

大型溞的营养成分分析及其作为渔用饲料原料的潜在利用价值

冯悦^{1,2,3}, 黄仲园^{1,2,3}, 华雪铭^{1,2,3*}, 何文辉⁴,
彭自然⁴, 蔡清洁⁵, 刘玉超⁵

(1. 农业部鱼类营养与环境生态研究中心, 上海海洋大学, 上海 201306;

2. 农业部淡水水产种质资源重点实验室, 上海海洋大学, 上海 201306;

3. 水产科学国家级实验教学示范中心, 上海海洋大学, 上海 201306;

4. 上海海洋大学海洋生态与环境学院, 上海 201306;

5. 上海太和水环境科技发展有限公司, 上海 200433)

摘要: 为了评估大型溞在渔用饲料中的营养价值, 测定了不同季节人工培养的大型溞和夏季污水中大型溞风干样的营养成分与重金属含量。结果显示, 各季节人工培养的大型溞水分含量存在显著的季节差异, 冬季最高为5.14%, 夏季最低为2.51%; 夏季污水中大型溞水分含量(9.12%), 显著高于人工培养的大型溞。人工培养的大型溞粗蛋白含量为30.93%~50.21%, 在不同的季节也存在显著性差异, 冬季人工培养、夏季污水中大型溞粗蛋白含量显著高于其他组。大型溞的15种氨基酸含量在各季节中差异显著, 冬季最高(36.65%), 夏季最低(24.74%); 夏季污水中氨基酸含量为41.79%, 9种必需氨基酸占22.15%, 赖氨酸含量达到3.4%, 蛋氨酸的含量为1.14%, 苏氨酸含量为2.45%。大型溞粗脂肪含量随季节变化差异显著, 冬季最高(18.88%), 秋季最低(4.19%), 夏季污水与冬季人工培养的大型溞无显著性差异。秋季人工培养的大型溞与夏季污水大型溞必需脂肪酸含量最高, 为17%左右, 所有大型溞中均没有检测到花生四烯酸和亚麻酸。重金属铬、铜和锌、铅最高含量分别出现在夏季污水、秋季、春季、夏季人工培养大型溞; 夏季污水和冬季人工培养大型溞中未检测到铅元素, 所有大型溞中均没有检测到镉元素。除铬外, 铜、铅、砷和锌的最低含量均出现在夏季污水大型溞中。研究表明, 大型溞蛋白质、脂肪营养丰富, 而夏季污水大型溞必需氨基酸和必需脂肪酸营养价值普遍高于人工培养的大型溞, 且重金属潜在毒性较低, 作为渔用饲料蛋白源进行资源化利用的可行性更高。

关键词: 大型溞; 资源化利用; 营养成分; 毒性

中图分类号: S 963.21*4

文献标志码: A

大型溞(*Daphnia magna*) 属于节肢动物门(Arthropoda)、甲壳纲(Crustacea)、枝角类(Cladocera)、溞属(*Daphnia*), 是常见的小型浮游甲壳动物, 对水环境胁迫非常敏感^[1]。由于其具有营养丰富、生殖量高、易培养等特点, 因此成为鱼、

虾、蟹类苗种培育中活饵料的理想对象^[2], 同时又是水生生态系统中物质循环和能量流动的重要环节^[3]。内陆湖泊水体富营养化引起藻类(大多数情况是蓝藻)的快速生长繁殖, 所形成的“水华”已经造成灾害性后果, 控制藻类的过度生长繁

收稿日期: 2017-08-31 修回日期: 2017-12-07

资助项目: 水体污染控制与治理科技重大专项子课题(2014ZX07101-012-04)

通信作者: 华雪铭, E-mail: xmhua@shou.edu.cn

殖是水环境治理的重要内容^[4]。大型溞作为湖泊、水库最常见的重要大型浮游动物,对藻类具有较强的摄食力,且生长、繁殖能力强,优势种时间长,在控制藻类过度增殖方面具有很好的应用前景^[5]。

已有的大型溞研究,主要关注温度、光照、食物条件及种群密度等环境条件对其生长与生殖的影响^[6-10]。而在水体富营养化条件下,在发挥大型溞控藻作用的同时,加强对其资源化利用,减少其代谢产物及尸体在水体及底泥中的沉积将大大提高大型溞的利用附加值。众所周知,大型溞是理想的活饵料,但存在占用空间大(大型溞活饵中水分为90%左右)、运输成本高、保存条件高(低温)等缺点,若不能及时使用大型溞活饵料,且保存条件又得不到保障,则将造成大型溞的变质,或引起水体二次污染。因此,及时收集富营养化水体中的大型溞,干燥处理后作为饲料原料使用是对其进行资源化利用的一个重要方向。与生物饵料相比,冻干后的饵料不失饵料原有的骨架结构,既能够保持原有的形态,也能最大限度地保持生物饵料的色、香、味及营养成分,并且其复水性好、重量轻、保质期长,便于运输和保存。因此,本研究首次就不同季节人工培养的大型溞以及污水中的大型溞风干样品进行氨基酸、脂肪酸、重金属毒性等多种有效成分的检测,旨在评价其在水产养殖中的潜在利用价值,从而为富营养化水体中大型溞的资源化利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用大型溞从2015年8月开始,分别于春夏秋冬四季取自上海朱行基地的人工培养土池,夏季污水中的大型溞取自于江苏盐城聚龙湖。沥干表层水后,将鲜活样品置于60℃烘箱中,5h后得到风干样品,粉碎,用60目筛网过筛后,置于-20℃冰箱保存待测。

1.2 实验设计

比较人工培养土池中不同季节的大型溞的营养成分,包括概略营养成分、氨基酸和脂肪酸,同时与夏季污水中的大型溞进行比较。根据NY5072-2002无公害食品渔用配合饲料安全限

