

氧化鱼油与棕榈油对花鲈肝脏抗氧化酶及组织结构的影响

韩雨哲¹, 姜志强¹, 任同军¹, 越盐俊介², 高坚², 石洪玥¹

(1. 大连水产学院 农业部海洋水产增养殖学重点开放实验室, 辽宁 大连 116023; 2. 国立鹿儿岛大学水产学部水产营养研究室, 日本 鹿儿岛 8900056)

摘要: 在21个200 L圆形流水水槽中各放养花鲈(*Lateolabrax maculatus*)幼鱼, 初始体质量为(1.73±0.01) g。在相同的环境下投喂以棕榈油(P)与新鲜鱼油(F)或氧化鱼油(OF)不同比例混合的7组饲料(10P, 10F, 6F4P, 4F6P, 100F, 60F4P和40F6P), 每个实验组设3个重复。60 d饲养实验结束后, 通过测定花鲈肝脏部分抗氧化酶(超氧化物歧化酶SOD, 过氧化氢酶CAT和谷胱甘肽过氧化物酶GSH-Px)活力和总抗氧化能力(T-AOC), 并对肝脏、肠以及肌肉进行组织学观察, 研究在配合饲料中添加棕榈油替代氧化鱼油对花鲈肝脏抗氧化酶活力及其对组织结构的影响。结果表明, 在含有氧化鱼油的实验组中, 添加40%的棕榈油对花鲈肝脏的CAT活力以及GSH-Px活力有显著提高作用($P < 0.05$), 对SOD活力有一定的提高效果($P > 0.05$), 各组间总抗氧化能力差异不显著($P > 0.05$)。新鲜鱼油组(10F, 6F4P, 4F6P)间抗氧化酶活力差异不显著($P > 0.05$)。非氧化组花鲈肝脏和肌肉组织结构完整, 100F组花鲈肝脏和肌肉组织呈现氧化脂肪中毒症状, 添加棕榈油后(60F4P和40F6P)症状减轻, 各组花鲈肠结构无明显差异。由此认为, 棕榈油在花鲈饲料中部分替代鱼油是可行的, 另外, 在贮存不当的饲料中, 后喷涂一定比例的棕榈油能对其毒性产生缓解作用。[中国水产科学, 2010, 17(4): 798-806]

关键词: 氧化鱼油; 棕榈油; 花鲈; 抗氧化酶; 组织学

中图分类号: S96

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2010)04-0798-09

鱼油主要来源于捕捞渔业的产品, 据估计世界上75%以上的捕捞渔业已经被完全开发、过度开发或者枯竭^[1], 所以鱼油已经没有更多的开发潜力。在鱼油需求日益增加的压力下, 鱼油价格大幅升高^[2-3]。因而在水产饲料中应用植物油部分或全部替代鱼油已经成为不可逆转的趋势, 同时植物油也能有效减少或缓解鱼油氧化造成的负面效果。棕榈油富含维生素E(V_E)和 β -胡萝卜素, 具有一定的抗氧化功能^[4-5]。另外, 棕榈油含有高比例的棕榈酸及大量的油酸和亚油酸, 其饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸的比例接近1:1^[6]。其作为鱼油的替代品已经在大西洋鲑(*Salmo salar*)^[7]、欧洲鲈(*Dicentrarchus labrax* L.)^[8]、真鲷(*Pagrus major*)^[9]、非洲鲈(*Clarias*

gariiepinus)^[10]的实验中取得了良好的效果。

鱼体中最主要的抗氧化保护来自于超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)以及谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)等抗氧化酶, 这些酶能维持胞内超氧阴离子(O_2^-)和过氧化氢(H_2O_2)水平的稳定^[11-12]。同时这些抗氧化酶也是衡量机体健康与否的重要指标^[13]。

本研究以棕榈油与氧化鱼油及新鲜鱼油按不同比例混合饲喂花鲈(*Lateolabrax maculatus*), 通过其对花鲈肝脏抗氧化酶活力以及组织结构的影响, 探讨棕榈油在花鲈饲料中替代鱼油的适宜比例以及其作为优质天然抗氧化剂对氧化鱼油毒性的缓解作用, 并为养殖花鲈肝脏抗氧化酶活力作为饲料氧化程度的指示因子提供科学依据。

收稿日期: 2009-11-25; 修订日期: 2010-01-25.

基金项目: 辽宁省科学技术重大项目资助(2008203002).

作者简介: 韩雨哲(1984-), 男, 在读硕士, 主要从事水产动物营养与饲料科学研究. E-mail: hanyuzhe1234@hotmail.com

通讯作者: 姜志强. E-mail: zhqjiang@dlfu.edu.cn

1 材料与方法

1.1 实验饲料

实验以鱼粉和活性谷蛋白为蛋白源, 棕榈油(P)、新鲜鱼油(F)及氧化鱼油(OF)为主要脂肪源(饲料配方见表1), 设计了不同比例混合3种脂肪源的7组等氮等能饲料, 10P(全棕榈油), 10F(全新鲜鱼油), 6F4P(新鲜鱼油: 棕榈油=6:4, 质量比), 4F6P(新鲜鱼油: 棕榈油=4:6, 质量比), 10OF(全氧化鱼油), 6OF4P(氧化鱼油: 棕榈油=6:4, 质量比), 4OF6P(氧化鱼油: 棕榈油=4:6, 质量比)。并将除10P外的其他6组饲料根据是否添加氧化鱼油将饲料分为非氧化组(10F, 6F4P, 4F6P)和氧化组(10OF, 6OF4P, 4OF6P)。饲料原料经混合后用制粒机挤压成颗粒

