

饲料中绿原酸对泥鳅生长性能、消化酶活性、免疫功能及抗氧化能力的影响

刘晓蕊¹, 马喜波², 张南¹, 李民¹, 李科¹,
焦思琦¹, 王桂芹¹, 孔祎頔^{1*}

(1. 吉林农业大学, 动物科学技术学院, 动物生产及产品质量安全教育部重点实验室/现代农业技术教育部国际合作联合实验室/吉林省动物营养与饲料科学重点实验室, 吉林 长春 130118;

2. 吉林省前郭县水产技术推广站, 吉林 松原 131100)

摘要: 为探究饲料中添加不同浓度绿原酸 (Chlorogenic acid) 对泥鳅生长性能、消化酶活性、免疫功能及抗氧化能力的影响, 选用无病无伤初始体重为 (3.50±0.01) g 的泥鳅, 随机分为 5 组, 在基础饲料投喂中分别添加 0、200、400、600 和 800 mg/kg 的绿原酸实验饲料, 每组 3 个重复, 饲养 56 d。饲养实验结束后, 测定泥鳅生长性能、消化酶活性、生化指标、免疫功能及抗氧化能力。结果发现, 与对照组相比较饲料中加入绿原酸可以显著增高泥鳅的终末体重 (FBW)、增重率 (WGR) 和特定生长率 (SGR) ($P < 0.05$); 且显著提高肝脏和肠道中蛋白酶、脂肪酶和淀粉酶的活性以及肝脏与肠道中总抗氧化能力 (T-AOC)、过氧化氢酶 (CAT)、超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽 (GSH) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 的活性, 丙二醛 (MDA) 的生成被降低, 肝脏中谷草转氨酶 (AST)、谷丙转氨酶 (ALT) 活性随绿原酸浓度增加而提高, 分别在 400 和 600 mg/kg 时达到最大值。随着绿原酸浓度的升高, 血清中 AST、ALT 活性均显著下降。随着绿原酸浓度的增加, 血清中乳酸脱氢酶 (LDH) 逐渐下降, 在浓度 400 mg/kg 时达到最低值; 血清补体 3 (C3) 和补体 4 (C4) 含量先升高后下降, 分别在绿原酸浓度为 400 和 600 mg/kg 时达到峰值含量; 血清中免疫球蛋白 M (IgM) 水平显著升高, 在浓度为 600 mg/kg 时达到最大; 血清中溶菌酶 (LYS) 含量先上升后下降, 在浓度为 400 时含量为最大值。研究表明, 在饲料当中添加 400~600 mg/kg 绿原酸可显著提高泥鳅生长性能和消化酶活性, 增强泥鳅的免疫功能和抗氧化能力。

关键词: 泥鳅; 绿原酸; 生长性能; 消化酶活性; 免疫功能; 抗氧化能力

中图分类号: S 963.7

文献标志码: A

绿原酸 (Chlorogenic acid) 是由奎宁酸和咖啡酸组成的一种缩酚酸^[1], 在植物有氧呼吸过程中通过莽草酸途径产生。金银花、山楂、杜仲、菊花、西红柿等植物中均含有绿原酸, 且咖啡中的含量较高^[2]。绿原酸是一种重要的生物活性物质,

具有抗菌、降血脂、抗病毒、保肝利胆、抗肿瘤、降血压和清除自由基等功效^[3]。绿原酸的抗氧化特性使其能够用作动物饲料中一种有前途的绿色抗氧化剂。研究表明, 膳食补充绿原酸可以通过提高抗氧化酶活性, 防止脂质过氧化和激活抗氧

收稿日期: 2022-11-30 修回日期: 2023-09-19

资助项目: 吉林省科技发展计划重点研发项目 20230202067NC; 第七批吉林省青年科技人才托举工程 (QT202303); 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系资助 (CARS-46)

第一作者: 刘晓蕊, 从事水产动物营养与免疫调控研究,

E-mail: liuxiaorui0204@163.com

通信作者: 孔祎頔 (照片), 从事水产动物营养与免疫调控研究, E-mail: kongyidi68@163.com



化信号通路来改善仔猪的生长性能和肠粘膜抗氧化能力^[4]。当前, 国内外已有研究证实, 适量的绿原酸可以促进草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*) 的生长^[5]。饲料中添加绿原酸可以改善锦鲤 (*Cyprinus carpio*) 的体色、抗氧化活性、生化参数和免疫反应, 有利于锦鲤的健康养殖^[6]。添加杜仲提取物 (绿原酸) 在饲料中能够促进大菱鲂 (*Scophthalmus maximus*) 的生长性能及饲料利用, 提高抗氧化能力和免疫功能^[7-9]。在斑马鱼 (*Danio rerio*)、凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 以及中华鳖 (*Pelodiscus sinensis*) 等饲料中添加适量的绿原酸, 均可提高动物机体的抗氧化能力^[10-12]。目前, 关于绿原酸在建鲤 (*Cyprinus carpio* var. *jian*)^[13]、黄河鲤 (*Cyprinus carpio*)^[14]、草鱼鱼种^[15] 等上的研究均表明绿原酸最适添加量为 200~600 mg/kg, 而绿原酸在泥鳅上的研究尚属空白。

泥鳅 (*Misgurnus anguillicaudatus*) 属于鲤形目 (Cypriniformes) 鳅科 (Cobitidae) 泥鳅属 (*Misgurnus*), 属于温水性底栖鱼类^[16]。国内泥鳅主要分布在池塘、水库和湖泊等水域中, 具有重大的出口经济价值^[17]。泥鳅的肉质鲜嫩, 具有非常丰富的营养, 是一种高蛋白、低脂肪的优良食品, 被人们称之为“水中人参”^[18]。研究表明, 其生长性能及饲料转化率等均优于其他淡水养殖鱼类^[19]。泥鳅在医药上也具有较高价值, 中医认为泥鳅具有调中益气, 壮阳祛湿等功能, 将其去除内脏再烤干并磨成细粉可用于治疗传染性肝炎等疾病, 其皮肤分泌的黏液具有抗菌消炎等作用^[20]。泥鳅食用药用价值颇受人们青睐, 近几年来, 国内外对泥鳅的市场需求量大大增加, 成为我国比较重要的出口水产品^[21]。从而使得泥鳅养殖业迅速发展。因此, 本实验以泥鳅为研究对象, 探究饲料中绿原酸对泥鳅生长性能、消化酶活性、生化指标、免疫功能及抗氧化能力的影响, 为泥鳅健康高效养殖提供理论依据, 为功能性饲料添加剂的开发和利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

实验所使用的基础饲料配方及其营养组成如表 1 所示。根据水产动物饲料中绿原酸适宜添加水平的相关文献^[14,22]。在基础饲料中分别添加 0、200、400、600 和 800 mg/kg 的绿原酸 (购自 Sigma 公司, 纯度 ≥95%), 配制成 5 种实验饲料。

表 1 饲料配方及其营养组成 (% 干物质基础)

Tab. 1 Experimental feed formula and its nutritional composition (% dry matter basis)

配方成分 formula ingredients	百分比/% ratio
鱼粉 fish meal	20.00
豆粕 soybean meal	20.00
棉籽粕 cottonseed meal	8.00
玉米蛋白粉 corn gluten meal	15.00
糊精 dextrin	10.00
面粉 flour	12.00
鱼油 fish oil	2.00
玉米油 corn oil	2.00
氯化胆碱 choline chloride	0.50
维生素预混料 ¹ vitamin premix ¹	1.00
矿物质预混料 ² mineral Premix ²	1.00
磷酸二氢钙 monocalcium phosphate	2.00
麦麸 wheat bran	5.00
微晶纤维素 microcrystalline cellulose	1.50
总计 total	100.00
营养水平 nutrition level	
粗蛋白质 crude protein	36.39
粗脂肪 crude fat	8.08
粗灰分 crude ash	6.41

注: 1) 维生素预混料向每千克饲料提供: 3 600 IU 维生素 A; 1 200 IU 维生素 D3; 20 mg 维生素 E; 5 mg 维生素 K3; 5 mg 维生素 B1; 7 mg 维生素 B2; 6 mg 维生素 B6; 0.02 mg 维生素 B12; 20 mg 泛酸钙; 30 mg 烟酸; 1.7 mg 叶酸; 0.05 mg 生物素; 171.4 mg VC 磷酸酯; 90 mg 肌醇; 1 000 mg 胆碱。2) 矿物质预混料向每千克饲料提供: 150 mg 镁; 120 mg 铁; 60 mg 锌; 30 mg 锰; 4 mg 铜; 0.5 mg 钴; 0.7 mg 硒; 1 mg 碘。

Note: 1) vitamin premix provides per kilogram of feed: 3 600 IU vitamin A, 1 200 IU Vitamin D3; 20 mg vitamin E; 5 mg vitamin K3; 5 mg vitamin B1; 7 mg vitamin B2; 6 mg vitamin B6; 0.02 mg vitamin B12; 20 mg calcium pantothenate; 30 mg niacin; 1.7 mg folic acid; 0.05 mg biotin; 171.4 mg VC phosphate; 90 mg inositol; 1 000 mg choline. 2) mineral premix provides per kilogram of feed: 150 mg magnesium; 120 mg iron; 60 mg zinc; 30 mg manganese; 4 mg copper; 0.5 mg cobalt; 0.7 mg selenium; 1 mg iodine.