量,对所有样品进行铬、铜、锌、砷、铅、镉等重金属元素的检测分析。

1.3 检测方法

大型溞概略营养成分的测定参照AOAC(2000)的方法^[11]。其中,水分采用105℃烘箱干燥恒重法测定;粗蛋白含量采用凯氏定氮法(总氮 $\times 6.25$)测定;粗脂肪含量采用氯仿甲醇提取法测定;灰分含量采用马弗炉550℃高温灼烧法测定。重金属含量的测定将样品用盐酸/硝酸(王水)混合溶液经电热板或微波消解仪消解后,用电感耦合等离子体质谱仪进行检测。氨基酸经盐酸水解后用氨基酸分析仪(ModelS7130, Sykmm)测定(GB/T 18246-2000)。脂肪酸绝对含量用高效气相色谱仪(Models 7890A GC and 5975C GC/MS;Agilent, Santa Clara, CA, USA)测定,具体步骤参照Huang等^[12]。

1.4 数据处理

实验数据均以平均值 \pm 标准差(mean \pm SD)表示,用SPSS17.0分析软件进行单因素方差分析(One-Way ANOVA),如果影响显著,再采用Duncan氏法进行多重比较, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果

2.1 大型溞的概略营养成分

季节对大型溞粗蛋白、粗脂肪、水分和灰分的含量有显著影响($P < 0.05$)(表1)。人工培养的冬季大型溞粗蛋白和粗脂肪含量最高,分别为50.21%和19.88%;夏季大型溞灰分含量最高,为43.79%。夏季污水中的大型溞粗蛋白和粗脂肪含量与人工培养的冬季大型溞最为接近,但水分含量和灰分含量分别是所有实验组中最高和最低的。

2.2 大型溞的氨基酸组成

人工培养的春夏秋冬四季大型溞和夏季污水中的大型溞共测得15种氨基酸,其总含量分别占风干样的32.14%、24.74%、34.06%、36.65%、41.79%,各组间存在显著差异,最高组为夏季污水组大型溞,最低组为人工培养的夏季大型溞(表2)。人工培养的春夏秋冬大型溞以及夏季污水大型溞9种必需氨基酸的总含量分别为16.55%、12.57%、17.38%、19.49%和22.15%,各

表 1 不同季节大型溞概略成分分析(风干基础)
Tab. 1 Proximate analysis of *D.magna* in different seasons (air dry basis) %

		粗蛋白 crude protein	粗脂肪 crude lipid	水分 moisture	灰分 ash
人工培养 artificial-cultivation	春季 spring	43.85±0.39 ^b	9.23±0.24 ^c	3.84±0.28 ^b	29.35±0.26 ^c
	夏季 summer	30.93±1.35 ^a	6.27±0.95 ^b	2.51±0.11 ^a	43.79±1.61 ^d
	秋季 autumn	46.77±0.60 ^c	4.19±0.48 ^a	4.15±0.09 ^b	27.98±1.90 ^c
	冬季 winter	50.21±1.03 ^d	19.88±0.72 ^d	5.14±0.30 ^c	16.02±0.21 ^b
污水 sewage	夏季 summer	49.39±2.34 ^d	19.65±0.44 ^d	9.12±0.26 ^d	9.47±0.03 ^a

注: 同列数据不同字母表示差异显著($P<0.05$), 表3, 表5同

Notes: different letters in the same column meant significant difference ($P<0.05$), the same below as Tab.3 and Tab.5

表 2 不同季节及污水组大型溞氨基酸含量分析(风干基础)
Tab. 2 Content of amino acids of *D.magna* in different seasons and sewage(air dry basis) %

氨基酸 amino acid	人工培养 artificial-cultivation				污水 sewage	
	春季 spring	夏季 summer	秋季 autumn	冬季 winter	夏季 summer	
必需氨基酸 EAA						
苏氨酸 Thr	1.85±0.01 ^b	1.41±0.01 ^a	1.98±0.02 ^c	2.06±0.03 ^d	2.45±0.06 ^c	
缬氨酸 Val	1.98±0.04 ^b	1.48±0.01 ^a	2.13±0.08 ^c	2.49±0.01 ^d	2.80±0.06 ^c	
蛋氨酸 Met	0.90±0.04 ^b	0.59±0.02 ^a	0.89±0.01 ^b	1.06±0.02 ^c	1.14±0.05 ^d	
异亮氨酸 Ile	1.61±0.06 ^b	1.26±0.02 ^a	1.78±0.01 ^c	1.97±0.02 ^d	2.23±0.05 ^c	
亮氨酸 Leu	2.74±0.11 ^b	2.10±0.06 ^a	2.97±0.04 ^c	3.25±0.05 ^d	3.76±0.07 ^c	
苯丙氨酸 Phe	1.62±0.01 ^b	1.22±0.02 ^a	1.81±0.02 ^c	1.91±0.04 ^d	2.24±0.06 ^c	
组氨酸 His	0.96±0.04 ^b	0.85±0.01 ^a	1.15±0.00 ^d	1.03±0.04 ^c	1.15±0.05 ^d	
赖氨酸 Lys	2.68±0.00 ^b	2.23±0.01 ^a	2.62±0.02 ^b	3.17±0.04 ^c	3.40±0.08 ^d	
精氨酸 Arg	2.21±0.05 ^c	1.42±0.01 ^a	2.05±0.03 ^b	2.55±0.03 ^d	2.99±0.07 ^c	
非必需氨基酸 NEAA						
天冬氨酸 Asp*	3.37±0.04 ^b	2.61±0.00 ^a	3.58±0.04 ^c	3.49±0.05 ^c	4.19±0.09 ^d	
丙氨酸 Ala*	2.25±0.02 ^b	1.75±0.01 ^a	2.40±0.03 ^c	2.79±0.04 ^d	3.02±0.02 ^c	
谷氨酸 Glu*	4.73±0.04 ^b	3.71±0.02 ^a	4.87±0.05 ^c	5.35±0.09 ^d	5.81±0.13 ^c	
甘氨酸 Gly*	1.86±0.01 ^b	1.54±0.01 ^a	2.22±0.03 ^d	2.11±0.02 ^c	2.28±0.03 ^c	
丝氨酸 Ser	1.77±0.01 ^c	1.37±0.01 ^a	1.82±0.02 ^d	1.54±0.03 ^b	2.23±0.05 ^c	
酪氨酸 Tyr	1.62±0.02 ^b	1.20±0.02 ^a	1.81±0.02 ^c	1.88±0.03 ^d	2.10±0.06 ^c	
鲜味氨基酸 umami taste amino acid	12.21±0.11 ^b	9.61±0.04 ^a	13.07±0.15 ^c	13.75±0.19 ^d	15.30±0.24 ^c	
总氨基酸 TAA	32.14±0.49 ^b	24.74±0.21 ^a	34.06±0.31 ^c	36.65±0.49 ^d	41.79±0.68 ^c	
总必需氨基酸 TEAA	16.55±0.35 ^b	12.57±0.15 ^a	17.38±0.17 ^c	19.49±0.24 ^d	22.15±0.36 ^c	
总非必需氨基酸 TNEAA	15.60±0.14 ^b	12.18±0.07 ^a	16.71±0.19 ^c	17.17±0.25 ^d	19.63±0.33 ^c	