料, 每组饲料2种规格($\Phi=1.5$ mm和3.2 mm), 在烘箱中40℃烘干2 h, 保存于-20℃冰箱中。不同饲料的生化组成, 能值及过氧化物值(POV)见表2。过氧化物值的测定参考 Association of Official Analytical Chemists^[14]。氧化鱼油的制作方法参考 Koshio 等^[15]的方法, 用1 L不含有抗氧化物质的新鲜的鱼油, 放在水温为70℃的恒温水槽中, 24 h连续的充纯氧, 每12 h测定一次POV值, 直到POV值为100 meq/kg为止。用此高氧化程度的氧化鱼油与新鲜鱼油不同比例混合, 制成不同氧化程度的氧化鱼油, 应用这些较低氧化程度的氧化鱼油与棕榈油按照表2的比例混合, 制成POV值接近, 但是氧化鱼油与棕榈油比例不同的混合油。

表1 实验饲料组成
Tab. 1 Composition of the experimental diets

g/kg 饲料

饲料原料 Ingredient	含量 Content
鱼粉 Fish meal	700
α -淀粉 α -starch	40
糊精 Dextrin	20
活性谷蛋白 Active gluten	50
α -纤维素 α -cellulose	10
混合脂肪 Lipid premix ¹	100
抗坏血酸 AMP-Na/Ca	0.3
混合维生素 Vitamin Mix. ²	39.7
混合矿物质 Mineral Mix. ³	40
合计 Total	1000

注: 1) 新鲜鱼油 POV 8.71 meq/kg, 氧化鱼油 POV 104.86 meq/kg, 棕榈油 POV 6.25 meq/kg. 10P(全棕榈油), 10F(全新鲜鱼油), 6F4P(新鲜鱼油: 棕榈油=6:4, 质量比), 4F6P(新鲜鱼油: 棕榈油=4:6, 质量比), 10OF(全氧化鱼油), 6OF4P(氧化鱼油: 棕榈油=6:4, 质量比), 4OF6P(氧化鱼油: 棕榈油=4:6, 质量比). 2) 混合维生素(mg/10g 预混料): β 胡萝卜素 32.09, 维生素D₃ 3.23, 维生素K₃ 15.28, α -生育酚 128.32, 维生素B₁ 19.25, 维生素B₂ 64.13, 维生素B₆ 15.28, 维生素B₁₂ 0.03, 生物素 1.92, 肌醇 1 283.04, 烟酸 256.58, 泛酸钙 89.83, 叶酸 4.81, 氯化胆碱 2 623.10, 氨基苯甲酸 127.75. 3) 混合矿物质(mg/10g 预混料): NaCl 359.30, MgSO₄ · 7H₂O 1 266.74, NaH₂PO₄ · 2H₂O 806.35, KH₂PO₄ 2 217.32, Ca(H₂PO₄)₂ · 2H₂O 1 255.66, 柠檬酸铁 274.60, 乳酸钙 3023.67, Al(OH)₃ 1.73, ZnSO₄ · 7H₂O 33.01, CuSO₄ 0.92, MnSO₄ · 5H₂O 7.40, Ca(10₃)₂ 1.39, CoSO₄ · 7H₂O 9.23.

Note: 1) POV of Fresh fish oil 8.71 meq/kg, POV of Oxidized fish oil 104.86 meq/kg, POV of Palm oil 6.25 meq/kg. 10P (palm oil), 10F (fish oil), 6F4P (fish oil blended palm oil at ratio of 6 : 4), 4F6P (fish oil blended palm oil at ratio of 4 : 6), 10OF (oxidized fish oil), 6OF4P (oxidized fish oil blended palm oil at ratio of 6 : 4) and 4OF6P (oxidized fish oil blended palm oil at ratio of 4 : 6); 2) Vitamin mixture (mg 10g⁻¹): β -carotene, 32.09; Vitamin D₃, 3.23; NaHSO₃ · 3H₂O (K₃), 15.28; DL- α -Tocopherol acetate, 128.32; Thiamine-nitrate, 19.25; Riboflavin, 64.13; Pyridoxine-HCl, 15.28; Cyanocobalamine, 0.03; d-Biotin, 1.92; Inositol, 1 283.04; Niacine (Nicotinic acid), 256.58; Ca Panthothenate, 89.83; Folic acid, 4.81; Choline chloride, 2 623.10; p-Aminobenzoic acid, 127.75. 3) Mineral mixture (mg 10g⁻¹): NaCl, 359.30; MgSO₄ · 7H₂O, 1 266.74; NaHPO₄ · 2H₂O, 806.35; KH₂PO₄, 2 217.32; Ca (H₂PO₄)₂ · 2H₂O, 1 255.66; Fe Citrate, 274.60; Ca Lactate, 3023.67; Al (OH)₃, 1.73; ZnSO₄ · 7H₂O, 33.01; CuSO₄, 0.92; MnSO₄ · 5H₂O, 7.40; Ca (10₃)₂, 1.39; CoSO₄ · 7H₂O, 9.23.

