

温度对兰州鲇消化酶活性的影响

杨元昊^{①②} 周继术^① 吉红^① 龚月生^① 杨娟宁^② 李维平^{②*}

(^①西北农林科技大学动物科技学院 陕西 杨凌 712100 ;

^②中国水产科学研究院黄河水产研究所 农业部渔业环境及水产品质量中心 西安 710086)

摘要 :测定了兰州鲇(*Silurus lanzhouensis*)胃、肝胰脏、前肠、中肠、后肠在不同温度(15℃、20℃、25℃、30℃、37℃、42℃、47℃)条件下的蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶的活性。结果表明 随温度的升高,各种酶活性的变化均表现为先增高后下降直至不能检出。消化道各部位蛋白酶的最适温度均为42℃,淀粉酶的最适温度除胃和肝胰脏为37℃外,其他部位均为30℃,脂肪酶的最适温度除后肠为30℃外,其他部位均为25℃。消化酶的最适温度高于其生活水域的水温,反映出消化酶作为酶蛋白的耐热性。最适温度下,蛋白酶活性前肠≈中肠>后肠>肝胰脏≈胃,淀粉酶活性前肠>中肠>肝胰脏>胃>后肠,脂肪酶活性中肠>后肠>前肠≈肝胰脏>胃。研究结果还表明,前肠和中肠是兰州鲇消化蛋白的主要部位,中肠是其消化脂肪的主要部位,而前肠是其消化淀粉的主要部位。在消化酶表现出活性的温度范围内,蛋白酶活性明显高于淀粉酶活性。实验还表明脂肪酶具有活性的温度范围较蛋白酶和淀粉酶窄。

关键词 :温度;兰州鲇;蛋白酶;淀粉酶;脂肪酶;活性

中图分类号:Q955 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2006)06-104-05

Effect of Temperature on Activity of Digestive Enzymes in *Silurus lanzhouensis*

YANG Yuan-Hao^{①②} ZHOU Ji-Shu^① JI Hong^① GONG Yue-Sheng^①
YANG Juan-Ning^② LI Wei-Ping^②

(^① College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University, Yanglin Shaanxi 712100 ;

^② Supervision & Test Center for Fisheries Environment and Quality of Fishery Products of Ministry of Agriculture in Xi'an ,
Yellow River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Science, Xi'an 710086, China)

Abstract :The protease, amylase and lipase activities in *Silurus lanzhouensis* under the condition of different temperature(15℃, 20℃, 25℃, 30℃, 37℃, 42℃ and 47℃) were studied. The results showed that: with the increasing of temperature, the digestive enzymes' activities increased at first, then decreased. The optimum temperatures of the protease in all digestive tissues and organs were 42℃; those of amylase were 30℃ except stomach and hepatopancreas, which was 37℃; those of lipase were 25℃ except posterior intestine, which was 30℃. The optimum temperatures of these enzymes were higher than the temperature that the fish lived in, which showed the protein of enzymes' thermostability. Under respective optimum temperature, protease activity changed in the order from high to low as anterior intestine ≈ middle intestine > posterior intestine > hepatopancreas ≈ stomach; amylase

基金项目 中国水产科学研究院科研基金项目(No.2003-01-05);

* 通讯作者, E-mail: wpli888@sohu.com;

第一作者介绍 杨元昊,男,硕士研究生,副研究员;主要从事水产动物营养与水产品质量安全研究;E-mail: yangyh_010@yahoo.com.cn.

收稿日期 2006-01-20,修回日期 2006-10-08

activity changed as anterior intestine > middle intestine > hepatopancreas > stomach > posterior intestine ; lipase activity changed as middle intestine > posterior intestine > anterior intestine \approx hepatopancreas > stomach , which showed that anterior intestine and middle intestine are the main positions in digesting protein , also anterior intestine and middle intestine are the main positions in digesting amylase and lipid respectively . The activity of protease is higher than that of amylase in the temperature from 25°C to 37°C . The result also showed that the range of temperature for lipase to exert its activity was narrower than that of protease and amylase .

