

L-ascorbic acid-2-polyphosphate 和 L-ascorbic acid-2-sulfate 對黑鯛 具有抗壞血病活性

摘 要

本研究以 L-維生素 C (AA)、L-ascorbic acid-2-sulfate (AS) 及 Polyphosphorylated L-ascorbic acid (APP) 等來作為黑鯛飼料中維生素 C 來源，進行為期八週的營養試驗。結果顯示，AA、AS 或 APP 均具有抗壞血病的活性。餵飼缺乏維生素 C 的黑鯛會顯現出眼眶中出血、腹水腫、眼睛外凸、脊椎彎曲及肝臟和血液中維生素 C 的蓄積量降低等症狀。以 APP 餵飼的黑鯛肝臟中維生素 C 蓄積量顯著高於餵飼 AA 或 AS，顯示了黑鯛對 APP 的利用性高於 AS，且黑鯛能利用 APP 作為維生素 C 優質來源。

關鍵詞：維生素 C，黑鯛

維生素 C 的功能很多，其最主要的功能之一是參與組成膠原蛋白物質的合成，協助受傷組織的修復。由於大多數魚類體內缺乏合成維生素 C 所需要的 L-gluonoactone oxidase^(1,2)，因此無法自行合成維生素 C⁽³⁾，需從食物中攝取來維持正常的生長與生理功能⁽⁴⁾。一般魚類在維生素 C 缺乏時，會顯現成長遲滯、高死亡率、產生如脊椎前凸或側凸等現象^(5,6)、受傷的組織復原慢⁽⁷⁾、鰓部上皮組織增生、鰓部出血、鰓蓋變形及眼睛出血^(6,8)等症狀。

由於 L-維生素 C (AA) 相當不穩定，在加工過程或儲存時因溫度、氧氣、光度或酸鹼值等因子之交互作用下，極易被破壞，而失去其功能。如鯰魚飼料在擠壓製造過程中，所添加的 AA 的耗損率約有 50%⁽⁹⁾。另 Hilton 等⁽¹⁰⁾指出 AA 的半生期約 14-35 天。為克服 AA 之不穩定，多種較穩定具有抗壞血病活性及改善魚類成長的維生素 C 陸續被發展，並應用在水產飼料上。如以 Ethylcellulose 包覆的 L-維生素 C，在飼料擠壓過程中的安定性比未包覆者高出 15%⁽¹¹⁾。Schuep 等⁽¹²⁾以 L-ascorbic acid-2-sulfate (AS) 為鱒魚飼料之維生素 C 來源，發現在製造過程中和在 37°C 下儲存 24 週後，AS 的穩定性比 AA 高出 83 倍。Grant 等⁽¹³⁾也發現 L-ascorbyl-2-polyphosphate (APP) 在 25°C 的穩定性為 AA 的

83 倍，且在經蒸氣製粒、冰藏等過程後，AA 已經耗損 46%，然而 APP 則沒有明顯的耗損。Waagboe 等⁽¹⁴⁾在探討五種市售穩定型態的維生素 C，也發現 AS 和 APP 比 Davitin C80 等更為穩定。並不是所有的安定型態的維生素 C 均可被全部魚類所利用，鱒魚⁽⁴⁾和有些鮭魚類^(5,15,16)可利用 AS。然而河魴卻無法利用 AS⁽¹⁷⁾。Fenster⁽¹⁸⁾指出，虹鱒 *Oncorhynchus mykiss* 和 鯉魚 *Cyprinus carpio* 對 AS 的吸收利用性較差。河魴可利用 L-ascorbyl-2-monophosphate^(19,20) 及 L-ascorbyl-6-palmitate⁽¹⁹⁾。另外，具較高抗氧化能力的 L-ascorbyl-2-polyphosphate 也能被虹鱒⁽¹³⁾及河魴⁽²¹⁾等所利用。

由於魚類對不同型態的維生素 C 的吸收利用能力，會因不同魚種而有不同的利用情形。因此，本研究以 AA、AS 及 APP 等來作為黑鯛飼料中維生素 C 來源，探討這些維生素 C 在黑鯛血液及肝臟中蓄積情形對血液數值的影響及維生素 C 缺乏所造成的症狀，以瞭解黑鯛對各種型態之維生素 C 的利用差異性。

