

pH、底物浓度及暂养盐度对红鳍笛鲷 消化道淀粉酶活力的影响*

汤保贵 陈刚 张健东 叶富良

(湛江海洋大学水产学院 湛江 524025)

摘要:测定了红鳍笛鲷的胃、幽门盲囊、肠等消化组织中淀粉酶在不同 pH 值下的活力及在最适 pH 值下底物浓度、暂养盐度对其活力的影响。结果表明:胃、幽门盲囊、前中肠、后肠的淀粉酶的最适 pH 值分别是 5.4、6.0、6.0、7.6 和 6.2;最适底物浓度分别为 0.032%、0.032%、0.040%、0.040% 和 0.040%;最适暂养盐度为 25‰。

关键词:红鳍笛鲷;淀粉酶;pH;底物浓度;暂养盐度

中图分类号:S965 **文献标识码:**A **文章编号:**0250-3263(2004)02-70-04

Effects of pH, Amylum Concentration and Temporary-keeping Salinity on the Activity of Amylase in the Digestive Tract of *Lautianus erythropterus*

TANG Bao-Gui CHEN Gang ZHANG Jian-Dong YE Fu-Liang

(Fisheries College, Zhanjiang Ocean University, Zhanjiang 524025, China)

Abstract:The activity of amylase from stomach, pancreas and intestine of *Lautianus erythropterus* under different conditions was determined. The results showed that the most optimum pH values for amylase in stomach, pancreas, fore-intestine, mid-intestine and hind-intestine were 5.4, 6.0, 6.0, 7.6 and 6.2, respectively; the most optimum amyllum concentrations were 0.032%, 0.032%, 0.040%, 0.040% and 0.040%, respectively; and the most optimum temporary-keeping salinity was 25‰.

Key words: *Lautianus erythropterus*; Amylase; pH; Amylum concentration; Temporary-keeping salinity

红鳍笛鲷 (*Lautianus erythropterus*), 在分类学上属于鲈形目、笛鲷科、笛鲷属^[1], 在我国产于南海和东海南部, 是一种较大型的海产经济鱼类, 关于它的生物学及养殖已有较多研究^[2-5], 但对于其消化酶方面的研究目前尚未见报道。对其它鱼类的消化酶研究显示, 在不同条件下, 饲料中营养成分的消化利用率差别很大, 这和消化酶的活性有关^[6-8]。本实验旨在通过对消化道淀粉酶的最适 pH 值、底物浓度及暂养盐度的测定, 了解其对淀粉的消化特征, 为饲料配方中淀粉含量及相关问题提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材料 红鳍笛鲷(体长 26~32 cm, 体重 740~850 g) 10 尾于 2002 年 4 月下旬购自湛江东风市场, 在实验室水族箱

中暂养(海水盐度 28‰, 水温 24~26 ℃), 然后再将部分鱼的暂养盐度分别调至 10‰、15‰、20‰、25‰、30‰、35‰、40‰和 45‰(每 3 h 升高或降低 1‰), 驯养 1 周(投喂冰鲜和配合饲料各 50%)。取样前停食 72 h, 测定体长、体重, 然后解剖取出胃、幽门盲囊及肠(分前、中、后三段), 剔除结缔组织和脂肪, 再用蒸馏水冲洗, 然后吸干水分, 备用。

1.2 粗酶液制备 将所取的消化组织剪碎, 然后置于玻璃匀浆器中, 按每 g 组织加入 10 ml 蒸馏水, 冰浴匀浆, 然后冷冻离心(4 000 r/min × 15 min), 取上清液定容至 20 ml/g 组织, 再稀释 10 倍作为粗酶液, 在 4℃ 冰箱中保存, 并于 24~

* 广东省重大科技兴海项目(No. A200099A01);

第一作者介绍 汤保贵, 男, 28 岁, 讲师; 研究方向: 水产养殖; E-mail: zjtb@163.com.