注: *大型溞风干样品中检测到的鲜味氨基酸, 同行不同字母表示差异显著 ($P<0.05$), 表4同

Notes: * the umami taste amino acids of *D.magna* in different seasons (air dry basis), different letters in the same line meant significant difference($P<0.05$), the same below as Tab.4

组之间存在显著性差异, 最高组为夏季污水组
大型溞, 最低组为人工培养的夏季大型溞。污

水大型溞中的9种必需氨基酸含量均分别高于人
工培养的大型溞所对应的必需氨基酸含量。测

定的4种鲜味氨基酸(天冬氨酸、丙氨酸、谷氨酸和甘氨酸)的总量,夏季污水组最高,为15.30%,其中谷氨酸含量最高,占风干样品的5.81%。

必需氨基酸指数(EAAI)是指实验蛋白质或饲料蛋白质中各必需氨基酸量与标准蛋白质中相应的各种氨基酸含量之比的几何平均数。以所喂养动物蛋白为参比,分析采购饲料的EAAI值,可以判定该饲料的营养价值。

夏季污水中的大型溞EAAI最大,显著高于其他组;最小的为人工培养的夏季大型溞;夏季污水中大型溞EAAI高于豆粕,低于鱼粉($P < 0.05$)(表3)。

表3 不同季节大型溞必需氨基酸指数分析

Tab. 3 EAAI of *D.magna* in different seasons

		季节变化 seasonal change	必需氨基酸指数 EAAI
人工培养 artificial-cultivation	春季	spring	40.38±0.89 ^b
	夏季	summer	30.52±0.45 ^a
	秋季	autumn	42.77±0.46 ^c
	冬季	winter	47.91±0.58 ^d
污水 sewage	夏季	summer	53.99±1.05 ^e
鲱鱼粉(65.4%粗蛋白)	anchovy meal		74.94
豆粕(44%粗蛋白)	soybean meal		47.73

2.3 大型溞脂肪酸组成

人工培养的春夏秋冬和夏季污水大型溞均检测到EPA、DHA、亚油酸3种必需脂肪酸,总必需脂肪酸含量分别为9.1%、12.56%、17.07%、15.65%和17.00%,其中秋季和污水组差异不显著,且显著高于其他各组($P < 0.05$)(表4)。必需脂肪酸中,冬季大型溞高不饱和脂肪酸(HUFA)(EPA和DHA)显著高于其他组;秋季、冬季大型溞EPA含量显著高于其他组。夏季污水组大型溞亚油酸含量最高,为13.33%,但EPA与DHA均较低,分别为3.6%、0.07%。

人工培养的春季大型溞中铜和锌含量最高,夏季大型溞铅含量最高,在冬季和污水大型溞中没有检测到铅元素;污水组铬的含量最高;所有大型溞均没有检测到镉元素。除铬外,铜、铅、砷和锌的最低含量均出现在夏季污水组大型溞中(表5)。

3 讨论

3.1 不同季节及水环境对大型溞概略营养成分的影响

蛋白质和脂肪是水产动物生长和发育的必需营养素,对水产动物的生长、摄食、消化吸收和体组成等有着重要的影响^[13]。已有的研究表明,枝角类营养丰富,易培养^[14],含有鱼类和其他水生动物所需的必需氨基酸、脂肪酸,还含有丰富的维生素和矿物质。有关枝角类作为生物活饵料的研究很多,而将枝角类制备成风干样粉料用作饲料原料的研究还不深入。在本实验中发现,大型溞的概略营养成分随季节变化较大,其中粗蛋白含量和粗脂肪含量以夏季污水和人工培养的冬季大型溞最高。有研究指出,浮游动物通常消耗自然水域中的藻类、真菌、细菌和颗粒有机物^[15],因此,枝角类的产生、体组成、种群的生长、密度和群体倍增时间会受到食物类型的影响^[16-17]。由此可见,本研究中大型溞概略营养成分变化较大可能是因为不同季节的大型溞所处的外界环境、食物种类和数量不同所致。污水中有机悬浮物含量高,藻类暴发,水体中氮磷含量高,都可能导致大型溞粗脂肪和粗蛋白含量升高。根据NRC标准,富含蛋白且粗蛋白含量超过35%的原料称之为蛋白源,本研究中除夏季人工培养的大型溞之外,其余的大型溞都达到了蛋白源的标准,但粗蛋白含量不如鱼粉高,粗脂肪含量高于鱼粉及其他饲料蛋白源。灰分含量是衡量饲料产品和饲料原料中矿物质营养成分的重要指标。本研究中,大型溞灰分含量为9.47%~43.79%,其变化范围之大提示在饲料中使用,需充分考虑与其他原料的搭配。饲料中的水分影响饲料的生产成本和质量,实验中所使用的大型溞均是采用相同的工艺得到的风干样,但水分含量为2.51%~9.12%,变化范围较大,说明制备工艺还有改进的空间。由于大型溞脂肪含量高,需更加注意储存条件,必要时可加入适量抗氧化剂以防氧化。

