

虎斑乌贼受精卵卵黄营养成分分析

彭瑞冰, 乐可鑫, 蒋霞敏*, 丰 迅, 汪 元, 韩庆喜

(宁波大学海洋学院, 浙江 宁波 315211)

摘要: 本实验对虎斑乌贼受精卵卵黄的营养成分进行分析,旨在探讨其幼体的营养需求量,为其幼体配合饲料研制提供参考数据。随机选取大约 800 个虎斑乌贼受精卵的卵黄,采用国家标准方法测定其水分、灰分、粗蛋白质、粗脂肪、氨基酸、脂肪酸和矿物元素含量。结果表明:1)虎斑乌贼受精卵卵黄中粗蛋白质含量为 76.33% (干重基础);总氨基酸(TAA)和必需氨基酸(EAA)含量分别为 71.22% 和 32.38% (干重基础),EAA/TAA 为 45.46%,氨基酸中以谷氨酸(Glu)含量最高(9.97%),必需氨基酸中亮氨酸(Leu)含量最高(7.58%)。2)其粗脂肪含量 12.71% (干重基础);共检出 17 种脂肪酸,包括 8 种饱和脂肪酸(SFA)、5 种单不饱和脂肪酸(MUFA)和 4 种多不饱和脂肪酸(PUFA),SFA、MUFA 和 PUFA 分别占脂肪酸总量的 43.47%、7.54% 和 49.25%,其中以 DHA 含量最高,达 32.80%,EPA 含量为 7.70%,DHA/EPA 为 4.26。3)检测出 Na、K、Ca、Mg、Sr、Mn、Fe、Cu、Zn、Al 和 As 矿物元素,微量元素中富含 Zn、Al 和 Fe,含量分别为 0.77、0.71 和 0.43 mg/kg (鲜重基础)。由此可见,卵黄具有高蛋白、低脂肪,富含 n-3PUFA 的特点;虎斑乌贼幼体饲料中蛋白质需求量参考值为 76.33%;氨基酸需求量参考值,如赖氨酸(Lys)为 5.49%,蛋氨酸(Met)为 2.63%;脂肪的需求量参考值为 12.71%,DHA 为 4.17%,EPA 为 0.98%;微量元素需求量参考值,如 Zn 为 2.77 mg/kg, Cu 为 0.19 mg/kg (干重基础)。

关键词: 虎斑乌贼; 卵黄; 氨基酸; 脂肪酸; 矿物质元素

中图分类号: S 963

文献标志码: A

虎斑乌贼(*Sepia pharaonis*)隶属于软体动物门(Mollusca)、头足纲(Cephalopoda)、乌贼属(*Sepia*),是我国东、南海的重要经济头足类^[1]。近年来,由于过度捕捞,已导致其自然资源衰退。其具有肉质细嫩鲜美、营养价值高、生长速率快等特点,被认为是一种极具养殖前景的经济头足类,已引起人们的关注^[2]。

虎斑乌贼为卵生、直接发育的软体动物,其受精卵为端黄卵,个体大,初产体质量 4 g 左右(图 1)。卵黄在卵生动物的胚胎发育过程中发挥着至关重要的作用,为动物胚胎提供蛋白质、脂类、碳水化合物、维生素、矿物质元素等营养和功能物质^[3]。海洋动物的胚胎及幼体营养生理是其营养

学研究的前沿领域之一^[4-5]。近年来,随着乌贼养殖产业的开展,饲料问题已成为当前规模化人工育苗、养殖的技术瓶颈之一,人工配合饲料的研制迫在眉睫。而目前关于头足类营养学的研究还比较匮乏,仅集中在投喂不同饵料对其幼体、成体的影响,分析不同饵料的营养成分,得出某些脂类、蛋白质、氨基酸和脂肪酸对头足类的影响,而关于其脂类、蛋白质、氨基酸和脂肪酸需求量还有待研究^[6-10]。Rainuzzo 等^[11]认为对于外源性营养的海洋动物幼体而言,饲料中各营养物质理想的组成和含量应与其受精卵卵黄或卵黄囊幼体的相应营养物质组成和含量相近。Abi-ayad 等^[12]和黄旭雄等^[13]研究表明,通过评估胚胎及早期仔鱼发育过

收稿日期:2015-04-07 修回日期:2015-05-07

资助项目:国家农业成果转化资助项目(2009GB2C220415);宁波市农业科技专项(201401C111101);浙江省重中之重开放基金(xkzsc1407)

通信作者:蒋霞敏,E-mail:jiangxiamin@nbu.edu.cn

程中内源性卵黄囊营养物质的含量和利用程度是研究仔鱼营养需求的有效方法。一些研究发现头足类初孵幼体的大小、健康程度与卵黄的吸收率有关,卵黄吸收率越高,初孵幼体越大、活力越好^[14-15]。因此,通过分析乌贼受精卵的卵黄营养

物质组成和含量,有利于了解乌贼幼体发育过程中的营养需求。而目前关于虎斑乌贼受精卵卵黄营养研究还未见报道,鉴于此,本研究分析虎斑乌贼受精卵卵黄各营养成分组成和含量,为其幼体人工配合饲料研制提供科学的参考依据。

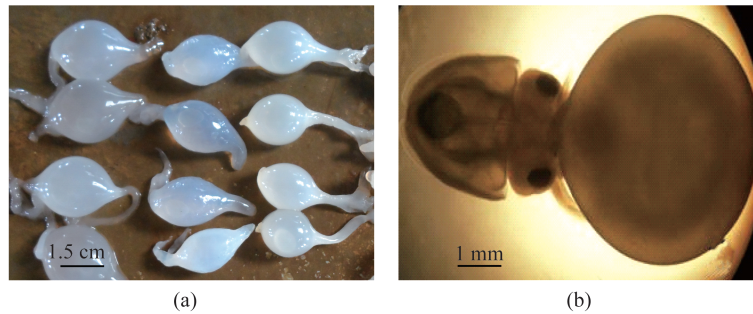


图 1 虎斑乌贼受精卵和胚胎

(a) 虎斑乌贼受精卵; (b) 虎斑乌贼胚胎(内骨骼出现期)

