

饲料中添加大豆磷脂对草鱼肝胰脏 脂质脂肪酸组成的影响

曹俊明 林 鼎 劳彩玲 薛 华 潘 庆 田丽霞
(中山大学生物系, 广州 510275)

摘要 采用一种对照饲料和三种分别含 4%、6% 和 8% 大豆磷脂的试验饲料饲养初始体重约 15g 的草鱼, 经 52 天饲养后, 运用气相色谱仪测定草鱼肝胰脏脂质的脂肪酸组成。与摄食对照饲料的草鱼比较, 三组添加大豆磷脂的草鱼肝胰脏脂质具有较高水平的 18:2n-6 和较低的 20:4n-6/18:2n-6 比值。与此相反, 18:3n-3 的含量下降 30%~69%, 而 n-3 系列长链($C \geq 20$)高度不饱和脂肪酸(n-3HUFA, 包括 20:5n-3, 22:5n-3 和 22:6n-3)的含量升高, 使 n-3HUFA/18:3n-3 的比值显著增大。

关键词 脂肪酸组成, 大豆磷脂, 肝胰脏, 草鱼

鱼类“营养性脂肪肝”是现代水产养殖业中出现的一种营养性疾病, 严重时影响养殖鱼类的生长、肉质和抗病力。目前, 人们对于该病的发生机理尚不明了。Lin 等[1990]曾研究了草鱼“营养性脂肪肝”的病理发生和发展过程, 指出引起该病发生的诱因很复杂, 但饲料中营养素的不平衡和一些抗脂肪肝物质的缺乏似乎是主要原因。根据磷脂在水产动物有促进生长、提高饲料转化率和促进脂质吸收与转运等营养功能[王渊源 1991], 本文通过分析草鱼肝胰脏脂质的脂肪酸组成, 研究饲料中添加大豆磷脂对草鱼肝脏脂质代谢特别是对长链高度不饱和脂肪酸相对含量的影响, 从而为防治鱼类“营养性脂肪肝”提供有关理论依据和实用饲料, 提高草鱼的生长和营养价值。

1 材料与方法

1.1 试验鱼和饲养

试验鱼由本实验室的鱼场提供, 平均体重为(14.8±0.5)g。饲养试验在室内循环流水过滤水族箱(98cm×48cm×42cm)中进行, 每种饲料设 3 个平行, 每个平行养鱼 20 尾。水源为曝气去氯后的自来水, 水温平均为 25.8℃, 水中溶氧量大于 7mg/L, pH 值为 6.8±0.01, 氨氮为(0.02±0.01)mg/L。草鱼试验前, 进行适应性驯养 1 周。试验时按鱼体重的 3% 确定投饲量, 每天在上午 9:00 和下午 4:00 分 2 次投喂。按日增重 2% 测算总体重, 每 10 天调整一次投饲量, 试验期为 52 天。采用酪蛋白、糊精和明胶等为原料, 以 α-淀粉作粘合剂配成对照饲料, 其组成为(%): 酪蛋白 31, 糊精 40, 明胶 3, α-淀粉 3, 玉米油 1.5, 鱼肝油 1.5, 复合维生素 1.5, 复合无机盐 8, 纤维素 10, 维生素 C 0.5, 蛋氨酸 0.4, 氯化胆碱 0.05。在此基础上分别按 4%、6% 和 8%(重量百分比)添加大豆磷脂配成三种试验饲料。添加大豆磷脂后饲料脂质的

脂肪酸组成发生一些变化(表1)。在所有饲料中, 18: 0的含量很接近, 但16: 0的含量在添加磷脂的三种饲料中升高。18: 1n- 9含量在添加磷脂的三种饲料略有降低, 但18 3n- 3明显升高(约58%)而22: 6n- 3很低。

表1 饲料脂质的脂肪酸组成(%总脂肪酸)

Table 1 Fatty acid composition of dietary lipids (% of total fatty acids)

