

亚麻籽油替代鱼油对大菱鲆幼鱼生长、 脂肪酸组成及脂肪沉积的影响

彭 墨¹, 徐 玮², 麦康森¹, 张彦娇¹,
周慧慧¹, 谭 朋¹, 杜建龙¹, 艾庆辉^{1*}

(1. 中国海洋大学海水养殖教育部重点实验室,农业部海水养殖重点实验室,山东 青岛 266003;

2. 中国海洋大学食品科学与工程学院,山东 青岛 266003)

摘要:为研究亚麻籽油替代不同鱼油水平对大菱鲆幼鱼[初始体质量为(5.89±0.02)g]生长、脂肪酸组成以及肝脏和肌肉脂肪沉积的影响,以亚麻籽油分别替代0、33.3%、66.7%和100%鱼油,配制4种等氮等脂饲料。每组饲料随机投喂3组实验鱼,饱食投喂,养殖周期为92 d。结果发现,饲料亚麻籽油水平并未显著影响大菱鲆幼鱼存活率(SR)和特定生长率(SGR),但显著影响其摄食率(FI)、饲料效率(FE)和表观净蛋白利用率(ANPU)。随饲料亚麻籽油水平升高,FI显著升高,而FE和ANPU显著下降,且其均在100%亚麻籽油组分别达到最大值或最小值。饲料亚麻籽油水平并未显著影响大菱鲆饲料脂肪表观消化率、肝体比和肌肉脂肪含量。当饲料中亚麻籽油替代100%鱼油,鱼体肝脏脂肪含量显著高于全鱼油组。肝脏和肌肉脂肪酸组成与饲料脂肪酸组成相似。相对于全鱼油组,亚麻籽油替代组肌肉和肝脏中亚油酸和亚麻酸显著升高,而EPA和DHA含量显著下降。研究表明,大菱鲆饲料中亚麻籽油替代水平应低于66.7%,且大菱鲆饲料中n-3长链多不饱和脂肪酸含量需大于0.8%。

关键词:大菱鲆; 亚麻籽油; 鱼油; 脂肪酸; 脂肪沉积

中图分类号: S 963

文献标志码: A

鱼油资源的短缺和价格的飞涨已严重制约了水产养殖业的快速发展。因此,寻找合适的替代脂肪源势在必行。植物油因具稳定供应、相对低的二噁英含量、较高可获得性以及较高不饱和脂肪酸含量等优点,已成为极具潜力的鱼油替代者。相对于其他植物油,亚麻籽油富含亚麻酸具有降血脂的生理功能^[1],是水产饲料潜在的优质脂肪源。淡水鱼具有将亚麻酸转化为n-3长链多不饱和脂肪酸(n-3 long chain-polyunsaturated fatty acid, n-3 LC-PUFA, 如EPA和DHA)的能力,进而降低对饲料n-3 LC-PUFA的依赖性。但除篮子鱼^[2]外,海水鱼几乎都不能将亚麻酸转化为n-3 LC-PUFA,需要在饲料中补充更多的n-3 LC-PUFA。因此开展海水鱼饲料中植物油替代鱼油研究是至关重要的。目前,有研究

表明亚麻籽油部分替代鱼油并未显著影响鱼体生长和饲料利用^[3-6],但亚麻籽油全部替代鱼油对鱼体生长和品质会产生显著影响,如生长下降、腹腔或肝脏脂肪过多沉积^[7]、肌肉中n-3 LC-PUFA含量显著下降^[8-9]等。鱼肉中丰富的n-3 LC-PUFA是人类消费鱼产品的直接动机。人类摄食高含量n-3 LC-PUFA鱼肉后会对人体健康产生积极的影响,如抑制心脏病的发生和降低炎症反应的发生^[10]。因此,对植物油替代鱼油效果的衡量不仅需关注鱼体的生长和饲料利用,还需关注鱼体肝脏健康和肌肉n-3 LC-PUFA含量。

大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)隶属鲆形目(Pleuronectiformes)、鲆科(Bothidae),俗称“多宝鱼”;因其美味的肉质、快速生长的特性及较高的经

收稿日期:2014-04-19 修回日期:2014-05-18

资助项目:国家鲆鲽类产业技术体系(CARS 50-G08)

通信作者:艾庆辉,E-mail:qhahai@ouc.edu.cn

济价值,在亚洲和欧洲被广泛养殖。目前大菱鲆已成为中国北方重要的经济养殖种类。至今,已有一些关于大菱鲆亚麻籽油替代鱼油的研究^[7-9]。Bell等^[7-8]以亚麻籽油替代100%鱼油探究大菱鲆是否具备合成n3 LC-PUFA能力以及亚麻籽油替代鱼油对脂肪代谢的影响。Regost等^[9]以亚麻籽油替代100%鱼油饲料养殖大规格大菱鲆(579 g)很长时间,再用100%鱼油饲料反养一段时间探究亚麻酸在大菱鲆肌肉中的沉积情况。但之前的这些研究均未在强调肝脏脂肪沉积及肝脏和肌肉n3 LC-PUFA含量重要性下,给出大菱鲆饲料中亚麻籽油的可替代水平;且在这些研究中,大菱鲆饲料中蛋脂比(CP/CL)相对较高(55%/16%~20%),本实

验室前期工作表明,大菱鲆饲料蛋脂比为(50%/12%)即可满足鱼体的生理需求。因此,本研究是在饲料蛋脂比(50%/12%)基础上,以亚麻籽油分别替代0、33.3%、66.7%和100%的鱼油,探究其对大菱鲆摄食生长、脂肪酸组成和脂肪沉积的影响,为缓解鱼油短缺的难题提供理论基础,从而更好地为促进水产养殖业可持续发展提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 饲料配方和制备

以白鱼粉、豆粕、谷朊粉和酪蛋白为主要的蛋白源,以亚麻籽油分别替代0%、33.3%、66.7%和100.0%的鱼油,配制4种等氮等脂饲料(表1)。

表1 实验饲料配方和化学组成
Tab.1 Formulation and proximate analysis of the experimental diets