Fig. 1 Fertilized eggs and embryo of *S. pharaonis*

(a) Fertilized eggs of *S. pharaonis*; (b) Embryo of *S. pharaonis* (endoskeleton formation stage)

1 材料与方法

1.1 实验材料

本实验所用的虎斑乌贼于 2014 年 3 月捕自我国南海海域(19°~20° N, 111°~112° E), 亲体在室内饲养一段时间后, 亲体交配产卵, 实验所用的大约 800 粒受精卵取自 12 对亲体生产发育良好的受精卵。参考蒋霞敏等^[16]拟目乌贼(*Sepia lycidas*)的胚胎发育分为 11 个阶段: 受精卵期、卵裂期、囊胚期、原肠胚期、胚体形成期、器官形成期、红珠期、心跳出现期、色素出现期、内骨骼形成期和孵化期。分别从虎斑乌贼胚胎发育前期的卵裂期(约 250 粒)、发育中期的初具形态期(约 250 粒)和发育后期的内骨骼形成期(约 300 粒)的受精卵中分离出卵黄。一部分置 -80 °C 冷藏备用, 用于测定水分和矿物质元素; 另一部分冷冻干燥后, 用于测定粗蛋白、粗脂肪、灰分、氨基酸和脂肪酸。

1.2 测定方法

将同一发育时期的卵黄混合为 1 个样本, 测定其各项营养成分含量。

基本营养成分的测定 采用国家标准方法进行基本营养成分分析: 水分测定采用 105 °C 烘干恒重法^[17]; 粗蛋白质测定采用杜马斯燃烧法^[18]; 粗脂肪测定采用索氏抽提法^[19]; 灰分测定采用链式电阻炉 550 °C 灼烧法^[20]。

氨基酸含量测定 氨基酸含量测定参考国家标准方法^[21], 测定半胱氨酸含量时, 先采用氧化酸解法前处理样品, 然后使用 ZORBAX Eclipse AAA 型氨基酸自动分析仪测定含量; 测定其他氨基酸含量时(除半胱氨酸), 先采用盐酸水解法前处理, 使用 ZORBAX Eclipse AAA 型氨基酸自动分析仪测定含量。

脂肪酸测定 运用 Bligh-Dyer 法提取总脂后, 进行皂化、甲酯化, 通过 Agilent7890A 气相色谱仪进行测定, 色谱的条件: DB-WAX 聚乙二醇气相毛细柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm), 10 μL 自动液体进样器(ALS), 进样量为 1 μL, 进样口温度 250 °C; 采用不分流进样, 恒压控制温度模式, 柱头压力 7.685 psi, 升温程序: 初始温度 50 °C, 保持 2 min, 以 10 °C/min 速率升至 250 °C, 保持 23 min; 检测器为氢火焰离子化检测器(FID), 检测温度 300 °C, 载气为 N₂, 各检验气体流量分别为 H₂ 40 mL/min, 空气 450 mL/min, 尾吹气 N₂: 30 mL/min。

矿物质元素含量测定 参照国家标准^[22]的方法, 经混合酸消化液消化后利用乙炔-空气火焰原子吸收光谱法测定。具体操作: 取 3 g 样品加混合酸消化液(高氯酸: 硝酸 = 1:4) 20~30 mL 消化至液体颜色透明, 再用蒸馏水定容至 100 mL 后, 利用 TSA-990 系列原子吸收分光光度计测定钠(Na)、钾(K)、镁(Mg)、钙(Ca)、锶(Sr)、锰

(Mn)、铁(Fe)、铜(Cu)、锌(Zn)、铝(Al)和砷(As)11种矿物元素含量。

1.3 乌贼幼体对饲料中营养素理论需求量的计算方法

杨晶晶等^[4]、Fraser等^[23]、Pousão-Ferrira等^[24]和Sargent等^[25-26]通过分析海洋鱼类受精卵的蛋白质、脂类、矿物质元素、氨基酸、脂肪酸等营养素的含量或者它们之间的比例,确定了其幼体的饲料中对应营养素的需求量。以下均为干物质基础上含量换算。

饲料中蛋白质理论需求量(%) = 卵黄粗蛋白质含量(%)

饲料中脂肪理论需求量(%) = 卵黄粗脂肪含量(%)

饲料中各种氨基酸理论需求量(%) = 卵黄各种氨基酸含量(mg/g)/10

饲料中各种脂肪酸理论需求量(%) = 卵黄各种脂肪酸含量占总脂肪酸量的比例 × 卵黄粗脂肪含量(%)

饲料中各种矿物质元素理论需求量(mg/kg) = 卵黄各矿物质元素含量(mg/kg)

1.4 数据处理

实验所得数据使用 Excel 2003 软件和 SPSS 18.0 软件进行处理,数据表达为平均值 ± 标准差。

2 结果

虎斑乌贼3个不同发育时期的受精卵卵黄各营养成分含量差异不显著($P > 0.05$),将其3个不同发育时期的卵黄各营养成分合并,取其平均值。

2.1 常规营养成分

虎斑乌贼受精卵卵黄的粗蛋白质含量为76.33%,粗脂肪含量为12.71%,灰分含量为7.18%(表1)。

表1 虎斑乌贼受精卵卵黄的常规营养成分(干物质基础)

