

温度和 pH 对洞庭鲢鱼消化酶活性的影响

韩 庆 刘良国 张建平 赵东海 潘 著 乌日娜

(湖南文理学院生命科学学院, 常德 415000)

摘要: 采用酶学分析方法研究了温度和 pH 对洞庭鲢鱼蛋白酶、脂肪酶和淀粉酶活力的影响。结果表明, 在设定的温度和 pH 范围内, 鲢鱼各消化酶的活力均随着温度和 pH 的升高呈现先升后降的变化趋势。其中, 胃蛋白酶的最适温度为 40℃, 肝胰脏、前肠、中肠和后肠蛋白酶的最适温度为 45℃; 脂肪酶的最适温度均为 35℃; 胃淀粉酶的最适温度为 35℃, 其他部位均为 30℃。胃、肝胰脏、前肠、中肠和后肠蛋白酶的适宜 pH 分别为 2.0、8.5、7.5、8.0 和 8.0; 脂肪酶的适宜 pH 均为 7.5; 淀粉酶肝胰脏的适宜 pH 为 7.5, 其余部位均为 7.0。鲢鱼各消化酶活力存在器官特异性。在最适温度下, 蛋白酶活力顺序为前肠>肝胰脏>胃>中肠>后肠, 脂肪酶的活力顺序均为肝胰脏>胃>前肠>中肠>后肠, 淀粉酶的活力顺序为肝胰脏>前肠>中肠>后肠>胃, 各部位之间差异显著($P<0.05$)。

关键词: 鲢鱼; 消化酶活性; 温度; pH; 洞庭湖区

中图分类号: S965.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2011)01-0022-08

消化酶主要指由消化系统分泌的起营养消化作用的酶类, 具有酶的所有特征。鱼类消化酶主要有蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶等几种, 随着人们对鱼类配合饲料研究的不断深入, 鱼类消化酶的研究越来越受到人们的重视, 是鱼类消化生理的重要研究内容, 也是配合饲料研制的科学依据。鱼类消化酶的活性随种类、生长阶段和健康状况的不同而有所差异, 同时受外界环境因子诸如温度、盐度、pH 及重金属离子的影响^[1]。国内外先后对虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)、欧洲鳗(*Anguilla anguilla*)^[2]、中华鲟(*Acipenser sinensis*)^[3]、大鳍鲩(*Mystus macrop-terus*)^[4,5]、南方大口鲶(*Silurus meridionalis*)^[6]、鲶(*Silurus asotus*)^[7]、鳊鱼(*Siniperca chautsi*)^[8]、鲤

(*Cyprinus carpio*)^[9]、草鱼(*Ctenopharyngodon idel-lus*)^[8]等鱼类消化酶活性的最适温度、pH 或消化酶活性的分布特点等方面进行了研究。

鲢鱼(*Silurus asotus*), 属鲢形目, 鲢科, 鲢属, 为底层大型肉食性凶猛淡水鱼类。以其肉质细腻、少刺、味道鲜美、营养丰富而深受广大消费者的青睐, 它以其独特的风味在名、特、优水产品市场上占据一席之地。目前, 国内对鲢鱼的生物学特性及养殖方面的研究较多^[10—15], 而有关鲢鱼消化酶活性及其影响因素的研究报道较少^[7,13], 尤其是洞庭湖区还未见相关报道。为此我们以洞庭湖鲢鱼为材料, 研究了不同温度、pH 条件下胃、肝胰脏、前肠、中肠和后肠 5 个部位中蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活

收稿日期: 2009-12-03; 修订日期: 2010-11-09

基金项目: 国家自然科学基金项目(30972260); 湖南省教育厅优秀青年项目(07B052); 湖南省“十一五”重点建设学科(动物学)资助项目; 湖南文理学院青年骨干教师培养基金项目(2006)资助

通讯作者: 韩庆(1971—), 男, 湖南石门人; 副教授, 硕士; 主要从事经济动物生产方面的研究。E-mail: hanqing19712002@yahoo.cn

力的变化及分布特性, 找出了各消化器官中各种消化酶活力的最适温度、pH 及其分布特点, 初步阐明了温度和 pH 对鲢鱼营养需求的影响, 以期对鲢鱼消化生理和营养需求的研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验鱼

实验用鱼为 2008 年 4 月在西洞庭湖区购得的鲢鱼活体, 鉴定定种后, 选择体质健康鲢鱼 8 尾, 体重 $387.25 \pm 19.67 \text{ g}$ 。

1.2 仪器与试剂

高速冷冻离心机(TDL25000B), 紫外-可见分光光度计(UVnimi21240), 电子天平, 冰箱, 恒温水浴锅, 福林酚试剂、磷酸二氢钾、磷酸氢二钠、酪蛋白、淀粉、钨酸钠、钼酸钠、3,5-二硝基水杨酸、聚乙烯醇、橄榄油等均为分析纯。

1.3 样品的制备

将实验鱼采回后, 置于室温 23°C 曝气 24h 以上的自来水中饥饿 24h 后, 在冰盘上快速解剖, 摘取肝胰脏、胃和肠道等 3 种消化器官, 剔除脂肪, 剖开胃、肠道, 用预冷($0\sim 4^\circ\text{C}$)的 0.75% 的生理盐水洗两次, 再用滤纸吸去表面水分, 将肠分为前肠、中肠和后肠三段肠(肠道的第一个回折点以前为前肠、最后一个回折点以后为后肠、其间为中肠), 称重, 按 1:10(w/v)加入预冷的缓冲液(胃用 pH2.2 磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液, 其他组织用 pH7.4 磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液)匀浆, 高速冷冻离心($0\sim 4^\circ\text{C}$, 12000 r/min, 20min), 取上清液作为粗酶液, 置于 -20°C 冰箱中冷冻保存备用。

