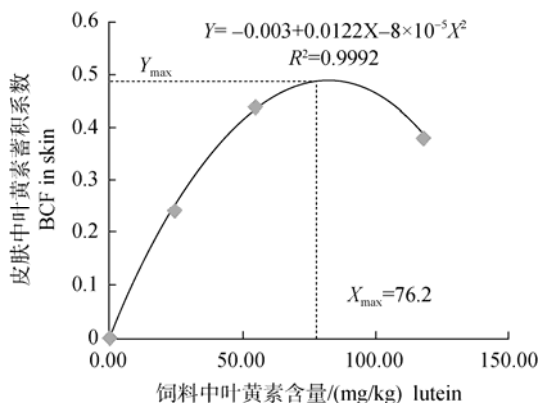


图 2 90 d 后饲料天然叶黄素与黄颡鱼皮肤中叶黄素蓄积系数的关系

Fig. 2 Relationship between dietary xanthophylls level and bioaccumulation factor (BCF) in skin of *P. fulvidraco* after 90 days oral exposure

黄颡饲料中添加天然叶黄素后对其皮肤色差值的影响见表 4。体侧和腹部皮肤的黄度  $b^*$  和饱和度  $c^*$  随着饲料中天然叶黄素添加浓度增加显著升高( $P<0.05$ ), 但 L118 组与 L1700 组之间没有显著差异( $P>0.05$ ), 并且 L118 组的腹部皮肤亮度  $L^*$  显著低于对照组( $P<0.05$ ), 说明 118 mg/kg 的添加量已经使皮肤黄色基本达到饱和。L24.2、L54.2、L1700 组腹部皮肤亮度  $L^*$  以及体侧皮肤的亮度  $L^*$  较对照组均没有显著差异( $P>0.05$ )。  $a^*$  为负值, 体侧和腹部皮肤的  $a^*$  与黄度  $b^*$ 、饱和度  $c^*$  呈现出相反的显著降低趋势, 其中 L54.2、L118、L1700 三组之间差异不显著( $P>0.05$ ), 但均显著低于 C、L24.2 组( $P<0.05$ )。

表 4 天然叶黄素对黄颡鱼皮肤色差值的影响  
 Tab. 4 Effects of dietary xanthophylls on the skin chromatic value in *P. fulvidraco*

项目 items	位置 location	C	L24.2	L54.2	L118	L1700
亮度 L*	体侧 lateral	43.11±1.08	43.44±1.29	44.31±2.29	44.87±1.43	44.59±1.20
lightness	腹部 ventral	79.22±0.87 <sup>b</sup>	78.54±0.50 <sup>b</sup>	76.56±0.54 <sup>ab</sup>	73.70±2.00 <sup>a</sup>	75.83±0.55 <sup>ab</sup>
黄度 b*	体侧 lateral	2.47±0.35 <sup>a</sup>	9.50±0.70 <sup>b</sup>	24.79±2.01 <sup>c</sup>	31.55±1.94 <sup>d</sup>	35.92±2.04 <sup>d</sup>
yellowness	腹部 ventral	4.97±0.85 <sup>a</sup>	24.15±1.19 <sup>b</sup>	55.71±1.70 <sup>c</sup>	70.91±1.16 <sup>d</sup>	71.26±2.84 <sup>d</sup>
饱和度 c*	体侧 lateral	3.02±0.29 <sup>a</sup>	10.08±0.66 <sup>b</sup>	25.66±2.12 <sup>c</sup>	32.30±2.01 <sup>d</sup>	35.60±1.36 <sup>d</sup>
chroma	腹部 ventral	6.42±0.87 <sup>a</sup>	24.99±0.50 <sup>b</sup>	56.58±0.54 <sup>c</sup>	71.62±2.00 <sup>d</sup>	71.91±0.55 <sup>d</sup>
红度 a*	体侧 lateral	-1.39±0.21 <sup>c</sup>	-3.29±0.22 <sup>b</sup>	-6.58±0.72 <sup>a</sup>	-6.69±0.60 <sup>a</sup>	-6.46±0.43 <sup>a</sup>
redness	腹部 ventral	-2.2±0.43 <sup>c</sup>	-6.33±0.41 <sup>b</sup>	-9.92±0.76 <sup>a</sup>	-9.82±0.47 <sup>a</sup>	-9.46±0.43 <sup>a</sup>

