

草蝦脂質之研究

吳純衡

Studies on the Lipids of Grass Shrimp, *Penaeus monodon*

Chwen—Herng Wu

The prawn, *Penaeus monodon*, was divided into muscle, exoskeleton and viscera to study the lipid classes distribution. Column chromatography and thin layer chromatography were used to determine the lipid classes and contents.

The lipids contents of muscle, exoskeleton and viscera were 1.40%, 1.58%, 5.32% respectively. Complex lipids were the major lipid class in muscle and exoskeleton lipid and the content was 74.8% and 82.7% respectively. However the major lipid class in viscera oil was neutral lipid, and its content was 51.4% therefore viscera is considered as the main lipid storage organ and triglycerides being its major lipid component while muscle and exoskeleton contains mainly phospholipids and sterols. Most sterols of the prawn was free state (85.46—97.46%). The contents of total sterols and free sterols of muscle, exoskeleton and viscera were total 8.41% free 8.12%, total 11.90% free 10.17% and total 5.11% free 4.98% respectively. The major constituent of complex lipids were phosphatidylethanolamine, phosphatidylcholine, phosphatidylserine, however glycolipids also present in small amount.

The carotenoids of the prawn were characterized. Carotenoid contents was 2.75 mg/100g on wet weight basis. About half of the carotenoids was found in the exoskeleton (51.87%), the rest was distributed in the muscle (40.96%) and viscera (7.17%). Astaxanthin was the major carotenoid component as other shrimps.

前 言

蝦類味道鮮美，是高級海產之一。過去一般市場所供應的蝦類，大半捕自海中。近年來由於國民生活水準的提高，蝦類的需求量激增，且對於鮮度、衛生之要求也提高。另一方面，由於研究者的努力，確立了蝦類繁殖、養殖技術，因而促成蝦類養殖業的興盛。

本省四面環海，有廣大的鹹水魚塢，又位居亞熱帶，氣候溫暖，極適於發展蝦類的養殖。目前蝦類養殖主要分佈在宜蘭縣以及雲林縣以南的西南海岸區，尤以屏東、高雄二縣居多。

草蝦 (*Penaeus monodon*) 屬於南方系大型海蝦，分佈甚廣，可適應之塩度範圍廣，且耐高溫 (約35°C左右)，食性為雜食而偏植物性，成長迅速，為最適於本省養殖的蝦類，也是本省最主要的養殖蝦類。過去多採用粗放式養殖，與虱目魚、鱒及龍鬚菜混養，自1969年廖¹⁾等首次完成草蝦之人工繁殖試驗以來，蝦苗的大量供應，得以不再受制於自然環境因素，又因養蝦利潤的看漲，養蝦業乃逐漸走向企業化的單養²⁾，故草蝦之企業化養殖已有十多年歷史，至六十九年年產量達六千五百多公噸，但有關草蝦脂溶性化學成分組成及營養需求之研究，除KANAZAWA³⁾等以放射線同位素行追蹤試驗，以瞭解其所需之EFA外，至目前為止尚無其他研究報告發表，本試驗即依此，而進行研究分析其 Carotenoids 色素成分之組成及各組織脂質之系統組成分析，以提供草蝦脂溶性營養需求及比較生物學上所需之基本資料。

材料與方法

一、實驗用草蝦

本實驗所用之活草蝦購自基隆仁愛市場，為養殖者，體重 17.70~30.20 公克（平均 21.30），體長 13~15.6 公分（平均 14.1 公分），分雌雄後區分為肉、殼、內臟等三部份，置於 -40℃ 凍結櫃備用。