脂肪酸	对照饲料	4% 磷脂饲料	6% 磷脂饲料	8% 磷脂饲料
14: 0	0.05	0.02	0.02	0.01
16: 0	9.21	14.38	15.32	16.20
16 1n- 7	0.26	0.15	0.14	0.13
18: 0	5.71	5.33	5.23	5.19
18 1n- 9	27.04	15.85	13.62	12.34
18 2n- 6	49.11	56.22	57.19	57.95
18 3n- 3	4.30	6.86	7.28	7.57
20: 0	0.50	0.33	0.30	0.28
20 1n- 9	0.22	0.03	0.02	0.02
20 5n- 3	0.60	0.09	0.07	0.05
22 5n- 3	0.21	0.03	0.02	0.02
22 6n- 3	2.59	0.37	0.29	0.24
饱和脂肪酸	15.51	20.06	20.87	21.68
单不饱和脂肪酸	27.52	16.03	13.78	12.49
多不饱和脂肪酸	56.81	63.57	64.85	65.83
n- 3高不饱和酸	3.40	0.50	0.38	0.31

1.2 样品采集、脂质提取和脂肪酸甲酯制备及分析

饲养结束后, 从每组鱼取出3尾, 称量体重, 杀死, 立即解剖分离肝胰脏(胰脏组织散布在肝脏组织中), 用滤纸吸去血液, 迅速称重。采用甲缩醛-甲醇混合液提取肝胰脏脂质, 用甲醇钠直接酯化法制备脂肪酸甲酯混合物用于气相色谱分析, 其分析条件为: 色谱仪, HP5890; 记录仪, HP3392A积分仪; 色谱柱, φ0.2mm×25m毛细管柱; 固定相, 5%苯甲基硅酮; 检测器, 氢火焰离子检测器(FID); 温度参数, 柱温180~260℃程序升温(5℃/min), FID温度280℃, 进样口温度280℃; 载气, 高纯氮, 流量为40mL/min; 燃气, 高纯氢。

2 结果

2.1 草鱼肝胰脏脂质脂肪酸的基本组成

表2列出了四组草鱼肝胰脏脂质主要脂肪酸的克分子百分含量。在本实验条件下, 四组草鱼肝胰脏脂质含有12种主要脂肪酸, 其中饱和脂肪酸3种, 不饱和脂肪酸9种。饱和脂肪酸约占总脂肪酸的30%, 其中16: 0含量最高。不饱和脂肪酸包括C₁₆、C₁₈、C₂₀和C₂₂系列, 约占总脂肪酸的70%。16 1n- 7和18 1n- 9是两种主要的单不饱和脂肪酸, 两者约占总脂肪酸的30%~40%。多不饱和脂肪酸包含2~6个双键, 包括18: 2n- 6、18 3n- 3、20: 4n- 6、20: 5n- 3、22 5n- 3和22: 6n- 3, 占总脂肪酸的24%~30%, 其中20: 4n- 6、20 5n- 3、22 5n- 3和22 6n- 3属于长链高度不饱和脂肪酸。

表2 摄食四种不同饲料草鱼肝胰脏脂质的主要脂肪酸(克分子%)

Table 2 Main fatty acids of hepatopancreas lipids in grass carp fed 4 diets (mole%)

脂肪酸	对照组	4% 磷脂组	6% 磷脂组	8% 磷脂组
14:0	2.4±0.3a	2.0±0.2ab	1.4±0.3c	1.6±0.2b
16:0	22.1±0.4	23.2±0.9	23.2±1.4	23.5±1.4
16:1n-7	10.9±0.5a	7.7±0.4a	6.3±0.7b	5.4±0.5b
18:0	4.8±0.2c	6.6±0.4b	7.7±0.6ab	8.0±0.2a
18:1n-9	30.5±1.6a	29.3±0.7a	24.1±0.5b	23.0±0.3b
18:2n-6	3.2±0.2c	7.1±0.3ab	6.2±0.7b	8.6±1.4a
18:3n-3	4.2±1.9a	2.9±0.5ab	2.6±0.7ab	1.3±0.2b
20:1n-9	0.4±0.3	0.9±0.5	1.0±0.1	1.0±0.1
20:4n-6	8.5±0.4b	8.9±0.5b	11.7±0.7a	11.6±0.5a
20:5n-3	1.7±0.4b	2.8±0.4a	2.2±0.2ab	2.5±0.2a
22:5n-3	3.1±0.7c	3.4±0.3bc	4.5±0.7ab	4.8±0.5a
22:6n-3	4.0±0.9	3.0±0.3	4.4±0.6	4.6±0.6
其它脂肪酸	4.2±1.2	2.2±0.5	4.7±0.8	4.1±0.7
总饱和脂肪酸	29.3±0.5	31.8±0.6	32.3±0.93	33.1±0.8
总单不饱和脂肪酸	41.8±0.4a	37.8±0.5ab	31.4±0.6b	29.4±0.3b
总n-6多不饱和脂肪酸	11.7±0.3b	16.0±0.4ab	17.9±0.6ab	20.2±0.7a
总n-3高不饱和脂肪酸	8.8±1.1	9.2±0.4	11.1±0.5	11.9±0.4