### 3 讨论

#### 3.1 天然叶黄素对黄颡鱼生长性能的影响

天然着色剂主要有两类:胡萝卜素类和叶黄素类,前者在水产动物中应用的典型代表是 $\beta$ -胡萝卜素,后者则是叶黄素和虾青素。最初饲料着色剂主要用于给水产动物的皮肤、肌肉、鳞片和家禽的羽毛、蛋黄、脚胫和皮肤着色,后来发现对动物自身生长、生产性能的发挥也有一定的促进作用。在一些水产动物上的研究表明,饲料中添加虾青素可以显著提高其生长性能:如饲喂天然雨生红球藻虾青素和天然饵料的斑节对虾后期幼体的生长率<sup>[12]</sup>和饲喂虾青素组大西洋鲑幼体的平均体质量<sup>[13]</sup>、雌性虹鳟后代的特定生长率和热生长系数(thermal growth coefficients)<sup>[14]</sup>、罗氏沼虾的增重率和存活率<sup>[15]</sup>均显著高于无虾青素组。

世界各国均允许万寿菊叶黄素在家禽饲料中作为着色剂使用,但大部分研究结果均显示其对家禽生产性能没有明显促进作用,如对蛋鸡<sup>[2,16]</sup>和肉用仔鸡<sup>[17]</sup>的生产性能、出壳雏鸡的初始体质量<sup>[18]</sup>均没有显著影响。近年来国内学者将其应用在鲶形目的研究上却表现出不同的效果:丁小峰等<sup>[19]</sup>添加金菊黄(万寿菊提取物,叶黄素含量 37.26 mg/kg)对均重 45.25 g 的黄颡鱼的生长指标影响不显著;在 61 g 左右的杂交鲶饲料中添加 200 mg/kg 的金黄素<sup>[20]</sup>效果同样如此。但是杨文平等<sup>[5-6]</sup>在黄颡鱼(10.4±0.1) g 的饲料中添加 0.1%~0.8%的金碧黄(叶黄素含量 $\geq$ 1.5%,玉米黄质含量 $\geq$ 35%)后,各试验组增重率和特定生长率较对照组均有所提高,其中 0.4%(约 60 mg/kg 叶黄素)和 0.8%(约 120 mg/kg 叶黄素)组的特定生长率显著高于 0.1%(约 15 mg/kg 叶黄素)和 0.2%(约 30 mg/kg 叶黄素)组。

本试验中万寿菊叶黄素对 21 g 左右的黄颡鱼也表现出了有规律的促生长作用,通过比较发现杨文平等<sup>[5-6]</sup>中和本实验中出现促生长的共同前提是万寿菊天然叶黄素的实际含量在 50 mg/kg 以上,作用对象都为黄颡幼鱼,而其他几项研究的叶黄素添加浓度和成鱼体质量均不在同一个水平上,而且鱼类在不同生长阶段胃肠道中优势消化酶不同,如在黄颡仔鱼发育过程中,淀粉酶比活力从 1 日龄逐渐增加至 4 日龄达到最大,10~18 日龄维持在较低水平,随后随日龄的增加淀粉酶比活力增加。脂肪酶比活力从 1 日龄到 3 日龄逐渐增加,到 3 日龄达到最大,3~30 日龄脂肪酶比活力随日龄的增加而降低,并且一直处于较低的水平<sup>[21]</sup>。故推测很可能是由于本实验中天然叶黄素的添加浓度范围能够显著刺激黄颡鱼某些胃肠道消化酶发挥活性,从而提高了饲料的利用率和营养物质的消化率,而表现出了明显地促生长效果。在狼鲈(*Dicentrarchus labrax*)<sup>[22]</sup>上的研究发现,添加的等鞭金藻(含有叶黄素)通过刺激狼鲈胰腺和肠道消化酶活性,尤其是胰岛素的活性而发挥作用来促进狼鲈的生长。在杨文平等<sup>[6]</sup>的研究中,添加 0.8%金碧黄极显著地提高了黄颡鱼肠蛋白酶活性和胃、肠、肝胰脏的淀粉酶活性,显著提高肠、肝胰脏脂肪酶活性,而表现出显著高的特定生长率。而且本试验中 24.2~118.0 mg/kg 范围内鱼体末均重数值随浓度呈上升趋势,杨文平等<sup>[6]</sup>中仅有 0.4%和 0.8%组表现出不同程度地提高黄颡鱼胃、肠、肝胰脏蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活性,这说明万寿菊叶黄素达到一定的添加浓度才能对幼体动物表现出促生长作用。