1.4 酶活力测定

蛋白酶活力测定采用福林-酚试剂法^[16], 蛋白酶活力以每分钟分解酪蛋白产生 $1 \mu\text{g}$ 酪氨酸为一个酶活性单位($\mu\text{g}/\text{min}$)。淀粉酶活力的测定采用 3,5-二硝基水杨酸显色法^[17], 即在 25°C 、pH 7.0 条件下, 每分钟催化淀粉生成 1 mg 麦芽糖为一个酶活

力单位(mg/min)。脂肪酶活力的测定采用聚乙烯醇橄榄油乳化液水解法^[16], 即在 37°C 、pH 7.5 条件下, 每分钟催化聚乙烯醇橄榄油乳化液产生 $1 \mu\text{mol}$ 脂肪酸为一个酶活力单位($\mu\text{mol}/\text{min}$)。

1.5 温度系统、pH 梯度设置

用恒温水浴锅控制反应温度, 温度在 $20^\circ\text{C}\sim 55^\circ\text{C}$ 范围内以 5°C 为幅度, 共设置 8 个梯度, pH 为 7.5^[18]条件下分别在各温度下测定酶活力。

以 pH 0.5 为幅度, 在 pH 5.5—9.0 范围内共设置 8 个梯度, 反应温度为 35°C , 分别测定不同 pH 下的酶活力。其中, 胃蛋白酶, 将 pH 从 1.5—9.0, 以 0.5 为幅度, 设置 16 个 pH 梯度, 分别测定不同 pH 时的活力。

1.6 数据处理与分析

实验数据用统计学方法进行处理, 统计分析采用 SPSS13.0 统计软件, 用 SPSS13.0 中 ANOVA 进行方差分析, LSD 法进行多重比较, 结果用平均值 $\pm$ 标准误差(mean $\pm$ SD) 表示。

2 结 果

2.1 温度对蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶活力的影响

根据单因素可重复方差分析, 温度对胃、肝胰脏、前肠、中肠和后肠中的蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶活力均有显著影响($P < 0.05$), 进一步用 LSD 法进行多重比较(表 1)。由表 1 可知, 温度在 $20^\circ\text{C}\sim 55^\circ\text{C}$ 范围内, 3 种酶活力变化趋势表现为先上升后下降, 3 种消化酶的活力在不同温度同一部位或同一温度不同部位均有显著差异($P < 0.05$)。胃蛋白酶的最适温度为 40°C , 肝胰脏、前肠、中肠和后肠蛋白酶的最适温度均为 45°C ; 各部位脂肪酶的最适温度均为 35°C ; 胃淀粉酶的最适温度为 35°C , 其他部位均为 30°C 。

2.2 三种消化酶反应的温度系数 Q_{10}

酶作用的温度系数 Q_{10} 是温度每升高 10°C 时反应速度增加的因素, 是酶的一个特性值。

从表 2 可见, 鲢鱼的蛋白酶、脂肪酶、胃淀粉

酶反应的温度系数 Q_{10} 均表现为随温度的升高而降低, 而肝胰脏、肠淀粉酶的 Q_{10} 表现为随温度的升高先降后升, 在不同组织中各种酶的 Q_{10} 有一定的差异。各种酶活力的上升幅度不同, 以 Q_{10} 为指标, 在 20°C — 50°C 时, 不同组织蛋白酶的 $Q_{10} \geq 1$ (40°C — 50°C 时胃除外); 在 20°C — 40°C 时, 不同组织脂肪酶的 $Q_{10} > 1$ (30°C — 40°C 时胃除外), 40°C — 50°C 时 < 1 ; 不同组织的淀粉酶 Q_{10} 在 20°C — 30°C 时 > 1 , 30°C — 50°C 时 < 1 。

2.3 pH 对蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶活力的影响

从表 3 知, 在一定 pH 范围内, 不同部位的蛋白

酶、脂肪酶和淀粉酶的活力均呈先上升后下降的趋势; 不同的消化酶具有不同的最适 pH, 且不同部位的同一消化酶活力也有差异。多重比较结果显示, 同种消化酶的活力在同一部位不同 pH 或不同部位同一 pH 均有显著差异 ($P < 0.05$)。胃、肝胰脏、前肠、中肠和后肠蛋白酶的适宜 pH 分别为 2.0、8.5、7.5、8.0 和 8.0; 各部位脂肪酶的适宜 pH 均为 7.5; 淀粉酶肝胰脏为 7.5, 其余部位均为 7.0。这说明脂肪酶在中性时活力最高, 淀粉酶在中性偏酸性时活力最高, 蛋白酶在胃和肝胰脏偏酸性、在肠道中性偏碱性时活力最高。

表 1 温度对蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶活力的影响
Tab. 1 The effects of temperature on the activities of protease, lipase and amylase