表2中结果为平均数±标准差($n=3$)。每一行数据有不同英文字母者为相互间差异显著($p<0.05$)。四组草鱼肝胰脏脂质16:0的相对含量较接近,而18:0的含量在添加大豆磷脂的三组草鱼显著升高,与此相反,16:1n-7和18:1n-9的含量降低,使对照组的MUFA含量显著高于6%和8%磷脂组。与对照组比较,摄食大豆磷脂三组草鱼肝胰脏的18:2n-6和20:4n-6相对含量显著升高,18:3n-3含量降低而n-3HUFA有所升高。

2.2 饲料磷脂与草鱼肝胰脏脂质饱和酸、单不饱和酸和n-6系列脂肪酸含量的关系

图1比较了四种饲料脂质和相应草鱼肝胰脏脂质饱和脂肪酸、单不饱和脂肪酸、18:2n-6和20:4n-6的相对含量。

从图1可以看出,四组草鱼肝胰脏脂质的饱和脂肪酸(SFA)和单不饱和脂肪酸(MUFA)含量与其相应饲料脂质中的变化趋势一致,与对照组比较,摄食磷脂草鱼肝胰脏的SFA略有升高(9%~13%)。

MUFA含量下降10%~12%,其中6%和8%磷脂组与对照组之间的差异达到显著水平(图左半部分)。四种饲料中18:2n-6的含量均很高,约占总脂肪酸的50%左右,并随大豆磷脂的添加量升高而上升(比对照饲料升高14%~18%)。在肝胰脏脂质中,该脂肪酸的相对含量较低(3%~9%),与对照组相比,摄食磷脂三组草鱼肝胰脏的18:2n-6含量降低94%。

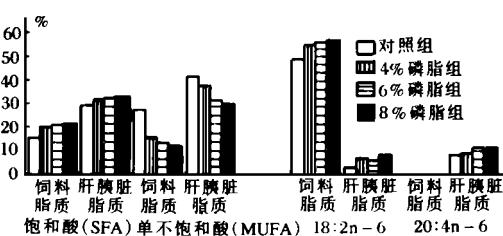


图1 饲料脂质和草鱼肝胰脏脂质的饱和(SFA)和单不饱和脂肪酸(MUFA)以及二种n-6系列脂肪酸

Fig. 1 Total saturated and monounsaturated fatty acids as well as 2 sorts of n-6 fatty acids in dietary lipids and grass carp hepatopancreas lipids

169%。四组饲料中没有测定到 $20:4n-6$, 但草鱼肝胰脏中该脂肪酸的含量较高, 占总脂肪酸的8%~12%, 并在6%和8%磷脂组与对照组之间出现显著差异(分别升高38%和36%)。

2.3 饲料磷脂与草鱼肝胰脏脂质n-3系列脂肪酸含量的关系

从图2左半部分可以看出, $18:3n-3$ 在三种添加大豆磷脂的饲料比对照饲料上升56%~73%, 但在相应草鱼肝胰脏脂质中下降30%~69%。 $n-3HUFA$ 的含量在对照饲料最高, 添加大豆磷脂的三种饲料降低, 但在相应三组试验草鱼肝胰脏脂质中则分别升高5%、26%和35%(图2右半部分)。

2.4 饲料磷脂对草鱼肝胰脏脂质脂肪酸比值的影响

图3左侧部分表明,MUFA/SFA比值在添加大豆磷脂的三组草鱼降低14%~36%。对于 $20:4n-6/18:2n-6$ 比值而言(图3中间部分), 以对照组为最高, 三组试验鱼分别下降50%、27%和46%。与此相反, $n-3$ 高度不饱和脂肪酸($n-3HUFA/18:3n-3$)比值(图3右侧部分)以对照组为最低, 三组摄食大豆磷脂的草鱼分别上升68%、121%和384%。