Key words : Temperature ; *Silurus lanzhouensis* ; Protease ; Amylase ; Lipase ; Activity

消化酶活性是反映鱼类消化生理机能的一项重要指标。国外先后报道了鳙(*Dorosoma cepedianum*)^[1]、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)和欧洲鳗(*Anguilla anguilla*)^[2]等鱼类消化酶活性的研究。国内学者也对中华鲟(*Acipenser sinensis*)等 6 种鲟鱼^[3]、大鳍鱮(*Mystus macropterus*)^[4,5]、南方大口鲇(*Silurus meridionalis*)^[6]、鲇(*Silurus asotus*)^[7]、鳊鱼(*Siniperca chautsi*)^[8]、鲤(*Cyprinus carpio*)^[8,9]、草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)^[8,10]等鱼类消化酶活性的最适温度、最适 pH 或消化酶活性的分布特点等方面进行了研究。

兰州鲇(*Silurus lanzhouensis*) , 俗名黄河鲇 , 属鲇形目 鲇科 , 鲇属鱼类 , 主要分布于黄河中上游 , 渭河及陕北入黄河的河流下游 , 具有较高的经济价值^[11,12]。兰州鲇肉质细嫩、味美 , 是鱼类的上品。但是由于黄河水体的污染 , 鱼类生长繁殖环境的恶化 , 加上过度捕捞 , 使兰州鲇资源日益衰退。有关兰州鲇的研究 , 仅见人工繁殖方面^[13] , 对其消化生理的研究还未见报道。研究温度对兰州鲇消化酶活性的影响 , 旨在了解兰州鲇的消化生理特点 , 为兰州鲇的资源保护和人工养殖饲料的配制提供理论依据 , 也为鱼类消化酶的酶促反应动力学提供基础资料。

1 材料与方 法

1.1 试验鱼 2005 年 5 月 8 日于黄河壶口至三门峡段购得兰州鲇活体 , 鉴定定种后共计 23 尾 , 体质健康 , 尾均重(295 ± 118)g。

1.2 样品处理及酶液的制备 测定每尾鲇体重、体长后 , 在冰盘内解剖 , 取出胃、肠、肝胰脏 3 种器官 , 剔除脏器上的结缔组织和脂肪组织 , 并于第一回折和最后一回折处将肠划分为前、

中、后三部分。纵剖胃及前、中、后肠 , 清除其内容物 , 用精密 pH 试纸测胃壁 pH。用冰冻磷酸缓冲液(pH 7.5)冲洗胃肠内容物 , 再用滤纸将其表面水分吸干 , 连同肝胰脏分别标号 , 置于液氮罐中保存备用。测定酶活性前 , 将冷冻保存的胃、肝胰脏及肠等取出 , 随机选取 5 尾兰州鲇的胃、肝胰脏、前肠、中肠和 7 尾兰州鲇的后肠 , 解冻后分别混匀并参照叶元士^[6,9]和中山大学^[14]的方法制备粗酶提取液 , 置于 4°C 的冰箱中保存待用。24 h 内分析完毕。

1.3 酶活性测定 蛋白酶活性的测定采用福林-酚试剂法^[6]。蛋白酶活性定义为 : 以酪蛋白为底物 , 在 pH 7.5 和 (30 ± 1)°C 条件下 , 每分钟催化生成 1 μg 酪氨酸的酶量为一个酶活性单位(U)。

淀粉酶活性的测定采用次碘酸盐法^[9]。淀粉酶活性定义为 : 以淀粉为底物 , 在 pH 7.5 和 (30 ± 1)°C 条件下 , 每小时催化生成 1 mg 葡萄糖的酶量为一个酶活性单位(U)。

脂肪酶活性的测定采用聚乙烯橄榄油乳化液水解法^[15]。脂肪酶活性定义为 : 在 pH 7.5 和 (30 ± 1)°C 条件下 , 脂肪酶水解脂肪每分钟产生 1 μg 脂肪酸的酶量为一个酶活性单位(U)。