饲料原料粉碎后过 60 目筛, 准确称取鱼粉、豆粕、玉米蛋白粉及绿原酸等原料混匀, 随后, 加入鱼油、豆油和水充分混匀, 最后采用小型膨化机制成粒径为 1.0 mm 的颗粒状膨化饲料, 自然冷却后, 置于 -20 °C 冰箱备用。

1.2 实验设计及饲养管理

实验所用泥鳅, 饲养于吉林农业大学动物科学技术学院水产养殖基地, 将泥鳅置于 200 L 的室内水族箱中暂养 14 d。暂养完成后, 选取 450 尾健康无病、体型匀称、初始体重为 (3.50±0.01) g 的泥鳅, 随机分成 5 组, 每组设定 3 个重复。每

天进行 2 次人工手撒投喂, 时间在早上 8:00 和下午 17:00, 每次饱腹投喂。养殖期间饲料投喂率约为 3%~5%。饲养期间, 水箱水温保持在 25~30 °C, 氨氮 <0.3 mg/L, 亚硝酸盐 <0.05 mg/L, 溶解氧 >5 mg/L, pH 控制在 7.5~8.5。水箱每两天换一次水, 每次换水三分之一。实验过程中操作人员严格遵守实验动物伦理规范, 并按照吉林农业大学动物伦理委员会制定的规章制度执行。

1.3 样品收集

在饲养实验完成之后, 泥鳅禁食 24 h, 分别对各组泥鳅进行麻醉后从尾静脉抽取血液, 将所抽取的血液在 4 °C 的条件下静置 12 h, 再用离心法 (4 °C, 3000 r/min, 10 min), 取出上层血清, 并将其保存于 -20 °C 条件下以供测定。将泥鳅肝脏迅速从冰上取出后, 置于液氮中进行速冻, 并于 -80 °C 保存以供测定。

1.4 生长指标

使用以下公式, 对增重率、特定生长率、饲料转化率、蛋白质效率及成活率进行计算。

$$\text{增重率 (\%)} = 100 \times (W_t - W_0) / W_0$$

$$\text{特定生长率 (\%/d)} = 100 \times (\ln W_t - \ln W_0) / t$$

$$\text{饲料转化率} = I / (W_t - W_0)$$

$$\text{蛋白质效率} = (W_t - W_0) / (I \times C)$$

成活率 (%) = 100 × (实验末存活鱼总数 / 实验初存活鱼总数)

式中, I 为摄入饲料的重量 (g); t 为实验时间 (d); W_0 、 W_t 为实验初始和结束时泥鳅的体重 (g); C 为饲料蛋白质的含量 (%)。

1.5 消化酶活性指标

对肝脏和肠道中蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶活性测定, 相关酶活的检测方法如下: 蛋白酶活性的测定采用福林酚试剂法, 以酪蛋白为底物, 用水解生成酪氨酸的量表示其活力; 淀粉酶活性的测定采用碘-淀粉比色法进行测定, 采用脂肪酶试剂盒 (试剂盒购于南京建成试剂公司 A054-1-1 号产品) 测定脂肪酶活性。

1.6 生化指标测定

血清谷草转氨酶 (AST)、谷丙转氨酶 (ALT)、碱性磷酸酶 (ALP) 和乳酸脱氢酶 (LDH), 肝脏谷草转氨酶 (AST) 和谷丙转氨酶 (ALT) 活性采用南京建成研究所试剂盒方法测定^[23-24]。

1.7 免疫功能测定

血清补体 3(C3)、补体 4(C4)、免疫球蛋白 M(IgM) 和溶菌酶 (LYS) 含量采用上海酶联生物公司试剂盒方法测定。

1.8 抗氧化指标

实验采用南京建成试剂盒的方法对以下几个指标进行测定, 分别检测总抗氧化能力 (T-AOC)、过氧化氢酶 (CAT)、超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽 (GSH) 谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 的活性以及丙二醛 (MDA) 含量, 严格按照相关说明书进行操作测定以上所需指标。

1.9 数据统计分析

使用 Microsoft Excel 2019 对数据进行初步整理, 使用 SPSS 26.0 软件 (IBM, 美国) 进行数据统计学分析, 采用单因素方差分析 (One-Way ANOVA) 和 Duncan 氏法进行组间的多重比较, 实验数据以“平均值±标准误”表示, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果

2.1 饲料中添加绿原酸对泥鳅生长性能的影响

4 组终末体重、增重率、特定生长率和蛋白质效率较对照组均有所升高, 其中 CA400、CA600、CA800 组较 CON 组均显著升高 ($P < 0.05$), 而 CA200 试验组的增重率、特定生长率未达到显著差异, 但饲料转化率均显著低于 CON 组 ($P < 0.05$) (表 2)。

2.2 饲料中添加绿原酸对泥鳅消化酶活性的影响

饲料中添加不同绿原酸对泥鳅肝脏和肠道消化酶活性指标的影响如图 1 所示。结果表明, 饲料中添加绿原酸可显著提高肝脏和肠道中蛋白酶的活性, CA400、CA600、CA800 组肝脏中的蛋白酶活性较 CON 组显著升高 ($P < 0.05$), 而 CA200 组与 CON 组差异不显著 ($P > 0.05$), CA400、CA600 组肠道中的蛋白酶活性较 CON 组显著升高 ($P < 0.05$), 而 CA200、CA800 组肠道中蛋白酶活性与 CON 组差异不显著 ($P > 0.05$), 肝脏中在 CA400 组时达到峰值, 而在肠道中在 CA600 组时效果最好 (图 1-a)。饲料中添加绿原酸可显著提高肝脏和肠道中淀粉酶活性 ($P < 0.05$), CA400、CA600 组较 CON 组肝脏中淀粉酶活性均显著升高 ($P < 0.05$), 且在 CA400 组达到峰值, 在肠道中随着绿

表 2 绿原酸对泥鳅生长和饲料利用的影响

Tab. 2 Effects of chlorogenic acid on *M. anguillicaudatus* growth and feed utilization

指标	CON组	CA200组	CA400组	CA600组	CA800组
初始体重/g IBW	3.50±0.03 ^a	3.51±0.04 ^a	3.49±0.02 ^a	3.51±0.02 ^a	3.51±0.03 ^a
终末体重/g FBW	7.89±0.16 ^c	8.16±0.15 ^{bc}	10.29±0.21 ^a	9.92±0.22 ^a	8.85±0.31 ^b
增重率/% WGR	125.00±4.22 ^c	132.54±5.10 ^c	194.97±7.33 ^a	182.53±6.19 ^a	152.03±6.83 ^b
特定增长率/(%/d) SGR	1.45±0.03 ^c	1.51±0.04 ^c	1.93±0.04 ^a	1.85±0.04 ^a	1.65±0.05 ^b
蛋白质效率 PER	1.56±0.06 ^c	1.80±0.07 ^b	2.14±0.05 ^a	1.93±0.03 ^b	1.75±0.06 ^b
饲料转化率 FCR	1.76±0.07 ^a	1.53±0.06 ^b	1.29±0.03 ^c	1.42±0.02 ^{bc}	1.57±0.06 ^b
成活率/% SR	98.89±1.11 ^a	96.67±1.93 ^a	97.78±2.22 ^a	97.78±1.11 ^a	97.78±1.11 ^a