二、分析方法

1. 脂質抽出

將區分為肉、殼、內臟三部份之凍結草蝦，經凍結真空乾燥後，依照 Folch⁴⁾ 方法抽出脂質。

2. 脂質純化

粗脂質各以 Folch 水洗法⁴⁾ 及 Sephadex column chromatography⁵⁾ 法以除去非脂質成分。

3. 脂質保存

純化後之脂質，溶於氯仿成 10% 之溶液，置於乾燥器中，貯存於 -20℃ 之冰箱中備用。

4. 中性脂質與複合脂質之分劃

依藤野⁶⁾ 管柱色層分析法行之，以氯仿沖洗中性脂質，而以甲醇沖洗複合脂質。

5. 胆固醇定量法

依 Zak Henly 呈色法⁷⁾，總胆固醇乃將脂質，先鹼化後，再依本法行之。

6. Carotenoids 之抽出

參考佃⁸⁾ 之方法粗抽出油以 PE 溶解數次，遇瀘水洗以無水硫酸鈉脫水，減壓濃縮後定容，操作中需注意隔絕光線。

7. carotenoid 鹼化：依片山等⁹⁾ 之方法行之。

8. 全 carotenoid 定量法

肉、殼 carotenoid 量之測定依據金光、青江¹⁰⁾ 之方法為之，即取定量之 PE 溶液，測定其吸收曲線，以 λ_{max} 之 OD 值，及吸光係數 $E_{1\%}^{1cm}$ 2400 求出。內臟 carotenoid 量之測定依 Hirao¹¹⁾ 以吸光係數 $E_{1\%}^{1cm}$ 2000 求出其全 carotenoid 量。

9. carotenoid 色素之同定

各色素之同定乃利用測定其可視部吸光曲線，在 TLC 之 Rf 值比較，co-TLC，利用 NaBH₄ 還原測定其生成物之極性及吸收曲線，partition test (PE:95% MOH)，鹽酸 test，allylic-OH 活性 test¹²⁾。

10. 薄層色層分析法 (TLC)

a. 中性脂質定性

利用 Merck Art 5553 TLC aluminium sheets silica gel 60，厚度 0.2mm，展開距離 12~16 公分，展開溶劑 PE:E:HAC=85:15:1 V/V/V，顯色劑利用 50% H₂SO₄，噴霧後在加熱板上加熱炭化後鑑定，標準品同時展開，以作為對照。

b. 複合脂質之定性

和中性脂質使用相同的 layer，展開溶劑 C:M:W=65:25:4 V/V/V，呈色劑 molybdeum blue， α -naphthol，ninhydrin，dragendorff reagent。依呈色及 Rf 值來作初步鑑定。

c. carotenoids 成分之定性及製備

定性使用使中性、複合脂質相同之 layer，而製備用 layer 以 Merck 吸附劑 silica gel G 依常法鋪成薄層，厚度 0.5mm。展開溶劑 PE:A=80:20 V/V，在暗室展開，展開後各成分分別刮下，放入共栓試管，以 acetone 抽出至無色，再以 PE 轉溶水洗，減壓濃縮，測定其各種特性，以供同定。

結果與討論

1 脂質含量與性狀

本實驗所用草蝦體型較一般市售者稍小(市場上出售的草蝦體長多為 15 公分,體重 30~45 公克者),經區分為肌肉、殼、內臟等三部份後,各部分所佔比率、水份、粗脂質如表 1 所示,外殼含水率較低,乃由於其主要由幾丁質(Chitin)及碳酸鈣組成所致¹³⁾¹⁴⁾。粗脂質含量 2.68~7.89%

Table 1 The composition of Grass prawn, *Penaeus monodon*.

Sample Exp. Item		Muscle	Exoskeleton	Viscera
Weight	(%)	57.74	38.34	3.93
Water content	(%)	75.59	68.61	78.02
Crude fat content	(%)	2.68	3.53	7.89

以內臟油質含量為最高和 Guary 等¹⁵⁾以斑節蝦之研究結果相同,此乃由於內臟為蝦類之脂質貯藏器官。又據 Culkin¹⁶⁾等分析六種中層性蝦類之脂質含量在 2~5% 之間,林¹⁷⁾報告九種海蝦及一種淡水蝦之脂質含量在 0.9~3.3%,鹿山等¹⁸⁾報告具游泳力之深海性蝦類之脂質含量高達 10%,又 Guary¹⁹⁾對斑節蝦脂質含量之季節性變化之調查結果,顯示 5 月→11 月其脂質含量有漸增之趨勢,

Table 2 The purification of Lipids from Grass prawn, *P. monodon*.

Lipids from	Muscle	Exoskeleton	Viscera
Crude ext.	2.68	3.53	7.89
after sephadex G-25	1.40	1.58	5.32
after Folch's purification	1.10	2.02	4.96

故知蝦類之脂質含量因種類、部位及成熟度而會有若干變動。

表 2 列舉二種脂質純化法將粗抽出物純化,所得純脂質之含量。由表中數據得知利用 C-M(2:1:1V/V)抽取草蝦脂質時,其粗抽出液中含多量的非脂質物質,此等物質有繼續加以研究的必要。

Table 3 The composition of Lipids from Grass prawn, *P. monodon*.

