

文章编号: 1004-7271(2005)04-0468-04

·研究简报·

## 三种多糖对异育银鲫肠道、肝胰脏蛋白酶 和淀粉酶活性的影响

### Effect of three kinds of polysaccharide on protease activity, amylase activity in intestine and hepatopancreas of allogynogenetic silver crucian carp

陈 勇, 周洪琪

(上海水产大学生命科学与技术学院, 上海 200090)

CHEN Yong, ZHOU Hong-qi

(College of Aqua-life Science and Technology, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China)

关键词: 异育银鲫; 多糖; 蛋白酶; 淀粉酶

**Key words:** allogynogenetic silver crucian carp (*Carassius auratus gibelio*); polysaccharide; protease; amylase

中图分类号: S 963.73 文献标识码: A

鱼类消化酶的研究一直是鱼类消化生理的重要研究内容。鱼类对营养物质的消化吸收主要取决于鱼类消化酶的活性。消化酶活性的提高,可以促进鱼类对营养物质的消化吸收,进而促进鱼类的生长。关于鱼类消化酶的研究国内外学者做过很多工作,就影响鱼类消化酶活性的因素做过很详细的探讨。研究表明,影响鱼类消化酶活性的因素主要有食性、温度、pH、盐度、饲料成分<sup>[1-4]</sup>等。此外合适的饲料添加剂也可影响鱼类的消化酶活性,如微生物添加剂能提高鲤鱼和异育银鲫的蛋白酶活性<sup>[5]</sup>。多糖可以通过浸泡和口服的方法应用于水产动物的养殖中,并得到了促进生长或抑制生长的效果<sup>[6-7]</sup>,但对其影响生长机理的研究还未见报道。本试验以壳聚糖、甘露聚糖、低聚果糖为异育银鲫饲料添加剂,研究其对试验鱼消化酶活性的影响,以期对影响生长的原因略做探讨。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

二龄异育银鲫购自上海市南汇水产养殖场,体重为  $78.31 \pm 2.15$  g, 体质健壮,无病无伤。壳聚糖由上海水产大学食品学院提供,壳聚糖 A 分子量较小,壳聚糖 B 分子量较大。甘露聚糖、低聚果糖购于上海市联合食品添加剂公司。

### 1.2 设计

基础饲料配方: 鱼粉 10%、豆粕 20%、菜籽粕 20%、次粉 25%、玉米粉 16.5%、啤酒酵母 5%、植物油

收稿日期: 2005-01-25

基金项目: 上海市科委重点项目(013212101)

作者简介: 陈 勇(1964-), 男, 辽宁本溪人, 副教授, 博士研究生, 专业方向为水产动物营养与饲料学。

通讯作者: 周洪琪(1942-), 女, 上海市人, 教授, 博士生导师, 主要从事水产动物营养与饲料学方面的研究。Tel: 021-65710017, E-mail: Hqzhou@shfu.edu.cn

1%、复合添加剂 1.5%、纤维素 1%;主要成分含量:粗蛋白 31.12、粗脂肪 6.52、粗灰分 8.48。以基础饲料为对照组,在基础饲料中分别添加 0.5% 甘露聚糖、0.5% 低聚果糖、0.5% 壳聚糖 B、0.25% 壳聚糖 A、0.5% 壳聚糖 A、1% 壳聚糖 A 为试验饲料,加入添加剂的量相应减少纤维素的使用量。共 7 个饲料组,每组三个重复。

### 1.3 饲养

饲养试验在上海水产大学南汇养殖场进行,将试验鱼随机分到 21 个水泥池(5.0 m × 2.0 m × 0.6 m)中,每池 50 尾。先用基础饲料驯化一周,待鱼摄食正常后试验开始,每天按体重的 3% 分三次(8:30、12:30、16:30)投喂每种饲料,并根据水温、水质、摄食情况适当调整,尽量让投喂的饲料全部吃完不留残饵。每天充气 2 h,不定期吸污、换水。饲养试验时间为 2003 年 7 月 15 日 - 9 月 18 日,整个试验期间水温为室温(21 ~ 35 °C),DO > 5 mg/L, NH<sub>3</sub> - N < 0.3 mg/L,各池水质基本一致。试验结束每饲料组分别取 10 尾鱼的肠道和肝胰脏待测。