1.2 饲养管理

实验用花鲈幼鱼采自辽东湾海区野生鱼苗,鱼苗到达实验室后先在4个200 L圆形水槽中暂养驯化2周,驯化期间投喂山东升索有限公司的商用饲料。待实验鱼适应实验室环境后开始正式实验,实验共分7个处理,每一处理设3个平行,共21个200 L蓝色圆形聚乙烯水缸,每缸放鱼20尾,初始体质量(1.73 ± 0.01) g。日投喂2次,分别在7:30和16:30进行,采用表观饱食投喂。每日吸底1次,清理粪便及收集残饵。驯养及正式实验均采用流水系统,流速为约为0.9 L/min,水交换量约为每天10个全量,24 h充气。每10天取样称重一次并随机更换

水缸的位置以最大限度的保证养殖环境的一致性。

实验从2008年6月6日至2008年8月5日共60 d。在大连水产学院农业部海洋水产增养殖学重点开放实验室进行。实验期间水温为大连黑石礁海区当季自然海水温度并每日测量,定期用折射计测定养殖水体盐度,每周使用便携式溶氧仪(YSI,550I, USA)和pH计(雷磁PHS-2C,上海)测定养殖水体溶氧及pH值。同时测定氨氮及亚硝酸盐含量(次溴酸盐氧化法和重氮-偶氮法)。整个养殖期间,水温为 $14.7 \sim 23.3$ °C,盐度 32.4 ± 0.3 ,溶解氧(7.85 ± 0.04) mg/L, pH(7.8 ± 0.03),总氨氮小于0.05 mg/L,亚硝酸盐小于0.01 mg/L。

表2 饲料不同脂肪源比例及营养成分
Tab. 2 Blended ratio of different fat sources and proximate analysis of the diet

处理 Treatment	棕榈油 Palm oil	非氧化组 Non oxidized group			氧化组 Oxidized group		
	10P	10F	6F4P	4F6P	100F	60F4P	40F6P
新鲜鱼油 /% Fresh fish oil	0	100	60	40	20	10	0
氧化鱼油 /% Oxidized fish oil	0	0	0	0	80	50	40
棕榈油 /% Palm oil	100	0	40	60	0	40	60
过氧化物值 POV/(meq · kg ⁻¹)	5.6	10.2	7.1	8.5	26.6	26.3	25.6
营养成分/(g · kg ⁻¹ in dry basis) Analyzed nutrients							
水分 Moisture	123.6	129.6	131.9	128.7	119.1	132.0	133.0
粗蛋白 Crude protein	487.6	475.5	480.4	475.4	488.5	494.5	484.1
粗脂肪 Crude lipid	180.9	183.7	180.2	181.2	171.0	171.9	172.0
灰分 Ash	178.7	186.4	187.0	185.3	188.5	176.3	182.5
总能/(kJ · g ⁻¹) Gross energy	20.71	20.23	20.53	20.92	20.31	20.29	20.38

注:新鲜鱼油 POV 8.71 meq/kg,氧化鱼油 POV 104.86 meq/kg,棕榈油 POV 6.25 meq/kg. 10P(全棕榈油),10F(全新鲜鱼油),6F4P(新鲜鱼油:棕榈油=6:4,质量比),4F6P(新鲜鱼油:棕榈油=4:6,质量比),100F(全氧化鱼油),60F4P(氧化鱼油:棕榈油=6:4,质量比),40F6P(氧化鱼油:棕榈油=4:6,质量比)。

Note: POV of Fresh fish oil 8.71 meq/kg, POV of Oxidized fish oil 104.86 meq/kg, POV of Palm oil 6.25 meq/kg. 10P (palm oil), 10F (fish oil), 6F4P (fish oil blended palm oil at ratio of 6:4), 4F6P (fish oil blended palm oil at ratio of 4:6), 100F (oxidized fish oil), 60F4P (oxidized fish oil blended palm oil at ratio of 6:4) and 40F6P (oxidized fish oil blended palm oil at ratio of 4:6).

1.3 样品收集

60 d饲养实验结束后,停食24 h,每缸随机抽取5尾,于冰盘上直接进行解剖,取肝脏用4 °C预冷的去离子水冲净,干冰冰盒中暂存后至于-80 °C冰箱中保存。再每缸随机取1尾实验鱼,解剖后,立即取鱼左侧肝脏末端,前肠中段和鱼左侧背部大侧肌迅速置于波恩氏液固定24 h,用50%乙醇冲洗后转入70%乙醇保存。

1.4 测定指标及组织切片的制作

1.4.1 饲料成分的测定 水分测定采用恒温干燥法(105 °C);粗蛋白测定采用半微量凯氏定氮法;粗脂肪测定采用索氏抽提法;粗灰分测定采用马福炉灼烧法(550 °C)^[16]。能量采用WGR-1型氧弹式热量计直接测得。

1.4.2 抗氧化酶活力的测定 组织样品在4 °C下解冻,剪碎,按质量体积比1:9(w/v)加入预冷的纯

水,玻璃匀浆器匀浆,匀浆经3 500 r/min离心10 min(LD4-2A型低速离心机)取上清备用。SOD、CAT、GSH-Px活力、T-AOC(总抗氧化能力)以及组织匀浆蛋白质含量的测定均使用南京建成生物工程研究所的试剂盒测定。SOD、CAT活力的测定使用酶标仪(Thermo,上海)测定,GSH-Px活力以及T-AOC使用722型紫外分光光度计测定。

SOD活性用SOD试剂盒(黄嘌呤氧化酶法)测定,其活性单位定义为:在37℃条件下,每mg组织蛋白在1 mL反应液中SOD抑制率达50%时所对应的SOD量为1个SOD活力单位(U/mg prot)。