消化酶 Digestive enzymes	温度 Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	胃 Stomach	肝胰脏 Hepatopancreas	前肠 Anterior intestine	中肠 Middle intestine	后肠 Posterior intestine
蛋白酶 Protease ($\mu\text{g}/\text{min}$)	20	33.29 $\pm$ 1.48 ^e _B	58.48 $\pm$ 1.03 ^e _B	86.96 $\pm$ 1.76 ^h _A	23.97 $\pm$ 0.62 ^g _C	19.87 $\pm$ 0.44 ^g _C
	25	62.96 $\pm$ 2.75 ^d _B	153.67 $\pm$ 4.21 ^d _A	156.60 $\pm$ 3.41 ^f _A	38.16 $\pm$ 1.14 ^f _C	30.69 $\pm$ 0.75 ^e _D
	30	84.14 $\pm$ 4.10 ^c _C	162.25 $\pm$ 2.56 ^c _B	170.90 $\pm$ 1.49 ^e _A	45.55 $\pm$ 0.95 ^e _D	38.39 $\pm$ 0.89 ^d _E
	35	92.99 $\pm$ 1.25 ^b _C	167.13 $\pm$ 5.26 ^c _B	236.57 $\pm$ 2.00 ^d _A	62.65 $\pm$ 5.47 ^d _D	47.10 $\pm$ 3.09 ^c _E
	40	152.16 $\pm$ 3.63 ^a _C	189.30 $\pm$ 1.97 ^b _B	334.14 $\pm$ 7.77 ^c _A	85.58 $\pm$ 1.08 ^c _D	71.02 $\pm$ 1.63 ^b _E
	45	45.78 $\pm$ 1.99 ^e _D	286.81 $\pm$ 3.83 ^a _B	528.83 $\pm$ 2.74 ^a _A	138.06 $\pm$ 2.55 ^a _C	99.97 $\pm$ 1.09 ^a _E
	50	31.69 $\pm$ 2.22 ^f _E	190.19 $\pm$ 3.05 ^b _B	408.49 $\pm$ 2.63 ^b _A	100.43 $\pm$ 2.14 ^b _C	70.83 $\pm$ 1.39 ^b _D
	55	16.27 $\pm$ 0.49 ^g _E	47.79 $\pm$ 4.00 ^f _B	115.13 $\pm$ 3.99 ^e _A	35.80 $\pm$ 0.97 ^f _C	25.90 $\pm$ 1.79 ^f _D
	20	29.59 $\pm$ 1.52 ^g _B	109.61 $\pm$ 0.72 ^e _A	21.99 $\pm$ 1.36 ^f _C	12.77 $\pm$ 0.42 ^f _D	8.83 $\pm$ 0.59 ^e _E
脂肪酶 Lipase ($\mu\text{mol}/\text{min}$)	25	45.26 $\pm$ 1.78 ^f _B	124.69 $\pm$ 3.92 ^d _A	28.33 $\pm$ 0.88 ^e _C	20.56 $\pm$ 0.92 ^d _D	10.53 $\pm$ 0.82 ^d _E
	30	96.91 $\pm$ 1.69 ^b _B	155.85 $\pm$ 1.87 ^c _A	36.07 $\pm$ 1.57 ^c _C	26.80 $\pm$ 0.59 ^c _D	12.12 $\pm$ 0.95 ^c _E
	35	114.07 $\pm$ 0.76 ^a _B	186.74 $\pm$ 0.77 ^a _A	51.51 $\pm$ 0.53 ^a _C	38.35 $\pm$ 1.13 ^a _D	17.28 $\pm$ 0.64 ^a _E
	40	91.35 $\pm$ 1.80 ^c _B	160.49 $\pm$ 2.02 ^b _A	43.61 $\pm$ 0.98 ^b _C	33.43 $\pm$ 1.21 ^b _D	14.66 $\pm$ 0.44 ^b _E
	45	81.82 $\pm$ 1.67 ^d _B	109.90 $\pm$ 1.43 ^c _A	31.36 $\pm$ 1.33 ^d _C	26.60 $\pm$ 0.66 ^c _D	8.02 $\pm$ 0.49 ^e _E
	50	65.73 $\pm$ 1.88 ^e _B	78.07 $\pm$ 1.08 ^f _A	23.45 $\pm$ 0.98 ^f _C	15.99 $\pm$ 0.66 ^d _D	6.27 $\pm$ 0.49 ^f _E
	55	31.43 $\pm$ 1.00 ^g _B	44.16 $\pm$ 1.49 ^g _A	18.65 $\pm$ 1.09 ^g _C	10.60 $\pm$ 1.03 ^g _D	4.82 $\pm$ 0.43 ^g _E
	20	2.11 $\pm$ 0.18 ^c _B	9.66 $\pm$ 0.59 ^d _A	2.70 $\pm$ 0.15 ^d _C	2.04 $\pm$ 0.07 ^d _B	1.75 $\pm$ 0.14 ^d _D
	25	2.56 $\pm$ 0.09 ^b _C	11.48 $\pm$ 0.75 ^c _A	2.96 $\pm$ 0.14 ^c _B	2.29 $\pm$ 0.19 ^c _D	2.06 $\pm$ 0.09 ^c _D
淀粉酶 Amylase (mg/min)	30	3.78 $\pm$ 0.17 ^a _E	25.29 $\pm$ 0.79 ^a _A	7.90 $\pm$ 0.18 ^a _B	6.47 $\pm$ 0.22 ^a _C	5.57 $\pm$ 0.25 ^a _D
	35	4.20 $\pm$ 0.57 ^a _B	12.37 $\pm$ 0.38 ^b _A	3.17 $\pm$ 0.03 ^b _C	2.59 $\pm$ 0.04 ^b _D	2.28 $\pm$ 0.04 ^b _D
	40	2.89 $\pm$ 0.11 ^b _B	8.96 $\pm$ 0.40 ^d _A	2.30 $\pm$ 0.02 ^c _C	2.46 $\pm$ 0.12 ^{bc} _C	2.08 $\pm$ 0.06 ^c _D
	45	2.15 $\pm$ 0.08 ^c _B	6.23 $\pm$ 0.25 ^e _A	1.96 $\pm$ 0.03 ^f _C	1.67 $\pm$ 0.11 ^e _D	1.43 $\pm$ 0.05 ^e _E
	50	1.50 $\pm$ 0.20 ^d _B	3.97 $\pm$ 0.15 ^f _A	1.63 $\pm$ 0.05 ^g _B	1.26 $\pm$ 0.11 ^f _C	1.01 $\pm$ 0.04 ^f _D
	55	0.50 $\pm$ 0.09 ^e _B	0.91 $\pm$ 0.06 ^g _A	0.36 $\pm$ 0.03 ^h _{CD}	0.37 $\pm$ 0.02 ^g _C	0.29 $\pm$ 0.02 ^g _D