项目 item	水分 moisture	粗蛋白质 crude protein	粗脂肪 crude fat	灰分 ash
含量 content	72.12 ± 2.17	76.33 ± 0.13	12.71 ± 0.83	7.18 ± 0.13

2.2 矿物元素含量

虎斑乌贼胚胎的卵黄检测出 Na、K、Ca、Mg、Sr、Mn、Fe、Cu、Zn、Al 和 As 矿物元素。其中 Ca 的含量

显著高于其他元素,达 42.56 mg/kg;其次 Mg 和 Na 含量分别为 2.88 和 2.87 mg/kg。微量元素中 Zn 和 Al 的含量最高,分别为 0.77 和 0.71 mg/kg, Sr 和 As 含量最低,均为 0.01 mg/kg(表2)。

表2 虎斑乌贼受精卵卵黄的矿物元素含量(鲜重基础)
Tab.2 Mineral element components of yolk of *S. pharaonis* fertilized eggs(fresh weight basis) mg/kg

矿物质元素 mineral element	含量 content
钠 Na	2.87 ± 0.14
钾 K	0.43 ± 0.04
镁 Mg	2.88 ± 0.14
钙 Ca	42.56 ± 0.97
锶 Sr	0.01 ± 0.00
锰 Mn	0.03 ± 0.01
铁 Fe	0.43 ± 0.04
铜 Cu	0.05 ± 0.01
锌 Zn	0.77 ± 0.00
铝 Al	0.71 ± 0.06
砷 As	0.01 ± 0.00

2.3 氨基酸组成与含量

虎斑乌贼受精卵卵黄含有常见的17种氨基酸,其中7种必需氨基酸(色氨酸未检测)。氨基酸含量为71.22%,其中必需氨基酸含量为32.38%,占总氨基酸含量的45.46%。氨基酸中以谷氨酸(Glu)含量最高,为9.97%。必需氨基酸中亮氨酸(Leu)含量最高为7.58%,蛋氨酸(Met)含量最低为2.63%(表3)。

2.4 脂肪酸组成与含量

共检出17种脂肪酸,包括8种饱和脂肪酸(SFA),占总脂肪酸的43.47%;5种单不饱和脂肪酸(MUFA),占总脂肪酸的7.54%;4种多不饱和脂肪酸(PUFA),占总脂肪酸的49.25%。在脂肪酸组分中以C16:0、C18:0、C20:4、C20:5(EPA)和C22:6(DHA)为主,其中以DHA含量最高,达32.80%;C16:0次之,为24.33%。不饱和脂肪酸中以n-3 PUFA为主,占总脂肪酸含量的40.50%,占不饱和脂肪酸的82.23%。EPA含量为7.70%,DHA/EPA为4.26(表4)。

2.5 虎斑乌贼幼体对饲料中部分营养素的理论需求量参考值

虎斑乌贼幼体饲料中蛋白质理论需求量参考值为76.33%,脂肪为12.71%。由于胚胎的卵黄中DHA含量很丰富,建议虎斑乌贼幼体饲料中

DHA 理论需求量参考值为 4.17%, EPA 理论需求量参考值为 0.98%, DHA/EPA 为 4.26; 氨基酸理论需求量参考值中, 如赖氨酸(Lys)需求量为 5.49%; 矿物质元素需求量参考值中, 如铜需求量为 0.19 mg/kg(表 5)。

表 3 虎斑乌贼受精卵卵黄的氨基酸组成与含量(干物质基础)

Tab.3 Amino acid composition of yolk of *S. pharaonis* fertilized eggs(dry weight basis) %

氨基酸 amino acid	含量 content
赖氨酸 Lys*	5.49 ± 0.02
蛋氨酸 Met*	2.63 ± 0.08
缬氨酸 Val*	3.71 ± 0.10
苏氨酸 Thr*	4.64 ± 0.04
异亮氨酸 Ile*	5.54 ± 0.03
亮氨酸 Leu*	7.58 ± 0.03
苯丙氨酸 Phe*	2.79 ± 0.08
酪氨酸 Tyr	3.14 ± 0.06
半胱氨酸 Cys	0.96 ± 0.08
丝氨酸 Ser	4.63 ± 0.01
甘氨酸 Gly	1.17 ± 0.01
谷氨酸 Glu	9.97 ± 0.19
天冬氨酸 Asp	7.21 ± 0.06
组氨酸 His	1.59 ± 0.01
丙氨酸 Ala	2.36 ± 0.01
精氨酸 Arg	4.96 ± 0.03
脯氨酸 Pro	2.84 ± 0.11
总氨基酸 TAA ¹	71.22 ± 0.79
必需氨基酸 EAA ²	32.38 ± 0.35
非必需氨基酸 NEAA ³	38.84 ± 0.50

注: * 表示必需氨基酸; 氨基酸含量为干物质基础

Notes: * is essential amino acids; contents of amino acids were on dry weight basis

1. TAA: total amino acids; 2. EAA: essential amino acids; 3. NEAA: non-essential amino acids

表 4 虎斑乌贼受精卵卵黄的脂肪酸组成(占脂肪酸总量的百分比)

Tab.4 Fatty acid composition of yolk of *S. pharaonis* fertilized eggs(total FA) %

