

飼料中添加不同類胡蘿蔔素對紅頭金鯛之成長及呈色影響

劉于溶^{1*}·廖文亮²

¹行政院農業委員會水產試驗所淡水繁養殖研究中心竹北試驗場

²國立台灣大學漁業科學研究所

摘要

本研究探討在飼料中分別添加不同種類及濃度的類胡蘿蔔素，對於紅頭金鯛體表呈色之影響。實驗飼料分為 7 組，以無添加類胡蘿蔔素為對照組，添加玉米黃素者，其飼料中的含量分別為 25、50 mg/kg diet，而添加蝦紅素者，其飼料中的含量分別為 25、50、75 與 100 mg/kg diet。實驗以二階段進行，前 8 週為第一階段的呈色實驗，之後四週為第二階段的褪色實驗，測定各階段的成長、體色及分析魚體體表組織類胡蘿蔔素含量與組成。成長實驗結果指出，飼料中添加類胡蘿蔔素，對魚隻增重、飼料效率及肝體比沒有影響。而由呈色實驗發現，添加類胡蘿蔔素的組別，平均色彩差異值 (ΔE) 為 8.4~10.1，都達到人眼感官可直接察覺差異的標準 ($\Delta E > 6.0$)；分析組織類胡蘿蔔素含量則以對照組最低，而添加類胡蘿蔔素組別的含量為 4.9~12.3 mg/100 g tissue。在褪色實驗方面，添加類胡蘿蔔素的組別 ΔE 值為 8.5~11.2；分析組織類胡蘿蔔素含量仍以對照組最低，而添加類胡蘿蔔素組別的含量為 2.8~8.4 mg/100 g tissue。由體表組織的類胡蘿蔔素含量下降，顯示魚隻在停餵添加類胡蘿蔔素的飼料後，確實發生褪色現象，下降率為 25~32%。此外，由實驗結果顯示，玉米黃素與蝦紅素對紅頭金鯛體色的影響能力相近，欲增強魚隻體色的黃色或紅色，建議在每公斤飼料添加 32.4~35.5 mg 的玉米黃素或蝦紅素。

關鍵詞：飼料、紅頭金鯛、類胡蘿蔔素、玉米黃素、蝦紅素

前言

紅頭金鯛 (*Petenia splendida*) 英文俗名 giant cichlid、bay snook，係原產於中南美洲，分布於墨西哥、瓜地馬拉及貝里斯的淡水魚類。魚苗時期體表呈現黑色，後隨著成長黑色逐漸褪去，轉變成以紅、黃色為主的體色。此魚種的優點為色彩豔麗、口器特殊、體型大及肉質鮮美，因此在觀賞魚與食用魚市場皆具經濟價值。目前在臺灣主要供應觀賞魚市場，部分南部民間業者以黃金鯛名稱外銷作為食用魚。由於對此新興養殖魚種之營養需求尚未十分清楚，在原產地多以鱒魚飼料飼育 (Treviño *et al.*, 2011)，而臺灣南部養殖戶則以鱸魚

飼料餵飼，這兩種魚飼料均無添加類胡蘿蔔素 (carotenoid)，使得人工養殖魚隻的體色偏淡，不如野生環境成長的色彩豔麗。

目前在自然界已經被發現 750 種以上的類胡蘿蔔素，可由植物、藻類或微生物合成，雖然一些動物身上也存在類胡蘿蔔素，但無法自身合成，僅能由食物中攝取或自身代謝轉換攝取的類胡蘿蔔素 (Goodwin, 1986)。水生動物外表的呈色和攝入的類胡蘿蔔素種類有關，也可能經由自身的酵素系統轉換成其它種類。其中蝦紅素 (astaxanthin) 為多數水生動物蓄積的色素，其相關代謝模式分為三種型式，包括可利用葉黃素 (lutein)、玉米黃素 (zeaxanthin) 或中間的代謝物轉換成蝦紅素的紅鯉型 (red carp type)、不能由其它的類胡蘿蔔素轉換成蝦紅素的鯛魚型 (sea bream type) 以及可利用 β -胡蘿蔔素、玉米黃素或中間的代謝物轉換成蝦紅素的蝦型 (prawn type) (Simpson and Kamata, 1979)。

*通訊作者 / 新竹縣竹北市泰和里 111 號, TEL: (035) 551190; FAX: (035) 554591; E-mail: r98b45025@gmail.com

在人工養殖環境，水產動物往往因為缺乏適當或足夠的類胡蘿蔔素來源，造成呈色不如野生的色彩鮮豔，因此需要在飼料中添加類胡蘿蔔素來增色以提升水生動物的色澤與價值，尤其是鮭鱒魚類的肉色及觀賞魚的體色。鮭鱒魚類在自然界中，藉由攝食含有蝦紅素的甲殼類，蓄積蝦紅素，使其肉色達到自然的橘紅色澤 (Schiedt *et al.*, 1986; Skrede and Storebakken, 1986; Scalia *et al.*, 1989)，故挪威的大西洋鮭魚養殖過程中常使用合成蝦紅素與角黃素 (canthaxanthin) 促使魚肉呈現賣相較佳的橘紅色 (Bjerkeng *et al.*, 1992; Bell *et al.*, 1998; Akhtar *et al.*, 1999; Buttle *et al.*, 2001)。近年有愈來愈多的研究朝向觀賞魚的增色，包括孔雀魚 (*Poecilia reticulata*) (Karino and Haijima, 2004)、金魚 (*Carassius auratus*) (Xu, 2006; Yanar *et al.*, 2008)、鬥魚 (*Betta splendens*) (Clotfelter *et al.*, 2007)、馬鮃脂鯉 (*Hyphessobrycon callistus*) (Wang *et al.*, 2006)、眼斑雙鋸魚 (*Amphiprion ocellaris*) (Yasir and Qin, 2010)、紅魔鬼 (*Cichlasoma citrinellum*) (Pan and Chien, 2009)、金波羅 (*Cichlasoma severum*) (Kop and Durmaz, 2008) 等。

水產養殖添加的色素來源，包括藻類、微生物、甲殼類、植物與人工合成色素。常應用的藻類有螺旋藻 (*Spirulina spp.*) (Liao *et al.*, 1993)、雨生紅球藻 (*Haematococcus pluvialis*) (Tejera *et al.*, 2007; Pan and Chien, 2009)；在微生物方面常使用紅酵母 (*Phaffia rhodozyma*) (Liao *et al.*, 1993; Amar *et al.*, 2004; Storebakken *et al.*, 2004)；也有使用甲殼類的副產品，如磷蝦油 (Liao *et al.*, 1993)、南極蝦粉 (krill meal) (Mori *et al.*, 1989; 曾, 2004)、蝦殼粉 (Kalinowski *et al.*, 2005; Kalinowski *et al.*, 2007)；植物方面則有使用金盞花 (*Calendula officinalis*)、辣椒萃取之辣椒紅素 (capsanthin) (Peterson *et al.*, 1966) 及紫花苜蓿 (*Medicago sativa*) (Yanar *et al.*, 2008) 等；亦有直接使用人工合成的色素 (Booth *et al.*, 2004; Chatzifotis *et al.*, 2005; Doolan *et al.*, 2008)，通常為了使大西洋鮭魚獲得較佳的呈色，一般會在飼料中添加 30-60 mg/kg diet 的合成蝦紅素，而添加的色素約佔飼料總成本的 10~15%，是飼料成分中最昂貴的部分 (Buttle *et al.*, 2001)。