注: 表中同一列(行)数据按由高到低顺序依次循环比较, 最高值上标(下标)以 a (A)标示, 两个数据上标(下标)的字母不同表

示差异显著 ($P < 0.05$)。以下各表同此

Note: Values in the same column (row) were compared with one by one from high to low, and the superscript (subscript) of the highest value was marked a (A), with different superscript (subscript) letter is significantly different ($P < 0.05$). The following tables are similar to Tab. 1

表 2 三种消化酶反应的温度系数 Q_{10}
Tab. 2 The Q_{10} values of protease, lipase and amylase

消化酶种类 Digestive enzymes	温度 Temperature (°C)	胃 Stomach	肝胰脏 Hepatopancreas	前肠 Anterior intestine	中肠 Middle intestine	后肠 Posterior intestine
蛋白酶 Protease	20—30	2.53	2.77	1.97	1.90	1.93
	30—40	1.81	1.17	1.96	1.88	1.86
	40—50	0.21	1.00	1.22	1.17	1.00
脂肪酶 Lipase	20—30	3.28	1.42	1.64	2.10	1.37
	30—40	0.94	1.03	1.21	1.25	1.21
	40—50	0.72	0.49	0.54	0.48	0.43
淀粉酶 Amylase	20—30	1.79	2.62	2.93	3.17	3.18
	30—40	0.76	0.35	0.29	0.38	0.37
	40—50	0.52	0.44	0.71	0.51	0.49

表 3 pH 对蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶活力的影响
Tab. 3 The effects of pH on the activities of protease, lipase and amylase

消化酶 Digestive enzymes	pH	胃 Stomach	肝胰脏 Hepatopancreas	前肠 Anterior intestine	中肠 Middle intestine	后肠 Posterior intestine
蛋白酶 Protease ($\mu\text{g}/\text{min}$)	1.5	581.29 $\pm$ 4.04 ^d				
	2.0	931.45 $\pm$ 4.81 ^a				
	2.5	808.25 $\pm$ 4.72 ^b				
	3.0	707.77 $\pm$ 4.70 ^c				
	3.5	528.56 $\pm$ 12.79 ^c				
	4.0	280.38 $\pm$ 1.87 ^f				
	4.5	169.00 $\pm$ 6.72 ^g				
	5.0	140.94 $\pm$ 1.52 ^h				
	5.5	125.78 $\pm$ 0.84 ⁱ _A	58.94 $\pm$ 2.85 ^g _C	62.82 $\pm$ 1.38 ^g _B	24.48 $\pm$ 0.62 ^f _D	17.49 $\pm$ 1.14 ^g _E
	6.0	117.92 $\pm$ 2.79 ^j _A	112.15 $\pm$ 1.07 ^f _B	68.48 $\pm$ 1.23 ^f _C	27.77 $\pm$ 0.70 ^{ef} _D	20.53 $\pm$ 1.14 ^f _E
	6.5	115.02 $\pm$ 1.42 ^j _B	145.24 $\pm$ 1.23 ^e _A	86.27 $\pm$ 0.83 ^e _C	30.31 $\pm$ 1.36 ^e _D	23.40 $\pm$ 0.99 ^e _E
	7.0	111.97 $\pm$ 1.67 ^j _B	155.48 $\pm$ 1.94 ^d _A	148.90 $\pm$ 1.48 ^c _A	37.35 $\pm$ 0.96 ^d _C	29.04 $\pm$ 1.98 ^d _D
	7.5	92.99 $\pm$ 1.25 ^k _C	167.13 $\pm$ 5.26 ^c _B	236.57 $\pm$ 2.00 ^a _A	62.65 $\pm$ 5.47 ^b _D	47.16 $\pm$ 3.03 ^b _E
	8.0	71.98 $\pm$ 1.17 ^l _D	182.83 $\pm$ 2.54 ^b _A	178.34 $\pm$ 2.50 ^b _A	98.33 $\pm$ 1.47 ^a _B	76.21 $\pm$ 1.18 ^a _C
	8.5	70.43 $\pm$ 3.42 ^l _C	192.86 $\pm$ 2.31 ^a _A	125.22 $\pm$ 1.23 ^d _B	48.57 $\pm$ 0.99 ^d _D	36.57 $\pm$ 1.33 ^c _E
脂肪酶 Lipase ($\mu\text{mol}/\text{min}$)	9.0	46.29 $\pm$ 1.97 ^m _C	115.34 $\pm$ 2.03 ^f _A	54.07 $\pm$ 1.74 ^b _B	22.06 $\pm$ 1.63 ^{fg} _D	15.45 $\pm$ 0.50 ^g _E
	5.5	41.80 $\pm$ 0.68 ^h _B	104.67 $\pm$ 1.41 ^f _A	5.29 $\pm$ 0.19 ^g _C	4.62 $\pm$ 0.22 ^g _C	2.03 $\pm$ 0.08 ^f _D
	6.0	51.87 $\pm$ 0.56 ^g _B	125.40 $\pm$ 0.86 ^d _A	6.64 $\pm$ 0.50 ^f _D	7.32 $\pm$ 0.29 ^f _C	3.48 $\pm$ 0.20 ^e _E
	6.5	63.66 $\pm$ 1.13 ^g _B	168.26 $\pm$ 0.68 ^c _A	24.34 $\pm$ 0.46 ^c _C	18.80 $\pm$ 0.44 ^d _D	8.20 $\pm$ 0.19 ^c _E
	7.0	78.65 $\pm$ 0.58 ^d _B	179.41 $\pm$ 1.00 ^b _A	31.78 $\pm$ 0.72 ^b _C	23.96 $\pm$ 0.22 ^b _D	10.78 $\pm$ 0.37 ^b _E
	7.5	114.07 $\pm$ 0.76 ^a _B	186.74 $\pm$ 0.77 ^a _A	51.51 $\pm$ 0.53 ^a _C	38.35 $\pm$ 1.13 ^a _D	17.28 $\pm$ 0.64 ^a _E
	8.0	101.44 $\pm$ 0.77 ^b _B	114.28 $\pm$ 0.69 ^a _A	24.17 $\pm$ 0.17 ^c _C	17.90 $\pm$ 0.32 ^d _D	8.43 $\pm$ 0.34 ^c _E
淀粉酶 Amylase	8.5	83.57 $\pm$ 0.74 ^c _A	71.09 $\pm$ 0.64 ^g _B	16.71 $\pm$ 0.39 ^d _C	12.17 $\pm$ 0.41 ^d _D	5.61 $\pm$ 0.27 ^d _E
	9.0	58.45 $\pm$ 1.11 ^f _B	61.39 $\pm$ 1.22 ^h _A	10.64 $\pm$ 0.70 ^c _C	7.86 $\pm$ 0.31 ^c _D	3.47 $\pm$ 0.22 ^c _E
	5.5	2.07 $\pm$ 0.09 ^{de} _A	2.04 $\pm$ 0.11 ^e _A	1.65 $\pm$ 0.27 ^f _B	1.44 $\pm$ 0.09 ^g _B	1.15 $\pm$ 0.13 ^f _C
	6.0	2.41 $\pm$ 0.24 ^d _D	2.26 $\pm$ 0.08 ^e _D	4.71 $\pm$ 0.13 ^c _A	3.96 $\pm$ 0.16 ^b _B	3.50 $\pm$ 0.24 ^c _C