叶黄素和玉米黄质都是脂溶性色素,二者必

须溶解在脂肪中才能被小肠上皮细胞吸收。在人体上的研究表明, 饮食中的脂肪有利于类胡萝卜素在消化食糜流体中的分散, 并逐渐分散成乳剂, 乳剂中的脂肪在肠脂肪酶和胆汁的作用下形成混合型胶囊, 可以被小肠上皮细胞吸收, 脂肪的吸收促进了叶黄素和玉米黄质的吸收<sup>[23]</sup>。黄颡鱼饲料中脂肪适宜含量基本保持在 7%~9%, 市售的万寿菊提取物大都采用皂化工艺而使产品中带有部分油脂, 从而使饲料的粗脂肪含量有所升高, 其中最高剂量组脂肪含量提高 2%左右, 其中包括大量的脂溶性色素和其它脂溶性物质, 这些物质的能量较低。同时由于叶黄素载体中含有较高的矿物质, 导致最高剂量组灰分显著升高, 这也是该组饲料虽然粗脂肪升高, 但能量基本持平的主要原因。本试验中各组饲料脂肪含量适中, 可以满足黄颡鱼的脂肪需求, 保证叶黄素能够正常吸收, 天然叶黄素的吸收进一步提高了黄颡鱼胃肠道消化酶活性, 营养物质的消化率和利用率也相应地提高, 故黄颡鱼的生长和天然叶黄素的添加浓度呈现了规律性的正相关关系。

### 3.2 天然叶黄素及类胡萝卜素对鱼类体色的影响

鱼类的体色是由体色变化的生理学和形态学共同决定的, 生理学机理主要是色素颗粒的聚集或扩散, 以及主要受神经调节和激素调节的机理。形态学则主要涉及色素细胞和色素颗粒量的变化及色素细胞在表皮层中的迁移。鱼体黄、红、淡红体色主要依赖于红色素细胞和黄色素细胞中的类胡萝卜素在皮肤、鳞片、鳍、肌肉中的含量和分布, 迄今为止, 在鱼类中发现的类胡萝卜素主要有碳氢型(如 $\beta$ -胡萝卜素)和碳氢氧型(如叶黄素、玉米黄素、金枪鱼黄质、虾青素、角黄质等)。由于对类胡萝卜素代谢能力的差异导致不同种类的鱼类体内起显色作用的类胡萝卜素不同, 从而皮肤或肌肉显现出不同的颜色。如虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)、大西洋鲑(*Salmo salar*)等鲑鳟鱼类以及真鲷(*Pagrus pagrus*)的肌肉呈红色或者淡红色; 黄颡鱼、胡子鲶、大黄鱼、金枪鱼(*Tuna*)等皮肤呈黄色; 金鱼(*Carassius auratus*)、锦鲤(*Brocarded carp*)、孔雀鱼(*Poecilia reticulata*)等观赏鱼呈现五彩斑斓的彩色。虹鳟、黄颡鱼等能将 $\beta$ -胡萝卜素、黄体素、玉米黄质直接吸收并贮存在体内; 金鱼等可将黄体素、玉米黄质和少量的 $\beta$ -胡萝卜素转变成虾青