3.2 大型溞的蛋白质质量及诱食性

蛋白质作为渔用配合饲料中最重要的营养物质,不仅能够提供水产动物合成蛋白质的氨基酸,还能提供机体生长代谢所需的能量^[18]。许多

表 4 不同季节及污水组大型蚤的脂肪酸组成(风干基础)
 Tab. 4 Fatty acid composition of *D. magna* in different seasons and sewage (air dry basis) %

脂肪酸 fatty acid	人工培养 artificial-cultivation				污水 sewage	
	春季 spring	夏季 summer	秋季 autumn	冬季 winter	夏季 summer	
C14:0	10.46±0.65 ^c	5.16±0.17 ^d	2.14±0.25 ^b	3.92±0.03 ^c	1.47±0.02 ^a	
C14:1	1.09±0.12 ^c	0.39±0.05 ^b	0.00±0.00 ^a	1.03±0.09 ^c	1.10±0.04 ^c	
C16:0	23.35±0.47 ^d	20.34±0.44 ^c	17.29±0.61 ^b	24.82±0.28 ^c	15.20±0.44 ^a	
C16:1	19.52±0.25 ^c	22.26±1.22 ^d	3.56±0.28 ^a	23.75±0.45 ^c	8.37±0.26 ^b	
C17:0	0.76±0.15 ^a	1.07±0.31 ^a	1.09±0.09 ^a	0.77±0.02 ^a	0.94±0.63 ^a	
C17:1	0.95±0.59 ^b	0.46±0.03 ^{ab}	0.00±0.00 ^a	0.78±0.02 ^b	0.22±0.01 ^a	
C18:0	3.03±0.08 ^a	5.68±0.26 ^c	6.02±0.32 ^c	2.72±0.11 ^a	4.47±0.26 ^b	
C18:1n-9t	0.17±0.05 ^a	0.59±0.70 ^a	0.00±0.00 ^a	0.55±0.05 ^a	0.40±0.06 ^a	
C18:1n-9c	20.33±1.22 ^a	23.28±1.84 ^b	32.78±2.33 ^c	20.43±0.32 ^a	22.20±0.49 ^{ab}	
C18:2n-6t	0.08±0.06 ^a	0.10±0.06 ^a	0.52±0.47 ^b	0.07±0.03 ^a	0.05±0.02 ^a	
C18:2n-6c	5.57±0.06 ^a	8.73±0.39 ^b	9.03±1.19 ^b	8.37±0.14 ^b	13.28±0.07 ^c	
C20:0	0.24±0.06 ^b	0.13±0.04 ^{ab}	0.00±0.00 ^a	0.19±0.22 ^{ab}	0.08±0.01 ^{ab}	
C20:1n-9	9.21±0.54 ^b	5.36±0.11 ^a	11.66±2.47 ^c	3.29±0.05 ^a	26.62±0.45 ^d	
C20:2	0.06±0.01 ^a	0.08±0.02 ^a	0.29±0.03 ^b	0.06±0.02 ^a	0.08±0.03 ^a	
C22:0	0.09±0.01 ^{ab}	0.19±0.03 ^{abc}	0.37±0.16 ^c	0.30±0.19 ^{bc}	0.08±0.01 ^a	
C22:1n-9	0.06±0.01 ^a	0.09±0.02 ^a	0.46±0.22 ^b	0.04±0.01 ^a	0.30±0.01 ^b	
C20:3n-3	1.29±0.06 ^a	2.09±0.08 ^b	4.24±0.46 ^c	1.38±0.03 ^a	1.33±0.04 ^a	
C23:0	0.22±0.07 ^a	0.18±0.10 ^a	2.69±0.79 ^b	0.21±0.14 ^a	0.08±0.02 ^a	
EPA (C20:5n-3)	3.34±0.20 ^a	3.65±0.13 ^a	6.69±1.70 ^b	7.09±0.27 ^b	3.60±0.26 ^a	
DPA (C22:5n-3)	0.06±0.01 ^a	0.09±0.04 ^a	0.34±0.08 ^b	0.09±0.02 ^a	0.04±0.02 ^a	
DHA (C22:6n-3)	0.11±0.03 ^a	0.09±0.03 ^a	0.83±1.00 ^a	0.11±0.01 ^a	0.07±0.01 ^a	
EFA	9.10±0.27 ^a	12.56±0.55 ^b	17.07±1.28 ^d	15.65±0.17 ^c	17.00±0.19 ^d	
SFA	70.40±1.18 ^c	63.57±1.98 ^b	50.15±3.09 ^a	63.37±0.34 ^b	60.40±0.36 ^b	
HUFA	3.45±0.18 ^a	3.73±0.15 ^a	5.98±0.45 ^b	7.21±0.28 ^c	3.67±0.25 ^a	
DHA/EPA	0.03±0.01 ^a	0.02±0.01 ^a	0.11±0.11 ^a	0.02±0.00 ^a	0.02±0.00 ^a	

注: 表中数据均为脂肪酸绝对含量; EFA包括EPA、DHA和亚油酸; HUFA包括EPA和DHA

Notes: the values in the table are the absolute content of fatty acids. The level of EFA was the sum of EPA, DHA and linoleic acid, and HUFA included the EPA and DHA

氨基酸及其代谢产物在鱼类生长、存活、摄食率、饵料利用率、免疫反应、行为、仔稚鱼形态变化以及抵抗外界压力和致病微生物方面均发挥着重要的功能^[19]。本研究中, 不同季节人工培养的大型蚤摄取的食物相同, 但粗蛋白含量差异显著, 总必需氨基酸和总非必需氨基酸的变化趋势与粗蛋白一致。而夏季污水大型蚤主要摄取环境中的天然饵料, 与人工培养的冬季

