

甘草次酸对团头鲂生长、脂肪沉积与抗氧化功能的影响

蔡东森, 蒋广震, 王丽娜, 鲁康乐, 钱 妤, 刘文斌*, 李向飞

(南京农业大学动物科技学院, 江苏省水产动物营养重点实验室, 江苏 南京 210095)

摘要: 为探讨甘草次酸对团头鲂生长、脂肪沉积和抗氧化功能的影响, 选取均体质量为 (15.63 ± 0.04) g 的团头鲂幼鱼 420 尾, 随机分在 15 个网箱中, 分别以甘草次酸水平为 0、0.15、0.30、0.45 和 0.60 g/kg 的 5 种饲料投喂 8 周。结果发现, 饲料添加甘草次酸对团头鲂增重率、特定生长率、饵料系数没有显著影响 ($P > 0.05$)。甘草次酸可以显著降低实验鱼脏体比、肝体比、腹脂率及肝脏脂肪含量 ($P < 0.05$), 但对全鱼体组成和肌肉脂肪含量无显著影响 ($P > 0.05$)。比对血浆脂肪代谢酶可见, 0.30~0.60 g/kg 甘草次酸添加组血浆总胆固醇含量较对照组显著下降 ($P < 0.05$); 而甘油三酯、游离脂肪酸和高密度脂蛋白胆固醇含量无显著变化 ($P > 0.05$)。肝脏中脂蛋白酯酶、肝酯酶和总酯酶活性在添加甘草次酸后显著降低 ($P < 0.05$); 0.30~0.60 g/kg 甘草次酸添加组脂肪酶活性显著高于其他各组 ($P < 0.05$)。饲料添加甘草次酸可以显著提高肝脏超氧化物歧化酶活性和还原型谷胱甘肽含量, 降低丙二醛含量 ($P < 0.05$)。研究表明, 饲料中添加 0.30~0.45 g/kg 甘草次酸时, 显著降低了团头鲂内脏团的脂肪沉积, 改善了鱼体脂肪分布, 这可能是由于甘草次酸加强脂解作用, 提高脂肪代谢酶活性导致的; 饲料中添加甘草次酸也可显著提高团头鲂的抗氧化能力。

关键词: 团头鲂; 甘草次酸; 生长; 脂肪代谢; 抗氧化酶活性

中图分类号: S 963.7

文献标志码: A

脂肪是鱼类重要的营养物质, 可为鱼类提供必需脂肪酸及磷脂等; 又由于其“蛋白节约效应”, 在现代集约化养殖条件下, 可适当提高饲料中脂肪水平以降低养殖成本。然而摄入过多脂肪, 可能会使鱼体脂肪沉积增多, 导致脂肪肝, 影响鱼体的生长与健康^[1]; 肌肉脂肪沉积过多时还会影响品质与风味; 此外, 鱼体腹腔内脏团沉积的脂肪也被视为能量的浪费, 虽然其也是鱼体质量的一部分, 但其并不是可食用部分。

很多中草药对改善动物体的生长、生理过程有特殊的功效, 其治疗鱼类脂肪肝的突出效果也是未来抗脂肪肝因子研究的热点^[2]; 甘草酸 (glycyrrhizin) 是甘草的主要活性物质, 其在体内水解代谢为甘草次酸 (glycyrrhetic acid, GA) 而发挥作用。甘草次酸对动物体的生长、脂代谢调

控及抗氧化作用受到越来越多的重视。甘草酸可改善鱼类肝脏功能, 增强其解毒, 提高养殖效果。Xu 等^[3] 研究发现, 甘草酸可增强大黄鱼 (*Larimichthys crocea*) 的免疫能力, 改善其生长。He 等^[4] 研究发现, 断奶仔猪饲料中补充甘草次酸可以显著改善仔猪生产性能; Jiang 等^[5-6] 的研究发现甘草次酸可减少斑点叉尾鲷 (*Ictalurus punctatus*) 腹腔内脏团的脂肪沉积。

团头鲂 (*Megalobrama amblycephala*), 属草食性淡水鱼, 由于其生长速度快、肉质鲜美及抗病力强等优点, 在中国广泛养殖, 具有较高的经济价值; 但是相比其他养殖鱼类, 人工养殖的团头鲂肝脏、腹腔脂肪过度沉积, 从而影响其生长与健康。本实验旨在探讨饲料中添加甘草次酸对团头鲂生长、抗氧化能力、脂肪分布及代谢的影响, 以期改

收稿日期: 2014-04-16 修回日期: 2014-06-03

资助项目: 江苏省基础研究计划 (自然科学基金) (BK20130687); 国家大宗淡水鱼类产业技术体系 (CARS-46-20)