脂肪酸 fatty acid	百分比含量 content
C14:0	2.93 ± 0.09
C15:0	0.44 ± 0.02
C16:0	24.33 ± 0.48
C17:0	1.68 ± 0.05
C18:0	12.80 ± 0.47
C19:0	0.30 ± 0.04
C20:0	0.77 ± 0.02
C22:0	0.23 ± 0.02
ΣSFA ¹	43.47 ± 2.24
C16:1n-7	0.54 ± 0.03
C18:1n-9	4.16 ± 0.06
C18:1n-7	0.90 ± 0.02
C20:1n-9	1.68 ± 0.02
C22:1n-9	0.27 ± 0.02
ΣMUFA ²	7.54 ± 0.15
C18:2n-6	0.44 ± 0.03
C20:4n-6	8.32 ± 0.15
n-6 PUFA	8.75 ± 0.23
C20:5n-3(EPA ⁴)	7.70 ± 0.07
C22:6n-3(DHA ⁵)	32.80 ± 1.96
n-3 PUFA	40.50 ± 1.93
ΣPUFA ³	49.25 ± 2.05
DHA/EPA	4.26 ± 0.27

注: 1. ΣSFA, 饱和脂肪酸: C14:0, C15:0, C16:0, C17:0, C18:0, C19:0, C20:0, C22:0; 2. ΣMUFA, 单不饱和脂肪酸: C16:1n-7, C18:1n-9, C18:1n-7, C20:1n-9, C22:1n-9; 3. ΣPUFA, 多不饱和脂肪酸: C18:2n-6, C20:4n-6, C20:5n-3, C20:6n-3; 4. EPA: 二十碳五烯酸; 5. DHA: 二十二碳六烯酸; 下同

Notes: 1. ΣSFA: saturated fatty acid; 2. ΣMUFA: monounsaturated fatty acids; 3. ΣPUFA: polyunsaturated fatty acid; 4. EPA: Eicosapentaenoic Acid; 5. DHA: Docosahexaenoic Acid; The same as the following

表 5 虎斑乌贼幼体对饲料中部分营养素的理论需求量(干物质基础)

Tab.5 Theoretical requirements of part of nutrients in diets of *S. pharaonis* larvae(dry weight basis)

项目 item	蛋白质/% protein	脂肪/% fat	DHA/ %	EPA/ %	DHA/ EPA	n-3PUFA/ %	赖氨酸/% Lys	铜 mg/kg Cu
理论需求量 theoretical requirement	76.33	12.71	4.17	0.98	4.24	5.15	5.49	0.19

3 讨论

乌贼属于典型的肉食性海洋头足类, 其肌肉组织具有高蛋白、低脂肪的特点^[2,27-28]。虎斑乌贼的受精卵卵黄分析结果与成体肌肉和卵巢相似

(表 6)。研究表明, 在某些海洋动物营养需求不明确的情况下, 通过分析卵黄或受精卵蛋白质、脂类、氨基酸、脂肪酸等的含量或者它们之间的比例, 是确定其幼体营养需求的有效途径^[4]。Fraser 等^[23]研究了大西洋鳕(*Gadus morhua*)受精卵的

卵黄中磷脂含量情况,来确定其仔稚鱼对磷脂的需求量。Pousão-Ferrira 等^[24]报道了金头鲷 (*Sparus aurata*) 受精卵中蛋白质含量,确定了其仔稚鱼饵料中对蛋白质的需求量。Sargent 等^[25-26]认为,海洋鱼类受精卵中脂类的含量和组成相当于其幼体的脂类需求量。乌贼属于直接发育型,在整个胚胎发育过程中完全依赖卵黄提供内源性营养物质,维持正常的生理活动^[29]。根据本实验卵黄粗脂肪和粗蛋白的含量,预测出虎斑乌贼幼体饲料中蛋白质理论需求量参考值为 76.33%,脂肪为 12.71%。商乌贼 (*S. officinalis*) 生长、发育过程中相对一些鱼类表现出较高的蛋白质需求量,而对脂肪的需求量相对较低^[8]。一些研究者报道了乌贼幼体阶段主要以摄食活体的小型甲壳动物为主,成体阶段主要以摄食虾、蟹和鱼为主,在整个生命周期中乌贼摄食高蛋白低脂肪的动物性饵料更有利其生长^[6-9,30-33]。Domingues 等^[8]和 Solorzano 等^[10]研究发现蛋白质是乌贼主要的能源物质,对蛋白质需求量高于海洋中鱼类,对饵料中的蛋白质表现出较高的转化效率,消化率达到 85%~90%。García-García 等^[32]报道了以真蛸 (*Octopus vulgaris*) 为实验对象,以含量为 6% 总脂的蟹饵料和含 20% 总脂的沙丁鱼饵料为实验饵料,结果发现,以蟹为饵料其生长率与存活率更高,低脂饵料对真蛸生长更有利。本实验根据虎斑乌贼受精卵卵黄的营养成分,计算出了其幼体人工配合饲料中营养素的理论需求量,基本能够符合幼体的营养需求特点。李正等^[33]在研究不同饵料对曼氏无针乌贼 (*Sepiella maindroni*) 幼体影响,发现其幼体最优饵料的粗蛋白质含量可达干物质重的 77.49%。

表 6 虎斑乌贼卵巢、肌肉、受精卵卵黄的常规营养成分比较^[2]

Tab. 6 Common nutritional components in ovary, muscle and yolk of *S. pharaonis* %

项目 item	水分 moisture	粗蛋白质 crude protein	粗脂肪 crude lipids	灰分 ash
卵黄 yolk	72.12	76.33	12.71	7.18
卵巢 ^[2] ovary	68.44	62.39	2.46	6.50
肌肉 ^[2] muscle	74.47	77.93	3.14	10.37

