

Effects of Different Selenium Sources on Melanin Content and Antioxidant Capacity of Jiuyuan Black Chicken

Chengwu Fan^{1,2}, Chuan Lai^{1,2}, Shenjiang Lv², Wei Wang², Yuanfang Deng², Yafei Yang², Wan Gou^{1,2*}

¹Key Laboratory of Characteristic Plants Development and Research of Higher Education Institutes of Sichuan, School of Chemistry and Chemical Engineering, Sichuan University of Arts and Science, Dazhou Sichuan

²Quality Supervision and Inspection Center of Selenium Enriched Products in Sichuan Province, Quality and Technical Supervision Inspection and Testing Center of Dazhou, Dazhou Sichuan

Email: *scwlxygw@126.com

Received: Oct. 15th, 2019; accepted: Oct. 30th, 2019; published: Nov. 7th, 2019

Abstract

The effects of different forms of selenium sources in the basal diet on the activities of antioxidant enzyme, melanin and selenium in the serum of Jiuyuan black chicken were studied. A total of 120 5 weeks old Jiuyuan black chickens were randomly allotted into 4 groups with 3 replicates of 10 Chickens each. The 4 groups were as follows: basal diet, sodium selenite, methionine selenium and enclosure scatter-feed. The sodium selenite and methionine selenium groups were fed the basal diet supplemented with 0.5 mg/kg different forms selenium to 6 weeks of age, respectively. The results showed that activity of GSH-Px of the methionine selenium very significantly increased the basal diet; the activity of GSH-Px of the enclosure scatter-feed significantly increased the basal diet. SOD activity shows a certain significance only at the methionine selenium. The activity of T-AOC of the methionine selenium and enclosure scatter-feed very significantly increased the basal diet; the activity of T-AOC of the sodium selenite significantly increased the basal diet. The MDA content of the methionine selenium significantly decreased and the MDA content of the enclosure scatter-feed very significantly decreased. The difference of melanin content in chicken breast and skin reached very significant level in the methionine selenium and enclosure scatter-feed. The selenium of content in chicken serum, chicken breast and chicken breast skin reached a very significant level in the methionine selenium and enclosure scatter-feed. The enclosure scatter-feed Jiuyuan black chickens have higher content of organic selenium and melanin, which have great value of replenishing selenium and nourishing health.

Keywords

Jiuyuan Black Chicken, Antioxidant Enzyme Activity, Melanin, Selenium

*通讯作者。

不同硒源对旧院黑鸡黑色素含量和抗氧化能力的影响

樊成武^{1,2}, 赖 川^{1,2}, 吕沈江², 王 伟², 邓远方², 杨亚非², 苟 万^{1,2*}

¹四川文理学院, 化学化工学院, 特色植物开发研究四川省高校重点实验室, 四川 达州

²四川省富硒产品质量监督检验中心, 达州市质量技术监督检验检测中心, 四川 达州

Email: scwlxygw@126.com

收稿日期: 2019年10月15日; 录用日期: 2019年10月30日; 发布日期: 2019年11月7日

摘 要

通过在基础日粮中添加不同形态的硒源, 探讨对旧院黑鸡血清中抗氧化酶活性、组织中黑色素和硒含量的影响。试验选择120只公母各半的5周龄旧院黑鸡, 随机分为4组, 每组3个重复, 每个重复10只。4组分别为基础日粮组、添加亚硒酸钠组、添加蛋氨酸硒组和圈地散养组。添加亚硒酸钠组和添加蛋氨酸硒组的基础日粮中分别添加0.5 mg/kg不同形态的硒, 试验周期为6周。结果表明, 添加蛋氨酸硒组GSH-Px的活性极显著高于基础日粮组($P < 0.01$), 圈地散养组GSH-Px的活性显著高于基础日粮组; SOD活性仅有添加蛋氨酸硒组才表现出一定的显著性; 添加蛋氨酸硒组和圈地散养组T-AOC的抗氧化能力极显著高于基础日粮组($P < 0.01$), 添加亚硒酸钠组T-AOC的抗氧化能力显著高于基础日粮组; 添加蛋氨酸硒组MDA含量水平显示出显著降低, 圈地散养组MDA含量水平显示出极显著降低($P < 0.01$); 添加蛋氨酸硒组和圈地散养组的鸡胸肉和皮中黑色素的含量差异性均达到了极显著水平($P < 0.01$); 添加蛋氨酸硒组和圈地散养组中鸡血清、鸡胸肉和鸡胸皮中硒含量水平均达到极显著水平($P < 0.01$)。通过散养等方式养殖的旧院黑鸡, 有机硒和黑色素含量较高, 有较大的补硒和滋补养生价值。