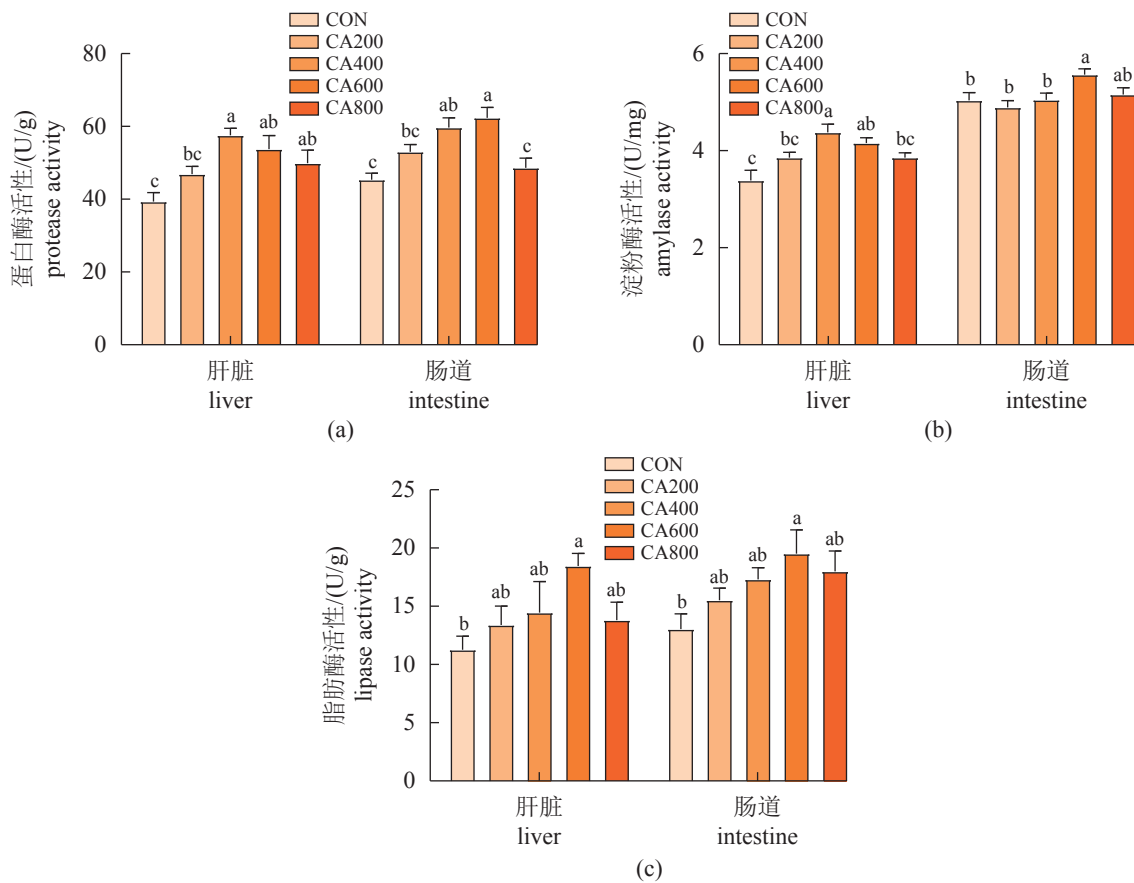


图 1 饲料中不同绿原酸含量对泥鳅肝脏和肠道中消化酶活性的影响

Fig. 1 Effects of different chlorogenic acid contents in feed on digestive enzyme activity in liver and intestine of *M. anguillicaudatus*

原酸添加量的增加淀粉酶活性指标呈现先上升后下降的趋势, 且在 CA600 组添加量时达到峰值 (图 1-b)。饲料中添加绿原酸可显著提高肝脏和肠道中的脂肪酶活性 ($P < 0.05$), 且其水平随着绿原酸添加量的增加, 呈现先升后降的趋势, 且在 CA600 组达到峰值 (图 1-c)。

2.3 饲料中添加绿原酸对泥鳅肝脏健康的影响

饲料中添加不同水平绿原酸对泥鳅肝脏健康的影响结果表明, 实验组肝脏 AST 活性都显著高

于 CON 组 ($P < 0.05$), 其中肝脏 AST 活性在 CA400 组达到最高值 (图 2-a)。CA200、CA400 两组肝脏 ALT 活性有一定程度的升高, 但是差异不显著 ($P > 0.05$), CA600、CA800 两组肝脏 ALT 活性显著升高 ($P < 0.05$), CA600 组肝脏 ALT 活性达到峰值 (图 2-b)。随着绿原酸浓度的增加, 血清 AST 活性和 ALT 活性都呈现先下降后上升的趋势, 且都在 CA400 组达到最低值, 其中 CA200 组血清 AST 活性与 CON 组无显著差异 ($P > 0.05$), 其余组血

清 AST 活性与 CON 组有显著差异 ($P < 0.05$), 试验组血清 ALT 活性与 CON 组相比都有显著差异 ($P < 0.05$)(图 2-c, d)。CA200、CA400 组血清 ALP 活性高于 CON 组, CA600、CA800 组血清 ALP 活性低于 CON 组, 各组之间差异不显著 ($P > 0.05$)(图 2-e)。CA200 组血清活性与 CON 组差异不

显著 ($P > 0.05$), CA400、CA600、CA800 组血清 LDH 活性显著低于 CA200 组 ($P < 0.05$), 其中 CA400 组血清 LDH 活性达到最低值 (图 2-f)

2.4 饲料中添加绿原酸对泥鳅免疫功能的影响

饲料中添加不同水平绿原酸对泥鳅免疫功能

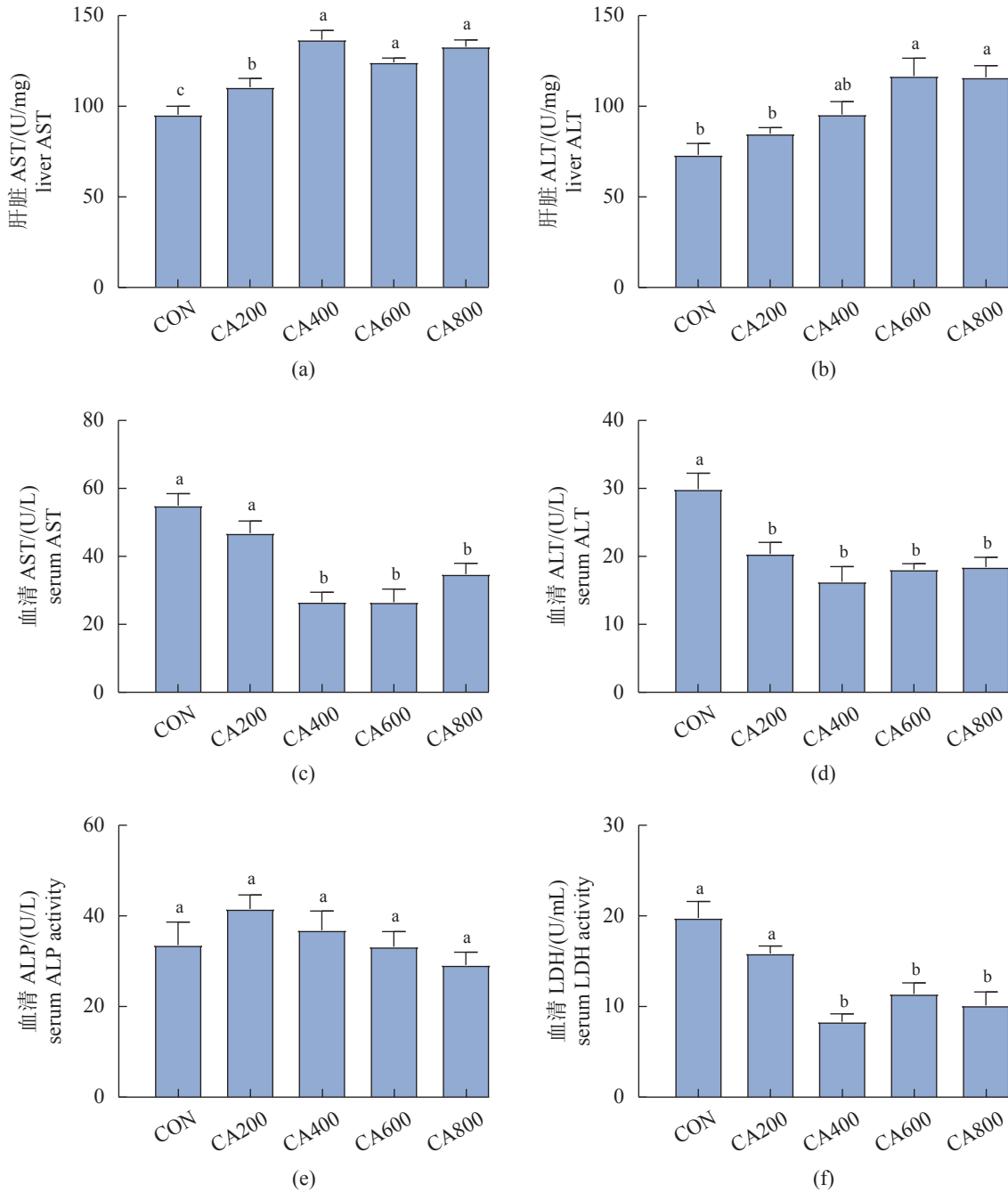


图 2 饲料中添加不同浓度绿原酸对泥鳅生化指标的影响

不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 下同。

Fig. 2 The effect of adding different concentrations of chlorogenic acid in feed on biochemical indicators of *M. anguillicaudatus*

Different letters mean significant difference ($P < 0.05$), the same below.

