

饲料蛋白质水平影响草鱼肝胰脏脂肪酸组成^{*}

曹俊明¹⁾ 关国强¹⁾ 郑文晖²⁾ 刘永坚¹⁾ 谭炳炎²⁾

(1) 中山大学生命科学学院, 广州 510275; 2) 中山医科大学)

摘 要 采用 3 种添加不同水平蛋白质的饲料饲养初始体重约 16 g 的草鱼, 60 d 后测定肝胰脏脂质含量和构成以及磷脂和中性脂质的脂肪酸组成. 高蛋白质饲料显著升高草鱼肝胰脏的脂质含量, 中性脂质积累显著增加. 肝胰脏磷脂 $n-6$ 和 $n-3$ 系列高度不饱和脂肪酸 (HUFA) 的相对含量均随饲料中蛋白质添加量的增加而显著升高, $20:4\ n-6/18:2\ n-6$ 和 $n-3\ HUFA/18:3\ n-3$ 比值亦分别相应上升. 实验结果表明, 饲料蛋白质添加水平的升高可促进草鱼肝胰脏高度不饱和脂肪酸的生物合成.

关键词 蛋白质, 饲料, 脂质含量, 脂肪酸组成, 肝胰脏, 草鱼

分类号 S 963

在哺乳动物, 饲料蛋白质添加水平显著影响肝脏脂肪酸去饱和酶的催化活性, 对高度不饱和脂肪酸生物合成的调节作用已经得到广泛研究^[1], 但在鱼类, 这方面的研究资料尚鲜见报道. 本研究室近年在研究草鱼营养性脂肪肝的发生和防治中, 观察到饲料蛋白质水平与肝胰脏脂质积累密切相关^[2], 并证实肝脏脂质的脂肪酸组成受饲料磷脂添加量的影响^[3]. 为了探讨饲料蛋白质对鱼类肝脏脂质代谢特别是对高度不饱和脂肪酸生物合成的影响, 本文分析了饲料蛋白质添加水平对草鱼肝胰脏脂质种类和脂肪酸组成的影响. 现将有关结果报告如下.

1 材料与方法

1.1 试验饲料 试验鱼和饲养

按表 1 所示的配方配制 3 种颗粒饲料 (粒径为 2 mm). 试验草鱼由本室鱼场提供, 平均体重为 15.7 g. 在室内循环流水过滤水族箱 (98 cm×48 cm×42 cm) 中进行饲养, 每种饲料设 3 个平行, 每个平行养鱼 30 尾. 水源为曝气去氯后的自来水, 水温平均为 28.2℃, 水中溶氧为 6.60 mg/L, pH 值为 8.70, 氨氮为 0.22 mg/L. 每天光照时间为 14 h. 草鱼试验前进行适应性驯养 1 周, 饲养期为 60 d, 按本实验室制定的饲养措施进行管理^[3].

1.2 样品采集、脂质提取和脂肪酸甲酯制备及分析

饲养结束时, 随机从每组取鱼 3 尾解剖分离肝胰脏 (胰脏弥散分布在肝脏中). 采用氯仿-甲醇混合液提取肝胰脏脂质, 通过 Sep-Pak 预混柱 (Waters, USA) 分离肝胰脏脂质为

* 国家自然科学基金 (39470102) 资助项目

收稿日期: 1997-02-21 曹俊明, 男, 35 岁, 副教授

磷脂和中性脂质^[4],并用甲醇钠酯化法制备脂肪酸甲酯混合物并加入十七酸甲酯作为内标物进行气相色谱分析.色谱分析条件为:色谱仪,GC-9A;记录仪,C-R3A积分仪;色谱柱,DEGS填充柱;检测器,氢火焰离子检测器(FID);温度参数,柱温195℃,FID温度260℃,进样口温度260℃;载气,高纯氮(35 mL/min);燃气,高纯氢.试验结果用平均数±标准差表示,采用Duncan's多重比较法分析平均数的差异显著性.