CAT活性用CAT试剂盒(可见光法)测定,其活性单位定义为:每mg组织蛋白每秒钟分解1 μmol 的过氧化氢的量为1个活力单位(U/mg prot)。

GSH-Px活性用GSH-Px试剂盒(DTNB法)测定。其活性单位定义为:在37℃条件下每mg组织蛋白每min扣除非酶反应的作用,使反应体系中GSH降低1 $\mu\text{mol/L}$ 为1个酶活力单位[U/(mg prot·min)]。

T-AOC用T-AOC试剂盒测定,其定义为:在37℃条件下,每min每mg组织蛋白使反应体系的吸光度(OD)值,每增加0.01时,为1个总抗氧化能力单位(U/mg prot)。

组织匀浆蛋白质含量用蛋白质测定试剂盒(考马斯亮兰法)测定。

1.4.3 组织切片的制作 固定好的实验鱼肝脏,肠和肌肉用常规石蜡切片法切片,切片厚度7~9 μm ,HE染色。在Nikon eslipse 50i显微镜下观察,并用Nikon coolpix 5400数码相机照相。

1.5 统计分析

数据以平均值 \pm 标准误($\bar{x}\pm\text{SE}$)表示,实验结果用SPSS 13.0软件包进行处理,在对氧化鱼油组与非氧化鱼油组(2因素3水平,2 \times 3)进行双因素方差分析(Two-way ANOVA)的基础上,采用Turkey's多重比较对全部处理进行方差分析,检验组间差异是否显著,以 $P<0.05$ 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 不同饲料对花鲈肝脏抗氧化酶活力的影响

不同的实验饲料对花鲈幼鱼肝脏抗氧化酶活力的影响见表3。由表中可以看出,SOD和CAT活力的最高值均出现在10P和60F4P,并且这2种饲料饲喂60 d的花鲈幼鱼肝脏的氧化酶活力显著高于其他各组($P<0.05$)。非氧化组(10F,6F4P,4F6P)实验鱼的肝脏SOD和CAT活力差异不显著($P>0.05$),但是分别出现递增和递减的趋势,与此同时氧化组(100F,60F4P,40F6P)则随棕榈油添加量的升高均出现先升高后降低的趋势。在实验鱼肝脏GSH-Px活力指标中也出现了类似的情况,即峰值出现在10P和60F4P两组中并显著高于其他各组($P<0.05$),在氧化组中随棕榈油添加量的升高,GSH-Px的活力先升高后降低。总抗氧化能力(T-AOC)的差异不显著($P<0.05$)但最高值出现在饲喂60F4P的实验鱼中。表4对除了10P组外其他6组进行了方差分析,将氧化因素(氧化与新鲜)和棕榈油添加水平(0,40%,60%)作为2个因素。结果表明,氧化因素与棕榈油水平对花鲈幼鱼肝脏SOD活力的影响无交互作用,氧化因素是主要影响因子。同时氧化因素和棕榈油水平对花鲈幼鱼肝脏GSH-Px活力的影响存在交互作用。氧化因素与棕榈油水平对花鲈幼鱼总抗氧化能力的影响也存在交互作用。

2.2 不同饲料对花鲈组织结构的影响

经60 d饲养试验后,取实验鱼的肝,肠以及肌肉固定,HE染色,显微镜观察组织结构变化。详细结果见图版I。

2.2.1 肝脏 未饲喂添加氧化鱼油的4组(10P,10F,6F4P,4F6P)花鲈肝脏切片差异不明显,如图版I-1-I-4的肝细胞没有明显的区别,结构均较完整。但是在100F组中发现明显的肝细胞大面积凝固性坏死,如图版I-5的标注a所示。但是如图版I-7中标注b所示,在添加棕榈油后坏死面积缩小。

2.2.2 肠 由图版I-8至图版I-14可以看出,饲喂各组饲料的花鲈肠微绒毛组织结构完整,杯状细胞

表3 不同饲料对花鲈肝脏抗氧化酶活力的影响
Tab. 3 Effects of different treatments on activities of anti-oxidant enzymes in liver of juvenile Japanese sea bass (*Lateolabrax maculatus*)
n=3; $\bar{x} \pm SE$; U · mg⁻¹ prot

饲料组 Ttrial	SOD	CAT	GSH-Px	T-AOC
10P	166.27 ± 50.61 ^b	128.95 ± 6.26 ^b	40.08 ± 0.88 ^c	0.76 ± 0.01
10F	39.82 ± 8.77 ^a	75.21 ± 7.28 ^a	5.75 ± 0.16 ^a	0.52 ± 0.33
6F4P	48.62 ± 9.03 ^a	66.78 ± 4.96 ^a	5.55 ± 0.22 ^a	0.14 ± 0.07
4F6P	55.29 ± 21.54 ^a	55.90 ± 0.87 ^a	6.67 ± 1.01 ^{ab}	1.31 ± 0.98
100F	71.77 ± 3.06 ^{ab}	58.38 ± 4.65 ^a	4.89 ± 1.13 ^a	0.28 ± 0.11
60F4P	105.88 ± 14.35 ^{ab}	134.89 ± 13.38 ^b	27.28 ± 9.94 ^{bc}	1.58 ± 0.44
40F6P	82.92 ± 8.80 ^{ab}	70.94 ± 4.54 ^a	5.27 ± 1.02 ^a	0.73 ± 0.25

注: 同一列中不同字母表示组间差异显著 ($P < 0.05$); 反之, 差异不显著 ($P > 0.05$).