注:粗蛋白、脂肪和灰分含量为干物质基础

Notes: crude protein, crude fat and ash contents were on dry weight basis

Rainuzzo 等^[11]报道了在海洋鱼类胚胎发育过程中一般依次利用碳水化合物(糖原)—蛋白质(游离氨基酸)—脂肪(脂肪酸)作为发育所需的能量来源,脂类和蛋白质是它们早期发育重要的 2 类营养物质。海洋动物蛋白质营养的实质和核心是氨基酸,因此从某种意义上讲,海洋动物对蛋白质的需求,主要表现在其对氨基酸的需求(尤其是必需氨基酸的量和种类)。本实验的结果显示,虎斑乌贼受精卵卵黄中必需氨基酸含量为 32.38%,占总氨基酸含量的 45.46%;必需氨基酸中 Leu、Thr、Lys 和 Ile 含量较为丰富。高晓兰等^[2]报道虎斑乌贼成体的肌肉和卵巢组织中 Leu、Thr、Lys、Ile 和 Val 含量最为丰富。这一结果与本实验受精卵的卵黄含量相近。Walton 等^[34]报道了海洋动物维持正常的生长代谢需要 10 种氨基酸,分别是精氨酸(Arg)、赖氨酸(Lys)、蛋氨酸(Met)、苏氨酸(Thr)、亮氨酸(Leu)、异亮氨酸(Ile)、苯丙氨酸(Phe)、色氨酸(Trp)、缬氨酸(Val)和组氨酸(His),饵料中必需氨基酸不平衡或缺乏会导致其生长减缓,饲料效率和蛋白质沉积效率也会下降。在研发某种海洋动物的全价高效人工配合饲料时,首先对其必需氨基酸需求有一个比较全面的了解。因此,在虎斑乌贼幼体人工配合饲料配方中,尤其应注意 Leu、Thr、Lys、Ile、Val 和 Met 的需求量,其幼体饵料中必需氨基酸需求量参考值为 32.38%,其中 Leu 需求量参考值为 7.58%,Thr 为 4.64%、Lys 为 5.49%、Ile 为 5.54%、Val 为 3.71%、Arg 为 4.96%、Glu 为 9.97%,但是具体实际需求量还需要通过摄食生长实验来确定。Domingues 等^[8]研究表明,添加 Met 和 Lys 的饵料更有利于商乌贼的生长。Iglesias 等^[35]指出,饵料中的 Lys、Leu、Arg 含量是影响真蛸幼体成活率的关键因素之一。

虽然乌贼对脂肪需求量较少,但脂肪中脂肪酸对于头足类生长、发育却发挥着十分重要的作用^[36]。虎斑乌贼受精卵卵黄内的 PUFAs 含量丰富,其中 PUFAs > SFAs > MUFAs,尤其富含 n-3PUFA。这与所报道的虎斑乌贼成体肌肉和卵巢组织分析结果一致^[2]。Navarro 等^[9]报道了商乌贼、真枪乌贼 (*Loligo vulgaris*) 和真蛸 3 者的初孵幼体的脂肪酸含量,发现早期幼体的 PUFA 含量丰富,PUFAs > SFAs > MUFAs。在虎斑乌贼的

受精卵卵黄的 (n-3) PUFA 中,主要是 EPA 和 DHA,其中 DHA 含量最高,占总脂肪酸含量的 32.80%。高晓兰等^[2]报道了虎斑乌贼的肌肉和卵巢组织中 DHA 含量分别为 30.34% 和 25.27%。在 Navarro 等^[9]的报道中商乌贼、真枪乌贼和真蛸 3 者的初孵幼体的 DHA 含量分别为 21.2%、32.8% 和 29.3%^[9]。从卵黄脂肪酸的含量来看,虎斑乌贼对 (n-3) PUFA 需求量较高,特别是 EPA 和 DHA。Hamasaki 等^[37]分析真蛸初孵幼体的后期出现高死亡率,原因是饵料中缺少 n-3 系列不饱和脂肪酸,尤其是 DHA。Sargent 等^[25]的研究表明,饵料中的 DHA 对头足类细胞膜的结构和功能稳定有重要作用,尤其是在幼体早期生长阶段,可维持细胞膜的流动性和渗透性。Bell 等^[38]和 Reitan 等^[39]研究中发现当 DHA 的缺乏会导致鱼类的神经系统与视觉发育受阻和体内色素沉积出现异常。因此在研发虎斑乌贼人工配合饲料过程中,应保证饲料中 (n-3) PUFA 的含量,特别是 DHA、EPA。虎斑乌贼幼体 DHA 的理论需求量应保持 4.17% 左右,EPA 为 0.98%,DHA/EPA 为 4.26。

矿物元素在头足类的生长和代谢中也发挥着非常重要的作用^[40-41]。特别是微量元素虽然含量少却发挥着不可替代的功能性作用,如许多微量元素参与水产动物骨骼形成、维持胶质系统、作为机体合成激素与酶的必需组成部分^[40]。当体内缺乏或过多时,能引起海洋生物机体结构和功能性病理病变。从虎斑乌贼的受精卵的卵黄分析结果来看,常量元素 Ca 的含量尤其丰富,远远高于其他元素;微量元素中富含 Zn、Al 和 Fe。这一结果与报道的野生虎斑乌贼、拟目乌贼的肌肉和卵巢的结果相似^[2,27]。在虎斑乌贼的胚胎发育过程中,其体内会形成一个较大的内骨骼(海螵蛸),这可能导致发育过程需要较多的 Ca 参与。墨囊是乌贼胚胎发育过程形成的一个重要器官,墨囊内墨汁富含常量和微量元素;郑小东等^[41]分析金乌贼(*Sepia esculenta*)的墨汁和陈小娥^[42]分析曼氏无针乌贼墨汁均发现富含常量元素 Ca、Mg,微量元素中富含 Zn、Al 和 Fe。因此,需求卵黄富含常量元素 Ca、Mg、微量元素 Zn、Al 和 Fe,保障胚胎发育过程对矿物元素的需求量。海洋动物能够通过鳃和皮肤从水环境吸收部分无机离子形态矿物元素,但仍需要通过消化道从饲料中摄

