

文章编号:1000-0615(2009)06-0987-09

虾青素和角黄素对虹鳟肌肉着色和肝脏总抗氧化能力的影响

崔惟东, 冷向军, 李小勤, 李向南, 徐捷

(上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

摘要:分别在基础饲料(对照组)中添加100 mg/kg的虾青素、角黄素,混合色素(50 mg/kg 虾青素+50 mg/kg 角黄素)饲喂初始体重为(56.60±0.63) g的虹鳟60 d,考察虾青素和角黄素对虹鳟肌肉着色和肝脏总抗氧化能力的影响。结果显示,饲料中添加了虾青素、角黄素和混合色素后对虹鳟增重率、饲料系数及肌肉常规成分、肌肉失水率、含肉率均无显著影响($P > 0.05$)。虾青素组、角黄素组和混合色素组虹鳟肌肉的比色卡得分、红度、虾青素含量和血清总类胡萝卜素含量均比对照组有显著提高($P < 0.05$);虾青素组虹鳟肌肉比色卡得分(26.25)和红度值(18.40)显著高于角黄素组(22.38, 14.13)和混合色素组(24.00, 15.70) ($P < 0.05$);虾青素组虹鳟肌肉虾青素含量为4.75 mg/kg (30 d)和6.45 mg/kg (60 d),均显著高于混合色素组的3.87 mg/kg (30 d)和5.48 mg/kg (60 d) ($P < 0.05$);在虹鳟血清总类胡萝卜素含量方面,虾青素组 > 混合色素组 > 角黄素组;虾青素组、角黄素组、混合色素组虹鳟肝脏的总抗氧化能力之间无显著差异($P > 0.05$),分别为2.39 U/mg, 2.25 U/mg, 2.39 U/mg,均较对照组(2.03 U/mg)显著提高($P < 0.05$)。上述结果表明:饲料中添加100 mg/kg 虾青素、角黄素及虾青素+角黄素混合(1:1)均能有效改善虹鳟肌肉颜色,提高肝脏总抗氧化能力,虾青素、虾青素+角黄素混合(1:1)对虹鳟肌肉的着色效果优于角黄素。

关键词:虹鳟;虾青素;角黄素;着色;总抗氧化能力

中图分类号:S 963.73⁺⁵

文献标识码:A

虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)肌肉的红色程度被认为是评价其品质的重要指标^[1],虹鳟肌肉的红色主要来自虾青素的沉积^[2],由于自身不能合成^[3],因此人工养殖时必须要在饲料中添加着色剂以改善肌肉颜色满足市场需求。目前关于虹鳟肌肉着色的研究在国外已有较多报道,但国内研究甚少。研究表明在饲料中添加100 mg/kg的虾青素饲喂虹鳟,体重从0.13 g长到3 kg的过程中,虹鳟肌肉虾青素含量最高可达到20 mg/kg^[4];角黄素对虹鳟肌肉的着色也有一定的效果^[5],由于市场上虾青素的价格昂贵,因此也有将虾青素和角黄素混合使用的报道^[6]。虾青素的来源有人工合成和天然动植物提取物[如红法夫酵母(*Xanthophyllomyces dendrorhous*)^[7]、雨生红球藻(*Haematococcus pluvialis*)^[8]、甲壳动物废弃物^[9]

等],但目前用到商业化生产的虾青素均为人工合成,主要由DSM公司(原Roche公司业务)生产。在此背景下,广州智特奇生物科技有限公司率先在国内开展了虾青素的人工合成研究,其产品应用于观赏鱼血鹦鹉的着色已取得了较好的效果^[10]。本次试验以对肌肉红色有较高要求的经济鱼类虹鳟为研究对象,在饲料中添加国产虾青素和角黄素,考察对虹鳟生长、肌肉色泽以及肝脏抗氧化能力的影响,为着色剂在水产饲料中的合理应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计和试验饲料

以基础饲料作为对照组,在基础饲料中分别添加100 mg/kg 虾青素,100 mg/kg 角黄素,50

收稿日期:2008-07-02 修回日期:2008-08-24

资助项目:上海市重点学科建设项目(Y1101)

通讯作者:冷向军,E-mail: xjleng@shou.edu.cn

mg/kg 虾青素 + 50 mg/kg 角黄素(均为有效含量,以下简称混合色素组)。共4个处理组,每个处理设置3个平行,每个平行20尾鱼。

基础饲料配方组成见表1,其中虾青素的含量为10.89 mg/kg。虾青素和角黄素,由广州智

特奇生物科技有限公司生产和提供,纯度均为10%的人工合成色素。

各组原料均粉碎过40目,混合均匀,由挤压机制成粒径2.5 mm的硬颗粒沉性饲料,晾干密封装箱备用。

表1 基础饲料配方组成

Tab.1 Formulation and chemical composition of basal diet

组成 ingredients	含量(%) content	营养指标 nutrition index	含量(%) content
鱼粉 fish meal	61.07	水分 moisture	12.06
豆粕 soybean meal	15.43	粗蛋白 crude protein	42.00
次粉 wheat meal	17.00	粗脂肪 crude lipid	10.55
鱼油 fish oil	2.50	粗灰分 crude ash	8.83
大豆油 soybean oil	1.50	钙 calcium	3.31
矿物质预混料* mineral premix	0.50	磷 phosphorus	2.24
多维预混料** vitamin premix	0.50	精氨酸 Arg	2.59
氯化胆碱 choline chloride	0.50	蛋氨酸+胱氨酸 Met + Cys	1.48
磷酸二氢钙 monocalcium phosphate	1.00	赖氨酸 Lys	3.08
总计 total	100.00		