测定时 , 每个样品平行测定 4 次 , 结果取其平均值。

1.4 温度设置 用恒温水浴锅控制反应温度 , 共设置了以下 7 个温度梯度 : 15°C、20°C、25°C、30°C、37°C、42°C、47°C。pH 为 7.5 (0.2 mol/L pH 7.5 磷酸缓冲液)。

2 结 果

2.1 温度对兰州鲇蛋白酶活性的影响 从图

1 可以看出,兰州鲇各消化部位蛋白酶随温度的上升,活性升高,在 42℃ 时均达到最大值,高于此温度,酶活性下降,甚至不能检出。比较各部位的蛋白酶活性,可以看出,在 25 ~ 42℃ 的范围内,前、中肠酶活力最高,而后肠较低且与肝胰脏接近,胃蛋白酶活力最低。最适温度下(42℃),蛋白酶活力前肠 ≈ 中肠 > 后肠 > 肝胰脏 ≈ 胃。

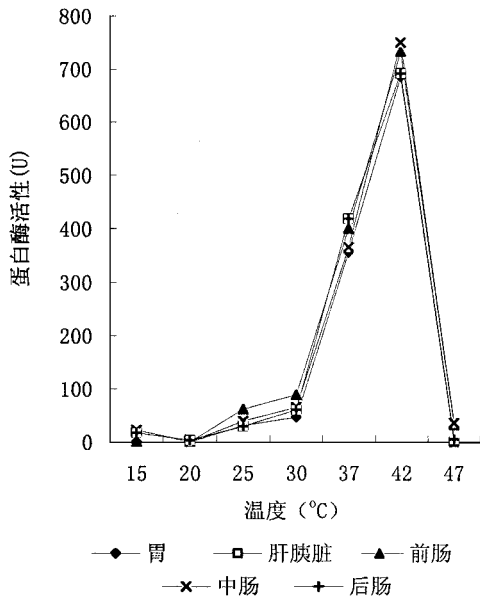


图 1 温度对兰州鲇蛋白酶活性的影响

2.2 温度对兰州鲇淀粉酶活性的影响 从图 2 可以看出,淀粉酶的最适温度,除胃、肝胰脏为 37℃ 外,肠(前、中、后)均为 30℃。在 20 ~ 30℃ 间,淀粉酶活性表现为前肠 > 中肠 > 后肠,而中、后肠与胃、肝胰脏较接近。在 37 ~ 42℃ 间,前肠淀粉酶活性下降至不能检出,而中肠、后肠也呈下降趋势,胃和肝胰脏在 37℃ 时酶活性有一定增高,到 42℃ 时均下降。最适温度下,淀粉酶活性前肠 > 中肠 > 肝胰脏 > 胃 > 后肠。

2.3 温度对兰州鲇脂肪酶活性的影响 从图 3 可以看出,在低于 20℃、高于 30℃ 条件下,除后肠外,胃、肝胰脏及前、中肠中的脂肪酶活性均无法检出。表现出兰州鲇消化道脂肪酶对温度的适应范围较蛋白酶和淀粉酶窄,且不耐高