素贮存于体内, 或者将虾青素直接贮存于体内。针对不同鱼类贮存色素的途径不同, 人们采用不同的着色剂给集约化养殖中褪色的鱼体着色, Baker等<sup>[24]</sup>发现用虾青素和角黄素均可给大西洋鲑肌肉着色; Tejera等<sup>[25]</sup>发现真鲷能有效利用天然和人工合成的虾青素, 使其体色接近野生鱼体色; 冷向军等<sup>[4]</sup>发现在饲料中添加天然叶黄素能够有效改善胡子鲶皮肤的体色。

虽然类胡萝卜素主要沉积在皮肤、肝脏、性腺、肌肉、内脏脂肪、鳍等部位, 但是不同器官对类胡萝卜素的沉积能力不同, 通常皮肤对类胡萝卜素的沉积能力大于肌肉。甚至鱼体不同部位的同一器官对类胡萝卜素的沉积能力也有差异: 如用虾青素添加量为 43.7~49.7 mg/kg 的饲料饲喂虹鳟, 25 周后尾部肌肉类胡萝卜素的含量均显著高于背部和腹部肌肉, 说明虹鳟尾部对虾青素的沉积能力高于背部和腹部<sup>[26]</sup>。本实验中用 24.2~1700.0 mg/kg 的天然叶黄素饲喂黄颡鱼, 90 d 后皮肤中叶黄素的含量[(5.93~57.73) mg/kg]远远高于肌肉中叶黄素含量[(0.14~0.43) mg/kg], 而且从 L118 组肌肉中才检测到叶黄素(检出限=0.05 mg/kg), 这说明黄颡鱼皮肤是沉积天然叶黄素的主要部位, 肌肉几乎不沉积叶黄素。体侧和腹部皮肤 b\*和 c\*均与天然叶黄素的添加浓度正相关, 其中腹部 b\*和腹部饱和度 c\*, L1700 组较 L54.2 组分别增加了 27.91%、27.09%; 而 L118 组较 L54.2 组分别增加了 27.28%、26.36%, 由此可见, 与 L54.2 组相比, L1700 组较 L118 组的腹部 b\*和腹部 c\*几乎没有变化, 仅分别增加了 0.63%、0.73%; 说明即使摄入最适剂量 10 倍以上的天然叶黄素, b\*值和 c\*值也受到黄颡鱼体内运输叶黄素的脂蛋白的数量和合成速度的限制而未显著增加, 进一步说明 118.0 mg/kg 的添加量已经使脂蛋白处于合成与代谢的平衡期, 此时黄颡鱼的皮肤色度基本达到饱和, 且逐步向肌肉转移。这与 Connor 等<sup>[27]</sup>的结论一致, 其表明天然叶黄素的运输速度与脂蛋白的数量密切相关。腹部亮度 L\*呈现出完全相反的趋势, 即随腹部皮肤黄色的加深而降低。根据蓄积系数的公式可知, 并非饲料中添加的浓度越高, 蓄积效率就越高, 其反应了黄颡鱼对天然叶黄素的吸收能力, 黄颡鱼对 76.25 mg/kg 表现出最高的蓄积系数, 结合皮肤色差值、皮肤和肌肉叶黄素浓度及皮肤感官色泽评价, 以



叶黄素在皮肤中的蓄积系数为评价指标,根据二次回归曲线模型确定 76.25 mg/kg 的天然叶黄素能使黄颡鱼皮肤有效着色,着色色度更易被养殖者和消费者接受,与之对应的叶黄素日摄入量推荐剂量为 0.72 mg/(kg·d)。