关键词

旧院黑鸡, 抗氧化酶活性, 黑色素, 硒

Copyright © 2019 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

硒(selenium, Se)是一种生物体必须的微量元素, 硒在机体内起到一定功效的形态是有机硒, 而无机硒功效较差、生物活性低、不易被肠道吸收、毒性较大, 食入过量的无机硒会导致机体急、慢性中毒等病症[1]。动物机体内, 谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、超氧化物歧化酶(SOD)、总抗氧化能力(T-AOC)活性的大小及黑色素含量高低和机体内硒含量有密切的关系[2]。硒缺乏时会引起机体抗氧化能力降低、产品品质下降、免疫力低下、营养不良、体弱多病等症状。研究表明, 在动物基础日粮中添加硒能够提高鸡、猪、牛、羊等血浆中抗氧化酶的活性, 提高机体的免疫力和改善肉质[3]。黑色素具有抗氧化、调节内分泌和提高机体免疫力等作用, 组织中黑色素含量越高其滋补功效越好, 研究表明, 机体内黑色素

的合成与硒含量有紧密关系[4] [5]。黑色素含量研究大都与乌骨鸡有关，旧院黑鸡中同样含有与乌骨鸡相同的黑色素[6] [7]，然而，对旧院黑鸡在抗氧化酶活性、黑色素含量与硒含量上的研究鲜有报道。因此，本试验旨在研究在基础日粮基础上添加无机硒、有机硒和圈地散养模式对旧院黑鸡血清中抗氧化酶活性、组织中黑色素和硒含量进行评价和分析，探讨不同形态的添加硒对旧院黑鸡血清中抗氧化酶活性、组织中黑色素和硒含量的影响和变化规律，为进一步开发具有补硒和滋补养生价值的旧院黑鸡提供实验依据。

2. 实验材料和方法

2.1. 试验材料和试验设计

选择 120 只体重相近、发育健康、公母各半的 5 周龄旧院黑鸡，随机分为 4 组，每组 3 个重复，每个重复 10 只。前 3 组采用单因子实验设计，第 4 组采用自然散养状态设计，分别定义为试验 I 组(基础日粮组)、试验 II 组(添加亚硒酸钠组)、试验 III 组(添加蛋氨酸硒组)、试验 IV 组(圈地散养组)，试验 II 组和试验 III 组的基础日粮中分别添加 0.5 mg/kg 不同形态的硒(亚硒酸钠和蛋氨酸硒)。试验周期为 6 周。前 3 组鸡均采用室外通风和充足阳光的篱笆圈养，每天上午和下午定时投食和喂水两次(均足量)，自由采食和饮水，水中不含硒，并隔离从土壤刨食的可能；第 4 组试验鸡采取室外圈地散养模式，饮水为本地地表水。

2.2. 基础日粮

参考 NRC (1994) [8]禽类饲养标准，以玉米-豆粕型为基础日粮，并加以改进。本试验鸡的基础日粮配比和营养水平见表 1。

Table 1. Basic diet ratio and nutritional level
表 1. 基础日粮配比和营养水平

配比	含量/%	主要营养水平	含量/%
玉米	63.6	代谢能(MJ/Kg)	11.7
豆粕	26.5	粗蛋白	15.0
菜粕	5	赖氨酸	0.75
鱼粉	2	蛋氨酸	0.26
磷酸氢钙	1.2	磷	0.53
石粉	1.0	钙	3.2
食盐	0.3	硒(mg/kg)	0.043
预混料	0.4		

注：硒含量为实际测定值；预混料为维生素、微量元素等。

2.3. 采样

第 6 周末于清晨空腹从每个重复中取接近平均体重、健康的试验鸡 2 只，颈静脉宰杀放血，在低温高速离心机中 8000 r/min 离心 13 min，取血清并分装，于冰箱-20℃保存备用。分别取鸡胸肉和皮，放入冰水浴的生理盐水中漂洗，除去血液后滤纸吸干水分，称重均等分装，于冰箱-20℃保存备用。

2.4. 测定指标和方法

2.4.1. 血清中抗氧化酶活性测定

血清中谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性、超氧化物歧化酶(SOD)活性、总抗氧化能力(T-AOC)和丙

