

不同 pH 和温度条件下 杂交鲟胃中消化酶活性的变化

叶继丹¹, 卢彤岩¹, 田雷², 孙大江¹

(1. 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 黑龙江 哈尔滨, 150070;

2. 东北农业大学 生物工程学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘要:以杂交鲟(*Huso huso* ♀ × *A. ruthenus* ♂)为研究材料,测定不同 pH 及不同温度条件下胃中蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶的活性。结果表明,当 pH 2.2~7.8 时,蛋白酶随 pH 的升高酶活性逐渐降低,淀粉酶及脂肪酶在偏碱性条件下才具有一定的酶活性,而且活性较弱。在 20~40 °C 范围内,蛋白酶活性随温度的升高而增加,淀粉酶、脂肪酶分别在 35 °C 和 25 °C 处达最大酶活性。

关键词:杂交鲟; pH; 温度; 消化酶活性

中图分类号: Q959.463

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737(2003)01-079-03

鲟的人工养殖近几年来发展迅速,已成为重要的水产养殖对象。鲟集约化养殖水平的不断提高是与其人工饲料的投喂与配制技术的进步分不开的,而了解鲟消化生理则是实现其人工饲料科学合理投喂与配制的基础。关于鱼类消化酶的研究,国内外有较多的报道,但对鲟类消化酶的研究鲜有报道,仅见中华鲟消化酶的报道^[1]。pH 和温度是影响其酶活性的重要因素,鱼类饲料 pH 与鱼类消化酶最适 pH 密切相关,而酶的最适温度一般应与鱼类最佳的生长温度相近,因为鱼类是变温动物,其代谢过程受外界环境温度的影响较大。本文研究了不同 pH 及不同温度对杂交鲟(*Huso huso* ♀ × *A. ruthenus* ♂)胃中主要消化酶活性的影响。

1 材料与方法

1.1 取样及胃内 pH 测定

2001 年 9 月从中国水产科学研究院鲟鱼繁育工程技术研究中心采集了 6 尾 1+ 龄杂交鲟,体重 510~625 g。逐尾取出其胃,用精密 pH 试纸测定胃中 pH 后,立即置于 -20 °C 冰箱保存备用。

1.2 样品处理

每 3 尾鱼的胃组成 1 个混合样品,于冰盘上用剪刀剪成 1 mm³ 大小的块状。按样品重的 20 倍加入预冷生理盐水,在

高速组织匀浆机中匀浆,匀浆液用离心机以 3 500 r/min 离心 15 min,取上清液,置于 4 °C 冰箱中保存,作胃蛋白酶活力的测定时再稀释 5 倍。

1.3 pH 与温度的设置

采用磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液^[2],培植水温为 30 °C,在 pH 2.2~7.8 内,pH 梯幅为 0.4,共 15 个 pH 梯度。培植水温为 20~40 °C,梯幅 5 °C,共 5 个温度梯度。测定胃蛋白酶时 pH 为 2.6,淀粉酶、脂肪酶 pH 为 7.4。

1.4 消化酶活性的测定

用岛津 UV-2401 测定蛋白酶^[2]、淀粉酶^[3]的活性。脂肪酶活性的测定采用聚乙烯醇橄榄油乳化液水解法^[2]。蛋白酶活性定义:1 g 新鲜组织样品在 pH 7.4(测定胃蛋白酶活性时 pH 为 2.2)和 30 °C 条件下保温 15 min,1 min 水解酪蛋白所产生的酪氨酸量(μg/g·min)。脂肪酶活性定义:1 g 新鲜组织样品在 pH 7.4 和 30 °C 条件下保温 15 min,1 min 水解脂肪所产生的脂肪酸量(μg/g·min)。淀粉酶活性定义:1 g 新鲜组织样品在 pH 7.4 和 30 °C 条件下保温 7.5 min,30 min 水解淀粉的量(mg/g·30 min)。

2 结果

2.1 pH 对消化酶活性的影响

杂交鲟胃蛋白酶、脂肪酶及淀粉酶活力的变化情况见图 1。在 pH 2.2~7.8 内,蛋白酶随 pH 的升高酶活性逐渐降低。在 pH 2.2~4.6 时蛋白酶活性下降明显,pH 4.6 后维持在较低的水平。pH 在 2.2~4.6 时,淀粉酶活性几乎没有,pH 5.0 以上酶活性逐渐显现出来,在 pH 7.4 时形成一个较小的峰。与淀粉酶的情况类似,脂肪酶在 pH 达 6.2 时才显示出

收稿日期:2002-02-04。

基金项目:国家“九五”攻关课题资助项目(96-008-01-01-06)。

作者简介:叶继丹(1966-),男,副研究员,从事鱼类营养与饲料研究。

一定的活性,并随 pH 的升高而增加。

2.2 温度对消化酶活性的影响

由图 2 可见,杂交鲟胃蛋白酶在 20~40 °C 范围内随温度的升高酶活性逐渐升高,但在 35 °C 时酶活性增加明显,在 40 °C 时增幅减缓;在 20~40 °C 范围内,淀粉酶活性在 35 °C 时达最大值,在 40 °C 时略有下降;脂肪酶活性在 25 °C 时达最大值,然后呈不同程度的下降趋势,但变化平缓。