Lipids from	Muscle	Exoskeleton	Viscera
NL %	25.2	17.3	1.4
CL %	74.8	82.7	48.6
Free ST%	8.12	10.17	4.98
total ST%	8.41	11.90	5.11

又以 Sephadex G-25 Column 純化法較 Folch 法收率為高,經以 TLC 分析其組成分,及據 Nelson⁹⁾利用水洗法精製,抽出液中之大部分的 gangliosides 及 ceramide polyhexosides 將因水洗而流失,且由於水洗量及無機鹽類之存在,會導至不同比率之 PA, PC, PS 及 PE 溶於水中。故草蝦脂質之純化應以 Sephadex G-25 Column 純化法行之為佳。

由各組織抽出、純化之脂質，其中性、複合脂質之比率及游離、全部之固醇類之含量如表 3 所示。肌肉及甲殼之脂質主成分為複合脂質，而內臟脂質之主成分為中性脂質。據森²⁰⁾對二種南極蝦 CL 之研究得知各佔 41.5% 及 37.6%，又 Van der Veen²¹⁾ 等以 -18℃ 凍藏南極蝦得知 CL 40.2%。又 Bottino 分析為 50%，可確認甲殼類之 CL 佔總脂質之過半以上，除南極產 *E. Superba* 以外數種 Krill²¹⁾²²⁾²³⁾²⁴⁾，動物性浮游生物，及 Prawn²⁵⁾ 之脂質組成調查，得知海產甲殼類皆含多量之 CL，而其中南極為含量較高者。由本試驗結果得知草蝦含更高之 CL，其原因可能和抽出後純化法有關，此點有待加以探討。固醇類 85~97% 以上為游離態，且為中性脂質的主要成分。據手島²⁶⁾對海產甲殼類固醇類之研究，認為胆固醇 (Cholesterol) 為最主要的固醇類 (73~100%)。及久保田²⁷⁾對南極蝦固醇類之研究，胆固醇也是其主要成分 (97.4%)。故在蝦類之固醇類被認為幾乎全由胆固醇所組成²⁸⁾。

又其中性脂質組成成分之分析如圖 1，所用的 plate 為預先鋪好的 Merk Art. 5553 Silica gel G 60，厚度 0.2 mm、10×20 cm，使用 PE:E:HAC(85:15:1 V/V/V) 為展開劑，以 50% H₂SO₄ 噴霧，經加熱後顯色，並以標準品 SE, FA, TG, DG, MG, ST 同時展開，以判斷其成分。肌