注:* 矿物质预混料以沸石粉作为载体,每千克含硫酸镁219 g;硫酸亚铁12.4 g;碘化钾0.4 g;硫酸铜3 g;硫酸锌4 g;硫酸钴0.2 g;硫酸锰3 g;亚硒酸钠0.365 g。 ** 多维预混料以玉米蛋白作为载体,每千克含V_A 7 500 000 IU;V_D 15 000 IU;V_E 3 000 IU;V_K 0.25 g;V_{B1} 0.75 g;V_{B2} 1.5 g;V_{B6} 0.75 g;烟酸8.75 g;V_C 25 g;叶酸0.25 g;V_{B12} 0.025 g;肌醇50 g;V_H 0.12 g;泛酸钙2.5 g

Notes: * Mineral mix contained the following ingredients (g/kg mix): MgSO₄, 219; FeSO₄, 12.4; KI, 0.4; CuSO₄, 3; ZnSO₄, 4; CoSO₄, 0.2; MnSO₄, 3; Na₂SeO₄ 0.365. ** Vitamin mix contained the following mixed with zein (g/kg mix): vitamin A 7 500 000 IU; vitamin D 15 000 IU; vitamin E 3 000 IU; vitamin K 0.25 g; thiamin 0.75 g; riboflavin 1.5 g; pyridoxine 0.75 g; nicotinic acid 8.75 g; vitamin C 25 g; folic acid 0.25 g; vitamin B12 0.025 g; inositol 50 g; biotin 0.12 g; calcium pantothenate 2.5 g

1.2 试验用鱼

试验用鱼购自黑龙江水产研究所渤海冷水性鱼类试验站,平均体重为(56.60 ± 0.63) g。

1.3 试验条件和饲养管理

取体质健壮规格一致的虹鳟分别饲养于12口控温、充气的循环养殖缸内(0.8 m × 0.5 m × 0.5 m),每缸20尾鱼,共240尾。鱼种购回后暂养20 d以适应环境,正式试验时每天投喂两次(9:00,16:00),日投饵率为体重的2%~3%,并根据摄食情况和鱼体生长作适当调整,以每次投饲后无残饵为宜。实验期间水温(14.0 ± 1.0) °C, pH(7.46 ± 0.5), DO ≥ 7.0 mg/L, NH₄⁺-N ≤ 0.5 mg/L。正式试验于2008年1月11日-2008年3月10日在上海海洋大学生态养殖实验室进行,共60 d。

1.4 测定指标与方法

生长性能 养殖试验结束后,鱼体饥饿24 h称重,计算增重率、成活率、饲料系数等。

增重率(%) = (末重 - 初重) / 初重 × 100;

成活率(%) = 试验末鱼尾数 / 试验初鱼尾数 ×

100;

饲料系数 = 总摄食量 / (末重 - 初重)。若养殖过程中有死鱼,则饲料系数 = 总摄食量 / (末重 - 初重 + 死鱼重量)。

肌肉基本成分 试验结束后每缸采3尾鱼(每个处理共9尾),分别从头部与背鳍前部之间、背鳍向后与脂鳍之间、脂鳍与尾鳍之间的白肌部分取3块肉块各约10 g,剪碎成均一的混合物以分析水分、粗蛋白、粗脂肪、粗灰分。水分采用105 °C烘干法(GB/T5009);粗蛋白采用凯氏定氮法(GB/T5009.5);粗脂肪采用氯仿-甲醇抽提法^[11];灰分采用灼烧法(GB/T5009.4);另取背部肌肉约10 g在-20 °C下冷冻保存待测失水率。

失水率和含肉率 失水率参考任泽林等^[12]试验方法,采取鱼体背部肌肉,称重W₀,而后放于沸腾水中煮5 min,捞出冷却,吸去鱼肉表面水分,称重为W₁,计算失水率(%) = (W₀ - W₁) / W₀ × 100。

含肉率参考 Trond^[7]的方法并作修改,取完整的鱼用纸擦干后称重W₁,将内脏、鳃取出,剥除

带磷的皮,擦干一起称重 W_2 ,用锡箔纸将擦干后的胴体包好置于 $200\text{ }^\circ\text{C}$ 下烘 45 min ,取出冷却后剥除锡箔纸,最后再将肌肉剥除称量骨架、鳍条和整个头骨的重 W_3 ,计算含肉率($\%$) = $(W_1 - W_2 - W_3) / W_1 \times 100$ 。

肌肉颜色的比色卡和色差计测定 养殖 30 d 和 60 d 后,各缸分别取鱼 3 尾,采血剥皮,取下侧线与背脊之间的白肌部分,用纸吸干,用比色卡和色差计测量朝向脊椎一面,每条鱼两侧各测两次,测定指标为亮度、红度、黄度、色度和色调。

