

文章编号: 1004 - 7271(2001)01 - 0049 - 06

不同喂养条件和营养强化对大型溞 总脂及脂肪酸组成的影响

黄显清, 王 武, 成永旭

(上海水产大学渔业学院, 上海 200090)

摘 要: 大型溞的总脂和脂肪酸组成随食物的变化及营养强化的实施而发生显著变化。酵母组总脂为 2.5%, 明显高于海水小球藻组(1.65%)和有机肥组(1.5%)。经鱼油强化或海水小球藻二次培养后脂类含量明显升高。三组中酵母组的 MUFA 含量最高为 55%。主要是 $C_{16:1\omega7}$ (22%) 与 $C_{18:1\omega7}$ (23%), 而 PUFA 最低(16.6%), 其中 EPA(2.7%)、DHA(0.8%) 等 $\omega3$ HUFA 含量均很低; 与酵母组相比, 海水小球藻组和有机肥组的 MUFA 含量显著下降, PUFA 含量显著升高, 均为 30% ~ 33% 左右, 三组中海水小球藻组 EPA 含量最高(14%), 其次是有机肥组(5.9%)和酵母组(2.7%); 有机肥组 DHA 含量最高, 达 11.7%, 而酵母组和海水小球藻组 DHA 含量均很低, 仅为 0.7% ~ 0.8%。经鱼油强化后, 酵母组的 MUFA 含量显著下降, PUFA 显著升高, EPA 由 2.7% 提高到 10% 左右, DHA 由 0.8% 升至 7%; 酵母组经海水小球藻二次培养后 MUFA 显著降低, PUFA 相应升高, EPA 由 2.7% 提高到 9.7%, 而 DHA 含量无变化。

关键词: 大型溞; 饵料条件; 营养强化; 总脂; 脂肪酸组成

中图分类号: S968.2 文献标识码: A

Influence of different feeding conditions and nutritional enrichment on total lipid and fatty acid composition of *Daphnia magna*

HUANG Xian-qing, WANG Wu, CHENG Yong-xu

(Fisheries College, SFU, Shanghai 200090, China)

Abstract: Total lipid and fatty acid composition of *Daphnia magna* change remarkably with difference of food and implement of nutritional enrichment. The number of total lipid in the yeast group is 2.5% and higher distinctly than those in the seawater *Chlorella* spp. group (1.65%) and the organic manure group (1.5%). After enriched with fish oil or cultured twice for the seawater *Chlorella* spp., the number of total lipid in the yeast group increases obviously. Among these three groups, MUFA concentration in the yeast group is the highest of 55%, and they are mainly $C_{16:1\omega7}$ (22%) and $C_{18:1\omega7}$ (23%), and yet PUFA concentration is the lowest, among them EPA concentration is 2.7% and DHA 0.8%; Compared with the yeast group the MUFA concentration of the seawater *Chlorella* spp. group and the organic manure group decreases remarkably, PUFA concentration increases evidently, they are all 30% - 33% or so, EPA concentration of the seawater *Chlorella* spp. group 14% is the highest among three groups, followed by the organic manure group(5.9%) and the yeast group (2.7%); DHA concentration of the organic manure group is the highest of 11.7%, and the yeast group and the seawater *Chlorella* spp. group are

收稿日期: 2000-05-31

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(399001122)

第一作者: 黄显清(1974 -), 男, 湖南安仁人, 硕士, 本校 2000 届硕士研究生。

all very low of 0.7% - 0.8%. After enriched with fish oil, the MUFA concentration of the yeast group decreases clearly, the PUFA concentration of that increases remarkably, EPA increases from 2.7% to 10%, DHA increases from 0.8% to 7%; After cultured twice for the seawater *Chlorella* spp., the MUFA concentration of the yeast group decreases markedly, PUFA increases correspondingly, EPA increases from 2.7% to 9.7%, and there is no change in DHA.