Note: Data with different alphabets in the same row are significantly different ($P < 0.05$); NS, $P > 0.05$.

表4 氧化因素与棕榈油水平交互作用对花鲈肝脏抗氧化酶活力的影响
Tab. 4 Interaction of oxidation and palm oil level on activities of anti-oxidant enzymes in liver of juvenile Japanese sea bass (*Lateolabrax maculatus*)

方差分析 Analysis of variance	SOD	CAT	GSH-Px	T-AOC
氧化因素 Oxidized or not	**	**	NS	NS
棕榈油水平 Level of palm oil	NS	**	NS	NS
氧化因素 × 棕榈油水平 Ox × Po	NS	**	*	*

注: * 作用显著或存在交互作用 ($P < 0.05$); ** 作用极显著或交互作用极显著 ($P < 0.01$); NS, 作用不显著或无交互作用 ($P > 0.05$).

Note: * $P < 0.05$ A significant effect was found or interaction was found, ** $P < 0.01$ A extremely significant effect was found or a extremely significant interaction was found, NS, $P > 0.05$ (No significant effect was found or interaction was found).

数量相近, 差别不明显。在对肠的切片 HE 染色观察中, 未发现肠微绒毛脱落等现象。

2.2.3 肌肉 由图版 I-19 标注 c 可以看出, 100F 组花鲈肌纤维萎缩, 肌膜呈网状结构。但是在图版 I-20 以及图版 I-21 中可以看出, 添加棕榈油后肌纤维萎缩程度降低, 但仍不如未添加氧化鱼油的 4 组肌纤维饱满 (图版 I-16)。

3 讨论

棕榈油富含维生素 E 以及 β -胡萝卜素等优质的天然抗氧化剂, 在对大西洋鲑 (*Salmo salar*)^[1]、真鲷 (*Pagrus major*)^[9] 等的饲养试验中均得到了良好的效果, 并证实, 饲料中添加一定量的棕榈油不但对鱼类的生长没有影响而且能通过提高饲料维生素 E 含量来提高饲料乃至机体的抗氧化性能^[10]。本实验中饲喂氧化鱼油组 (100F, 60F4P, 40F6P) 饲料的花鲈肝脏, 其 SOD、CAT 以及 GSH-Px 的活力均呈现随棕榈油的添加先升高后降低的现象, 而且 CAT、GSH-

Px 活力差异显著 ($P < 0.05$)。Mourente 等^[12] 在对金头鲷 (*Sparus aurata* L.) 的实验中发现, 饲喂添加抗氧化剂和氧化鱼油的饲料 60 d 后, 金头鲷肝脏 CAT 活力显著降低。这与本研究中氧化组 CAT 活力先升高后降低的结果不同, 造成这种差别的原因有可能是因为 2 个实验氧化鱼油的氧化程度不同, 对机体造成的伤害有所区别。另外, 酶对外界刺激所产生的变化是有一定的周期性, 不同条件下机体对外界刺激产生适应所需要的时间也不同^[17]。这也可能是造成实验结果不同的原因。本实验中, 各组实验鱼的肝脏抗氧化酶 60F4P 组中获得了相对较高的活力, 这个结果表明 60F4P 饲料饲喂的花鲈对氧化脂肪产生了自身的适应。但是一旦脂肪的氧化程度超过了这种适应, 肝脏可能会受到更严重的损害^[17]。与此同时, 本实验中 10P 组饲料的实验鱼肝脏的抗氧化酶活力也相对较高, 这种现象有可能是由于富含天然抗氧化剂的棕榈油对机体抗氧化能力的提高所造成的。抗氧化酶活力升高一方面能说明机体受到了

一定的刺激;同时另一方面也说明,机体对外界刺激的反应能力很强,通过提高酶的活力保护机体免受更深的损伤。可以把氧化饲料当作一种刺激,这样的变化趋势在整个饲养期间势必会有所变化。本研究由于条件限制,没有对实验对象进行周期性的酶活力观察,在后续的实验是值得对其在氧化鱼油和棕榈油的作用下所产生的酶活力进行周期性研究。

未添加氧化鱼油的4组饲料饲喂的花鲈肝脏组织结构完整,未见明显的病变症状。这说明从组织结构完整性的角度衡量,棕榈油在花鲈饲料中替代60%以下的鱼油是可行的,对组织结构没有显著影响。但饲喂10P组饲料的花鲈肝脏出现了明显的大面积凝固性坏死,但未见溶解性坏死等严重的氧化脂肪中毒症状。氧化组饲料中,添加棕榈油的两组饲喂的花鲈肝脏中毒症状有所缓解,偶见凝固性坏死。肌肉组织学观察中也发现了类似的情况。这与叶仕根等^[18]、任泽林等^[19]在鲤(*Cyprinus carpio*)中发现的结果相类似。肝脏是机体营养物质代谢和解毒的中心,对外界的刺激尤其是氧化刺激极为敏感。本实验中饲喂10OF组饲料的花鲈肝脏结构明显遭到破坏,组织结构病变。功能的变化就必然导致结构的变化,肝脏抗氧化酶活力的变化就必然导致生理结构相应的变化,本研究氧化组花鲈肝脏的抗氧化酶活力相对较高,肝脏组织结构也相应的产生了的损伤。Monahan等^[20]认为,氧化油脂会对胰腺产生损害,胰腺的严重损伤必然导致胰岛素的分泌减少,使蛋白质的合成受阻而分解作用加强,造成骨骼肌营养不良。此外,氧化油脂的成分非常复杂,含有的大量自由基、过氧化物(如醛、酮等)能与蛋白质发生交联,并攻击细胞膜中的脂肪酸,使细胞膜通透性增加,胞浆流失,机体筋隔结缔组织萎缩变性、肌纤维方向变乱以及肌纤维透明变性。本实验中,在氧化组添加了棕榈油后,肌肉萎缩症状恢复。这可能是由于棕榈油中的维生素E等抗氧化成分对花鲈的肝脏及胰腺产生了保护作用,阻断了氧化油脂对肌肉产生影响的途径,从而保护了机体^[21]。另外,在整个养殖周期中并未发现花鲈瘦背等症状,这可能是由于饲料的氧化程度较低造成的。