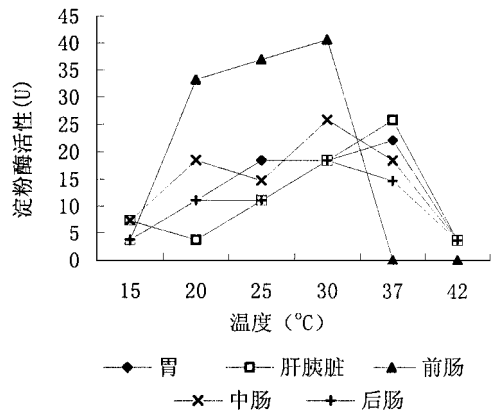


图 2 温度对兰州鲇淀粉酶活性的影响

温。该酶最适温度除后肠为 30℃ 外,其他各部位均为 25℃。最适温度下,脂肪酶活性中肠 > 后肠 > 前肠 ≈ 肝胰脏 > 胃。

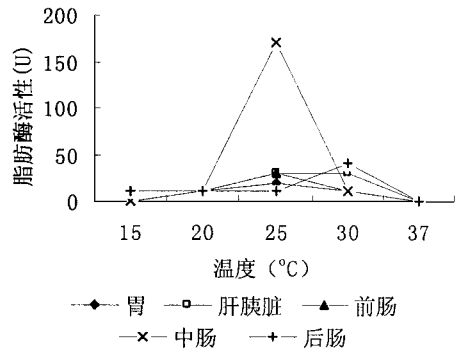


图 3 温度对兰州鲇脂肪酶活性的影响

3 讨论

3.1 消化酶最适温度的变化特点 消化酶是酶的一种,酶的反应是温度的函数。在一定范围内,温度升高则酶反应速度加快。如果温度过高,酶蛋白开始变性,酶活性降低。在一定温度时,酶反应可达最大速度,这一温度即为酶的最适温度,它是表示酶特性的一个数值。兰州鲇消化酶最适温度分别为:蛋白酶 42℃,淀粉酶 30℃ 或 37℃,脂肪酶 25℃ 或 30℃。该结果与兰州鲇生活习性相一致:该鱼是以肉食为主的杂食性鱼类,食量较大,当水温升至 15℃ 以上时开始正常摄食,当水温达到 20 ~ 30℃ 时摄食旺盛^[16]。同时该结果表现出消化酶最适温度

与其他鱼类差异不大^[10,17],与桂远明等^[18]报道的草鱼、鲤、鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*)、鳙(*Aristichthys nobilis*)肠、肝胰脏蛋白酶最适温度 45~55℃,淀粉酶最适温度 30~35℃,脂肪酶最适温度 25~30℃相一致。从这些研究结果可以看出,鱼类消化酶的最适温度在 25~55℃的范围内,数值分散,一般在 40℃左右,这个最适温度远比鱼类栖息的水温高,表现出鱼类消化酶对低温的适应性。因此消化酶的最适温度与生物生活环境温度常常不一致甚至有极大的差别^[19]。鱼类的最适温度是在实验室规定的反应时间、条件下进行测定的,由于反应体系的状态,如添加物、缓冲液种类、反应时间等不同而有所差异。而实际上生物体内酶起作用的时间会长得多,所以最适温度只是在一定条件下才有意义,但在一定程度上也反映了消化酶的耐热性^[19],这为内源酶和外源酶的应用研究及生产提供了可参考的资料^[20]。

不同种鱼所分泌的同一种消化酶,由于酶的特性是不同的,因此其最适温度也不同。但同一种鱼不同部位所分泌的同一种消化酶,最适温度是否相同,不同的研究者有不同的结果。从叶元士^[6]、付新华^[20]、林仕梅^[5]等人的研究可以看出,大多数鱼类不同部位分泌的同一种酶,其最适温度是不同的。Hidalgo^[2]等对虹鳟、裂头海鲈(*Sparus aurata*)的研究发现,该类鱼消化酶活性随温度的下降而降低,但这个变化趋势随鱼的种类和组织的不同而变化。该结果表现出不同组织分泌的消化酶对温度的反应是不一致的。而陈章宝^[21]在对淡水白鲟(*Colossoma brachypomum*)、团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)、黄颡鱼(*Pseudobaqrus fulvidraco*)等的研究发现,不同消化部位所分泌的同一种酶,其最适温度是相同的。本研究中,兰州鲇各消化部位分泌的蛋白酶最适温度均相同(42℃),而各消化部位分泌的淀粉酶、脂肪酶的最适温度均不完全相同。是否可以认为,在长期的生物进化过程中,各消化部位分泌的同一类酶在结构和特性上可能发生了不同程度的改变,这还需进一步研究。