原料/% ingredient	亚麻籽油替代水平/% linseed oil replacement level			
	0.0	33.3	66.7	100.0
鱼粉 white fish meal ¹	33.00	33.00	33.00	33.00
谷朊粉 wheat gluten meal ¹	10.00	10.00	10.00	10.00
酪蛋白 casein ¹	6.00	6.00	6.00	6.00
小麦粉 wheat meal ¹	16.00	16.00	16.00	16.00
豆粕 soybean meal ¹	18.88	18.88	18.88	18.88
鱼油 fish oil	7.50	5.00	2.50	0.00
亚麻籽油 linseed oil	0.00	2.50	5.00	7.50
大豆卵磷脂 phospholipid	2.00	2.00	2.00	2.00
多矿 mineral premix ²	2.00	2.00	2.00	2.00
多维 vitamin premix ³	2.00	2.00	2.00	2.00
氯化胆碱 choline chloride	0.13	0.13	0.13	0.13
磷酸二氢钙 monocalcium phosphate	1.00	1.00	1.00	1.00
丙酸钙 calcium propionic acid	0.10	0.10	0.10	0.10
乙氧基喹啉 ethoxyquin	0.05	0.05	0.05	0.05
三氧化二钇 Y ₂ O ₃	0.04	0.04	0.04	0.04
诱食剂 phagostimulant	1.30	1.30	1.30	1.30
海藻酸钠 sodium alginate	0.05	0.05	0.05	0.05
成分分析/(%干重) proximate analysis(% dry matter)				
粗蛋白 crude protein	49.74	49.81	49.81	49.87
粗脂肪 crude lipid	12.16	11.74	12.26	11.67
灰分 ash	12.14	11.44	11.38	11.66

注:1. 白鱼粉(干物质,%),粗蛋白70.22,粗脂肪5.85;谷朊粉(干物质,%),粗蛋白83.95,粗脂肪1.28;酪蛋白(干物质,%),粗蛋白89.44,粗脂肪1.46;小麦粉(干物质,%),粗蛋白16.03,粗脂肪3.32;豆粕(干物质,%),粗蛋白51.36,粗脂肪1.79。这些原料均购至青岛七好生物科技有限公司。2. 矿物质预混物(g/kg饲料),NaF,2;KI,0.8;CoCl₂·6H₂O(1%),50;CuSO₄·5H₂O,10;FeSO₄·H₂O,80;ZnSO₄·H₂O,50;MnSO₄·H₂O,60;MgSO₄·7H₂O,1200;Ca(H₂PO₄)₂·H₂O,3000;zoelite,15.55 g/kg。3. 维生素预混物(mg/kg饲料),维生素B1,25;核黄素,45;维生素B6,20;维生素B12,0.1;维生素K3(MSB),10;肌醇,800;泛酸钙,60;烟酸,200;叶酸,20;生物素,1.2;维生素A醋酸酯,32;维生素D3,5;维生素E醋酸酯,120;维生素C,2000

Notes:1. white fish meal(dry mater,%), crude protein 70.22, crude lipid 5.85; wheat gluten meal(dry mater,%), crude protein 83.95, crude lipid 1.28; casein(dry mater,%), crude protein 89.44, crude lipid 1.46; wheat meal(dry mater,%), crude protein 16.03, crude lipid 3.32; soybean meal(dry mater,%), crude protein 51.36, crude lipid 1.79. These ingredients obtained from Great seven Bio-Tech. 2. Mineral premix (mg/kg diet), NaF, 2; KI, 0.8; CoCl₂·6H₂O(1%), 50; CuSO₄·5H₂O, 10; FeSO₄·H₂O, 80; ZnSO₄·H₂O, 50; MnSO₄·H₂O, 60; MgSO₄·7H₂O, 1200; Ca(H₂PO₄)₂·H₂O, 3000; zoelite, 15.55 g/kg diet. 3. Vitamin premix (mg/kg diet), thiamin, 25; riboflavin, 45; pyridoxine HCl, 20; vitamin B12, 0.1; vitamin K3, 10; inositol, 800; pantothenic acid, 60; niacin acid, 200; folic acid, 20; biotin, 1.20; retinol acetate, 32; cholecalciferol, 5; alpha-tocopherol, 120; ascorbic acid, 2000

鱼油和亚麻籽油分别购于青岛七好生物科技有限公司和河北欣奇典生物科技有限公司(表 2)。因鱼粉中含有脂肪,鱼油中 LC-PUFA 约占总脂肪酸的 18%~25%^[12]。以 LC-PUFA 占鱼油总脂肪酸

的 18% 计算,可推测全鱼油组、33.3% 亚麻籽油组、66.7% 亚麻籽油组和 100% 亚麻籽油组饲料中 n3 LC-PUFA 分别约为 1.70%、1.25%、0.80% 和 0.35%。

表 2 油源和饲料脂肪酸组成(%总脂肪酸)
Tab.2 Fatty acids composition of oil source and diets(% total fatty acids)

脂肪酸组成 fatty acids composition	鱼油 fish oil	亚麻籽油 linseed oil	亚麻籽油替代水平/% linseed oil replacement level			
			0.0	33.3	66.7	100
14:0	0.05	0.04	4.50	3.22	2.00	0.65
16:0	17.95	5.23	17.90	15.33	13.44	11.38
18:0	5.65	11.03	2.10	2.44	2.57	2.67
20:0	0.34	0.18	0.34	3.12	2.17	1.95
∑ SFA ¹	23.94	16.44	24.84	24.11	20.18	16.64
16:1	6.92	0.11	7.49	5.31	3.28	1.44
18:1	16.68	11.01	23.09	22.22	21.48	22.09
22:1	-	-	2.41	1.61	1.01	0.71
∑ MUFA ²	23.65	11.16	32.99	29.13	25.77	24.24
18:2n-6	4.18	16.98	14.72	17.71	19.89	21.68
20:4n-6	0.76	-	0.49	0.38	0.24	-
∑ n-6 PUFA ³	4.94	16.98	15.21	18.10	20.13	21.68
18:3n-3	1.78	54.36	2.32	13.41	24.72	33.08
18:4n-3	2.45	0.05	1.36	1.21	0.48	-
20:5n-3	6.45	0.11	6.12	5.09	3.27	1.77
22:6n-3	11.57	0.05	8.40	6.17	3.96	2.16
∑ n-3 PUFA ⁴	22.25	54.58	18.20	25.87	32.43	37.00
∑ SFA/∑ PUFA	0.88	0.23	0.74	0.55	0.38	0.28
n-3/n-6	4.50	3.21	1.20	1.43	1.61	1.71

