

文章编号: 1000-0615(2004)03-0285-07

牙鲆幼鱼对 EPA 和 DHA 的营养需求

薛 敏^{1,2}, 李爱杰¹, 张显娟¹

(1. 中国海洋大学水产动物营养研究室, 山东 青岛 266003; 2. 中国农业科学院饲料所水产动物营养室, 北京 100081)

摘要: 研究了 EPA 和 DHA 水平对牙鲆生长的影响, 饲料中含 0.5% EPA 和 1.0% ~ 1.5% DHA 能保证牙鲆幼鱼最适生长, 鱼体水分最低, 肝体指数最小, 脂肪含量有较大幅度提高, 肝脏极性脂中 EPA 和 DHA 达到最大积累; 在肝脏和肌肉的非极性脂部分, 各组间的脂肪酸组成没有显著变化, 而极性脂部分能体现出饲料中 n-3 HUFA 含量对鱼体脂肪酸组成的影响, 极性脂中的 EPA 和 DHA 含量远高于非极性脂; 在肌肉和肝脏的极性脂和非极性脂中都含有较高的 16:0 和 18:1n-9; 18:1n-9/n-3HUFA 可以作为必需脂肪酸满足程度的一个判据, 18:1n-9 值的升高往往是缺乏必需脂肪酸的表现, 在生长最佳时 18:1n-9/n-3HUFA 比值下降, 为 0.62 和 0.74。

关键词: 牙鲆; 幼鱼; 二十碳五烯酸; 二十二碳六烯酸; 营养需求

中图分类号: S963 文献标识码: A

Nutrient requirements for EPA and DHA by juvenile *Paralichthys olivaceus*

XUE Min^{1,2}, LI Ai-jie¹, ZHANG Xian-juan¹

(1. Fisheries Nutrition Laboratory, Ocean University of China, Qingdao 266003, China;

2. Aquaculture Nutrition and Feed Laboratory, Feed Research Institute, Chinese Academy of Agriculture Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: Juvenile Japanese flounders were fed with purified diets containing different levels of eicosapentaenoic acid (20:5n-3; EPA) and docosahexaenoic acid (22:6n-3, DHA) to determine the effects of the both fatty acids on fish growth performance. Combining the growth data with the analysis of fatty acid composition of muscle and liver, it was indicated that the optimum requirement for EPA and DHA are 0.5% and 1.0% - 1.5%, respectively. Under the conditions, the fish fed with diet 5 and diet 6 showed highest growth rate, lowest muscle moisture and HI, higher muscle lipid content and highest EPA, DHA accumulation in the polar lipid fraction of the liver. However, in the non-polar lipid fraction of the liver and muscle, the compositions of fatty acid showed no significant difference between the groups. So the contents of polar lipid fraction could indicate the effects of n-3 HUFA on fatty acid composition of fish muscle, and EPA, DHA contents in the polar fraction were much higher than those of non-polar fraction. Either in liver or in muscle, the contents of 16:0 and 18:1n-9 were quite high both in polar and non-polar lipid fraction. So the ratio of 18:1n-9 and n-3 HUFA could determine if the diet EPA contents could meet the requirements. The ratio will reduce when fish grows well, in the present experiment, the fish fed diet 5 and diet 6 showed lowest 18:1n-9/n-3HUFA, they were 0.62 and 0.74, respectively.

Key words: *Paralichthys olivaceus*; juvenile; EPA; DHA; nutrient requirement

收稿日期: 2002-12-09

资助项目: 山东省科委资助(951627)和北京市科委资助(H012010330113)

作者简介: 薛 敏(1972-), 女, 山西大同人, 博士, 从事鱼类营养学与生理学的研究。Tel: 010-68975845, E-mail: xuemin@21cn.com