3.2 消化酶活性大小分布特点与最适消化部位

3.2.1 蛋白酶活性大小分布特点与蛋白质的最适消化部位 鱼类消化道的不同部位由于其消化机能的不同,消化酶活性会出现差异。从对中华鲟等 6 种鲟鱼^[3]、大菱鲂(*Scophalmus maximus*)^[20]、中华倒刺鲃(*Spinibarbus sinensis*)、黄颡鱼^[22]、鲂^[7]、鳊鱼、青鱼(*Mylopharyngodon piceus*)、草鱼、鲤、鲫(*Carassius auratus*)、鲢^[8]等鱼的研究结论来看,不同鱼类消化道蛋白酶活性高低的分布特点是不同的。在本试验 25~42℃的适温范围,兰州鲇蛋白酶活性前肠>中肠>后肠≈肝胰脏>胃。因此可以初步认为,作为底栖性肉食鱼类的兰州鲇,前肠和中肠是其食物蛋白质的主要消化场所,这与鲂^[7]、南方大口鲂^[6]等肉食性鱼类前肠起主要消化作用的结论基本一致。

3.2.2 淀粉酶活性大小分布特点与淀粉的最适消化部位 兰州鲇淀粉酶活性在最适温度(20~30℃)下呈前肠>中肠>后肠≈胃≈肝胰脏的变化趋势,这与对鲤鱼^[23]、黄颡鱼^[22]、鲂^[7]等的研究结果不同,但与大菱鲂^[20]、中华倒刺鲃^[22]的结果较一致。由于鱼类淀粉酶活性与食性无明显的相关性^[8],因此从兰州鲇淀粉酶活性这一点上难以判断兰州鲇是否是草食性、肉食性或杂食性鱼。从兰州鲇淀粉酶活性分布特点可以看出,前肠是兰州鲇消化食物中淀粉的主要部位。

3.2.3 脂肪酶活性大小分布特点与脂肪的最适消化部位 温度在 25℃下兰州鲇中肠的脂肪酶活力最高,这与在整个肠道中大菱鲂^[20]前肠脂肪酶活性最高,而黄颡(*Monopterus albus*)^[24]后肠脂肪酶活性最高的研究结果不一致,这可能与鱼类种属的差异有关。可以认为,兰州鲇中肠是消化食物脂肪的主要部位。温度超过 37℃或低于 15℃时,兰州鲇消化系统脂肪酶几乎检测不到,因此可以认为,在水温过高或过低时,兰州鲇可能不再摄食,或者无法消化食物中的脂肪,因此在配制兰州鲇人工配合饲料时应充分考虑该鱼所生活的水温与季节,以有

效提高饲料中脂类的消化利用率。

3.3 消化酶活性大小与食性的关系 动物食性和其本身的消化酶组成状况密切相关^[25-26]。按照消化酶活性的定义,将兰州鲇蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活性大小换算为单位时间内产物的物质的量进行比较,可以看出,在最适温度及最适消化部位下,蛋白酶活性最高,约为脂肪酶活性的两倍,蛋白酶和脂肪酶活性均远高于淀粉酶活性。因此,可以认为,这一特性与兰州鲇为肉食性鱼类^[16]、食物中蛋白质含量较高有关。因此在开发兰州鲇人工配合饲料的时候,应充分考虑饲料中蛋白质水平以满足其对蛋白质的营养需求。

致谢 西北农林科技大学动物科技学院 2004 届水产养殖专业本科毕业生黄有参与了本试验的部分工作,特此感谢!