### 1.4 蛋白酶、淀粉酶活性测定

分别取每尾鱼的肠道中段和肝胰脏各 0.5 g 左右,在冰浴中用 10 倍体积的冰冷去离子水匀浆,在 4 °C 冰箱中静置 2 h 后,2000 r/min 离心 10 min,取上清液作为粗酶液待测。采用福林 - 酚试剂法测定蛋白酶活性<sup>[8]</sup>。蛋白酶活力单位定义为 pH 8.0、底物酪蛋白浓度为 20 mg/mL、37 °C 条件下保温 10 min,每克组织每分钟产生 1 μg 酪氨酸的酶量为一个活力单位。采用淀粉 - 碘显色法测定淀粉酶活性<sup>[9]</sup>。淀粉酶活力单位定义为 pH 7.0、37 °C 条件下保温 30 min,每克组织中的淀粉酶能完全水解 10 mg 淀粉时的酶量为一个活力单位。

### 1.5 统计方法

数据用 ANOVA 进行方差分析、Duncan 氏进行多重比较。

## 2 结果

饲料中添加多糖对异育银鲫肠道和肝胰脏的蛋白酶、淀粉酶活性具有显著性影响(表 1)。饲料中分别添加 0.50% 四种多糖,能够显著提高蛋白酶活性,甘露聚糖组和低聚果糖组的肝胰脏蛋白酶活性分别是对照组的 138.91% 和 123.11%。壳聚糖 A 组的肠道蛋白酶、肝胰脏蛋白酶分别是对照组的 133.18% 和 142.96%。壳聚糖 B 组的肠道和肝胰脏蛋白酶显著提高,分别是对照组的 120.41% 和 111.57%。然而,添加四种相同剂量的多糖对肠道淀粉酶活性无显著性影响;壳聚糖 A 组的肝胰脏淀粉酶活性显著提高,是对照组的 119.97%;甘露聚糖组和壳聚糖 B 组的肝胰脏淀粉酶活性显著低于对照组。

比较四个 0.50% 多糖组的消化酶活性。壳聚糖 A 与壳聚糖 B 是同一类多糖,唯分子量不同,它们除了对肠道蛋白酶活性影响相同之外,壳聚糖 A 组的肝胰脏蛋白酶及淀粉酶活性均显著高于壳聚糖 B 组,分别是壳聚糖 B 组的 128.13% 和 156.13%,然而,其肠道淀粉酶活性显著低于壳聚糖 B 组,是壳聚糖 B 组的 94.83%。壳聚糖 A 组的肠道蛋白酶和肝胰脏淀粉酶活性显著高于甘露聚糖组和低聚果糖组,其肝胰脏蛋白酶显著高于低聚果糖组,但与甘露聚糖组无显著差异。

试验鱼的消化酶的活性因壳聚糖 A 的添加量而异。饲料中添加 0.25% 壳聚糖 A 除了显著降低肠道淀粉酶活性之外,其肠道蛋白酶、肝胰脏的蛋白酶和淀粉酶活性无显著变化。然而,添加量增加到 1.00% 时会使肠道和肝胰脏蛋白酶活性显著低于 0.50% 壳聚糖 A 组,后者肠道和肝胰脏蛋白酶活性分别是 1.00% 壳聚糖 A 组的 115.70% 和 124.56%;这两组的肠道和肝胰脏淀粉酶活性无显著差异。

表 1 多糖对异育银鲫肠道和肝胰脏的蛋白酶活性和淀粉酶活性的影响  
 Tab.1 Effect of polysaccharide on protease activity, amylase activity in intestine and hepatopancreas of allogynogenetic silver crucian carp