比色卡(*Salmo Fan*TM Lineal),来自 DSM 公司,从 20 至 34 由浅到深共分 15 个颜色梯度,颜色的深浅可表明肌肉虾青素和角黄素的含量。

WSC-S 测色色差计(上海精密科学仪器有限公司),工作白板的初始校正值为亮度 L^* (luminance) = (91.92 ± 0.05) ,红度 a^* (redness) = (-0.52 ± 0.20) ,黄度 b^* (yellowness) = (3.00 ± 0.42) ,色度 c^* (chroma) = (3.05 ± 0.45) ,色调 h (hue) = (99.47 ± 2.90) 。

肌肉虾青素的测定 取 0.1 g 虾青素标准品(购自 Sigma 公司)溶于氯仿-乙醇(1:1)中,分别逐步稀释至 $1\text{ }\mu\text{g/mL}$, $5\text{ }\mu\text{g/mL}$, $10\text{ }\mu\text{g/mL}$, $20\text{ }\mu\text{g/mL}$,在 487 nm 下测吸光度值,并以虾青素的含量($\mu\text{g/mL}$)为横坐标自变量(x),测得的吸光度为纵坐标应变量(y)做回归曲线,得方程 $y = 0.1052x - 0.0153$ ($R^2 = 0.9998$)。可以得出在虾青素 $1\sim 20\text{ }\mu\text{g/mL}$ 的含量范围之内,虾青素含量和吸光度的关系为直线。

虾青素的测定参考陈晓飞等^[13],并作修改如下:每尾鱼在侧线以上的背脊白肌部分取 4 g 左右的肉块分别测定,加入氯仿-乙醇(1:1)混合试剂 4 mL 稀释 10 倍,剪碎匀浆至悬浊液状,转移至 7 mL 的离心管 $50\text{ }^\circ\text{C}$ 水浴, 45 min 后取出 8 000 r/min 离心 10 min ,取上清液在 487 nm 下测定吸光度值。

血清类胡萝卜素含量的测定 将饥饿 24 h 的虹鳟麻醉后尾部静脉抽血, 8 000 r/min 离心 10 min ,取血清,每个处理采 9 尾鱼。取 0.2 mL 血清加入 0.4 mL 95% 乙醇斡旋混合 30 s ,加入 1 mL 正己烷斡旋混合 1 min , 1 000 r/min 离心 5 min ,取上层液在一定波长下测吸光度值^[14]。血清类胡萝卜素含量($\mu\text{g/mL}$) = 吸光度值 $\times 10\text{ 000}$ /消旋系数 $E^{1\%}_{1\text{cm}}$, 虾青素($E^{1\%}_{1\text{cm}} = 2\text{ 100}$)

在 470 nm 下测吸光度值,角黄素($E^{1\%}_{1\text{cm}} = 2\text{ 260}$) 在 466 nm 下测吸光度值^[16]。混合色素组的含量为分别测得的虾青素和角黄素两者含量之和。

虾青素的肌肉沉积率参考 Wathne 等^[17]的方法,沉积率 $\text{Ret}(\%) =$

$$\left[\frac{(\text{末重} \times \text{末虾青素浓度}) - (\text{初重} \times \text{初始虾青素浓度})}{(\text{末重} - \text{初重}) \times \text{饲料系数} \times \text{饲料中虾青素的浓度}} \right] \times \text{含肉率} \times 100$$

由于对照组和角黄素组饲料中未添加虾青素,故这两组虹鳟肌肉虾青素的沉积率未进行计算。

肝脏总抗氧化能力 T-AOC 的测定 采用南京建成工程研究所试剂盒。测定原理为肝脏中的抗氧化物质能将 Fe^{3+} 还原成 Fe^{2+} ,后者可与非咪类物质形成稳固的络合物,通过比色可测出其抗氧化能力的高低。结果以每毫克蛋白中的活力表示。

计算和统计分析 试验数据采用(平均数 \pm 标准差)表示,用 SPSS 11.0 进行单因素方差分析,结合 Duncan 氏法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 虾青素和角黄素对虹鳟生长性能影响

由表 2 可见,养殖 60 d 时各组虹鳟之间的末重、增重率、饲料系数、成活率均无显著性差异($P > 0.05$),但角黄素组在数值上降低了增重率($P = 0.073$),增大了饲料系数($P = 0.179$)。

2.2 虾青素和角黄素对虹鳟肌肉成分和失水率、含肉率的影响

由表 3 可得,60 d 时各组虹鳟肌肉之间的营养成分无显著差异($P > 0.05$);肌肉失水率、含肉率之间也无显著性差异($P > 0.05$)。

2.3 虾青素和角黄素对虹鳟肌肉颜色的影响

在养殖 30 d、60 d 后分别对各组虹鳟肌肉颜色进行比色卡和色差测定(表 4,表 5)。

30 d 时,从肉眼观察可见对照组虹鳟肌肉几乎无色,在比色卡上无法读数。虾青素组、角黄素组和混合色素组肌肉的颜色均为橙色,其比色卡值间无显著差异($P > 0.05$),但虾青素组的比色卡值在数值上要略高于其他两组($P = 0.075$);虾青素组在红度上显著高于其它组($P < 0.05$),在亮度上显著低于角黄素组($P < 0.05$)。在黄

