

研究简报

饲料中添加甜菜碱对尼罗罗非鱼蛋白酶、淀粉酶活性的影响
EFFECT OF DIETARY BETAINE ON THE
ACTIVITIES OF PROTEASE AND
AMYLASE IN *TILAPIA NILOTICA*

阎希柱 邱岭泉

(中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 哈尔滨 150070)

Yan XiZhu Qiu Lingquan

(Heilongjiang River Fishery Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070)

关键词 尼罗罗非鱼, 甜菜碱, 蛋白酶, 淀粉酶, 活性

KEYWORDS *Tilapia* (*Tilapia nilotica*), Betaine, Protease, Amylase, Activities

甜菜碱是甜菜加工副产品中提取的甘氨酸甲基内酯, 甜菜碱以前仅限于作为动物营养的甲基供体, 参与氨基酸的合成和协同作用。作为人类医学上的恢复胃酸的药物及肝脏保护性治疗剂等^[1-3], 参与氨基酸的合成和协同作用。有关甜菜碱对多种鱼类都有诱食作用的报道已有很多, 如 Carr^[10]、Nelson^[14]、杜建斌^[4]、田去荣等^[6]和郭玉琴、丁角立等^[7]。芬兰糖业公司做的试验表明, 甜菜碱对虹鳟的体重及饲料转化消率都增加近 20% 并降低饲料系数 Clayton Gill^[12]。选用甜菜碱作为甲基供体及作为促摄饵物质是理想的。但关于添加甜菜碱对鱼类降低饲料系数其机理尚缺乏报道。我们于 1995 年研究了饲料中添加甜菜碱对鱼类消化酶活性的影响, 以更深入地了解饲料中添加甜菜碱对鱼类的影响。现将研究结果报道如下:

1 材料与方法

1.1 试验材料 甜菜碱购自沈阳石油化工研究院, 纯度为 97%。尼罗罗非鱼取自哈尔滨市鱼苗场, 鱼体健康, 鱼体重为 4.89~5.21g。

1.2 试验设计 鱼暂养 7 天后分组试验。实验 42 天。尼罗罗非鱼在 8 组 250L 的水族箱中饲养, 每组水族箱中放养 30 尾鱼。水源为经充分曝气的自来水, 每个水族箱中配置一个 20L/min 的滤清器, 水温为 24~30℃, 溶氧含量为 4.8mg/L, pH 7.2~7.4。每天排污, 换水 1/3。投喂的饲料以天平称重, 精确到 0.1g。每天投喂 3 次, 日投饵率为体重的 6~10%。

1.3 饲料的制作及营养含量 试验用饲料共八种, 营养成分测定方法如下: 粗蛋白质采用凯氏微量定氮法, 粗脂肪采用索氏乙醚抽提法, 粗灰分采用烧灼法(500~600℃), 含水量采用 105℃ 恒温烘干失重法测定^[5]。由饲料分析可知, 各组的营养成分基本相同。

收稿日期: 1996-05-21。

表 1 饲料配方 (%)

Table 1 Composition of the diets (%)

原料 Ingredients	组别 Group	1	2	3	4	5	6	7	8
鱼粉 Fish meal		20	20	20	20	20	20	20	20
豆饼 Soybean cake		40	40	40	40	40	40	40	40
酵母 Yeast		3	3	3	3	3	3	3	3
玉米面 Corn meal		20	20	20	20	20	20	20	20
麸子 Wheat bran		14.0	13.9	13.7	13.5	13.2	13.0	12.5	12.0
骨粉 Bone powder		1	1	1	1	1	1	1	1
多维 Vitamin supplement		1	1	1	1	1	1	1	1
无机盐 Mineral supplement		1	1	1	1	1	1	1	1
甜菜碱 Betaine		0	0.1	0.3	0.5	0.8	1.0	1.5	2.0

表 2 饲料营养成分

Table 2 The nutrition index of the diets

成分 Composition	组别 Group	1	2	3	4	5	6	7	8
水分 Water		6.95	7.03	7.24	7.29	6.81	6.81	7.08	6.77
干物质 Dry material		93.05	92.97	92.76	92.71	93.19	93.19	92.92	93.23
粗蛋白 Crude protein		33.88	33.29	32.87	34.24	33.82	33.63	34.04	33.79
粗脂肪 Crude fat		7.82	7.89	7.61	7.65	7.73	7.68	7.42	7.66
粗灰分 Crude ash		11.24	10.85	11.23	10.95	11.07	11.05	11.23	11.32

1.4 测定消化酶的鱼样品处理 生长试验结束后进行鱼的解剖,此时鱼体重为 17.82~21.24g,体长为 7.40~8.23cm。置冰盘内解剖,取出全部肠和肝胰脏,剔除其上的脂肪并用离子水清洗肠内容物,置于-20℃冰箱中保存。每组中每三尾鱼的肠、肝胰脏制成的混合样品为一重复,每组共 5 个重复,计 15 尾鱼。八组共计 120 尾鱼。