收稿日期: 2003-04-25, 修回日期: 2004-02-01

48 h 内测定完毕。

1.3 酶活力测定 采用碘-显色法^[9]:在对照和实验管中均加入同一 pH 值的磷酸盐缓冲液、0.04% 可溶性淀粉液各 5.0 ml, 于 37℃ 水浴 5 min, 再分别加入 0.1 ml 0.9% 生理盐水和粗酶液, 混匀后于 37℃ 水浴 7.5 min 后取出, 加水至 50 ml, 混匀后立即于 660 nm 比色, 以水校正 0 点。活力单位 = $(OD_{\text{对}} - OD_{\text{样}}) \times 800 / OD_{\text{对}}$ 。

1.3.1 最适 pH 值测定 以 0.2 为梯度的 pH 4.0 ~ 9.0 的磷酸盐缓冲液^[10] 作为缓冲体系, 用 722 型分光光度计测定结果。

1.3.2 最适底物浓度测定 在 1.3.1 所测的最适 pH 值条件下, 改变底物浓度(其它操作同 1.3.1)来测定其对各组织淀粉酶活性的影响。

1.3.3 最适暂养盐度测定 在 1.3.1 所测的最适 pH 值条件下, 测定暂养盐度对淀粉酶活力的影响。

1.3.4 酶活力单位定义 在 37℃ 时 30 min 内 1 g 组织中淀粉酶能完全水解 10 mg 淀粉称为 1 个活力单位。

1.4 数据统计处理 参照文献[11]进行双因素方差分析和 *t*-检验。

2 结果

通过对不同 pH、底物浓度和暂养盐度条件下胃、幽门盲囊及前、中、后段肠中淀粉酶活力的测定, 所得实验结果见表 1 和图 1~3。

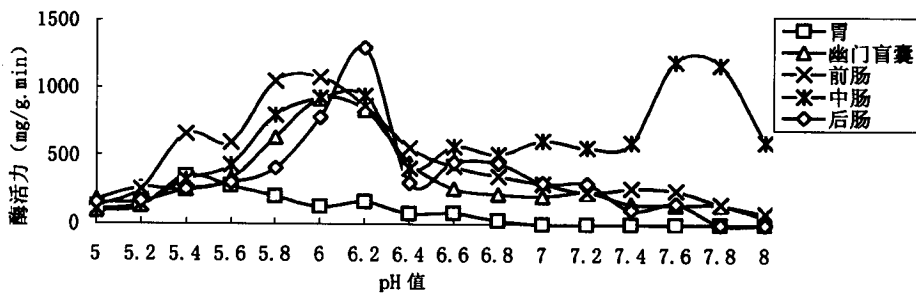


图 1 pH 值对红鳍笛鲷淀粉酶活力的影响

2.2 底物浓度对酶活力的影响 由图 2 可知:当底物浓度分别在 0.032%、0.032%、0.040%、0.040% 和 0.040% 时, 胃、幽门盲囊及前、中、后肠中淀粉酶活力出现最高值, 亦即分别是其最适底物浓度。底物浓度对淀粉酶活力也存在极显著的影响 ($F = 10.81 > F_{0.01(7,28)} = 3.36$)。从图 2 中还可以看出, 在最适底物浓度条件下, 依然是后肠中淀粉酶的活力(以最大值计)最高, 中、前肠和幽门盲囊次之, 胃部的最低, 若将后肠的计作 100, 则其它部位的由高到低分别为 86.1、80.3、79.8 和 26.2, 这与不同 pH 值条件下测定的结果非常相近,

表 1 在最适条件下各部位淀粉酶活力的比较(*t* 值)

部位间	酶活力比较		
	pH 值	底物浓度	暂养盐度
胃-幽门盲囊	577.080 3	384.590 4	256.099 8
胃-前肠	558.444 6	387.352 1	227.055 4
胃-中肠	728.126 4	550.997 2	383.451 5
胃-后肠	647.879 0	578.639 2	403.410 2
幽门盲囊-前肠	127.400 6	2.002 7	42.492 4
幽门盲囊-中肠	250.816 4	44.946 5	119.876 8
幽门盲囊-后肠	265.823 7	130.043 6	158.695 2
前肠-中肠	83.994 1	41.812 1	172.431 3
前肠-后肠	130.643 6	127.153 4	208.328 7
中肠-后肠	63.845 9	108.125 9	51.135 5

$$t_{0.025(18)} = 2.100 9, t_{0.005(18)} = 2.878 4$$

2.1 pH 值对酶活力的影响 从图 1 可知, 红鳍笛鲷的胃、幽门盲囊及前、中、后肠中淀粉酶的最适 pH 值分别为 5.4、6.0、6.0、7.6 和 6.2, 其中胃、幽门盲囊及前、后肠的都比较接近, 偏酸性, 而中肠的则显著偏高, 呈弱碱性, pH 值对酶活力有极显著的影响 ($F = 4.51 > F_{0.01(15,60)} = 2.36$)。