参考文献:

- [1] Ng W K, Tocher R D, Bell J G. The use of palm oil in aquaculture feeds for salmonid species [J]. *Eur J Lipid Sci Technol*, 2007, 109 (4): 394-399.
- [2] Tacon A G J. Global trends in aquaculture and compound aquafeed production [M]// Tacon A G J, Turret R A I. *International aquafeed directory and buyers' guide*. Middlesex (UK): Uxbridge, 2003: 8-23.
- [3] 刘喜亮,刘智峰. 世界植物油料油脂的生产贸易消费概况[J]. *粮油加工与食品机械*, 2005 (2): 14-18.
- [4] Sambanthamurthi R, Sundram K, Tan Y A. Chemistry and biochemistry of palm oil [J]. *Prog Lipid Res*, 2000, 39 (6): 507-558.
- [5] Martins D A, Afonso O B Luis, Hosoya Sho, et al. Effects of moderately oxidized dietary lipid and the role of vitamin E on the stress response in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) [J]. *Aquaculture*, 2007, 272 (1-4): 573-580.
- [6] EDEM D O. Palm oil: Biochemical, physiological, nutritional, hematological, and toxicological aspects: A review [J]. *Plant Foods Human Nutr*, 2002, 57 (3-4): 319-341.
- [7] Bell J G, Henderson R J, Tocher D R, et al. Substituting fish oil with crude palm oil in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects muscle fatty acid composition and hepatic fatty acid metabolism [J]. *J Nutr*, 2002, 132 (2): 222-230.
- [8] Richard N, Mourente G, Kaushik S, et al. Replacement of a large portion of fish oil by vegetable oils does not affect lipogenesis, lipid transport and tissue lipid uptake in European seabass (*Dicentrarchus labrax* L.) [J]. *Aquaculture*, 2006, 261 (3): 1077-1087.
- [9] Komilus F C, Shichi N, Koshio S, et al. Influences of palm oil blended with fish oil on growth performances and lipid profiles of Red sea bream (*Pagrus major*) [J]. *Aquac Sci*, 2008, 56 (3): 317-326.
- [10] Lim P K, Boey P L, Ng W K. Dietary palm oil level affects growth performance, protein retention and tissue vitamin E concentration of African catfish, *Clarias gariepinus* [J]. *Aquaculture*, 2001, 202: 101-112.
- [11] Ferrante I, Ricci R, Aleo E, et al. Can enzymatic antioxidant defences in liver discriminate between wild and sea cage-reared Tuna quality [J]. *Aquaculture*, 2008, 279 (1-2): 182-187.
- [12] Mourente G, Diaz-Salvago E, Bell J G, et al. Increased activities of hepatic antioxidant defence enzymes in juvenile gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) fed dietary oxidized oil: attenuation by dietary vitamin E [J]. *Aquaculture*, 2002, 214 (1-4): 343-361.
- [13] Liu Y, Wang W N, Wang A L, et al. Effects of dietary vitamin E

- supplementation on antioxidant enzyme activities in *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) exposed to acute salinity changes [J]. *Aquaculture*, 2007, 265 (1-4): 351-358.
- [14] AOCS Official Methods of Analysis, [M]. 13th ed. Washington D C: Association of Official Analytical Chemists, 1984: 45-53.
- [15] Koshio S, Ackman R G, Lall S P. Effects of oxidized herring and canola oils in diets on growth, survival, and flavor of Atlantic salmon, *Salmo salar* [J]. *J Agric Food Chem*, 1994, 42 (5): 1164-1169.
- [16] 桂远明, 吴垠, 李丹彤, 等. 水产动物机能学实验[M]. 北京: 中国农业出版社, 2004: 15-29, 313-317.
- [17] 曾端, 麦康森, 艾庆辉. 脂肪肝病变大黄鱼肝脏脂肪酸组成、代谢酶活性及抗氧化能力的研究[J]. *中国海洋大学学报*, 2008, 38 (4): 542-546.
- [18] 叶仕根, 汪开毓, 何显荣. 鲤摄食含氧化鱼油的饲料后其病理学的变化[J]. *大连水产学院学报*, 2006, 21 (1): 1-6.
- [19] 任泽林, 霍启光, 曾虹. 氧化鱼油对鲤鱼生产性能和肌肉组织结构的影响[J]. *动物营养学报*, 2001, 13 (1): 59-64.
- [20] Monahan F J, Gray J I, Asghar A, et al. Effect of dietary lipid and vitamin E supplementation on free radical production and lipid oxidation in porcine muscle microsomal fractions[J]. *Food Chem*, 1993, 46 (1): 1-61.
- [21] 任泽林, 曾虹, 霍启光, 等. 氧化鱼油对鲤肝胰脏抗氧化机能及其组织结构的影响[J]. *大连水产学院学报*, 2000, 15 (4): 235-243.