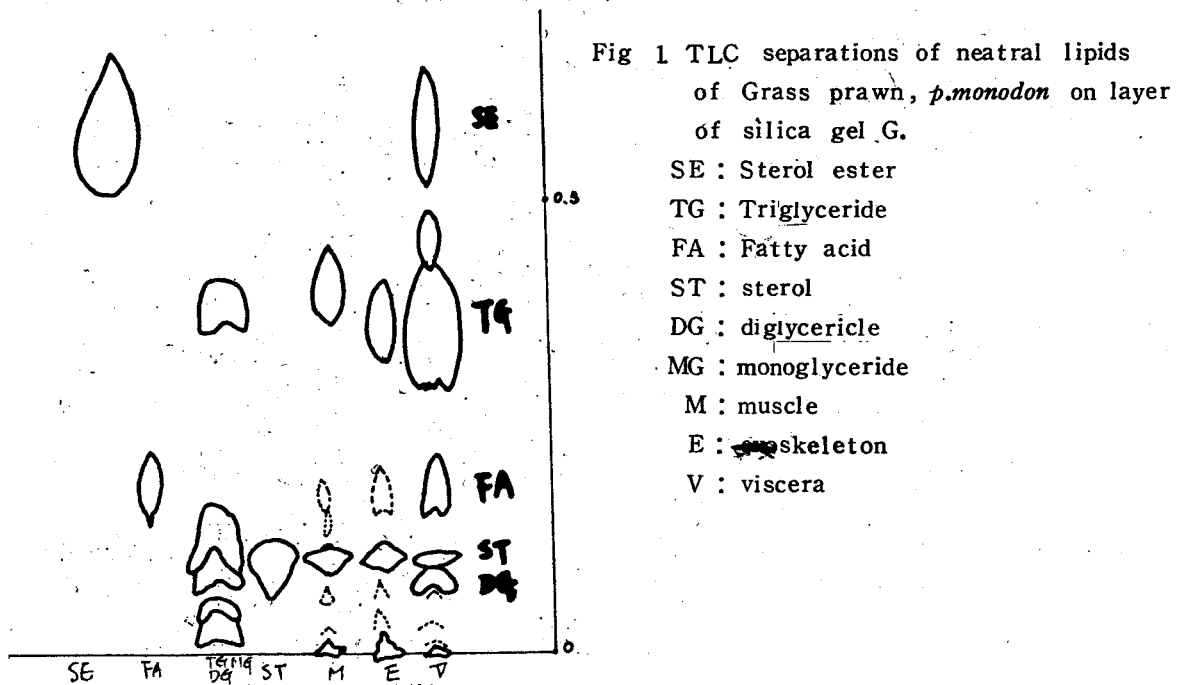


Fig 1 TLC separations of neutral lipids of Grass prawn, *p.monodon* on layer of silica gel G.
 SE: Sterol ester
 TG: Triglyceride
 FA: Fatty acid
 ST: sterol
 DG: diglyceride
 MG: monoglyceride
 M: muscle
 E: skeleton
 V: viscera

肉和殼之中性脂質組成成分極相近，主要成分為游離固醇類，其次為 TG，SE 含量極微，此和固醇類定量法所得結果稍有差異，將再加以檢討。內臟中性脂質之主要成分為 TG，其次為游離固醇類，游離脂肪酸，DG 及一未知成分等。此結果和 Guary¹⁵⁾ 對斑節蝦中性脂質之研究結果相同。

2 磷脂質之組成成分

圖 2 為草蝦複合脂質之 TLC 展開圖，使用之 plate 和中性脂質分析使用者相同，展開劑為 C:M:W(65:25:4 V/V/V)，噴霧劑有 0.2% α-naphthol，0.25% ninhydrine、molybdeum blue、dragendorff reagent 等。結果如表 4 所示，得知草蝦複合脂質之主要成分為 PE、PC、PS，除外尚含一、二未知之糖脂質。

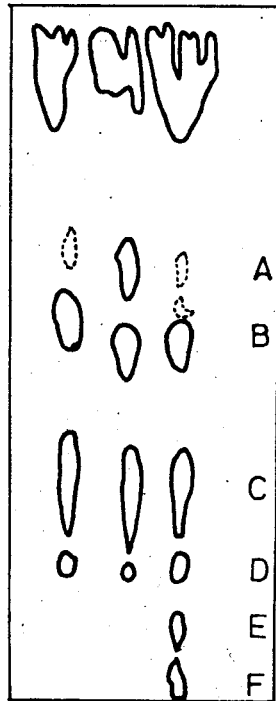


Fig. 2 TLC Separations of complex lipids of Grass prawn, p. monodon on layer of silica gel G.

Table 4. Rf value and function group reaction of CL from P. monodon.

spot	Rf value	-P	-OH	-choline	-NH ₂	presumption component
A	0.62	-	+	-	-	GL
B	0.54	+	-	-	+	PE
C	0.37	+	-	+	-	PC
D	0.18	+	-	-	+	PS
E	0.11	+	-	-	+	unknow PL
F	0.03	-	+	-	+	GL

Bottino²²⁾ 對在生息地域不同二種南極蝦之研究，稱其 Complex Lipids，主要為 PC、PE。座間²⁹⁾ 對 *Pandalopsis japonica* (一種海蝦) 研究稱其肌肉、卵之 Complex Lipid 主要為 PC、PE、PI 等均和本報告結果相似。