从图 1 还可以看出, 在 5 个部位中, 后肠中淀粉酶的活力(以最大值计)最高, 中、前肠及幽门盲囊次之, 胃部的最低, 呈现一种沿消化道递增的趋势。若将后肠的计作 100, 则其它部位的由高到低分别为 92.4、83.3、70.9 和 26.9, 从表 1 可见, 5 个部位的淀粉酶活力存在极显著差异 ($t > t_{0.005(18)}$)。

但前肠和幽门盲囊中酶活力并无显著差异 ($t < t_{0.025(18)}$)。

2.3 暂养盐度对酶活力的影响 由图 3 可以看出, 在不同的暂养盐度之下, 红鳍笛鲷消化道中淀粉酶的活力也是显著不同的 ($F = 41.96 > F_{0.01(8,32)} = 3.12$): 在 20‰ ~ 30‰ 的盐度范围内, 酶保持较高的活力, 当鱼处于 25‰ 的盐度之下时, 酶的活力最高; 而当鱼处于低盐或高盐条件下时, 酶的活力都比较低。从图 3 还可以看出, 在最适的盐度之下, 酶活力的高低顺序仍然是肠部和幽门盲囊的较高, 而胃部的较低, 这和图 1、2 的结果

类似,各部位间酶活力差异极显著($t > t_{0.005(18)}$)。

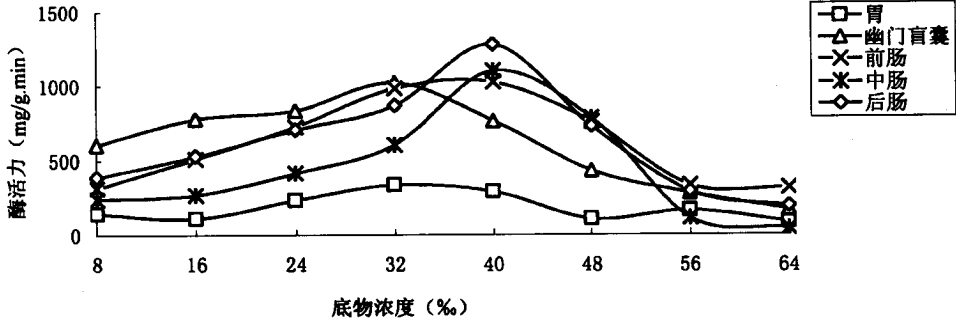


图2 底物浓度对红鳍笛鯛淀粉酶活力的影响

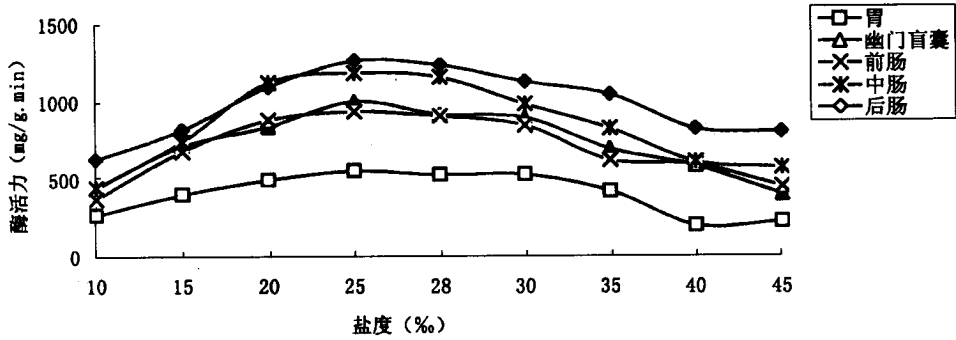


图3 暂养盐度对红鳍笛鯛淀粉酶活力的影响

3 讨论

从本次实验结果可以发现,在不同的 pH 值、底物浓度以及暂养盐度下,都是肠道的淀粉酶活力最高,而胃中的最低,表明红鳍笛鯛对淀粉的主要消化部位是在肠道(尤其是后肠)。据研究,鱼类淀粉酶主要是由(肝)胰脏分泌的,而胰液的出口处位于肠,有些鱼类的肠道中也可以产生淀粉酶,这就是肠道中淀粉酶活力显著高于消化道其它部位的原因^[12-14]。胃的重要功能是分泌蛋白酶和为蛋白质的消化提供一个强酸性的环境,因此在饱食状态下,胃液的 pH 值相当低,可以达到 1.7^[15]。而红鳍笛鯛胃内淀粉酶的最适 pH 值为 5.4,与之相差甚远,所以,在活体条件下,胃中淀粉酶活力很低。即使是在最适 pH 条件下,胃淀粉酶的活力也要远远低于其它部位,这就说明其中酶的分泌量也是很少的。这两种作用可能就是导致胃对淀粉的消化作用较小的原因。

