杂交鲍 *Haliotis discus hannai* × *Haliots discus discus* 体内食源性脂肪酸的标志分异

葛长字[1]，王海青[1]，毛玉泽[2]，黄瑶[2]，隋海东[2]
（1. 山东大学（威海）海洋学院，山东威海 264209）（2. 中国水产科学研究院黄海水产研究所，山东青岛 266071）

摘要：本文研究了底播增殖的杂交鲍的内脏团、肌肉和消化腺内的得到公认的几种食源性脂肪酸标志的分布特征，可为杂交鲍的长期食源的判别提供依据。同等大小的杂交鲍，其内脏团、消化腺和肌肉内的硅藻脂肪酸标志（∑C16/∑C18 和 C20:5n-3）之间无显著无差异；消化腺内的绿藻脂肪酸标志（C18:2n-6+C18:3n-3）显著高于肌肉中的（$p<5\%$）；肌肉中的褐藻脂肪酸标志（C20:4n-6）显著低于肌肉内的（$p<5\%$）；异养细菌脂肪酸标志（C18:1n-7/C18:1n-9）在同等大小的杂交鲍内脏团、消化腺和肌肉中无差异。内脏团脂肪酸标志受性腺发育的影响；肌肉内脂肪酸含量较低；消化腺中脂肪酸组成的季节变化由食物的季节变化所致且总脂含量较高。从影响脂肪酸组成的因素及测试方法的灵敏度来看，消化腺用于脂肪酸标志法判断杂交鲍的长期食源更适宜。

关键词：脂肪酸；鲍；消化腺；肌肉；内脏团
文章篇号：1673-9078(2014)7-27-30

Differentiation of Food-borne Fatty Acid Biomarkers in Hybrid Abalone *Haliotis discus hannai* and *Haliotis discus discus*

GE Chang-zi[1], WANG Hai-qing[1], MAO Yu-ze[2], HUANG Yao[2], SUI Hai-dong[2]
(1.Marine College, Shandong University, Weihai 264209, China)
(2.Yellow Sea Fisheries, Chinese Academy of Fishery Science, Qingdao 266071, China)

Abstract: To determine suitable tissue in hybrid abalone used for long-term food sources, distribution characteristics of food-borne fatty acid biomarkers in digestive gland, muscle and visceral mass of bottom-sowed hybrid abalone were investigated, which were useful to differentiate long-term food sources of hybrid abalone. There were no significant differences in diatom fatty acid biomarkers (∑C16/∑C18 and C20:5n-3) and heterotrophic bacteria fatty acid biomarkers (C18:1n-7/C18:1n-9) among visceral mass, digestive gland and muscle of hybrid abalone with similar body size. The *Chlorophyta* fatty acid biomarkers (C18:2n-6+C18:3n-3) in digestive gland was higher than that in muscle ($p<5\%$), while *Phaeophyta* fatty acid biomarker (C20:4n-6) had the opposite result to *Chlorophyta*. Fatty acid compositions in visceral mass were affected by the development of gonad; fatty acid content in muscle was low. Total fatty acid content in digestive gland was the highest, and the fatty acid composition varied with the seasonal differentiation of food sources. From points of factors influencing composition of fatty acids and measurement sensitivity, it was better to determine digestive gland as long-term food sources of abalone by fatty acid biomarkers analysis.

Key words: fatty acid; abalone; digestive gland; muscle; visceral mass

四大海鲜之首的鲍是中国传统的名贵食材。在盛产鲍的辽宁、山东省，杂交鲍 *Haliotis discus hannai*×*Haliotis discus discus* 是重要的增、养殖品种。鲍的生长、存活，尤其是其口感、风味、营养价值等与其长期食用的饵料密切相关。不同饵料长期饲喂的杂交鲍应有不同价格，以区分其价值。目前，仅依靠杂交鲍贝壳颜色粗略地判断其长期摄食的饵料，难免会导致错误，难以改变鲍市场鱼龙混杂的局面，难以保障鲍增、养殖业主及消费者的合法权益。因此，有必要准确判别杂交鲍的长期食源。

判断食源的方法主要有胃含物成分分析法[1]、粪便（包括滤食性贝类的假粪）成分分析法[2]、稳定性同位素示踪法[3]和脂肪酸标志法[4]等。前两种方法仅能确定动物在较短时间内的食物组成，结果的偶然性较大；稳定性同位素示踪法，能够克服上述方法的缺点，但需要昂贵的仪器设备进行检测；脂肪酸由于其代谢特征，能够反映动物较长时间内的食物组成，而且测