通信作者: 刘文斌, E-mail: wbliu@njau.edu.cn

善团头鲂养殖中出现的肝脏脂肪过度沉积问题。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

本实验以鱼粉、豆粕、棉粕、菜粕、鱼油、豆油、面粉和复合预混料以及磷酸二氢钙配制而成等氮等能的基础饲料(表1)。分别在基础饲料中添加0(对照组)、0.15、0.30、0.45和0.60 g/kg的甘草次酸(甘草次酸购于南京泽朗医药科技有限公司)。将各个原料按照配方粉碎、称重,逐级混匀后用小型颗粒机制成粒径为2 mm左右的沉性颗粒料,常温晾干后置于-20℃冰箱保存备用。

表1 基础饲料配方及营养组成

Tab.1 Composition and nutrition level of basic diet

原料 ingredients	含量/% content
鱼粉 fish meal	6.00
棉粕 cottonseed meal	18.00
菜粕 rapeseed meal	16.83
豆粕 soybean meal	26.64
鱼油 fish oil	2.76
豆油 soybean oil	2.76
面粉 wheat meal	24.00
复合预混料 premix	1.20
磷酸二氢钙 calcium biphosphate	1.80
饲料营养组成 proximate composition	
粗蛋白 crude protein	32.44
粗脂肪 crude Lipid	7.00
能量 energy	16.09

注:每千克复合预混料含有:CuSO₄·5H₂O 2.0 g;FeSO₄·7H₂O 25 g;ZnSO₄·7H₂O 22 g;MnSO₄·4H₂O 7 g;Na₂SeO₃ 0.04 g;KI 0.026 g;CoCl₂·6H₂O 0.1 g;维生素 A 900 000 IU;维生素 D 200 000 IU;维生素 E 4 500 mg;维生素 K₃ 220 mg;维生素 B₁ 320 mg;维生素 B₂ 1 090 mg;烟酸 2 000 mg;维生素 B₆ 500 mg;维生素 B₁₂ 1.6 mg;维生素 C 5 000 mg;泛酸 1 000 mg;叶酸 165 mg;胆碱 60 000 mg;肌醇 1 000 mg;生物素 1.2 mg

Notes:the premix provides per kilogram of diet:CuSO₄·5H₂O 2.0 g;FeSO₄·7H₂O 25 g;ZnSO₄·7H₂O 22 g;MnSO₄·4H₂O 7 g;Na₂SeO₃ 0.04 g;KI 0.026 g;CoCl₂·6H₂O 0.1 g;vitamin A 900 000 IU;vitamin D 200 000 IU;vitamin E 4 500 mg;vitamin K₃ 220 mg;vitamin B₁ 320 mg;vitamin B₂ 1 090 mg;niacin 2 000 mg;vitamin B₆ 500 mg;vitamin B₁₂ 1.6 mg;vitamin C 5 000 mg;pantothenate 1 000 mg;folic acid 165 mg;choline 60 000 mg;inositol 1 000 mg;biotin 1.2 mg

1.2 实验鱼及养殖管理

本研究在南京农业大学浦口实验基地进行,实验开始前将团头鲂幼鱼暂养于大塘网箱内,期间用商品饲料进行驯化。1周后,挑选外表健康、

活力稳定、规格整齐,均体质量为(15.63±0.04)g的团头鲂幼鱼420尾,随机分成5组,每组3个重复,每个重复28尾。实验在15个网箱(规格为1.0 m×1.0 m×1.0 m)中进行,每日投喂3次(7:30、12:00、16:30),按各网箱全部鱼体质量4%投喂饲料(每2周称质量一次,调整投饵量),养殖期为8周。定期测定网箱内水温、溶解氧及pH值。保持池塘内微流水,并定期清洁网箱以确保网箱内外水质良好。养殖期间,水温(27±2)℃,溶解氧大于3.8 mg/L,pH 7.2~7.5。

1.3 样品制备

饲养8周以后,停喂24 h,以网箱为单位称质量,并统计每一网箱中鱼的尾数,每箱随机取鱼4尾,测量体长,称个体质量,用浓度为80 mg/L的MS-222麻醉,从尾静脉采血,血液采集后置于预先制好的抗凝管中,3 000 r/min离心10 min(4℃),制得血浆。再取3尾解剖后分离肝胰脏、腹脂,另取3尾分离得到内脏团和胴体,分别用4℃预冷的生理盐水清洗各组织后用滤纸吸干水分,称量内脏团质量、肝胰脏质量、腹脂质量、胴体质量和个体质量,计算胴体率、腹脂率、脏体比和肝体比。再取3尾分离出肝脏、背部肌肉,以上样品均置于-20℃冰箱中保存、待测。