材料與方法

一、黑鯛及養殖系統

本試驗採用的黑鯛魚苗, 購自民間養殖場。購回後以含 100 mg/100 g 的 L-維生素 C (AA) 的試驗用飼料在室內試驗環境中馴養二週, 在選取平均體重為 3.6 ± 0.9 公克之外觀健康魚苗進行試驗。養殖系統為 $60 \times 30 \times 45$ 公分 (長 $\times$ 寬 $\times$ 高) 的開放式玻璃水族箱。供試水為經靜置及生物過濾法過濾的純海水。試驗期間的溫度及鹽度不控制, 隨室溫及水源鹽度而變化, 其範圍分別為之 $25-29^\circ\text{C}$ 及 $30-34$ ppt。

二、試驗用飼料之配製

本試驗所使用的基礎飼料配方, 主要參考 H-440 的維生素試驗配方 (Table 1)⁽¹⁶⁾。試驗處理共分為四組, 包括不添加維生素 C (AF)、添加 L-維生素 C (AA)、L-ascorbic acid-2-sulfate (AS) 及 Polyphosphated L-ascorbic acid (APP) 等四組, 每組三重複, 每重複各有十尾魚苗。維生素 C 的添加量相等於 100 mg/kg 的 AA 活性。各組以纖維素調整到總量一致。最後製成約 3 毫米、直徑約 2 毫米的麵條狀飼料, 再以 40°C 的恆溫過夜乾燥, 乾燥後的飼料存放在冰箱中, 直到使用時再取出。

Table 1. Composition of the basal diet^a.

<i>Ingredient</i>	<i>Amount (%)</i>
Vitamin-free casein	38
Gelatin	12
Fish oil	3
Corn oil	6
White dextrin	28
Vitamin premix ^b	1
Mineral premix ^c	4
Carboxymethylcellulose	2
α -cellulose	4

^aAscorbic acid sources were added to replace α -cellulose.

^bVitamin premix (mg/ 100g of premix): thiamine, 5; riboflavin, 20; pyridoxine-HCl, 5; choline chloride, 500; niacin, 75; Ca-pantothenate, 50; inositol, 200; biotin, 0.5; folic acid, 1.5; L-ascorbic acid, 100; cyanocobalamine, 0.01; vitamin K, 4; vitamin E, 40.

^cMineral premix (g/100g of premix): NaCl, 1; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 15; $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 25; KH_2PO_4 , 32; $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 20; Fe.citrate, 2.5; Ca.lactate, 3.5; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.352; $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0.162; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0.031; $\text{CoSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0.001; KIO_3 , 0.003; α -Cellulose, 0.45.

三、蓄養試驗

蓄養試驗為期八週。試驗期間中的投餌量, 視試驗魚的食慾而增減, 每天投餌二次 (分別於 08:00 及 16:30), 遇週日只餵一次 (09:00)。每日觀察並記錄試驗魚的行為是否有異常和活存率等狀況, 每兩週量測其體重。試驗結束後, 以經肝凝素處理過的注射針筒抽取魚體的血液, 進行血液

性狀及血中維生素 C 蓄積分析。解剖魚體並取出肝臟, 測定其肝臟中維生素 C 的蓄積情形。各項分析工作均於當日完成。

四、組織中維生素 C 之分析

血液及肝臟蓄積之維生素 C 的分析方法, 採用 Pelletier⁽²²⁾ 的 2,4-Dinitrophenylhydrazine 的氧化分析

法，於 520 nm 的波長下測其吸光值，再由維生素 C 的標準曲線換算求得其濃度。

五、血液性狀分析

血液性狀分析包括紅血球計數、血容積比 (Hematocrit, Hc) 及血紅素濃度等。

紅血球數量之計數，以紅血球吸管吸取混勻的全血及 Hayem 溶液，經充分搖盪後於顯微鏡下計數紅血球的數量。血容積比的測定，以毛細管汲取血液，於血液離心機離心 (12,000 rpm, 5 分鐘)，離心後再於讀數板上讀取全血中紅血球的百分比值 (%)。血紅素濃度之測定，取混勻的全血，以 Sigma (Sigma Chemical Co, USA) 的血紅素試劑組測定其血紅素濃度。