脂类在鱼类营养中占据重要地位, 它主要供给机体能量及提供必需脂肪酸(essential fatty acids; EFA), 与鱼类的生长繁殖、神经系统的发育和功能、视觉、信号传递、膜结构的关系都很密切。Bell 等^[1]曾对多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids; PUFA)在鱼体内的作用进行了详尽论述。近十几年来, 对于海水鱼类脂类营养的研究, 多半集中于 n-3 系列高度不饱和脂肪酸(n-3 highly unsaturated fatty acids; n-3HUFA)的需求及其对鱼类生理功能的影响。研究表明, 海水鱼类在正常生长过程中需要 n-3HUFA^[1,2], 海洋生物中的 n-3HUFA 主要是二十碳五烯酸(20:5 n-3, eicosapentaenoic acid; EPA)和二十二碳六烯酸(22:6n-3, docosahexaenoic acid; DHA)。DHA 和 EPA 在生物膜的磷脂部分起着极其重要的作用, 因此被认定为很多海水鱼类的必需脂肪酸^[3,4]。普遍认为, EPA 和 DHA 在保证膜的通透性、流动性和弹性及酶活性、前列腺素和白三烯的产生中具有重要作用, 但作用机制尚不清楚^[1]。对于牙鲆必需

脂肪酸需求的研究, Kanazawa 等^[5]曾使用卤虫及人工微颗粒饲料对其幼体进行养殖实验, 得出牙鲆幼体对于饲料中 DHA 的需求量为 1%, 并且在用含 3% n-3 系列高度不饱和脂肪酸的卤虫饲喂时生长最佳。本研究拟通过设置饲料中不同 EPA 和 DHA 水平, 获得保证牙鲆幼鱼得到最佳生长速率的 EPA 和 DHA 含量, 同时对鱼体脂肪和水分含量的变化和牙鲆肌肉、肝脏脂肪酸组成进行分析, 以比较饲料中 EPA 和 DHA 的必需脂肪酸效率(essential fatty acid efficiency)。

1 材料和方法

1.1 实验饲料

使用纯化饲料, 以酪蛋白、明胶(4:1)为蛋白源的基础饲料, 脂肪源为精炼大豆油(不含 EPA、DHA)、鱼油(EPA 含量 17%, DHA 含量 9%), 以及高纯度 EPA、DHA(纯度 99%, 山东禹王集团提供)。饲料配方及 EPA、DHA 配比见表 1, 实验用饲料的制备同张显娟等^[6]。

表 1 实验饲料配方及饲料脂肪酸组成

Tab. 1 Formulation and fatty acid compositions of the experimental diets

原料 material	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	%
酪蛋白 casein	44	44	44	44	44	44	44	44	44	44	
明胶 gelatin	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	
糊精 dextrin	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	
维生素 vitamin premix	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
矿物质 mineral premix	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
氯化胆碱 choline chloride	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	
羧甲基纤维素 carboxymethyl cellulose	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
褐藻胶 algin	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	
胆固醇 cholesterol	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
沸石 zeolite	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
鱼油 fish oil				2.9	2.9	2.9	2.9	1.18	4.71	5.88	
豆油 soy oil	9	8	8.5	5.86	5.36	4.86	4.36	6.93	3.71	2.65	
EPA			0.5								
DHA		1		0.24	0.74	1.24	1.74	0.89	0.58	0.47	
饲料脂肪酸分析 fatty acid composition of diets											
16:00	1.0	0.9	1.0	1.3	1.2	1.2	1.1	1.0	1.4	1.6	
16:1n-7	0.0	0.0	0.0	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1	0.4	0.5	
18:00	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	
18:1n-9	2.5	2.2	2.4	2.0	1.9	1.7	1.6	2.1	1.7	1.5	
18:2n-6	5.1	4.5	4.8	3.3	3.1	2.8	2.5	3.9	2.1	1.6	
18:3n-3	0.1	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1	0.3	0.3	
20:4n-6				0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.3	
20:5n-3			0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.2	0.8	1.0	
22:5n-3				0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	
22:6n-3		1.0		0.5	1.0	1.5	2.0	1.0	1.0	1.0	
n-3HUFA	/	1.0	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	1.2	1.8	2.1	
18:1n-9/n-3HUFA	/	1.9	3.9	1.8	1.1	0.8	0.6	1.5	0.8	0.7	

注: 营养素水平设计及混合维生素、矿物质组成同文献[5, 6]

Notes: nutrients level and mixed vitamins and minerals were calculated based on references[5, 6]

1.2 实验方法

实验用鱼及养殖实验 实验牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*) 由蓬莱市鱼类养殖试验场提供, 挑选体质健壮、食欲旺盛的个体作为实验材料, 鱼体初重 12.94 ± 0.16 g。实验开始先以不含 EPA 和 DHA 的 1 号饲料投喂 7d, 以降低实验鱼体内的 n-3HUFA 水平。然后随机分成 10 组, 每组 3 个平行, 每个平行 40 尾牙鲆, 放养于添加过滤天然海水的 0.25m^3 玻璃钢桶中, 分别饲以 1~10 号饲料, 喂养 30d。每日于 7:30、12:30 和 17:30 投喂 3 次, 每次投喂后及时清除残饵和粪便, 并换水 2/3, 24h 充气, 实验期间水温为 $21 \sim 24^\circ\text{C}$ 。