的影响如图 3 所示。实验组血清 C3 含量都高于 CON 组, CA400 和 CA600 组血清 C3 含量与对照组有明显差异 ($P < 0.05$) (图 3-a)。与 CON 组相比, CA600 组血清 C4 含量显著高于其余组 ($P < 0.05$), 血清 C4 含量并在 CA600 组达到最大值 (图 3-b)。CA400、CA600 和 CA800 组 IgM 含量显著高于

CON 组 ($P < 0.05$), 而 CA200 组与 CON 组差异不显著 ($P > 0.05$), 其中血清 IgM 含量在 CA600 组达到峰值 (图 3-c)。CA400、CA600、CA800 组血清 LYS 含量显著高于 CON 组 ($P < 0.05$), CA400 组血清 LYS 达到巅峰, CA200 组血清 LYS 与 CON 组之间差异不显著 ($P > 0.05$) (图 3-d)。

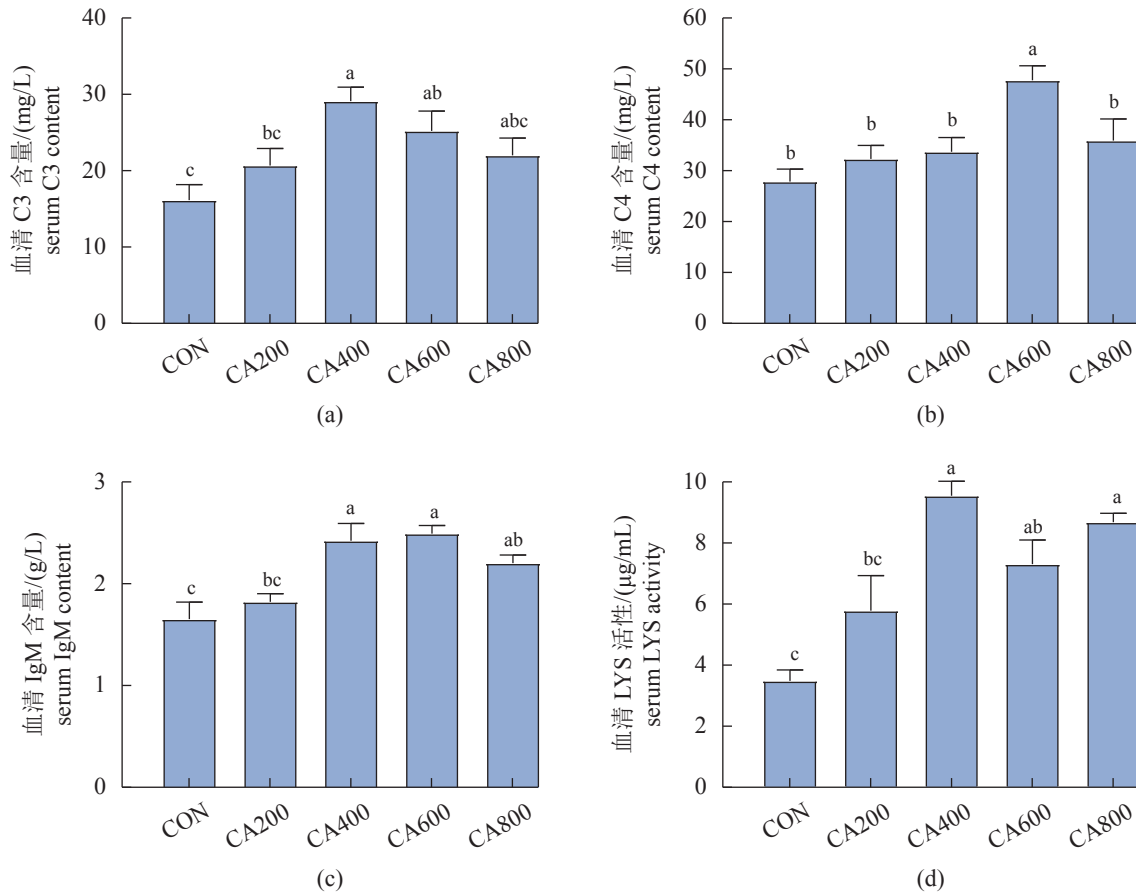


图 3 饲料中添加不同浓度绿原酸对泥鳅免疫功能的影响

Fig. 3 The effect of adding different concentrations of chlorogenic acid in feed on the immune function of *M. anguillicaudatus*

2.5 饲料中添加绿原酸对泥鳅抗氧化能力的影响

绿原酸能提高泥鳅的 CAT 活性。较 CON 组相比, CA400、CA600 和 CA800 组肝脏和肠道的 CAT 活性显著升高 ($P < 0.05$), CA200 组与 CON 组无显著差异 ($P > 0.05$) (图 4-a)。绿原酸能提高泥鳅的 GSH-Px、SOD 和 T-AOC 的活性以及 GSH 含量, 降低泥鳅的 MDA 含量。与 CON 组相比, CA400 和 CA600 组肝脏和肠道的 GSH-Px 的活性显著提高 ($P < 0.05$), CA200 和 CA800 与 CON 组无显著差异 ($P > 0.05$) (图 4-b)。各组肝脏的 SOD 活性均显著升高 ($P < 0.05$), 组间无显著差异 ($P >$

0.05)。较 CON 组相比, CA400、CA600 和 CA800 组肠道的 SOD 活性显著升高 ($P < 0.05$), 而 CA200 与 CON 组无显著差异 ($P > 0.05$) (图 4-c)。CA400 和 CA600 组肝脏和肠道的 T-AOC 显著提高 ($P < 0.05$)。CA200 和 CA800 与 CON 组无显著差异 ($P > 0.05$) (图 4-d)。各组肝脏中的 GSH 的含量均有显著提高 ($P < 0.05$), 组间无显著差异 ($P > 0.05$)。CA400 和 CA600 组肠道中的 GSH 含量均有显著提高 ($P < 0.05$), CA200 和 CA800 与 CON 组无显著差异 ($P > 0.05$) (图 4-e)。CA400、CA600 和 CA800 组肝脏和肠道中的 MDA 含量均显著降低 ($P < 0.05$), CA200 组与 CON 组无显著差异 ($P > 0.05$) (图 4-f)。

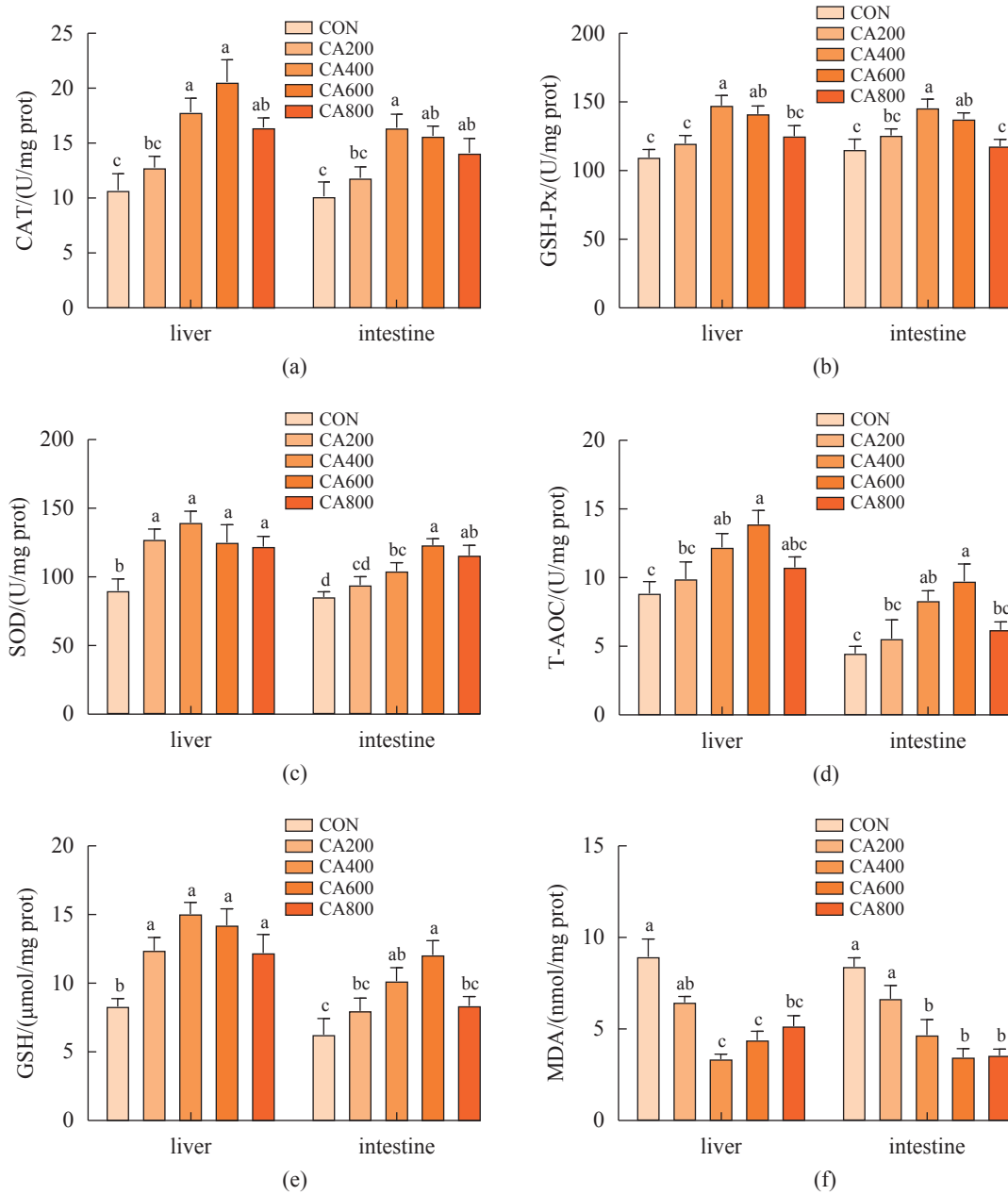


图 4 绿原酸对泥鳅肝脏和肠道抗氧化能力的影响

Fig. 4 Effects of chlorogenic acid on antioxidant capacity in liver and intestine of *Misgurnus anguillicaudatus*