大型蚤中粗蛋白含量一致, 且前者的总氨基酸含量和总必需氨基酸含量都显著高于后者, 由此认为食物和非食物环境因子均是影响大型蚤氨基酸组成的重要因素。与隆线蚤(*D. carinata*)相比, 本实验中的污水大型蚤除组氨酸含量较低外, 其他必需氨基酸含量均分别高于隆线蚤相对应的必需氨基酸含量。由营养分析可知, 隆线蚤可满足大部分鱼类对必需氨基酸的需求^[20],

表5 不同季节及污水组大型溞重金属含量分析
Tab. 5 Content of heavy metal of *D.magna* in different seasons and sewage

组别 groups		铬 Cr	铜 Cu	锌 Zn	砷 As	铅 Pb
人工培养 artificial-cultivation	春季 spring	65.19±0.95 ^b	18.65±6.08 ^b	340.39±17.74 ^c	5.24±0.43 ^{bc}	3.05±0.28 ^{ab}
	夏季 summer	63.56±1.18 ^b	10.61±0.87 ^a	249.98±5.99 ^b	7.18±1.75 ^c	4.08±0.46 ^b
	秋季 autumn	41.25±1.24 ^a	20.20±0.35 ^b	222.89±3.83 ^b	10.94±2.60 ^d	2.85±0.83 ^a
	冬季 winter	80.80±2.53 ^c	7.08±1.84 ^a	189.49±5.83 ^a	3.28±0.45 ^{ab}	-
污水 sewage	夏季 summer	84.39±0.19 ^c	6.08±2.82 ^a	171.03±24.36 ^a	1.64±0.30 ^a	-

注: - 表示样品中未检测到元素含量

Notes: - mean the element content is not detected in the sample

推测大型溞更能满足大部分鱼类对必需氨基酸的需求。

豆粕由于其蛋白质含量高、消化率高和氨基酸相对平衡等特点,在水产饲料中被认为是最稳定和最适合替代鱼粉的植物蛋白质原料^[21]。本实验中唯有污水组大型溞必需氨基酸指数高于豆粕,即夏季污水组大型溞的必需氨基酸含量较高并且比较均衡,相比于豆粕,更容易满足大部分鱼虾对于必需氨基酸的需求。蛋氨酸和赖氨酸是常见植物蛋白源的第一限制性氨基酸,其中蛋氨酸在养殖鱼类体蛋白合成、甲基供体等方面具有重要作用,建议需要量为蛋白质含量的1.33%~4.5%^[22],所有大型溞蛋氨酸占粗蛋白的含量为1.9%~2.3%,都符合此要求。实验中赖氨酸含量最高的夏季污水组大型溞其含量为3.4%,显著低于鱼粉,由于赖氨酸在加工调质过程中易发生美拉德反应,进而降低饲料原料中赖氨酸的可利用率、饲料效率^[23],因此需注意可能发生的营养缺乏症。从检测结果分析,大型溞的蛋氨酸和赖氨酸均低于鱼粉中的含量,高于豆粕中的含量。

研究表明,部分氨基酸具有诱食作用,且不同氨基酸具有不同的诱食活性^[24],而食物的鲜美程度又取决于鲜味氨基酸,因此食物中鲜味氨基酸的组成和含量将影响食物对水产动物的适口性。目前一致认为天冬氨酸、甘氨酸、谷氨酸和丙氨酸为鲜味氨基酸,本研究中,夏季污水组大型溞上述4种鲜味氨基酸的总含量为15.3%,显著高于其他各组,其中谷氨酸含量最高,占总含量的5.81%。有研究指出谷氨酸最能体现食物的鲜味,其含量越高,鲜味越强^[25]。与鱼粉相比,大型溞鲜味氨基酸的含量高于国产鱼粉。因此,就鲜味氨基酸而言,夏季污水大

型溞在促进水产动物摄食方面将发挥更大的作用。

3.3 大型溞的脂肪酸营养价值

EFA往往是一些PUFA,能够调节膜转运、受体功能和酶活性等生理过程,可以用于供能、维持细胞膜结构和功能的正常性,同时还在免疫调节和疾病抵抗方面发挥着重要的作用^[26]。实验结果显示,人工培养的秋季大型溞与夏季污水中的大型溞EFA含量有明显的优势,但夏季污水大型溞HUFA含量仅为3.67%,高于卤虫(*Artemia*)幼体和西藏拟溞(*Daphniopsis tibetana*),低于隆线溞、蒙古裸腹溞(*Moina mongolica*)和褶皱臂尾轮虫(*Brachionus plicatilis*)^[20];而人工培养的冬季大型溞EFA含量虽然没有优势,但其中的HUFA含量最高。显然,不同季节和水环境中大型溞对EPA的积累能力是影响HUFA含量高低的重要因素。

EPA和DHA是一些重要信号分子的生化前体(前列腺素、血栓素、白三烯等),能够预防心血管疾病,精神病症以及其他疾病^[27]。研究发现,卤虫体内DHA/EPA比值 ≤ 1 时不利于海水鱼苗的生存,当DHA/EPA比值 ≥ 2 时即能满足海水鱼苗的基本需求^[28]。本研究中,大型溞DHA/EPA比值均在0.2以下,可见大型溞未达到作为海水鱼苗饵料的要求。有研究指出,枝角类对可利用食物中的EPA积累能力较强,而对DHA的积累能力很弱^[29]。本研究中,EPA均大于3,DHA均小于0.4,也证实了此结论。

与新西兰鱼粉、美国鱼粉、俄罗斯鱼粉和智利鱼粉等进口鱼粉相比^[30],各组大型溞的SFA含量高于进口鱼粉,DHA含量低于各进口鱼粉。EPA含量只有在人工培养的秋季和冬季大型溞中高于新西兰鱼粉,其他各组均低于进口鱼粉。所以在对大型溞进行资源化利用时,应根