(mg/min)	6.5	7.24±0.21 ^b _A	3.57±0.29 ^d _D	6.97±0.18 ^b _A	5.56±0.10 ^b _A	4.76±0.18 ^b _C
	7.0	8.61±0.48 ^a _A	4.25±0.08 ^c _E	7.64±0.22 ^a _B	5.99±0.27 ^a _C	5.22±0.14 ^a _D
	7.5	4.20±0.57 ^c _B	12.37±0.38 ^a _A	3.17±0.03 ^d _C	2.59±0.04 ^d _D	2.28±0.04 ^d _D
	8.0	1.94±0.11 ^{de} _D	8.94±0.23 ^b _A	2.98±0.07 ^d _B	2.36±0.07 ^c _C	2.06±0.10 ^d _D
	8.5	1.79±0.04 ^c _C	4.47±0.06 ^c _A	2.08±0.04 ^c _B	1.75±0.06 ^f _{CD}	1.55±0.08 ^c _D
	9.0	1.63±0.05 ^c _C	3.33±0.20 ^d _A	2.02±0.04 ^c _B	1.62±0.03 ^{fe} _C	1.34±0.10 ^{ef} _D

2.4 不同消化器官蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶活力的比较

参照表 1 得出的鲇鱼不同部位 3 种消化酶的最适温度,在 3 种消化酶各自最适的温度、pH 7.5 的条件下,测得鲇鱼胃、肝胰脏、前肠、中肠、后肠 5 个部位的蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶活力(表 4)。

由表 4 可知,5 个部位蛋白酶活力由高到低依次为:前肠>肝胰脏>胃>中肠>后肠,各部位之间呈现

显著差异($P<0.05$)。脂肪酶活力由高到低依次为:肝胰脏>胃>前肠>中肠>后肠,各部位之间差异显著($P<0.05$)。淀粉酶活力由高到低依次为:肝胰脏>前肠>中肠>后肠>胃,各部位之间差异显著($P<0.05$)。肝胰脏脂肪酶、淀粉酶活力最高,蛋白酶仅次于前肠,说明肝胰脏是消化酶的主要分泌场所。前肠和胃中 3 种消化酶的活力均较高,说明它们是主要的消化部位。不同消化器官的淀粉酶/蛋白酶(A/P)值均小于 1。

表 4 最适温度条件下 3 种消化酶活性比较(pH=7.5)
Tab. 4 Comparative activities of three digestive enzymes under the optimum temperature

消化酶 Digestive enzymes	胃 Stomach	肝胰脏 Hepatopancreas	前肠 Anterior intestine	中肠 Middle intestine	后肠 Posterior intestine
蛋白酶 Protease (μg/min)	152.16±3.63 ^c	286.81±3.83 ^b	528.83±2.74 ^a	138.06±2.55 ^d	99.97±1.09 ^e
脂肪酶 Lipase (μmol/min)	114.07±7.60 ^b	186.74±7.69 ^a	51.51±5.26 ^c	38.35±1.13 ^d	17.28±2.64 ^e
淀粉酶 Amylase (mg/min)	4.20±0.57 ^e	25.29±0.79 ^a	7.90±0.18 ^b	6.47±0.22 ^c	5.57±0.25 ^d
A/P	0.03	0.09	0.01	0.05	0.06

3 讨论

3.1 温度与消化酶活性的关系

John^[19]认为,鱼类消化酶的最适温度一般为 30℃—50℃。沈文英等^[20]的研究结果表明,银鲫(*Carassius auratus*)肠道淀粉酶、脂肪酶、蛋白酶最适温度分别为 25℃、37℃、40℃。叶元士^[6]曾报道,南方大口鲶和长吻鮠蛋白酶、淀粉酶的最适温度为 33℃—45℃和 39℃—45℃。范镇明等^[18]报道河鲈(*Perca fluviatilis*)肝胰脏、肠道、胃淀粉酶的最适温度均为 30℃,脂肪酶的最适温度为 40℃;肝胰脏、肠道蛋白酶的最适温度为 50℃,胃蛋白酶的最适温度为 40℃。本文的研究结果与上述结论相一致。从消化酶的最适温度与环境温度比较来看,水体环