1.4 指标测定及方法

生长、形体指标计算

增重率(WGR,%)=(末均体质量-初均体质量)/初均体质量×100

特定增长率(SGR,%/d)=(Ln末均体质量-Ln初均体质量)/养殖天数×100

饲料系数(FCR)=投饵量/(末均体质量-初均体质量)

肝体比(HSI,%)=肝脏质量/全鱼质量×100

脏体比(VSI,%)=内脏质量/全鱼质量×100

肥满度(CF,g/cm³)=鱼体质量/鱼体长³×100

腹脂率(IFR,%)=腹脂质量/全鱼质量×100

胴体率(DP,%)=胴体质量/全鱼质量×100

常规营养成分测定 饲料、全鱼粗蛋白含量采用半定量凯氏定氮仪(FOSS KT260,瑞士)测定,水分含量采用105℃烘干法测定,粗脂肪含量采用索氏提取法测定,粗灰分含量采用550℃灼烧法测定,粗纤维含量采用纤维分析仪(ANKOM A2000i,美国)测定;总能采用氧弹测热仪(Parr 1281,美国)测定。肌肉、肝脏脂肪含

量参照 Folch 等^[7] 的氯仿-甲醇抽提法进行测定。

脂肪代谢酶活性测定 血浆甘油三酯、总胆固醇和游离脂肪酸含量均采用南京建成生物工程研究所的试剂盒测定。高密度脂蛋白胆固醇采用北京北化康泰临床试剂有限公司的试剂盒测定。组织匀浆液的制备参照南京建成生物工程研究所的试剂盒说明书:准确称取适量的样品,制成10%的匀浆液,3 000 r/min 离心 10 min,取上清液,即为粗酶液。采用考马斯亮蓝法测定肝脏组织蛋白含量。脂肪酶、脂蛋白酯酶、肝酯酶和总酯酶的活性使用南京建成生物工程研究所的试剂盒测定,其中总酯酶的活性为脂蛋白酯酶和肝酯酶活性的总和。

抗氧化酶活性测定 粗酶液的制备同上。肝胰脏超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性、过氧化氢酶 (catalase, CAT) 活性、还原型谷胱甘肽 (GSH) 含量、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 含量使用南京建成试剂盒测定。

1.5 数据处理

实验结果用平均值 \pm 标准误 (mean \pm SE) 表示,数据用 Excel 2010 处理后,用 SPSS 17.0 软件进行单因素方差分析 (One-Way ANOVA),并用 Duncan 多重比较法分析实验结果的差异显著性,差异显著水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 甘草次酸对团头鲂生长和形体指标的影响

在饲料中添加甘草次酸后,各组之间的初体质量、末体质量、增重率、饵料系数、特定生长率均无显著差异 ($P > 0.05$) (表 2)。

各添加组脏体比、肝体比、腹脂率均显著低于对照组 ($P < 0.05$),其中各添加组间的脏体比、腹脂率差异不显著 ($P > 0.05$),添加 0.30 g/kg 甘草次酸组的肝体比显著低于对照组和 0.60 g/kg 添加组 ($P < 0.05$),其余各添加组之间的肝体比差异不显著 ($P > 0.05$);各组之间的肥满度和胴体率均无显著差异 ($P > 0.05$) (表 3)。

表 2 甘草次酸对团头鲂生长指标的影响

Tab. 2 Growth performance of blunt snout bream fed diets containing various GA levels

指标 parameters	甘草次酸添加量/(g/kg) GA levels				
	0	0.15	0.30	0.45	0.60
初体质量/g initial body weight	15.59 \pm 0.07	15.63 \pm 0.01	15.60 \pm 0.01	15.65 \pm 0.01	15.65 \pm 0.05
末体质量/g final body weight	40.45 \pm 0.05	40.85 \pm 0.35	41.00 \pm 0.50	40.75 \pm 0.05	40.85 \pm 0.25
增重率/% WGR	159.55 \pm 0.76	161.36 \pm 2.07	162.82 \pm 3.37	160.47 \pm 0.24	160.19 \pm 1.59
饲料系数 FCR	2.38 \pm 0.13	2.27 \pm 0.02	2.25 \pm 0.01	2.26 \pm 0.01	2.27 \pm 0.01
特定生长率/(%/d) SGR	1.70 \pm 0.01	1.72 \pm 0.01	1.73 \pm 0.02	1.72 \pm 0.01	1.71 \pm 0.01
成活率/% SR	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

注:表格中同行肩标相同小写字母或无字母表示差异不显著 ($P > 0.05$),不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。下表同

Notes: in the same row, values with same small letter superscripts mean no significant differences ($P > 0.05$) different small letter superscripts mean significant differences ($P < 0.05$). The same as the following

表 3 甘草次酸对团头鲂形体指标的影响

Tab. 3 Biometric parameters of blunt snout bream fed diets containing various GA levels