六、統計分析

所有試驗的結果以變方分析 (ANOVA) 來評估其是否有顯著性差異 ($p < 0.05$)，並以鄧肯多變域分析⁽²³⁾分析其組間的變異情形。

結果

一、蓄養試驗

在經過八週的飼養，AF 組的成長顯著低於其他三處理組 (Fig. 1)。在試驗進行至第六週時，AF 組與添

加三種不同型態之維生素 C 組間開始出現顯著性差異 ($p < 0.05$)。在蓄養八週實驗結束其成長結果 (Table 2)，AF 組最低 (156.89%) 且顯著低於另三處理組，添加 AA、AS 及 APP 等三種維生素 C 組各為 215.49、221.64 及 225.61%，組間並沒有顯著差異 ($p > 0.05$)。在經過八週的蓄養期間中，AF 組活存率顯著低於其他三處理組 (Fig. 2)。在試驗進行至第六週時，AF 組的活存率降至 62%，第七週時繼續降低至 42%，且顯著低於其他三處理組 ($p < 0.05$)。在蓄養八週實驗結束後，其累計活存結果 (Table 2)，以 AF 組為最差 (32%)，其次為 APP 組 (80%)，AS 組為最佳 (94%)。AF 組與各組間均有顯著性差異 ($p < 0.05$)，AA 組 (86%) 與 AS 組或 APP 組間則無顯著差異，但 AS 組顯著高於 APP 組 ($p < 0.05$)。

在八週的蓄養期間中，黑鯛的維生素 C 的缺乏症僅出現在 AF 組，AF 組的黑鯛，於第五週時即有 20% 背鰭基部及眼框中有出血、輕微腹水腫、體色變黑及脫鱗症狀。經採樣培養及鏡檢後，均未發現有任合病原菌或寄生蟲之感染，因此可確認其為早期的維生素 C 缺乏症。第六週時，發現有兩尾魚整個腹部出現嚴重的水腫，一尾魚有單眼外凸等症狀。第七週時，缺乏症狀嚴重至腹水腫的黑鯛無法正常游泳，時有腹上背下的狀況；單眼外凸的症狀演變成雙眼外凸、眼框內充血及發現一尾黑鯛出現脊椎彎曲等的症狀。

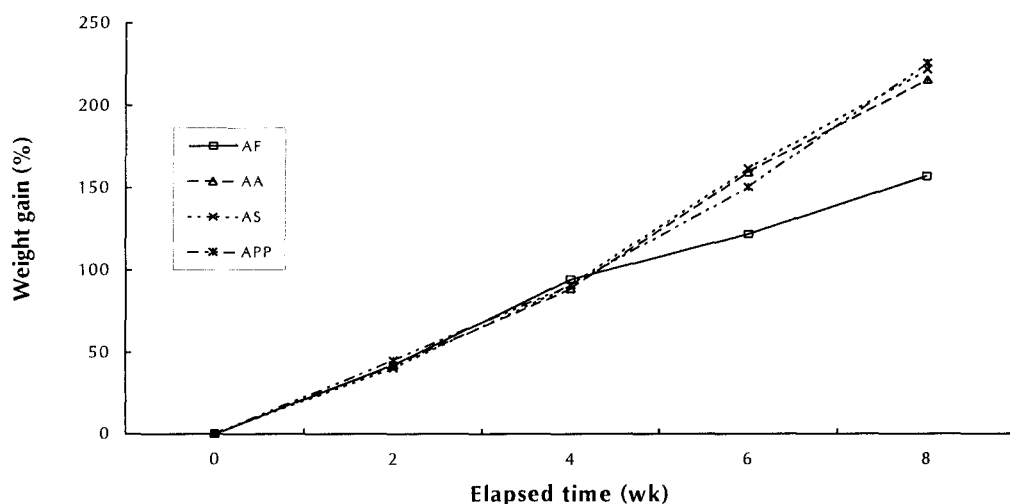


Fig. 1. Weight gains of black porgy fed diets supplemented with three types of ascorbic acid (L-ascorbic acid (AA), L-ascorbic acid-2-sulfate (AS) and polyphosphated ascorbic acid (APP)) or no vitamin C (AF) in a 8-wk trial.