3 讨论

3.1 饲料中添加绿原酸对泥鳅生长性能的影响

绿原酸具有抗炎、抑菌等生物活性, 可以保护机体细胞免受自由基的损伤, 抑制脂质过氧化反应^[13]。本实验中, 与对照组相比, 饲料中添加绿原酸能使泥鳅的终末体重量、增重率、特定生长率显著升高, 表明绿原酸能够改善泥鳅的生长性能。Zhang 等^[25]研究发现, 饲喂含有 0.08% 水平绿原酸的试验组较无绿原酸组增重率显著升高,

饲料转化率与增重率呈相反趋势, 表明添加绿原酸可显著提高鳅 (*Ictalurus punctatus*) 的生长性能, 促进鳅生长。研究表明, 饲料中添加绿原酸可以缓解虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 因高脂肪饮食引起的鱼类生长迟缓, 对鱼的生长有最好的促进作用^[26], 据此推测绿原酸对泥鳅生长性能的有益作用可能与饲料利用能力有关。这与本实验饲料中添加绿原酸, 导致蛋白质效率显著升高, 饲料转化率显著降低的研究结果相吻合。此外, 饲料中添加绿原酸对生长性能的改善作用也可能与消化

酶活性的提高有关。研究发现, 添加绿原酸增强了消化酶活性, 从而改善因氧化鱼油导致的生长性能降低的问题^[25]。

3.2 饲料中添加绿原酸对泥鳅消化酶活性的影响

在水产动物生产中, 肠道是各种消化酶的重要来源, 其对饲料中各种营养物质的消化、吸收和利用起着至关重要的作用^[27-28]。蛋白酶在消化中非常重要, 因为它们水解食物中蛋白质的肽键以释放身体所需的氨基酸。脂肪酶是一类消化酶, 广泛分布在细菌、植物和动物组织中, 并通过水解小肠中的脂肪来消化脂肪而闻名^[29]。本实验结果表明, 饲料中添加绿原酸可显著提高泥鳅肝脏和肠道中消化酶活性。有研究表明, 在饲料中添加 BFE 提取物 (绿原酸), 可显著提高西伯利亚鲟 (*Acipenser baerii*) 的蛋白酶、淀粉酶活性^[30]。消化酶活性升高可能会改善鱼体的生长性能。Hamed 等^[22] 对虹鳟的研究结果表明, 与未补充组相比, 饲料中添加绿原酸组的蛋白酶和淀粉酶活显著升高。以上研究与本试验结果相似, 且在其研究中, 我们观察到饲喂含高浓度绿原酸饲料的鱼类消化酶活性显著升高。因此, 饲喂绿原酸饲料的鱼类生长性能的改善可能是由于绿原酸对消化酶的诱导作用。此实验结果与我们的猜想相契合。

综上所述, 在饲料中添加适量的绿原酸可提高泥鳅消化酶活性, 且能使泥鳅的生长性能增强。产生这种效果的原因可能为: 绿原酸可以通过改善肠道内环境和调整微生物平衡, 从而增强消化能力, 提高饲料利用率, 促进肝脏代谢, 抑制脂质堆积, 调节血脂, 减少脂肪肝疾病的发生, 增强机体的免疫力。

3.3 饲料中添加绿原酸对泥鳅肝脏健康的影响

肝脏是鱼体内氨基酸代谢的主要场所, 具有代谢、免疫、解毒等功能, ALT 和 AST 是反映肝脏损伤的重要指示酶^[31]。血清的生化指标比机体理化指标能更好的反映组织健康状况和机体代谢机能^[32]。血清中 AST 和 ALT 可能预示着动物肝脏和心脏的疾病或坏死^[33]。血清中 AST 和 ALT 活性一般较低, 但在各组织、各器官中有较高的活性。当机体组织或器官受损时, 这些转氨酶就会进入血液中, 导致血清中的 AST 和 ALT 活性升高^[34]。AST 和 ALT 活性不仅显示氨基酸代谢强度, 而且

也可反映鱼体肝功能是否正常^[35]。ALP 是一种参与机体钙、磷代谢及磷酸基团运动过程中重要的调控酶^[36]。血清中 ALP 主要分布在细胞膜中, 一般参与营养物质的吸收与利用^[37]。LDH 是细胞内催化乳酸形成丙酮酸的重要酶之一, 在组织中的活性远远大于在血液中活性, 如果血液中 LDH 活性升高, 可能预示着肝脏、肾脏等组织的病变或损伤, 这对于鉴别鱼体健康来说是一个重要指标^[38-39]。本实验中, 饲料中添加绿原酸使得泥鳅肝脏 AST 和 ALT 活性增加, 血清中 AST 和 ALT 活性下降, 在绿原酸浓度为 400、600 和 800 mg/kg 时效果显著, 泥鳅血清 ALP 活性呈现先增后减趋势, 在浓度为 200 mg/kg 效果最佳, 泥鳅血清 LDH 活性对比对照组活性下降。说明绿原酸对正常生理状况的泥鳅肝脏无负面影响, 不会对泥鳅肝脏等组织形成损坏, 起保护作用, 且添加这种浓度绿原酸会提高碱性磷酸酶活性, 即促进泥鳅对营养物质的吸收^[40]。这与史秀玲等^[41] 和杨玉辉等^[42] 的研究结论相似, 其研究表明, 绿原酸对大鼠和小鼠肝脏具保护作用, 可抵抗肝脏损伤。因此, 绿原酸对泥鳅肝脏组织起到保护作用。

3.4 饲料中添加绿原酸对泥鳅免疫功能的影响

补体指的是存在于正常人和动物血清中的一组不耐热的, 具有酶活性的球蛋白, 它是抗体的补充成分, 与抗体结合形成抗原抗体补体复合物, 参与机体特异性免疫^[43]。C3 和 C4 在巨噬细胞和肝中产生, 其含量可表示机体免疫功能强弱。IgM 不仅仅是体液反应中首先出现的免疫球蛋白, 同时还是天然免疫系统的一道有效的屏障^[44]。IgM 在血清中的含量可表示机体免疫功能。LYS 具有抗菌、消炎、抗病毒等功能^[45]。在本实验中, 泥鳅饲料中添加不同浓度绿原酸后, 其血清中 C3 和 C4 的含量均有明显增加, 当绿原酸浓度为 400、600 mg/kg 时 C3 含量显著提高, 绿原酸浓度在 600 mg/kg 时 C4 含量提高显著, 且添加绿原酸后会使得血清中 IgM 提高。同时泥鳅血清中的 LYS 含量显著增加, 在绿原酸浓度为 400 mg/kg 时效果最显著。试验结果表明, 饲料中添加绿原酸可以提高 LYS 含量, 增强泥鳅抗菌消炎能力, 增强泥鳅免疫功能。与之相似的是, 在绿原酸对中华鳖试验中, 结果表明其能够提高血清 C3、C4 的含量^[46]。王多伽等^[47] 在草鱼中的研究发现, 饲料