据大型溞的脂肪酸组成特点和养殖对象的营养需求,在使用量上进行调整。

3.4 大型溞的潜在重金属毒性

重金属是一类典型的环境污染物,主要包括铬、铅、铜、锌、银、镉等,从毒性角度来看,一般把砷和硒也包括在重金属范围之内^[31]。大型溞作为初级消费者,在对水环境中多种化学物质表现出高度敏感性的同时,对重金属也具有较弱的蓄积能力^[32]。所以在大型溞作为饲料原料的资源化利用中,有必要研究大型溞体内重金属的含量,以此评价大型溞对于水产动物的潜在影响。

本实验中污水大型溞的铅、砷、铬和镉的含量均没有超过渔用配合饲料标准^[33]。铬含量影响鱼类的生长和发育,适量时促进鱼类的生长,过高时则通过降低生长激素含量抑制动物的生长^[34]。与人工培养的大型溞相比,夏季污水大型溞铬含量最高,因此,只有将大型溞的用量控制在一定范围内,才能发挥大型溞作为饲料原料的积极作用。铅作为积累性毒物,可以结合体内一系列蛋白质、酶以及氨基酸内的官能团,从多方面对生物的生化 and 生理功能进行干扰,引起神经系统功能紊乱,损害肾脏功能、破坏心血管系统和免疫系统^[31]。本次实验中人工培养的冬季大型溞和夏季污水组大型溞并没有检测到铅元素。与此同时,污水组大型溞的铜、锌和砷的含量都低于其他各组,其铜和锌的含量也远远低于鱼粉和菜籽粕等饲料原料^[35-36]。因此,从渔用饲料重金属限量角度而言,夏季污水组大型溞更为安全。当然,基于不同种类养殖对象对矿物元素的不同需求量以及大型溞体内重金属含量的特点,有必要确定大型溞在饲料中的适宜用量。

研究表明,除人工培养的夏季大型溞外,其余大型溞粗蛋白含量较高,均达到作为饲料蛋白源的国际标准,同时其粗脂肪含量高于鱼粉等大多数蛋白源;大型溞氨基酸种类丰富,鲜味氨基酸含量较高,其中夏季污水大型溞最能够满足大多数鱼虾的需求,最有可能改善饲料的适口性;夏季污水组大型溞必需脂肪酸含量有优势,但与所有人工培养的大型溞一样,缺乏花生四烯酸和亚麻酸,故作为饲料原料使用时需考虑必需脂肪酸的平衡。此外,夏季污

水组大型溞铜和锌的含量比鱼粉等饲料原料低,且不含铅和镉元素,故饲养时致水产养殖动物重金属中毒的可能性较小。上述营养特性为大型溞(尤其是富营养化水体中的大型溞)作为饲料原料的资源化利用奠定了良好的基础。但目前尚无大型溞干粉作为渔用饲料原料的实际应用,今后需加强研究。

参考文献:

- [1] 刘建梅,刘济宁,陈英文,等.四溴双酚A和三溴苯酚对大型溞的急性和慢性毒性[J].环境科学学报,2015,35(6):1946-1954.
Liu J M, Liu J N, Chen Y W, et al. Acute and chronic toxicity of Tetrabromobisphenol A and Tribromophenol to *Daphnia magna*[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2015, 35(6): 1946-1954(in Chinese).
- [2] 孟琼,邓道贵,杜浩,等.温度和培养体积对大型溞种群动态和两性生殖影响的研究[J].水生生物学报,2009,33(6):1160-1167.
Meng Q, Deng D G, Du H, et al. Effect of temperature and culture volume on population dynamic and sexual reproduction of *Daphnia magna* Straus[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2009, 33(6): 1160-1167(in Chinese).
- [3] 张榜军,刘坤. Cu²⁺对大型溞生长和繁殖的影响[J].水生生态学杂志,2009,2(1):128-130.
Zhang B J, Liu K. Effects of Cu²⁺ on the growth and reproduction of *Daphnia magna*[J]. Journal of Hydroecology, 2009, 2(1): 128-130(in Chinese).
- [4] 李夜光,李中奎,耿亚红,等.富营养化水体中N、P浓度对浮游植物生长繁殖速率和生物量的影响[J].生态学报,2006,26(2):317-325.
Li Y G, Li Z K, Geng Y H, et al. Effect of N, P concentration on growth rate and biomass of phytoplankton in eutrophical water[J]. Acta Ecologica Sinica, 2006, 26(2): 317-325(in Chinese).
- [5] 操璟璟.枝角类浮游动物对水体富营养化和蓝藻水华影响的初步研究[D].芜湖:安徽师范大学,2007.
Cao J J. Studies on the effects of cladocerans on eutrophication and cyanobacteria[D]. Wuhu: Anhui Normal University, 2007 (in Chinese).
- [6] 黄显清,王武.温度、盐度对大型溞生长和生殖的影响[J].上海水产大学学报,2000,9(1):15-20.
Huang X Q, Wang W. The effects of temperature and salinity on growth and reproduction of *Daphnia magna*[J].