指标 parameters	甘草次酸添加量/(g/kg) GA levels				
	0	0.15	0.30	0.45	0.60
肥满度/% CF	4.35 \pm 0.18	3.83 \pm 0.23	3.73 \pm 0.23	3.93 \pm 0.18	4.10 \pm 0.21
脏体比/% VSI	11.42 \pm 0.57 ^a	9.58 \pm 0.37 ^b	9.63 \pm 0.32 ^b	9.67 \pm 0.22 ^b	9.72 \pm 0.30 ^b
肝体比/% HSI	1.44 \pm 0.07 ^a	1.19 \pm 0.01 ^{bc}	1.11 \pm 0.01 ^c	1.14 \pm 0.01 ^{bc}	1.29 \pm 0.03 ^b
腹脂率/% IFR	5.88 \pm 0.01 ^a	4.91 \pm 0.01 ^b	4.57 \pm 0.13 ^b	4.50 \pm 0.20 ^b	4.32 \pm 0.30 ^b
胴体率/% DP	70.26 \pm 0.99	70.30 \pm 0.85	70.33 \pm 0.52	70.05 \pm 0.62	69.82 \pm 0.99

2.2 甘草次酸对团头鲂体组成及肝脏、肌肉脂肪含量的影响

饲料中添加甘草次酸后对全鱼体组成无显著

影响 ($P > 0.05$)。饲料中添加甘草次酸后,与对照组相比,肝脏脂肪含量显著下降 ($P < 0.05$),其中添加量为 0.45 g/kg 甘草次酸组显著低于对照

组和 0.15 g/kg 添加组 ($P < 0.05$), 其他各组间的脂肪含量差异不显著 ($P > 0.05$) (表 4)。肌肉脂肪含量各组之间无显著差异 ($P > 0.05$), 其中对照组脂肪含量略高于各添加组, 但差异不显著。

表 4 甘草次酸对团头鲂全鱼、肝脏和肌肉成分的影响

Tab. 4 Whole body, liver and muscle composition of blunt snout bream fed diets containing various GA levels

指标 parameters	甘草次酸添加量/(g/kg) GA levels				
	0	0.15	0.30	0.45	0.60
水分/% moisture	70.84 ± 0.24	71.23 ± 0.26	71.19 ± 0.25	71.72 ± 0.60	71.34 ± 0.51
全鱼粗蛋白/% crude protein	15.64 ± 0.09	16.08 ± 0.08	16.24 ± 0.37	16.43 ± 0.36	15.72 ± 0.18
whole body 粗脂肪/% crude lipid	9.83 ± 0.30	9.09 ± 0.28	8.78 ± 0.49	8.82 ± 0.53	9.29 ± 0.70
粗灰分/% crude ash	2.34 ± 0.11	2.31 ± 0.11	2.32 ± 0.12	2.37 ± 0.08	2.34 ± 0.09
肝脏 liver 脂肪/% lipid	8.24 ± 0.48 ^a	7.14 ± 0.25 ^b	6.65 ± 0.12 ^{bc}	6.03 ± 0.15 ^c	6.56 ± 0.12 ^{bc}
肌肉 muscle 脂肪% lipid	1.63 ± 0.09	1.49 ± 0.06	1.45 ± 0.08	1.45 ± 0.04	1.43 ± 0.07

2.3 甘草次酸对团头鲂血脂的影响

在饲料中添加甘草次酸后, 各组之间的血浆甘油三酯、游离脂肪酸和高密度脂蛋白胆固醇含量均无显著差异 ($P > 0.05$), 其中添加 0.30 g/kg 甘草次酸组的甘油三酯略低于其他各组, 其高密度脂蛋白胆固醇则略高于其他各组, 且随着甘草

次酸添加量的增加, 游离脂肪酸含量呈上升趋势, 但差异均不显著 ($P > 0.05$); 而随着甘草次酸添加量的增加, 总胆固醇含量则呈下降趋势, 且 0.30 ~ 0.60 g/kg 甘草次酸添加组均显著低于对照组 ($P < 0.05$), 各添加组之间差异不显著 ($P > 0.05$) (表 5)。

表 5 甘草次酸对团头鲂血浆生化指标的影响

Tab. 5 Blood biochemistry results of blunt snout bream fed diets containing various GA levels

指标 parameters	甘草次酸添加量/(g/kg) GA levels				
	0	0.15	0.30	0.45	0.60
甘油三酯/(mmol/L) TG	2.25 ± 0.15	2.03 ± 0.18	2.01 ± 0.14	2.06 ± 0.20	2.23 ± 0.14
总胆固醇/(mmol/L) TC	4.14 ± 0.09 ^a	3.75 ± 0.16 ^{ab}	3.69 ± 0.15 ^b	3.48 ± 0.13 ^b	3.43 ± 0.11 ^b
游离脂肪酸/(mmol/L) NEFA	3.90 ± 0.25	4.20 ± 0.35	4.28 ± 0.38	4.65 ± 0.33	4.74 ± 0.32
高密度脂蛋白胆固醇/(mmol/L) HDL-C	2.81 ± 0.24	2.88 ± 0.26	3.10 ± 0.21	2.84 ± 0.24	2.83 ± 0.12