取样和分析 实验开始时进行鱼体脂肪含量和水分含量分析, 并取 30 尾鱼称重后移取肝脏和肌肉, 称重和进行脂肪酸分析, 计算肝体指数 (hepatosomatic index, HI)。实验进行 7d (饲以 1 号饲料) 后, 重复上述工作。实验结束后保存每组所有鱼进行同样工作。

鱼体脂肪以氯仿-甲醇 (2:1) 提取^[7], 以硅胶柱层析方法分离极性脂 (polar lipid, PL) 与非极性脂 (neutral lipid, NL)^[8], 用无水甲醇甲酯化后使用气相色谱仪 (日本岛津 GC-14A 型) 分析样品中极性脂和非极性脂的脂肪酸组成, 标准品购自 Sigma Chemical Co., St Louis, MO)。

计算及统计分析 肝体指数 (HI) = 鱼的肝重 / 鱼体重量

数据作一元方差分析 (one-way analysis of variance) 和 Tukey 氏多重比较法进行分析。所有

统计分析在 Statistica 5.0 for Windows 环境下进行。

2 结果和讨论

2.1 EPA 和 DHA 水平对牙鲆生长的影响

养殖实验结束时牙鲆生长及存活情况见表 2。实验过程中发现, 虽然投喂不含 EPA 和 DHA 的 1 号饲料的牙鲆无明显的高死亡率及其他必需脂肪酸缺乏症, 但鱼体极为瘦弱。由表 3 也可以发现, 1 组增重率最低, 仅为 42.59%。5 组 (EPA0.5%, DHA1.0%) 和 6 组 (EPA0.5%, DHA1.5%) 增重率最高, 分别为 119.67% 和 113.31%, 与其它组之间差异极为显著 ($P < 0.01$)。4、7、8、9、10 组次之, 增重率在 70.11% 至 82.72% 之间, 其中 4、9 组略高于其他三组。2、3 组分别缺乏 EPA 和 DHA, 增重率较低, 为 59.14% 和 55.72%。因此, 从增重率方面说明饲料中的 EPA 和 DHA 都是牙鲆正常生长所必需的, 缺乏任何一种都会显著影响生长。

许多研究都证明, 缺乏 n-3HUFA 或缺少 EPA 和 DHA 二者之一的饲料都有可能会导致鱼体生长缓慢、食欲不振、死亡率高、活力差等^[4,9]。但在本实验结果中, 投喂不同 EPA 和 DHA 含量饲料的实验组间存活率无显著差异。可能与本实验中牙鲆个体健康, 水质条件及饲养管理较为严格有关, 从而对必需脂肪酸的缺乏具有较大的耐受性。Kanazawa^[5] 也曾发现牙鲆仔鱼在饲以只含有很低 n-3HUFA 水平的卤虫时仍能存活较长时间。牙鲆幼鱼是否能够承受更长时间的无 EPA 和/或 DHA 饲料还需进一步研究。

表 2 试验期间鱼体增重及存活率 (平均值 ± 标准差)

Tab. 2 Results of growth and survival during the experiment (Mean ± SE)

饲料号 diet No.	平均初重 (g) initial body weight	平均末重 (g) final body weight	增重率 (%) weight gain rate	存活率 (%) survival
1	13.08 ± 0.14	18.64 ± 0.22	42.59 ± 2.57 ^a	72.71 ± 2.05
2	13.63 ± 0.09	21.68 ± 0.31	59.14 ± 1.25 ^b	74.71 ± 1.92
3	12.72 ± 0.11	19.81 ± 0.37	55.72 ± 2.73 ^b	75.88 ± 3.74
4	12.91 ± 0.12	23.45 ± 0.49	81.48 ± 1.99 ^f	73.57 ± 4.95
5	12.34 ± 0.24	27.11 ± 1.02	119.67 ± 3.46 ^d	72.54 ± 3.02
6	12.33 ± 0.23	26.29 ± 0.42	113.31 ± 7.32 ^d	78.09 ± 4.58
7	12.65 ± 0.27	21.82 ± 0.33	73.57 ± 1.42 ^{ce}	74.89 ± 4.27
8	12.77 ± 0.11	22.62 ± 0.19	77.20 ± 2.03 ^{de}	74.29 ± 3.94
9	13.91 ± 0.20	25.56 ± 0.05	83.72 ± 1.45 ^f	77.36 ± 3.45
10	13.10 ± 0.13	22.22 ± 0.34	70.11 ± 4.02 ^{ce}	70.92 ± 3.41