参 考 文 献

- [1] James C Smoot , Robert H Findlay. Digestive enzyme and gut surfactant activity of detritivorous gizzard shad(*Dorosoma cepedianum*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 2000 **57**(6): 113 ~ 119.
- [2] Hidalgo M C , Urea E , Sanz A. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Proteolytic and amylase activities. *Aquaculture* ,1999 ,**170**(3 ~ 4): 267 ~ 283.
- [3] 叶继丹 ,卢彤岩 ,刘洪柏等.六种鲟鱼消化酶活性的比较研究.水生生物学报,2003 **27**(6): 590 ~ 594.
- [4] 向泉 ,叶元士 ,周兴华等.大鳍鲢的消化能力与营养价值.水产学报,2003 **27**(4): 371 ~ 376.
- [5] 林仕梅 ,王友慧 ,罗莉等.大鳍鲢蛋白酶活性的研究.中国水产科学,2003 **10**(2): 169 ~ 172.
- [6] 叶元士 ,林仕梅 ,罗莉等.温度、pH 值对南方大口鲶、长吻鲢蛋白酶和淀粉酶活性的影响.大连水产学院学报,1998 **13**(2): 17 ~ 23.
- [7] 向泉 ,叶元士 ,周兴华等.鲇的消化能力与营养价值分析.动物学杂志,2004 **39**(6): 65 ~ 69.
- [8] 吴婷婷 ,朱晓鸣.鳊鱼、青鱼、草鱼、鲤、鲫、鲢消化酶活性的研究.中国水产科学,1994 **11**(2): 10 ~ 17.
- [9] 叶元士.鲤鱼肠道、肝胰脏淀粉酶活力研究.水产科学,1992 **11**(2): 21 ~ 25.
- [10] 黄耀桐 ,刘永坚.草鱼肠道、肝胰脏蛋白酶活性的研究.水生生物学报,1988 **12**(4): 328 ~ 333.
- [11] 陕西省水产研究所 ,陕西师范大学(编著). 陕西鱼类志.西安 : 陕西科学技术出版社,1992,101 ~ 122.
- [12] 褚新洛 ,郑葆珊 ,戴定远等(编著). 中国动物志 硬骨鱼纲 鲇形目.北京 : 科学出版社,1999,77 ~ 93.
- [13] 杨明忠 ,李力 ,王建勇等.黄河鲇鱼人工繁殖研究.科学养鱼,1997 **4**: 10 ~ 11.
- [14] 中山大学生物系.生物技术导论.北京 : 科学出版社,1979,42 ~ 54.
- [15] 北京大学生物化学教研室.生物化学实验指导.北京 : 高等教育出版社,1979,88.
- [16] 丁永钦 ,李翠英 ,王金如.黄河鲇的池塘养殖技术.内蒙古农业科技,2001 (增刊): 3.
- [17] John E H. Fish Nutrition. California : Academic Press Inc , 1987,333 ~ 423.
- [18] 桂远明 ,吴垠 ,刘焕亮等.温度对草鱼、鲤、鲢、鳙主要消化酶活性的影响.大连水产学院学报,1992 **7**(4): 1 ~ 8.
- [19] 杨蕙萍 ,童圣英 ,王子臣.国内外关于水产动物消化酶研究的概况.大连水产学院学报,1998 **13**(3): 64 ~ 71.
- [20] 付新华 ,孙谧 ,孙世春.大菱鲆消化酶的活力.中国水产科学,2005 **12**(1): 26 ~ 32.
- [21] 陈章宝 ,郑曙明.淡水白鲟、团头鲂、黄颡鱼主要消化酶活性研究.四川畜牧兽医学院学报,2001 **15**(3): 10 ~ 15.
- [22] 周兴华 ,向泉 ,叶元士等.中华倒刺鲃、黄颡鱼和华鲮消化酶活性的比较研究.安徽农业大学学报,2003 **30**(1): 78 ~ 81.
- [23] Kawai S , Ikeda S. Studies on digestive enzymes of fishes. *Bull Japan Soc Science Fish* , 1971 **37**(4): 333 ~ 337.
- [24] 周晓林 ,伍莉 ,陈鹏飞.pH 对黄鳍肠道和肝胰脏主要消化酶活力的影响.内陆水产,2002 **11**: 37 ~ 38.
- [25] Kenji Takai , Sadao Shimeno. The effect of feeding stimulant in diet on digestive enzymes in carp intestine. *Bull Japan Soc Science Fish* , 1986 **52**(8): 1449 ~ 1454.
- [26] Kawai S , Ikeda S. Effects of dietary changes on the activities of digestive enzymes in carp intestine. *Bull Japan Soc Science Fish* , 1972 **38**(3): 265 ~ 269.