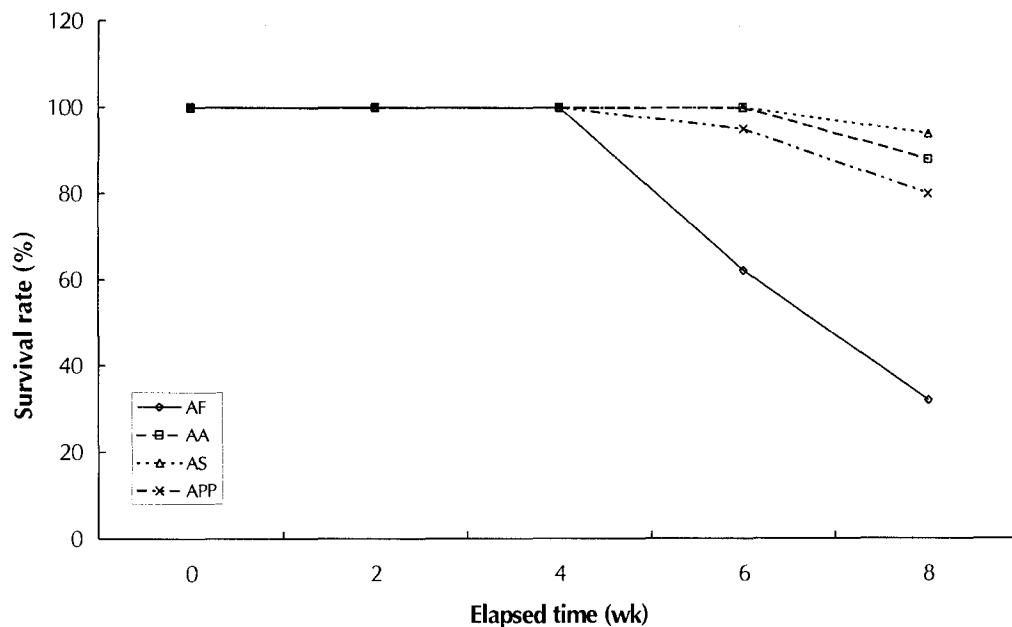


Fig. 2. Survival rate of black porgy fed diets supplemented with three types of ascorbic acid (L-ascorbic acid (AA), L-ascorbic acid-2-sulfate (AS) and polyphosphated ascorbic acid (APP)) or no vitamin C (AF) in a 8-wk trial.

Table 2. Growth performance of black porgy fed diets supplemented with three types of ascorbic acid for 8 wk^{1,2}.

Ascorbic acid (100mg/kg diet)	Initial weight (g)	Weight gain (%)	Survival rate (%)
AF	3.5±0.7	156.9±23.4 ^a	32.0±8.4 ^a
AA	3.5±0.5	215.5±22.4 ^b	86.7±8.2 ^{bc}
AS	3.3±0.7	221.6±24.7 ^b	94.0±9.6 ^c
APP	3.4±0.6	225.6±36.3 ^b	80.0±6.3 ^b

¹Means within a column followed by the same superscript letter do not differ at $p>0.05$.

² AF: ascorbic acid-free; AA: L-ascorbic acid; AS: L-ascorbic acid-2-sulfate; APP: Polyphosphated ascorbic acid.

二、組織中維生素C之分析

在八週的蓄養試驗結束後，黑鯛血液中維生素C濃度各處理組間均有顯著性差異 ($p<0.05$) (Table 3)。黑鯛血液中維生素C濃度，以餵飼 AA 組者為最高 (9.59 $\mu\text{g}/\text{ml}$)，APP 組次之 (6.35 $\mu\text{g}/\text{ml}$)，AS 組為 3.40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ，AF 組者為最低 (1.07

$\mu\text{g}/\text{ml}$)。

黑鯛肝臟中維生素C濃度經測定，以餵飼 APP 組者為最高 (16.06 $\mu\text{g}/\text{g}$)，顯著高於其他三處理組 ($p<0.05$) (Table 3)。AA 組次之 (4.78 $\mu\text{g}/\text{g}$)，與 AS 組 (3.07 $\mu\text{g}/\text{g}$) 間並沒有顯著性差異。餵飼缺乏維生素C的 AF 組肝臟維生素C蓄積量只有 0.52 $\mu\text{g}/\text{g}$ ，與其他各組間有顯著性差

異 ($p < 0.05$)。

三、血液性狀分析

餵飼缺乏維生素 C 的 AF 組之血容積比 (29%)、血紅素濃度 (7.88 mg/dl) 和紅血球數 (4.04×10^6 cells/ml) 均顯著低於各添加維生素 C 組 ($p < 0.05$) (Table 4)。在血容積比上，添加維生素 C 組