注: 各列不同字母表示各组差异显著

Notes: treatments means with the different letter in the same line are significantly different from each other

2.2 EPA、DHA 及其水平对于鱼体成分的影响

实验前后鱼体总脂含量及水分、肝体指数的变化见表 3。鱼类在快速生长时,常表现出鱼体肌肉总脂含量的增加和水分的下降^[10],投喂不含 EPA 和 DHA 的饲料 7d 后,肌肉水分由 80.12% 升至 84.72%,脂肪含量显著降低,肝体指数显著升高,由 3.8% 急剧升至 5.6%。说明牙鲆对饲料中必需脂肪酸,特别是对 EPA 和 DHA 的含量极为敏感。这一结果与对真鲷 (*Pagrus major*) 中的研究结果相吻合^[4]。开始投喂 1~10 组饲料后,肌肉水分有不同程度下降,但差异不显著,脂肪含量回升,肝体指数也开始下降。由总脂的变化可以得出,饲料中 EPA 和 DHA 的存在使得肌肉脂肪总量有所

增加,基本的趋势是 EPA、DHA 含量增加,则总脂含量随之升高,6~10 饲料组的鱼体脂肪含量显著高于其它组。由此可见,牙鲆在较好的生长情况下,肌肉水分和肝体指数较低,而脂肪含量相对较高。缺乏 EPA 和/或 DHA 的 2、3 组的生长及鱼体成分结果正好相反。由短期投喂无 EPA 和 DHA 饲料而造成的肝体指数升高,在以后的实验阶段通过补充 EPA 和 DHA 得到一定改善,如 5、6 组甚至低于实验初的水平。但并不是摄入高水平的 EPA、DHA 就可保证能够达到最佳生长情况。一般只有生长良好的鱼类才表现出肌肉总脂的升高、水分和肝体指数的降低。鱼类的生长效果,很明显与饲料的 EPA 和 DHA 的适宜含量和比例密切相关。

表 3 实验前后鱼体肌肉总脂、水分及肝体指数变化(平均值±标准差)

Tab. 3 Total lipid and moisture contents of fish muscle and HI before and after the experiment (Mean ± SE)

实验阶段 experiment period	肌肉总脂含量 (% dry matter) total lipid in muscle	水分 (%) moisture	肝体指数 (%) hepatosomatic index
实验前 before exp.	20.36 ± 0.34 ^{ad}	80.12 ± 0.61	3.81 ± 1.02 ^{ac}
实验后 7d 7d after exp.	15.73 ± 0.47 ^b	84.72 ± 1.06	5.62 ± 0.81 ^b
1	17.21 ± 0.59 ^{bc}	82.54 ± 1.43	5.24 ± 0.91 ^{ab}
2	16.48 ± 0.43 ^{bc}	83.58 ± 1.65	4.77 ± 0.56 ^{ab}
3	18.21 ± 0.74 ^{ab}	81.94 ± 1.18	4.25 ± 0.78 ^{abc}
4	18.87 ± 0.90 ^{ac}	80.05 ± 1.05	4.02 ± 0.63 ^{ac}
实验结束 end of exp.	22.35 ± 0.47 ^d	76.42 ± 0.45	3.24 ± 0.52 ^e
5	23.86 ± 1.05 ^e	75.89 ± 0.86	3.19 ± 0.67 ^e
6	25.34 ± 1.75 ^e	79.42 ± 1.54	3.88 ± 0.54 ^{ac}
7	23.42 ± 0.87 ^e	80.02 ± 1.73	3.97 ± 0.87 ^{ac}
8	23.86 ± 0.97 ^e	81.54 ± 1.32	4.30 ± 0.42 ^{abc}
9	23.45 ± 0.17 ^e	80.41 ± 1.67	4.11 ± 0.80 ^{ac}
10			