收稿日期：2014-01-16
基金项目："十二五"国家支撑计划项目（2011BAD13B02）；中国博士后基金项目（2013M541905）；山东大学（威海）海洋研究院海洋研究科研专项；山东大学研究生科研创新基金
作者简介：葛长字（1973-），男，博士，副教授，研究方向：海洋生态学

定方便。因此，脂肪酸标志法广泛用于海洋动物长期食源的判断。采用脂肪酸标志法分析食源时，要测定动物体内特定组织如刺参的体壁、双壳贝类的性腺、消化腺等组织的脂肪酸标志的相对含量。如果以脂肪酸标志法判别杂交鲍的长期食源，以什么组织作为测试对象？目前，对此所知不多。

本文以底播增殖杂交鲍为研究对象，测定其内脏团、消化腺和腹足肌肉中脂肪酸标志的相对含量，并统计分析其差异，判别什么组织更适合用于以脂肪酸标志为基础的食源分析，结果有助于准确判别杂交鲍的长期食源，为保障鲍增、养殖业主以及消费者的权益服务。

1 材料与方法

1.1 原料

杂交鲍由潜水员采集于崂山湾底播增殖杂交鲍的密集区域（36°7′-36°46′ N, 120°3′-120°53′ E）（表 1）。该区域水深 5~7 m，为始自 2008 年的人工鱼礁投放区，海域内无人工海藻床，大型藻类均为自然生长。人工鱼礁内底播增殖海参 *Apostichopus japonicus* 和杂交鲍 *H discus hannai* × *H discus discus*。杂交鲍被置于经脱脂棉过滤的原位海水中 24 h 以排出胃含物，随后解剖而获得腹足肌肉（简称肌肉）、消化腺和内脏团（腹足肌肉和消化腺以外的软体部）。在-20 ℃下保存这些组织以备测定脂肪酸相对含量（% of total fatty acid，简写为%）。测试前，杂交鲍组织需冷冻干燥至恒重并经组织研磨机研磨。

表 1 试验用杂交鲍

Table 1 Experimental hybrid abalone

个体类别	壳长/mm	带壳湿重/g
小型个体	70.29±6.08	43.70±8.43
中型个体	82.05±1.61	65.93±7.38
大型个体	86.77±3.74	74.26±6.42

1.2 脂肪酸标志及测定

得到广泛认可的脂肪酸标志主要有浮游生物、大型海洋植物、异养细菌等几类标志性脂肪酸。据鲍的脂肪酸组成和含量，ΣC16/ΣC18 和 C20:5n-3 作为硅藻脂肪酸标志[5~6]；（C18:2n-6+C18:3n-3）为大型绿藻脂肪酸标志[7]；C20:4n-6 为褐藻脂肪酸标志[8]；异养细菌的脂肪酸标志为 C18:1n-7/C18:1n-9[9]。

称取组织样品 300 mg，加入 1 mol/L KOH/甲醇 2 mL，加盖振荡，70~75 ℃水浴 10 min；冷却后，加 1 mol/L 三氟化硼/甲醇 3 mL，加盖振荡，70~75 ℃水浴 10 min；冷却后，加 2 mL 正己烷萃取，取上层有机相进行气相色谱分析。色谱条件为 HP-88 毛细管色谱柱（100 m×0.25 mm×0.2 μm），进样口温度 250 ℃，检测器温度 250 ℃；初始柱温 45 ℃，保持 1 min，以 25 ℃/min 速度升至 180 ℃，保持 5 min；以 1 ℃/min 速度升至 195 ℃，保持 3 min；以 1 ℃/min 速度升至 210 ℃，保持 5 min；再以 10 ℃/min 速度升至 220 ℃，保持 15 min。载气为高纯氦气，恒流模式，流速 0.8 mL/min。采用分流进样，分流比为 5:1，进样量为 1 μL，面积归一法确定脂肪酸含量。

1.3 统计分析

如满足方差齐性，用单因素方差分析研究不同组织间脂肪酸标志的差异。其中，多重比较采用 Bonferroni 检验；如果方差不齐，使用 Dunnett-T3 检验。显著性水平均为 5%。

2 结果与讨论

2.1 脂肪酸标志分布特征

同等大小的杂交鲍，其内脏团、消化腺和肌肉组织间的硅藻脂肪酸标志（C20:5n-3）的相对含量无显著差异（图 1）。ΣC16/ΣC18 在同等大小杂交鲍的内脏团、消化腺和肌肉组织中的差异也不显著（图 2）。从硅藻脂肪酸标志的角度看，内脏团、肌肉和消化腺均可以用作食源分析的备选组织。