Key Words: *Daphnia magna*; feeding condition; nutritional enrichment; total lipid; fatty acid composition

海水鱼、虾、蟹育苗生产中广泛使用的卤虫资源因遭到严重的破坏而难以恢复,致使其市场价格陡涨,大大提高了育苗成本,因此,研究开发卤虫的替代或部分替代活饵料已成当务之急。决定生物饵料营养价值最重要的因子是必需脂肪酸(EFA)的含量。海水鱼的EFA为EPA、DHA等 ω 3HUFA,而酵母及淡水藻培养的轮虫、卤虫等生物饵料,其 ω 3HUFA的含量均较低,而MUFA含量较高,用这种饵料投喂海水鱼、虾、蟹幼体常引起大量死亡^[1]。因此,水产科研工作者越来越重视生物饵料营养强化的研究,以提高其营养价值,满足养殖对象的营养需要,如用鱼油强化或海水绿藻二次培养后,其MUFA显著降低,而EPA、DHA等 ω 3HUFA显著升高。目前,国内外学者对卤虫及轮虫的营养强化进行过大量的研究,而对枝角类等其他生物饵料的营养强化研究较少,董圣英等^[2]曾对蒙古裸腹溞的营养强化进行过研究。为了使大型溞能更好地满足鱼类在不同发育阶段对必需脂肪酸的需要,本文通过不同的喂养试验、鱼油强化及海水小球藻二次培养,研究了大型溞脂类含量及脂肪酸组成的变化,以寻求最佳的饵料及营养强化方法,进一步提高大型溞的营养价值。

1 材料与方 法

1.1 试验溞的来源与培养

种溞引种于山西运城,培养于实验室的玻璃缸中。试验设置海水小球藻培养、面包酵母培养、有机肥(鸡粪和土的混合物)培养3个对照组,实验条件保持一致:温度18~25℃、盐度为8左右,气石充气等。培养1个月后开始取样,取样时将样本反复冲洗干净,并用滤纸吸干体表面水分后称重1g左右,置入装有20倍于样本体积的氯仿-甲醇(2:1)的25mL比色管中,放在冰箱中冷冻保存,每组重复取样3次。酵母组中幼体样本均取自未开始抱卵的大型溞。

1.2 酵母大型溞鱼油强化培养

将1g鱼油与3g酵母充分搅拌均匀,再用筛绢搓挤于装有500mL水的烧杯中,分两次泼洒于30L水体的强化培养缸中,密度为每L3000个左右,强化时间为24h,强化期间大量充气。取样及样本处理同1.1。

1.3 酵母大型溞的海水小球藻二次培养

采集1.1培养的酵母大型溞,置入海水小球藻培养液(盐度同强化前)中强化培养24h。其余条件及样本处理同上。海水小球藻的培养条件:采用湛水101号培养液培养,盐度控制在8,连续充气,24h光照。

1.4 分析测定

1.4.1 总脂的提取

采用Folch程序即氯仿-甲醇(2:1)抽提法提取。此法适宜于储存脂肪的提取,用20倍于组织体积的氯仿-甲醇(2:1)液提取脂类,抽提的脂肪在0℃以下充氮气或真空泵抽气使有机溶剂挥发,然后准确称重。抽提用组织材料一般为1g左右。

1.4.2 脂肪酸组成分析

采用毛细管气相色谱法。

脂肪酸甲酯化:将以上所得脂肪加1~2mL石油醚和苯,1~2mL 0.4mol/L KOH-甲醇,5~10min后,

加蒸馏水定容至 8mL,待澄清后取上清液进行气相色谱分析。

气相色谱仪为 HP5890 II Series II plus Gas Chromatography;积分仪为 HP3396 II Integrator。分析条件:分流进样系统(Split injection system);载气为氮气;检测器采用氢火焰离子检测器;柱内压为 60kpa;分流比为 1:50 或 1:100;分析柱为 Methyl silicone column(19095Z-121),长 25m,直径 0.32mm;检测器及进样口温度为 250℃;柱温采用程序升温法,160℃开始,停留 4min 后以 4℃/min 的速率升至 210℃,停留 4min 后以 6℃/min 的速率升至 240℃,停留 12min 结束。