注:表中各列不同字母表示各组差异显著

Notes: treatments means with the different letter in the same line are significantly different from each other

2.3 EPA、DHA 对肝脏和肌肉脂肪酸组成的影响

牙鲆实验前后肌肉、肝脏中极性和非极性脂的脂肪酸组成见表 4 和表 5。牙鲆幼鱼肌肉和肝脏的脂肪酸组成中都含有较高的 16:0 和 18:1n-9,与对真鲷和灰鲮 (*Mugil cephalus*) 组织脂肪酸分析的结果类似(表 4、5)^[4,11],说明 16:0 和 18:1n-9 可能是可以选择性进入磷脂的首要非 PUFA。在海水鱼类的组织脂肪酸组成中,18:1n-9 的升高往往是缺乏必需脂肪酸的表现,并且 18:1n-9/n-3HUFA 可以作为必需脂肪酸满足程度的一个判据^[2,4]。本实验中,投喂 1、2、3 号饲料的牙鲆肝脏极性脂中 18:1n-9 由初始的 28.35% 分别升至 38.

24%, 40.32% 和 35.76%, 并且 18:1n-9/n-3HUFA 远远大于 1(表 5),说明必需脂肪酸需求没有得到满足。在生长最佳的 5、6 组,这一比值有所下降,分别为 0.74 和 0.62。进一步说明 EPA 和 DHA 都是牙鲆生长所必需的,缺一不可。为了进一步说明饲料脂肪酸组成对牙鲆肌肉和肝脏中脂肪酸组成的影响,对其进行了相关性统计分析(表 6)。

在肝脏和肌肉的非极性脂部分与极性脂部分相比较,各组间的脂肪酸组成变化规律较为一致。从表 6 中可以看出,饲料中脂肪酸组成对鱼体肌肉和肝脏中极性脂的影响较为显著。

表 4 牙鲆肌肉中非极性脂和极性脂的脂肪酸组成

Tab. 4 Fatty acid composition of Neutral and polar lipid fraction from the muscle

脂肪酸 fatty Acid	实验前 before exp.	实验 7d 后 7d after exp.	实验后 after the exp.										
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
16:0	NL	19.86	20.34	21.45	20.98	22.74	23.96	20.58	21.79	23.42	22.95	21.87	20.99
	PL	29.42	30.71	31.12	28.74	29.64	30.12	28.74	29.58	28.96	29.13	29.48	30.14
18:1n-9	NL	27.42	36.41	36.92	35.84	32.17	30.81	28.72	29.45	30.13	28.72	29.17	28.12
	PL	34.56	39.42	38.71	36.45	37.32	34.05	30.28	31.12	33.79	34.29	34.72	33.99
18:2n-6	NL	0.52	0.61	0.72	0.81	0.56	0.73	0.42	0.59	0.60	0.74	0.83	0.55
	PL	0.51	0.37	0.42	0.38	0.45	0.60	0.65	0.49	0.39	0.47	0.54	0.50
18:3n-3	NL	0.67	0.58	0.49	0.59	0.60	0.71	0.68	0.73	0.61	0.58	0.47	0.62
	PL	0.32	0.26	0.17	0.52	0.19	0.27	0.29	0.38	0.42	0.23	0.31	0.33
20:4n-6	NL	1.04	0.98	1.15	1.02	1.43	0.19	1.08	1.32	1.29	1.18	1.52	1.27
	PL	0.34	0.13	0.01	TR	TR	TR	0.03	0.02	TR	TR	TR	TR
20:5n-3	NL	4.25	2.37	2.41	2.29	3.12	3.25	4.01	4.27	4.31	4.09	4.12	3.97
	PL	9.72	8.52	8.73	9.01	8.94	9.58	10.62	10.03	9.01	8.72	8.94	9.17
22:4n-6	NL	0.12	0.10	0.09	0.09	0.12	0.11	0.08	0.11	0.21	0.20	0.18	0.15
	PL	0.12	0.08	0.04	TR	TR	TR	TR	TR	TR	TR	TR	TR
22:5n-3	NL	1.02	0.81	0.92	0.94	0.89	0.79	0.99	0.87	1.05	0.96	0.88	1.02
	PL	2.38	2.12	2.27	2.34	2.38	2.17	2.48	2.94	2.42	1.97	2.29	2.34
22:6n-3	NL	7.03	5.02	4.98	4.23	5.76	6.21	6.32	7.05	6.13	6.24	5.97	6.09
	PL	14.58	12.13	12.00	14.42	11.38	12.96	14.04	14.98	15.04	14.12	14.49	14.53
Σn-3	NL	12.97	8.78	8.80	8.05	10.37	10.96	12	12.92	12.10	11.87	11.44	11.70
	PL	27.00	23.03	23.17	23.29	22.89	24.98	27.43	28.33	26.89	25.04	26.03	26.37
Σn-6	NL	1.68	1.69	1.96	1.92	2.11	1.03	1.58	2.02	2.10	2.12	2.53	1.97
	PL	0.97	0.58	0.47	0.38	0.45	0.60	0.68	0.51	0.39	0.47	0.54	0.50
n-3HUFA	NL	12.37	8.20	8.31	7.46	9.77	10.25	11.32	12.19	11.49	11.29	10.97	11.80
	PL	26.68	22.77	23.00	22.77	22.70	24.71	25.85	27.95	26.47	24.81	25.72	26.04
18:1n-9 n-3HUFA	NL	2.23	4.44	4.44	4.80	3.29	3.01	2.54	2.42	2.62	2.54	2.66	2.38
	PL	1.30	1.73	1.68	1.60	1.64	1.38	1.17	1.11	1.28	1.38	1.35	1.25