大多数的研究结果都表明鱼类肠道中淀粉酶的最适 pH 值在 5.0~8.0 之间^[5],红鳍笛鯛为 6.0~7.6,也恰好在这个范围之内。但同时也注意到,在中肠的酶活力曲线中,出现了两个峰值,其中次峰对应的 pH 值

为 6.2,这和其邻近的前肠、后肠的最适 pH 值(分别为 6.0 和 6.2)都极为接近,表明它们可能是同一种酶,但主峰所对应的 pH 值是 7.6,却偏碱性,这就说明它很可能是另外一种淀粉酶的最适作用条件,并且这种酶在前、后肠中没有分布或者说分布量极少,这个现象有待进一步证实。

消化作用是一种酶促反应,反应速度(表现为酶的活力)与底物浓度有密切关系,而对于鱼类消化酶的活力与底物浓度之间关系的研究还甚少。红鳍笛鯛胃、幽门盲囊及前、中、后肠中淀粉酶活力分别在底物浓度为 0.032%、0.032%、0.040%、0.040% 和 0.040% 时达到最高,若还原为粗酶液稀释前的状态,则分别为 3.2%、3.2%、4.0%、4.0% 和 4.0%。由于淀粉的消化主要在肠道进行,其最适底物浓度可取 4.0%。

从图 3 可以看出,养殖盐度对红鳍笛鯛淀粉酶活性有显著影响,对真鯛的研究也取得相似的结果^[16]。盐度条件是影响海水鱼类生长的一个重要因素,它影响鱼类的生理状态,进而会影响到消化酶的分泌。盐度与酶的活性也不无关系,海水中有些无机离子对酶具有激活或抑制作用,因此有学者认为,无机离子直接对酶产生作用可能是盐度影响消化酶活性的主要原

因^[16]。由于本次实验提取的是粗酶液,酶量是未知的,所以也难以确定盐度对于酶的分泌量和酶的比活力影响分别有多大,可以认为是二者之积。在本文的结果中,暂养于盐度为25‰海水中的红鳍笛鲷的淀粉酶活力最高,并且在各个组织中结果相同,表明红鳍笛鲷生长于此盐度的海水中时,对淀粉的利用率可能是最高的。

参 考 文 献

- [1] 陈再超,刘继兴.南海经济鱼类.广州:广东科技出版社,1982.
- [2] 陈武各.红鳍笛鲷人工育苗技术.渔业现代化,2002(4):20~21.
- [3] 游克仁.红鳍笛鲷网箱养成技术.科学养鱼,2001(7):26~27.
- [4] 黄志坚,何建国.鲑点石斑鱼细菌病原的分离鉴定和致病性.中山大学学报(自然科学版),2002,41(9):64~67.
- [5] 易乐飞,刘楚吾.三种笛鲷属鱼类的随机扩增多态性DNA初步研究.湛江海洋大学学报,2001,21(1):70~72.
- [6] 王重刚,陈品健,顾勇等.不同饵料对真鲷稚鱼消化酶活性的影响.海洋学报,1998,20(4):103~106.
- [7] 蔡克瑕,陈品健,王重刚等.饵料对花尾胡椒鲷仔鱼消化酶的影响.海洋学报,2000,22(2):142~145.
- [8] 李沫,蔡泽平.不同食物饲养条件下紫红笛鲷幼鱼的消化酶活性的初步研究.湛江海洋大学学报,2001,21(增刊):21~24.
- [9] 上海市医学化验所.临床生化检验(上册).上海:上海科技出版社,1979,366~367.
- [10] 北京农业大学.动物生物化学实验指导.北京:农业出版社,1984,145~146.
- [11] 贵州农学院主编.生物统计附实验设计.北京:农业出版社,1980.
- [12] 尾崎久雄著(吴尚忠译).鱼类消化生理学(上册).上海:上海科技出版社,1983.
- [13] 周景祥,陈勇,黄权等.鱼类消化酶的活性及环境条件的影响.华北大学学报(自然科学版),2001,2(1):70~83.
- [14] 倪寿文,桂远明,刘焕亮.草鱼、鲤、鲢、鳙和尼罗非鲫淀粉酶的比较研究.大连水产学院学报,1992,7(1):24~31.
- [15] 林浩然著.鱼类生理学.广州:广东高等教育出版社,1999.
- [16] 陈品健,王重刚,郑森林.盐度影响真鲷幼鱼消化酶活力的研究.厦门大学学报(自然科学版),1998,37(5):754~756.