又有關其 FA 之組成，實有進一步研究之必要。

3. carotenoids 色素

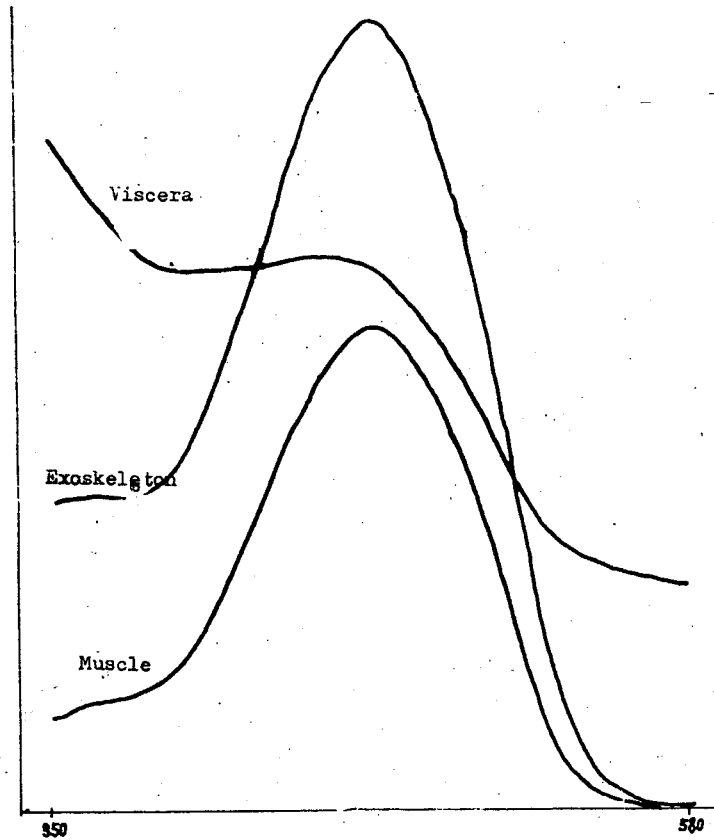
由草蝦抽出之粗脂質，經兩酮分割，再以 PE 轉溶水洗脫水後，經真空濃縮定容。以 HITACHI 320 分光光度計測定其 PE 溶液之吸收曲線如圖 3。其殼之吸光曲線和 Katayama³⁰⁾ 對斑節蝦殼，森³¹⁾ 對南極蝦殼 carotenoids 之吸光曲線相似。

草蝦之 carotenoids 含量 2.75 mg / 100g (濕重)，較劍蝦³²⁾ 5.0 mg / 100g 及南極蝦³¹⁾ 3.1~4.7 mg / 100g 為低，可能和其為養殖者有關，由於 carotenoids 含量和卵巢之成熟有關之說法，是否養殖草蝦由於 carotenoids 含量不夠，致卵巢無法成熟，可待加以探討。

由表 5 知草蝦 carotenoids 有一半以上 (51.87%) 存在殼中，其餘存在於肌肉 40.96%、內臟 7.17%。此結果和森³¹⁾ 對南極蝦之 carotenoids 色素之分佈調查結果相似。

Table 5. Distribution of carotenoids in *P. monodon*.

Lipids from	Muscle	Exoskeleton	Viscera
λ max (nm)	459,465	463	430 ~ 470
carotenoids content mg /100g	1.95	3.75	5.02
Distribution %	40.96	51.87	7.17

Fig 3 The absorption spectra of carotenoids from Grass prawn *P. monodon* in petroleum ether (40 ~ 60 °C).

由草蝦肌肉、殼、內臟抽得之 carotenoids 之 TLC 展開圖如 Fig 4，顯示肌肉和殼之 carotenoids 色素組成成分相同，各有 7 個成分，而內臟僅有 3 個成分。又由甲殼自化後之 TLC 圖，及利用 PTLC 分離之各成分，測定其在各種溶劑中之吸光曲線，其最大吸光值如表 6 所示，並以 canthaxanthin 之標品 co-TLC 來鑒定，得知 fr 2 之 Rf 值 0.22 可能為 astaxanthin，fr 3，5 之 Rf 值各為 0.36，0.40，可能是 astaxanthin monoester，fr 6，7 Rf 值為 0.58，0.64 可能是 astaxanthin diester，fr 4 Rf 值和 canthaxanthin 相同，且其顏色皆為淡黃色，故可確認是 canthaxanthin。故由本試驗結果得知草蝦之 carotenoids 之主要成分為 astaxanthin，和斑節蝦³⁰⁾、龍蝦³³⁾、南極蝦³¹⁾相同。其組成成分較斑節蝦、龍蝦單純，和南極蝦之組成成分相近似。

Fig 4. TLC separations of carotenoids of Grass prawn, *P. monodon* on layer of silica gel G. C : canthaxanthin AS : astacene.