入额外 Fe、Cu、Zn 等微量元素。因此,在虎斑乌贼的配合饲料中要保证一定量的各种微量元素,如在幼体饵料中 Cu 的参考需求量为 0.19 mg/kg。Cu 对头足类的生长发育也是非常重要的,它广泛存在于氧化酶和血液蛋白中^[43]。Declair 等^[44]发现当乌贼的初孵幼体处于饥饿时,其体内 Cu 含量迅速减少,成活率也随之降低。这可能是由于 Cu 等微量元素是某些酶的辅助因子,不足会导致其体内代谢紊乱,抑制细胞的增生。因此,虎斑乌贼的人工配合饲料配方中需保障适宜的微量元素含量。

4 结论

① 虎斑乌贼受精卵卵黄具有高蛋白、低脂肪的特点。虎斑乌贼幼体蛋白质的需求量参考值为 76.33%,脂类为 12.71%。

② 卵黄富含 Ca、Mg、Zn、Al 和 Fe 矿物质元素,特别是 Ca 的含量尤为丰富。虎斑乌贼幼体微量的需求量参考值,如 Zn 为 2.77 mg/kg,Cu 为 0.19 mg/kg。

③ 卵黄中检测出的 17 种氨基酸中,结构较为合理,必需氨基酸丰富。虎斑乌贼幼体氨基酸需求量参考值,如赖氨酸(Lys)为 5.49%,蛋氨酸(Met)为 2.63%。

④ 卵黄检测到 17 种脂肪酸,PUFA 丰富,其中以 DHA 所占比例最高(32.80%),EPA 含量丰富(7.70%),DHA/EPA 为 4.26。虎斑乌贼幼体 DHA 需求量参考值为 4.17%,EPA 为 0.98%,DHA/EPA 为 4.26。

参考文献:

- [1] Chen X J, Liu B L, Wang Y G. World Cephalopodas [M]. Beijing: Ocean Press, 2009: 440 - 441. [陈新军, 刘必林, 王尧耕. 世界头足纲. 北京: 海洋出版社, 2009: 440 - 441.]
- [2] Gao X L, Jiang X M, Le K X, et al. Analysis and evaluation of nutritional components in different tissues of wild *Sepia pharaonis* [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2014, 26(12): 3858 - 3867. [高晓兰, 蒋霞敏, 乐可鑫, 等. 野生虎斑乌贼不同组织营养成分分析及评价. 动物营养学报, 2014, 26(12): 3858 - 3867.]
- [3] Li Z J, Yang L J, Wang J, et al. The progress in studies on vitellogenin [J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2010, 22(3): 284 - 290. [李兆杰, 杨丽君,

- 王静,等.卵黄蛋白原的研究进展.生命科学,2010,22(3):284-290.]
- [4] Yang J J, Jiang Z Q, Zuo R T, *et al.* Nutritional analysis and evaluation on eggs of *hemitripterus villosus* [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2014,26(4):1103-1110. [杨晶晶,姜志强,左然涛,等.绒杜父鱼卵营养成分分析及评价.动物营养学报,2014,26(4):1103-1110.]
- [5] Lu S F, Zhao N, Liu H B, *et al.* Changes in fatty acid composition during development in *Pelteobagrus fulvidraco* fertilized eggs and larvae [J]. Journal of Fisheries of China, 2008,32(5):711-716. [卢素芳,赵娜,刘华斌,等.黄颡鱼早期发育阶段受精卵和鱼体脂肪酸组成变化.水产学报,2008,32(5):711-716.]
- [6] Domingues P, Poirier R, Dickel L, *et al.* Effects of culture density and live prey on growth and survival of juvenile cuttlefish, *Sepia officinalis* [J]. Aquaculture International, 2003,11(3):225-242.
- [7] Domingues P, Sykes A, Sommerfield A, *et al.* Growth and survival of cuttlefish (*Sepia officinalis*) of different ages fed crustaceans and fish. Effects of frozen and live prey [J]. Aquaculture, 2004,229(1-4):239-254.
- [8] Domingues P M, Dimarco P F, Andrade J P, *et al.* Effect of artificial diets on growth, survival and condition of adult cuttlefish, *Sepia officinalis* Linnaeus, 1758 [J]. Aquaculture International, 2005,13(5):423-440.
- [9] Navarro J C, Villanueva R. Lipid and fatty acid composition of early stages of cephalopods: An approach to their lipid requirements [J]. Aquaculture, 2000,183(1-2):161-177.
- [10] Solorzano Y, Viana M T, López L M, *et al.* Response of newly hatched *Octopus bimaculoides* fed enriched *Artemia salina*; Growth performance, ontogeny of the digestive enzyme and tissue amino acid content [J]. Aquaculture, 2009,289(1-2):84-90.
- [11] Rainuzzo J R, Reitan K I, Olsen Y. The significance of lipids at early stages of marine fish: A review [J]. Aquaculture, 1997,155(1-4):103-115.
- [12] Abi-ayad S M E A, Kestermont P, Mélard C. Dynamics of total lipids and fatty acids during embryogenesis and larval development of Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) [J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2000,23(3):233-243.
- [13] Huang X X, Feng L F, Wen W, *et al.* The changes in lipid and fatty acid profiles of devil stinger *Inimicus japonicas* during the development of embryo and yolk-sac larvae [J]. Journal of Fisheries of China, 2013,37(4):526-535. [黄旭雄,冯隆峰,温文,等.日本鬼鲉胚胎及卵黄囊仔鱼发育过程中脂肪及脂肪酸特性变化.水产学报,2013,37(4):526-535.]
- [14] Peng R B, Jiang X M, Yu S G, *et al.* Effect of several ecological factors on embryonic development of *Sepia lycidas* [J]. Acta Ecologica Sinica, 2013,33(20):6560-6568. [彭瑞冰,蒋霞敏,于曙光,等.几种生态因子对拟目乌贼胚胎发育的影响.生态学报,2013,33(20):6560-6568.]
- [15] Jiang X M, Peng R B, Luo J, *et al.* Effect of temperature on embryonic development and larval growth of *Sepia lycidas* [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2013,24(5):1183-1191. [蒋霞敏,彭瑞冰,罗江,等.温度对拟目乌贼胚胎发育及幼体的影响.应用生态学报,2013,24(5):1183-1191.]
- [16] Jiang X M, Tang F, Luo J, *et al.* The embryonic development of *Sepia lycidas* [J]. Journal of Fisheries of China, 2013,37(5):711-718. [蒋霞敏,唐锋,罗江,等.拟目乌贼的胚胎发育.水产学报,2013,37(5):711-718.]
- [17] The food hygiene supervision and inspection of the Ministry of Health. GB/T 5009. 3 - 2003, Determination of moisture in food [S]. Beijing: China Standard Press, 2003:25-29. [卫生部食品卫生监督检验所. GB/T 5009. 3 - 2003, 食品中水分的测定 [S]. 北京:中国标准出版社, 2003:25-29.]
- [18] The food hygiene supervision and inspection of the Ministry of Health. GB/T 5009. 5 - 2003, Determination of protein in food [S]. Beijing: China Standard Press, 2003:37-41. [卫生部食品卫生监督检验所. GB/T 5009. 5 - 2003, 食品中蛋白质的测定. 北京:中国标准出版社, 2003:37-41.]
- [19] The food hygiene supervision and inspection of the Ministry of Health. GB/T 5009. 6 - 2003, Determination of fat in food [S]. Beijing: China Standard Press, 2003:45-46. [卫生部食品卫生监督检验所. GB/T 5009. 6 - 2003, 食品中脂肪的测定. 北京:中国标准出版社, 2003:45-46.]
- [20] The food hygiene supervision and inspection of the Ministry of Health. GB/T 5009. 4 - 2010, Determination of ash in food [S]. Beijing: China Standard Press, 2010:1-2. [卫生部食品卫生监督检验所. GB/T 5009. 4 - 2010, 食品中灰分的测定.