各脂肪酸依据在相同色谱条件下其标准脂肪酸的保留时间来确定,标准脂肪酸购于 sigma 公司。利用面积归一化法计算脂肪酸的百分组成。

2 结果与分析

2.1 不同食物条件及营养强化对大型溞脂类含量的影响

从表 1 可以看出,在不同的喂养条件及营养强化下,大型溞的脂肪含量存在极显著的差异。其中酵母培养的大型溞(成体)经鱼油强化后总脂含量最高,达 3.3% (占湿重)、27.8% (占干重),与强化前(2.5%)相比总脂提高了约 25% 左右。而海水小球藻培养的大型溞及有机肥培养的大型溞总脂含量最低,仅为其他食物及营养强化条件下的一半左右(1.5% ~ 1.65%)。酵母大型溞经海水小球藻二次培养后较强化前提高了 10% 左右。由此看来,鱼油强化及海水小球藻二次培养对提高大型溞的脂类含量有显著的效果。

表 1 在不同食物条件及营养强化下大型溞的脂类含量

Tab.1 Total lipids in *D. magna* at different feeding condition and nutritional enrichment

食物条件	总脂/湿重(%)	总脂/干重(%)
海水小球藻	1.650 ± 0.377	13.750 ± 3.140
酵母	幼体	2.508 ± 0.324
	成体	2.533 ± 0.330
有机肥	1.500 ± 0.141	12.580 ± 1.175
酵母大型溞经小球藻二次培养	2.833 ± 0.772	23.608 ± 6.433
酵母大型溞经鱼油强化	3.333 ± 0.556	27.775 ± 4.633

注:显著性检验(单因素方差分析), $F=5.8550 > F_{crit}=2.7905$,
 $P=0.002574 < 0.05$,不同饵料及营养强化对大型溞的脂肪含量影响极显著。

2.2 不同喂养条件对大型溞脂肪酸组成的影响

图 1 比较分析了大型溞在面包酵母、海水小球藻、有机肥三种培养条件下脂肪酸的组成情况。酵母大型溞的 MUFA 含量最高,主要的脂肪酸是 $C_{16:1\omega7}$ (22%) 和 $C_{18:1\omega9}$ (23%),而 PUFA 含量最低,仅为 16.6%,其中 EPA、DHA 均较低,分别为 2.7% 和 0.8%;海水小球藻培养的大型溞与有机肥培养的大型溞 MUFA 显著下降,PUFA 显著升高,均为 30% ~ 33% 左右;EPA 含量,海水小球藻组最高,达 14%,其次是有有机肥组为 6%;DHA 含量以有机肥组含量最高,近 12%,而海水小球藻组与酵母组均较低,仅 0.7% ~ 0.8%。

2.3 鱼油强化对大型溞脂肪酸组成的影响

图 2 为酵母培养的大型溞在鱼油强化前后脂肪酸组成的变化情况。经鱼油强化后,作为海水鱼两种最重要的必需脂肪酸 EPA 和 DHA 的百分含量均得到了显著的提高,EPA 由强化前的 2.7% 提高到 10%,DHA 由强化前的 0.8% 提高到 7%,强化效果非常显著。此外,二十二碳以上的其它脂肪酸如 $C_{22:5\omega3}$ 、 $C_{22:3\omega9}$ 等也得到了补充与完善。强化前后 SFA 含量变化不明显,MUFA 显著下降,由 55% 降至 36%,这主要表现在 $C_{16:1\omega7}$ 、 $C_{17:1}$ 、 $C_{18:1\omega9}$ 的显著下降,与此相反,PUFA 显著提高了一倍左右,这主要是其中的 EPA、DHA 的显著提高所致。强化后 $\omega6/\omega3$ 的比值也显著下降,这说明了 $\omega3$ 系列烯酸的显著提高。酵母大型溞的鱼油强化效果是非常显著的,如 EPA、DHA 的显著提高,这些都与所采用的鱼油具有较高含量的 EPA(8.8%)、DHA(15%)有关,此外鱼油的多烯酸含量高达 50% 以上。

2.4 酵母大型溞经海水小球藻二次培养后脂肪酸组成的变化

图 3 为酵母大型溞经海水小球藻二次培养后脂肪酸组成变化的情况,酵母大型溞经海水小球藻二

次培养后 EPA 显著提高,由强化前的 3% 提高到 10% 左右,但是, DHA 强化效果不明显,强化前后含量都较低。 MUFA 显著下降,这主要表现在 $C_{16:1\omega7}$ 、 $C_{17:1}$ 、 $C_{18:1\omega9}$ 的明显下降。 SFA、PUFA 含量各提高 8% 左右,这是由于 SFA 中 $C_{14:0}$ 、 $C_{15:0}$ 和 PUFA 中 EPA 的显著提高所致。