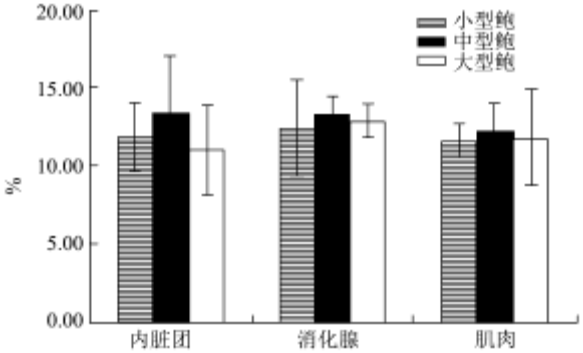


图 1 杂交鲍不同组织内硅藻脂肪酸标志（C20:5n-3）相对含量

Fig.1 Relative content of fatty acid biomarker of diatom (C20:5n-3) in different tissues of hybrid abalone

中、小型杂交鲍的绿藻脂肪酸标志（C18:2n-6+C18:3n-3）在消化腺内的相对含量高于肌肉内的（p<5%），两者均与内脏团内的绿藻脂肪酸标志的差异不显著；大型杂交鲍的绿藻脂肪酸标志在消化腺和内脏团内的差异不显著，且均高于在肌肉中的（p<5%）

（图 3）。

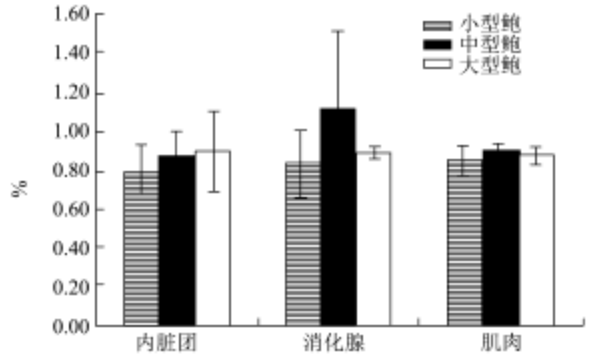


图 2 杂交鲍不同组织内硅藻脂肪酸标志∑C16/∑C18

Fig.2 Fatty acid biomarker of diatom (∑C16/∑C18) in different tissues of hybrid abalone

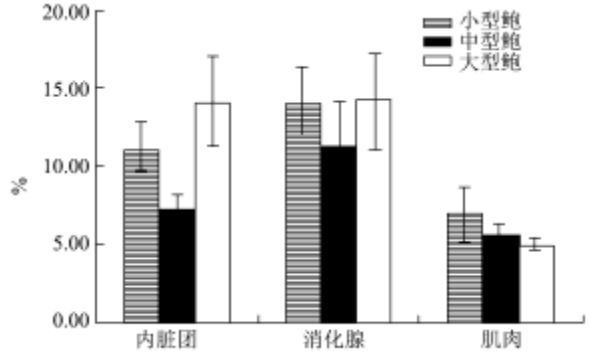


图 3 杂交鲍不同组织内绿藻脂肪酸标志（C18:2n-6+C18:3n-3）相对含量

Fig.3 Relative content of fatty acid biomarker of *Chlorophyta* (C18:2n-6+C18:3n-3) in different tissues of hybrid abalone

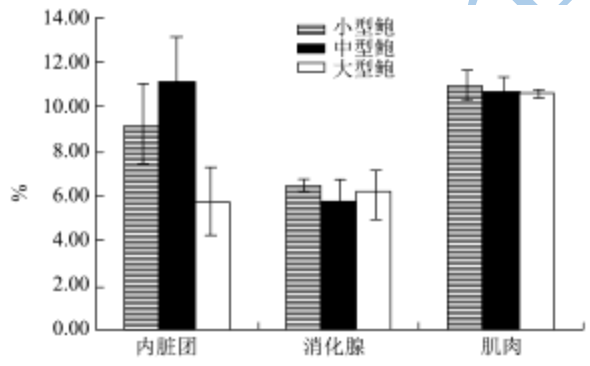


图 4 杂交鲍不同组织内褐藻脂肪酸标志（C20:4n-6）相对含量

Fig.4 Relative content of fatty acid biomarker of *Phaeophyta* (C20:4n-6) in different tissues of hybrid abalone