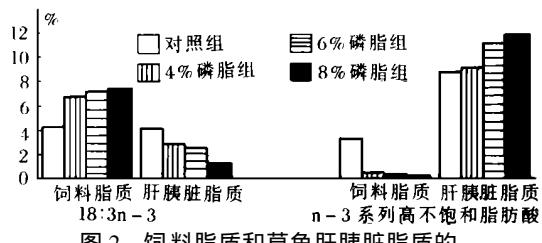


图2 饲料脂质和草鱼肝胰脏脂质的

$18:3n-3$ 和 $n-3$ 系列高度不饱和脂肪酸水平

Fig. 2 The level of $18:3n-3$ and $n-3$ highly

unsaturated fatty acids of dietary lipids

and grass carp hepatopancreas lipids

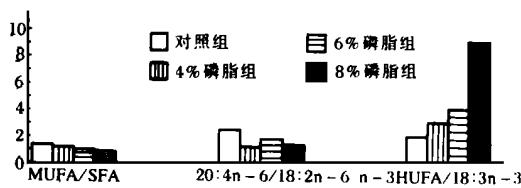


图3 草鱼肝胰脏脂质几种脂肪酸的比值

Fig. 3 The ratio of several fatty acids

in grass carp hepatopancreas lipids

3 讨论

实验采用5%苯甲基硅酮毛细管柱分析草鱼肝胰脏脂质的脂肪酸组成, 其结果与刘玉芳[1991]在草鱼的报道基本一致, 但其中多不饱和脂肪酸特别是 $18:3n-3$ 的百分含量在四组草鱼普遍较低。俞鲁礼和王锡昌[1994]曾提取和分析了草鱼内脏油脂, 在所列出的五种“重要脂肪酸”中, $18:2n-6$ 和 $18:3n-3$ 的含量较高, 而 $20:4n-6$ 、 $20:5n-3$ 和 $22:6n-3$ 的含量较低。这些差异的出现可能与所选用的试验鱼和饲养条件有关, 而与脂质提取和脂肪酸甲酯的制备方法关系不大。我们曾比较过三氟化硼催化法和甲醇钠直接法的结果, 表明二种酯化法所测定的脂肪酸组成基本一致。

饲料脂质可明显影响真鲷[Yone和Fujii 1975]、鲤[Watanabe等1975a,b]和高首鲟[Xu等1993]以及其它一些鱼类体脂的脂肪酸组成[Watanabe 1982]。本实验的对照饲料和三组试验饲料在组成上的唯一区别在于大豆磷脂的添加量不同, 从而使饲料脂质的含量和脂肪酸组成出现差异。当草鱼摄食这些饲料一段时间后, 对照组和试验组草鱼肝胰脏脂质的脂肪酸组成包括 $n-6$ 和 $n-3HUFA$ 含量出现一定程度的变化。这种现象表明, 象在其它已经作过研究的鱼类一样, 草鱼肝胰脏的脂肪酸组成与饲料脂质具有密切关系, 这对于通过饲料脂质改