Effects of oxidized fish oil blended with palm oil on antioxidant capacity and histology of Japanese sea bass (*Lateolabrax maculatus*) juvenile

HAN Yuzhe¹, JIANG Zhiqiang¹, REN Tongjun¹, KOSHIO Shunsuke², GAO Jian², SHI Hongyue¹

(1. Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Agriculture, Dalian Fisheries University, Dalian, 116023 China; 2. Laboratory of Aquatic Animal Nutrition, Faculty of Fisheries, Kagoshima University, Kagoshima 8900056, Japan)

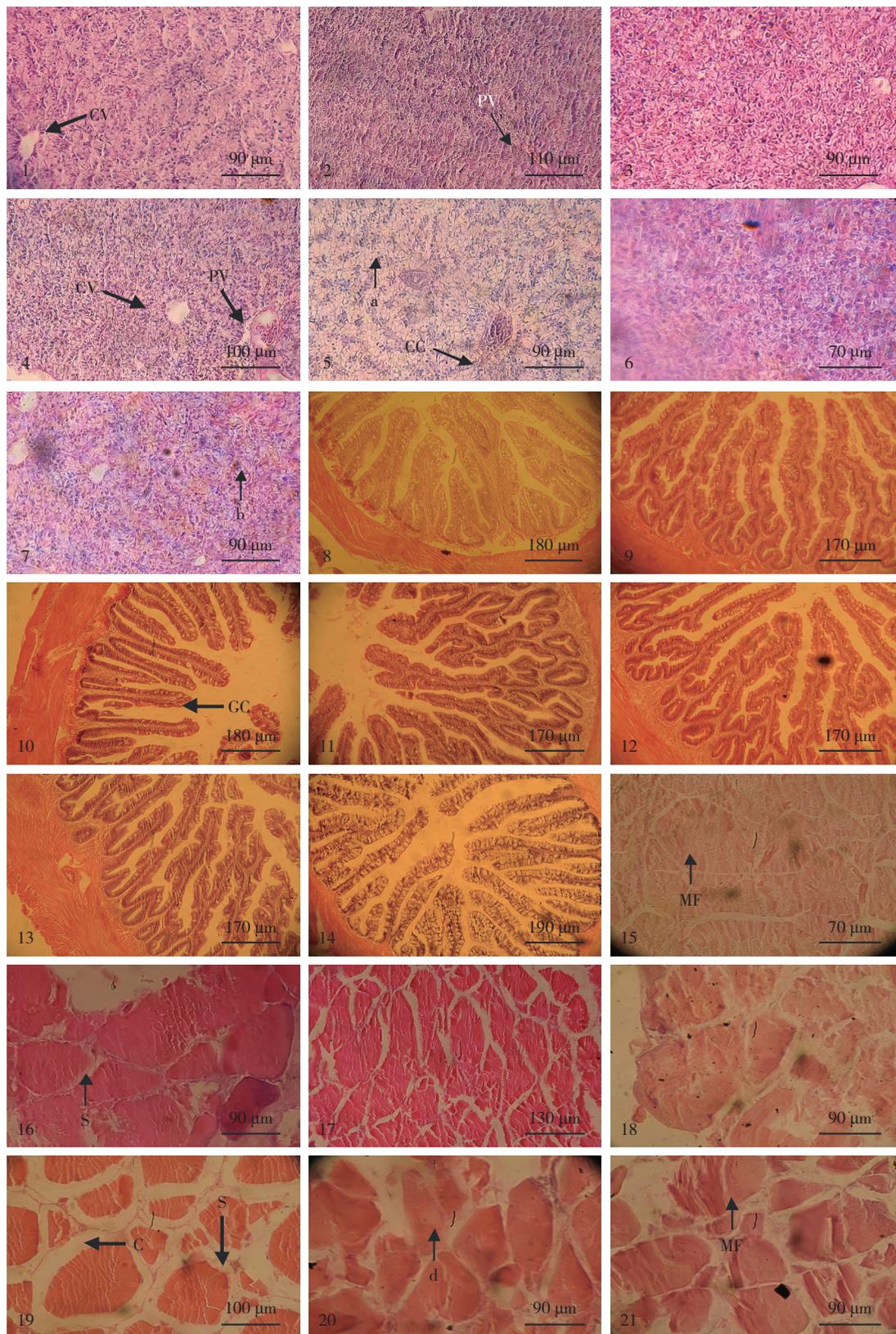
Abstract: A 60-days feeding trial was conducted to determine the effects of varies diets on Japanese sea bass (*Lateolabrax maculatus*) juvenile with initial weight of (1.73 ± 0.01) g. Seven experimental diets were formulated with 10P, 10F, 6F4P, 4F6P, 10OF, 6OF4P and 4OF6P (P: palm oil, F: fresh fish oil, OF: oxidized fish oil). After the feeding trial, antioxidant enzymes (Catalase CAT, Superoxide dismutase SOD and Glutathione peroxidase GSH-Px) and total antioxidant capacity of vitality (T-AOC) of the liver was measured as well as histology of liver, intestine and muscle were observed to determine the effects on histology and antioxidant enzymes. The results showed that in the oxidized fish oil groups, replaced 40% fish oil with palm oil could significantly promote the activity of CAT and GSH-Px of Japanese sea bass liver ($P < 0.05$). But a slight promotion was found in SOD ($P < 0.05$). No significant difference was observed in T-AOC ($P < 0.05$), also palm oil did not significantly effect the antioxidant enzymes activity and total antioxidant capacity ($P > 0.05$) in fresh fish oil groups. Liver and muscle were healthy and without any damage in non-oxidized groups. Disservices of liver and muscle were found in 10OF, but after blended with palm oil, the symptoms were mitigated. The structure of intestines was integral and healthy in all groups. Therefore, it is available to replace fish oil partly with palm oil in Japanese sea bass diets. Mix partly of palm oil in the diet may decline the toxicity of oxidized fish oil. [*Journal of Fishery Sciences of China*, 2010, 17 (4): 798-806]