褐藻脂肪酸标志（C20:4n-6）在杂交鲍的内脏团、消化腺和肌肉中的分布不同于绿藻脂肪酸标志和硅藻脂肪酸标志的（图 4）。小型杂交鲍的消化腺中的褐藻脂肪酸标志的相对含量和内脏团中的相差不大，而显著低于肌肉组织的（$p<5\%$）；中型杂交鲍的肌肉和内脏团中的褐藻脂肪酸标志的相对含量差异不大，两者均显著高于消化腺中的（$p<5\%$）；大型杂交鲍的消化腺和内脏团中的褐藻脂肪酸标志相对含量相差不大，两者均显著低于肌肉组织中的（$p<5\%$）。

和硅藻脂肪酸标志（C20:5n-3 和∑C16/∑C18）一样，同等个体的杂交鲍的异养细菌脂肪酸标志（C18:1n-7/C18:1n-9）在内脏团、消化腺和肌肉中的没有显著性差异（图 5）。从异养细菌脂肪酸标志的角度看，内脏团、肌肉和消化腺均可以用作食源分析的备选组织。

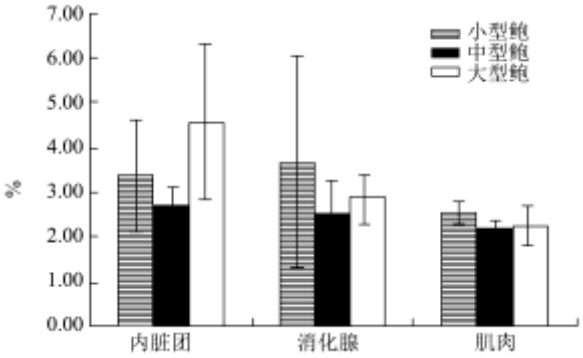


图 5 杂交鲍不同组织内异养细菌脂肪酸标志（C18:1n-7/C18:1n-9）

Fig.5 Fatty acid biomarker of heterotrophic bacteria (C18:1n-7/C18:1n-9) in different tissues of hybrid abalone

2.2 脂肪酸标志分布原因

脂肪酸相对含量及脂肪酸相对含量之间的比值反映了脂肪酸的组成。本研究结果显示杂交鲍 *H discus hannai* × *H discus discus* 体内脂肪酸组成和脂肪酸在皱纹盘鲍 *H discus hannai* 组织内的分布特征类似，即不同组织内脂肪酸的组成存在差异[10]。脂肪是卵黄积累的原料，为贝类生殖的活动等提供能量；脂类一般来自于体外，最先接触食物的内脏团和消化腺更容易积累脂类，因此，贝类的性腺（包含于内脏团）和消化腺是贝类储存脂质的重要器官。如果用脂肪酸作为标志判断鲍的食源，内脏团、肌肉和消化腺均可以作为备选组织。

内脏团包含性腺，性腺内脂肪的积聚及脂肪酸的组成与性腺发育有关。脂肪酸除了为性细胞发育提供营养物质外，尚参与细胞识别[11]。因此，不同发育阶段的性腺内的脂肪酸组成会有较大的差异。如果以内脏团内的脂肪酸作为标志判断鲍的长期食源会受性腺发育的影响。

鲍的肌肉中总脂含量少于性腺和消化腺的，消化腺内脂肪含量是肌肉组织的 8~60 倍[12]。本研究中，如以消化腺和肌肉组织中总脂的比例为 2 估算脂肪酸含量，消化腺中的褐藻脂肪酸含量和肌肉中的就不存在差异。此外，在鲍的食源匮乏而无法进行食物选择

时，内脏块（文献作者所指的内脏块是鲍腹足之外的软体部，区别本文的内脏团）的脂肪酸的种类数要高于肌肉组织中[13]，意味着食物的匮乏更容易导致脂肪酸在肌肉中缺失。每一种测试方法均有其测定下限[14]，脂肪含量高意味着更容易测出其中的脂肪酸。鲍肌肉部分为低脂肪高蛋白部位，因此，选用肌肉组织作为脂肪酸标志法判断鲍的食源会受测试方法的测试下限及海域食物丰歉的影响。

鲍的消化腺于鲍的面盘幼虫早期出现，其主要功能是内吞、胞内消化，分泌及储存营养物质。食物中脂肪酸的组成影响消化腺中脂肪酸的组成，天然食物的丰度具有季节性，鲍的消化腺在发育成熟后不会发生季节性变化。因此，鲍消化腺中脂肪酸组成的季节变化是由食物的季节变化所致。此外，消化腺中的总脂含量较高。因此，从影响脂肪酸组成的因素及测试方法的灵敏度来看，选用消化腺用于脂肪酸标志法判断鲍的食源更为适宜。