由於各物種蓄積與轉換色素的能力不盡相同，

而在飼料中添加色素又會有成本負擔，因此色素種類的選擇與劑量的考量都是值得研究的問題。目前紅頭金鯛存在人工養殖環境成長下體色偏淡的問題，因此本實驗探討類胡蘿蔔素對紅頭金鯛呈色的影響，包括類胡蘿蔔素在飼料中的最適添加量、類胡蘿蔔素代謝模式與已蓄積色素之維持能力。

材料與方法

一、實驗飼料配製

實驗飼料配方如 Table 1 所示，以魚粉 65% 做為蛋白質主要來源，脂質來源為大豆油 4.8% 及魚油 3.2%，以飼料中未添加類胡蘿蔔素者為對照組。Z25 和 Z50 組為飼料中分別添加玉米黃素 25 和 50 mg/kg；玉米黃素來源由新鮮黃玉米烘乾後，再經粉碎製成之玉米粉經丙酮萃取。A25、A50、A75 和 A100 組之飼料則添加人工合成蝦紅素 (含 8% 純蝦紅素; Carophyll pink, Roche)，添加量分別為 25、50、75、100 mg/kg。將各種原料攪拌均勻後，加入原料 30~35% 的水混合均勻，通過孔徑直徑 2 mm 之擠粒機，分成適當大小，送入鼓風式乾燥機，以 40 °C 烘 15 小時，冷卻後保存在 -20 °C 冰箱。

二、試驗魚種及飼育試驗條件

實驗用紅頭金鯛購自屏東縣民間種苗繁殖場，實驗開始前，先投餵對照組飼料馴養 4 週。將平均體重約 20 g 的魚，分成 7 組，每組 8 尾，二重複隨機取樣分配到 30 cm×30 cm×45 cm 之個別循環魚缸中，並設置氣動式水中過濾器。實驗期間，每日依攝食狀況，投餵總量為魚體體重 2~4% 的實驗飼料，每日投餵二次，並於每次餵食完 1 小時後清除殘餌與換水，以保持水質穩定，定期清洗過濾棉及刷洗內壁，避免藻類生長。實驗於室內進行，飼養期間水溫範圍 19~29 °C。實驗共進行 12 週，前 8 週為第一階段的呈色實驗，各組魚隻分別投餵不同實驗飼料；之後 4 週為第二階段的褪色實驗，各組魚皆投餵未添加類胡蘿蔔素的對照組飼料。實驗於第 4、8 及 12 週，停餵一天，將紅頭金鯛以 100 ppm 之 2-phenoxyethanol 麻醉後，進行秤重並評估成長表現，同樣於實驗

Table 1 Ingredients and proximate compositions of the experimental diets (g/100 g diet)

ingredient	diet code							
	control	Z-25	Z-50	A-25	A-50	A-75	A-100	
fish meal	65	65	65	65	65	65	65	
soybean oil	4.8	4.8	4.8	4.8	4.8	4.8	4.8	
fish oil	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2	
vitamin E	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	
vitamin mix. ¹	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	
mineral mix. ²	5	5	5	5	5	5	5	
α-Starch	15	15	15	15	15	15	15	
choline chloride	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	
cellulose	4.9	4.9	4.9	4.9	4.9	4.9	4.9	
pigment addition (mg/kg)								
zeaxanthin	0	25	50					
astaxanthin	0			25	50	75	100	
proximate analysis (%)								
crude protein	42.6	44.7	46.3	38.5	48.2	47.6	48	
crude lipid	14.9	15.2	15.7	15.3	15.2	14.5	15.1	
ash	13.9	13.9	14.0	13.8	14.1	13.9	14.1	
moisture	8.2	7.7	7.4	7.0	7.5	7.1	7.6	
carotenoids content (mg/kg)	8.8	42.9	44.9	20.3	34.3	48.2	79.1	

¹Ogino *et al.* (1979); ²Ogino and Yang (1978)

進行至第 4、8 及 12 週時，各組隨機採五尾測量體表呈色，並於實驗第 8 與 12 週時各犧牲採樣 3 尾，供魚體組織之類胡蘿蔔素分析。

三、飼料成分分析

飼料成分中的水分、粗蛋白和灰分採用 AOAC (1984) 的方法測定，脂質則依據 Folch *et al.* (1957) 的方法分析。

四、體表呈色測定

利用手持式色差計 (Minolta CR-10) 直接偵測魚的臉頰、背部及尾鰭三個位置點 (Fig. 1)，測量出顏色參數 (a^* 、 b^* 和 L^* 值)，並比較整體色差值 (ΔE) = $[(a^* - a^*_0)^2 + (b^* - b^*_0)^2 + (L^* - L^*_0)^2]^{1/2}$ (Wysocki and Stiles, 1967)。顏色參數係依據國際照明委員會 (International Commission on Illumination CIE, 1976) 制定之色彩空間， a^* 值越高代表紅色程度越高，而 a^* 值越低代表綠色程度越高； b^* 值越高代表黃色程度越高，而 b^* 值越低代表藍色程度越高； L^* 值代表亮度，其值越高代表

亮度越高。當顏色差異值 (ΔE) > 3 則表示達人眼感官可察覺的程度，而當顏色差異值 (ΔE) > 6 則表示達人眼感官可明顯分辨的程度 (Nimeroff, 1968)。



Fig. 1 The points of color measurement and positions of carotenoid analysis in *Petenia splendida*. 1. cheek, 2. head, 3. dorsal fin, 4. caudal fin.

五、類胡蘿蔔素分析

(一) 類胡蘿蔔素總量

樣本組織分別取自魚的臉頰、額頭、背部表皮及尾鰭的四個位置點 (如 Fig. 1)，經秤重後置於研鉢，加入無水硫酸鈉共同研磨，利用丙酮萃取類胡蘿蔔素，並將丙酮萃取液以濾紙過濾後收

Table 2 Average final body weight, weight gain (WG), feed efficiency (FE) and hepatosomatic index (HSI) values of *Petenia splendida* fed with experimental diets

week	diet	average body weight (g)	WG (%)	FE (%)	HSI (%)
8	Control	41.5 ± 5.1	105	49	3.8 ± 0.1
	Z25	42.4 ± 6.9	104	48	4.9 ± 0.1
	Z50	42.4 ± 4.0	105	49	4.9 ± 0.0
	A25	42.1 ± 4.8	105	49	4.8 ± 0.1
	A50	39.0 ± 4.2	94	45	4.7 ± 0.5
	A75	44.1 ± 4.3	103	49	3.5 ± 0.1
	A100	44.9 ± 2.5	123	58	2.8 ± 0.1
12	Control	52.0 ± 10.1	157	54	4.4 ± 0.1
	Z25	53.5 ± 13.8	157	55	5.0 ± 0.0
	Z50	50.9 ± 7.8	146	51	3.8 ± 0.0
	A25	47.6 ± 8.7	131	47	3.9 ± 0.1
	A50	47.9 ± 8.1	138	50	4.6 ± 0.0
	A75	51.7 ± 8.5	138	50	3.2 ± 0.1
	A100	54.2 ± 5.3	168	59	4.0 ± 0.2

There were no significant differences among means ± SE (n=10 or 16) in the same column.