3 讨论

3.1 pH 对消化酶活性的影响

酶活性受 pH 的影响很大,不同消化酶对 pH 的要求不同。本试验中,杂交鲟胃蛋白酶最大酶活性处在 pH 的下限值 2.2 处,与文献报道的胃蛋白酶的最适 pH 在 2.0~4.0 的结果一致^[4]。但因为试验没有进一步测定低于此值的胃蛋白酶活性的变化情况,所以还不能确定 pH 2.2 是否为蛋白酶发挥最大酶活性的最适 pH。按理,胃蛋白酶须在较低的 pH 条件下才表现出较理想的酶活性,我们测得的杂交鲟胃中 pH 为 5,李瑾等^[1]测得的中华鲟为 5.5,伍莉等^[5]测得的南方大口鲶和乌鳢分别为 5.0 和 5.5。不同种类胃中 pH 与最大酶活性所需的 pH 之间会存在如此大的差异,可能与胃所处的状况有关。胃酸及胃液的分泌受食物的调节,排空期胃中 pH 一般较高,胃的活动处于休眠状态,进食后,由于食物对胃壁的刺激作用而大量分泌胃酸和胃液,胃中 pH 逐渐降低,鲟鱼在进食 20 h 后的 pH 降至 2.0^[4]。

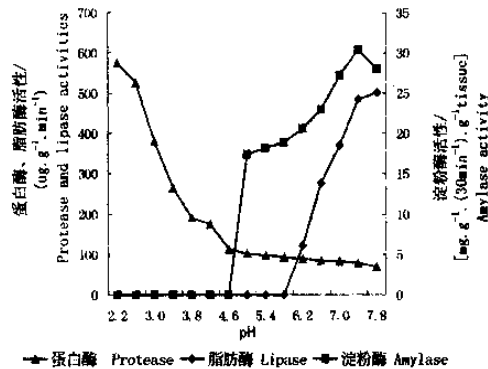


图 1 pH 对杂交鲟胃消化酶活性的影响
Fig. 1 Effects of pH on activities of digestive enzymes of hybrid sturgeon

从淀粉酶和脂肪酶的测定结果来看,其活性受 pH 的影响也较大,较低的 pH 下淀粉酶及脂肪酶活性几乎不存在,淀粉酶只在 pH 达到 5.0 以上、脂肪酶则在 5.8 以上才表现一定的酶活性,与黄峰等^[6]测定鲢、鳊鱼肠淀粉酶在不同 pH 下的酶活性变化结果相似,说明这 2 种消化酶需要维持在较高的

pH 水平上才发挥作用。由于胃中维持较高 pH 是在鱼进食的早期,且时间较短,因此淀粉酶和脂肪酶活性较弱,只在进食早期起一定作用。有研究表明,这 2 种酶在鳊鱼^[7]、中华鲟^[1]胃中的活性要低于肠中的。因此,可以认为胃中淀粉酶和脂肪酶只是对食物中碳水化合物和脂肪起初步消化作用,其作用是有限的,它们在对食物的消化地位上不如胃蛋白酶重要。

根据胃蛋白酶在较低的酸性环境下才具有较高的酶活性的特点,一些学者认为,在饲料中适当添加酸化剂,降低饲料 pH,可增强蛋白酶的活性,提高饲料蛋白质的消化利用率。一些研究表明^[1],降低饲料 pH 可弥补断奶仔猪胃内盐酸分泌量的不足,从而有效改善断奶仔猪的生产性能。就鱼类而言,虽然鱼类特别是处在幼鱼期的鱼类需要较高的饲料蛋白含量,对碳水化合物及脂肪的需要量较少,但人为降低饲料 pH 是否就能获得同样效果还需要得到试验的支持。因为胃中不仅存在胃蛋白酶,而且同时存在淀粉酶、脂肪酶等其他消化酶,低 pH 饲料可能使得需要较高 pH 环境的消化酶类活性降低。刘子冬等^①的试验表明,低 pH 饲料还使仔猪肠道中的胰蛋白酶和淀粉酶活性和血浆胆固醇及丙氨酸转氨酶的含量受到一定的影响,可见,低 pH 饲料不仅直接影响消化酶活性,还可影响其他生理生化功能。有关低 pH 饲料对胃鱼消化道酶活性的影响尚待查明。

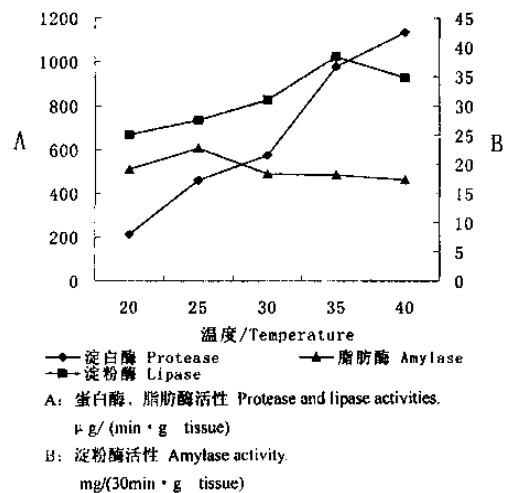


图 2 胃消化酶活性与温度的关系
Fig. 2 Relation between activities of digestive enzymes and temperature

① 刘子冬,等. 断奶日粮中添加有机酸对仔猪肠道微生物及断奶应激的影响[R]. 农业部饲料工业中心年度科研报告,1998,24-28.