的 AA 組為 35.33%、AS 組為 34.67%，APP 組為 35.33%，三處理組間沒有顯著性差異存在。在血紅素濃度上，以 AS 組為最高 (9.95 mg/dl)，AAP 組次之 (9.32 mg/dl)；AA 組 (9.17 mg/dl) 與 AS 組間有顯著差異 ($p < 0.05$)。在紅血球數上，以餵飼 APP 組為最高 (5.71×10^6 cells/ml)，AA 組 (5.49×10^6 cells/ml) 次之；AS 組為 5.15×10^6 cells/ml，和前二者間有顯著性差異。

Table 3. Ascorbic acid concentration in the liver and blood of the black porgy fed 8 wk on diets supplemented with three types of ascorbic acid^{1,2}.

<i>Ascorbic acid</i> (100mg/kg diet)	<i>Liver</i> (μ g/g)	<i>Blood</i> (μ g/ml)
AF	0.52 ± 0.90^a	1.07 ± 0.11^a
AA	4.78 ± 1.62^b	9.59 ± 0.35^d
AS	3.07 ± 0.04^b	3.40 ± 0.24^b
APP	16.06 ± 1.17^c	6.35 ± 0.17^c

¹ Means within a column followed by the same superscript letter do not differ at $p > 0.05$.

² AF: ascorbic acid-free; AA: L-ascorbic acid; AS: L-ascorbic acid-2-sulfate; APP: Polyphosphated ascorbic acid.

Table 4. Hematological parameters of black porgy fed diets supplemented with three sources of ascorbic acid for 8 wk^{1,2}.

<i>Source of ascorbic acid</i> (100mg/kg)	<i>Hematocrit</i> (%)	<i>Hb concentration</i> (mg/dl)	<i>RBC count</i> ($\times 10^6$ cells/ml)
AF	29.00 ± 1.00^a	7.88 ± 0.08^a	4.04 ± 0.08^a
AA	35.33 ± 1.15^b	9.17 ± 0.53^b	5.49 ± 0.12^c
AS	34.67 ± 1.15^b	9.95 ± 0.18^c	5.15 ± 0.17^b
APP	35.33 ± 1.15^b	9.32 ± 0.41^{bc}	5.71 ± 0.33^c

¹ Means within a column followed by the same superscript letter do not differ at $p > 0.05$.

² AF: ascorbic acid-free; AA: L-ascorbic acid; AS: L-ascorbic acid-2-sulfate; APP: Polyphosphated ascorbic acid.

討論

在八週的蓄養期間中, 餵飼添加 100 mg/kg 的 AA、AS 或 APP 等三種不同型態的維生素 C 的黑鯛均未發現任何維生素 C 的缺乏症狀, 顯示 AS 及 APP 和 AS 均具有抗壞血症的活性, 且飼料中添加 100 mg/kg 的維生素 C 可防止壞血病的發生。在八週的蓄養期間中, 缺乏維生素 C 的 AF 組黑鯛, 陸續發現有不同程度的外觀性壞血症發生。黑鯛的壞血症症狀, 除了成長低下及高死亡率的典型症狀外, 包括背鰭基部及眼眶中有出血、輕微腹水腫、體色變黑、脫鱗、腹水腫、時有腹上背下的異常行為、眼睛外凸、眼眶內充血及脊椎彎曲等症狀。脊椎彎曲的症狀, 在虹鱒 *Oncorhynchus mykiss*⁽²⁴⁾、褐鱒 *Salvelinus fontinalis*⁽²⁵⁾、河魴 *Ictalurus punctatus*⁽²⁶⁾、印度鯉魚 *Cirrhina marigala*⁽²⁷⁾ 及吳郭魚 *Oreochromis mossambicus*⁽²⁸⁾ 為急性症狀, 但在本研究中僅在第七週時發現一尾黑鯛出現脊椎彎曲的症狀。似乎脊椎彎曲的壞血病症會因不同魚種而有不同的發展病程。另外, 在 AF 組也發現微觀性的壞血病之症狀, 如低血紅素濃度、低血容積比、低紅血球數量和血液及肝臟中的維生素 C 少量蓄積。Abdelghany⁽²⁹⁾ 在不同型態維生素 C 對吳郭魚 *O. niloticus* 成長反應的研究中, 以缺乏維生素 C 的飼料蓄養十二週後, 在吳郭魚的肝臟中無法偵測到維生素 C 的蓄積。但在本研究以缺乏維生素 C 的飼料蓄養八週後, 在黑鯛的血液及肝臟中仍能偵測到微量的維生素 C。這可能是蓄養時間長短不同所造成蓄積量之差異, 而非魚種類不同所造成的。