WG(%)=100×(final body weight-initial body weight)/initial body weight

FE(%)=100×(body weight gain/feed intake)

HSI(%)=100×(weight of liver/body weight)

集至濃縮瓶中，經減壓濃縮後加入總量為 15 ml 乙醚與 5 ml 去離子水，將溶液移入分液漏斗並充分振盪後靜置，待溶液分層後收集乙醚層，再以減壓濃縮。濃縮後得到的產物以苯定量，利用分光光度計 (Thermo AQUAMATE) 測量吸光值，並根據 McBeth's formula (McBeth, 1972) 換算類胡蘿蔔素的含量：

$$\text{Carotenoids content (mg carotenoids/100 g tissue)} = [\text{OD}\lambda \times \text{Vol. (ml)} \times 1000] / [E (1\%, 1 \text{ cm}) \times \text{weight of sample (g)}]$$

E (1%, 1cm) 消光係數 (extinction coefficient value)：

1. 總類胡蘿蔔素溶於苯：1900
2. 玉米黃素溶於正己烷：2480
3. 蝦紅素溶於正己烷：2100

(二) 類胡蘿蔔素組成

依 Okada *et al.* (1994) 的方法，將由上述方法得到的各組總類胡蘿蔔素以矽膠層析管柱分離色素。在直徑 1 cm 的管柱內置入粒徑 40 μm 的矽膠 (Baker Co.) 約 5 ~ 6 cm 高，以正己烷洗滌管柱，再注入樣本液。先以正己烷 20 ml 通過管

柱可得到 β-胡蘿蔔素；然後再以正己烷：苯：乙基乙酯=5：10：1 的混和液 30 ml 沖提出色素，收集沖提液並以正己烷定量，再以分光光度計法測定濃度。

六、統計分析

以 SPSS (Statistical Products Service and Solutions) 套裝軟體對測量參數進行 one-way ANOVA 分析比較，若有顯著差異時，續以 Tukey's HSD (Honestly Significant Difference) test，進行各組間兩兩比較 (α=0.05)。

結 果

一、成長效果

在紅頭金鯛的飼料中分別添加不同類胡蘿蔔素含量為玉米黃素 25、50 mg/kg (Z25、Z50) 與蝦紅素 25、50、75、100 mg/kg (A25、A50、A75、A100)，飼養 8 週及第 12 週 (以不含類胡蘿蔔素的飼料餵飼 4 週) 之成長表現如 Table 2 所示。由本實驗結果顯示，飼料中有無添加類胡蘿蔔素皆

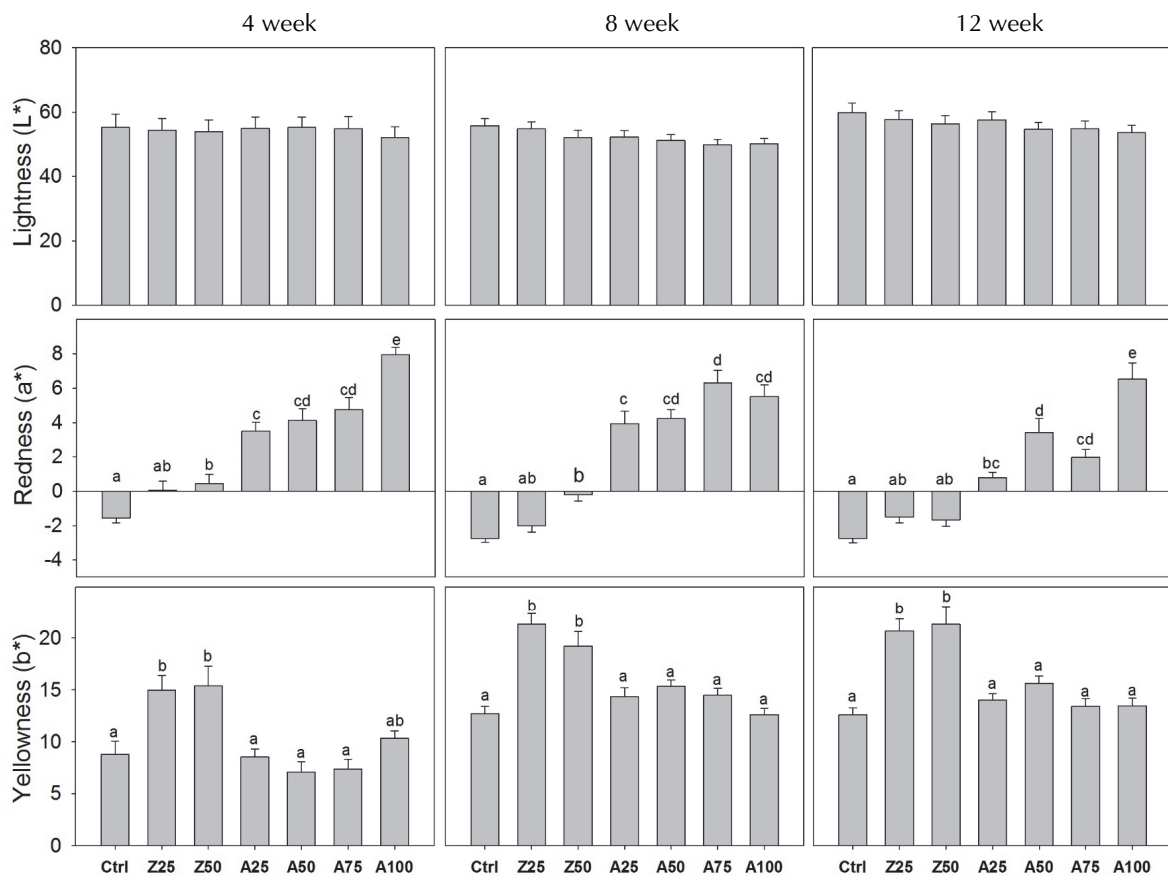


Fig. 2 Mean skin lightness (L*), redness (a*) and yellowness (b*) at 4, 8 and 12 weeks of the experimental period in *Petenia splendida* fed with experimental diets. Means with different superscripts are significantly different (p<0.05).