中添加绿原酸后, 血清中 C3、C4 以及 IgM 的含量显著升高。

3.5 饲料中添加绿原酸对泥鳅抗氧化能力的影响

绿原酸具有抗氧化、降血脂、改善糖代谢以及消炎抗炎等作用^[12, 48-49]。谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)共同构成了机体的抗氧化防御系统^[50-51]。丙二醛(MDA)作为脂质过氧化反应的产物, 会对细胞和组织的功能造成一定程度的损伤, 从而导致机体的功能遭到损坏^[52]。总抗氧化能力(T-AOC)是指各种抗氧化物质以及抗氧化酶等构成的总抗氧化水平。GSH-Px 作为一种必需的抗氧化剂, 可使肝脏组织中的脂质过氧化产物减少, 从而预防氧化应激^[53]。在王芸等^[11]的实验结果中显示, 绿原酸能通过提高对虾血淋巴 T-AOC 水平和 GSH-Px 含量提高凡纳滨对虾的抗氧化能力。此外, 有研究发现绿原酸可以对中华鳖体内 GSH-Px、CAT 和 SOD 的活性造成显著性的提高, 进而使得中华鳖机体的抗氧化能力有显著性提高^[54]。刘静慧等^[55]在饲料中添加绿原酸饲喂给肉兔, 对肉兔的肝脏结构起到了改善的作用, 也可以在一定程度上提高肉兔血清以及肝脏的抗氧化能力, 张宝龙等^[56]对红白锦鲤(*Cyprinus carpiohaematopterus*)进行试验也发现, 在饲料中添加适量的绿原酸可以使得其抗氧化能力得到显著的提升。在本实验中, 结果表明, 分别在饲料中添加 200、400、600、800 mg/kg 绿原酸均可以使得泥鳅的终末体质量、增重率、特定生长率, 生长性能, 消化酶活性以及肝脏中的 SOD、CAT、GSH 和 GSH-Px 活性提升。效果最为明显的绿原酸浓度范围为 400~600 mg/kg。产生这种效果的原因可能为: 绿原酸可以通过改善肠道内环境和调整微生物平衡, 从而增强消化能力, 促进肝脏代谢, 调节血脂, 减少脂肪肝病的发生, 增强机体的免疫力。

4 结论

综上所述, 饲料中添加适量的绿原酸对泥鳅生长性能及消化酶活性有明显的促进提升作用, 能够增强泥鳅的免疫功能和泥鳅机体的抗氧化能力。在本试验条件下, 饲料中添加绿原酸的最适添加量为 400~600 mg/kg。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] 林春松, 黄青云, 张雪芹, 等. 苦丁茶中绿原酸及其异构体的提取变化分析 [J]. 亚热带植物科学, 2021, 50(3): 163-169.
Lin Ch S, Huang Q Y, Zhang X Q, *et al*, Variations of chlorogenic acid isomers in the solvent extraction from kudingcha (*Ilex kaushue*)[J]. Subtropical Plant Science, 2021, 50(3): 163-169. (in Chinese).
- [2] 刘世强. 绿原酸对断奶应激大鼠免疫功能 and 肠道屏障功能的影响 [D]. 南昌大学, 2013.
Liu Sh Q. Effects of chlorogenic acid on immune function and intestinal barrier function of weaning rats [D]. Nanchang University, 2013. (in Chinese).
- [3] 肇楠, 赵润香, 冯改静, 等. 绿原酸专利信息分析研究 [J]. 中国科技信息, 2021, (16): 21-25.
Zhao N, Zhao R X, Feng G J, *et al*, Analysis of patent information of chlorogenic acid[J]. China science and technology information, 2021 (16): 21-25. (in Chinese).
- [4] Zha P P, Wei L Y, Liu W H, *et al*. Effects of dietary supplementation with chlorogenic acid on growth performance, antioxidant capacity, and hepatic inflammation in broiler chickens subjected to diquat-induced oxidative stress[J]. Poultry Science, 2023, 102(3): 102479.
- [5] Sun W T, Li X Q, Xu H B, *et al*. Effects of dietary chlorogenic acid on growth, flesh quality and serum biochemical indices of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. Aquaculture Nutrition, 2017, 23(6): 1254-1263.
- [6] Xu G L, Wei X, Yu H H, *et al*. Evaluation of chlorogenic acid supplementation in Koi (*Cyprinus carpio*) diet: growth performance, body color, antioxidant activity, serum biochemical parameters, and immune response[J]. Aquaculture Nutrition, 2022, 2717003.
- [7] Farah A, Monteiro M, Donangelo C M, *et al*. Chlorogenic acids from green coffee extract are highly bioavailable in humans[J]. The Journal of Nutrition, 2009, 138(12): 2309-2315.
- [8] Li S Y, Bian H T, Liu Z, *et al*. Chlorogenic acid protects MSCs against oxidative stress by altering FOXO family genes and activating intrinsic pathway [J]. European Journal of Pharmacology, 2012, 674 (2/ 3): 65-72.
- [9] Lepelley M, Cheminade G, Tremillon N, *et al*. Chlorogenic acid synthesis in coffee: An analysis of CGA content and real-time RT-PCR expression of HCT, HQT, C3H1, and CCoAOMT1 genes during grain develop-

- ment in *C. canephora*[J]. *Plant Science*, 2007, 172(5): 978-996.
- [10] 朱文卿, 朱姗姗, 何秋霞, 等. 牛蒡多糖与绿原酸对斑马鱼氧化损伤的协同抗氧化作用 [J]. *中国食品学报*, 2022, (4): 95-103.
Zhu W Q, Zhu S S, He Q X, *et al*, Synergistic antioxidant effect of burdock polysaccharide and chlorogenic acid on oxidative damage in zebrafish[J]. *Journal of China Foods Limited*, 2022, (4): 95-103. (in Chinese).
- [11] 王芸, 李正, 李健, 等. 绿原酸对凡纳滨对虾抗氧化系统及抗低盐胁迫的影响 [J]. *生态学报*, 2013, (18): 5704-5713.
Wang Y, Li Z, Li J, *et al*, Effects of dietary chlorogenic acid supplementation on antioxidant system anti-low salinity of *Litopenaeus vannamei*[J]. *Journal of Ecology*, 2013, (18): 5704-5713. (in Chinese).
- [12] 温安祥, 舒辉, 肖洋. 绿原酸对中华鳖生产性能及抗氧化能力的影响 [J]. *动物营养学报*, 2010, (3): 729-733.
Wen A X, Shu H, Xiao Y, Effects of chlorogenic acid on performance and antioxidant capacity of *Trionyx sinensis* [J]. *Journal of Animal Nutrition*, 2010, (3): 729-733. (in Chinese).
- [13] 张纯, 温安祥. 绿原酸对建鲤生长、非特异性免疫功能和抗氧化能力的影响[J]. *四川农业大学学报*, 2012, 30(1): 92-97.
Zhang C, Wen A X. Different of chlorogenic acid doses on growth performance, non-specific immunity and antioxidant functions of *Cyprinus carpio* var. Jian[J]. *Journal of Sichuan Agricultural University*, 2012, 30(1): 92-97 (in Chinese).
- [14] 伏桂华, 石英, 王守志. 绿原酸对黄河鲤鱼生长性能、非特异性免疫功能和肌肉品质的影响 [J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2018, (20): 179-182.
Fu G H, Shi Y, Wang S H, *et al*, Effects of chlorogenic acid on growth performance, non-specific immune function and muscle quality of yellow river carp [J]. *Heilongjiang animal science and veterinary medicine*, 2018 (20): 179-182. (in Chinese).
- [15] 李乃顺, 冷向军, 李小勤, 等. 绿原酸对草鱼鱼种生长、非特异性免疫和肉质的影响 [J]. *水生生物学报*, 2014, 38(4): 619-626.
Li N S, Leng X J, Li X Q, *et al*, The effects of chlorogenic acid on growth, non-specific immune index and the meat quality of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2014, 38(4): 619-626. (in Chinese).
- [16] 张自慧. 霉菌毒素吸附剂对泥鳅生长性能的影响[J]. *江西水产科技*, 2022, 183(3): 26-27+37.
Zhang Z H. Effects of fungal toxin adsorbents on the growth performance of loach[J]. *Jiangxi Aquatic Technology*, 2022, 183(3): 26-27+37 (in Chinese).
- [17] 夏宝东, 常彦民, 戴洪全, 等. 泥鳅稻田养殖的新方法 [J]. *黑龙江水产*, 2015(5): 31-34.
Xia B D, Chang Y M, Dai H Q. *et al*, A new method for raising loach in rice fields[J]. *Heilongjiang Fisheries*, 2015(5): 31-34 (in Chinese).
- [18] 肖瑞, 翁子依, 段义君, 等. 泥鳅表皮中活性成分提取工艺初步研究 [J]. *湖北工业大学学报*, 2022, 37(4): 66-70.
Xiao R, Weng Z Y, Duan Y J, *et al*, Preliminary study on the extraction technology of active compones from loach epidermis[J]. *Journal of Hubei University of Technology*, 2022, 37(4): 66-70. (in Chinese).
- [19] 周本翔. 泥鳅养殖技术研究进展[J]. *信阳农业高等专科学校学报*, 2012, 20(2): 113-115.
Zhou B X. Research progress of loach aquaculture breeding technology[J]. *Journal of Xinyang Agricultural College*, 2012, 20(2): 113-115 (in Chinese).
- [20] 凌先. 泥鳅的食用价值与药用价值 [J]. *技术与市场*, 2009, 16(5): 116.
Ling X. The edible and medicinal value of loach [J]. *Technology and market*, 2009, 16(5): 116. (in Chinese).
- [21] Zhou X Y, Yu Y Y, Li Y H, *et al*. Comparative analysis of mitochondrial genomes in distinct nuclear ploidy loach *Misgurnus anguillicaudatus* and its implications for polyploidy evolution[J]. *PLOS One*, 2014, 9(3): 92033.
- [22] Hamed G, Shiva N, Hossein S H, *et al*. Effect of different levels of chlorogenic acid on growth performance, immunological responses, antioxidant defense, and disease resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles [J]. *Aquaculture nutrition*, 2023, 3679002.
- [23] 孔祎頔, 李民, 吴雪芹, 等. 乳酸乳球菌 L19 对乌鳢生长、免疫功能及抗氧化能力的影响 [J]. *饲料工业*, 2021, 42(24): 25-30.
Kong Y D, Li M, Wu X Q, *et al*, Effects of Lactococcus lactis L19 on growth, immunity and antioxidant capacity of *Channa argus*[J]. *Feed industry*, 2021, 42(24): 25-30.