2.5 投喂酵母时大型溞在不同发育阶段脂肪酸组成的比较

在采用酵母培养的情况下,幼溞与成溞脂肪酸组成的比较如图 4 所示。两者总饱和脂肪酸百分含量基本上没有什么差别,与幼溞相比,成溞虽然 $C_{14:0}$ 明显下降,而 $C_{15:0}$ 、 $C_{16:0}$ 有所升高;成溞的 MUFA 总百分含量(55%)显著高于幼溞的(45%),这主要表现在 $C_{16:1\omega7}$ 、 $C_{17:1}$ 、 $C_{18:1\omega9}$ 三种脂肪酸的下降;而在 PUFA 方面成溞呈下降趋势,其中 EPA 下降较明显,由 7% 下降至 2.7%;而 DHA 没有什么差异。此外,从幼溞到成溞 $\omega6/\omega3$ 比值呈下降趋势,这是由于幼溞 $\omega3$ 系列脂肪酸尤其是其中的 EPA 升高所致。

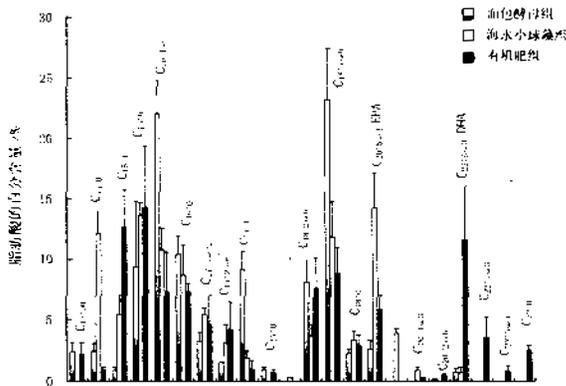


图 1 不同喂养条件下大型溞脂肪酸组成的比较
Fig.1 Comparison of fatty acid composition of *D. magna* at different feeding conditions

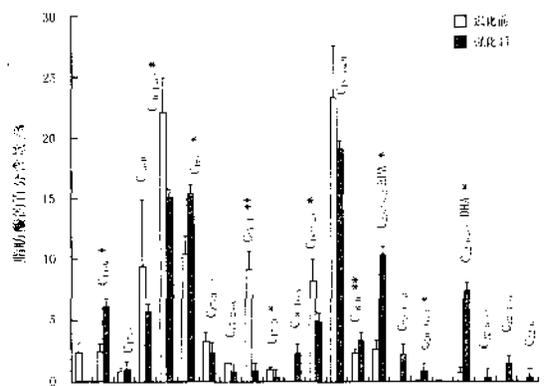


图 2 酵母大型溞在鱼油强化前后脂肪酸组成的变化
Fig.2 The change of fatty acid composition of *D. magna* before and after enriched with fish oil

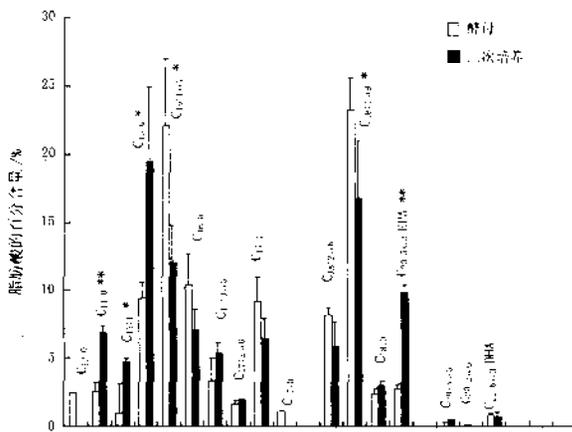


图 3 酵母大型溞经海水小球藻二次培养后脂肪酸组成的比较
Fig.3 Comparison of fatty acid composition of yeast *D. magna* before and after enriched with seawater *Chlorella* spp.