不影響紅頭金鯛的各階段的增重率、飼料效率與肝體比。此外，實驗期間各階段之存活率皆為100%。

二、體表顏色測定

各測點的平均呈色效果如 Fig. 2 所示。亮度 (L*) 值於第 4~12 週，在各組之間並無顯著差異。而紅色程度 (a*) 值於第 4~12 週期間，添加蝦紅素的組別之紅色程度明顯高於對照組與添加玉米黃素組，且於第 8 週時 A50、A75 與 A100 之間已無顯著差異。另黃色程度 (b*) 值於第 4~12 週期間，添加玉米黃素的組別之黃色程度均顯著高於對照組與添加蝦紅素組。在添加類胡蘿蔔素的各實驗組與對照組的整體色差值 (ΔE) 都達到肉眼感官可直接察覺差異的標準 ($\Delta E > 6.0$)，其中又以添加蝦紅素的 A75 或 A100 組的值最高，僅於第 12 週時，A25 組的平均 ΔE 值略降至 4.8 (Table 3)。

Table 3 Mean total color difference (ΔE) values for 3 points (cheek, dorsal fin and caudal fin) of *Petenia splendida* fed with experimental diets at different time points. The total color difference shows the difference between the experimental and control samples

	4 weeks	8 weeks	12 weeks
$\Delta E_{Z25-Ctrl}$	7.3	8.8	8.5
$\Delta E_{Z50-Ctrl}$	8.3	8.4	9.6
$\Delta E_{A25-Ctrl}$	6.5	8.0	4.8
$\Delta E_{A50-Ctrl}$	7.2	9.3	8.9
$\Delta E_{A75-Ctrl}$	8.0	11.1	6.9
$\Delta E_{A100-Ctrl}$	11.3	10.1	11.2

三、魚體組織之類胡蘿蔔素總量

分析魚體體表組織各位置 (Fig. 1) 總類胡蘿蔔素，測定的結果如 Fig. 3 所示。首先在臉頰的部分，第 8 週的總類胡蘿蔔素含量以 A100 組的含量較高；第 12 週的總類胡蘿蔔素含量在各組間含量

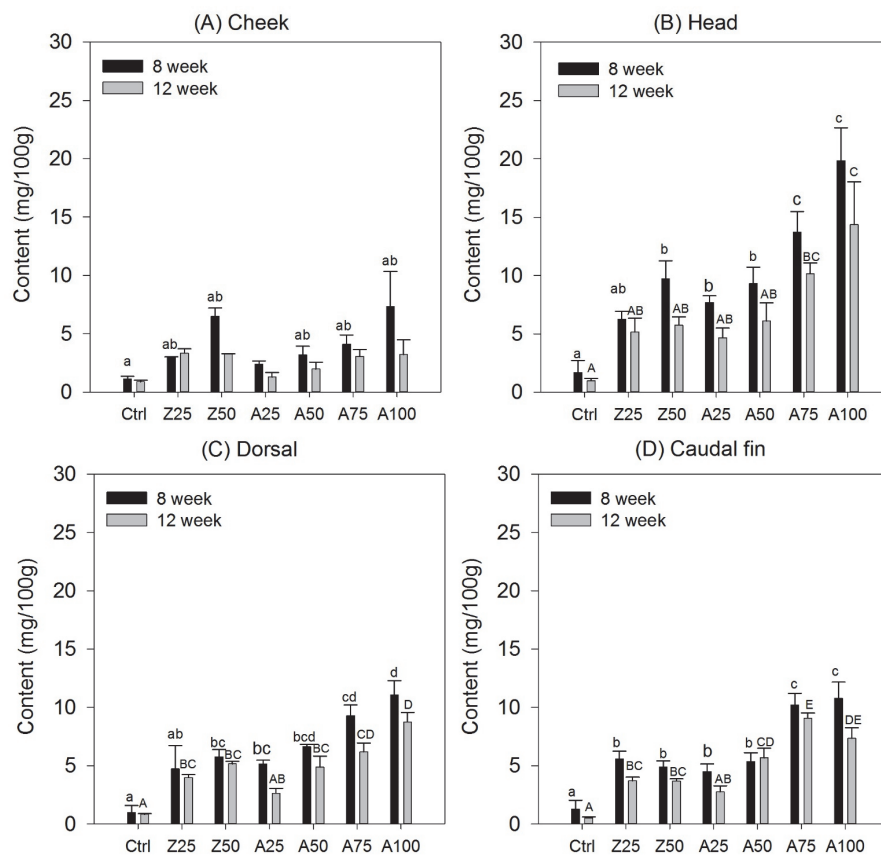


Fig. 3 The integument carotenoid contents of (A) Cheek, (B) Head, (C) Dorsal fin and (D) Caudal fin at 8 and 12 weeks of *Petenia splendida* fed with experimental diets. Means with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

Table 4 Integument carotenoid contents of dorsal point of *Petenia splendida* fed with experimental diets

carotenoid content (%)	diet						
	control	Z25	Z50	A25	A50	A75	A100
8 weeks							
zeaxanthin	–	74.8	76.9	–	–	–	–
astaxanthin	–	–	–	73.3	69.3	84.4	81.7
12 weeks							
zeaxanthin	–	83.3	82.3	–	–	–	–
astaxanthin	–	–	–	83.5	75.5	91.6	88.6

並無顯著差異。其次在額頭的部分，第 8 週的總類胡蘿蔔素含量以 A75 與 A100 組的含量最高；第 12 週的總類胡蘿蔔素含量以 A75 與 A100 組的含量較高。接下來討論背部的部分，在第 8 週添加蝦紅素與添加玉米黃素的組別有隨濃度上升而增加的趨勢；第 12 週的總類胡蘿蔔素含量仍存在著隨添加的濃度上升，組織中類胡蘿蔔素含量亦上升的現

象。最後在尾鰭的部分，第 8 週的總類胡蘿蔔素含量以 A75 與 A100 組的含量最高；第 12 週的總類胡蘿蔔素含量以 A75 含量最高，存在顯著差異。此外，由第 8 與第 12 週於所測的四個部分比較，可知在飼料中原本有添加類胡蘿蔔素的各組，組織中的總類胡蘿蔔素含量皆出現下降的情形，下降率分別為臉頰及額頭 32%、背部 25% 與尾部 28%。

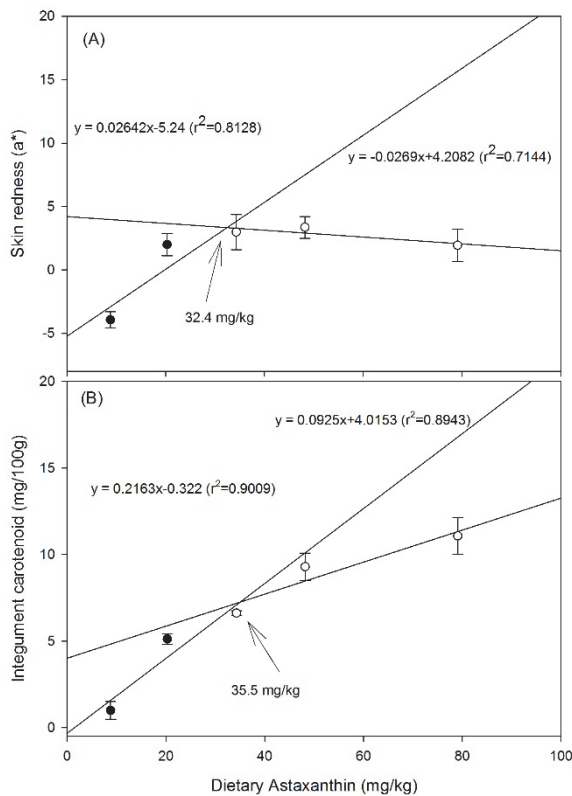


Fig. 4 Effects of dietary astaxanthin levels on (A) skin redness (a^*) and (B) integument carotenoid content of *Petenia splendida*. The break-points for the astaxanthin level for skin redness (a^*) and integument carotenoid content were 32.4 and 35.5 mg/kg, respectively.