在八週的蓄養期間, 餵飼 APP 的黑鯛之肝臟中維生素 C 的蓄積量顯著高於餵飼 AS 或 AA, 顯示黑鯛對 APP 的利用性高於 AA 及 AS, 且黑鯛能利用 APP 作為維生素 C 的優質來源。Yamamoto 等⁽³⁰⁾ 將 2-O- α -glucopyranosyl-L-ascorbic acid (AA-2G)、L-ascorbic acid 2-O-phosphate (AA-2P)、AS 或 AA 等四種維生素 C 給予鼠 (Rat) 口服, 發現以 AA-2P 吸收最佳, AS 則最差。這一結果與本研究相似。另外, 以 APP 作為魴魚^(21,20,31) 或吳郭魚 *O. niloticus*⁽²⁹⁾ 的維生素 C 來源時, 魚體內維生素 C 的蓄積量比以 AA 作為維生素 C 來源的還高。這可能是由於魚類攝取 APP, 經體內消化道後, 其中的磷酸鹽部分需先經魚體內酵素的分解, 才能被魚體利用, 故能保護維生素 C 並延遲其被氧化的速

度, 促進腸部之吸收, 而會有較高的蓄積量^(18,21)。在本研究中, AS 雖具有抗壞血的活性, 但在血液中的蓄積量顯著低於 AA 及 APP 兩組, 且在肝臟中的蓄積量顯著低於 APP 組。這是否意謂著黑鯛和魴魚一樣: 將 AS 視為不重要的儲藏代謝產物⁽³²⁾, 或是意謂著黑鯛 AS-sulfohydrolase 活性是有限的, 值得進一步探討。

在八週的蓄養結束後, 不添加維生素 C 組的各項血液性狀分析均顯著低於添加維生素 C 組的血液性狀, 顯示飼料中添加維生素 C 對黑鯛的各項血液性狀有顯著性地改善效應存在。本研究結果中餵飼添加三種不同型態維生素 C 的黑鯛血容積比均比不添加維生素 C 組顯著高, 然而餵飼飼料中添加不同型態維生素 C 的各處理組間的血容積比則無顯著差異存在。此一結果與 Bai 和 Galtin⁽³³⁾ 發現 AA 對河魴的血容積比有顯著的改善效應, 另 Duncan 和 Lovell⁽³⁴⁾ 也發現 AA 對河魴的血容積比及紅血球數量等血液性狀具有正面的效應等結果相似。Waagboe 等⁽³⁵⁾ 以 40、400、2000 及 4000 mg AA/kg 的 Ascorbate-2-monophosphate (AP) 餵飼大西洋鮭 *Salmo salar* 六個月, 發現 AP 對血紅素濃度沒有影響。但在本研究中添加維生素 C 的各組黑鯛之血紅素濃度均顯著高於不添加維生素 C 組, 顯示了飼料中添加維生素 C 會影響黑鯛血紅素濃度。兩結果之差異是否由於魚種類之不同抑或所添加維生素 C 之不同所造成結果的差異, 則尚待日後加以探討。

本研究結果顯示, AA、AS 和 APP 均具有抗壞血病的活性, 且飼料中添加 100 mg/kg 的維生素 C 已足夠防止黑鯛的壞血病之發生。然而黑鯛對 APP 的利用性顯著高於 AS, 因此對黑鯛飼料添加維生素 C 來源, APP 為維生素 C 優質來源之一。

謝辭

本試驗承國立中山大學海洋生物研究所陳宏遠教授提供寶貴意見、本分所陳麗靜小姐之協助蓄養及分析、助研員郭世榮的惠借儀器, 及其他未具名審查者提供寶貴意見, 得以完成, 特此致謝。

參考文獻

1. Wilson, R. P. and W. E. Poe (1973) Impaired collagen formation in the scorbutic channel catfish. J. Nutr., **103**: 1359-1364