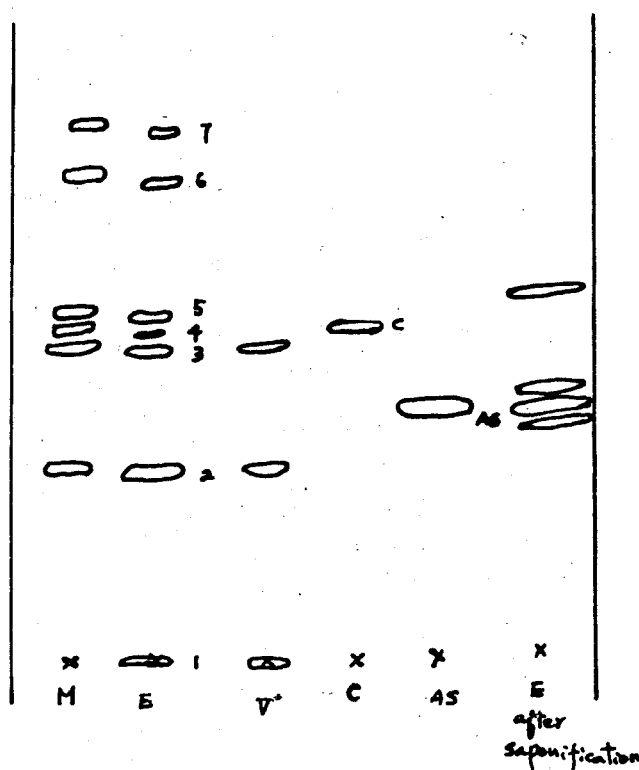


Table 6. Absorption characteristics of each Fr. carotenoids.

Solvents Fraction No	absorption maxiwa (nm)				
	acetone	n - Hexane	Chloroform	Petroleum ether	Carbon disulfide
2	476	467	—	496	506
3	476	467	—	466 ~ 469	502 ~ 503
5	473	469	—	467 ~ 469	502
6	—	467	480	467	499
7	—	467	480	467	499

摘要

1. 草蝦(雌)被區分為肌肉、殼、內臟等三部分，以研究其脂質成分。
2. 其脂質含量肉 1.40%，殼 1.58%，內臟 5.32%。
3. 肌肉、殼脂質之主成分為複合脂質各佔 74.8% 及 82.7%，而內臟之中性脂質(51.4%)含量較高，主成分為 TG，故可確認內臟為主要的脂質貯藏器官。
4. 所含固醇類幾乎全為游離態，肌肉 96.55%，殼 85.46%，內臟 97.46%。
5. 中性脂質之主成分為游離固醇類、TG 及微量之 SE、FA，除外內臟之中性脂質尚含有 DG。
6. 草蝦各部分所含複合脂質組成分很相似，主成分為 PE、PC、PS 及二、三未知成分。
7. 其 carotenoid 含量 2.75 mg / 100g (濕重)，有一半以上(51.87%)存在於甲殼中，其餘存在於肌肉(40.96%)、內臟(7.17%)中，其主要組成分為 Astaxanthin。