四、類胡蘿蔔素組成

測定結果如 Table 4 所示。經層管柱分離各組總類胡蘿蔔素之正己烷沖提液中，並無測出 β -胡蘿蔔素含量。而以類胡蘿蔔素之波長範圍掃描偵測對照組在正己烷中的吸光值，發現第 8、12 週的最大吸收波峰落在波長 444 ~ 446 nm 之間，顯示在對照組中主要組成黃色的色素，且無測到玉米黃素（最大吸收波長 450 nm）與蝦紅素（最大吸收波長 470 nm）。另在添加玉米黃素的組別中，於第 8 週時，分別在 Z25 與 Z50 組的總類胡蘿蔔素中，測得含 74.8% 與 76.9% 的玉米黃素；於第 12 週時，分別在 Z25 與 Z50 組的總類胡蘿蔔素中，測得含 83.3% 與 82.3% 的玉米黃素，所含其餘色素中並無測到蝦紅素。此外，在添加蝦紅素的組別中，在第 8 週時，分別在 A25、A50、A75 與 A100 組的總類胡蘿蔔素中，測得含 73.3%、69.3%、84.4% 與 81.7% 的蝦紅素；而在第 12 週時，分別在 A25、

A50、A75 與 A100 組的總類胡蘿蔔素中，測得含 83.5%、75.5%、91.6% 與 88.6% 的蝦紅素，所含其餘色素中亦無測到玉米黃素。

五、蝦紅素之最適添加量

以無添加類胡蘿蔔素的 Control 組與添加蝦紅素的 A25、A50、A75、A100 的四組，利用第 8 星期由色差計在魚體背部所測得之紅色程度 (a^* 值)，對飼料中實際類胡蘿蔔素含量作 broken-line 分析，其 breakpoint 落在 32.4 mg/kg diet (Fig. 4)；另同樣以無添加類胡蘿蔔素的 Control 組與添加蝦紅素的 A25、A50、A75、A100 的四組，利用第 8 星期由背部魚皮組織所測得之總類胡蘿蔔素含量，對飼料中實際類胡蘿蔔素含量作 broken-line 分析，其 breakpoint 落在 35.5 mg/kg diet (Fig. 4)。

討 論

一、成長效果

由本實驗結果指出，在平均體重約 20g 的紅頭金鯛飼料中，無論有無添加類胡蘿蔔素，魚隻的增重率、飼料效率與存活率在各組中並無顯著差異，在其它魚種的實驗亦出現相似的結果。在平均體重 5 g 的金魚以酵母菌 (*Xanthophyllomyces dendrorhous*) 做為蝦紅素來源，添加 60mg/kg diet 含量的類胡蘿蔔素到飼料中，經 60 天飼養後，各組間成長無顯著差異 (Xu, 2006)；在平均體重 300 g 的大西洋鮭 (*Salmo salar*) 的飼料中分別添加 50 mg/kg diet 的蝦紅素與不同濃度之葉黃素，飼養 138 天後，各組間的成長無顯著差異 (Olsen and Baker, 2006)；平均體重 223 g 的赤鯛 (*Pagrus pagrus*) 以蟹殼粉做為蝦紅素來源，添加 3 ~ 6 mg/kg diet 含量的類胡蘿蔔素到飼料中，經 165 天飼養後，各組間的成長無顯著差異 (Garcia *et al.*, 2010)。雖然在水生生物的生理代謝過程中，類胡蘿蔔素扮演了許多重要的角色，但在本研究結果及前人研究中，皆顯示在飼料中添加類胡蘿蔔素並不會對魚隻的成長產生影響。

二、呈色

初步將實驗組與對照組數值比較平均整體色差值 (ΔE)，來檢視與各實驗組與對照組之差異，結果指出添加類胡蘿蔔素的各組，在 8 週實驗組餵食類胡蘿蔔素的呈色實驗當中，其 ΔE 值為 8.4~10.1，皆大於 6 已達人眼感官清楚辨別的水準，顯示在飼料中添加的這二種色素都可以有效提升魚隻的體色。而在 12 週各組皆餵食不含類胡蘿蔔素的褪色實驗當中，除了 A25 以外，各組的 ΔE 值為 8.5~11.2，顯示即使停止餵食 4 週仍能夠維持與對照組之顏色差異。

比較各組實際之色差值，紅色程度 (a^* 值) 在添加蝦紅素的組別均有隨添加濃度而提升的趨勢；黃色程度 (b^* 值) 在對照組與實驗組間，於前 8 週皆有上升的現象，尤其是添加玉米黃素的組別其值最高，而對照組與添加蝦紅素的組別的黃色程度較為接近；最後在亮度方面 (L^* 值)，則無明顯的趨勢。除此之外，在第 8 週時，由各測點在 A50、A75 與 A100 的 a^* 值均無顯著差異，推論其紅色程度已達到了飽合狀態。

赤鯮笛鯛 (*Lutjanus erythropterus*) 的研究中，平均 2.32 g 的魚隻飼料中添加 50、100 mg/kg diet 的蝦紅素、 β -胡蘿蔔素與南極蝦粉，飼養 6 週後，可使平均 ΔE 值達 7.0~9.0。平均 35 g 的赤鯮笛鯛飼料中添加 50、100 mg/kg diet 的蝦紅素、螺旋藻，飼養 8 週後，平均 ΔE 值達 8.6~13.3，二次實驗結果皆達人眼感官能明顯感受到差異。另外， a^* 值的增加皆明顯較 b^* 、 L^* 值高，顯示與對照組的差異主要呈現在紅色程度上 (曾, 2004)。紅色吳郭魚 (*Oreochromis spp.*) 的研究中，平均 2.6 g 的魚隻的飼料中添加 50、100 mg/kg diet 的蝦紅素，飼養 10 週後，可使平均 ΔE 值達 8.0~14.9。而平均 53 g 的紅色吳郭魚，飼養 60 天後，平均 ΔE 值達 9.1~14.2，二次實驗結果皆達人眼感官能明顯感受到差異的效果，另外， a^* 值皆明顯較 b^* 、 L^* 值高，顯示與對照組的差異主要呈現在紅色程度上 (黃, 2009)。