2. Yamamoto, Y., M. Sato and S. Ikeda (1978) Existence of L-gluconolactone oxidase in some teleosts. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **44**: 775-779.
3. Albrektsen, J., O. Lie and K. Sandnes (1988) Ascorbylpalmitate as a dietary vitamin C source for rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*, **71**: 359-368.
4. Halver, J. E., R. R. Smith, B. M. Tolber and E. M. Baker (1975) Utilization of ascorbic acid in fish, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **258**: 81-102.
5. Halver, J. E. (1972) The role of ascorbic acid in fish disease and tissue repair. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **38**: 79-92.
6. Lim, C. and R. T. Lovell (1978) Pathology of the vitamin C deficiency syndrome in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *J. Nutr.*, **108**: 1137-1146.
7. Cordinal, G. J., L. H. Stassen and R. Kuttan (1975) Activation of propyl hydroxylase in fibroblast by ascorbic acid. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **98**: 268-286.
8. Soliman, A. K., K. Jauncy and R. T. Robert (1986) The effect of varying forms of dietary ascorbic acid on the nutrition of juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, **52**: 1-10.
9. Lovell, R. T. and C. Lim (1978) Vitamin C in pond diets for channel catfish. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **107**: 321-325.
10. Hilton, J. W., C. Y. Cho, R. G. Brown and S. J. Slinger (1978) The synthesis, half-life and distribution of ascorbic acid in rainbow trout. *Comp. Biochem. Physiol.*, **63A**: 447-453.
11. Hilton, J. W., C. Y. Cho and S. J. Slinger (1977) Factors affecting the stability of supplemental ascorbic acid in practical trout diets. *J. Fish. Res. Bd Can.*, **34**: 683-687.
12. Schuep, W., J. Marmet and W. Studer (1989) Stability of ascorbate-2-sulfate in trout feed measured by HPLC. *Aquaculture*, **79**: 249-258.
13. Grant, B. F., P. A. Seib, M. L. Liao and K. E. Corpton (1989) Polyphosphorylated L-ascorbic acid: A stable form of vitamin C for aquaculture feeds. *J. World Aquacult. Soc.*, **20**: 143-157.
14. Waagboe, R., S. Oeines and K. Sandnes (1991) The stability and biological availability of different forms of vitamin C in feed for Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Fiskeridir. Skr. Ernaering.*, **4**: 95-101.
15. Tucker, B. W. and J. E. Halver (1984) Distribution of ascorbate-2-sulfate and distribution, half-life and turnover rates of [1-¹⁴C] ascorbic acid in rainbow trout. *J. Nutr.*, **114**: 991-1000.
16. Halver, J. E. (1989) The vitamin. *In Fish Nutrition*, (J. E. Halver ed.), 2nd Edit. Academic Press, London., 32-109.
17. Murai, Y., J. W. Andrews, and J. C. Bauerfeind (1978) Use of L-ascorbic acid, ethocel coated ascorbic acid and ascorbate-2-sulfate in diets for channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *J. Nutr.*, **108**: 1761-1766.
18. Fenster, R. (1989) Ascorbyl-2-sulfate, an alternative source of vitamin C for fish? *In Proc. Third Intl. Symp. on Feeding and Nutr. in Fish*, Toba, Japan, 166-171.
19. Brandt, T. M., C. W. Deyoe and P. A. Seib (1985) Alternate sources of vitamin C for channel catfish. *Prog. Fish-Cult.*, **47**: 55-59.
20. El-Naggar, G. O. and R. T. Lovell (1991) L-ascorbyl-2-monophosphate has equal antiscorbutic activity as L-ascorbic acid but L-ascorbyl-2-sulfate is inferior to L-ascorbic acid for channel catfish. *J. Nutr.*, **121**: 1622-1626.
21. Wilson, R. P., W. E. Poe and E. H. Robinson (1989) Evaluation of L-ascorbyl-2-polyphosphate (AsPP) as a dietary ascorbic acid for channel catfish. *Aquaculture*, **81**: 129-136.
22. Pelletier, O. (1985) Vitamin C (L-ascorbic and dehydro-L-ascorbic acid). *In Methods of Vitamin Assay*, (J. Augustin, B. Kliein, D. Becker and P. B. Venugopal eds.). John Wiley and Sons, New York, 323-329.
23. SAS (1988) SAS User's Guide: Statistics. SAS Institute Inc., Cary, NC 584pp.
24. Kitamura, S., T. Suwa, S. Ohara and K. Nakamura (1965) Studies on vitamin requirements of rainbow trout, *Salmo gairdneri*, 1. On the ascorbic acid. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **33**: 1120-1125.
25. Poston, H. A. (1967) Effect of dietary L-ascorbic acid on immature brook trout. *Fish. Res. Bull, Cortland, NY.*, **30**: 46-51.
26. Wilson, R. P. and W. E. Poe (1973) Impaired collagen formation in the scorbutic channel catfish. *J. Nutr.*, **103**: 1359-1364.