注: TR 为痕量

Notes: TR means trace, < 0.01.

另外,表 4 和表 5 中显示,极性脂中 EPA、DHA 含量远高于非极性部分,而 18:1n-9 的含量较非极性部分低,特别是在肝脏中,极性脂中的 18:1n-9 显著低于非极性脂中的含量,说明极性部分更能体现饲料中 n-3HUFA 含量对鱼体脂肪酸组成的影响。另外, n-3HUFA 对肝脏中的极性脂的影响更明显(表 6),导致脂肪酸含量发生较大幅度的变化,而肌肉中的大部分脂肪酸组分相对比较稳定。例如在投喂不含 n-3HUFA 的饲料 7d 后,肝脏极性脂和非极性脂中的 EPA 和 DHA 显著下降, EPA 分别由 8.59% 下降到 2.98%, 1.92% 下降到 0.37%、DHA 分别由 19.27% 到 3.46%, 1.78% 到 0.62%。而肌肉中的变化幅度相对较小, EPA 只是由 9.72% 降到 8.52%, 4.25% 到 2.37%、DHA 由

14.58% 到 12.31%, 7.03% 到 5.02%。

投喂缺乏 EPA 和 DHA 的饲料 7d 后,再分别饲以 1 至 10 号饲料,除第 1 组外,其它组实验鱼在肌肉和肝脏中降低的 EPA 和 DHA 含量都有一定回升。在仅含有 0.5% EPA 的第 3 组,肝脏极性脂中 EPA 和 22:5n-3 分别由 2.98% 回升到 10.34% 和由 2.07% 到 5.04%,但 DHA 增加的幅度很小;同样在只含 1.0% DHA 的第 2 组,表现为 DHA 升高,而 EPA 和 22:5n-3 几乎没有变化。这一点似乎符合一个已经被公认的事实:在海水鱼体内, EPA 可以转化为 22:5n-3,但不能或极少转化为 DHA; DHA 也不能转化为 EPA 和 22:5n-3^[4,12]。这可能是源于海水鱼类缺乏 $\Delta 4$ 去饱和酶或其酶活性极低的缘故^[13,14]。

表 5 牙鲆肝脏中性脂的脂肪酸组成

Tab. 5 Fatty acid composition of polar and non-polar lipid fraction from the liver %