1.5 酶液制备 按样品重量的 10 倍加进冷却去离子水(4℃, pH7.0),于 10 000 转/分。的高速控温组织捣碎机中捣碎匀浆,然后用 LDZ4-0.8 型离心机(1 700g)中离心 20 分钟,获得的组织匀浆抽提上清液,置-10℃冰箱中保存备用,24 小时内分析完毕。

1.6 酶活性的测定 蛋白酶活性测定参照《生化技术导论》中 Lawry 等的福林酚试剂法,1% 酪蛋白溶液 1ml,加 pH7.6 缓冲液 4ml,28℃ 水浴中保温 10min,然后加入 1ml 酶液,再继续保温 15min。后加 3ml 10% 三氯乙酸终止反应,取滤液 1ml,加入 0.55mol/L 碳酸钠 5ml,再加福林试剂 1ml,37℃ 水浴中显色 15min,用 722 型光栅分光光度计在波长为 680nm 条件下测定其光密度值,以每分钟水解酪蛋白产生 1 μ g 酪氨酸定为一个活性单位。

淀粉酶活性测定参照《临床生化检验》中淀粉-碘显色法,pH7.0 缓冲基质液(淀粉 0.4mg/ml),28℃ 水浴中保温 15min,然后加入 0.1ml 酶液(0.9% NaCl 稀释),混匀,37℃ 水浴中 15min,加碘应用液 0.4ml,混匀,用 722 型光栅分光光度计在波长为 660nm 条件下测定其光密度值,以 30min 内 100ml 酶液在完全水解 10mg 淀粉的酶量,定为一个活性单位。

2 结果

2.1 摄完时间比较 在每组一次均投喂 2.5% 体重饲料条件下,添加甜菜碱的各组鱼摄食完所投饲料需要的时间与对照组比较结果如下:0.1% 组与对照组无差别,0.3、0.5% 二组较对照组减少 1/4,其余四组较对照组减少 1/3。

2.2 生长比较 经过 6 周的饲养,尼罗罗非鱼的生长结果如表 3。

表 3 饲料中不同含量甜菜碱对尼罗罗非鱼生长的影响

Table 3 Effect of different content of betaine in diets on the growth of the fish studied

组别 Group	1	2	3	4	5	6	7	8
始重 Mean weight initial	5.21	4.89	5.11	4.99	4.97	4.90	4.94	4.89
末重 Mean Weight final	16.83	16.96	19.71	19.93	25.97	25.99	24.84	24.98
日增重 Weight gain per day	0.27	0.28	0.35	0.36	0.50	0.50	0.47	0.48
日增重率 Weight gain rate per day	2.45	2.56	2.82	2.89	3.23	3.24	3.16	3.21
饲料系数 Feed coefficient	2.52	2.47	2.39	2.21	1.98	2.10	2.30	2.35

日增重=(末重-始重)/饲养天数;日增重率=100 日增重/(末重+始重)/2)

2.3 饲料中不同含量甜菜碱对尼罗罗非鱼蛋白酶、淀粉酶活性的影响(见表 4)

表 4 饲料中不同含量甜菜碱对尼罗罗非鱼蛋白酶、消化酶的影响

Table 4 Effect of different becontent of etaine in diets on the activities of protease and amylase in the tilapias

编号 No.	蛋白酶 Protease		淀粉酶 Amylase	
	肝胰脏 Hepatopancreas	肠道 Intestines	肝胰脏 Hepatopancreas	肠道 Intestines
1	8.11	13.45	317.03	236.33
2	12.68	18.76*	355.99	490.94**
3	12.23	23.56*	417.26**	508.94**
4	19.03*	29.07*	498.07**	532.75**
5	20.17**	17.67*	566.90**	353.52**
6	31.18**	15.77	566.76**	232.24**
7	42.64**	21.47**	492.23**	330.77**
8	28.76**	19.82**	335.19	308.75**

注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ (均为与对照组相比)

2.3.1 肝胰脏中蛋白酶的活性 当添加 0.1、0.3% 的甜菜碱时,肝胰脏中蛋白酶的活性较对照组虽有上升,但不显著($P < 0.05$)。当添加 0.5% 的甜菜碱时,肝胰脏中蛋白酶的活性较对照组有显著上升($P < 0.05$),但不显著。当添加 0.8、1.0、1.5、2.0% 的甜菜碱时,肝胰脏中蛋白酶的活性较对照组上升,各组均较对照组有非常显著的差异($P < 0.01$),以第七组的活性为最高。第八组虽酶活性有所降低,但较对照组差异仍非常显著($P < 0.01$)。