- 北京:中国标准出版社,2010:1-2.]
- [21] The institute of Nutrition and Food Hygiene of Chinese Academy of Preventive Medicine. GB/T 5009.124-2003, Determination of ash in food[S]. Beijing:China Standard Press,2003:115-119. [中国预防医学科学院营养与食品卫生研究所. GB/T 5009.124-2003,食品中氨基酸的测定.北京:中国标准出版社,2003:115-119.]
- [22] The food hygiene supervision and inspection of the Ministry of Health. GB/T 5009.90~92-2003, GB/T 5009.13~14-2003, Determination of minerals in food[S]. Beijing:China Standard Press,2003:25-95. [卫生部食品卫生监督检验所. GB/T 5009.90~92-2003, GB/T 5009.13~14-2003,食品中微量元素测定.北京:中国标准出版社,2003:25-95.]
- [23] Fraser A J, Gamble J C, Sargent J R. Changes in lipid content, lipid class composition and fatty acid composition of developing eggs and unfed larvae of cod (*Gadus morhua*) [J]. Marine Biology, 1988, 99 (3):307-313.
- [24] Pousão-Ferrira P, Morais S, Dores E, et al. Eggs of gilthead sea bream *Sparus aurata* L. as a potential enrichment product of *Brachionus* sp. In the larval rearing of gilthead seabream *Sparus aurata* L [J]. Aquaculture Research, 1999, 30(10):751-758.
- [25] Sargent J, Bell G, McEvoy L, et al. Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish[J]. Aquaculture, 1999, 177(1-4):191-199.
- [26] Sargent J, McEvoy L, Estevezs A, et al. Lipid nutrition of marine fish during early development: Current status and future directions[J]. Aquaculture, 1999, 179(1-4):217-229.
- [27] Jiang X M, Peng R B, Luo J, et al. Analysis and evaluation of nutritional composition in different tissues of wild *Sepia lycidas* [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2012, 24(12):2393-2401. [蒋霞敏,彭瑞冰,罗江,等.野生拟目乌贼不同组织营养成分分析及评价.动物营养学报,2012,24(12):2393-2401.]
- [28] Hao Z L, Song J, Chang Y Q. Analysis and evaluation of main nutritive composition in the muscle of *Octopus variabilis* [J]. Acta Nutrimenta Sinica, 2011, 33(4):416-418. [郝振林,宋坚,常亚青.长蛸肌肉主要营养成分的分析及评价.营养学报,2011,33(4):416-418.]
- [29] Martins R S, Roberts J, Vida E A G, et al. Effects of temperature on yolk utilization by chokka squid (*Loligo reynaudii* d'Orbigny, 1839) paralarvae [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2010, 386(1-2):19-26.
- [30] Vidal E A G, Dimarco F P, Wormuth J H, et al. Influence of temperature and food availability on survival, growth and yolk utilization in hatchling squid [J]. Bulletin of Marine Science, 2002, 71(2):915-931.
- [31] Villanueva R, Koueta N, Riba J, et al. Growth and proteolytic activity of *Octopus vulgaris* paralarvae with different food rations during first feeding, using *Artemia* nauplii and compound diets [J]. Aquaculture, 2002(3-4):205:269-286.
- [32] García-García B, Aguado-Giménez F. Influence of diet on ongrowing and nutrient utilization in the common octopus (*Octopus vulgaris*) [J]. Aquaculture, 2002, 211(1-4):171-182.
- [33] Li Z, Jiang X M, Wang C L. Effects of diets on growth, survival and nutrient composition of cuttlefish *Sepiella maindroni* [J]. Journal of Dalian Fisheries University, 2007, 22(6):436-441. [李正,蒋霞敏,王春琳.饵料对曼氏无针乌贼幼体生长、成活率及营养成分的影响.大连水产学院学报,2007,22(6):436-441.]
- [34] Walton M J. Aspects of amino acid metabolism in teleost fish [M] // Cowey C B, Mackie A M, Bell J G, eds. Nutrition and feeding in fish, London: Academic Press, 1985, 47-67.
- [35] Iglesias J, Fuentes L, Sánchez L. First feeding of *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797 paralarvae using *Artemia*: Effect of prey size, prey density and feeding frequency [J]. Aquaculture, 2006, 261(2):817-822.
- [36] Koueta N, Boucaud-Camou E, Noel B. Effect of enriched natural diet on survival and growth of juvenile cuttlefish *Sepia officinalis* L [J]. Aquaculture 2002, 203(3):293-310.
- [37] Hamasaki T, Takeuchi T. Dietary value of *Artemia* with ω -yeast or shark eggs as food for planktonic larvae of *Octopus vulgaris* [J]. Saibai-Giken, 2001, 28:65-68.
- [38] Bell M V, Henderson R J, Pirie B J B, et al. Effects of dietary polyunsaturated fatty acid deficiencies on mortality, growth and gill structure in the turbot *Scophthalmus maximus* [J]. Journal of Fish Biology, 1985, 26(2):181-191.
- [39] Reitan K I, Rainuzzo J R, Olsen Y. Influence of lipid composition of live feed on growth, survival and