研究赤鯛色彩飽合度的結果顯示在 105 天的時候下降，推測顏色已達到飽合， L^* 值方面則沒有影響 (Kalinowski *et al.*, 2005)；同樣以赤鯛為實驗魚種，以蟹殼粉做為蝦紅素來源，添加到飼料中，經 165 天飼養後，對體色有促進的效果，但 L^* 值在各組之間同樣沒有差異 (Garcia *et al.*, 2010)。在金真鯛 (*Pagrus auratus*) 的研究當中則指出，飼料

中添加的蝦紅素，可提高體表的紅色程度，在第 6 週以後，添加 36 與 72 mg/kg diet 之組別，呈現之 a^* 值並無顯著差異，由此推測已達到蝦紅素蓄積的飽合狀態，另外在 L^* 值與 b^* 值，並無影響 (Booth *et al.*, 2004)；另有研究也指出，金真鯛隨飼料中添加的蝦紅素，可提高體表的紅色程度，在第 50 天以後，添加 30 與 60 mg/kg diet 之組別，呈現 a^* 、 b^* 值沒有顯著差異，由此推測已達到蝦紅素蓄積的飽合狀態，但在 L^* 值則無影響 (Doolan *et al.*, 2008)。

本實驗除了添加玉米黃素的組別外，在添加蝦紅素的組別中，紅頭金鯛體表的黃色也有增加的現象，而無添加類胡蘿蔔素的對照組，其體色亦呈現出淡淡的黃色色澤，推測是飼料所添加的魚粉也含有少量的類胡蘿蔔素 (8.8 mg/kg diet) 所造成，雖然對照組中的類胡蘿蔔素沒有確定其組成，但由組織萃取出的色素在苯中所測得的吸光值最大值落在 435 nm 左右，推測對照組與添加蝦紅素組別之體表出現淡淡的黃色，是因為原始飼料中含有一些主要組成為黃色的類胡蘿蔔素所致。

三、色素蓄積效果

飼料中添加玉米黃素及蝦紅素的魚隻，組織內的類胡蘿蔔素蓄積量都隨飼養天數而增加。在第 8 週時，對照組的類胡蘿蔔素含量為 1.3 mg/100g tissue，實驗組平均為 4.9~12.3 mg/100g tissue，而添加蝦紅素 A75、A100 組，在所取樣的各部位組織中的色素含量並無顯著差異，顯示已達色素蓄積的飽合。此外由添加劑量相近的 Z25、Z50 與 A25、A50 相比，其色素在魚體中蓄積的量並無顯著差異，顯示蝦紅素與玉米黃素皆能有效的被蓄積。而第 12 週時，對照組的類胡蘿蔔素含量為 0.8 mg/100g tissue，實驗組平均為 4.1~8.4 mg/100g tissue，除了對照組以外的組別，蓄積的色素皆出現下降的現象。此外，各個部位的蓄積的色素量並非均均分布，以額頭的魚皮為最高，背部與尾鰭次之。

在赤鯛的研究中指出，飼料中添加 100 mg/kg diet 的蝦紅素，飼養 10 週後，體表呈現與野生相近的紅色色澤，而魚皮中的類胡蘿蔔素含量 27.7 $\mu\text{g/g}$ 明顯高於對照組 4.33 $\mu\text{g/g}$ ，實驗中也嘗試添加 β -胡蘿蔔素、茄紅素，但結果只有蝦紅素能明顯

提升背部魚皮類胡蘿蔔素的含量 (Chatzifotis *et al.*, 2005)。金魚以 60mg/kg diet 的濃度在飼料中添加蝦紅素，15 天後即與對照組有顯著差異，色素濃度最高的出現在尾鰭，接著是魚鱗與頭部 (Xu, 2006)。

魚類因應不同時期的生理需求，可能發生蓄積的類胡蘿蔔素在體內轉移到不同組織的現象。鮭魚在經歷性成熟時期，肌肉中的類胡蘿蔔素會開始下降，經由血液運送到魚皮和生殖腺 (Ando *et al.*, 1986)。此外，在紅魔鬼的研究，各組織中的類胡蘿蔔素以生殖腺中的濃度為最高，其次是魚皮與肌肉，推論可能為進入性成熟的體型大小導致 (Pan and Chien, 2009)。紅頭金鯛的性成熟體型約在 12 cm 左右，於第 12 週呈色實驗結束後，魚隻體長已達 15~18 cm，並在分析實驗犧牲魚隻時，發現其卵巢已有發育的情形。而在實驗結束後，剩下蓄養的實驗魚隻不久也出現產卵的情形，因此推測在本實驗第二階段的褪色實驗中，魚皮組織類胡蘿蔔素蓄積量的下降，可能是隨著生殖腺發育，經代謝轉移到生殖腺所致。

四、類胡蘿蔔素轉換成蝦紅素之代謝模式

赤鯛的研究指出，添加 25~50 mg/kg diet 的蝦紅素到飼料中，經 4 個月飼養後，其魚皮中蝦紅素的含量為 2.9~4.8 mg/100g tissue，佔總類胡蘿蔔素組成的 65~84% (Tejera *et al.*, 2007)。而在本實驗紅頭金鯛飼養 8 週後，添加蝦紅素 25~100 mg/kg diet 的組別中，魚皮中蝦紅素的含量為 73.3~81.7%。結果與前述研究相符，也就是飼料中添加的蝦紅素量會影響體內蓄積色素的組成，此外其體內蓄積的色素組成皆以蝦紅素為主，另外在添加玉米黃素的組別，其組成仍以玉米黃素為主，並無發現轉換成其它種類胡蘿蔔素的現象。由以上結果推測紅頭金鯛，在水生動物類胡蘿蔔素代謝轉換類型中，並不同於紅鯉魚型 (red carp type) 的代謝類型能夠將玉米黃素轉換成蝦紅素，應較相似鯛魚型 (sea bream type)，不能轉換玉米黃素成蝦紅素，但能夠不經代謝轉換直接蓄積在體內。

五、最適添加量

金真鯛的研究中建議，以體表呈色值做為評

估依據，蝦紅素在飼料中的最適添為 30 mg/kg diet，經 50 天在箱網中飼養後可以有效的增進紅色色澤 (Doolan *et al.*, 2008)；另外在金魚的研究中建議，由體內的類胡蘿蔔素蓄積為評估依據，添加 100mg/kg diet 的類胡蘿蔔素到飼料中，經 60 天飼養後可以有效增加組織內的類胡蘿蔔素 (Yanar *et al.*, 2008)。亦有研究建議，上市前 120~180 天的赤鯛投餌以蝦殼粉做為蝦紅素來源，蝦紅素濃度為 21 mg/kg diet 的飼料，可以使體色接近野生飼養的魚隻，並能夠提升魚皮中的類胡蘿蔔素含量。實驗組體表的 a* 值 (7.8~9.0)、b* 值 (11.2~12.2) 與野生魚隻的 a* 值 (8.7)、b* 值 (13.1) 值相近，但魚皮之類胡蘿蔔素含量 (10.4-14.0mg/kg diet) 卻明顯低於野生魚隻 (54.0mg/kg diet)。由相關性檢定發現，魚皮之類胡蘿蔔素含量與 a*、b* 值間較接近對數性相關，而非線性，故以人眼感官判斷組織內的色素含量有其限制性 (Kalinowski *et al.*, 2007)。