度、色度上虾青素组、角黄素组和混合色素组的值无显著差异($P > 0.05$)。

60 d时,从肉眼观察可见对照组虹鳟肌肉为很浅的红色,但仍无法从比色卡上读数,虾青素组、角黄素组和混合色素组虹鳟肌肉的颜色为橙红色,较30 d时色泽更深更红,其中虾青素组肌肉的橙红色最深。60 d时虾青素组、角黄素组和

混合色素组虹鳟肌肉比色卡得分、红度、黄度、色度均较30 d时有较大幅度增加,而亮度和色调值下降。在3个色素组中虾青素组在比色卡得分、红度、黄度、色度上均显著高于其它两组($P < 0.05$),角黄素组在上述指标值中为最低,而混合色素组则介于其间。

表2 虾青素和角黄素对虹鳟生长性能影响

Tab.2 Effects of astaxanthin and canthaxanthin on growth performance of rainbow trout

	对照组 Con	虾青素组 Ax	角黄素组 Cx	混合色素组 AC
初始体重(g) initial body weight	56.61 ± 0.96	56.63 ± 1.13	56.61 ± 0.64	56.58 ± 0.85
末重(g) final body weight	159.84 ± 10.51	156.04 ± 6.79	142.05 ± 13.19	147.22 ± 8.61
增重率(%) weight gain	157.94 ± 14.12	156.25 ± 11.83	139.77 ± 10.66	153.37 ± 1.18
饲料系数(%) feed conversion ratio	1.11 ± 0.01	1.12 ± 0.02	1.23 ± 0.08	1.13 ± 0.01
存活率(%) livability	96.67 ± 5.77	100 ± 0.00	90.00 ± 8.67	98.33 ± 2.89

注:1.同一行的平均值中具不同上标字母者表示差异显著($P < 0.05$),以下各表同;2.对照组(control),虾青素组(astaxanthin),角黄素组(canthaxanthin),混合色素组(astaxanthin + canthaxanthin)分别以Con,Ax,Cx,AC表示,以下各表同

Notes: 1. Values with different superscripts in the same row are significantly different from each other ($P < 0.05$). The same as following tables;2. Con = control, Ax = astaxanthin, Cx = canthaxanthin, AC = astaxanthin + canthaxanthin. The same as following tables

表3 虾青素和角黄素对虹鳟肌肉成分和失水率、含肉率影响

Tab.3 Effects of astaxanthin and canthaxanthin addition on muscle composition, water loss rate and muscle percentage of rainbow trout

	对照组 Con	虾青素组 Ax	角黄素组 Cx	混合色素组 AC
水分(%) moisture	73.07 ± 1.38	73.84 ± 0.90	73.50 ± 0.70	71.92 ± 1.29
粗蛋白(% DM) crude protein	71.09 ± 0.61	71.48 ± 0.83	71.35 ± 0.35	71.21 ± 0.14
粗脂肪(% DM) crude lipid	13.64 ± 0.28	13.61 ± 0.13	13.60 ± 0.38	13.55 ± 0.18
粗灰分(% DM) crude ash	5.10 ± 0.72	4.83 ± 0.58	5.37 ± 0.77	5.46 ± 0.47
失水率(%) water loss rate	29.58 ± 3.08	28.20 ± 1.99	28.49 ± 2.84	27.18 ± 1.33
含肉率(%) muscle percentage	75.95 ± 1.78	76.15 ± 1.64	75.71 ± 3.19	76.10 ± 1.38

表4 30 d时虾青素和角黄素对虹鳟肌肉颜色的影响

Tab.4 Effects of astaxanthin and canthaxanthin addition on muscle color of rainbow trout after 30 days feeding

	对照组 Con	虾青素组 Ax	角黄素组 Cx	混合色素组 AC
比色卡得分 <i>SalmoFan</i> score	未测出	22.2 ± 0.44	20.33 ± 0.58	20.5 ± 0.58
红度 redness	-0.82 ± 0.85 ^a	10.77 ± 0.20 ^c	6.95 ± 1.47 ^b	7.12 ± 1.41 ^b
亮度 luminance	50.75 ± 1.92 ^c	42.57 ± 0.85 ^a	46.20 ± 0.50 ^b	44.54 ± 2.08 ^{ab}
黄度 yellowness	6.61 ± 1.56 ^a	12.86 ± 2.25 ^b	11.82 ± 2.02 ^b	13.86 ± 2.29 ^b
色度 chroma	6.66 ± 1.58 ^a	17.24 ± 1.47 ^b	14.74 ± 1.50 ^b	15.25 ± 2.52 ^b
色调 hue	96.72 ± 2.51 ^b	57.99 ± 3.36 ^a	65.19 ± 7.33 ^a	65.60 ± 7.80 ^a

表5 60 d时虾青素和角黄素对虹鳟肌肉颜色的影响

Tab.5 Effects of astaxanthin and canthaxanthin addition on muscle color of rainbow trout after 60 days