2.4 甘草次酸对脂肪代谢酶活性的影响

在饲料中添加甘草次酸后, 添加 0.30 ~ 0.60 g/kg 甘草次酸组的肝脏脂肪酶显著高于对照组和 0.15 g/kg 添加组 ($P < 0.05$), 其中 0.30 g/kg 甘草次酸组又显著高于其他组 ($P < 0.05$); 与对

照组相比, 添加甘草次酸后显著降低了肝脏脂蛋白酯酶、肝酯酶和总酯酶 ($P < 0.05$), 其中添加 0.45 g/kg 甘草次酸组的肝酯酶和总酯酶均显著低于对照组和 0.15 g/kg 添加组 ($P < 0.05$), 其余各添加组之间差异均不显著 ($P > 0.05$) (表 6)。

表 6 甘草次酸对团头鲂脂肪代谢酶的影响

Tab. 6 Enzyme activity of lipid metabolism of blunt snout bream fed diets containing various GA levels

指标 parameters	甘草次酸添加量/(g/kg) GA levels				
	0	0.15	0.30	0.45	0.60
脂肪酶/(U/g) lipase	23.52 ± 1.57 ^a	24.33 ± 1.86 ^a	65.00 ± 3.38 ^c	41.24 ± 2.46 ^b	46.56 ± 2.42 ^b
脂蛋白酯酶/(U/mg) LPL	3.14 ± 0.25 ^a	2.32 ± 0.17 ^b	2.28 ± 0.17 ^b	2.10 ± 0.10 ^b	2.16 ± 1.16 ^b
肝酯酶/(U/mg) HL	3.90 ± 0.21 ^a	3.14 ± 0.20 ^b	2.93 ± 0.19 ^{bc}	2.32 ± 0.17 ^c	2.60 ± 0.21 ^{bc}
总酯酶/(U/mg) total lipase	6.97 ± 0.29 ^a	5.52 ± 0.21 ^b	4.86 ± 0.38 ^{bc}	4.36 ± 0.14 ^c	4.69 ± 0.21 ^{bc}

2.5 甘草次酸对团头鲂抗氧化酶活性的影响

在饲料中添加甘草次酸后, 添加 0.15 ~ 0.45 g/kg 甘草次酸组的肝脏超氧化物歧化酶显著高

于对照组 ($P < 0.05$), 其中 0.30 g/kg 甘草次酸组又显著高于 0.60 g/kg 添加组 ($P < 0.05$); 与对照组相比, 添加甘草次酸后显著升高了肝脏还原型

谷胱甘肽含量 ($P < 0.05$), 显著降低了丙二醛含量 ($P < 0.05$), 各添加组之间差异均不显著 ($P > 0.05$); 添加甘草次酸对肝脏过氧化氢酶无显著

影响 ($P > 0.05$), 其中 0.30 g/kg 添加组活性略高于其他组, 但差异不显著 (表 7)。

表 7 甘草次酸对团头鲂肝脏抗氧化功能的影响

Tab. 7 Hepatic antioxidant capacity of blunt snout bream fed diets containing various GA levels

指标 parameters	甘草次酸添加量/(g/kg) GA levels				
	0	0.15	0.30	0.45	0.60
超氧化物歧化酶/(U/mg) SOD	92.00 ± 3.08 ^a	117.39 ± 7.39 ^{bc}	120.83 ± 6.93 ^c	113.50 ± 3.66 ^{bc}	100.50 ± 3.30 ^{ab}
还原型谷胱甘肽/(mg/g) GSH	3.14 ± 0.14 ^a	5.32 ± 0.05 ^b	5.48 ± 0.02 ^b	5.23 ± 0.02 ^b	5.22 ± 0.08 ^b
丙二醛/(nmol/mg) MDA	23.55 ± 1.47 ^a	11.26 ± 0.74 ^b	9.32 ± 0.49 ^b	10.21 ± 0.37 ^b	9.89 ± 0.67 ^b
过氧化氢酶/(U/mg) CAT	38.07 ± 2.25	41.84 ± 1.56	42.39 ± 2.07	40.18 ± 1.49	40.49 ± 1.31