脂肪酸 Fatty Acid	实验前 before exp.	实验 7d 后 7d after exp.	实验后 after the experiment										
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
16:0	NL	24.86	23.97	22.45	23.72	24.19	25.03	24.98	23.94	25.42	25.99	24.87	23.99
	PL	22.24	22.65	21.47	20.58	26.02	24.06	26.71	23.25	24.51	21.87	23.02	20.99
18:1n-9	NL	48.92	57.49	59.32	50.46	51.99	48.76	49.29	49.36	50.37	51.02	50.98	51.72
	PL	28.35	46.30	38.24	40.32	35.76	33.42	28.79	27.32	32.49	30.94	31.79	32.78
18:2n-6	NL	0.31	0.49	0.58	0.52	0.42	0.39	0.38	0.41	0.44	0.59	0.27	0.35
	PL	3.17	5.64	5.13	3.45	4.27	3.98	4.59	3.97	4.36	5.01	4.79	4.33
18:3n-3	NL	0.45	TR	TR	TR	TR	TR	0.32	0.19	TR	TR	TR	TR
	PL	0.70	0.25	0.23	0.25	0.31	0.26	0.11	0.14	0.30	0.32	0.37	0.28
20:4n-6	NL	0.42	TR	TR	0.15	0.11	TR	TR	TR	TR	TR	TR	TR
	PL	2.94	2.03	1.95	1.89	1.45	1.73	1.62	1.74	1.92	1.68	1.83	1.84
20:5n-3	NL	1.92	0.37	0.28	0.39	0.82	1.47	1.99	1.84	1.98	1.45	1.32	1.1
	PL	8.59	2.98	1.42	2.31	10.34	11.95	12.42	14.43	12.96	9.47	11.67	12.89
22:4n-6	NL	0.15	0.07	TR	TR	TR	TR	TR	TR	TR	TR	TR	TR
	PL	0.35	0.41	0.50	0.36	0.41	0.39	0.37	0.42	0.37	0.52	0.39	0.48
22:5n-3	NL	0.32	0.05	TR	TR	TR	TR	TR	TR	TR	TR	TR	0.25
	PL	4.95	2.07	1.99	1.24	5.04	5.23	5.98	6.19	4.94	5.37	5.89	6.02
22:6n-3	NL	1.78	0.62	0.51	0.81	0.60	0.71	1.42	1.50	1.09	1.21	1.37	1.08
	PL	19.27	3.46	2.09	20.91	4.23	15.26	20.39	22.94	19.98	21.49	20.83	21.52
Σn-3	NL	4.47	1.04	0.79	1.20	1.68	2.33	4.02	3.74	3.07	2.78	2.86	2.52
	PL	33.51	8.76	5.73	24.71	19.92	32.70	38.90	43.70	38.18	36.65	38.76	40.71
Σn-6	NL	0.88	0.56	0.58	0.67	0.53	0.39	0.38	0.41	0.44	0.59	0.27	0.53
	PL	6.46	8.08	7.58	5.70	6.13	6.10	6.58	6.13	6.65	7.21	7.01	6.65
n-3HUFA	NL	4.02	1.04	0.79	1.20	1.68	2.33	3.70	3.55	2.07	2.78	2.86	2.52
	PL	32.81	8.51	5.50	24.46	19.61	32.44	38.97	43.56	37.88	36.33	38.39	40.43
18:1n-9 n-3HUFA	NL	12.17	55.28	75.09	42.05	30.95	20.93	13.32	13.90	24.33	18.35	17.83	20.52
	PL	0.86	5.44	6.59	1.65	1.82	1.03	0.74	0.62	0.86	0.85	0.83	0.81

表 6 饲料脂肪酸组成与肌肉和肝脏脂肪酸组成的相关关系

Tab. 6 Correlation coefficients among dietary fatty acids and neutral and polar lipids of muscle and liver of groups

脂肪酸 fatty acid	肌肉 muscle		肝脏 liver	
	NL	PL	NL	PL
18:1n-9	0.76*	0.70*	0.56	0.64*
EPA	0.66*	0.24	0.06	0.80*
DHA	0.4	0.93*	0.72*	0.74*
n-3HUFA	0.62*	0.62*	0.40	0.82*
18:1n-9/n-3HUFA	0.48	0.81*	0.54	0.87*

注: * 表示显著相关($P < 0.05$)Notes: * correlation at significant level ($P < 0.05$)

Kanazawa^[5]曾猜测 EPA 对于牙鲆仔鱼的发育有可能比 DHA 更重要的作用。但鱼类在不同发育阶段对于必需脂肪酸的需求以及不同脂肪酸对其重要程度是会发生很大变化的^[13]。本研究通过对牙鲆不同组织脂肪酸组成的分析,也没有发现 EPA 和 DHA 二者有优于对方的作用。它们对鱼体组织脂肪酸组成的影响若排除最适需要量的不同,