Key words: oxidized fish oil; palm oil; *Lateolabrax maculatus*; antioxidant enzymes; histology

Corresponding author: JIANG Zhiqiang. E-mail: zhqjiang@dlfu.edu.cn

韩雨哲等：氧化鱼油与棕榈油对花鲈肝脏抗氧化酶及组织结构的影响

HAN Yuzhe et al: Effects of oxidized fish oil blended with palm oil on antioxidant capacity and histology of Japanese sea bass (*Lateolabrax maculatus*) juvenile



图版 I Plate I

图版 I 说明

1: 饲喂 10P 组饲料 60 d 后, 花鲈肝脏组织切片. 2: 饲喂 10F 组饲料 60 d 后, 花鲈肝脏组织切片. 3: 饲喂 6F4P 组饲料 60 d 后, 花鲈肝脏组织切片. 4: 饲喂 4F6P 组饲料 60 d 后, 花鲈肝脏组织切片. 5: 饲喂 100F 组饲料 60 d 后, 花鲈肝脏组织切片. 6: 饲喂 60F4P 组饲料 60 d 后, 花鲈肝脏组织切片. 7: 饲喂 40F6P 组饲料 60 d 后, 花鲈肝脏组织切片. 8: 饲喂 10P 组饲料 60 d 后, 花鲈肠组织切片. 9: 饲喂 10F 组饲料 60 d 后, 花鲈肠组织切片. 10: 饲喂 6F4P 组饲料 60 d 后, 花鲈肠组织切片. 11: 饲喂 4F6P 组饲料 60 d 后, 花鲈肠组织切片. 12: 饲喂 100F 组饲料 60 d 后, 花鲈肠组织切片. 13: 饲喂 60F4P 组饲料 60 d 后, 花鲈肠组织切片. 14: 饲喂 40F6P 组饲料 60 d 后, 花鲈肠组织切片. 15: 饲喂 10P 组饲料 60 d 后, 花鲈肌肉组织切片. 16: 饲喂 10F 组饲料 60 d 后, 花鲈肌肉组织切片. 17: 饲喂 6F4P 组饲料 60 d 后, 花鲈肌肉组织切片. 18: 饲喂 4F6P 组饲料 60 d 后, 花鲈肌肉组织切片. 19: 饲喂 100F 组饲料 60 d 后, 花鲈肌肉组织切片. 20: 饲喂 60F4P 组饲料 60 d 后, 花鲈肌肉组织切片. 21: 饲喂 40F6P 组饲料 60 d 后, 花鲈肌肉组织切片.

a: 肝细胞大面积凝固性坏死. b: 坏死面积缩小. c: 肌纤维萎缩, 肌膜呈网状. d: 肌纤维恢复饱满. CC: 肝细胞索. CV: 中央静脉. GC: 杯状细胞. MF: 肌纤维. PV: 门静脉. S: 肌膜.

Explanation of Plate I

1: Liver of Japanese sea bass fed with diet 10P. 2: Liver of Japanese sea bass fed with diet 10F. 3: Liver of Japanese sea bass fed with diet 6F4P. 4: Liver of Japanese sea bass fed with diet 4F6P. 5: Liver of Japanese sea bass fed with diet 100F. 6: Liver of Japanese sea bass fed with diet 60F4P. 7: Liver of Japanese sea bass fed with diet 40F6P. 8: Intestine of Japanese sea bass fed with diet 10P. 9: Intestine of Japanese sea bass fed with diet 10F. 10: Intestine of Japanese sea bass fed with diet 6F4P. 11: Intestine of Japanese sea bass fed with diet 4F6P. 12: Intestine of Japanese sea bass fed with diet 100F. 13: Intestine of Japanese sea bass fed with diet 60F4P. 14: Intestine of Japanese sea bass fed with diet 40F6P. 15: Muscle of Japanese sea bass fed with diet 10P. 16: Muscle of Japanese sea bass fed with diet 10F. 17: Muscle of Japanese sea bass fed with diet 6F4P. 18: Muscle of Japanese sea bass fed with diet 4F6P. 19: Muscle of Japanese sea bass fed with diet 100F. 20: Muscle of Japanese sea bass fed with diet 60F4P. 21: Muscle of Japanese sea bass fed with diet 40F6P.

a: concretion putrescence of liver cells. b: reduction of putrescence area. c: atrophy of muscle fiber, reticular sarcolemma. d: recover of muscle fiber. CC: cell cord. CV: central vein. GC: goblet cell. MF: muscle fiber. PV: portal vein. S: sarcolemma.