组别	蛋白酶活力(U/g)		淀粉酶活力(U/g)	
	肠道	肝胰脏	肠道	肝胰脏
对照 control	255.28 ± 27.90 <sup>c</sup>	78.59 ± 5.76 <sup>c</sup>	232.81 ± 9.45 <sup>ab</sup>	182.67 ± 15.93 <sup>b</sup>
0.50%甘露聚糖 mannan	269.51 ± 29.37 <sup>bc</sup>	109.17 ± 11.61 <sup>a</sup>	228.18 ± 10.51 <sup>abc</sup>	155.73 ± 23.47 <sup>cd</sup>
0.50%低聚果糖 FOS	266.24 ± 47.57 <sup>c</sup>	96.76 ± 7.46 <sup>b</sup>	223.66 ± 12.32 <sup>bc</sup>	190.66 ± 20.00 <sup>b</sup>
0.50%壳聚糖 chitosan B	307.39 ± 30.94 <sup>ab</sup>	87.69 ± 5.38 <sup>cd</sup>	236.77 ± 4.19 <sup>a</sup>	140.36 ± 31.76 <sup>d</sup>
0.25%壳聚糖 chitosan A	286.65 ± 32.68 <sup>bc</sup>	81.50 ± 5.79 <sup>de</sup>	219.86 ± 15.12 <sup>c</sup>	171.17 ± 39.98 <sup>bc</sup>
0.50%壳聚糖 chitosan A	339.99 ± 25.53 <sup>a</sup>	112.36 ± 12.39 <sup>a</sup>	224.55 ± 15.64 <sup>bc</sup>	219.15 ± 18.04 <sup>a</sup>
1.00%壳聚糖 chitosan A	293.83 ± 72.89 <sup>bc</sup>	90.20 ± 4.16 <sup>bc</sup>	222.72 ± 8.80 <sup>bc</sup>	240.88 ± 3.27 <sup>a</sup>

注:平均值 ± 标准差,且其同列不同的上标字母表示差异显著( $P < 0.05$ )

### 3 讨论

#### 3.1 异育银鲫肠道和肝胰脏的蛋白酶和淀粉酶活性

本试验异育银鲫的肠道蛋白酶活性高于肝胰脏的蛋白酶活性。这与吴婷婷等<sup>[1]</sup>对鳊、青鱼、草鱼、鲤、鲫、鲢, Hidalgo 等<sup>[10]</sup>对鲤、金鱼、丁鲈、海鲷、虹鳟、鳗鱼,邹师哲等<sup>[4]</sup>对鲤的研究结果一致。异育银鲫胰脏分泌无活性的胰蛋白酶原,其只有进入肠道被肠致活酶或有活性的胰蛋白酶激活后才具有酶的活性。另外,鱼类肠腺还能分泌蛋白酶,因此,肠道的蛋白酶活性高于肝胰脏。然而黄峰等<sup>[11]</sup>对鲢和鳙、Das 等<sup>[12]</sup>对草鱼的研究均提出肝胰脏蛋白酶活性高于肠道的蛋白酶活性,这是由于肝胰脏中也存在类似肠致活酶的物质还是匀浆时被组织液激活,有待进一步研究。

本试验异育银鲫的肠道淀粉酶活性高于肝胰脏。这与吴婷婷等<sup>[1]</sup>对鲫、鳊、和鲢鱼种、王红权等<sup>[13]</sup>对异育银鲫一龄鱼种的研究结果一致。但与邹师哲等<sup>[4]</sup>对鲤的研究结果不一致,邹师哲提出鲤的淀粉酶活力与鱼的大小有关,仅鲤鱼夏花肠道淀粉酶活性高于肝胰脏淀粉酶活性,鱼种和成鱼的肝胰脏淀粉酶活力高于肠道的淀粉酶活力。淀粉酶活力是否还因鱼的种类而异,仍有待进一步研究。