表 1 试验饲料的组成

Tab. 1 Composition of experimental diets

饲料的组成						营养成分分析					
成 份	组 1	组 2	组 3	成 份	组 1	组 2	组 3	成 份	组 1	组 2	组 3
酪蛋白	15.0	25.0	50.0	马铃薯淀粉	55.0	45.0	20.0	粗蛋白	13.2	21.4	40.1
玉米油:鱼肝油 ¹⁾	5.0	5.0	5.0	复合无机盐 ²⁾	8.0	8.0	8.0	粗脂肪	4.5	4.6	4.6
复合维生素 ³⁾	1.5	1.5	1.5	α-淀粉	2.0	2.0	2.0	水分	11.5	12.9	11.8
纤维素	13.0	13.0	13.0	维生素 C	0.5	0.5	0.5	灰分	7.9	7.7	8.3

1) w(脂肪酸) %: 16: 0, 13.2, 16: 1 n-7, 0.1; 18: 0, 2.5; 18: 1 n-9, 24.8, 18: 2 n-6, 55.1; 18: 3 n-3, 4.3. 2) w(复合无机盐) %: 磷酸二氢钙 12.29,乳酸钙 47.42,磷酸二氢钠 4.20,氯化钠 3.23,硫酸钾 16.38,氯化钾 6.58,硫酸亚铁 1.07,柠檬酸铁 3.83,硫酸镁 4.42,硫酸锌 0.47,硫酸锰 0.033,硫酸铜 0.022,氯化钴 0.043,碘化钾 0.022. 3) w(复合维生素) %: 氯化胆碱 5.55,肌醇 2.22, Vit C 1.11, 泛酸钙 0.83, Vit B₁ 0.22, Vit B₂ 0.56, Vit B₆ 0.06, Vit K 0.06,叶酸 0.02, Vit B₁₂ 0.012,生物素 0.006, 醋酸α-生育酚 0.44,纤维素 88.87

2 结 果

2.1 试验草鱼肝胰脏的脂质含量

摄食饲料 1 (组 1)、饲料 2 (组 2) 和饲料 3 (组 3) 3组草鱼肝胰脏总脂湿重含量 (w %) 分别为: 4.84±1.34, 5.08±0.51和 16.38±0.44, 其中组 3与前 2组相比分别呈现显著差异 (P<0.05). 3组草鱼肝胰脏磷脂占总脂的百分比分别为 14.2%, 22.2%和 8.9%, 组间差异显著. 而中性脂质占总脂的百分比在组 3比前 2组显著升高, 其数值分别为 85.7%, 77.8%和 91.1%.

2.2 草鱼肝胰脏脂质的脂肪酸组成

表 2报告了 3组试验草鱼肝胰脏磷脂和中性脂质的脂肪酸百分组成. 从表 2中磷脂部分可得, 肝胰脏磷脂含有 4种饱和脂肪酸 (SFA)、3种单不饱和脂肪酸 (MUFA)、6种 n-6多不饱和脂肪酸 (n-6 PUFA) 和 3种 n-3多不饱和脂肪酸 (n-3 PUFA). 3组草鱼的 SFA 以 16: 0和 18: 0为主, 总 SFA的最低值出现在组 3, 分别比前 2组降低约 14% 和 17%. MUFA主要包括 16: 1 n-7和 18: 1 n-9, 二者均以组 1为最高, 显著高于其余 2组, 其总 MUFA的变化趋势与此一致. n-6 PUFA以 18: 2, 20: 4和 22: 5 n-6为主, 后 2种属于高度不饱和脂肪酸 (HUFA), 其中, 20: 4 n-6和 22: 5 n-6均以组 3最高, 三组间存在显著差异. n-3 PUFA以 22: 6 n-3为主, 该脂肪酸的最高值出现在组 3. 分析肝胰脏磷脂 n-6 HUFA和 n-3 HUFA含量与饲料蛋白质水平之间的相关关系, 得到相关系数分别为 0.999 9和 0.999 7, 相关关系显著. 与磷脂相比, 表 2中 3组草鱼肝胰脏中性脂质的脂肪酸种类基本相似, 但含有更丰富的 MUFA, 其总 SFA和 PUFA含量降低, 并缺少 20: 5 n-3, 18: 0, 20: 1 n-9, 20: 2 n-6, 20: 3 n-6, 22: 4 n-6和 2种 n-3 PUFA的组间差异不