注:含量较少的脂肪酸,如 C22:0, C24:0, C14:1, C20:1n-9, C22:1n-11, C20:2n-6, C20:3n-6, C22:5n-3 未列入表中。1. SFA, 饱和脂肪酸; 2. MUFA, 单不饱和脂肪酸; 3. n-6 PUFA, n-6 系列多不饱和脂肪酸; 4. n-3 PUFA, n-3 系列多不饱和脂肪酸

Notes: Some fatty acids, of which the contents are minor, trace amount or not detected, such as C22:0, C24:0, C14:1, C20:1n-9, C22:1n-11, C20:2n-6, C20:3n-6, C22:5n-3, were not listed in the table. 1. SFA, saturated fatty acids; 2. MUFA, mono-unsaturated fatty acids; 3. n-6 PUFA, n-6 poly-unsaturated fatty acids; 4. n-3 PUFA, n-3 poly-unsaturated fatty acid

饲料制备之前,鱼粉和豆粕等饲料原料经先粉碎,过 320 μm 筛网,再按配比从小到大逐级定量均匀混合;较大的混合物进入 V 型搅拌机充分混合 25 min。将卵磷脂、亚麻籽油和鱼油混合均匀,随后将其与已混好的干粉充分混匀,再加入适量的水揉匀,全自动渔用饵料机[(F-26(II),华南理工大学]将其加工制成硬颗粒饲料(3.0 mm × 3.0 mm),45~55 °C 烘干至饲料水分含量为 10% 左右,待饲料颗粒干燥冷却后,用双层塑料袋包装并封口,因脂肪易被氧化,所制饲料置于 -20 °C 冰箱保存备用。

1.2 实验养殖和样品采集

统一规格的同批次健康大菱鲆幼鱼购于青岛胶州养殖场。在正式实验之前,所有实验鱼先用

大菱鲆 0#商业料暂养一周适应养殖系统,再用所制 4 种饲料混合均匀后暂养一周使其适应制备饲料的规格。在饥饿 24 h 后,初始体质量为 (5.89 ± 0.02) g 的大菱鲆幼鱼被随机分到 12 个桶(300 L, 35 尾/桶)。每种饲料随机分为 3 份。每天投喂 2 次(08:00 和 18:00),饱食投喂,养殖周期为 92 d。大菱鲆在饲料下沉过程时摄食,摄食后,桶内多余的饲料和粪便立即用吸管吸去。记录摄食量,如有死鱼记录数量并称重。海水持续经由水泵泵到泡沫分离器,经由生物塔沙滤到高位池后最终进入循环系统,控制每桶水流速 2 L/min。在实验第一个月,循环水系统每次摄食完后更换 50% 桶体积水(在实验后期,更换 70% 桶体积水)。系统使用气石持续充氧。在实验养

殖过程中,水温 17.5 ~ 19 °C;盐度 28.0 ~ 31.0;溶氧在 7 mg/L 左右; NH_4^+ -N, NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 均低于 100.0 $\mu\text{g/L}$ 。在实验第 6 周投喂 5 h 后收集桶内成型的粪便入 5 mL 离心管,2 000 $\times g$ 离心 10 min 后保存于 -20 °C 待后期用于消化率测定。

在实验开始之前,初始鱼随机挑出 15 尾做全鱼常规分析。养殖实验结束时,所有鱼都饥饿处理 24 h。每桶各取 6 尾鱼称重,取肝脏,称重。取背部肌肉。肝脏和肌肉放入 5 mL 离心管,液氮速冻,随后保存在 -20 °C 用于后期脂肪酸组成、水分以及粗脂肪含量的测定。此外,每桶 5 尾鱼放入样品袋, -20 °C 保存用于后期分析全鱼体成分分析。

1.3 化学分析

体成分分析 饲料原料、饲料和实验鱼均测定水分、粗蛋白、粗脂肪和粗灰分含量。样品在 105 °C 烘干到恒重后求得干物质含量,然后进行生化组分分析。粗蛋白的测定采用凯氏定氮法;粗脂肪的测定采用索氏抽提法;粗灰分的测定采用马弗炉法。每份样品均重复测定 2 次,若相对偏差大于 2%,则增加重复次数,采用相对偏差在 2% 以下的两个测定值的平均数为测定结果。

肝脏和肌肉脂肪含量分析 参照 Floch 等^[13]方法略作修改。称取 0.1 g 样品于 10 mL 玻璃离心管中,记好质量 W_0 和对应的试管编号;每管加入 C-M 混合液(氯仿:甲醇 = 2:1,混合液存放于棕色的玻璃瓶)4 mL,摇匀后盖上盖子,浸泡 24 h 以上,可以摇动混合。75 °C 下恒重另外一批玻璃离心管,要求两次误差不得超过 0.001 g,记好编号与对应的质量 W_1 。将 C-M 混合液加至 6 mL,离心(3 000 $\times g$, 10 min),将上清液转入离心管 A;在残渣中加入 2 mL C-M 混合液,静置 2 h 后离心(3 000 $\times g$, 10 min);上清液仍转入离心管 A。加 1.2 mL 1.6% 的 CaCl_2 于滤液中,摇匀后盖上盖子静置过夜。用胶头滴管小心弃去上层液,将下层液用氮气缓慢冲干。离心管 A 75 °C 下干燥至恒重,要求两次误差不得超过 0.001 g,记好质量 W_2 ,每个样品做两个重复。脂肪含量(%) = $(W_2 - W_1) / W_0 \times 100$ 。