作用几乎同等,二者均必不可少,也不能相互替代与转化。牙鲆肝脏极性脂中 EPA 和 DHA 的最大积累(14.43%和 22.94%)都在第 6 组得到,其次为第 5 组。继续增加饲料中 EPA 和 DHA 含量(第 7 组),二者在体内的积累并不随之增加。综合各组增重率、总脂和水分含量、肝体指数,可以得出,饲料中 0.5% EPA 和 1.0% ~ 1.5% DHA 含量即能

保证牙鲆稚鱼最适生长,二者缺一不可,并且未发现 EPA 和 DHA 在必需脂肪酸效率上的显著差别。由于不饱和脂肪酸的组成和含量直接影响生物膜的流动性,各种不饱和脂肪酸的熔点不同, EPA 和 DHA 的熔点在 n-3HUFA 中是最低的^[1],所以鱼类对 n-3HUFA 的需求与其生长的温度有直接关系,在不同温度下,牙鲆对 n-3HUFA 的需求需进一步研究。

参考文献:

- [1] Bell M V, Henderson R J, Sargent J R. The role of polyunsaturated fatty acids in fish[J]. *Comp Biochem Physiol*, 1986, 83B: 711- 719.
- [2] Sargent J R, Tocher D R, Bell J G. The lipids[M]. In: J E Halver (Ed.), *Fish Nutrition* (2nd ed). London: Academic Press, 2002. 181- 257.
- [3] Tago A, Yamamoto Y, Teshima S, *et al.* Effects of 1, 2- di- 20: 5- phosphatidylcholine (PC) and 1, 2- di- 22: 6- PC on growth and stress tolerance of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) larvae [J]. *Aquac*, 1999, 179: 231- 239.
- [4] Takeuchi T, Toyato M, Satoh S, *et al.* Requirement of juvenile red sea bream *Pagrus major* for eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid[J]. *Bull Jap Soc Sci Fish*, 1990, 56: 1263 - 1269.
- [5] Kanazawa A. *Nutrition and feeding in fish* [M]. London: Academic Press, 1985, 281- 298.
- [6] Zhang X J, Li A J, Xue M. Study on the requirement of juvenile *Paralichthys olivaceus* for protein, fat and carbohydrate[J]. *J Shanghai Fish Univ*, 1998, 7(suppl.): 98- 103. [张显娟, 李爱杰, 薛 敏. 牙鲆稚鱼对蛋白质、脂肪及碳水化合物营养需求的研究[J]. 上海水产大学学报, 1998, 7(增刊): 98 - 103.]
- [7] Folch J, Lees M, Stanley G H S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues [J] . *J Biol Chem*, 1957, 226: 497- 509.
- [8] Stein G, Smith J. *Phospholipids: Introduction to lipid separation methods. Techniques in Lipid and Membrane Biochemistry* [M]. Elsevier, North Holland Scientific Publishers, 1982. B403: 1- 15.
- [9] Ibeas C, Izquierdo M S, Lorenzo A. Effect of different levels of n - 3 highly unsaturated fatty acids on growth and fatty acid composition of juvenile gilthead seabream (*Sparus aurata*) [J]. *Aquac*, 1994, 127: 177- 188.
- [10] Koven W M, Tandler A, Kissil G, *et al.* The importance of n- 3 highly unsaturated fatty acids for growth in larval *sparus aurata* and their effect on survival, lipid composition and size distribution [J]. *Aquac*, 1992, 104: 91- 104.
- [11] Argyropoulou V, Kalogeropoulos N, Alexis M N. Effect of dietary lipids on growth and tissue fatty acid composition of grey mullet (*Mugil cephalus*) [J]. *Comp Biochem Physiol*, 1992, 101A(1): 129- 135.
- [12] Watanabe T, Takeuchi T, Arakawa T, *et al.* Requirements of juvenile striped jack (*Longirostris delicatissimus*) for n- 3 highly unsaturated fatty acids [J]. *Bull Jap Soc Sci Fish*, 1989, 55: 1111- 1117.
- [13] Linares F, Henderson R J. Incorporation of ¹⁴C - labelled polyunsaturated fatty acids by juvenile turbot, *Scophthalmus maximus* L. *in vivo* [J]. *J Fish Biol*, 1991, 38: 335- 347.
- [14] Mourente G, Tocher D R. The effects of weaning on to a dry pellet on brain lipid and fatty acid compositions in post-larval gilthead seabream (*Sparus aurata*) [J] . *Comp Biochem Physiol*, 1993, 104A: 605- 611.