显著. 16∶ 0在组 3最高, 与组 2相比有显著差异, 但总 SFA的组间差异不显著. 16∶ 1 n -7和 18∶ 1 n -9均以组 2含量最低, 分别与另外 2组呈现显著差异, 其总 MUFA的数值高低顺序为组 1> 组 3> 组 2, 组间差异显著. 在 n -6 PUFA中, 仅见 18∶ 2 n -6和 20∶ 4 n -6存在组间差异, 二者均以组 2为最高, 其总 n -6 PUFA的变化趋势与此一致.

表 2 试验草鱼肝胰脏磷脂和中性脂质的脂肪酸组成

Tab. 2 Fatty acid composition of phospholipids and neutral lipids from grass carp hepatopancreas

脂肪酸	w(磷脂) %			w(中性脂质) %		
	组 1	组 2	组 3	组 1	组 2	组 3
饱和脂肪酸 (SFA)						
14∶ 0	0. 9± 0. 4	0. 3± 0. 04	0. 5± 0. 2	2. 4± 0. 03 ^a	1. 5± 0. 04 ^b	2. 4± 0. 06 ^a
16∶ 0	29. 6± 1. 1	29. 7± 4. 2	26. 6± 1. 2	17. 8± 0. 1 ^a	16. 0± 0. 1 ^b	19. 0± 0. 2 ^a
18∶ 0	14. 4± 0. 2 ^a	16. 4± 1. 5 ^a	12. 5± 0. 5 ^b	3. 1± 0. 07	3. 9± 0. 06	3. 5± 0. 02
20∶ 0	0. 6± 0. 01	0. 4± 0. 06	0. 3± 0. 02	0. 9± 0. 01 ^b	2. 2± 0. 03 ^a	0. 8± 0. 04 ^b
单不饱和脂肪酸 (MUFA)						
16∶ 1 n -7	3. 9± 0. 2 ^a	2. 1± 0. 4 ^b	2. 6± 0. 1 ^b	11. 2± 0. 02 ^a	6. 1± 0. 07 ^b	10. 3± 0. 1 ^a
18∶ 1 n -9	19. 7± 0. 2 ^a	14. 2± 0. 8 ^b	12. 8± 0. 5 ^b	44. 9± 0. 4 ^a	37. 0± 0. 2 ^a	42. 5± 0. 1 ^b
20∶ 1 n -9	0. 3± 0. 2	0. 6± 0. 1	0. 4± 0. 04	1. 2± 0. 05	0. 8± 0. 01	1. 5± 0. 07
n -6多不饱和脂肪酸 (n -6 PUFA)						
18∶ 2 n -6	5. 4± 0. 3	5. 8± 0. 1	4. 0± 0. 03	12. 4± 0. 1 ^b	20. 7± 0. 1 ^a	12. 0± 0. 1 ^b
20∶ 2 n -6	0. 3± 0. 1	0. 3± 0. 04	0. 6± 0. 3	0. 8± 0. 2	0. 6± 0. 3	0. 9± 0. 01
20∶ 3 n -6	0. 9± 0. 3	0. 6± 0. 1	1. 4± 0. 2	0. 9± 0. 2	1. 8± 0. 2	1. 1± 0. 3
20∶ 4 n -6	12. 1± 0. 5 ^a	14. 6± 0. 9 ^b	20. 5± 2. 7 ^a	2. 9± 0. 1 ^b	5. 7± 0. 2 ^a	3. 1± 0. 06 ^b
22∶ 4 n -6	/	0. 9± 0. 1	0. 4± 0. 1	/	0. 4± 0. 2	0. 1± 0. 02
22∶ 5 n -6	7. 3± 1. 1 ^b	8. 0± 2. 3 ^b	10. 6± 0. 4 ^a	0. 7± 0. 07	1. 6± 0. 2	0. 9± 0. 05
n -3多不饱和脂肪酸 (n -3 PUFA)						
18∶ 3 n -3	0. 6± 0. 1	0. 5± 0. 3	0. 6± 0. 3	0. 3± 0. 02	0. 4± 0. 07	0. 4± 0. 05
20∶ 5 n -3	0. 2± 0. 04	0. 2± 0. 1	0. 2± 0. 1	/	/	/
22∶ 6 n -3	2. 2± 0. 04 ^b	3. 4± 0. 5 ^b	6. 0± 0. 3 ^a	0. 1± 0. 06	1. 3± 1. 0	0. 3± 0. 1
其 他	2. 1± 0. 8	2. 6± 1. 8	1. 3± 0. 8	1. 4± 1. 1	1. 4± 1. 4	2. 6± 2. 6
SFA	45. 5± 1. 6	46. 9± 6. 2	40. 0± 2. 3	24. 2± 0. 6	23. 6± 1. 3	25. 6± 0. 6
MUFA	23. 9± 0. 4	16. 9± 0. 9 ^b	15. 8± 0. 9 ^b	56. 9± 0. 3 ^a	43. 6± 0. 6	53. 5± 0. 9 ^a
n -6 HUFA	20. 5± 0. 4	24. 3± 2. 1 ^b	33. 2± 1. 7 ^a	5. 4± 1. 1 ^b	10. 1± 1. 4 ^a	6. 1± 1. 2 ^a
n -3 HUFA	2. 3± 0. 1 ^a	3. 6± 0. 9 ^b	6. 3± 0. 7 ^a	2. 4± 0. 2	1. 9± 0. 1	2. 1± 0. 2