3 结论

脂肪酸标志在杂交鲍肌肉、内脏团和消化腺内的组成存在差异。肌肉、内脏团和消化腺均可以作为脂肪酸标志法食源分析的备选组织。选用内脏团作为脂肪酸标志法判断鲍的食源会受性腺发育的影响。用肌肉组织作为脂肪酸标志法判断鲍的食源会受测试方法的测试下限及海域食物丰歉的影响。鲍消化腺中脂肪酸组成的季节变化是由食物的季节变化所致。此外，消化腺中的总脂含量较高。因此，从影响脂肪酸组成的因素及测试方法的灵敏度来看，选用消化腺用于脂肪酸标志法判断鲍的长期食源更为适宜。

参考文献

[1] Varela J L, Rodríguez-Marín E, Medina A. Estimating diets of pre-spawning Atlantic bluefin tuna from stomach content and stable isotope analyses [J]. Journal of Sea Research, 2013, 76: 187-192

[2] Boyer S, Yeates G W, Wratten S D, et al. Molecular and morphological analyses of faeces to investigate the diet of earthworm predators: Example of a carnivorous land snail endemic to New Zealand [J]. Pedobiologia, 2011, 54S: 153-158

[3] Alfaro A C, Thomas F, Sergent L, et al. Identification of trophic interactions within an estuarine food web (northern New Zealand) using fatty acid biomarkers and stable isotopes [J]. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 2006, 70: 271-286

[4] 金鑫,李超伦,孙松,等.基于脂肪酸标记的长江口海区浮游动物常见种食性分析[J].海洋与湖沼,2013,43(6):1083-1090
JIN Xin, LI Chao-lun, SUN Song, et al. The diet of the common zooplankton species in Changjiang Estuary adjacent sea revealed by fatty acid analysis [J]. Oceanologica et Limnologia Sinica, 2013, 43(6): 1083-1090

[5] Reuss N, Poulsen L. Evaluation of fatty acids as biomarkers for a natural plankton community: A field study of a spring bloom and a post-bloom period off West Greenland [J]. Marine Biology, 2002, 141(3): 423-434

[6] Ward J N, Pond D W, Murray J W. Feeding of benthic foraminifera on diatoms and sewage-derived organic matter: an experimental application of lipid biomarker techniques [J]. Marine Environmental Research, 2003, 56: 515-530

[7] Khotimchenko S V, Vaskovsky V E, Titlyanova T V. Fatty acids of marine algae from the Pacific coast of North California [J]. Botanica Marina, 2002, 45: 17-22

[8] Cook E J, Bell M V, Black K D, et al. Fatty acid compositions of gonadal material and diets of the sea urchin, Psammechinus miliaris: trophic and nutritional implications [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2000, 255: 261-274

[9] 许强,杨红生,王红,等.桑沟湾养殖栉孔扇贝食物来源研究-脂肪酸标志法[J].海洋科学,2007,31(9):78-84
XU Qiang, YANG Hong-sheng, WANG Hong, et al. Food sources of cultured scallop *Chlamys* farreri in Sanggou Bay: Indicated by fatty acid biomarkers [J]. Marine Science, 2007, 31(9): 78-84

[10] 陈炜,孟宪治,陶平.2 种壳色皱纹盘鲍营养成分的比较[J].中国水产科学,2004,11(4):367-370
CHEN Wei, MENG Xian-zhi, TAO Ping. Comparative studies on nutritional composition of abalone Haliotis Discus hannai between two shell-color stocks [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2004,11(4):367-370

[11] Saavedra M, Masdeu M, Hale P, et al. Temporary removal: Dietary fatty acid enrichment increases egg size and quality of yellow seahorse Hippocampus kuda [J]. Animal Reproduction Science, 2013, in press

[12] Mateos H T, Lewandowski P A, Su X Q. Seasonal variations of total lipid and fatty acid contents in muscle, gonad and digestive glands of farmed Jade Tiger hybrid abalone in Australia [J]. Food Chemistry, 2010, 123: 436-441

[13] 王左,童圣英,袁松年.在人工养殖和天然生长条件下对虾和鲍鱼中蛋白质及脂质组分的研究[J].大连水产学院学报,1989,4(2):27-32
WANG Zuo, TONG Sheng-ying, YUAN Song-nian. A

study on components of protein and lipids in prawn and haljotis under cultural and natural condition [J]. Journal of Dalian Fisheries College, 1989, 4(2): 27-32

[14] 刘冬豪.气相色谱法测定配方奶粉中的脂肪酸和反式脂肪酸[J].现代食品科技,2012,28(6):716-719

LIU Dong-hao. Determination of cis and trans fatty acids in formula powders by GC [J]. Modern Food Science and Technology, 21012, 28(6): 716-719

现代食品科技