	对照组 Con	虾青素组 Ax	角黄素组 Cx	混合色素组 AC
比色卡得分 <i>SalmoFan</i> score	-	26.25 ± 0.71 ^a	22.38 ± 0.52 ^c	24.00 ± 0.54 ^b
红度 redness	-0.60 ± 1.46 ^a	18.40 ± 2.32 ^d	14.13 ± 1.95 ^b	15.70 ± 2.02 ^c
亮度 luminance	50.69 ± 1.39 ^d	40.24 ± 1.50 ^a	44.73 ± 2.06 ^c	41.96 ± 1.67 ^b
黄度 yellowness	8.60 ± 1.47 ^a	23.92 ± 2.24 ^d	22.20 ± 1.98 ^c	19.54 ± 1.14 ^b
色度 chroma	8.89 ± 1.19 ^a	29.93 ± 3.63 ^d	25.78 ± 2.82 ^c	25.34 ± 1.56 ^c
色调 hue	95.96 ± 9.36 ^c	52.69 ± 4.66 ^a	58.50 ± 4.19 ^b	51.42 ± 3.49 ^c

注:“-”表示未检测出,以下各表同

Notes:“-” means no detected, the same as following tables

2.4 虾青素和角黄素对虹鳟肌肉虾青素含量、沉积率和血清总类胡萝卜素含量的影响

各组虹鳟肌肉虾青素含量、沉积率和血清类胡萝卜素含量结果见表 6。投喂含虾青素、混合色素的饲料后,虹鳟肌肉虾青素、血清类胡萝卜素含量均较对照组显著增加,其中虾青素组显著高于混合色素组 ($P < 0.05$),虾青素组和混合色素组的和肌肉虾青素含量在 60 d 时较 30 d 显著增加,而血清类胡萝卜素在 60 d 时则较 30 d 时显著下降。混合色素组的饲料虾青素为 50 mg/kg,为

虾青素组添加量的一半,但其肌肉虾青素含量却达到了虾青素组的 81.50% (30 d) 和 85.00% (60 d)。60 d 时混合色素组虹鳟肌肉虾青素的沉积率要显著高于虾青素组 ($P < 0.05$)。

2.5 虾青素和角黄素对虹鳟肝脏总抗氧化能力的影响

虹鳟肝脏的总抗氧化能力见表 7,可见各组虹鳟肝脏的总抗氧化能力均显著高于对照组 ($P < 0.05$),但各色素组之间无显著差异 ($P > 0.05$)。

表 6 虾青素和角黄素对虹鳟肌肉虾青素含量、沉积率以及血清总类胡萝卜素含量的影响

Tab.6 Effect of astaxanthin and canthaxanthin on muscle astaxanthin content, muscle retention of astaxanthin and carotenoids content of rainbow trout serum

	养殖时间(d) time	对照组 Con	虾青素组 Ax	混合色素组 AC	角黄素组 Cx
肌肉虾青素含量(mg/kg) muscle astaxanthin content	30	0.21 ± 0.01 ^a	4.75 ± 0.11 ^c	3.87 ± 0.25 ^b	-
	60	0.59 ± 0.04 ^a	6.45 ± 0.76 ^c	5.48 ± 0.66 ^b	-
肌肉虾青素沉积率(%) muscle retention of astaxanthin	60	-	6.53 ± 0.48 ^a	11.24 ± 0.66 ^b	-
血清总类胡萝卜素含量(μg/mL) serum carotenoids content	30	0 ^a	8.26 ± 0.24 ^c	7.94 ± 1.66 ^c	6.70 ± 1.09 ^b
	60	0 ^a	4.90 ± 1.09 ^d	4.25 ± 0.92 ^c	3.28 ± 0.84 ^b

表 7 虾青素和角黄素对虹鳟肝脏总抗氧化能力的影响

Tab.7 Effect of astaxanthin and canthaxanthin on total antioxidant capacity in liver of rainbow trout

	对照组 Con	虾青素组 Ax	角黄素组 Cx	混合色素组 AC
肝脏的总抗氧化能力(U/mg prot) total antioxidant capacity in liver	2.03 ± 0.13 ^a	2.39 ± 0.13 ^b	2.25 ± 0.16 ^b	2.39 ± 0.09 ^b

3 讨论

3.1 虾青素和角黄素对虹鳟生长性能、肌肉组成、失水率和含肉率的影响

Rehulka^[18] 和 Hakan 等^[19] 分别以含 49.8 mg/kg 虾青素的饲料、添加 100 mg/kg 虾青素饲料饲喂虹鳟后,发现对虹鳟增重率并无显著影响。本试验在添加虾青素、角黄素 100 mg/kg 后也未观察到对虹鳟生长性能的显著影响。表 3 显示各组虹鳟肌肉常规成分、失水率和含肉率之间无显著差异,与 Thompson 等^[20]、Foss 等^[21] 和 Trond 等^[7] 报道一致。