3.2 温度对消化酶活性的影响

由试验结果可见,杂交鲟胃蛋白酶、淀粉酶及脂肪酶受温度的影响不象 pH 那样明显,这是因为试验设置的温度范围较窄、且 20~40℃ 仍处在酶的适宜作用温度范围之内。在本试验中,蛋白酶活性随温度的升高而增加,最大酶活性出现在上限温度 40℃ 处,高于乌鳢^[8]胃蛋白酶最适温度 30℃ 和彭泽鲫^[9]蛋白酶最适温度 35℃。淀粉酶在 35℃ 时达最大酶活性,脂肪酶在 25℃ 时酶活性最强。蛋白酶达最大酶活性所需温度大体上要高于淀粉酶,这种现象也见于彭泽鲫^[9],可能是蛋白酶本身在作用底物蛋白时需要更长的时间,因为蛋白质的化学结构和性质较糖类和脂类复杂的多,根据酶的理化特性,最适温度随着作用时间的长短而改变,反应时间短,酶的最适温度就高,实际上,食物在消化道内与酶作用的时间是很长的,如饲喂豆饼后乌鳢胃蛋白酶达最大酶活性时间为 9 h,饲喂泥鳅后在 12 h 达最大酶活性^[8]。鱼类在自然水体环境中对饲料蛋白质的消化分解受水温的影响只是在极端条件下发生^[9],其最大酶活性一般应与最适的生存水温相适应。乔秀亭等^[8]测定乌鳢蛋白酶、方之平等^[9]测定彭泽鲫肠淀粉酶的作用时间分别为 30 min 和 15 min,均比本试验测定胃蛋白酶和淀粉酶的作用时间长(分别为 15 min 和 7.5 min),测定脂肪酶的作用时间与本试验的一致,本实验测得的脂肪酶最适温度与彭泽鲫^[9]的一致,而测得杂交

鲟的蛋白酶和淀粉酶最适温度值的偏高现象推测可能与离体实验设定的作用时间较短有关。

参考文献:

- [1] 李 瑾,何国瑞,王学东.中华鲟消化酶活性分布的研究[J].水产科技情报,2001,28(3):99-102.
- [2] 中山大学生物系生化微生物学教研室.生化技术导论[M].北京:人民教育出版社,1978.
- [3] 上海市医学化验所.临床生化检验[M].上海:上海科学技术出版社,1979.
- [4] 尾崎久雄.鱼类消化生理(上册)[M].上海:上海科学技术出版社,1985.
- [5] 伍 莉,罗焱长,熊关强.pH 值对南方大口鲶及乌鳢胃蛋白酶活力的影响[J].水利渔业,2001,21(1):14-15.
- [6] 黄 峰,严安生,牟 松,等.鲢、鳙蛋白酶、淀粉酶的研究[J].中国水产科学,1999,6(2):14-17.
- [7] 吴婷婷,朱晓鸣.鳊鱼、青鱼、草鱼、鲤、鲫、鲢消化酶活性的研究[J].中国水产科学,1994,1(2):10-17.
- [8] 乔秀亭,张美婷,宋学军,等.乌鳢蛋白酶消化酶活性的研究[J].南开大学学报(自然科学版),1999,32(2):103-106.
- [9] 方之平,潘黔生,何国瑞,等.温度对彭泽鲫主要消化酶活力的影响[J].水利渔业,1998,18(2):15-17.

Effects of pH and temperature on digestive enzyme activities in stomach of hybrid sturgeon (*Huso huso* ♀ × *A. ruthenus* ♂)

YE Ji-dan, LU Tong-yan, TIAN Lei, SUN Da-jiang

(1. Heilongjiang Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070, China;

2. School of Bioengineering, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: Six hybrid sturgeons (*Huso huso* ♀ × *A. ruthenus* ♂) at 1+ year of age and body weight 510-625 g were employed to test the activities of protease, amylase and lipase of stomach in vitro. When pH was at the range of 2.2-7.8 and water temperature at 30℃ the protease activity decreased gradually with pH increasing, which showed protease has high activity only at low pH. Amylase and lipase did not show any enzyme activities until pH increased to over 6.2, and their activities were lower than that of protease. When water temperature was at the range of 20-40℃ the protease activity increased with the temperature increasing and the activities of amylase and lipase got to their peaks at 35℃ and 25℃, respectively.

Key words: hybrid sturgeon; pH; temperature; digestive enzyme activity