- (in Chinese).
- [24] 孔祎岷, 徐晴, 李民, 等. 粪肠球菌W24对乌鳢生长性能、抗氧化能力及免疫功能的影响[J]. 饲料工业, 2021, 42(14): 49-54.
Kong Y D, Xu Q, Li M, *et al.* Effects of *Enterococcus faecalis* W24 on growth performance, antioxidant capacity and immune function of *Channa argus*[J]. Feed industry, 2021, 42(14): 49-54 (in Chinese).
- [25] Zhang J Z, Wang Z Q, Shi Y, Xia L Q, *et al.* Protective effects of chlorogenic acid on growth, intestinal inflammation, hepatic antioxidant capacity, muscle development and skin color in channel catfish *Ictalurus punctatus* fed an oxidized fish oil diet [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2023, 134, 1050-1064.
- [26] Zhao W, Yao R, Wei H L, *et al.* Astaxanthin, bile acid and chlorogenic acid attenuated the negative effects of high-fat diet on the growth, lipid deposition, and liver health of *Oncorhynchus mykiss*[J]. Aquaculture, 2023, 567, 0044-8486.
- [27] 李晋南, 张圆圆, 范泽等. 饲料精氨酸水平对松浦镜鲤幼鱼生长、抗氧化能力和肠道消化酶活性及其组织学结构的影响[J]. 水产学杂志, 2021, 34(5): 32-39.
Li J N, Zhang Y Y, Fan Y, *et al.* Effects of dietary arginine level on growth, antioxidant capacity, and intestinal digestive enzyme activity and histological structure in juvenile songpu mirror carp (*Cyprinus carpio* Songpu)[J]. Journal of Fisheries, 2021, 34(5): 32-39 (in Chinese).
- [28] 马德英, 蔡鹏雨, 翟少伟等. 饲料组胺对美洲鳗鲡幼鱼生长、肠道消化酶活性及抗氧化指标的影响[J]. 饲料研究, 2020, 43(2): 42-45.
Ma D Y, Cai P Y, Zhai S W, *et al.* Effect of dietary histamine on growth performance, digestive enzyme activities and antioxidant indices in intestine of juvenile American eels (*Anguilla rostrata*)[J]. Feed research, 2020, 43(2): 42-45 (in Chinese).
- [29] Daniel Assan, Felix Kofi Agbeko Kuebutornye, Vivian Hlordzi, *et al.* Effects of probiotics on digestive enzymes of fish (finfish and shellfish); status and prospects: a mini review[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, Volume 257, 2022, 1096-1099.
- [30] Farshad Ramezani, Seyed Pezhman Hosseini Shekarabi, Mehdi Shamsaei Mehrgan, *et al.* Supplementation of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) diet with barberry (*Berberis vulgaris*) fruit extract: Growth performance, hemato-biochemical parameters, digestive enzyme activity, and growth-related gene expression [J]. Aquaculture, 2021, 540: 0044-8486.
- [31] 祝璟琳, 季桓涛, 肖炜等. 鱼腥草对无乳链球菌引起吉富罗非鱼肝脏损伤的修复作用 [J]. 水产学报, 2020, 44(7): 1187-1197.
Zhu J L, Ji H T, Xiao Y, *et al.* Protective effects from *Houttuynia cordata* against *Streptococcus agalactiae* induced liver injury of GIFT *Oreochromis niloticus* strain. [J] Journal of Fisheries, 2020, 44(7): 1187-1197(in Chinese).
- [32] 王丽宏, 叶元土, 张宝彤, 等. 几种养殖鱼类血清转氨酶活性参考值的探讨[J]. 饲料工业, 2011, 32(24): 18-20.
Wang L H, Ye Y T, Zhang B T, *et al.* Approach on the reference values of serum transaminase in several kinds of cultured fishes[J]. Feed industry, 2011, 32(24): 18-20 (in Chinese).
- [33] Ozardalı İ, Bitiren M, Karakılıç A Z, *et al.* Effects of selenium on histopathological and enzymatic changes in experimental liver injury of rats[J]. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 2004, 56: 59-64.
- [34] 钱云霞, 陈惠群, 孙江飞. 饥饿对养殖鲈鱼血液生理生化指标的影响[J]. 中国水产科学, 2002, 8(2): 133-137.
Qian Y X, Chen H Q, Sun J F. Effects of starvation on hematological and blood biochemical indices in cultured *Lateolabrax japonicus*[J]. Journal of Chinese Fishery Science, 2002, 8(2): 133-137 (in Chinese).
- [35] 王香丽, 麦康森, 徐玮, 等. 蛋氨酸对瓦氏黄颡鱼幼鱼肝脏及血浆中谷草转氨酶和谷丙转氨酶活力的影响 [J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2015, 45(9): 49-53.
Wang X L, Mai K S, Xu W, *et al.* Influence of dietary methionine on the activity of liver and plasma glutamic-pyruvic and glutamic oxalacetic transaminases of juvenile darkbarbel catfish (*Pelteobagrus vachelli*)[J]. Journal of Ocean University of China (Natural Sciences), 2015, 45(9): 49-53 (in Chinese).
- [36] 康绍乐, 杜启艳, 王萍, 等. 饥饿应激对泥鳅3种组织糖原、ACP和ALP的影响[J]. 河南师范大学学报(自然科学版), 2008, 36(6): 158-162.
Kang S L, Du Q Y, Wang P, *et al.* Effects of starvation