#### 3.2 多糖对异育银鲫肠道和肝胰脏的蛋白酶和淀粉酶活性的影响

本试验分别添加 0.5% 的壳聚糖 A、壳聚糖 B 能提高肠道和肝胰脏蛋白酶的活性,而甘露聚糖组和低聚果糖仅能提高肝胰脏蛋白酶的活性。与畜禽相比,鱼类特别是鲤科鱼类的机械消化能力很差<sup>[14]</sup>,消化功能的强弱很大程度上取决于消化酶活性,提高鱼体的消化酶活性就能提高鱼对营养物质的消化能力,鱼对营养物质的吸收也会随之增加。鱼个体生长过程是营养物质(主要是蛋白质)在体内的贮留过程,因此,适量多糖能提高蛋白酶活性是其促进异育银鲫生长的主要原因之一。

本试验异育银鲫摄食适量壳聚糖能提高其消化酶活性,这是由于鱼类摄食甲壳素及其衍生物后,其胃肠道能产生甲壳素酶、壳二糖酶,该酶能使甲壳素、壳聚糖降解成低聚糖,并使得肠道内一些菌群得到增殖<sup>[15,16]</sup>。Gatesoupe<sup>[17]</sup>报道,水产动物肠道的益生菌种主要有乳酸菌、酵母菌、假单胞菌、双歧杆菌等部分杆菌和一些弧菌。肠道有益菌能够降解部分营养物质。Syvokienė 等<sup>[18]</sup>提出,鳕等 10 种海水鱼肠道群中异养菌占主导地位,它们能够降解蛋白质、特别是分解糖类。Schrijver 等<sup>[19]</sup>报道, *V. proteolyticus* 能显著加快大菱鲂幼鱼肠道中蛋白质的降解和可溶性水解产物的生成。肠道细菌发酵可以降解蛋白质和糖类,其产物会刺激胃肠道激素的分泌,从而诱导胰脏、肠道分泌消化酶<sup>[20]</sup>。再者,壳聚糖及其衍生物被降解成甲壳低聚糖,不仅为肠道菌利用,还具有类激素的生理活性,可作用于粘膜细胞有关受体或经肠壁神经丛影响神经内分泌的细胞受体,参与有关激素的调节作用,影响营养物质的代谢和消化酶的分泌<sup>[21]</sup>。汤伏生等<sup>[22]</sup>报道,鲤鱼肠道有稳定的细菌群落,其多种菌能产生淀粉酶。Tovar 等<sup>[23]</sup>添加从鱼类肠道分离、培养的活酵母菌能显著提高黑鲈肠道消化酶活性。壳聚糖是一种带正电荷

的高分子碱性多糖,具有吸附和络合的特性,因此,过量添加的壳聚糖会因其较强的吸附特性,可能吸附住营养物质甚至消化酶,使消化酶活性有下降趋势。

本试验甘露聚糖、低聚果糖能够提高异育银鲫肠道和肝胰脏消化酶活性,可能这些多糖可以促进鱼肠道中双歧杆菌、乳酸杆菌等有益菌的增殖,有益菌可以产生包括蛋白酶和淀粉酶等消化酶。张红梅等<sup>[7]</sup>在饲料中添加 0.3%甘露寡聚糖能够使鲤肠道中的大肠杆菌等有害菌极显著减少,双歧杆菌、乳酸杆菌等有益菌有所升高,鲤鱼的生长性能提高,饲料系数降低。罗予等<sup>[24]</sup>、Pedreschi 等<sup>[25]</sup>研究表明,低聚果糖无论在体外还是体内均能选择性地增殖双歧杆菌,对类杆菌和肠杆菌也有调整作用。肖明松等<sup>[26]</sup>提出,0.1%低聚果糖可以显著提高中华鳖胃、胰脏及前肠的蛋白酶活性,胰脏及前肠的脂肪酶活性,胰脏及后肠的淀粉酶活性。