境的温度一般都低于酶所需要的最适温度。消化酶最适反应温度的测定是在试验规定的反应时间条件下进行的,实际上鱼体内酶起作用的时间要长得多,所以最适温度只在一定条件下才具有意义,但在一定程度上却反映了消化酶的耐热性和温度对酶活力的影响规律。从研究结果来看,温度在 20℃—35℃之间鲇鱼的蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶的活性均呈现上升趋势,因而,鲇鱼在养殖水温范围内,应随着水温的升高相应增加投饵量。

3.2 pH 与消化酶活性的关系

pH 是影响酶活力的重要因素之一,主要通过两种途径改变酶活力,一是改变酶与底物的结合,二是改变酶的构象。本研究结果表明, pH 对鲇鱼 3 种消化酶的活力均有显著影响,在设定的 pH 范围内,

均呈现先升高后降低的趋势。每种酶都有其特定的 pH 范围, 当底物、温度、反应时间等反应条件恒定时, 酶有一个活力最大的最适 pH。有胃鱼类胃内 pH 受胃酸浓度的影响, 肠内 pH 则是胃、胆汁和肠道分泌物的混和液酸碱度综合作用的结果。pH 过高或过低, 均能引起酶活力降低。周景祥等^[21]研究指出: 有胃硬骨鱼类胃蛋白酶的最适 pH 在 2—3 之间, 肝胰脏和肠道蛋白酶的最适 pH 分别在 7.0—8.7 和 6.5—9.5 之间; 而肝胰脏、肠和胃淀粉酶的最适 pH 分别是 6.8—7.0、5.0—8.0 和 5.0—7.0。本研究结果与其一致。

鱼类蛋白酶在不同部位的最适 pH 不同, 胃蛋白酶的为 2.0, 与虾类^[17,22] (5.4—5.5) 不同。本文数据显示, 肝胰脏蛋白酶适宜 pH 为 7.5、肠道为 7.5—8.0。在各自最适 pH 条件下, 不同部位蛋白酶活力为前肠显著高于肝胰脏和胃, 也与虾类不同, 而与梅景良等^[23]对黑鲷 (*Sparus macrocephalus*) 体内蛋白酶活力的报道相似。Dask, et al.^[24]研究发现, 肝胰脏主要分泌蛋白酶原, 其蛋白酶活力微弱或几乎没有, 而肠道分泌肠激酶, 能激活蛋白酶原, 共同促进肠道对食物蛋白质的消化吸收, 这些差异说明鱼类消化酶的分泌机制与甲壳类不同。

大多数鱼类脂肪酶的适宜 pH 为碱性范围, 如金头鲷 (*Sparus aurata*) 为 8.0^[25], 鲑 (*Salmon salar*) 为 7.5^[26], 虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 为 7.8^[2]。鲇的适宜 pH 为 7.5, 与这些鱼类的基本相似。脂肪酶的最适 pH 均偏碱性, 说明偏碱性条件有利于脂肪酶活力的发挥, 这可能与适宜生长在偏碱性的水环境有关。

鲇鱼淀粉酶的活力在 pH 7.0 时最高, 与江洪波等^[27]、沈文英等^[22,28]报道的中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*)、南美白对虾 (*Fenneropenaeus vannamei*)、澳洲宝石鱼 (*Scortum barcoo*) 的淀粉酶均在偏酸性条件下 (pH 5.0—6.2) 活力较高不同, 可能与种的差异性有关, 因为不同动物的生态习性和摄食对象不同, 其相应的酶的性质就会有所差异。

3.3 食性与消化酶活性的关系

在各种消化酶的最适温度下, 鲇鱼前肠蛋白酶活力最高, 其次是肝胰脏和胃; 肝胰脏脂肪酶活力最高, 其次为胃和前肠; 淀粉酶活力肝胰脏最高, 其次为前肠和中肠; 看出前肠内 3 种消化酶的活力都比较强, 这说明前肠是鲇鱼的主要消化部位。与范镇明等^[18]研究河鲈、寿建昕等^[29]研究翘嘴红鲌 (*Erythroculter ilishaeformis*)、沈文英等^[28]研究澳洲宝石鱼的结果相一致。Biesiot 和 Capuzzo^[30]提出, 可采用 A/P 的值作为鱼类摄食食性和营养状况的指标来指导投饵。A/P 值高时, 鱼的食性为植物食性或偏植物食性; A/P 值低时, 鱼的食性则为动物食性或偏动物食性。鲇鱼的 A/P 值小于 1, 表明其蛋白酶活力较高, 对蛋白质具有较高的消化能力, 为偏肉食性鱼类, 这与潘庭双等^[11]研究鲇鱼食性的结果相一致。因此, 在鲇鱼的养殖中, 投饵种类应以动物性和蛋白质含量高的饵料为主。

参考文献:

- [1] Li J, Wu T X. Fish digestive enzyme activity of influencing factors [J]. *Reservoir Fisheries*, 2006, 26(6): 30—31 [李军, 吴天星. 鱼类消化酶活性的影响因素. 水利渔业, 2006, 26(6): 30—31]
- [2] Hidalgo M C, Urea E, Sanz A. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Photolytic and amylase activities [J]. *Aquaculture*, 1999, 170: 267—283
- [3] Ye J D, Lu T Y, Liu H B, et al. Comparative study on activities of digestive enzymes in A. Schrencki, A. Ruthenus, A. Baeri, A. Guldenstadti, Hybrid sturgeon and A. Sinensis [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2003, 27(6): 590—594 [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] Xiang X, Ye Y T, Zhou X H, et al. Digestive ability and nutritive value of *Mystus macropterus* [J]. *Journal of Fishery of China*, 2003, 27(4): 371—376 [向泉, 叶元土, 周兴华, 等. 大鳍鲇的消化能力与营养价值. 水产学报, 2003, 27(4): 371—376]
- [5] Lin S M, Wang Y H, Luo L, et al. Protease activity of digestive tract in *Mystus macropterus* [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2003, 10(2): 169—172 [林仕梅, 王友慧, 罗莉, 等. 大鳍蛋白酶活力的研究. 中国水产科学, 2003, 10(2): 169—172]