二醛(MDA)含量采用化学生物试剂盒进行测定,所用试剂盒购买于南京建成生物工程研究所,操作严格按照所购试剂盒说明进行。

2.4.2. 黑色素含量测定

黑色素含量测定参照许兰娇[9]等人的方法并加以改进。分别称取鸡胸肉和皮组织 10 mg 于具塞试管中,加入 10 ml 含水为 10%的 Soluene-350 溶液,放入沸水浴中使组织完全溶解后,取出,冷却,微孔滤膜过滤,在 500 nm 处测定滤液的吸光度值(A500),根据吸光度值比较不同鸡胸肉和皮的黑色素含量。

2.4.3. 组织中硒含量测定

血清、鸡胸肉和皮中硒含量采用石墨炉原子吸收法进行检测分析,操作方法和样品处理过程参照刘海燕[10]等人的方法进行,并绘制硒标准曲线。

2.5. 数据分析

采用 SPSS13.0 数据分析软件对测定结果进行方差分析,采用 Duncan's 法进行多重比较分析。

3. 结果与讨论

3.1. 不同硒水平对旧院黑鸡血清中抗氧化酶活性的影响

GSH-Px 是血清中重要的抗氧化酶之一,对机体内强氧化性过氧化物对器官组织的损坏起到一定的保护作用,其活性的大小和含量与机体内有机硒含量有直接关系,机体内有机硒含量越高,GSH-Px 活性越大。由表 2 可知,与基础日粮组相比,添加亚硒酸钠组和添加蛋氨酸硒组均能不同程度的提高旧院黑鸡血清中 GSH-Px 的活性,圈地散养组旧院黑鸡血清中 GSH-Px 的活性提高也较明显。其中添加蛋氨酸硒组 GSH-Px 的活性极显著高于基础日粮组,圈地散养组 GSH-Px 的活性显著高于基础日粮组;添加亚硒酸钠组 GSH-Px 的活性虽有所提高,但与基础日粮组相比不显著。

SOD 是机体内一种抗氧化金属酶,主要与机体内超氧阴离子作用,从而避免器官组织免受伤害。赵先英[11]等人研究表明,机体内硒的含量对血清中 SOD 活性有一定的关系,硒含量越高,SOD 活性相应的有一定的提高。由表 2 可知,与基础日粮组相比,其余三组旧院黑鸡血清中 SOD 活性有一定的提高,说明不同伴随着硒的添加,SOD 活性有一定提升,但提升度不高,仅有添加蛋氨酸硒组才表现出一定的显著性,这与大多数研究者[12]观点一致,只有食物中硒的添加量足够多时,才能显著的影响机体内 SOD 活性,否则 SOD 活性与机体内硒含量无显著相关性。

T-AOC 是由酶促和非酶促组成的机体抗氧化防御系统,对机体的功能性蛋白和细胞膜起到一定的保护作用,避免被氧化性物质损害。由表 2 可知,与基础日粮组相比,添加亚硒酸钠组和添加蛋氨酸硒组均能显著的提高旧院黑鸡血清中 T-AOC 的抗氧化能力,圈地散养组旧院黑鸡血清中 T-AOC 的抗氧化能力提高也较明显。其中添加蛋氨酸硒组和圈地散养组 T-AOC 的抗氧化能力极显著高于基础日粮组,添加亚硒酸钠组 T-AOC 的抗氧化能力显著高于基础日粮组,这与高爱琴[13]等人研究结论相一致,即日粮中硒含量的多少与 T-AOC 的抗氧化能力呈正相关,但本研究发现日粮中添加无机硒和有机硒的差异性,导致 T-AOC 的抗氧化能力也有所差异。

MDA 是机体内氧自由基形成的一类过氧化物,其含量过多,会对机体细胞甚至遗传物质造成较大的损伤。由表 2 可知,与基础日粮组相比,其余三组中 MDA 均有不同程度的降低。其中圈地散养组 MDA 含量水平显示出极显著降低,添加蛋氨酸硒组 MDA 含量水平显示出显著降低,添加亚硒酸钠组 MDA 含量水平有所降低,但降低水平不显著。

Table 2. Determination of antioxidant enzyme activity in serum of Jiuyuan black chicken**表 2.** 旧院黑鸡血清中抗氧化酶活性测定

指标	试验 I 组	试验 II 组	试验 III 组	试验 IV 组
GSH-Px (U/ml)	792.69 ± 67.30	1051.18 ± 97.52	1324.25 ± 115.57 ^{ab}	1287.36 ± 97.93 ^a
SOD (U/ml)	301.27 ± 23.51	334.71 ± 27.63	366.77 ± 30.54 ^a	354.48 ± 33.85
T-AOC (U/ml)	5.32 ± 2.15	9.54 ± 2.52 ^a	19.87 ± 5.33 ^{ab}	20.11 ± 4.12 ^{ab}
MDA (nmol/ml)	5.80 ± 1.11	5.03 ± 1.52	3.56 ± 2.04 ^a	3.06 ± 1.75 ^{ab}