3 讨论

3.1 甘草次酸对团头鲂生长性能的影响

甘草及其提取物作为免疫调控剂或食品添加剂在人和动物上的应用非常广泛, 其主要作用成分为甘草次酸。He^[4]和 Yin^[8]在仔猪饲料中添加甘草次酸可显著增加仔猪的增重率, 甘草提取物也可以提高凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*)^[9], 鳊 (*Siniperca chuatsi*)^[10], 刺参 (*Apostichopus japonicas*)^[11]的生产性能。但 Xu 等^[3]在大黄鱼饲料中添加 0.01%~0.04% 甘草酸后, 增重率无显著差异。Jiang 等^[5-6]对斑点叉尾鲟的研究发现, 饲料中添加 0.60 g/kg 甘草次酸显著提高了采食量, 但对生长无显著影响; 当甘草次酸添加量达到 0.90 g/kg 时, 斑点叉尾鲟的生长显著下降。本研究结果也表明, 团头鲂饲料中添加甘草次酸后, 生长均无显著差异, 与 Xu 等^[3]、Jiang 等^[5-6]的研究结果相似。这表明甘草次酸对动物促生长的作用有种间的特异性, 对团头鲂的生长无促进作用, 但也不会影响其生长, 而造成这种差异的原因尚不得而知。

3.2 甘草次酸对团头鲂鱼体脂肪沉积的影响

在人体上的一些研究表明, 甘草次酸有促进脂肪分解并降低脂肪沉积的作用^[12-13]; Wu 等^[14]对实验大鼠饲喂 25~50 mg 甘草次酸, 结果显示饲喂 50 mg 甘草次酸组肝脏脂肪含量显著低于未添加甘草次酸的对照组。本研究结果表明甘草次酸可显著降低团头鲂肝脏的脂肪含量, 这可为预防和减缓人工养殖团头鲂的脂肪肝提供思路。而甘草次酸降低肝脏脂肪含量的机制尚不清楚, 一种解释是甘草次酸促进了肝脏的脂肪酸氧化, 从而增加了脂肪的消耗^[12]; 另外一种原因可能是,

甘草次酸抑制了脂肪在肝脏中的沉积^[13]。Armanini 等^[15]研究发现, 甘草次酸可能是通过抑制 11 β -羟基类固醇脱氢酶 I 型的活性, 改变了内源性皮质醇的有效作用时间, 从而减少其对脂肪母细胞的影响, 从而抑制脂肪细胞的分化。此外, 本研究结果还表明甘草次酸可显著降低团头鲂的脏体比、肝体比和腹脂率, 而这很可能是内脏脂肪沉积较少而导致的; 在对斑点叉尾鲟的研究中也同样发现, 添加 0.075~0.900 g/kg 甘草次酸组显著降低了鱼体的肝体比、脏体比和腹脂率^[5-6]。此外, 甘草次酸还增加了团头鲂全鱼的蛋白水平, 这可能是由于减少了蛋白的分解供能而造成的。

3.3 甘草次酸对团头鲂脂肪代谢的影响

血液是动物体运输营养物质与代谢废物的载体, 血脂水平可以反映机体脂肪的代谢情况。Kalaiarasi 等^[16]研究了 18 β -甘草次酸对糖尿病大鼠与正常状态大鼠血脂水平的影响, 发现 18 β -甘草次酸能显著降低大鼠血脂水平。本研究中随着甘草次酸添加量的增加, 血浆总胆固醇显著下降。这表明甘草次酸可以促进脂肪分解, 起到调节血脂的作用。酯酶是一种水溶性的酶, 对脂肪的吸收、脂蛋白的代谢起着重要的作用, 其中主要有肝酯酶 (HL) 和脂蛋白酯酶 (LPL) 2 种。LPL 主要水解血浆中乳糜微粒和极低密度脂蛋白中的甘油三酯, 分离出的游离脂肪酸用于贮备, 或者被消耗利用^[17]; HL 的作用则主要是参与高、低密度脂蛋白的代谢^[18]。而脂肪酶则主要在脂肪分解方面起作用。本实验结果表明, 添加甘草次酸后肝脏的脂肪酶活性显著升高, LPL 活性显著降低, 这说明甘草次酸降低团头鲂肝脏脂肪沉积, 是通过加强了肝脏脂肪的分解, 并减少了肝脏脂肪的吸收