3.2 虾青素和角黄素对虹鳟肌肉颜色和血清类胡萝卜素含量的影响

虹鳟在对类胡萝卜素的代谢上归于鲷鱼型^[22],不能自身合成虾青素和角黄素,但可以直

接吸收沉积于体内,因此必须在饲料中添加方可使得其肌肉呈现红色。本试验以色差计来评估虹鳟肌肉的颜色,在色差计的指标中,亮度是指明暗的程度,颜色越深则亮度越小;色度即颜色的饱和度和强度,颜色越深则色度越大;色调则表明了肌肉红度和黄度的相关度,是空间角度的测量,当 0° 时表示红的色调,当 90° 是表示黄的色调^[23]。由表 4 和表 5 可见,饲喂添加虾青素、角黄素的饲料后,随着饲养时间的增加,虹鳟肌肉的亮度和色调逐渐变小,而红度、黄度和色度逐渐增大,这与 Mora 等^[24] 报道的趋势一致。由表 5 色差值及肉眼观察可见,虾青素对虹鳟肌肉着色的效果要显著好于角黄素组。Choubert 等^[25] 认为可能是因为虹鳟对虾青素具有较角黄素更高的表观消化率所导致。从虾青素和角黄素的化学结构来看,虾青素要比角黄素多两个羟基,Hata 等^[26]

认为类胡萝卜素的骨架上的羟基群会使得其更容易被吸收和沉积,这可能是虾青素比角黄素更容易被吸收和沉积的原因;此外角黄素比虾青素的代谢转化更快^[27],从而使得保留沉积于机体的量相对较少。

Torrissen^[6]测得混合色素组虹鳟(添加量为93.50 mg/kg 虾青素 + 93.50 mg/kg 角黄素)在36 d和57 d时肌肉中虾青素所占总类胡萝卜素的比例分别为73.20%和75.00%,且混合色素组的肌肉类胡萝卜素总量(2.70 mg/kg)也高于虾青素组(2.30 mg/kg,饲料中虾青素的添加量为165 mg/kg)。本试验中混合色素组饲料中虾青素 + 角黄素的添加为100 mg/kg,其中虾青素的添加量为50 mg/kg,为虾青素组(100 mg/kg)的50%,但在30 d和60 d时混合色素组虹鳟肌肉的虾青素含量达到虾青素组的81.50%和85.00%,混合色素组肌肉虾青素的沉积率也显著高于虾青素组(表6),这表明低添加量的虾青素较高添加量的虾青素有更高的沉积率;另一方面也表明了虾青素的着色效果优于角黄素。

Guillou等^[28]分别使用¹⁴C标记的虾青素和³H标记的角黄素饲料饲喂性成熟的虹鳟,每24 h收集血液,连续收集4 d后发现血液中的虾青素水平要显著高于角黄素。但在Page等^[29]试验中,虾青素组与角黄素组虹鳟血清类胡萝卜素含量并无显著差异,可能是饲养3周时间太短的原因。本试验中虾青素组虹鳟血清的类胡萝卜素含量显著高于角黄素组,可能是血液中虾青素的清除率较角黄素低的原因^[30]。Barbosa等^[8]认为鳟类肌肉中色素的沉积受到血液吸收和转运的影响。Kiessling等^[31]发现大西洋鲑的血液和肌肉中的虾青素含量存在很强的相关性,可以用血清中的虾青素含量来表示机体对虾青素的利用能力。但在Gobantes等^[32]的试验中,虹鳟在性成熟前14 d左右血清中虾青素和角黄素的含量表现出下降的规律。本试验中60 d时各组虹鳟血清类胡萝卜素普遍比30 d时要低,也没有体现出与肌肉沉积虾青素上升的一致趋势,其原因是否与虹鳟开始进入性成熟阶段有关,有待进一步的研究。

目前市场上能接受的人工饲养的鲑鳟鱼肌肉最小类胡萝卜素含量是4 mg/kg^[33]。本实验中添加虾青素或混合色素在30 d时都达到或接近

了此含量,在60 d时均超过4 mg/kg。从效果来看虾青素组优于混合色素组和角黄素组,但虾青素价格昂贵,单独使用角黄素易使虹鳟肌肉颜色偏橙,效果并不十分理想,综合考虑经济效益和着色效果,虾青素和角黄素的等量混合是一种值得推荐的方式。

3.3 虾青素和角黄素对虹鳟肝脏总抗氧化能力的影响

总抗氧化能力是用于衡量机体抗氧化系统功能状况的综合性指标,在机体中分为抗氧化酶系统和非酶促系统,其大小可代表和反映机体对外来刺激的代偿能力以及机体自由基代谢的状态,主要作用是分解和清除代谢过程中产生的活性氧自由基^[34]。Nakano等^[35]用添加10.87 g/kg红法夫酵母的饲料饲喂虹鳟后显著降低了血清GPT和GOT的活力及脂质过氧化物的产生。Clark等^[36]发现角黄素可以显著延缓4℃储存下虹鳟肌肉中硫代巴比妥酸反应物质的形成。这些研究表明虾青素、角黄素具有提高机体抗氧化能力的作用。本试验中在饲料中单独或混合添加虾青素、角黄素,均显著提高了虹鳟肝脏总抗氧化能力。从虾青素和角黄素的结构上看,两者除有较多的共轭双键外,在两端的紫罗酮环上还有两个不饱和酮基,这些结构均具有较活泼的电子效应,能够向自由基提够电子或吸引自由基的未配对电子,从而表现出良好的抗氧化能力^[37]。

4 结论

在本实验条件下,饲料中添加100 mg/kg的虾青素、角黄素,50 mg/kg 虾青素 + 50 mg/kg 角黄素均可使虹鳟肌肉较好的着色,并提高肝脏总抗氧化能力,虾青素、虾青素 + 角黄素混合(1:1)对虹鳟肌肉的着色效果优于角黄素。

本实验研究得到了广州智特奇生物科技有限公司资金支持,在此表示感谢。

参考文献:

- [1] Storebakken T, No H K. Pigmentation of rainbow trout[J]. Aquaculture, 1992, 100: 209 - 229.
- [2] Schiedt K, Vecchi M, Glinz E. Astaxanthin and its metabolites in wild rainbow trout (*Salmo gairdneri* R)[J]. Comp Biochem Physiol, 1986, 83B: 9 - 12.