2.3.2 肠道中蛋白酶的活性 0.1% 甜菜碱添加组,肠道中蛋白酶的活性较对照组有显著上升($P < 0.05$)。0.3、0.5% 的甜菜碱添加组,肠道中蛋白酶的活性较对照组有极显著上升($P < 0.01$)。当添加 0.8、1.0% 的甜菜碱时,肠道中蛋白酶的活性较对照组虽有上升,但不显著($P > 0.05$)。当添加 1.5、2.0% 的甜菜碱时,肠道中蛋白酶的活性再度显著上升,有极显著的差异($P < 0.01$)。以第四组的活性最高。

2.3.3 肝胰脏中淀粉酶的活性 0.1% 甜菜碱添加组,肝胰脏中淀粉酶的活性较对照组上升,但无显著的差别($P < 0.05$)。添加 0.3、0.5、0.8、1.0、1.5% 的甜菜碱时,肝胰脏中淀粉酶的活性较对照组有极显著上升($P < 0.01$),当添加 2.0% 的甜菜碱时,肝胰脏中淀粉酶的活性较对照组有上升,但无显著差别($P > 0.05$)。

2.3.4 肠道中淀粉酶的活性 凡添加甜菜碱的各组鱼肠道中淀粉酶的活性均较对照组有极为显著的上升($P < 0.01$)。第四组的活性为最高。

2.3.5 肝胰脏、肠道中蛋白酶、淀粉酶活性的结果比较 除对照组肝胰脏淀粉酶活性较肠道中高,但差异不显著($P > 0.05$)外,前四组中肝胰脏蛋白酶和淀粉酶活性较肠道中低,差异显著性不一致。后四组中肝胰脏蛋白酶及淀粉酶活性较肠道中高,除第五组中肝胰脏蛋白酶活性较肠道中蛋白酶活性高,但无显著差异($P > 0.05$)及第八组中肝胰脏淀粉酶活性较肠道中淀粉酶活性高,但无显著差异($P > 0.05$)外,均呈现极显著差异($P < 0.01$)。

3 讨论

有关甜菜碱对鱼类能够起到诱食作用的报道很多。例如 Carr^[9]指出,在菱体兔牙鲷和金鳍锯鳃石鲈的 5 种饲料中,起诱饵作用的主要是低分子量的、耐酸解、不挥发和溶于 80% 甲醇中的物质,即甜菜碱和某些氨基酸,将这些物质适当组合对许多鱼类具有很强的诱食作用,其中甘氨酸甜菜碱、 β -丙氨酸甜菜碱和甜菜碱甲酯的诱食性最强,单独使用甜菜碱效果不好。Fuzessery 和 Childress^[15]发现,就单一物质而言,牛磺酸和甜菜碱对 5 种海水虾、蟹的促摄食作用最强,L-精氨酸、谷氨酸、羟脯氨酸次之,将这些物质混合在

一起的促摄食作用均比单一物质强,这表明这些物质混合不仅营养全面,且促摄食作用会增强。芬兰糖业公司做的试验表明,化学诱食剂甜菜碱对虹鳟的体重及饲料转化率都增加近20%。

根据 Clayton Gill^[12]的报道,对鲑、鳟鱼类而言,甜菜碱的最佳添加量是1.5%。但据 Clarke W. C.^[11]的报道,对一龄大麻哈鱼的饲料中添加甜菜碱的量为1%,在淡水中甜菜碱对该鱼的生长、死亡的情况没有显著的影响,并认为在海水中投喂含甜菜碱的饲料对该鱼的生长有显著的提高作用。Duston^[13]投喂大西洋鲑苗的饲料中甜菜碱的添加量为1.5%,在淡水中喂养2周后直接送入海水中,饲料甜菜碱造成肌肉中甜菜碱的含量升高5倍,对生长及进入海水后离子渗透的不平衡程度均无显著的影响。

本研究中肝胰脏中蛋白酶、淀粉酶的活性均是在甜菜碱添加量1.5%时达到最高,然后下降。肠道中蛋白酶、淀粉酶的活性均是在甜菜碱添加量在0.5%时达到最高,然后下降。这可能反映出肝胰脏中蛋白酶、淀粉酶的活性达到最高需要饲料中添加的甜菜碱含量较高;而肠道中蛋白酶、淀粉酶的活性达到最高需要饲料中添加的甜菜碱含量较低。同时反映出饲料中添加的甜菜碱有一个最佳含量的问题。