注: a 表示差异显著($P < 0.05$), b 表示差异极显著($P < 0.01$)。

3.2. 不同硒水平对旧院黑鸡中黑色素含量的影响

研究报道, 鸡组织中的黑色素具有抗氧化、调节内分泌和提高机体免疫力等作用, 组织中黑色素含量越高其滋补功效越好, Christodouloupoulos [14]等人研究表明, 机体内黑色素的合成与硒含量有紧密关系。由表 3 可知, 与基础日粮组相比, 添加亚硒酸钠组的鸡胸肉和皮中黑色素含量均有增加, 其中鸡胸皮中黑色素的含量差异性达到了显著水平; 添加蛋氨酸硒组和圈地散养组的鸡胸肉和皮中黑色素含量增加较为明显, 黑色素的含量差异性均达到了极显著水平。鸡胸肉和鸡胸皮中黑色素含量增加幅度相比, 鸡胸皮中黑色素含量增加较为明显且含量相对比鸡胸肉中含量高。

Table 3. Determination of melanin content in Jiuyuan black chicken**表 3.** 旧院黑鸡中黑色素含量测定

指标	试验 I 组	试验 II 组	试验 III 组	试验 IV 组
鸡胸肉	0.063 ± 0.026	0.0913 ± 0.041	0.1619 ± 0.057 ^{ab}	0.1651 ± 0.055 ^{ab}
鸡胸皮	0.102 ± 0.052	0.189 ± 0.035 ^a	0.276 ± 0.043 ^{ab}	0.281 ± 0.038 ^{ab}

注: a 表示差异显著($P < 0.05$), b 表示差异极显著($P < 0.01$)。

3.3. 旧院黑鸡不同组织中硒含量测定结果

由表 4 可知, 与基础日粮组相比, 添加亚硒酸钠组、添加蛋氨酸硒组和圈地散养组中鸡血清、鸡胸肉和鸡胸皮中硒含量水平均有很大的提升。同等试验条件下, 鸡胸皮中硒含量高于鸡血清中硒含量水平, 和鸡胸肉中硒含量相差不大。与基础日粮组相比, 添加蛋氨酸硒组和圈地散养组中鸡血清、鸡胸肉和鸡胸皮中硒含量水平均达到极显著水平, 说明硒含量增加幅度较高。

Table 4. Determination of selenium content in different tissues of Jiuyuan black chicken**表 4.** 旧院黑鸡不同组织中硒含量测定

指标	试验 I 组	试验 II 组	试验 III 组	试验 IV 组
血清($\mu\text{g/L}$)	71.55 ± 4.84	115.32 ± 4.41	185.63 ± 6.36 ^{ab}	169.56 ± 5.78 ^{ab}
鸡胸肉($\mu\text{g/L}$)	97.56 ± 4.23	133.22 ± 3.95	198.33 ± 5.73 ^{ab}	207.52 ± 6.75 ^{ab}
鸡胸皮($\mu\text{g/L}$)	112.85 ± 4.52	154.62 ± 4.57	210.61 ± 6.75 ^a	218.56 ± 6.55 ^{ab}

注: a 表示差异显著($P < 0.05$), b 表示差异极显著($P < 0.01$)。

3.4. 不同硒源对旧院黑鸡黑色素含量和抗氧化能力分析

研究分为的 4 个试验组, 基础日粮组设置为对照组, 饲料中只含有基本量的硒, 添加亚硒酸钠组是在基础日粮组上添加最优量的无机硒源, 添加蛋氨酸硒组是在基础日粮组上添加最优量的有机硒源, 而

圈地散养组饮食为自然界的青菜、各种虫子、本地谷物类等。设计 4 组试验组主要考察硒含量水平、硒的形态和圈地散养状态下鸡体内组织中抗氧化酶活性、黑色素含量和硒含量综合分析和评价。