- [6] Ye Y T, Lin S M, Luo L, *et al.* Study on the digestive ability and nutritive value of *Pelteobagrus fulvidraco* from the Jialing River [J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 1997, 12(2): 23—30 [叶元土, 林仕梅, 罗莉, 等. 黄颡鱼消化能力与营养价值的研究. 大连水产学院学报, 1997, 12(2): 23—30]
- [7] Xiang X, Ye Y T, Zhou X H, *et al.* Digestive ability and nutritive value of *Silurus asotus* [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2004, 39(6): 65—69 [向泉, 叶元土, 周兴华, 等. 鲢的消化能力与营养价值分析. 动物学杂志, 2004, 39(6): 65—69]
- [8] Wu T T, Zhu X M. Studies on the activity of digestive enzymes in mandarin fish, black carp, grass carp, common carp, crucian carp and silver carp [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 1994, 1(2): 10—17 [吴婷婷, 朱晓鸣. 鳊鱼、青鱼、草鱼、鲤鱼、鲫鱼、鲢消化酶活性的研究. 中国水产科学, 1994, 1(2): 10—17]
- [9] Ye Y T. A study on diastase activity in the intestine and hepatopancreas of *Cyprinus carpio* [J]. *Fisheries Science*, 1992, 12(2): 21—25 [叶元土. 鲤鱼肠道、肝胰脏淀粉酶活力研究. 水产科学, 1992, 12(2): 21—25]
- [10] Long Y, Liu S J. Studies on the biological characteristics and the microstructures of gonads of local catfish [J]. *Life Science Research*, 2006, 10(3): 125—129 [龙昱, 刘少军. 本地鲶鱼生物学特性及性腺显微结构初步研究. 生命科学研究, 2006, 10(3): 125—129]
- [11] Pan T S, Hu X J, Jiang Y L, *et al.* The biological characteristics and technology of domestication parent fish of Wild catfish [J]. *Reservoir Fisheries*, 2003, 23(1): 39 [潘庭双, 胡贤江, 蒋叶林, 等. 野生鲶生物学特性及亲鱼食性驯化技术. 水利渔业, 2003, 23(1): 39]
- [12] Ma X Z, Cui C H, Wang Z Y, *et al.* Artificial propagation and fry culture on catfish [J]. *Journal of Aquaculture*, 2002, 5(5): 19—24 [马旭洲, 崔存河, 王志远, 等. 鲶鱼人工繁殖及苗种培育技术. 水产养殖, 2002, 5(5): 19—24]
- [13] Xiang X, Ye Y T, Zhou X H, *et al.* Study on digestive performance of *Silurus asotus* [J]. *Feed Industry*, 2005, 26(20): 24—27 [向泉, 叶元土, 周兴华, 等. 鲶消化性能的研究. 饲料工业, 2005, 26(20): 24—27]
- [14] Yang Y H, Zhou J M. Effect of temperature on activity of digestive enzymes in *Silurus lanzhouensis* [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2006, 41(6): 104—108 [杨元昊, 周继木. 温度对兰州鲶消化酶活性的影响. 动物学杂志, 2006, 41(6): 104—108]
- [15] Xiang X. Digestive ability and nutritive value of *Silurus asotus* [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2004, 39(6): 65—69 [向泉. 鲶的消化能力与营养价值分析. 动物学杂志, 2004, 39(6): 65—69]
- [16] Biochemical and microbiological teaching and research department of biology faculty in Sun Yatsen University. Guide for biochemical technology [M]. Beijing: People's Education Press. 1979, 53—54 [中山大学生物学系生化微生物学教研室. 生化技术导论. 北京: 人民教育出版社. 1979, 53—54]
- [17] Pan L Q, Wang K X. The experimental studies on activities of digestive enzyme in the larvae *Penaeus chinensis* [J]. *Journal of fisheries of China*, 1997, 21(1): 26—31 [潘鲁青, 王克行. 中国对虾幼体消化酶活力的试验研究. 水产学报, 1997, 21(1): 26—31]
- [18] Fan Z M, Qian L, Wang Y X. Effects of different temperature and pH on digestive enzyme in *Perca fluviatilis* [J]. *Freshwater Fisheries*, 2008, 38(2): 36—39 [范镇明, 钱龙, 王咏星. 温度和 pH 值对河鲈消化酶活性的影响. 淡水渔业, 2008, 38(2): 36—39]
- [19] John E H. Fish nutrition [M]. California: Academic Press Inc. 1987, 332—423
- [20] Shen W Y, Shou J X, Jin Y F, *et al.* Study on digestive enzymes of *Carassius auratus gibelio* [J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 2002, 11(3): 193—198 [沈文英, 寿建晰, 金叶飞, 等. 银鲫消化酶的研究. 上海水产大学学报, 2002, 11(3): 193—198]
- [21] Zhou J X, Chen Y, Huang Q, *et al.* On activity of digestive Ferment of fish and its change affected by circumstance [J]. *Journal of Beihua University (Natural Science)*, 2001, 2(1): 70—73 [周景祥, 陈勇, 黄权, 等. 鱼类消化酶的活性及环境条件的影响. 北华大学学报, 2001, 2(1): 70—73]
- [22] Shen W Y, Hu H G, Pan Y J. Effects of temperature and pH on activities of digestive enzymes in *Penaeus vannamei* [J]. *Oceanologia Et Limnologia Sinica*. 2004, 35(6): 543—548 [沈文英, 胡洪国, 潘雅娟. 温度和 pH 值对南美白对虾 (*Penaeus vannamei*) 消化酶活性的影响. 海洋与湖沼, 2004, 35(6): 543—548]
- [23] Mei J L, Ma Y M, Wang H, *et al.* The Effects of pH value on the main digestive enzyme activities in intestinal canal and hepatopancreas in *Sparus macrocephalus* [J]. *Journal of Yunnan Agricultural University*, 2004, 19(5): 592—596 [梅景良, 马燕梅, 王宏, 等. pH 值对黑鲮胃肠道及肝胰脏主要消化酶活力的影响. 云南农业大学学报, 2004, 19(5): 592—596]
- [24] Das K M, Tripathi S D. Studies on the digestive enzymes of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Val) [J]. *Aquac*, 1991, 92: 21—32
- [25] Moyano F J, Sarasquete M C. A screening on some digestive enzyme activities of gilt head seabream (*Sparus aurata*) larvae [J]. *Oostende Belgium European Aquaculture Soc*, 1993, (4): 4163
- [26] Kolodzeiskaya M V, Verebka S V. Chromatography of trypsin and chymotrypsin-like salmon proteases on sawdust [J]. *Appl Biochem Microbiol*, 1990, 25(5): 528—531
- [27] Jiang H B, Chen L Q, Wang Q, *et al.* Effects of dietary protein on activities of digestive enzyme and trypsin mRNA abundance in *Eriocheir sinensis* juveniles [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2005, 29(2): 216—221 [江洪波, 陈立乔, 王群, 等. 饵料蛋白质对中华绒螯蟹仔蟹消化酶活性

