

幼鳖胃肠胰组织中主要消化酶活性分布

龙良启 白东清 梁拥军 汤宝贵

(华中农业大学 武汉 430070)

摘要 本文分析了中华鳖幼鳖胃肠胰组织中淀粉酶、蛋白酶、脂肪酶的最适 pH、最适底物浓度及 NaCl 对淀粉酶的激活效应, 在测定的最适条件下比较了三种酶在胃肠胰不同部位组织中酶活性的分布。结果表明: 淀粉酶活性, 胰 > 十二指肠 > 胃 > 回肠及结肠 > 直肠; 蛋白酶活性, 胃 > 胰 > 十二指肠 > 回肠及结肠 > 直肠; 脂肪酶活性, 胰 > 十二指肠 > 回肠及结肠 > 直肠 > 胃。幼鳖主要消化酶的分布兼有单胃哺乳动物与有胃鱼类的特点, 并可为日粮配合提供依据。

关键词 中华鳖 淀粉酶 脂肪酶 蛋白酶

随着中华鳖 (*Trionyx sinensis*) 养殖的发展, 其繁殖技术、饲养方法、饲料配合等研究已有不少报道^[1-3]。但尚未见其消化生理生化方面研究报道。本实验对幼鳖胃肠胰组织中主要消化酶的分析, 旨在了解鳖对主要营养物质的消化特征, 为其日粮组成提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验用鳖 随机抽取水泥池中饲喂2个月(1995年7-9月)幼鳖12只, 体重212.3-283.5g。饲料以白鱼粉、 α -淀粉、花生油、食盐

第一作者介绍: 龙良启, 男, 48岁, 副教授, 博士, 硕士生导师;

收稿日期: 1996-06-09, 修回日期: 1997-01-20

及多种维生素、矿物盐按一定比例自制, 含粗蛋白 45.22%、粗脂肪 5.12%、粗灰分 13.47%。以面团状饲喂。

1.2 粗酶液制备 幼鳖静食1周后称重, 按沈世君方法解剖, 取胃、胰、十二指肠、回肠、结肠及直肠^[4]。剔除附着物, 剖开, 冷蒸馏水冲洗, 吸干、称重。冰浴匀浆, 离心(4000r. p. m, -5℃, 10min)。取上清液-4℃冰箱备测。

1.3 缓冲液配制 以 Kcl、Hcl 配制 pH 1.0 - 2.2 缓冲液, 以 Na₂HPO₄、柠檬酸配制 pH 2.2 - 8.0 缓冲液, 以巴比妥、巴比妥钠配制 pH 8.6 - 9.6 缓冲液。

1.4 酶活性测定方法与酶活性单位 淀粉酶活性测定采用 Somogyi 氏比色法^[5], 以 1g 新鲜组织中淀粉酶在最适 pH、30℃ 时, 30min 完全水解 10mg 淀粉时定为一个淀粉酶单位; 蛋白酶活性分析采用改良 Kunitz 法, 以酪蛋白为底物, 以福林-酚法测定酪氨酸产量, 以 1g 新鲜组织中蛋白酶在最适 pH、30℃ 时每 min 水解酪蛋白生成 1μg 酪氨酸定为一个蛋白酶活性单位^[6]; 脂肪酶活性采用 Cherry 滴定法分析, 以 1g 新鲜组织中脂肪酶在最适 pH、30℃ 条件下, 每 min 水解橄榄油释放的脂肪酸中和 0.05 (mol/L) × 离子价数 NaOH 所消耗的毫升数为活性单位数^[5]。

2 结 果

2.1 pH、底物浓度、NaCl 对酶活性的影响

2.1.1 pH 对酶活性的影响 在不同梯度的缓冲液中分别测定了胃、胰、肠组织中三种消化酶的活性, 结果(见图 1-3)。

由图 1-3 可见, 胃、胰、肠三种组织中淀粉酶最适 pH 依次为 7.4、8.0、7.6, 蛋白酶的最适 pH 依次为 2.2、7.4、6.2, 肠和胰组织脂肪酶的最适 pH 均为 6.8。

2.1.2 底物浓度对酶活性的影响 以 pH 7.4、pH 7.6 Na₂HPO₄-柠檬酸缓冲液配制的淀粉溶液分别测定胃、肠组织中的淀粉酶活性, 以 pH 2.2 的 Kcl-Hcl 缓冲液与 pH 7.4 的 Na₂HPO₄-柠檬酸缓冲液配制的酪蛋白液测定