### 3.3 天然叶黄素对动物安全的影响

天然叶黄素对人类的眼睛和癌症具有潜在的益处,而且 2006 年美国 FDA 重新颁布了天然叶黄素的健康合格声明<sup>[28]</sup>(US-FDA, 2006)。流行病学的研究表明,人类和动物摄入充足的含有叶黄素和玉米黄质的蔬菜和水果后能够降低疾病发生的风险。叶黄素和玉米黄质能够降低老年性视黄斑<sup>[29]</sup>和白内障<sup>[30]</sup>的发病几率,降低某些癌症的发病风险,特别是乳腺癌和肺癌;新兴的研究表明,对预防心血管疾病(如动脉粥样硬化)有一定的作用<sup>[31]</sup>。但大部分对其益处的研究中都没有指出其是否有副作用,目前仅在大鼠和恒河猴上评估了其安全性。Ravikrishnan 等<sup>[32]</sup>研究发现,在 14 d 的急性毒性实验试验中,给予 Lutemax 2020<sup>TM</sup>(含叶黄素和玉米黄质)2 000 mg/kg 的口服剂量,大鼠没有表现出任何毒性反应和病理学异常。Khachik 等<sup>[33]</sup>给 2.8~4.4 kg 的恒河猴饲喂 9.34 mg/kg 叶黄素和 0.66 mg/kg 玉米黄质 12 个月,也没有导致视觉障碍,这都说明万寿菊叶黄素是安全的。本研究中 L1700 组(正常摄入量的 10 倍以上)出现了一定程度的存活率降低,但是统计学表明与其他 4 组没有显著差异,而且生长性能和着色效果较对照组有明显的改善。死亡的 3 尾鱼死因主要是相互攻击的物理伤害所致,而非叶黄素导致的毒理学病变,故认为万寿菊提取的天然叶黄素在水产动物上正常应用是安全的。

由于鱼类褪色现状的市场需求,我国近几年才开始对天然叶黄素在水产动物上进行大量的研究,但是研究大都停留在着色、生长、酶活、血液等方面,对其安全性和代谢机理的研究还未见报道,建议研究的深度放宽,可借鉴陆生动物,从微观层面的基因毒性、诱变毒性和宏观层面的临床、眼科、器官、后代的遗传性等方面进行探究。

## 4 结论

90 d 的实验结果表明:一定浓度的天然叶黄素对黄颡鱼的生长表现出促进作用,天然叶黄素给

黄颡鱼着色的饲料中适宜含量为 76.25 mg/kg 饲料,与之最接近的叶黄素日摄入剂量为 0.72 mg/(kg·d)。累积 90 d 黄度基本达到饱和的添加量为 118 mg/kg 饲料。