- Journal of Shanghai Fisheries University, 2000, 9(1): 15-20(in Chinese).
- [7] 陈进林, 梅承芳, 高亮, 等. 标准化测试中不同食物浓度对大型溞生长和繁殖的影响[J]. 生态科学, 2015, 34(6): 42-47.
Chen J L, Mei C F, Gao L, *et al.* Effect of food concentration on the growth and reproduction of *Daphnia magna* in a standard test[J]. Ecological Science, 2015, 34(6): 42-47(in Chinese).
- [8] Weers P M M, Gulati R D. Growth and reproduction of *Daphnia galeata* in response to changes in fatty acids, phosphorus, and nitrogen in *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. Limnology and Oceanography, 1997, 42(7): 1584-1589.
- [9] 王丽娟, 成永旭, 吴旭干, 等. 绿色微囊藻等不同食物对大型溞生长和脂类成分的影响[J]. 水产学报, 2006, 30(6): 843-847.
Wang L J, Cheng Y X, Wu X G, *et al.* Effects of *Microcystis viridis* and other different feeding conditions on growth and lipid composition of *Daphnia magna*[J]. Journal of Fisheries of China, 2006, 30(6): 843-847(in Chinese).
- [10] Sundbom M, Vrede T. Effects of fatty acid and phosphorus content of food on the growth, survival and reproduction of *Daphnia*[J]. Freshwater Biology, 1997, 38(3): 665-674.
- [11] AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International[M]. 17th ed. Washington: Association of Official Analytical Chemists, 2000.
- [12] Huang X X, Yin Y Q, Shi Z H, *et al.* Lipid content and fatty acid composition in wild-caught silver pomfret (*Pampus argenteus*) broodstocks: effects on gonad development[J]. Aquaculture, 2010, 310(1-2): 192-199.
- [13] 姚林杰, 叶元土, 蔡春芳, 等. 饲料蛋白质脂肪比与不同生长阶段团头鲂全鱼蛋白质、脂肪含量及肌肉氨基酸、脂肪酸组成的关系[J]. 动物营养学报, 2014, 26(8): 2184-2196.
Yao L J, Ye Y T, Cai C F, *et al.* Relationship between dietary protein to lipid ratio on protein and lipid contents in whole-body, and amino acid and fatty acid compositions in muscle of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) in different growth stages[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2014, 26(8): 2184-2196(in Chinese).
- [14] 蔡清洁. pH和盐度对大型溞摄食行为及抗逆响应的影响[D]. 上海: 上海海洋大学, 2015.
Cai Q J. The effects of feeding behavior and resistance response an *Daphnia magna* about pH and salinity[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2015 (in Chinese).
- [15] Ismail H N, Qin J G, Seuront L. Dietary responses of the brackish cladoceran *Daphniopsis australis* fed on different algal species[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2011, 409(1-2): 275-282.
- [16] Khatoon H, Banerjee S, Yusoff F M, *et al.* Use of microalgal-enriched *Diaphanosoma celebensis* Stingelin, 1900 for rearing *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) postlarvae[J]. Aquaculture Nutrition, 2013, 19(2): 163-171.
- [17] Kang C K, Park H Y, Kim M C, *et al.* Use of marine yeasts as an available diet for mass cultures of *Moina macrocopa*[J]. Aquaculture Research, 2006, 37(12): 1227-1237.
- [18] 孙瑞健, 张文兵, 徐玮, 等. 饲料蛋白质水平与投喂频率对大黄鱼生长、体组成及蛋白质代谢的影响[J]. 水生生物学报, 2013, 37(2): 281-289.
Sun R J, Zhang W B, Xu W, *et al.* Effects of dietary protein level and feeding frequency on the growth performance, body composition and protein metabolism of juvenile large yellow croakers, *Pseudosciaena crocea* R.[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2013, 37(2): 281-289(in Chinese).
- [19] 谢奉军. 大黄鱼仔稚鱼氨基酸及脂肪酸营养生理的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2011.
Xie F J. Studies on nutritional physiology of amino acid and fatty acid for large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) larvae[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2011 (in Chinese).
- [20] 刘鸿艳, 郑曙明, 吴青, 等. 隆线溞营养成分分析及高温胁迫对抗氧化酶活性的影响[J]. 淡水渔业, 2012, 42(5): 45-48.
Liu H Y, Zheng S M, Wu Q, *et al.* Analysis for nutrient compositions and effects of high temperature stress on antioxidant enzymes activities of *Daphnia carinata*[J]. Freshwater Fisheries, 2012, 42(5): 45-48(in Chinese).
- [21] 赵海祥, 冯健, 宁毅, 等. 大豆粕替代鱼粉在吉富罗非鱼稚鱼实用饲料中的效果评价[J]. 动物营养学报, 2011, 23(10): 1840-1846.
Zhao H X, Feng J, Ning Y, *et al.* Evaluation of soybean