-
27. Agrawal, N. K. and C. L. Mahajan (1980) Nutritional deficiency disease in an Indian major carp *Cirrhina marigala* Hamilton, due to avitaminosis C during early growth. *J. Fish. Dis.*, **3**: 231-248.
28. Soliman, A. K., K. Jauncy and R. T. Robert (1986b) The effect of dietary ascorbic acid supplementation on hatchability, survival rate and fry performance in *Oreochromis mossambicus* Peters. *Aquaculture*, **59**: 197-208.
29. Abdelghany, A. E. (1996) Growth response of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* to dietary L-ascorbic acid, L-ascorbyl-2-sulfate, and L-ascorbyl-2-polyphosphate. *J. World Aquacult. Soc.*, **27**: 449-455.
30. Yamamoto, I., S. Suga, Y. Mitoh, M. Tanaka and N. Muto (1990) Antiscorbutic activity of L-ascorbic acid 2-glucoside and its availability as a vitamin C supplement in normal rats and guinea pigs. *J. Pharmacol. Dynamics*, **13**: 688-695.
31. Mustin, W. G. and R. T. Lovell (1992) Na-L-ascorbyl 2-monophosphate as a source of vitamin C for channel catfish. *Aquaculture*, **105**: 95-100.
32. Guerin, M. (1986) Feeding elevated levels of ascorbic acid to channel catfish in ponds: effects on tissue levels of ascorbic acid and ascorbate-2-sulfate and on resistance to *Edwardsiella ictaluri*. Master's Thesis, Auburn University, Auburn, Alabama.
33. Bai, S. C. and D. M. Galtin (1992) Dietary rutin has limited synergistic effects on vitamin C nutrition of fingerling channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Fish Physiol. Biochem.*, **10**: 183-188.
34. Duncan, P. L. and R. T. Lovell (1993) The effects of folate and vitamin C on growth, hematology, and resistance to bacterial disease in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. In *Discovery to commercialization*, (M. Carillo, L. Dahle, J. Morale, P. Sorgelaos, N. Svennevig, and J. Wyban eds.). Oostend Belgium European Aquacult. Soc., 223pp.
35. Waagboe, R., J. Glette, E. Raa-Nilsen and K. Sandnes (1993) Dietary vitamin C, immunity and disease resistance in Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Fish. Physiol. Biochem.*, **12**: 61-73.

Feng-Chen Wu, Min-Lung Chen and Yun-Yuan Ting

Tainan Branch, Taiwan Fisheries Research Institute,

Chiku, Tainan 724, Taiwan.

(Accepted 21 December 1996)



L-ascorbic acid-2-polyphosphate and L-ascorbic acid-2-sulfate Have Equal Antiscorbutic Activity for the Black porgy *Acanthopagrus schlegeli*

Abstract

Purified diets were formulated and fed to four groups of black porgy *Acanthopagrus schlegeli* fingerlings for 8 weeks. L-ascorbic acid (AA), L-ascorbic acid-2-sulfate (AS) or L-ascorbic acid-2-polyphosphate (APP) were supplemented to the test diets at 100 mg/kg diet ascorbic acid equivalence. The control diet was ascorbic acid-free. The result indicated that APP, AS or AA had antiscorbutic activities. There were no gross signs of vitamin C deficiency in any of the fish fed AA, AS or APP, whereas hemorrhagic exophthalmia, ascites, fin hemorrhages, spinal curvature and reduced concentrations of ascorbic acid in blood and liver were found in the control group. Ascorbic acid content was highest in the liver of the porgy fed APP diet. This result indicates that APP has equimolar activity to L-ascorbic acid as a vitamin C source for black porgy.

Key Words: L-ascorbic acid, L-ascorbic acid-2-polyphosphate, L-ascorbic acid-2-sulfate, black porgy