磷脂和中性脂质的数据分别进行比较. 磷脂和中性脂质中每种脂肪酸的 3个数据的右上角如标有不同的英文字母, 则相互之间的差异显著 ($P < 0. 05$)

2.3 草鱼肝脏脂质几种 (类) 脂肪酸比值

3组草鱼肝胰脏中性脂质 MUFA/SFA比值分别为 2. 4± 0. 2, 1. 9± 0. 1和 2. 1± 0. 2, 其组间差异不显著. 磷脂中 20∶ 4/18∶ 2 n -6比值在组 3显著升高, 分别比前 2组上升约 130%和 104%, 3组数值分别为 2. 2± 0. 1, 2. 5± 0. 4和 5. 2± 0. 6. 磷脂中 n -3 HUFA/18∶ 3 n -3比值在三组间存在显著差异, 其数值高低顺序为组 3 (10. 1± 1. 0) > 组 2 (7. 1± 0. 4) > 组 1 (3. 8± 0. 5).

3 讨 论

据报道,与在其他脊椎动物相似,饲料蛋白质和碳水化合物在鱼类可以转化生成脂质^[5],但由于鱼类利用碳水化合物能力较低,因此蛋白质的转化在鱼类脂质生成中占有重要地位,特别是在草鱼和杂食性鱼类表现更为明显^[2]。在本实验中,高蛋白质饲料显著升高草鱼肝胰脏的脂质含量,特别是中性脂质的积累大幅度增加,但低蛋白质和中蛋白质饲料之间的变化却不明显,这表明草鱼能够转化饲料蛋白质生成脂肪并贮存于肝脏中,当饲料蛋白质水平过高时则导致中性脂质不能被有效地转运到肝外器官而使肝脏脂质积累大量增加,严重时发生脂肪肝病变,这与哺乳动物肝脏脂质代谢紊乱的发生有较大区别。