而实现的。

3.4 甘草次酸对团头鲂肝脏抗氧化的影响

SOD 对机体的氧化与抗氧化平衡起着至关重要的作用;CAT 则能特异性清除体内过多的过氧化氢,保护细胞免受过氧化损伤^[19]。MDA 作为脂质过氧化反应的主要代谢产物,是反映氧化应激的重要指标,其含量的高低可以反映组织细胞脂质过氧化反应的强度,是脂质过氧化物增减的表现^[20]。贺建荣等^[21]发现甘草次酸对 -OH 和 O₂⁻ 有较强的清除作用,且清除能力与甘草次酸的浓度呈显著的量效关系。在对小鼠的研究中发现,饲喂 18β-甘草次酸后,肝脏脂类过氧化物显著降低^[22]。利用电子核磁共振的研究技术可以发现,络合结构的甘草次酸具有很强的清除自由基的能力,其在体内清除自由基的速率比过氧化氢清除速率还要快^[23]。本实验结果表明,添加甘草次酸后肝脏 SOD 活性、GSH 含量显著升高,MDA 含量显著降低,这表明甘草次酸可减少团头鲂肝脏的脂质过氧化程度。与此前的研究报告一致。目前甘草次酸对鱼类抗氧化酶活性的影响国内尚未见报道。本实验对甘草次酸在鱼类抗氧化研究方面进行了初步探索,为寻找自然有效的鱼体抗氧化剂提供参考依据。

综上所述,甘草次酸可通过调节脂肪代谢酶的活性,影响团头鲂的生长和肝脏的脂肪代谢,起到一定的降脂作用;在饲料中添加甘草次酸也可显著提高团头鲂的抗氧化能力。甘草次酸抑制体脂沉积可能与调节脂肪代谢酶活性有关。

参考文献:

- [1] Hillestad M, Johnsen F. High-energy/low-protein diets for Atlantic salmon; Effects on growth, nutrient retention and slaughter quality [J]. *Aquaculture*, 1994, 124(1): 109 - 116.
- [2] Zhang Q, Yang F. The research of the factor of anti-fatty liver in fishes [J]. *Feed China*, 2012(6): 42 - 43. [张强, 杨帆. 鱼类抗脂肪肝因子研究进展. 饲料广角, 2012(6): 42 - 43.]
- [3] Xu H G, Ai Q H, Mai K S, *et al.* Effects of dietary supplementation of glycyrrhizic acid on growth performance, survival, innate immune response and parasite resistance in juvenile large yellow croaker, *Larimichthys crocea* (Richardson) [J]. *Aquaculture Research*, 2013; 1 - 9.
- [4] He Z S, Hu Y L, Yin Y L, *et al.* Dietary supplementation with glycyrrhetic acid (GA) increases endogenous arginine provision and growth performance in milk-fed piglets [J]. *Journal of Dairy Science*, 2007, 90: 645 - 645.
- [5] Jiang G Z, Liu W B, Zhang C N, *et al.* Influence of dietary glycyrrhetic acid combined with different levels of lipid on growth, body composition, and cortisol of juvenile channel catfish, *Ictalurus punctatus* [J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2012, 43(4): 538 - 547.
- [6] Jiang G Z, Liu W B, Li G F, *et al.* Effects of different dietary glycyrrhetic acid (GA) levels on growth, body composition and plasma biochemical index of juvenile channel catfish, *Ictalurus punctatus* [J]. *Aquaculture*, 2012, 338: 167 - 171.
- [7] Folch J, Lees M, Sloane-Stanley G H. A simple method for the isolation and purification of the total lipid from animal tissue [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1957, 226(1): 497 - 509.
- [8] Yin Y L, He Z S, Kong X F, *et al.* Dietary supplementation with glycyrrhetic acid (GA) increases endogenous arginine provision, ornithine decarboxylase activity, development of the jejunum and growth performance in milk-fed piglets [J]. *Journal of Federation of American Societies for Experimental Biology*, 2008, 22: 705 - 706.
- [9] Chen X R, Mai K S, Zhang W B, *et al.* Effects of dietary glycyrrhizin on growth and nonspecific immunity of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* [J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2010, 41(5): 665 - 674.
- [10] Chang F C, Xiao H C, Kusuda R. Effects of an adjuvant glycyrrhizine in vaccines against bacterial septicaemia in mandarin fish (*Siniperca chuatsi Basilewsky*) [J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2000, 19(3): 256 - 260.
- [11] Chen X R, Zhang W B, Mai K S, *et al.* Effects of dietary glycyrrhizin on growth, immunity of sea cucumber and its resistance against vibrio splendidus [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2010, 34(4): 732 - 738.
- [12] Armanini D, Fiore C, Mattarello M J, *et al.* History of the endocrine effects of licorice [J]. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, 2002, 110(6): 257 - 261.
- [13] Armanini D, De Palo C B, Mattarello M J, *et al.* Effect of licorice on the reduction of body fat mass in healthy subjects [J]. *Journal of Endocrinological*