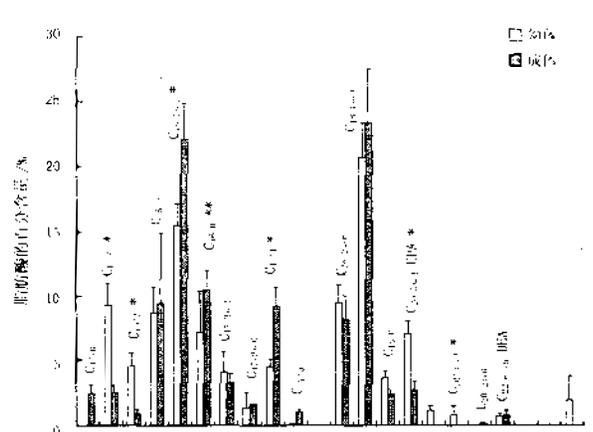


图 4 投喂酵母时大型溞在不同发育阶段脂肪酸组成的变化
Fig.4 The change of fatty acid composition of *D. magna* at different developing periods when feeding on yeast

注: * 为差异显著 ($P < 0.05$), ** 为差异极显著 ($P < 0.01$)。

3 讨论

3.1 食物条件对大型溞脂类及脂肪酸组成的影响

随食物条件的改变及营养强化的实施,大型溞的脂肪含量发生显著的变化。在同样的培养条件下,酵母大型溞的粗脂肪为2.5%(占湿重),而海水小球藻及有机肥培养的大型溞仅为1.65%、1.5%。酵母大型溞经鱼油强化后粗脂肪提高到3.3%,经海水小球藻二次培养后提高到2.8%,强化效果极为显著。大型溞粗脂肪与其它饵料生物如蒙古裸腹溞(2.1%)、蚤状溞(1.4%)、淡水裸腹溞(2.5%)、褶皱臂尾轮虫(2.7%)、卤虫(2.2%)等^[3]相比基本相似。脂肪酸的组成受食物特点的影响更为显著,大型溞的培养饵料的脂肪酸组成特点直接决定了大型溞的脂肪酸组成特点。酵母大型溞在三试验组中具有最高的 MUFA(55%,主要的 $C_{16:1\omega7}$ 和 $C_{18:1\omega9}$ 分别为 22%、23%)、最低的 PUFA(16.6%,其中的 EPA、DHA 仅为 2.7%、0.8%)是由面包酵母的高 MUFA 含量、低 HUFA 含量直接决定的,据获野珍吉研究^[1],面包酵母的 MUFA 高达 52%~82%,主要为 $C_{16:1\omega7}$ 和 $C_{18:1\omega9}$,HUFA 极低。对于 EFA 为 EPA、DHA 等 $\omega3$ HUFA 的海水鱼、虾、蟹而言,这种酵母大型溞与酵母轮虫一样营养价值很低。同样,海水小球藻的较低 MUFA、高 EPA、低 DHA 直接决定了海水小球藻培养的大型 MUFA 下降至 30%、EPA 高达 14%、DHA 仅为 0.7%,在获野珍吉的研究中海水小球藻的 EPA 高达 27.8%、DHA 仅为 0.3%,这在海水绿藻培养的轮虫中具有同样的脂肪酸变化特点^[1];有机肥培养的大型溞由于摄食了有机肥培养的大量微小生物而具有较高的 EPA(6%)、DHA(11.7%)等 $\omega3$ HUFA 含量。因此,可以认为大型溞脂肪酸的组成特点与食物的脂肪酸特点几乎成线性关系。