善草鱼体脂的脂肪酸构成, 提高草鱼的营养价值将是有益的线索。

有关鱼类 n-3HUFA 生物合成及其调节的研究尚不深入。在哺乳动物, n-6 和 n-3HUFA 系通过一系列去饱和作用和碳链延长作用分别由 18:2n-6 和 18:3n-3 转化形成, 其中催化去饱和作用的酶类受许多因素(激素、营养、生理和病理因素)的影响[Brenner 1989]。在大菱鲆、虹鳟[Owen 等 1975, Yamada 等 1980, Hagve 等 1986, Linares 和 Henderson 1991]、银大麻哈鱼[Parker 等 1980]、鲷[Mourente 和 Tocher 1994] 和白斑狗鱼[Henderson 等 1995] 等鱼类也报道存在上述生物转化过程, 但海水鱼类转化 18:3n-3 为 HUFA 的能力很低, 其体内丰富的 n-3 HUFA 主要直接来源于它们的饵料。与此相反, 在已经得到研究结果的淡水鱼类, 18:2n-6 和 18:3n-3 均能够经过一系列的生化反应分别转化为 n-6 和 n-3 HUFA, 但其转化率低于哺乳动物, 并随鱼的种类不同而出现较大差异[Hagve 等 1986, Sargent 等 1989]。关于草鱼体内 18:3n-3 转化为 HUFA 的资料尚未见有报道。为此, 本文根据草鱼肝胰脏脂质脂肪酸组成的变化分析草鱼对 18:3n-3 的生物转化及其营养因素对其的初步影响。本实验的对照饲料和添加大豆磷脂三种饲料均有较高百分含量的 18:3n-3, 但 n-3 HUFA 仅在对照饲料较丰富, 而在三组试验饲料则很低(图 2 左)。当草鱼分别摄食这些饲料一段时间后, 肝胰脏脂质中均出现较高含量的 n-3 HUFA(图 2 右)。由于这些 HUFA 不可能完全直接来源于饲料脂质, 特别是在添加大豆磷脂的三组草鱼, 它们至少部分是以饲料中的 18:3n-3 作为前体在体内生物合成的。至于其转化过程和转化率, 则有待于通过 HUFA 生物合成的“体内”和“试管内”孵育加以了解。进一步比较四种饲料脂质和草鱼肝胰脏脂质的脂肪酸组成可以发现, 与对照饲料相比, 添加大豆磷脂饲料中 18:3n-3 含量升高, 而 n-3 HUFA 含量很低, 约为对照饲料的 10%。但在摄食这些饲料的草鱼肝胰脏脂质中, 情况恰好相反: 18:3n-3 含量降低而 n-3 HUFA 有所升高(图 2), 使三组试验鱼肝胰脏脂质中 n-3 HUFA/18:3n-3 比值明显高于对照组, 而且随磷脂添加量增加, 升高的幅度加大(图 3)。一般认为, 动物脂质特定脂肪酸含量可以间接反映 HUFA 生物合成过程中有关酶类的催化活性, 其中 n-3HUFA/18:3n-3 比值可以反映由 18:3n-3 生物合成 n-3 HUFA 过程中 Δ6 和 Δ5 等脂肪酸去饱和酶的活性。因此, 本实验添加磷脂三组草鱼肝胰脏脂质 n-3 HUFA/18:3n-3 比值的升高可能意味着大豆磷脂有促进草鱼体内 n-3 HUFA 生物合成的作用。另外, 本实验的四种饲料脂质均含有丰富的 18:2n-6, 但基本不含 20:4n-6。运用这些饲料分别饲养草鱼一段时间以后, 在添加大豆磷脂的三组草鱼肝胰脏脂质中, 20:4n-6/18:2n-6 的比值与对照组比较, 有较明显的降低(图 3), 说明了 18:2n-6 转化为 20:4n-6 的过程受到一定抑制。这可能反映了 18:3n-3 和 18:2n-6 对草鱼肝脏脂肪酸去饱和酶的竞争作用。在哺乳动物, Brenner[1977] 曾指出 Δ6 脂肪酸去饱和酶对 18:3n-3 的亲合力高于对 18:2n-6。在鲑鳟鱼类, Yu 和 Sinnhuber[1976, 1979] 也有类似报道。