- [3] Goodwin T W. The biochemistry of carotenoids [M]. London: Chapman & Hall, 1984: 64-96.
- [4] Bjerkeng T S, Liaaen-Jensen S. Pigmentation of rainbow trout from start feeding to sexual maturation[J]. Aquaculture, 1992, (108): 333-346.
- [5] Torrissen O J. Pigmentation of salmonids; a comparison of astaxanthin and canthaxanthin as pigment sources for rainbow trout[J]. Aquaculture, 1986, 53(3-4): 271-278.
- [6] Torrissen O J. Pigmentation of salmonids; interactions of astaxanthin and canthaxanthin on pigment deposition in rainbow trout [J]. Aquaculture, 1989, 79(1-4): 363-374.
- [7] Trond S, Mette S, Bjørn B. Utilization of astaxanthin from red yeast, *Xanthophyllomyces dendrorhous*, in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*: effects of enzymatic cell wall disruption and feed extrusion temperature[J]. Aquaculture, 2004, 236: 391-403.
- [8] Barbosa M J, Morais R, Choubert G. Effect of carotenoid source and dietary lipid content on blood astaxanthin content in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. Aquaculture, 1999, 176: 331-341.
- [9] Juana R C, Eduardo A, Noemi T, et al. Effect of dietary supplementation with shrimp on skin pigmentation and lipid composition of red porgy (*Pagrus pagrus*) alevins[J]. Aquaculture, 2003, 218: 457-469.
- [10] 石英,冷向军. 金鱼和血鹦鹉的饲料蛋白需求量及着色的研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2008.
- [11] 王少梅, 陈少莲, 崔奕波. 用氯仿-甲醇抽提法测定鱼体脂肪含量的研究[J]. 水生生物学报, 1993, 17(2): 193-196.
- [12] 任泽林, 李爱杰. 饲料组成对中国对虾肌肉组织中胶原蛋白、肌原纤维和失水率的影响[J]. 中国水产科学, 1998, 5(2): 40-44.
- [13] 陈晓飞, 严小军. 红球藻虾青素含量测定方法的探讨[J]. 宁波大学学报(理工版), 2007, 20(4): 442-444.
- [14] Weber S. Determination of stabilized, added canthaxanthin in complete feeds and premixes with HPLC[C]. Analytical Methods for Vitamins and Carotenoids in Feed, 1988: 99.
- [15] Tolasa S, Cakli S, Ostermeyer U. Determination of astaxanthin and canthaxanthin in salmonid[J]. Eur Food Res Technol, 2005, 221: 787-788.
- [16] Schierle J, Hardi W. Determination of stabilized astaxanthin in carophyll pink, premixes and fish feeds[M]. Analytical Methods for Vitamins and Carotenoids in Feed, 1994: 99.
- [17] Wathne E, Bjerkeng B, Storebakken T, et al. Pigmentation of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed astaxanthin in all meals or in alternating meals[J]. Aquaculture, 1998, 159: 217-231.
- [18] Rehulka J. Influence of astaxanthin on growth rate condition and some blood indices of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* [J]. Aquaculture, 2000, 190(1): 27-47.
- [19] Büyükçapar H M, Yanar M, Yanar Y. Pigmentation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with carotenoids from marigold flower (*Tagetes erecta*) and red pepper (*Capsicum annum*)[J]. Turk J Vet Anim Sci, 2007, 31(1): 7-12.
- [20] Thompson I, Choubert G, Houlihan D F. The effect of dietary vitamin A and astaxanthin on the immunocompetence of rainbow trout [J]. Aquaculture, 1995, 33: 91-102.
- [21] Foss P, Storebakken T, Austreng E, et al. Carotenoids in diets for salmonids: V. Pigmentation of rainbow trout and sea trout with astaxanthin and astaxanthin dipalmitate in comparison with canthaxanthin [J]. Aquaculture, 1987, 65(3-4): 297.
- [22] 冷向军, 李小勤. 水产动物着色的研究进展[J]. 水产学报, 2006, 30(1): 140-141.
- [23] Christiansen R, Struksnæs G. Assessment of muscle colour in Atlantic salmon, *Salmo salar* L [J]. Aquaculture Research, 1995, 26(5): 311-321.
- [24] Ingle de la Mora G, Arredondo-Figueroa J L, Ponce-Palafox J T, et al. Comparison of red chilli (*Capsicum annum*) oleoresin and astaxanthin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet pigmentation[J]. Aquaculture, 2006, 258: 487-495.
- [25] Choubert G, Storebakken T. Dose response to astaxanthin and canthaxanthin pigmentation of rainbow trout fed various dietary carotenoid contents [J]. Aquaculture, 1989, 81: 69-77.
- [26] Hata M, Hata M. Carotenoid pigments in goldfish - IV, Carotenoid metabolism[J]. Bull Jap Soc Sci Fish, 1972, 38(4): 331-338.
- [27] Gradelet S, Astorg P, Leclerc J, et al. Effects of canthaxanthin, astaxanthin, lycopene and lutein on liver xenobiotic-metabolizing enzymes in the rat [J]. Xenobiotica, 1996, 26: 49-63.