生化分析 脂肪酸的测定参照 Metcalfe 等^[14]的方法略作修改。称取约 100 mg 已冷冻干燥且研碎的样品(油状样品滴 1 滴于带盖的 10 mL 玻璃管中,加入 3 mL KOH-甲醇溶液(1 mol/L),之后 78 °C 水浴 25 min;冷却至室温后加

入 3 mL 的 HCl-甲醇溶液(2 mol/L),78 °C 水浴 25 min;冷却至室温后加入 1 mL 正己烷(色谱级),轻轻震荡并室温放置过夜使下层的脂肪酸甲酯充分萃取到正己烷中(加水有助于分层)。小心吸取上层正己烷和脂肪酸甲酯的混合物 200 μL ,离心(3 500 $\times g$, 2 min),再用 10 μL 微量进样器吸取 1.0 μL 注入气相色谱仪 6890 中(惠普公司,帕洛阿尔托,美国),色谱柱为石英毛细管柱(007-CW,惠普公司,帕洛阿尔托,美国),采用火焰电离检测器。柱温首先以 15 °C/min 的速度由 150 °C 升高至 200 °C,之后以 2 °C/min 的速度缓慢升至 250 °C。

1.4 钇的含量测定

先将粪便和饲料冷冻干燥,研磨成粉。称取 100 mg 粪便(或饲料)于干净烧瓶中,加入 10 mL 高氯酸,电炉上灼烧,当烧瓶中液体呈透明状即可。将透明液体转移到 100 mL 容量瓶中,用双蒸水定容。0.22 μm 滤膜过滤后即可借助电感耦合等离子体原子发射光谱仪(ICP-OES,瓦里安公司,帕洛阿尔托,美国)测定钇的含量。

1.5 计算方法和统计分析

$$\text{存活率 (survival rate, SR, \%)} = N_f \times 100 / N_i$$

$$\text{特定生长率 (special growth rate, SGR, \% d)} = 100 \times (\text{Ln}W_f - \text{Ln}W_i) / t$$

$$\text{饲料效率 (feed efficiency, FE)} = (W_f - W_i) / \text{干饲料消耗量}$$

$$\text{摄食率 (feed intake, FI, \% / d)} = 100 \times \text{干饲料消耗量} / [(W_i + W_f) / 2] / t$$

$$\text{表观净蛋白利用率 (apparent net protein utilization, ANPU)} = (\text{末期鱼体蛋白} - \text{初始鱼体蛋白}) / \text{饲料摄食蛋白} \times 100$$

$$\text{肝体比 (hepatosomatic index, HSI, \%)} = 100 \times (\text{肝重} / W_f)$$

$$\text{脂肪表观消化率 [apparent digestibility coefficient (ADC) of lipid, \%]} = [1 - (\text{饲料中 } Y_2O_3 \text{ 含量} / \text{饲料脂肪含量}) \times (\text{粪便脂肪含量} / \text{粪便中 } Y_2O_3 \text{ 含量})] \times 100$$

式中, W_f 和 W_i 代表末重和初重; N_f 和 N_i 代表桶内最终和最初鱼数量; t 代表养殖周期。

实验数据采用 SPSS 16.0 软件进行统计分析,在单因素方差分析(One-Way ANOVA)达到显著水平时($P < 0.05$),采用 Turkey's 检验进行多重比较,数据表示为平均值 \pm 标准误 (means \pm

SE)的形式。

2 结果

2.1 饲料亚麻籽油水平对大菱鲆幼鱼存活、生长和形体指标的影响

大菱鲆幼鱼存活率(SR)高达95%以上,并未受到饲料亚麻籽油水平的显著影响($P > 0.05$) (表3)。大菱鲆摄食率(FI)随亚麻籽油水平升高显著升高,100%亚麻籽油组显著高于全鱼油组

($P < 0.05$) (表3)。大菱鲆幼鱼末体质量(W_t)和特定生长率(SGR)均随饲料亚麻籽油水平升高具有先升高后下降的趋势,但各处理组组间差异不显著($P > 0.05$) (表3)。随饲料亚麻籽油水平升高,大菱鲆幼鱼饲料效率(FE)和表观净蛋白质利用率(ANPU)随之显著下降,100%亚麻籽油组FE和ANPU均显著低于全鱼油组($P < 0.05$) (表3)。肝体比(HSI)并未受饲料亚麻籽油替代水平的显著影响($P > 0.05$) (表3)。

表3 饲料亚麻籽油替代鱼油对大菱鲆幼鱼生长、存活和形体指数的影响
Tab.3 Effects of dietary graded linseed oil level on growth performance and selected body parameters of juvenile *S. maximus* for 92 d n = 3

亚麻籽油 替代水平/% linseed oil replacement level	生长指标 growth performance						肝体比/% hepatosomatic index
	末重/g final weight	特定生长率/ (%/d) specific growth rate	饲料效率 feed efficiency	摄食率/ (%/d) feed intake	表观净蛋白利用率/% apparent net protein utilization	存活率/% survival rate	
0.0	48.57 ± 0.06	2.32 ± 0.01	1.25 ± 0.06 ^a	1.51 ± 0.07 ^b	34.72 ± 1.45 ^a	100.00 ± 0.00	1.01 ± 0.08
33.3	49.51 ± 2.60	2.34 ± 0.06	1.25 ± 0.04 ^a	1.52 ± 0.05 ^b	33.84 ± 0.22 ^a	100.00 ± 0.00	1.10 ± 0.07
66.7	45.94 ± 3.55	2.25 ± 0.08	1.30 ± 0.04 ^a	1.45 ± 0.04 ^b	34.88 ± 0.97 ^a	99.05 ± 1.65	1.04 ± 0.14
100.0	43.48 ± 2.84	2.20 ± 0.07	1.11 ± 0.04 ^b	1.69 ± 0.04 ^a	29.76 ± 1.44 ^b	99.05 ± 1.65	1.16 ± 0.10
SE	3.28	0.08	0.09	0.10	2.49	1.11	0.10
One-Way ANOVA							
F	2.826	2.979	10.663	11.728	11.714	0.667	1.240
P	0.116	0.106	0.004	0.003	0.004	0.596	0.357