4 结论

饲料中添加大豆磷脂可较明显影响草鱼肝胰脏脂质的脂肪酸组成, 特别是提高 n-3 系列高度不饱和脂肪酸的水平, 其作用机理尚有待深入研究。

本研究为国家自然科学基金项目(39470102)。本文承蒙中山大学鱼类研究室廖翔华教授审阅, 谨致谢意。

参 考 文 献

- 王渊源, 刘佳英, 孙微涛. 1991. 鱼虾需要的脂肪酸、胆固醇和磷脂. 水产学报, 15(2): 177~ 184.
- 刘玉芳. 1991. 中国5种淡水鱼类脂肪酸组成分析. 水产学报, 15(2): 169~ 171.
- 俞鲁礼, 王锡昌. 1994. 几种淡水鱼内脏油脂提取的工艺条件. 水产学报, 18(3): 199~ 204.
- Brenner R R. 1977. Regulatory function of $\Delta 6$ - desaturase, key enzyme of polyunsaturated fatty acids synthesis. *Adv Exp Med Biol*, 83: 85~ 101.
- Brenner R R. 1989. Factors affecting fatty acid chain elongation and desaturation. The role of fats in human nutrition (2nd edition, Viegroes A J and M A Crawford, eds), 45~ 80. Academic Press, San Diego, California.
- Hagve T A, Christophersen B O, Dannevig B H. 1986. Desaturation and chain elongation of essential fatty acids in isolated liver cells from rat and rainbow trout. *Lipids*, 21: 202~ 205.
- Henderson R J, Moria T, Sargent J R. 1995. The desaturation and elongation of ^{14}C - labelled polyunsaturated fatty acids by pike (*Esox lucius* L.) in vivo. *Fish Physiol Biochem*, 14: 223~ 235.
- Lin D, Mao YQ, Cai FS. 1990. Nutritional lipid liver disease of grass carp *Ctenopharyngodon idellus* (C et V). *Chin J Oceanol Limnol*, 8: 363~ 374.
- Linares F, Henderson R J. 1991. Incorporation of carbon - 14 - labelled polyunsaturated fatty acids by juvenile turbot, *Scophthalmus maximus* (L.) in vivo. *J Fish Biology*, 38: 335~ 348.
- Mourente G, Tocher D R. 1994. In vivo metabolism of (1- ^{14}C) linolenic acid (18 3(n- 3) and (1- ^{14}C) eicosapentaenoic acid (20 5(n- 3)) in a marine fish: Time course of the desaturation- elongation pathway. *Biochim Biophys Acta*, 1212: 109~ 118.
- Owen J M et al. 1975. Elongation and desaturation of dietary fatty acids in turbot *Scophthalmus maximus* and rainbow trout *Salmo gairdneri*. *Lipids*, 10: 528~ 531.
- Parker R S, Selivonchick D P, Sinnhuber R O. 1980. Turnover of labelled 1- ^{14}C linolenic acid in phospholipids of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Lipids*, 15: 80~ 85.
- Sargent J, Henderson R J, Tocher D R. 1989. The lipids. *Fish Nutrition* (2nd edition, Halver J E ed), 153~ 217. Academic Press, Inc, San Diego, New York etc.
- Watanabe T. 1982. Lipid nutrition in fish. *Comp Biochem Physiol*, 73B: 3~ 15.
- Watanabe T, Utsue O, Kobayashi I. 1975a. Effect of dietary methyl linoleate and linolenate on growth of carp I. *Bull Japan Soc Sci Fish*, 41: 257~ 262.
- Watanabe T, Utsue O, Kobayashi I. 1975b. Effect of dietary methyl linoleate and linolenate on growth of carp II. *Bull Japan Soc Sci Fish*, 41: 263~ 269.
- Xu RP, Hung SO, German J B. 1993. White sturgeon tissue fatty acid compositions are affected by dietary lipids. *J Nutri*, 123: 1685~ 1692.
- Yamada K, Kobayashi K, Yone Y. 1980. Conversion of linolenic acid to $\omega 3$ - highly unsaturated fatty acids in marine fishes and rainbow trout. *Bull Japan Soc Sci Fish*, 46: 1231~ 1233.
- Yone Y, Fujii M. 1975. Studies on nutrition of red bream XII effect of $\omega 3$ fatty acid supplement in a corn oil diet on fatty acid composition of fish. *Bull Japan Soc Sci Fish*, 41: 79~ 86.
- Yu T C, Sinnhuber R O. 1976. Growth response of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to dietary $\omega 3$ and $\omega 6$ fatty acids. *Aquac*, 8: 309~ 317.
- Yu T C, Sinnhuber R O. 1979. Effect of dietary $\omega 3$ and $\omega 6$ fatty acids on growth and feed conversion efficiency of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Aquac*, 16: 31~ 38.

EFFECT OF DIETARY SOYBEAN PHOSPHOLIPIDS ON FATTY ACID COMPOSITION OF GRASS CARP HEPATOPANCREAS LIPIDS

CAO Jun Min, LIN Ding, LAO Caì Ling, XUE Hua, PAN Qing, TIAN Li Xia

(Department of Biology, Zhongshan University, Guangzhou 510275)

ABSTRACT Grass carp, *Ctenopharyngodon idellus* (C. et V.), weighing about 15g, were fed on a control diet and on three treatment diets containing 4, 6 and 8% soybean phospholipids respectively. After a 52-day feeding trial, the fatty acid composition of hepatopancreas lipids was determined by gas-liquid chromatography. Compared with the control group fish, hepatopancreas lipids of the three treatment group fish fed on diets supplemented with soybean phospholipids showed a higher level of 18: 2n- 6 and a lower ratio of 20: 4n- 6/18: 2n- 6. On the contrary, the content of 18: 3n- 3 decreased by 30% ~ 69% and that of total n- 3 long chain ($C \geq 20$) highly unsaturated fatty acids (n- 3 HUFA: 20: 5n- 3, 22: 5n- 3 and 22: 6n- 3) increased, forming a markedly high ratio of n- 3 HUFA/ 18: 3n- 3. The results obtained in this experiment indicated that the supplement of soybean phospholipids to diets affected the fatty acid composition of hepatopancreas lipids in grass carp, and improved especially the level of total n- 3 highly unsaturated fatty acids.

KEYWORDS Fatty acid composition, Soybean phospholipids, Hepatopancreas, Grass carp