- stress on glycogen, ACP and ALP in three tissues of *Misgurnus anguillicadatus*[J]. Journal of Henan Normal University (Natural Science Edition), 2008, 36(6): 158-162 (in Chinese).
- [37] 曹新芳, 黄卉卉, 任秋楠, 等. 泥鳅消化道过氧化物酶、三磷酸腺苷酶、琥珀酸脱氢酶、酸性磷酸酶、碱性磷酸酶及非特异性酯酶的分布与组织定位[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2018, 27(5): 453-458.
- Cao X F, Huang H H, Ren Q N, *et al.* Distribution and histological localization of peroxidase, adenosine triphosphatase, succinate dehydrogenase, acid phosphatase, alkaline phosphatase and non-specific esterase in the digestive tract of *Misgurnus anguillicaudatus*[J]. Chinese Journal of Histochemistry and Cytochemistry, 2018, 27(5): 453-458 (in Chinese).
- [38] 毛瑞鑫, 刘福军, 张晓峰, 等. 鲤鱼乳酸脱氢酶活性的 QTL 检测[J]. 遗传, 2009, 31(4): 407-411.
- Mao R X, Liu F J, Zhang X F, *et al.* Studies on quantitative trait loci related to activity of lactate dehydrogenase in common carp (*Cyprinus carpio*)[J]. Inheritance, 2009, 31(4): 407-411 (in Chinese).
- [39] 陈思, 陈芳, 羽中. 关于乳酸脱氢酶的学习和总结[J]. 卫生职业教育, 2008(2): 71-72.
- Chen S, Chen F, Yu Z. Study and summary of lactate dehydrogenase[J]. Health vocational education, 2008(2): 71-72 (in Chinese).
- [40] 易继凌. 绿原酸对体外培养成骨细胞活性影响的初步研究 [D]. 中南民族大学, 2013.
- Yi J L. Preliminary study of chlorogenic acid on activity of cultured osteoblasts in *vitro* [D]. South-Central University for Nationalities, 2013 (in Chinese).
- [41] 史秀玲, 高银辉. 绿原酸对小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(19): 199-202.
- Shi X L, Gao Y H. Protective effect of chlorogenic acid on liver injury in mice[J]. Journal of Chinese Experimental Formulae, 2011, 17(19): 199-202 (in Chinese).
- [42] 杨玉辉, 周艳, 阮征, 等. 绿原酸保护由脂多糖诱导引起的大鼠慢性肝脏损伤[J]. 现代食品科技, 2014, 30(7): 23-26+241.
- Yang Y H, Zhou Y, Ruan Z, *et al.* Protective effects of chlorogenic acid on lipopolysaccharide-induced chronic liver injury in rats[J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(7): 23-26+241 (in Chinese).
- [43] 王志平, 张士瑾, 王光锋. 鱼类补体系统成分及补体特异性功能的研究进展[J]. 水生生物学报, 2008, 32(5): 760-769.
- Wang Z P, Zhang S C, Wang G F. Advances on the complement components, characteristic and function of complement system in fish[J]. Journal of Hydrobiology, 2008, 32(5): 760-769 (in Chinese).
- [44] 叶剑敏, 王玉红, 丁明娟, 等. 硬骨鱼 IgM 结构和功能及其体液免疫应答[J]. 华南师范大学学报(自然科学版), 2015, 47(5): 1-8.
- Ye J M, Wang Y H, Ding M M, *et al.* Teleost IgM structure, function and humoral immune response[J]. Journal of South China Normal University (Natural Science Edition), 2015, 47(5): 1-8 (in Chinese).
- [45] 白刃, 杨百学, 常洋, 等. 溶菌酶及其应用[J]. 畜禽业, 2009(8): 46-47.
- Bai R, Yang B X, Chang Y, *et al.* Lysozyme and its application[J]. Livestock and Poultry Industry, 2009(8): 46-47 (in Chinese).
- [46] 肖洋. 绿原酸对中华鳖生长性能和非特异性免疫的影响 [D]. 四川农业大学, 2010.
- Xiao Y. Effects of chlorogenic acid on growth and non-specific immunity on chinese soft-shelled chinese turtle[D]. Sichuan Agricultural University, 2010 (in Chinese).
- [47] 王多伽, 畅丽芳, 迟玉杨, 等. 日粮中添加不同水平绿原酸对獭兔血清免疫指标的影响[J]. 饲料研究, 2013(3): 33-36.
- Wang D J, Chang L F, Chi Y Y, *et al.* Effects of dietary chlorogenic acid supplementation on serum immune indexes of rex rabbits[J]. Feed Study, 2013(3): 33-36 (in Chinese).
- [48] 王建辉, 刘永乐, 李赤翎, 等. 杜仲绿原酸对高脂模型小鼠降血脂作用研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(15): 360-362+375.
- Wang J H, Liu Y L, Li C L, *et al.* Effect of chlorogenic acid extracted from *Eucommia Ulmoides Olivon hyperlipemia* of mice induced by high fat diet[J]. Food industry Science and Technology, 2012, 33(15): 360-362+375 (in Chinese).
- [49] 彭冰洁, 肖丽娟, 伍翔, 等. 绿原酸对高脂饲喂大鼠骨骼肌糖代谢的影响[J]. 中草药, 2015, 46(17): 2580-2585.
- Peng B J, Xiao L J, Wu X, *et al.* Effect of chlorogenic acid on carbohydrate metabolism in skeletal muscle of

- rats fed on high-fat diet[J]. *Chinese Herbal Medicine*, 2015, 46(17): 2580-2585 (in Chinese).
- [50] Mathieu Castex, Pierrette Lemaire, Nelly Wabete, *et al.* Effect of probiotic *Pediococcus acidilactici* on antioxidant defences and oxidative stress of *Litopenaeus stylirostris* under *Vibrio nigripulchritudo* challenge[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2009, 28(4): 622-631.
- [51] Sönmez Adem Yavuz, Bilen Soner, Alak Gonca, *et al.* Growth performance and antioxidant enzyme activities in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles fed diets supplemented with sage, mint and thyme oils[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2015, 41(1): 165-175.
- [52] Zhang Y, Wang Y Q, Liu X Y, *et al.* Metabolomics analysis for skin ulceration syndrome of *Apostichopus japonicus* based on UPLC/Q-TOF MS[J]. *Journal of Oceanology and Limnology*, 2021, 39(4): 1559-1569.
- [53] Pham Hung Duc, Siddik Muhammad A B, Fotedar Ravi, *et al.* Total bioavailable organic selenium in fishmeal-based diet influences growth and physiology of juvenile cobia *Rachycentron canadum* (Linnaeus, 1766) [J]. *Biological Trace Element Research*, 2019, 190(2): 541-549.
- [54] 张雪雷. 不同水平绿原酸对中华鳖抗氧化功能的影响[J]. *渔业致富指南*, 2021(13): 68-70.
- Zhang X L. Effects of different levels of chlorogenic acid on antioxidant function of *Trionyx sinensis*[J]. *How to Get Rich from Fishing*, 2021(13): 68-70 (in Chinese).
- [55] 刘静慧, 李冲, 徐美利, 等. 不同水平绿原酸对肉兔生长性能、抗氧化性能和肝脏微观结构的影响[J]. *畜牧与兽医*, 2021, 53(9): 21-26.
- Liu J H, Li C, Xu M L, *et al.* Effects of different levels of chlorogenic acid on growth, antioxidant properties and liver microstructure of meat rabbits[J]. *Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2021, 53(9): 21-26 (in Chinese).
- [56] 张宝龙, 曲木, 赵子续, 等. 不同植物源添加剂水平的饲料对红白锦鲤抗氧化能力及LPS活性的影响[J]. *农业技术与装备*, 2019(5): 20-25.
- Zhang B L, Qu M, Zhao Z X, *et al.* Effects of different botanical additives level on antioxidant and LPS activity of *Cyprinus Carpio* Haematopterus[J]. *Agricultural Technology and Equipment*, *Agricultural Technology and Equipment*, 2019(5): 20-25 (in Chinese).

Effects of chlorogenic acid in feed on the growth performance, digestive enzyme activity, immune function, and antioxidant capacity of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*)

LIU Xiaorui¹, MA Xibo², ZHANG Nan¹, LI Min¹, LI Ke¹,
JIAO Siqui¹, WANG Guiqin¹, KONG Yidi^{1*}

(1. College of Animal Science and Technology, Jilin Agriculture University/Jilin Provincial Key Laboratory of Animal Nutrition and Feed Science/Key Laboratory for Animal Production, Product Quality and Safety of Ministry of Education, Changchun 130118, China;
2. Fishery Technology Promotion Station of Qianguo County, Songyuan 131100, China)

Abstract: (Objective) Taking loach as the research object, the effects of different concentrations of chlorogenic acid added to the feed on the growth performance, digestive enzyme activity, immune function and antioxidant capacity of loach were studied. (Method) Disease free and injury free loach, weighing 3.50 ± 0.01 g/tail, was randomly divided into 5 groups. The basic feed was supplemented with 0, 200, 400, 600 and 800 mg/kg chlorogenic acid test feed, and each group was repeated for 56 days. After feeding test, the growth performance, digestive enzyme activity, biochemical indicators, immune function and antioxidant capacity of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) were determined. (Results) Compared with the control group, the final weight (FBW), weight gain rate (WGR) and specific growth rate (SGR) of loach were significantly increased by adding chlorogenic acid to the diet ($P < 0.05$); The activities of protease, lipase and amylase in liver and intestine increased significantly ($P < 0.05$), total antioxidant capacity (T-AOC), catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), glutathione (GSH) and glutathione peroxidase (GSH-Px) increased significantly, and malondialdehyde (MDA) production decreased. The activities of aspartic acid transaminase (AST) and alanine transaminase (ALT) in liver increased with the increase of chlorogenic acid concentration, reaching the maximum at 400 mg/kg and 600 mg/kg respectively. With the increase of acid concentration, serum AST and ALT activities decreased significantly ($P < 0.05$), and serum lactate dehydrogenase (LDH) gradually decreased with the increase of chlorogenic acid concentration, reaching the lowest value at 400 mg/kg concentration; The content of complement 3 (C3) and complement 4 (C4) in serum increased first and then decreased, reaching the peak when the concentration of chlorogenic acid was 400 mg/kg and 600 mg/kg, respectively; the level of immunoglobulin M (IgM) in serum significantly increased ($P < 0.05$), reaching its maximum at a concentration of 600 mg/kg; serum lysozyme (LYS) content first increased and then decreased, reaching the maximum when the concentration was 400 mg/kg. (Conclusion) Adding 400,600 mg/kg chlorogenic acid to the diet can improve the antioxidant capacity of loach, significantly improve the growth performance and digestive enzyme activity of loach ($P < 0.05$), enhance the immune function of loach and the digestion and absorption of nutrients, and further protect the liver tissue of loach.

Key words: *Misgurnus anguillicaudatus*; chlorogenic acid; growth performance; digestive enzyme activity; immune function; antioxidant capacity

Corresponding author: KONG Yidi. E-mail: kongyidi68@163.com

Funding projects: Jilin Provincial Science and Technology Development Program Key R&D Project 20230202067NC; Seventh Batch of Jilin Provincial Young Science and Technology Talents Support Project (QT202303);China Agriculture Research System of MOF and MARA (CARS-46)