- [28] Guillou A, Choubert G, de Lanoue J. Absorption and blood clearance of labelled carotenoids ($[^{14}\text{C}]$ astaxanthin, $[^3\text{H}]$ Canthaxanthin and $[^3\text{H}]$ zeaxanthin) in mature female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, 1992, 103(2): 301 - 306.
- [29] Page G I, Davies S J. Astaxanthin and canthaxanthin do not induce liver or kidney xenobiotic-metabolizing enzymes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum)[J]. Comparative Biochemistry and Physiology, 2002, 133: 443 - 451.
- [30] Gobantes I, Choubert G, Laurentie M, et al. Astaxanthin and canthaxanthin kinetics after ingestion of individual doses by immature rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*[J]. J Agric Food Chem, 1997, 45: 454 - 458.
- [31] Kiessling A, Dosanjh B, Koppe W, et al. Relationship between blood and muscle levels of astaxanthin in dorsal aorta cannulated Atlantic salmon[J]. Aquaculture, 2006, 254: 653 - 657.
- [32] Gobantes I, Choubert G, Milicua J C, et al. Serum carotenoid concentration changes during sexual maturation in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. J Agric Food Chem, 1998, 46: 383 - 387.
- [33] Torrisen O J, Hardy R W, Shearer K D. Pigmentation of salmonids-carotenoid deposition and metabolism[J]. Rev Aquat Sci, 1989, 1: 209 - 225.
- [34] 张春玲, 胡俊峰, 王丕文. 苯并(a)芘对鲫鱼肝脏总抗氧化能力的影响[J]. 环境与健康杂志, 2004, 21(5): 325.
- [35] Toshiki N, Tomoaki K, Minoru S, et al. Effect of astaxanthin rich red yeast (*Phaffia rhodozyma*) on oxidative stress in rainbow trout[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 1999 (1426): 119 - 125.
- [36] Clark T H, Faustman C, Chan W K M, et al. Canthaxanthin as an antioxidant in a liposome model system and in minced patties from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Journal of Food Science, 1999, 64(6): 982 - 986.
- [37] 陈晋明, 王世平, 马俪珍, 等. 虾青素抗氧化活性研究[J]. 营养学报, 2007, 29(2): 163 - 165.

Effects of astaxanthin and canthaxanthin on pigmentation of muscle and total antioxidant capacity of liver in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

CUI Wei-dong, LENG Xiang-jun, LI Xiao-qin, LI Xiang-nan, XU Jie
(College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: The aim of this study was to assess the effects of adding astaxanthin (100 mg/kg), canthaxanthin (100 mg/kg) and mixed pigment (50 mg/kg astaxanthin + 50 mg/kg canthaxanthin) on muscle pigmentation and total antioxidant capacity of liver in rainbow trout with an initial weight of (56.60 ± 0.63) g. After 60 days feeding, results showed that there were no significant differences of weight gain, feed conversion ratio, muscle proximate composition component, water loss rate and muscle percentage of rainbow trout among groups ($P > 0.05$). The *SalmoFan* score, redness, astaxanthin content of muscle, and carotenoids content of serum in rainbow trout fed diets supplemented with pigments, were higher than that of control group ($P < 0.05$). *SalmoFan* score and redness of rainbow trout of astaxanthin group were 26.25 and 18.40, higher than the canthaxanthin group (22.38, 14.13) and the mixed pigment group (24.00, 15.70) ($P < 0.05$). The muscle astaxanthin content of astaxanthin group was 4.75 mg/kg on 30th day and 6.45 mg/kg on 60th day, and both were higher than that of mixed pigment group (3.87 mg/kg, 5.48 mg/kg) ($P < 0.05$). Fish of astaxanthin group had the highest serum carotenoids content, higher than that of mixed pigment group, the canthaxanthin group. There was no significant difference in total antioxidant capacity of liver among the three pigment-supplemented groups (2.39 U/mg, 2.26 U/mg, 2.39 U/mg), which was higher than that of control group (2.03 U/mg) ($P < 0.05$). Results above showed that adding 100 mg/kg astaxanthin, canthaxanthin or mixed pigment (50 mg/kg astaxanthin + 50 mg/kg canthaxanthin) in feed could improve the muscle colour and total antioxidant capacity of rainbow trout. Astaxanthin, mixed pigment (50 mg/kg astaxanthin + 50 mg/kg canthaxanthin) had better pigmentation than canthaxanthin, and was suggested to be applied in rainbow trout culture.

Key words: *Oncorhynchus mykiss*; astaxanthin; canthaxanthin; pigmentation; total antioxidant capacity