3.2 关于营养强化对大型脂肪酸组成的影响

许多研究表明, $\omega3$ 系列高度不饱和脂肪酸($\omega3$ HUFA)为海水鱼类的必需脂肪酸^[4,5],其中最典型的代表是 EPA($C_{20:5\omega3}$)与 DHA($C_{22:6\omega3}$)。它们的缺乏或不足,严重影响苗种的成活率、生长速度、抗逆能力,甚至出现大量死亡^[6]。如单独投喂卤虫或酵母轮虫常引起苗种大量死亡,这主要是由于其 EPA、DHA 等 $\omega3$ HUFA 含量较低降低了它的营养价,因此,卤虫及酵母轮虫在投喂前往往需要进行营养强化,如鱼油强化、海水绿藻的再培养。鉴于 EPA、DHA 等 $\omega3$ HUFA 含量的重要意义,本实验也对大型溞进行了不同饵料培养的对照试验及营养强化的研究。研究得出,大型溞的 EPA 含量在各种饵料(酵母、海水小球藻、有机肥)条件下平均为 8%左右,DHA 含量,酵母、海水小球藻为 0.7%~0.8%;有机肥组高达 12%左右。经鱼油强化或海水小球藻二次培养,EPA、DHA 及其它多不饱和脂肪酸也得到了大幅度的补充与完善,这样极大地提高了大型溞作为海水鱼、虾、蟹育苗活饵料的营养价值。大型溞 EPA、DHA 显著的强化效果是由于采用了高 EPA、DHA 含量的多烯鱼油所致,本实验强化采用的鱼油 EPA、DHA 分别为 8.8%和 14.7%,PUFA 高达 53%。在卤虫资源日趋匮乏、价格上扬的今天,枝角类尤其是其中的大型溞因其优良的生长繁殖特性和营养价值,而具有极大的开发潜力。

3.3 影响大型溞脂肪酸组成的其它因子

在鱼油强化过程中,强化时间显著影响营养强化的效果。据获野珍吉^[1]研究,在酵母轮虫的海水绿藻二次培养中,随时间的延长,EPA 含量逐渐升高,强化 6h 后 EPA 达 10%~12%,6~24h 急剧增加,两日后达到最高值 27%,随后趋向稳定, $C_{18:1\omega9}$ 则随强化时间的延长逐渐下降,在第二天趋于稳定。在本实验中,只进行了常见的 24h 强化,而未进行强化时间的对照实验,因此合适的强化时间还有待于进一步研究。此外,大型溞体表对脂滴的黏附、肠道对脂滴的积累、强化剂的用量及强化方法都会影响到营养强化的效果。脂肪酸的组成还因培养季节、地理条件等因子的变化而存在差异。

生物本身对脂肪酸的吸收与合成能力也影响脂肪酸的组成,如枝角类、卤虫等甲壳类合成 EPA 的能力要显著高于轮虫,这是由于它们的脂肪酸代谢机制不同所致^[1]。本研究发现大型溞具有较强的吸收 EPA、DHA 等高不饱和脂肪酸的能力。

3.4 大型溞的应用前景

通过不同食物条件及营养强化对大型溞脂质、脂肪酸组成的影响研究与分析,发现有机肥和海水小球藻培养的大型溞及经鱼油强化或海水小球藻二次培养的酵母大型溞是一种富含 EPA、DHA 等 ω HUFA 的全价活饵料,结合前面进行的大型培养实验、生长生殖实验及耐盐性实验结果^[7],大型溞可部分替代卤虫进行河蟹、罗氏沼虾及其它半咸水产品种的育苗。若要将其应用于海水鱼类育苗生产,需引种驯化高盐水域的大型溞种群进行开发研究。

参考文献:

- [1] 狄野珍吉. 鱼类的营养和饲料[M]. 北京:农业出版社,1987.90-129.
- [2] 童圣英,姜宏,陈炜. 不同喂养条件下蒙古裸腹溞脂肪酸组成的比较[J]. 中国水产科学,1998,5(3):58-62.
- [3] 童圣英,林成辉,王雪涛. 蒙古裸腹溞营养成分分析与评价[J]. 大连水产学院学报,1988,11(3,4):29-32.
- [4] Castelli. Essential fatty acids in the diet of rainbow trout lipid metabolism and fatty acid composition[J]. J Nutri, 1972. 102:93-99.
- [5] Fuji M. Effect of ω -3 fatty acids on growth feed efficiency and fatty acid composition of oxi sea bream[J]. Rept Fish Res Lab Kyushu Univ, 1976. 3:65-86.
- [6] 张利民. 稚鱼生物饵料的 DHA 营养强化[J]. 齐鲁渔业, 1996, (13)5:36-38.
- [7] 黄显清,王武. 温度、盐度对大型溞生长及生殖的影响[J]. 上海水产大学学报,2000,9(1):16-20.