### 参考文献:

- [1] Ribaya-Mercado J D, Blumberg J B. Lutein and zeaxanthin and their potential roles in disease prevention[J]. *Journal of the American College of Nutrition*, 2004, 23(6): 567S-587S
- [2] Gomez R, Alonso A, Martin M. Carotenoid absorption in chicken intestine[J]. *Revista Espanola de Fisiologia*, 1978, 34(3): 257-259.
- [3] 周良娟, 计成, 李玉欣, 等. 几种天然叶黄素对三黄肉鸡着色效果的研究[J]. *饲料工业*, 2003, 24(4): 36-40.
- [4] 冷向军, 李小勤, 韦友传, 等. 饲料中添加叶黄素对胡子鲶体色的影响[J]. *水产学报*, 2003, 27(1): 38-42.
- [5] 杨文平, 王爱民. 饲料天然着色剂对黄颡鱼生产性能和生理机能的影响[J]. *饲料工业*, 2010, 31(22): 15-18.
- [6] 杨文平, 王爱民, 孙雪. 饲料中着色剂对黄颡鱼生长和消化酶活性的影响[J]. *安徽农业科学*, 2008, 36(35): 15516-15518.
- [7] 吴华昌, 邓静. 叶黄素对黄腊丁体色影响的研究[J]. *粮食与饲料工业*, 2005, (10): 37-42.
- [8] US Food and Drug Administration, 2011. Title 21-- Food and Drugs chapter--Food and Drug Administration department of health and human services subchapter A-GENERAL, part 73-listing of color additives exempt from certification. <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?73.295>[Z].
- [9] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫局, 中国国家标准化委员会. GB/T 22488-2008. 水产饲料安全性评价—亚急性毒性试验规程[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [10] European Food Safety Authority. Technical Guidance: Tolerance and efficacy studies in target animals, prepared by the Panel on Additive and Products or Substances used in Animal Feed [J]. *The EFSA Journal*, 2008, 778: 1-14.
- [11] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫局, 中国国家标准化委员会. GB/T 23187-2008 饲料中叶黄素的测定 高效液相色谱法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [12] Darachai J, Piyatiratitivorakul S, Kittakoop P, et al. Effects of astaxanthin on larval growth and survival of the giant tiger prawn, *Penaeus monodon*[C]// Flegel T W, Ed. *Advances in shrimp biotechnology*. Center for Genetic Engineering and Biotechnology, Bangkok, 1998, 117-121
- [13] Christiansen R, Torrissen O J. Growth and survival of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. fed different dietary levels of astaxanthin Juveniles[J]. *Aquaculture Nutrition*,

- 1996, 2(1): 55–62
- [14] Bazyar Lakeh A A, Ahmadi M R, Safi S, *et al.* Growth performance, mortality and carotenoid pigmentation of fry offspring as affected by dietary supplementation of astaxanthin to female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) broodstock [J]. *Journal of Applied Ichthyology*, 2010, 26(1): 35–39
- [15] 金征宇, 过世东, 吕玉华. 饲料中添加富含虾青素的法夫酵母对罗氏沼虾的体色及生长状况的影响[J]. *饲料工业*, 1999, 20(10): 29–31
- [16] 张志刚, 朱博. 叶黄素对鸡生产性能和蛋白质的影响[J]. *饲料广角*, 2009 (16): 42–47
- [17] Perez-Vendrell A M, Hernandez J M, Llauro L, *et al.* Influence of source and ratio of xanthophyll pigments on broiler chicken pigmentation and performance[J]. *Poultry Science*, 2001, 80(3): 320–326.
- [18] Haq A U, Bailey C A. Immune response and growth performance of chicks hatched from single comb white leghorn breeders fed diets supplemented with  $\beta$ -carotene, canthaxanthin, or lutein [J]. *Poultry Science*, 1995, 74(5): 844–851.
- [19] 丁小峰, 叶元土, 蒋蓉, 等. 饲料色素对黄颡鱼生长和生理机能的影响[J]. *粮食与饲料工业*, 2008 (9): 39–48.
- [20] 史少奕, 冷向军, 李小勤, 等. 叶黄素添加和制粒方式对杂交鲢体色的研究[J]. *饲料研究*, 2009 (8): 4–7.
- [21] 李芹, 龙勇, 屈波, 等. 瓦氏黄颡鱼仔稚鱼发育过程中消化酶活性变化研究[J]. *中国水产科学*, 2008, 15 (1): 73–78.
- [22] Cahu C L, Zambonino Infante J L, Peres A, *et al.* Algal addition in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae rearing: effect on digestive enzymes [J]. *Aquaculture*, 1998, 161(1-4): 479–489.
- [23] Eiichi K N E, Akihiko N. Absorption and metabolism of xanthophylls[J]. *Marine Drugs*, 2011, 9(6):1024–1037.
- [24] Baker R T M, Pfeiffer A M, Schoner F J, *et al.* Pigmenting efficacy of astaxanthin and canthaxanthin in fresh-water reared Atlantic salmon, *Salmo salar*[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2002, 99(1-4): 97–106.
- [25] Tejera N, Cejas J R, Rodríguez C, *et al.* Pigmentation, carotenoids, lipid peroxides and lipid composition of skin of red porgy (*Pagrus pagrus*) fed diets supplemented with different astaxanthin sources[J]. *Aquaculture*, 2007, 270(1-4): 218–230.
- [26] Nickell D C, Bromage N R, Higuera M D L. The effect of dietary lipid level on variation of flesh pigmentation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Aquaculture*, 1998, 161(1/4): 237–251.
- [27] Connor W E, Duell P B, Kean R, *et al.* The prime role of HDL to transport lutein into the retina: evidence from HDL-Deficient WHAM chicks having a mutant ABCA1 transporter[J]. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2007, 48(9):4226–4231.
- [28] US-FDA, 2006. Qualified Health Claims. Rockville, MD. <http://www.fda.gov/food/labelingnutrition/labelclaims/qualifiedhealthclaims/ucm073291.htm>[Z].
- [29] Mares-Perlman J A, Fisher A I, Palta M, *et al.* Lutein and zeaxanthin in the diet and serum and their relation to age-related maculopathy in the third national health and nutrition examination survey[J]. *Epidemiology*, 2001, 153(5): 424–432.
- [30] Gale C R, Hall N F, Phillips D I, *et al.* Plasma antioxidant vitamins and carotenoids and age-related cataract[J]. *Ophthalmology*, 2001, 108(11): 1992–1998.
- [31] Dwyer J H, Navab M, Dwyer, K M, *et al.* Oxygenated carotenoid lutein and progression of early atherosclerosis[J]. *Circulation*, 2001, 103(24): 2922–2927.
- [32] Ravikrishnan R, Shraddha R, Ilamurugan G, *et al.* Safety assessment of lutein and zeaxanthin (Lutemax 2020): Subchronic toxicity and mutagenicity studies[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2011, 49(11): 2841–2848.
- [33] Khachik F, London E, de Moura F F, *et al.* Chronic ingestion of (3R, 3'R, 6'R)-lutein and (3R, 3'R)-zeaxanthin in the female rhesus macaque[J]. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2006, 47(12): 5476–5486.