肝胰脏、肠道中蛋白酶、淀粉酶活性的结果比较表明,甜菜碱在饲料中达到一定的含量对鱼类的肝胰脏蛋白酶、淀粉酶和肠道的蛋白酶、淀粉酶的影响程度是不同的。据 Saunderson C. L.^[16]的报道,甜菜碱参与肝脏中的脂肪代谢过程,并影响鸡体内脂肪的含量与分布。甜菜碱可能通过诱食参与机体的甲基化等作用,使鱼类的肝胰脏蛋白酶、淀粉酶的活性升高的程度较肠道的蛋白酶、淀粉酶活性升高的程度大,导致后四组的尼罗罗非鱼肝胰脏蛋白酶、淀粉酶的活性较肠道中蛋白酶、淀粉酶活性高。

本研究结果表明,添加的甜菜碱的各组的增重率较对照组均有上升,并且各组的饲料系数均较对照组有所下降,当添加甜菜碱达到0.8~1.0%时,其日增重率分别较对照组高28.68%、29.48%,达到最大,而饲料系数分别为1.98、2.10,达到最低。并且当添加0.8、1.0、1.5、2.0%甜菜碱的各组鱼的摄食时间分别较对照组的减少1/3。本研究结果表明尼罗罗非鱼摄食添加甜菜碱的饲料时消化酶活性增强,这与添加甜菜碱的各组的饲料系数均较对照组的为低,而增重率均较对照组高是一致的。

饲料的形象、气味、食物对口腔、食管和胃、肠的刺激都可通过神经反射引起鱼类消化液的分泌,分泌消化酶来消化食物。

竹田正彦^[8]报道,饲喂添加了促摄物质(诱食物质)沙蚕饲料的鳗鱼,其胃内蛋白质消化酶的活性比未添加组约高2倍,血液游离氨基酸和血糖的值低,表明促摄物质不仅活跃了鳗鱼的摄食行动,而且兴奋了消化和吸收功能。

本研究表明甜菜碱能够使鱼类在摄食时,嗅觉、味觉通过大脑反射性调节,使鱼类有一种愉快的心理,消化液分泌加强,各种消化酶活性提高,分解消化饲料加快,胃肠蠕动加强,等量饲料投喂时,添加甜菜碱的饲料尼罗罗非鱼摄食时间的减少,表明机械性消化也增强,这也许就是本研究中诱食剂甜菜碱能降低饲料系数,促进生长的生理原因。而饲料中添加甜菜碱的最佳含量有待于鱼类的消化酶的活性、消化率、生长速度、饲料系数以及经济效益分析等多种因素结合起来才能确定。

参 考 文 献

- [1] 上海市医学化验所等编,1979. 临床生化检验(上册)上海科技出版社。
- [2] 中山大学生物系生化微生物教研室编,1979. 生化技术导论. 科学出版社。
- [3] 朱仲贤,1979. 盐酸甜菜碱在甜菜上应用的效果. 甜菜糖业,甜菜分册3,40~41。
- [4] 林建斌,1992. 鱼用饲料中的诱食剂. 饲料工业,13(1)。
- [5] 刘继业等,1987. 饲料加工技术(上、下). 化学工业出版社。
- [6] 田云荣(摘译),1995. 甜菜碱的独特营养作用. 国外畜牧科技,22(4):11。
- [7] 郭玉琴、丁角立,1995. 甜菜碱营养机理及在养殖业中的应用. 国外畜牧科技,22(6)。
- [8] 竹田正彦,潼井健三,1987. ウナギ饲料への摄饵促进物质添加效果. 养殖,24(3):109~112。
- [9] Mackie A. M and Mitchell, A. I., 1982. Further studies on the chemical control of feeding behaviour in the doversole, *Soleasolea*. *Comp. biochem. physiol.* 73A(1): 89~91

-
- [10] Carr, 1982. In "Chemoreception in fishes" (Hara, T.J.ed.) Elsevier, Amsterdam, 259~273.
- [11] Clarke W.C. Virtanen E et. al. 1994. Effect of a dietary betaine/amino acid additive on growth and seawater adaptation in yearling chinook salmon. *Aquaculture*, 121 (1/3):137~145.
- [12] Clayton uill, 1989, Feeding stimulants. *Feed International*, 10 (1/3):12~14.
- [13] Duston J, Effect of dietary betaine and sodium chloride on seawater adaptation in Atlantic salmon parr (*Salmo salar* L). *Nutr, Abst, rev. (series B)* 1994, 64 (5):2546.
- [14] Nelson E. W, 1991. Feeding attractant of trout, *Feed management* 42 (3):6~10.
- [15] Fuzessery and Childress, 1975. Comparative chemosensitivity to amino acids and their role in the feeding activity of bathypelagic and littoral crustaceans. *The Biological bulletin*, 149:522~538.
- [16] Saunderson C. L. 1990. Changes in body - weight composition and hepatic enzyme activities in response to dietary methionine, betaine and choline levels in growing chicks. *The British J. of Nutri* 63 (2): 339~349.