注:表格中数值为3个重复的平均值,表示为平均值 ± 标准误,每一行标有相同上标字母的数值之间差异不显著($P > 0.05$)

Notes: Data represent means ± SE (n = 3). Values with the same letters within the same row are not significantly different at $P > 0.05$

2.2 饲料亚麻籽油水平对大菱鲆幼鱼体成分、肝脏和肌肉脂肪含量、饲料脂肪表观消化率的影响

饲料亚麻籽油水平并未显著影响鱼体成分和肌肉脂肪含量($P > 0.05$) (表4)。随饲料亚麻籽油水平升高,大菱鲆肝脏脂肪含量显著升高。当亚麻籽油替代100%鱼油时,其肝脏脂肪含量

显著高于全鱼油组($P < 0.05$),且与其他亚麻籽油替代组组间差异不显著($P > 0.05$) (表4)。大菱鲆幼鱼饲料脂肪表观消化率在90.31% ~ 96.87%,但饲料亚麻籽油水平并未显著影响大菱鲆幼鱼脂肪消化率($P > 0.05$) (表4)。

表4 饲料亚麻籽油替代鱼油对大菱鲆幼鱼体成分、肝脏和肌肉脂肪含量、饲料脂肪表观消化率的影响
Tab.4 Effects of dietary graded linseed oil level on body composition of the whole body lipid level of muscle and liver and dietary lipid apparent digestibility coefficient of juvenile *S. maximus* for 92 d n = 3, %

亚麻籽油替代水平 linseed oil replacement level	体组成 body composition of the whole body				肝脂含量 liver lipid content	肌脂含量 muscle lipid content	饲料脂肪表观消化率 dietary lipid apparent digestibility coefficient
	水分 moisture	粗蛋白 crude protein	粗脂肪 crude lipid	灰分 ash			
0.0	76.20 ± 0.10	16.30 ± 0.18	3.29 ± 0.11	4.23 ± 0.16	6.22 ± 0.45 ^b	1.10 ± 0.01	90.31 ± 0.61
33.3	75.81 ± 0.78	16.54 ± 0.86	3.69 ± 0.44	4.04 ± 0.25	7.74 ± 0.29 ^{ab}	0.97 ± 0.07	94.89 ± 3.84
66.7	76.24 ± 0.17	16.70 ± 0.37	3.10 ± 0.26	4.11 ± 0.14	10.75 ± 0.67 ^{ab}	1.20 ± 0.07	96.87 ± 3.47
100.0	76.50 ± 1.05	15.87 ± 0.77	3.38 ± 0.68	4.11 ± 0.26	12.26 ± 1.08 ^a	1.00 ± 0.07	93.08 ± 1.81
SE	0.62	0.62	0.45	0.25	0.78	0.04	3.45
One-Way ANOVA							
F	0.545	1.049	0.870	0.244	16.003	2.384	2.954
P	0.665	0.422	0.500	0.863	0.001	0.106	0.104

注:表格中数值为3个重复的平均值,表示为平均值 ± 标准误,每一行标有相同上标字母的数值之间差异不显著($P > 0.05$)

Notes: Data represent means ± SE (n = 3). Values with the same letters within the same row are not significantly different at $P > 0.05$

2.3 饲料亚麻籽油水平对大菱鲂幼鱼肝脏和肌肉脂肪酸组成的影响

随饲料亚麻籽油水平升高,大菱鲂幼鱼肝脏和肌肉亚油酸和亚麻酸含量随之显著升高($P <$

0.05); 肝脏和肌肉饱和脂肪酸(C14:0和C20:0)、单不饱和脂肪酸(C16:1)、花生四烯酸(C20:4n-6)和n3 LC-PUFA(EPA和DHA)含量随之显著下降($P <$ 0.05)(表5)。

表5 饲料亚麻籽油替代鱼油不同水平对大菱鲂幼鱼肝脏和肌肉脂肪酸组成的影响

Tab.5 Effects of dietary graded fish oil substitution by linseed oil on fatty acid composition(% total fatty acids) in the liver and muscle of juvenile *S. maximus* for 92 d $n = 3, \%$