## Effect of natural xanthophylls on growth performance and body pigmentation of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*)

WANG Lu-bo, XUE Min\*, WANG Jia, WU Xiu-feng, ZHENG Yin-hua, CAO Chun-yan

(Feed Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

**Abstract:** A 90 d experiment was conducted to investigate the effects of dietary natural lutein levels on growth, and body pigmentation of *Pelteobagrus fulvidraco*. Five experimental diets were designed with 0%, 0.15%, 0.3%, 0.6% and 8% of test compound and the highest dose was ten times more than possible dose. Five extruded pellets were determined xanthophylls dosage as non detected, 24.2, 54.2, 118 and 1700 mg/kg, respectively, which were named C, L24.2, L54.2, L118 and L1700 accordingly. Each treatment was randomly assigned four replicates with 30 fish in each tank. We found pigment inclusion did significantly enhance growth performance and feed efficiency of *P. fulvidraco*. Productive protein value of L24.2 group, energy productive values of L54.2, L118, L1700 groups were significantly higher than those of control group ( $P < 0.05$ ). Yellowness ( $b^*$ ) and saturation ( $c^*$ ) of lateral and ventral skin obviously increased until they reached saturation in L118, which showed no difference with L1700 group ( $P > 0.05$ ). Pigmentation of skin in L118 and L1700 deposited excessively and transferred into muscle. Bioaccumulation factor of skin pigment increased firstly and then decreased, the highest in fish fed 76.25 mg/kg diet. The results showed 24.2-1700 mg/kg pigment inclusion significantly improved growth performance of *P. fulvidraco*. The optimum concentration of pigment as a colorant in yellow catfish was 76.25 mg/kg feed.

**Key words:** *Pelteobagrus fulvidraco*; xanthophylls; growth performance; pigmentation

**Corresponding author:** XUE Min. E-mail: xuemin@caas.net.cn