饲料蛋白质对哺乳动物高度不饱和脂肪酸的生物合成具有重要的调节作用,明显影响动物组织对必需脂肪酸的生物利用率^[1]。在鱼类,尚缺乏有关多不饱和脂肪酸生物合成过程及其营养调控的系统资料。因此,本文主要通过分析草鱼肝胰脏脂肪酸组成的变化而间接反映饲料蛋白质添加水平对肝脏高度不饱和脂肪酸生物合成的影响。发现磷脂中 $n-6$ HUFA 和 $n-3$ HUFA 含量在三组之间存在显著差异,表明饲料蛋白质水平分别明显影响肝脏中这二类脂肪酸的生物合成。其中, $n-3$ HUFA 的升高幅度 (174%~75%) 高于 $n-6$ HUFA (62%~37%),这可能反映了象在哺乳动物一样,参与高度不饱和脂肪酸生物合成的有关酶类对这二类脂肪酸底物具有不同的亲和力^[6]。值得指出的是,中性脂质的脂肪酸组成没有出现上述变化,而 MUFA 含量在组间存在一定的差异。草鱼肝胰脏磷脂和中性脂质脂肪酸组成对饲料蛋白质添加所表现的不同反应特性说明,在鱼类与在哺乳动物相似,这二类脂质能反映体内脂肪酸生物合成的不同状态^[7]。据认为, MUFA/SFA 20: 4 $n-6$ /18: 2 $n-6$ 和 $n-3$ HUFA/18: 3 $n-3$ 比值可以分别间接反映哺乳动物 MUFA $n-6$ HUFA 和 $n-3$ HUFA 生物合成过程中有关酶类的活性。本实验结果表明,磷脂中 20: 4/18: 2 $n-6$ 和 $n-3$ HUFA/18: 3 $n-3$ 比值均随饲料蛋白质添加量的增加而显著升高,但中性脂质中 MUFA/SFA 比值变化不明显,这表明饲料高蛋白质水平能促进草鱼肝脏 $n-6$ 和 $n-3$ HUFA 的生物合成。至于其调节作用的机理及其所影响的具体酶类,则有待于通过 HUFA 生物合成的酶促反应加以进一步了解。

参 考 文 献

- 1 Bezard J, Blond J P, Bernard A, et al. The metabolism and availability of essential fatty acids in animal and human tissues. *Reprod Nutr Dev*, 1994, 34 539~ 568
- 2 Lin D, Mao Y Q, Cai F S. Nutritional lipid liver disease of grass carp *Ctenopharyngodon idellus* (C et V) Chin. *J Oceanol Limnol*, 1990 (8): 363~ 373
- 3 曹俊明,林鼎,劳彩玲,等. 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. *水产学报*, 1997, 21: 32~ 38
- 4 Juárez A, Rocquelin G. Rapid and convenient separation of phospholipid and non phosphorus lipids from rat heart using silica cartridges. *Lipids*, 1985, 28 40~ 41
- 5 Sargent J, Henderson R J, Tocher D R. *Fish Nutrition*. 2nd ed. In: Halver J E. San Diego, California Academic Press, 1989. 153~ 218
- 6 Brenner R R. Factors effecting fatty acid elongation and desaturation. In: Vergroesen A J, Crawford

- M A. The Role of Fats in Human Nutrition. 2nd ed. San Diego, California Academic Press, 1989. 45~ 80
- 7 Stubbs C D, Smith A D. The modification of mammalian polyunsaturated fatty acid composition in relation to membrane fluidity and function. Biochim Biophys Acta, 1984, 779 89~ 137

Effect of Different Dietary Levels of Protein on Lipid Fatty Acid Composition of Hepatopancreas in Grass Carp *Ctenopharyngodon idellus*

Cao Junming* Guan Guoqiang Zheng Wenhui Liu Yongjian Tan Bingyan

Abstract The lipid content and fatty acid composition of hepatopancreas in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*, C. et V.) with 15.7 g of initial weight were determined after feeding 60 days with 3 diets containing different levels of proteins respectively. The lipid content of hepatopancreas increased significantly when the fish were fed with the diet containing the highest level of protein. In phospholipids from hepatopancreas, the content of $n-6$ HUFA raised with the increase of the dietary level of protein and the same for that of $n-3$ HUFA, and ratio of $20:4\ n-6/18:2\ n-6$ and $n-3$ HUFA/ $18:3\ n-3$ also increased. The results indicated that the biosynthesis of $n-6$ HUFA and $n-3$ HUFA was obviously affected by the dietary level of protein.

Keywords protein, diet, fatty acid composition, hepatopancreas, grass carp

* School of Life Sciences, Zhongshan University, Guangzhou 510275