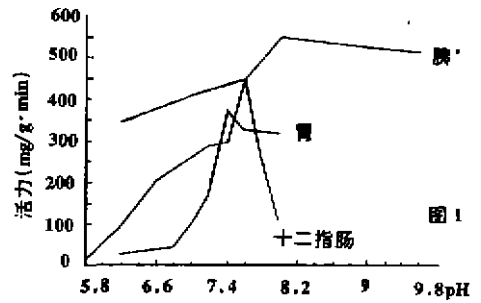


图 1

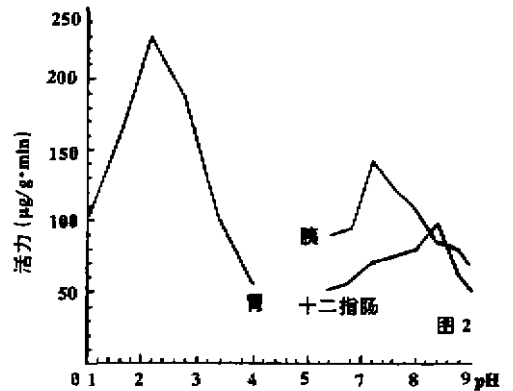


图 2

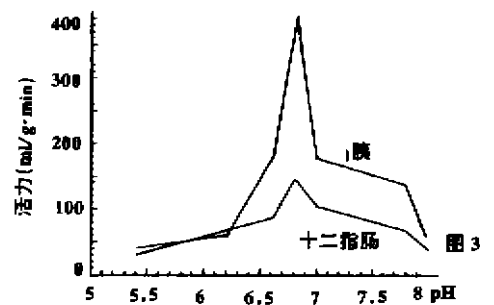


图 3

图 1 pH 对胃、胰及十二指肠淀粉酶活力的影响 * 胰活力单位数 × 10 = 实际活力; 图 2 pH 对胃、胰及十二指肠蛋白酶活力的影响; 图 3 pH 对胰及十二指肠脂肪酶活力的影响。

胃、肠组织中的蛋白酶活性, 以 pH 6.8 的 Na₂HPO₄-柠檬酸缓冲液配制的橄榄油液测定其脂肪酶活性。测定结果(见表 1)。

由表 1 可以看出, 酶活性最高时, 胃、肠淀粉酶的最适底物浓度均为 0.033%, 蛋白酶的最适底物浓度分别为 1.2% 和 0.8%, 脂肪酶的最适底物浓度分别为 15% 和 12.5%。

2.1.3 NaCl 浓度对胰淀粉酶活性的影响 以 pH 8.0 的巴比妥-巴比妥钠缓冲液配制 0.0125 - 0.20 mol/L NaCl 梯度溶液, 测定 NaCl 对胰淀粉酶活性, 结果(见表 2)。

表 2 结果表明, NaCl 浓度为 0.05 - 0.20 mol/L 时胰淀粉酶活性最大, 但它们之间的活性差异不显著。这一结果预示饲料中添加 0.05 mol/L NaCl 足以满足其淀粉消化的要求。

2.2 消化组织中消化酶的活性分布 分别在最适 pH 条件下, 以 0.033% 淀粉液, 0.8% 和 1.2%

的酪蛋白液, 12.5% 和 15% 的橄榄油液测定消化组织中各部分消化酶活性, 结果(见表 3)。

上表结果经 F 检验, 胰组织淀粉酶活性显著高于其它部位 ($P < 0.05$), 且胰组织中淀粉酶活性由前至后递减。胃胰组织蛋白酶活性显著高于肠组织 ($P < 0.05$), 而十二指肠蛋白酶活性又显著高于其它肠组织 ($P < 0.05$)。胰组织脂肪酶活性显著高于十二指肠, 而十二指肠又高于其它部位 ($P < 0.05$)。

表 1 底物浓度对酶活性的影响

底物	淀粉(重量百分比) [*]						酪蛋白(重量百分比) ^{**}						橄榄油(体积百分比) ^{***}						
浓度	0.007	0.012	0.020	0.027	0.033	0.040	0.2	0.4	0.8	1.2	1.6	2.0	5.0	7.5	10.0	12.5	15.0	17.5	20.0
胰	38.794	50.066	117.5-5	138.062	292.788	232.258	142.351	168.419	172.710	226.741	172.483	171.594	8.972	12.459	14.366	16.150	21.538	18.842	17.018
十二指肠	133.758	178.775	216.292	215.856	221.885	101.993	59.882	127.068	143.064	134.144	71.080	58.011	60.037	61.237	40.452	220.750	55.846	79.546	75.150