脂肪酸组成/(%总脂肪酸) fatty acids composition/ (% total fatty acids)	亚麻籽油替代水平 linseed oil replacement level			
	0.0	33.3	66.7	100.0
肝脏 liver				
14:0	5.05 ± 0.70 ^a	3.61 ± 0.25 ^b	2.64 ± 0.14 ^b	1.44 ± 0.08 ^c
16:0	16.63 ± 0.97 ^a	14.34 ± 1.03 ^a	11.72 ± 0.77 ^a	9.36 ± 0.05 ^b
18:0	4.86 ± 0.36 ^a	4.35 ± 0.46 ^a	4.01 ± 0.29 ^{ab}	3.01 ± 0.20 ^b
20:0	2.68 ± 0.01 ^b	3.44 ± 0.11 ^b	4.14 ± 0.10 ^{ab}	5.51 ± 0.07 ^a
∑ SFA ¹	26.78 ± 0.22 ^a	23.30 ± 1.17 ^b	18.50 ± 0.79 ^c	16.31 ± 0.20 ^c
16:1	7.82 ± 0.60 ^a	5.94 ± 0.34 ^b	4.51 ± 0.34 ^c	3.04 ± 0.19 ^d
18:1	24.18 ± 2.03 ^d	29.02 ± 0.74 ^c	37.00 ± 0.84 ^b	43.36 ± 0.64 ^a
22:1	1.54 ± 0.08 ^d	2.55 ± 0.07 ^c	3.71 ± 0.08 ^b	5.33 ± 0.14 ^a
∑ MUFA ²	33.53 ± 2.55 ^d	37.51 ± 0.51 ^c	45.22 ± 0.80 ^b	51.73 ± 0.49 ^a
18:2n-6	16.37 ± 0.10 ^b	18.49 ± 1.06 ^{ab}	20.95 ± 0.74 ^a	20.43 ± 0.43 ^a
20:4n-6	1.01 ± 0.14 ^a	0.69 ± 0.02 ^b	0.33 ± 0.04 ^c	0.11 ± 0.01 ^d
∑ n-6 PUFA ³	17.38 ± 0.04 ^b	19.18 ± 0.42 ^{ab}	21.28 ± 0.73 ^a	20.54 ± 0.43 ^a
18:3n-3	2.37 ± 0.62 ^b	2.82 ± 0.05 ^{ab}	3.50 ± 0.28 ^a	3.78 ± 0.28 ^a
18:4n-3	0.81 ± 0.01	0.42 ± 0.31	0.45 ± 0.09	0.05 ± 0.01
20:5n-3	3.64 ± 0.23 ^a	3.14 ± 0.48 ^a	1.86 ± 0.20 ^b	0.79 ± 0.01 ^c
22:6n-3	7.04 ± 0.62 ^a	6.14 ± 0.55 ^a	3.33 ± 0.28 ^b	1.71 ± 0.08 ^c
∑ n-3 PUFA ⁴	13.86 ± 1.49 ^a	12.53 ± 0.86 ^a	9.14 ± 0.75 ^b	6.32 ± 0.23 ^b
∑ SFA/∑ PUFA	0.41 ± 0.01 ^a	0.34 ± 0.02 ^b	0.24 ± 0.01 ^c	0.21 ± 0.01 ^c
n-3/n-6	0.88 ± 0.08 ^a	0.65 ± 0.06 ^a	0.43 ± 0.02 ^b	0.31 ± 0.01 ^b
肌肉 muscle				
14:0	1.84 ± 0.05 ^a	1.76 ± 0.34 ^{ab}	1.06 ± 0.03 ^{ab}	0.73 ± 0.09 ^b
16:0	20.70 ± 0.97	21.34 ± 3.25	18.76 ± 2.27	15.24 ± 2.55
18:0	4.86 ± 0.012 ^a	4.35 ± 0.46 ^a	4.01 ± 0.29 ^{ab}	3.01 ± 0.20 ^b
20:0	2.59 ± 0.01 ^b	3.29 ± 0.60 ^b	4.02 ± 0.61 ^{ab}	5.23 ± 0.39 ^a
∑ SFA	29.98 ± 1.05	30.74 ± 2.99	27.87 ± 2.19	24.21 ± 2.43
16:1	3.70 ± 0.36 ^a	3.74 ± 0.35 ^a	2.35 ± 0.04 ^b	1.98 ± 0.39 ^b
18:1	22.01 ± 0.60 ^d	26.61 ± 1.17 ^c	30.08 ± 1.30 ^b	36.36 ± 0.32 ^a
∑ MUFA	25.71 ± 0.96 ^c	30.35 ± 1.51 ^b	32.43 ± 1.33 ^b	38.34 ± 0.07 ^a
18:2n-6	11.55 ± 0.23 ^d	14.95 ± 0.32 ^c	18.26 ± 0.42 ^b	21.27 ± 0.21 ^a
20:4n-6	1.41 ± 0.01 ^a	1.00 ± 0.21 ^{ab}	0.82 ± 0.11 ^{bc}	0.45 ± 0.02 ^c
∑ n-6 PUFA	12.96 ± 0.22 ^d	15.95 ± 0.42 ^c	19.07 ± 0.31 ^b	21.72 ± 0.24 ^a
18:3n-3	0.99 ± 0.16 ^d	1.52 ± 0.04 ^c	1.76 ± 0.05 ^b	2.75 ± 0.07 ^a
20:5n-3	5.22 ± 0.08 ^a	4.55 ± 0.43 ^b	3.75 ± 0.26 ^b	2.24 ± 0.01 ^c
22:6n-3	18.13 ± 0.80 ^a	12.87 ± 1.98 ^{ab}	10.36 ± 1.07 ^{bc}	5.33 ± 0.16 ^c
∑ n-3 PUFA	24.35 ± 0.57 ^a	18.93 ± 2.33 ^{ab}	15.87 ± 1.29 ^{bc}	10.33 ± 0.25 ^c
∑ SFA/∑ PUFA	0.80 ± 0.04	0.88 ± 0.11	0.80 ± 0.07	0.76 ± 0.08
n-3/n-6	1.88 ± 0.08 ^a	1.19 ± 0.13 ^b	0.83 ± 0.07 ^c	0.48 ± 0.02 ^d

注:含量较少的脂肪酸,如C22:0,C24:0,C14:1,C20:1n-9,C22:1n-11,C20:2n-6,C20:3n-6,C22:5n-3未列入表中。表中数值为3个重复的平均值,表示为平均值±标准误,每一行标有相同上标字母的数值之间差异不显著($P >$ 0.05)。1. SFA,饱和脂肪酸;2. MUFA,单不饱和脂肪酸;3. n-6 PUFA,n-6系列多不饱和脂肪酸;4. n-3 PUFA,n-3系列多不饱和脂肪酸

Notes: Some fatty acids, of which the contents are minor, trace amount or not detected, such as C22:0, C24:0, C14:1, C20:1n-9, C22:1n-11, C20:2n-6, C20:3n-6, C22:5n-3, were not listed in the table. Data represent means ± SE ($n = 3$). Values with the same letters within the same row are not significantly different at $P >$ 0.05. 1. SFA, saturated fatty acids; 2. MUFA, mono-unsaturated fatty acids; 3. n-6 PUFA, n-6 poly-unsaturated fatty acids; 4. n-3 PUFA, n-3 poly-unsaturated fatty acid