研究结果发现,与基础日粮组相比,其余 3 组在血清、鸡胸肉和鸡胸皮中硒含量均有增加,但添加亚硒酸钠组中增加量不如其余 2 组,有可能补充的无机硒在鸡体内不能有效的转化成有机硒,甚至无机硒补充量过多对机体内产生一定的毒副作用;添加蛋氨酸硒组中硒含量增加较为明显,且各平行试验含量均相对稳定,说明有机硒的添加能有效提高机体内硒含量水平,从血清中抗氧化酶活性和组织中黑色素含量也能说明这一结果;圈地散养组中硒含量增加相对明显,但各平行试验含量有一定的差异性,这组试验对象食物来自富含有机硒的青菜、各种虫子、本地谷物类等杂粮及富含无机硒的砂砾等,从血清中抗氧化酶活性和组织中黑色素含量说明此试验组硒含量较高,但相比添加蛋氨酸硒组,活性和含量波动大,可能与进食硒不同含量的食物有一定的关系,也间接说明旧院地区硒含量高,通过散养等方式养殖的旧院黑鸡,有机硒和黑色素含量较高,有较大的补硒和滋补养生价值。

4. 结论

在适宜的硒添加浓度范围内,基础日粮中添加亚硒酸钠组对鸡组织中抗氧化酶活性、黑色素含量和硒含量水平提高不明显,基础日粮中添加蛋氨酸硒能有效的提高鸡组织中抗氧化酶活性、黑色素含量和硒含量水平,圈地散养组也能提高鸡组织中抗氧化酶活性、黑色素含量和硒含量水平,但硒含量水平波动较大。表明有效提高机体内硒含量的主要方式为有机硒的添加,同时表明旧院地区硒含量高,通过散养等方式养殖的旧院黑鸡,有机硒和黑色素含量较高,有较大的补硒和滋补养生价值,可进一步开发研究,创造更大的经济价值。

基金项目

由万源市市场监督管理局项目(2018511724000054);四川省市场监督管理局科技计划项目(DZ001)提供资助。

参考文献

- [1] 刘志刚,刘晓燕,马立志. 荧光法测定贵州开阳富硒茶中硒的含量[J]. 贵阳学院学报(自然科学版), 2013, 8(1): 1-2+6.
- [2] 姚晓磊,汤贝贝,杜亚丽,等. 不同水平的亚硒酸钠对公鸡组织硒沉积及血液抗氧化能力的影响[J]. 饲料工业, 2013, 34(19): 18-20.
- [3] 蒋宗勇,王燕,林映才,等. 硒代蛋氨酸对肥育猪血浆和组织硒含量及抗氧化能力的影响[J]. 中国农业科学, 2010, 43(10): 2147-2155.
- [4] 黎观红,徐海燕,许兰姣,等. 日粮硒添加水平对泰和乌骨鸡生产性能及组织黑色素含量的影响[J]. 中国农业科学, 2011, 44(13): 2777-2786.
- [5] 熊小文,易中华,瞿明仁,等. 日粮硒添加水平对 9-12 周龄泰和乌骨鸡生产性能及组织中黑色素含量的影响[J]. 湖北农业科学, 2012, 51(2): 346-349.
- [6] 张树周. 旧院黑鸡品质特征及成因[J]. 四川畜牧兽医, 2015, 42(1): 47-48.
- [7] 刘嘉,李富贵,桂涛涛,等. 旧院黑鸡及其三系配套组合的外貌特征及肉用性能分析[J]. 西北农业学报, 2019, 28(2): 161-168.
- [8] National Research Council (1994) Nutrient Requirements of Poultry. 9th Rev. Edition, National Academy Press, Washington DC.
- [9] 许兰娇,黎观红,瞿明仁,等. 饲粮铜添加水平对 5-8 周龄泰和乌骨鸡生产性能及组织黑色素含量的影响[J]. 动物营养学报, 2013, 25(4): 827-832.
- [10] 刘海燕,杨炼瞻. 石墨炉原子吸收法测定硒[J]. 广东饲料, 2013, 22(9): 30-32.

-
- [11] 赵先英, 刘毅敏, 覃军, 等. 微量元素硒、锰、氟对 SOD 活性的影响[J]. 第三军医大学学报, 2004(2): 171-173.
- [12] 郑立新, 蔡祥焜, 乔秋爽, 等. 富硒酵母和小球藻复合物对 ICR 小鼠免疫力的影响[J]. 现代医学, 2019, 47(6): 636-640.
- [13] 高爱琴, 朱玉霞, 雷振华, 等. 有机硒与维生素 E 对肉仔鸡肉质性状、血液生化指标及抗氧化指标的影响[J]. 中国畜牧兽医, 2017, 44(6): 1694-1700.
- [14] Christodouloupoulos, G., Roubies, N., Karatzias, H., *et al.* (2003) Selenium Concentration in Blood and Hair of Holstein Dairy Cows. *Biological Trace Element Research*, **91**, 145-150. <https://doi.org/10.1385/BTER:91:2:145>