- Investigation,2003,26(7):646-650.
- [14] Wu X,Zhang L,Gurley E, *et al.* Prevention of free fatty acid-induced hepatic lipotoxicity by 18 β -glycyrrhetic acid through lysosomal and mitochondrial pathways [J]. *Hepatology*, 2008, 47(6):1905-1915.
- [15] Armanini D, Nacamulli D, Francini P F, *et al.* Glycyrrhetic acid, the active principle of licorice, can reduce the thickness of subcutaneous thigh fat through topical application [J]. *Steroids*, 2005, 70(8):538-542.
- [16] Kalaiarasi P, Kaviarasan K, Pugalendi K V. Hypolipidemic activity of 18 β -glycyrrhetic acid on streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *European Journal of Pharmacology*, 2009, 612(1):93-97.
- [17] Auwerx J, Leroy P, Schoonjans K. Lipoprotein lipase: Recent contributions from molecular biology [J]. *Critical Reviews In Clinical Laboratory Sciences*, 1992, 29(3-4):243-268.
- [18] Choi S Y, Goldberg I J, Curtiss L K, *et al.* Interaction between ApoB and hepatic lipase mediates the uptake of ApoB-containing lipoproteins [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1998, 273(32):20456-20462.
- [19] Han Y Z, Jiang Z Q, Ren T J, *et al.* Effects of oxidized fish oil blended with palm oil on antioxidant capacity and histology of Japanese sea bass (*Lateolabrax maculatus*) juvenile [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2010, 17(4):798-806. [韩雨哲,姜志强,任同军,等.氧化鱼油与棕榈油对花鲈肝抗氧化酶及组织结构的影响.中国水产科学,2010,17(4):798-806.]
- [20] Martinez-Alvarez R M, Hidalgo M C, Domezain A, *et al.* Physiological changes of sturgeon *Acipenser naccarii* caused by increasing environmental salinity [J]. *Journal of Experimental Biology*, 2002, 205(23):3699-3706.
- [21] He J R, Zhang Y, Cheng J F, *et al.* Study of the astragalus polysaccharide, general flavone, ferulic acid, glycyrrhetic acid clean out oxy-free radical [J]. *Chinese Journal of Aesthetic Medicine*, 2001, 10(3):191-193. [贺建荣,张琰,程建峰,等.黄芪总黄酮、黄芪多糖、甘草次酸及阿魏酸清除氧自由基作用的研究.中国美容医学,2001,10(3):191-193.]
- [22] Jeong H G, You H J, Park S J, *et al.* Hepatoprotective effects of 18 β -glycyrrhetic acid on carbon tetrachloride-induced liver injury: Inhibition of cytochrome P450 2E1 expression [J]. *Pharmacological Research*, 2002, 46(3):221-227.
- [23] Nwe K H, Hamid A, Morat P B, *et al.* Differential regulation of the oxidative 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase activity in testis and liver [J]. *Steroids*, 2000, 65(1):40-45.

**Effects of dietary glycyrrhetic acid levels on growth performance,
lipid deposition and antioxidant capacity of blunt snout bream
(*Megalobrama amblycephala*)**

CAI Dongsen, JIANG Guangzhen, WANG Lina, LU Kangle, QIAN Yu, LIU Wenbin*, LI Xiangfei
(College of Animal Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: An 8-week feeding trial was conducted to investigate the effects of dietary glycyrrhetic acid (GA) levels on growth, lipid deposition and antioxidant capacity of juvenile blunt snout bream, *Megalobrama amblycephala* [average initial weight: (15.63 ± 0.04) g]. Triplicate groups of fish were fed three times daily with five isonitrogenous and isoenergetic diets containing 0 (control group), 0.15, 0.30, 0.45 and 0.60 g/kg GA, respectively. The results indicated that dietary GA levels had little effects on weight gain, specific growth rate, feed conversion ratio, whole body and muscle lipid contents as well as serum triglyceride, free fatty acid and high-density lipoprotein cholesterol levels of blunt snout bream ($P > 0.05$). However, the viscerosomatic index, hepatosomatic index, intraperitoneal fat ratio, liver lipid content and lipoprotein lipase, hepatic lipase and total lipase activities of fish fed GA supplemented diets were all significantly lower than those of the control group ($P < 0.05$). Serum cholesterol concentration of fish fed 0.30–0.60 g/kg GA was significantly lower than that of the control group ($P < 0.05$). Lipase activity increased significantly in the groups fed on diets adding 0.30–0.60 g/kg GA ($P < 0.05$). In addition, liver superoxide dismutase and reduced glutathione activities of fish fed GA supplemented diets were both significantly higher than that of the control group, whereas the opposite was true for malondialdehyde content ($P < 0.05$). In conclusion, dietary inclusion of 0.30–0.45 g/kg GA could reduce the lipid deposition. The mechanism may be that GA could strengthen lipid degradation and enhance lipid metabolism enzymes activities. Moreover, the GA supplemented diets can promote antioxidant capacity in blunt snout bream.

Key words: *Megalobrama amblycephala*; glycyrrhetic acid; growth performance; lipid metabolism; antioxidation

Corresponding author: LIU Wenbin. E-mail: wbliu@njau.edu.cn