- pigmentation of turbot larvae [J]. *Aquaculture International*, 1994, 2(1) : 33 - 48.
- [40] Zhu J, Wang M, Li S Q. Effects of trace minerals in aquaculture [J]. *Feed Review*, 2012(6) : 41 - 43. [朱珏, 王敏, 李石强. 水产养殖中微量元素的作用. 饲料博览, 2012(6) : 41 - 43.]
- [41] Zheng X D, Yang J M, Wang H Y, *et al.* Analysis and evaluation of the nutritive composition of the ink of the golden cuttlefish *Sepia esculenta* [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2003, 38(4) : 32 - 35. [郑小东, 杨建敏, 王海艳, 等. 金乌贼墨汁营养成分分析及评价. 动物学杂志, 2003, 38(4) : 32 - 35.]
- [42] Chen X E. Study on nutritive composition of *Sepiella maindroni* ink [J]. *Journal of Zhejiang Ocean University: Natural Science*, 2000, 19(4) : 324 - 326. [陈小娥. 曼氏无针乌贼墨的主要营养成分研究. 浙江海洋学院学报: 自然科学版, 2000, 19(4) : 324 - 326.]
- [43] Dai H J, Chen D H. Research progresses on nutrition of Cephalopods [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2014, 26(3) : 1 - 8. [戴宏杰, 陈道海. 头足类营养研究进展. 动物营学报, 2014, 26(3) : 1 - 8.]
- [44] Decleir W, Lemaire J, Richard A. Determination of copper in embryos and very young specimen of *Sepia officinalis* [J]. *Marine Biology*, 1970, 5(3) : 256 - 258.

Analysis of nutritive composition of yolk of fertilized egg of *Sepia pharaonis*

PENG Ruibing, LE Kexin, JIANG Xiamin*, FENG Xun, WANG Yuan, HAN Qingxi
(College of Ocean, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: In order to provide a basis for the research and development of formulated cuttlefish feeds for juvenile cuttlefish, the nutrient composition was investigated in 800 yolks of fertilized eggs of *S. pharaonis*. The contents of moisture, ash, crude protein, crude fat, amino acids and fatty acids of yolk of *S. pharaonis* fertilized eggs were determined by adopting national standard method. The results showed as follows: The content of crude protein in yolk of fertilized eggs of *S. pharaonis* was 76.33% (dry weight basis), and the contents of total amino acid (TAA) and essential amino acids (EAA) were 71.22% and 32.38% (dry weight basis). The ratio of EAA to TAA was 45.46%, and Glu was 9.97%. The content of crude fat was 12.71% (dry weight basis). A total of 17 fatty acids were found, including 8 saturated fatty acids (SFA), 5 monounsaturated fatty acids (MUFA), and 4 polyunsaturated fatty acids (PUFA). And they accounted for 43.47%, 7.54% and 49.25% of total fatty acids, respectively. Moreover, the content of EPA and DHA in yolk was 32.80%, 7.70%, respectively. The ratio of EPA to DHA was 4.26. The yolk was rich in Ca, Mg, Zn and Al. The content of Zn, Al and Fe in yolk was 0.77, 0.71 and 0.43 mg/kg (fresh weight basis), respectively. In conclusion, the yolk of fertilized eggs of *S. pharaonis* has high contents of protein, low content of fat, various kinds and high contents of amino acids, and lots of PUFA, especially DHA. The formulated cuttlefish feeds should be high in protein, low in fat and rich in EAA and n-3 polyunsaturated fatty acids. For example, protein requirement is 76.33%, Lys requirement is 5.49%, fat requirement is 12.71%, DHA requirement is 4.17%, EPA requirement is 0.98%, and Cu requirement is 0.19 mg/kg, and Zn requirement is 2.77 mg/kg (dry weight basis).

Key words: *Sepia pharaonis*; yolk; amino acid; fatty acid; mineral element

Corresponding author: JIANG Xiamin. E-mail: jiangxiamin@nbu.edu.cn