3 讨论

本研究发现,在养殖周期为 92 d 时,亚麻籽油替代部分鱼油(66.7%)并未显著影响大菱鲆生长和饲料利用,这与对大鳞大麻哈鱼(*Oncorhynchus tshawytscha*)^[3]、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[4]、大西洋鲑(*Salmo salar*)^[5]和尖吻重牙鲷(*Diplodus puntazzo*)^[6]的研究结果一致。当亚麻籽油替代 100% 鱼油时,大菱鲆特定生长率并未出现显著下降现象($P=0.106$),但鱼体饲料效率和蛋白质表观净利用率显著下降,摄食率显著上升。因实验各处理组饲料脂肪表观消化率均高达 90% 以上,且组间差异不显著。因此,大菱鲆饲料利用下降可能是饲料高含量亚麻籽油影响大菱鲆对其他营养素的吸收利用。Rogest 等^[9]研究发现亚麻籽油替代 100% 鱼油并未显著影响大菱鲆生长和饲料利用,其基础饲料的蛋/脂比(55%/16%)和鱼体规格(初始体质量为 579 g)均高于本研究(蛋/脂比为 50%/12%,鱼体初始体质量为 5.89 g)。此外,在这个实验中,鱼粉添加量为 50%,故推测该实验基础配方中 n3 LC-PUFA 含量大约为 0.6%。Léger 等^[15]研究指出大菱鲆必需脂肪酸需求可能低于 0.6%;Gatesoupe 等^[16]指出大菱鲆必需脂肪酸需求可能在 0.8%。本实验中全鱼油组、33.3% 亚麻籽油组、66.7% 亚麻籽油组和 100% 亚麻籽油组饲料 n3 LC-PUFA 的含量大约分别为 1.70%、1.25%、0.80% 和 0.35%。因此,100% 亚麻籽油组饲料不能满足鱼体 n3 LC-PUFA 需求,故可能显著影响大菱鲆对饲料的利用。

亚麻籽油替代鱼油对大菱鲆鱼体成分并未造成显著影响。同样的结果在之前的研究中也得到了证实^[17]。本研究发现,100% 亚麻籽油肝脏脂肪含量显著高于全鱼油组,但肌肉脂肪含量并未受饲料亚麻籽油含量的显著影响,结果与 Bell 等^[7]在大菱鲆上研究结果一致,本研究结果暗示饲料高含量亚麻籽油促进了大菱鲆肝脏脂肪沉积。脂肪过多沉积于肝脏可能与饲料中 n3 LC-PUFA 的不足密切相关。n3 LC-PUFA 一方面能激活过氧化物酶体增殖物激活受体 α (peroxisome proliferators-activated receptor α , PPAR α),进而促进脂肪分解^[18];另一方面能抑制固醇调节元件结合蛋白-1c (sterol regulatory element-binding protein 1, SREBP-1c) 的表达,进而抑制脂肪合成^[19]。本研究中,100% 亚麻籽油组饲料 n3 LC-

PUFA 的含量大约为 0.35%,而大菱鲆 LC-PUFA 的需要量为 0.6%~0.8%^[15-16],因此,100% 亚麻籽油组大菱鲆肝脏较低 n3 LC-PUFA 含量可能造成肝脏脂肪过多沉积,但其影响机理还有待于深入研究。但 Rogest 等^[9]研究发现亚麻籽油替代 100% 鱼油组大菱鲆肝脏脂肪含量(8.26% 湿体质量)高于全鱼油组(7.31% 湿重),但组间差异不显著。这可能与其基础饲料中 n3 LC-PUFA 基本满足鱼体需求有关。

随饲料亚麻籽油水平升高,大菱鲆幼鱼肝脏和肌肉亚油酸和亚麻酸含量随之显著升高,但花生四烯酸和 n3 LC-PUFA (EPA 和 DHA) 含量随之显著下降($P<0.05$)。该结果与 Bell 等^[7-8]和 Regost 等^[9]在大菱鲆上的研究一致。这可能与大菱鲆没有或有较低转化亚麻酸为 EPA 和 DHA 能力有关。尽管大菱鲆 $\Delta 6$ Fad 酶活力较高,但其 $\Delta 5$ Fad 和延长酶(从 C18 到 C20)活力相对较低^[20-21]。本实验再次验证了绝大多数海水鱼自身几乎不能合成 n3 LC-PUFA。

4 结论

亚麻籽油替代 66.7% 鱼油(饲料 n3 LC-PUFA 含量为 0.8%)虽未显著影响大菱鲆幼鱼生长和饲料利用,但显著影响肌肉 n3 LC-PUFA 含量,故从营养品质的角度,亚麻籽油在大菱鲆上的替代水平应低于 66.7%,且大菱鲆饲料 n3 LC-PUFA 含量应大于 0.8%。

感谢左然涛博士在实验方案设计中的帮助;感谢孟玉琼、王震、韩丽蓉、路凯和阳钢同学在饲料制备、养殖实验以及样品采集上的帮助。

参考文献:

- [1] Lin F F, Tan Z J. Lipid-lowering function of α -linolenic acid in linseed oil[J]. China Oils and Fats, 2012, 37(9): 44-47. [林非凡,谭竹均. 亚麻籽油中 α -亚麻酸降血脂功能研究. 油脂化学, 2012, 37(9): 44-47.]
- [2] Li Y Y, Monroig O, Zhang L, et al. Vertebrate fatty acyl desaturase with $\Delta 4$ activity[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2010, 107(39): 16840-16845.
- [3] Mugrditchian D S, Hardy R W, Iwaoka W T. Linseed oil and animal fat as alternative lipid sources in dry diets for chinook salmon (*Oncorhynchus*