綜合以上結果可發現，蓄積色素效果的評估的研究中，主要分為二種研究方法，有研究偏向採用體表所測得之色差值做為依據，而另一派研究偏向採用組織內所蓄積的色素量做為依據。本研究同時進行這二種研究方法，二者所得之最適添加量接近，表示此最適蝦紅素添加範圍 (32.4~35.5 mg/kg diet) 符合有效的增進魚體的體色的需求。但若要嚴格選擇單一標準時，本研究認為就一般消費者僅以人眼感官判斷的水產品的外觀，考慮以體表之呈色效果為標準，較能符合魚體增色之目的性與飼料成本之經濟性，並非一定要滿足體內組織蓄積之類胡蘿蔔素完全達到飽合，除此之外，以體表呈色做為評斷標準，同時還具有免於犧牲魚隻的優點。另外，相較於金魚來說，紅頭金鯛之最適添加量與海水鯛魚較為接近，且代謝模式也較為接近，可做為未來研究紅頭金鯛之參考。然而每個人對於顏色的喜好有所不同，若有生產黃色魚隻的考量時，可添加玉米黃素至飼料當中，由實驗結果可以看出玉米黃素與蝦紅素在組織中的蓄積能力相當，其添加量也許可以參考蝦紅素的用量。

結 論

在紅頭金鯛的養殖過程中，添加玉米黃素與

蝦紅素對其成長表現沒有影響。玉米黃素與蝦紅素皆可明顯增強紅頭金鯛體色，其中玉米黃素可提升黃色色澤，蝦紅素則可提升紅色色澤，若停止供給添加類胡蘿蔔素的飼料，會出現褪色的現象，故應持續供給含色素之飼料，以維持其體色。紅頭金鯛對類胡蘿蔔素的代謝利用模式，較接近鯛魚型，不能轉換玉米黃素成蝦紅素，但能夠以不經代謝轉換的方式直接儲存在體內。蝦紅素在紅頭金鯛飼料中之最適添加量為 32.4 ~ 35.5 mg/kg diet。

參考文獻

- 曾偉誠 (2004) 飼料中添加不同類胡蘿蔔素對赤鯮笛鯛體色之影響. 國立臺灣大學漁業科學研究所碩士論文.
- 黃侑勛 (2009) 飼料中添加不同濃度與來源之類胡蘿蔔素對紅色吳郭魚體表增豔效果之影響. 國立臺灣大學漁業科學研究所碩士論文.
- AOAC (Association of Analytical Chemists) (1984) Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists (14th ed.). AOAC Inc, Arlington, Virginia, USA.
- Amar, E. C., V. Kiron, S. Satoh, and T. Watanabe (2004) Enhancement of innate immunity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) associated with dietary intake of carotenoids from natural products. *Fish Shellfish Immun.*, 16: 527-537.
- Ando, S., T. Takeyama and M. Hatano (1986) Deterioration of chum salmon muscle during spawning migration .8. transport associated with serum vitellogenin of carotenoid in chum salmon (*Oncorhynchus keta*). *Agric. Biol. Chem.*, 50: 557-563.
- Akhtar, P., J. I. Gray, T. H. Cooper, D. L. Garling and A. M. Booren (1999) Dietary pigmentation and deposition of α -tocopherol and carotenoids in rainbow trout muscle and liver tissue. *J. Food Sci.*, 64: 234-239.
- Bell, J. G., J. McEvoy, J. L. Webster, F. McGhee, R. M. Millar and J. R. Sargent (1998) Flesh lipid and carotenoid composition of scottish farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). *J. Agric. Food Chem.*, 46: 119-127.
- Bjerkeng, B., T. Storebakken and S. Liaaen-Jensen (1992) Pigmentation of rainbow trout from start feeding to sexual maturation. *Aquaculture*, 108: 333-346.
- Booth, M. A., R. J. Warner-Smith, G. L. Allan and B. D. Glencross (2004) Effects of dietary astaxanthin source and light manipulation on the skin colour of Australian snapper *Pagrus auratus* (Bloch & Schneider, 1801). *Aquac. Res.*, 35: 458-464.
- Buttle, L., V. Crampton and P. Williams (2001) The effect of feed pigment type on flesh pigment deposition and colour in farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Aquacult. Res.*, 32: 103-111.
- Chatzifotis, S., M. Pavlidis, C. D. Jimeno, G. Vardanis, A. Steriotti and P. Divanach (2005) The effect of different carotenoid sources on skin coloration of cultured red porgy (*Pagrus pagrus*). *Aquacult. Res.*, 36: 1517-1525.
- Clotfelter, E. D., D. R. Ardia and K. J. McGraw (2007) Red fish, blue fish: trade-offs between pigmentation and immunity in *Betta splendens*. *Behav. Ecol.*, 18: 1139-1145.
- CIE (1976) Official recommendations on uniform colour space, colour difference equations and metric colour terms. Suppl. No. 2 to CIE Publication No. 15. Colorimetry Commission International de l'Eclairage, Paris.
- Doolan, B. J., G. L. Allan, M. A. Booth and P. L. Jones (2008) Effect of carotenoids and background colour on the skin pigmentation of Australian snapper *Pagrus auratus* (Bloch and Schneider, 1801) *Aquacult. Res.*, 39: 1423-1433.
- Folch, J., M. Lee and G. S. H. (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226: 497-509
- Garcia, J. R., C. T. H. Kalinowski, M. S. L. Izquierdo and L. E. R. Robaina (2010) Marine and freshwater crab meals in diets for red porgy (*Pagrus pagrus*): effect on growth, fish composition and skin colour. *Aquacult. Res.*, 41: 1759-1769.
- Goodwin, T. W. (1986) Metabolism, nutrition, and function of carotenoids. *Annu. Rev. Nutr.*, 6: 273-297.
- Hu, C. J., S. M. Chen, C. H. Pan, and C. H. Huang (2006) Effects of dietary vitamin A or beta-carotene concentrations on growth of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. *Aquaculture*, 253: 602-607.
- Kalinowski, C. T., M. S. Izquierdo, D. Schuchardt and L. E. Robaina (2007) Dietary supplementation time with shrimp shell meal on red porgy (*Pagrus pagrus*) skin colour and carotenoid concentration. *Aquaculture*, 272: 451-457.
- Kalinowski, C. T., L. E. Robaina, H. Fernandez-Palacios, D. Schuchardt, and M. S. Izquierdo (2005) Effect of different carotenoid sources and their dietary levels on red porgy (*Pagrus pagrus*) growth and skin