- meal as a substitute for fish meal in practical diets for juvenile genetic improvement of fanned tilapia[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2011, 23(10): 1840-1846(in Chinese).
- [22] 马俊. 饲料中添加不同形式的蛋氨酸对大黄鱼幼鱼生长、饲料利用及蛋白质代谢反应的影响[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2015.
- Ma J. Effects of dietary methionine resources on growth performance, feed utilization and protein metabolism responses of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) juveniles[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2015 (in Chinese).
- [23] 廖英杰, 刘波, 任鸣春, 等. 赖氨酸对团头鲂幼鱼生长、血清生化及游离必需氨基酸的影响[J]. 水产学报, 2013, 37(11): 1716-1724.
- Liao Y J, Liu B, Ren M C, et al. Effects of lysine on growth, physiological and biochemical indexes of blood and essential amino acids of serum in juvenile blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2013, 37(11): 1716-1724(in Chinese).
- [24] 马学坤. 卵形鲳鲹幼鱼对饲料中蛋白能量比和几种必需氨基酸需求的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013.
- Ma X K. The study on dietary protein to energy ratios and several essential amino acids of juvenile ovate pompano (*Trachinotus ovatus* L.)[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2013 (in Chinese).
- [25] 梁银铨, 崔希群, 刘友亮. 鳊肌肉生化成份分析和营养品质评价[J]. 水生生物学报, 1998, 22(4): 386-388.
- Liang Y Q, Cui X Q, Liu Y L. Evaluation of nutritive quality and analysis of the nutritive compositions in the muscle of mandarin fish, *Siniperca chuatsi*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 1998, 22(4): 386-388(in Chinese).
- [26] 李明珠, 马洪明. 海水鱼类必需脂肪酸的合成能力[J]. 中国海洋大学学报, 2010, 40(增 1): 59-64.
- Li M Z, Ma H M. Capability for synthesizing essential fatty acids in marine fish: a review[J]. Periodical of Ocean University of China, 2010, 40(Suppl. 1): 59-64(in Chinese).
- [27] Sushchik N N, Rudchenko A E, Gladyshev M I. Effect of season and trophic level on fatty acid composition and content of four commercial fish species from Krasnoyarsk reservoir (Siberia, Russia)[J]. Fisheries Research, 2017, 187: 178-187.
- [28] Mourente G, Tocher D R, Diaz-Salvago E, et al. Study of the *n*-3 highly unsaturated fatty acids requirement and antioxidant status of *Dentex dentex* larvae at the *Artemia* feeding stage[J]. Aquaculture, 1999, 179(1-4): 291-307.
- [29] Ravet J L, Brett M T, Arhonditsis G B. The effects of seston lipids on zooplankton fatty acid composition in Lake Washington, Washington, USA[J]. Ecology, 2010, 91(1): 180-190.
- [30] 宋永康, 林虬, 陈人弼. 鱼粉脂肪酸组成的分析研究[J]. 台湾海峡, 2004, 23(1): 88-93.
- Song Y K, Lin Q, Chen R B. Study on fatty acid composition in fishmeals by gas-chromatography[J]. Journal of Oceanography in Taiwan Strait, 2004, 23(1): 88-93(in Chinese).
- [31] 丁婵娟. 铜、铅、锌对大型蚤毒性效应研究[D]. 济南: 山东师范大学, 2013.
- Ding C J. Toxic effect study of copper, lead, zinc on *Daphnia magna*[D]. Jinan: Shandong Normal University, 2013 (in Chinese).
- [32] Martins J, Soares M L, Saker M L, et al. Phototactic behavior in *Daphnia magna* Straus as an indicator of toxicants in the aquatic environment[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2007, 67(3): 417-422.
- [33] 中华人民共和国农业部. 无公害食品渔用配合饲料安全限量: NY 5072-2002 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2002.
- The Ministry of Agriculture of the People's Republic of China. Safe Food Safety limit of formula feed for Fishery: NY 5072-2002 [S]. BeiJing: Standards Press of China, 2002.
- [34] 陈红星, 吴星, 毕然, 等. 水环境中Cr(VI)对鱼类毒性机理研究进展[J]. 应用生态学报, 2015, 26(10): 3226-3234.
- Chen H X, Wu X, Bi R, et al. Mechanisms of Cr(VI) toxicity to fish in aquatic environment: a review[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2015, 26(10): 3226-3234(in Chinese).
- [35] National Research Council (NRC). Nutrient requirements of fish and shrimp [M]. Washington D. C: The National Academies press, 2011.
- [36] 柏雪, 原泽鸿, 王建萍, 等. 四川省常用能量饲料和蛋白质饲料中重金属分布研究[J]. 动物营养学报, 2016, 28(9): 2847-2860.
- Bai X, Yuan Z H, Wang J P, et al. Investigation on heavy metal distribution in energy feedstuffs and protein feedstuffs of Sichuan Province[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2016, 28(9): 2847-2860(in Chinese).

Nutrient analysis and potential utilization value of *Daphnia magna* used as aqua-feed raw material

FENG Yue^{1,2,3}, HUANG Zhongyuan^{1,2,3}, HUA Xueming^{1,2,3*}, HE Wenhui⁴,
PENG Ziran⁴, CAI Qingjie⁵, LIU Yuchao⁵

(1. Centre for Research on Environmental Ecology and Fish Nutrition of the Ministry of Agriculture,
Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Key Laboratory of Freshwater Aquatic Genetic Resources, Ministry of Agriculture,
Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

3. National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education,
Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

4. College of Marine Ecology and Environment, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

5. Shanghai Taihe Water Environment Technology Development Co.Ltd., Shanghai 200433, China)

Abstract: A trial was conducted to determine nutrient composition and heavy metal content of dried *Daphnia magna* from artificial-cultivation pond in spring, summer, autumn, winter and eutrophic lake sewage in summer, aiming to assess potential utilization value in aqua-feed. The results showed that there was significant seasonal difference in the moisture of artificial cultivated *D.magna*, and the highest was 5.14% in winter, and the lowest was 2.51% in summer. The moisture content (9.12%) of *D.magna* in summer sewage was significantly higher than that of artificial cultivation. The content of protein of artificially cultivated *D.magna* was 30.93% - 50.21% with significant differences in different seasons, and in winter and summer sewage was significantly higher than that of other groups. The total content of 15 amino acids determined markedly differed among groups, with the highest (36.65%) in winter and the lowest in summer (24.74%). In summer sewage, the amino acid content was 41.79%, and 9 essential amino acids accounted for 22.15%, lysine content reached 3.4 %, methionine 1.14 %, and threonine 2.45 %. The fat content was also significantly different with seasonal variation, the highest fat content was observed in winter (18.88%), while the lowest in autumn (4.19%), and no significant difference on the fat content was found in winter and summer sewage. The essential fatty acids were the highest in autumn and the summer sewage (17%) and the arachidonic acid and linolenic acid were not detected in all samples. The highest levels of heavy metal chromium, copper, zinc and lead appeared in summer sewage and artificial-cultivation pond in autumn, spring and summer, respectively, and no lead was detected in summer sewage and winter, no cadmium in all groups. Except for chromium, the lowest concentrations of copper, lead, arsenic and zinc were found in the summer sewage. All the results indicated that the *D.magna* was rich in protein and fat with lower potential toxicity of heavy metals, and both the essential amino acid and essential fatty acid nutrient values in summer sewage were generally higher than those of artificial cultivation, so it is more feasible to use *D.magna* in summer sewage as the feed protein source.

Key words: *Daphnia magna*; resource utilization; nutrients; toxicity

Corresponding author: HUA Xueming. E-mail: xmhua@shou.edu.cn

Funding projects: Subproject of the National Water Pollution Control and Treatment Science and Technology Major Project (2014ZX07101-012-04)