- tshawytscha) [J]. *Aquaculture*, 1981, 25: 161 – 172.
- [4] Greene D H, Selivonchick D P. Effects of dietary vegetable, animal and marine lipids on muscle lipid and hematology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Aquaculture*, 1990, 89: 165 – 182.
- [5] Rosenlund G, Obach A, Sandberg M, *et al.* Effect of alternative lipid sources on long-term growth performance and quality of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) [J]. *Aquaculture Research*, 2001, 32: 323 – 328.
- [6] Piedecausa M, Mazón M, García García B, *et al.* Effects of total replacement of fish oil by vegetable oils in the diets of sharpnose seabream (*Diplodus puntazzo*) [J]. *Aquaculture*, 2007, 263: 211 – 219.
- [7] Bell J G, Tocher D R, MacDonald F M, *et al.* Effects of diets rich in linoleic (18: 2n-6) and α -linolenic (18: 3n-3) acids on the growth, lipid class and fatty acid compositions and eicosanoid production in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 1994, 13: 105 – 118.
- [8] Bell J G, Tocher D R, Farndale B M, *et al.* Effects of essential fatty acid-deficient diets on growth, mortality, tissue histopathology and fatty acid compositions in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 1999, 20: 263 – 277.
- [9] Regost C, Arzel J, Robin J, *et al.* Total replacement of fish oil by soybean or linseed oil with a return to fish oil in turbot (*Psetta maxima*): 1. Growth performance, flesh fatty acid profile, and lipid metabolism [J]. *Aquaculture*, 2003, 217: 465 – 482.
- [10] Connor W E. Importance of n-3 fatty acids in health and disease [J]. *American Journal of Clinical Nutrition* 2000, 71: 171 – 175.
- [11] Li Q M, Chen G F. The quantitative determination of EPA and DHA in fish oil by GC-external standard method [J]. *Journal of Shenyang Pharmaceutical University*, 1996, 13 (4): 259 – 261. [李庆民, 陈桂范. 气相色谱外标法测定鱼油中 EPA 和 DHA 的含量. *沈阳药科大学学报*, 1996, 13 (4): 259 – 261.]
- [12] Turchini G M, Torstensen B E, Ng W K. Fish oil replacement in finfish nutrition [J]. *Reviews in Aquaculture*, 2009, 1 (1): 10 – 57.
- [13] Folch J, Lees M, Sloane-Stanley G. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1957, 226: 497 – 509.
- [14] Metcalfe L, Schmitz A A, Pelka J. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis [J]. *Analytical Chemistry*, 1966, 38: 514 – 515.
- [15] Léger C, Gatesoupe F J, Metailler R, *et al.* Effect of dietary fatty acids differing by chain lengths and N series on the growth and lipid composition of turbot *Scophthalmus maximus* L. [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Biochemistry & Molecular Biology*, 1979, 64: 345 – 350.
- [16] Gatesoupe F J, Leger C, Boudon M, *et al.* Lipid feeding of turbot (*Scophthalmus maximus* L.): Influence on growth of supplementation with methyl esters of linolenic acid and fatty acids of the w-9 series [J]. In *Annales D Hydrobiologie*, 1977, 8: 247 – 254.
- [17] Benedito-Palos L, Saera-Vila A, Caldach-Giner J A, *et al.* Combined replacement of fish meal and oil in practical diets for fast growing juveniles of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.): Networking of systemic and local components of GH/IGF axis [J]. *Aquaculture*, 2007, 267: 199 – 212.
- [18] Varga T, Czimmerer Z, Nagy L. PPARs are a unique set of fatty acid regulated transcription factors controlling both lipid metabolism and inflammation [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 2011, 1812: 1007 – 1022.
- [19] Yoshikawa T, Shimano H, Yahagi N, *et al.* Polyunsaturated fatty acids suppress sterol regulatory element-binding protein 1c promoter activity by inhibition of liver X receptor (LXR) binding to LXR response elements [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277: 1705 – 1711.
- [20] Tocher D R, Carr J, Sargent J R. Polyunsaturated fatty acid metabolism in fish cells: differential metabolism of (n-3) and (n-6) series acids by cultured cells originating from a freshwater teleost fish and from a marine teleost fish [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Comparative Biochemistry*, 1989, 94: 367 – 374.
- [21] Ghioni C, Tocher D R, Bell M V, *et al.* Low C18 to C20 fatty acid elongase activity and limited conversion of stearidonic acid, 18: 4 (n-3), to eicosapentaenoic acid, 20: 5 (n-3), in a cell line from the turbot, *Scophthalmus maximus* [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1999, 1437: 170 – 181.

Growth performance, fatty acids composition and lipid deposition in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) fed diets with various fish oil substitution levels by linseed oil

PENG Mo¹, AI Qinghui^{1*}, XU Wei^{1,2}, MAI Kangsen¹,
ZHANG Yanjiao¹, ZHOU Huihui¹, TAN Peng¹, DU Jianlong¹

(1. Key Laboratory of Aquaculture Nutrition and Feed (Ministry of Agriculture) and Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003, China;
2. College of Food Science and Technology, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: A 92-d feeding experiment was conducted to investigate the effects of dietary graded level of linseed oil (LO) on growth performance, fatty acids composition and lipid deposition of liver and muscle in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) [mean initial body weight, (5.89 ± 0.02) g]. Four isonitrogenous and isoenergetic practical diets were formulated with LO replacing 0%, 33.3%, 66.7% and 100% fish oil (FO), respectively. Each diet was randomly fed to triplicate groups in indoor seawater recirculation system to apparent satiation. The results showed that survival rate (SR) and specific growth rate (SGR) of juvenile turbot were independent of dietary LO level ($P > 0.05$). With increasing dietary LO level, feed intake (FI) of turbot significantly increased, while feed efficiency (FE) and apparent net protein utilization (ANPU) significantly decreased ($P < 0.05$), and they were up to the maximum and minimum in 100% LO group, respectively. Apparent digestibility coefficient of dietary lipid, hepatosomatic index and lipid content of muscle were also independent of dietary LO level ($P > 0.05$). Lipid content of liver in turbot significantly increased with increasing dietary LO levels ($P < 0.05$), which in 100% LO group was significantly higher than that in 100% FO group ($P < 0.05$). Fatty acid composition of total lipid in liver and muscle was closely correlated with those in diets. With increasing dietary LO levels, the content of linoleic acid and linolenic acid significantly increased, while the content of EPA and DHA significantly decreased ($P < 0.05$). These results suggested that on basis of nutritional quality, the LO replacement level in turbot diet should be lower than 66.7%, and the content of n3 very long chain-polyunsaturated fatty acid in the turbot diet should be higher than 0.8%.

Key words: *Scophthalmus maximus*; linseed oil; fish oil; fatty acids composition; lipid deposition

Corresponding author: AI Qinghui. E-mail: qhai@ouc.edu.cn