謝辭

本研究承海洋學院陳錫秋教授甚多的指導，陳茂松主任之鼓勵及本系同仁給予諸多協助，特誌於此，以示謝意。

參 考 文 獻

- (1) 廖一久(1969)：蝦類的人工繁殖，國立台灣大學動物系動物學會生命創刊號，18～20。
- (2) 黃丁郎(1974)：蝦類養殖，台灣銀行季刊25(1)，205～218。
- (3) Kanazawa A., Teshema S.I. and Chalayondeja K. (1979)：Biosynthesis of fatty acids from acetate in the prawns, *Penaeus monodon* and *Penaeus merguensis* , Mem. Fac. Fish., Kagoshima Univ. 28, 21～26.
- (4) Folch J., Lees M., Sloane - stanley G. H. (1957)：A simple method for the isolation and purification of the total lipides from animal tissues, J. Biol. Chem., 226, 497 - 509.
- (5) Nelson G. J (1975)：" Isolation and Purification of Lipids from Animal Tissues" in "Analysis of Lipids and Lipoproteins "ed. by E. G. Perkins, American oil chemist's soc., 1～22。
- (6) 藤野安彦(1978)：“脂質分析法入門—生物化學實驗法9”，學會出版センター，96～70。
- (7) 新聞彌一郎(1974)：“水產物脂質實驗法”，水產生物化學、食品學實驗書 ed. by 齋藤恒行，恆星社厚生閣版，91～92。
- (8) 佃信夫(1974)：“カロチノイドの分離と定量”，in 水產生物化學、食品學實驗書 ed. by 齋藤恒行，恆星社厚生閣版，103～113。
- (9) 片山輝久、島谷岡、鮫島宗雄(1973)：イセエビのカロチノイドについて，日水誌39(2) 215～220。
- (10) 金光庸俊、青江弘(1958)：サケ，マス類のカロチノイド色素の研究—I II，筋肉色素の同定、定量、日水誌24(3,6,7)269～215,555～558。
- (11) Tsukuda N. and Amano K. (1966)：Studies on the discoloration of red fishes - I，日水誌32(4) 334～345。
- (12) 淺原充雄、松野進、松森茂(1979)：アカアマダイのカロチノイド色素成分について，日水誌，45(4) 485～492。
- (13) 矢野勳(1977)：エビ，カニ類の外皮の構造と形成，化學と生物15(5) 328～332。
- (14) 築瀨正明(1975)：オキアミ甲殻の化學成分，東海區水研報83，1～6。
- (15) Guary J. C., Kayama M & Murakami Y. (1974)：Lipid class distribution and Fatty acid composition of prawn, *P. japonicus* Bate, BJSSF, 40(10) 1027-1032。
- (16) Culkin F. & Morris R. J. (1969)：The fatty acids of some marine crustaceans, Deep - sea Res. 16, 109～116。
- (17) 林賢治(1976)：生息深度を異にする海産動物の脂質—VI 北大水産彙報27(1) 21～29。
- (18) 鹿山光、中川平介(1975)：相模、駿河灣産エビ類マイクロネクトンの脂質とくにそのワツワス、エステルについて油化學24, 441～445。
- (19) Guary J. C., Kayama M. and Murakami Y. (1975)：Variations saisoniueres de la composition en acides gras chez *P. japonicus* Marine Biology 29, 335～341。
- (20) 森幹男、引地昭三(1976)：南極産オキアミに関する研究II 脂質組成，日本水産株式會社中央研究所報告。No. 11. 12～17。
- (21) Van der veen J., Medwadowski B. & Olcott H. S. (1971)：Lipids, 6, 481～485。
- (22) Bottino N.R. (1975)：Lipid composition of two species of antarctic krill, Comp.

- Biochem. Physiol., 50 B, 479 ~ 484 °
- (23) Ackman R.G. Eaton C. A., Sipos J.C., Hooper S. N & Castell J.D. (1970): Lipids and fatty acids of Two species of north atlantic krill and their role in the aquatic food web, J. Fish Res. Bd. Canada, 27, 513 ~ 533 °
- (24) Lee R. F. (1974) : Lipids of zooplankton from bute inlet, British Columbia : *ibid.*, 31, 1577 ~ 1582 °
- (25) Gopakumar K. & Nair M. R. (1975) : J. sci Food Agric., 26, 319 ~ 325 °
- (26) Teshima S.I. & Kanazawa A. (1971) : Sterol compositions of Marine crustaceans, BJSSF 37(1) 63 ~ 67 °
- (27) Kubota K. (1980) : The sterols of antractic krills, 栄養と食糧, 33(3)191~193 °
- (28) James P. S. & John L. W. (1976) : Summary of available data for cholesterol in foods and methods for its determination CRFSN, 131 ~ 159 °
- (29) 座間宏一、丸山享、高橋是太郎 (1976) : 甲殻類の脂質エモロトゲアカエビ (*Pandalopsis japonica*) の筋肉と卵の脂質, 北大水産彙報 27(3,4)181 ~ 190 °
- (30) Katayama T, Hirata K & Chichester C. O. (1971) : The biosynthesis of astaxanthin - IV the carotenoids in the prawn, *P. japonicus* Bate (part 1), BJSSF 37(7) 614 ~ 620 °
- (31) 森幹男、安田信一、長久英三 (1976) : 南極産オキアミに関する研究 - IV カロチノイド, 日本水産株式会社中央研究所報告 No. 11, 18 ~ 27 °
- (32) 吳純衡 (1981) : 劍蝦之 carotenoids 未発表。
- (33) Katayama T., Shimaya M., Sameshima M & Chichester C. O. (1973) : The biosynthesis of astaxanthin - XI the carotenoids in the lobster, *Panulirus japonicus* BJSSF, 39(2) 215 ~ 220 °