- colour. *Aquaculture*, 244: 223-231.
- Karino, K. and Y. Haijima (2004) Algal-diet enhances sexual ornament, growth and reproduction in the guppy. *Behaviour*, 141: 585-601.
- Kop, A., and Y. Durmaz (2008) The effect of synthetic and natural pigments on the colour of the cichlids (*Cichlasoma severum* sp., Heckel 1840). *Aquacult. Int.*, 16: 117-122.
- Liao, W. L., S. A. Nureborhan, S. Okada, T. Matsui and K. Yamaguchi (1993) Pigmentation of cultured black tiger prawn by feeding with a Spirulina-supplemented diet. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59: 165-169.
- McBeth, J. W. (1972) Carotenoids from nudibranchs. *Comp. Biochem. Physiol.*, 41B: 55-68.
- Mori, T., K. Makabe, K. Yamaguchi, S. Konosu and S. Arai (1989) Comparison between krill astaxanthin diester and synthesized free astaxanthin supplemented to diets in their absorption and deposition by juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Comp. Biochem. Phys.*, B 93: 255-258.
- Nimeroff, I. (1968) Colorimetry. *Natl. Bur. Stand Monogr.*, 10: 432.
- Olsen, R. E. and R. T. M. Baker (2006) Lutein does not influence flesh astaxanthin pigmentation in the Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, 258: 558-564.
- Okada S., S. A. Nur-E-Borhan and K. Yamaguchi (1994) Carotenoid composition in the exoskeleton of commercial black tiger prawns. *Fish. Sci.*, 60: 213-215.
- Pan, C. H. and Y. H. Chien (2009) Effects of dietary supplementation of alga *Haematococcus pluvialis* (Flotow), synthetic astaxanthin and beta-carotene on survival, growth, and pigment distribution of red devil, *Cichlasoma citrinellum* (Gunther). *Aquacult. Res.*, 40: 871-879.
- Peterson, D. H., H. K. Jager, G. M. Savage, G. N. Washburn and H. Westers (1966) Natural coloration of trout using xanthophylls. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 95: 408-414.
- Scalia, S., M. Isaksen and G. W. Francis (1989) Carotenoids of the Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.). *J. Fish Biol.*, 34: 969-970.
- Schiedt, K., M. Vecchi and E. Glinz (1986) Astaxanthin and its metabolites in wild rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Comp. Biochem. Phys.*, B. 83: 9-12.
- Simpson, K. L. and T. Kamata (1979) Use of carotenoids in fish feeds. *In* *Finfish Nutrition and Fishfeed Technology* (J. E. Halver & K. Thiews eds.), H. Heenemann GmbH & Co., Berlin, Germany, Vol. 2: 415-424.
- Skrede, G. and T. Storebakken (1986) Instrumental colour analysis of farmed and wild Atlantic salmon when raw, baked and smoked. *Aquaculture*, 53: 279-286.
- Storebakken, T., M. Sørensen, B. Bjerkeng and S. Hiuc (2004) Utilization of astaxanthin from red yeast, *Xanthophyllomyces dendrorhous*, in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*: effects of enzymatic cell wall disruption and feed extrusion temperature. *Aquaculture*, 236: 391-403.
- Tejera, N., J. R. Cejas, C. Rodriguez, B. Bjerkeng, S. Jerez, A. Bolanos and A. Lorenzo (2007) Pigmentation, carotenoids, lipid peroxides and lipid composition of skin of red porgy (*Pagrus pagrus*) fed diets supplemented with different astaxanthin sources. *Aquaculture*, 270: 218-230.
- Treviño, L., C. A. Alvarez-González, N. Perales-García, L. Arévalo-Galán, A. Uscanga-Martínez, G. Márquez-Couturier, I. Fernández, and E. Gisbert (2011) A histological study of the organogenesis of the digestive system in bay snook *Petenia splendida* Günther, 1862 from hatching to the juvenile stage. *J. App. Ichthy.*, 27: 73-82.
- Wang, Y. J., Y. H. Chien and C. H. Pan (2006) Effects of dietary supplementation of carotenoids on survival, growth, pigmentation, and antioxidant capacity of characins, *Hyphessobrycon callistus*. *Aquaculture*, 261, 641-648.
- Wyszecki, G. and W. S. Stiles (1967) *Color Science*. Wiley, New-York, USA, 628.
- Xu, X. (2006) Effect of astaxanthin from *Xanthophyllomyces dendrorhous* on pigmentation of goldfish, *Carassius auratus*. *J. World Aquacult. Soc.*, 37: 282-288.
- Yanar, M., Z. Ercen, A. O. Hunt and H. M. Buyukcapar (2008) The use of alfalfa, *Medicago sativa* as a natural carotenoid source in diets of goldfish, *Carassius auratus*. *Aquaculture*, 284: 196-200.
- Yasir, I., and J. G. Qin (2010) Effect of dietary carotenoids on skin color and pigments of false clownfish, *Amphiprion ocellaris*, Cuvier. *J. World Aquacult. Soc.*, 41: 308-318.

Effects of Dietary Carotenoid Supplements on Growth and Pigmentation of Giant Cichlid, *Petenia splendida*

Yu-Jung Liu^{1*} and Wen-Lian Liao²

¹ Chupei Station, Freshwater Aquaculture Research Center, Fisheries Research Institute

²Institute of Fisheries Science, National Taiwan University

ABSTRACT

This study focused on the effects of different kinds and concentrations of carotenoids in diet on the pigmentation of giant cichlid (*Petenia splendida*). Experimental feeds were supplemented with two different kinds of carotenoids: zeaxanthin (hereafter referred to as Z) and astaxanthin (hereafter referred to as A). The experimental period lasted a total of 12 weeks. The fish used in the pigmentation experiment during the first 8 weeks were divided into seven groups: control, Z25, Z50, A25, A50, A75 and A100 (mg/kg diet) groups. For the depigmentation experiment during the last 4 weeks, all of those groups were fed without adding carotenoids being added to the diet. The skin colors of the fish were measured with a tristimulus colorimeter, and further quantified for integument pigment. The experimental results indicated that the carotenoid supplements had no effects on growth and feed efficiency, but did improve pigmentation in this species. For the pigmentation experiment, the average color difference value (ΔE) varied from 8.4-10.1, while the content of carotenoids in integument varied from 4.9-12.3mg/100g tissue. For the depigmentation experiment, the average color difference value (ΔE) varied from 8.5-11.2, while the content of carotenoids in integument varied from 2.8-8.4mg/100g tissue. After carotenoid supplementation was stopped, the content of carotenoids decreased about 25-32%. The effects of astaxanthin and zeaxanthin on the pigmentation level of this species were similar. The results indicated that 32.4-35.5mg/kg diet is the recommended dietary level of astaxanthin or zeaxanthin needed to ensure good pigmentation in the giant cichlid.

Key words: diet, giant cichlid, carotenoid, zeaxanthin, astaxanthin

*Correspondence: 111 Tai-Ho, Chupei, Hsinchu 302, Taiwan. TEL: (03) 555-1190; FAX: (03) 555-4591; E-mail: r98b45025@gmail.com