- 及胰蛋白酶 mRNA 丰度的影响. 水产学报, 2005, 29(2): 216—221]
- [28] Shen W Y, Zhu Y R, Qian K L. The effects of temperature and pH on activities of digestive enzymes in jade perch (*Scortum barcoo*) in Australia [J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2006, 21(2): 189—192 [沈文英, 祝尧荣, 钱科亮. 温度和 pH 对澳洲宝石鱼消化酶活性的影响. 大连水产学院学报, 2006, 21(2): 189—192]
- [29] Shou J X, Shen W Y, Wu Y F, *et al.* Effects of temperature on activities of digestive enzymes in top-mouth cutler [J]. *Reservoir Fisheries*, 2006, 26(2): 6—7, 25 [寿建昕, 沈文英, 吴颖芳, 等. 温度对翘嘴红鲌消化酶活力的影响. 水利渔业, 2006, 26(2): 6—7, 25]
- [30] Biesiot P M, Capuzzo J M. Change in digestive enzyme activities during early development of the American lobster *Homarus americanus*, IW [J]. *Mar Biol Ecol*, 1990, 136(2): 107—122

THE EFFECTS OF TEMPERATURE AND PH ON ACTIVITIES OF DIGESTIVE ENZYMES IN CATFISH (*SILURUS ASOTUS* LINNAEUS) IN DONGTING LAKE AREA

HAN Qing, LIU Liang-Guo, ZHANG Jian-Ping, ZHAO Dong-Hai, PAN Zhu and WU Ri-Na

(College of Life Sciences, Hunan University of Arts and Science, Changde 415000, China)

Abstract: The aims of the present study were to find out the digestive enzymes distribution features of each digestive organs in *Silurus asotus* as well as the optimum temperature and pH of digestive enzymes, and to elucidate the effects of temperature and pH on the nutrition requirements of *Silurus asotus*. The study would provide theoretical basis and reference for studying digestive physiology and nutrition requirements of *Silurus asotus*. In the present study, the *Silurus asotus* in Dongting Lake area was chosen as research material. Effects of temperature and pH on the activities of three digestive enzymes (protease, lipase and amylase) in stomach, hepatopancreas, anterior intestine, middle intestine and posterior intestine of *Silurus asotus* were studied by means of enzyme analyses. The protease, lipase and amylase activity of different digestive organs of *Silurus asotus* were determined by using Folin-phenol method, polyvinyl alcohol emulsion of olive oil hydrolysis method and 3,5-dinitrosalicylic acid method respectively. Then, the experimental data were analyzed for ANOVA and multiple comparisons (LSD method) using SPSS 13.0 software package for windows. The data were expressed as mean $\pm$ SD. The results showed that the activities of all digestive enzymes in *Silurus asotus* increased at first and then decreased with temperature and pH increasing in the designed temperature and pH ranges. In stomach, the optimal temperature for protease was 40°C, whereas all in hepatopancreas, anterior intestine, middle intestine and posterior intestine were 45°C, when the reaction pH value was 7.5. The optimum temperature for lipase in stomach, hepatopancreas, anterior intestine, middle intestine and posterior intestine were all at 35°C. The optimum temperature for amylase in stomach was 35°C. The others were all 35°C respectively. The optimum pH in stomach, hepatopancreas, anterior intestine, middle intestine and posterior intestine were all 7.5 for lipase and 2.0, 8.5, 7.5, 8.0, 8.0 for protease respectively. The optimum pH in hepatopancreas for amylase was 7.5 and others were all 7.0. The results indicated that amylase was conducive to weak acidic condition, and protease in hepatopancreas and intestine were conducive to weak alkaline condition, while the protease in stomach was conducive to acidic condition. The activities of digestive enzymes in *Silurus asotus* have organic specificity. Under optimum temperature, the activity of protease in different organs was in the order of anterior intestine > hepatopancreas > stomach > middle intestine > posterior intestine, and the activities of lipase were hepatopancreas > stomach > anterior intestine > middle intestine > posterior intestine, while the activity of amylase was hepatopancreas > anterior intestine > middle intestine > posterior intestine > stomach. Results showed by multiple comparisons that there were significant differences ($P < 0.05$) among different temperature or pH of the same digestive enzyme in the same place, and there were also significant differences ($P < 0.05$) of the same digestive enzyme among different digestive organs in the same temperature or pH.

Key words: *Silurus asotus*; Activity of digestive enzymes; Temperature; pH; Dongting Lake area