* 淀粉酶活力单位 mg/g·min; ** 蛋白酶活力单位 μ g/g·min; *** 脂肪酶活力单位 ml/g·min

表 2 NaCl 浓度对胰淀粉酶活力的影响

NaCl 浓度	0.0000	0.0125	0.0250	0.0500	0.1000	0.2000
酶活力(mg/g·min)	3373.050	3814.050	4300.709	5119.433	5119.915	5120.010

表 3 消化酶活性的分布

部位	胰	胃	十二指肠	回肠+结肠	直肠
淀粉酶活性 [*]	4797.6760	141.0743	403.5853	94.4820	70.7660
X \pm S	± 0.0568	± 0.0148	± 0.0263	± 0.0131	± 0.0131
蛋白酶活性 ^{**}	159.7272	229.9663	136.0938	82.4997	80.0377
X \pm S	± 0.0933	± 0.0666	± 0.0420	± 0.0227	± 0.0242
脂肪酶活性 ^{***}	463.3583	21.0850	190.6910	34.4855	21.5243
X \pm S	± 0.0640	± 0.0535	± 0.0984	± 0.0424	± 0.0454

* 单位 mg/g·min ** 单位 μ g/g·min *** 单位 ml/g·min

3 讨 论

动物胃肠胰组织中的消化酶特性常常与其在消化道中可能发挥的作用相适应。动物胃液一般呈酸性, 肠液呈碱性。本实验表明除胃淀粉酶外, 其余消化酶在胃肠内可能都处于最适 pH 状态。胃淀粉酶的功能有待研究。

本实验表明酶活性最大时的底物浓度蛋白质为 0.8% - 1.2%, 脂肪为 12% - 15%, 淀粉为 0.033%。该浓度, 尤其是蛋白质浓度与其天然饵料河蚌的含量极为接近^[8]。反映了中华鳖消化酶在进化过程中形成的对食性的适应

性。高脂肪浓度可能反映中华鳖与其它鱼类一样, 多以脂肪为能源, 而不以淀粉为能源。三种主要营养物质的最适浓度是否是其日粮的最佳组成还将进一步通过饲养实验证实。

中华鳖胃肠胰组织中酶活性分布的结果表明, 饲料蛋白质主要由胃蛋白酶、胰蛋白酶消化, 而淀粉和脂肪则主要由胰淀粉酶、胰脂肪酶消化。消化的主要部位在十二指肠。这种特性与单胃哺乳动物相同。但三种消化酶活性在回肠、结肠及直肠中亦有分布, 这又与有胃鱼类相似^[8]。这种分布特征是否为两栖类所具有? 其生物学意义是什么? 有待进一步研究。

参 考 文 献

- 1 徐光群. 鳖的繁殖和养殖. 淡水渔业, 1980, 98(6): 32 - 35.
- 2 余廷基. 水产养殖. 北台市: 丰年出版社, 1979. 134 - 149.
- 3 曾训江. 甲鱼的营养需要及配合饲料研究的综合报告. 湖南水产, 1990, 81(3): 7 - 9.
- 4 沈卉君. 中华鳖的解剖——消化、呼吸、泌尿生殖系统. 生物学通讯, 1982, (1): 22 - 30.
- 5 上海市医学化验所等. 临床生化检验(上册). 上海: 上海科技出版社, 1979. 342 - 343, 366 - 367.
- 6 中山大学生物系生化微生物教研室. 生化技术导论. 北京: 人民教育出版社, 1979. 53 - 54.
- 7 代田昭彦著, 刘世英、雍文岳译. 水产饵料生物学. 北京: 农业出版社, 1989. 322 - 328.
- 8 Hofer, R. Protein digestion and proteolytic activity in the digestive tract of an omnivorous cyprinid. *Comp. Biochem. Physiol.* 1982, 72a: 55 - 63

DISTRIBUTION OF THREE MAJOR DIGESTIVE ENZYMES OF DIGESTIVE TISSUE OF *TRIONYX SINENSIS*

LONG Liangqi BAI Dongqing TANG Baogui LIANG Yongjun

(Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070)

ABSTRACT In this paper, the optimum pH, optimum substrates concentration of amylase, protease, lipase of the stomachs, pancreas and intestines of *Trionyx sinensis* and active effect of NaCl on the amylase were assayed, and distributions of three enzymes in the digestive tissue were determined in the optimum condition. The results showed that: activity intensity of amylase was arranged in following sequence the pancreas > duodenum > stomach > ileum and colon > rectum; activities of protease was the stomach > pancreas > duodenum > ileum and colon > rectum; activities of lipase was the pancreas > duodenum > ileum and colon > rectum > stomach.

KEY WORDS *Trionyx sinensis* Amylase Protease Lipase