#### 参考文献:

- [1] 吴婷婷,朱晓鸣. 鳊、青鱼、草鱼、鲫、鲢消化酶活性的研究[J]. 中国水产科学,1994,1(2):10-16.
- [2] 叶继丹,卢彤岩,田 雷,等. 不同 pH 和温度条件下杂交鲟胃中消化酶活性的变化[J]. 中国水产科学,2003,10(1):79-85.
- [3] 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[J]. 厦门大学学报(自然科学版),1998,37(5):754-760.
- [4] 邹师哲,王义强. 饲料中蛋白质、脂肪、碳水化合物对鲤鱼消化酶的影响[J]. 上海水产大学学报,1998,7(1):69-74.
- [5] 刘小刚,周洪琪,华雪铭,等. 微生态制剂对异育银鲫消化酶活性的影响[J]. 水产学报,2002,26(5):448-452.
- [6] Shiau S Y, Yu Y P. Dietary supplementation of chitin and chitosan depresses growth in tilapia, *Oreochromis niloticus auteus*[J]. Aquaculture, 1999,(179):439-446.
- [7] 张红梅,张 磊,姜会民. 甘露寡聚糖对生长期鲤鱼生长性能及肠道菌群的影响[J]. 中国饲料,2003,9:22-23.
- [8] 中山大学生物系生化微生物教研室编. 生化技术导论[M]. 北京:科学出版社,1979.
- [9] 上海市医学化验所等编. 临床生化检验(上册)[M]. 上海:上海科技出版社,1979.
- [10] Hidalgo M C, Urea E, Sanz A. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Proteolytic and amylase activities[J]. Aquaculture, 1999,170:267-283.
- [11] 黄 峰,严安生,牟 松,等. 鲢、鳊蛋白酶、淀粉酶的研究[J]. 中国水产科学,1996(2):14-17.
- [12] Das K M, Tripathi S D. Studies on the digestive enzymes of grass carp[J]. Aquaculture, 1991,92(1):21-32.
- [13] 王红权,孙桂芳,赵玉蓉. 异育银鲫摄食 5 种不同动物蛋白源饲料后消化酶的活性变动比较[J]. 内陆水产,2002,2:9-11.
- [14] 李爱杰. 水产动物营养与饲料学[M]. 北京:中国农业出版社,1996.5-6.
- [15] Gabriel J H, Lindsay M J, Walton J W, et al. The growth of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) given diets containing chitin and its relationship to chitinolytic enzymes and chitin digestibility[J]. Aquaculture, 1984, 37(4-1):315-334.
- [16] Magdalena A G, Jeffrey C D, Bruce H R. Digestive chitinolytic activity in marine fishes of Monterey Bay, California[J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2004,139(3):351-358.
- [17] Gatesoupe F J. The use of probiotics in aquaculture[J]. Aquaculture, 1999,180(1-2):147-165.
- [18] Syvokienė J, Mickėnienė L. Micro-organisms in the digestive tract of fish as indicators of feeding condition and pollution[J]. ICES Journal of Marine Science, 1999, 56(1):147-149.
- [19] Schrijver R De, Ollevier F. Protein digestion in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) and effects of dietary administration of *Vibrio proteolyticus* [J]. Aquaculture, 2000,186(1-2):107-116.
- [20] 胡东兴,潘康成. 微生态制剂及其作用机制[J]. 中国饲料,2001,3:14-17.
- [21] 魏新林,夏文水. 甲壳低聚糖的生理活性研究进展[J]. 中国药理学通报,2003,19(6):614-617.
- [22] 汤伏生,朱晓燕,张兴忠. 鲤鱼肠道细菌及其淀粉酶对宿主消化的影响[J]. 水产学报,1994,18(3):177-182.
- [23] Tovar D J, Zambonino C, Cahu F J, et al. Effect of live yeast incorporation in compound diet on digestive enzyme activity in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae[J]. Aquaculture, 2002, 204(1-2):113-123.
- [24] 罗 予,孟林敏,毛理纳,等. 低聚果糖体内外对肠道菌的影响[J]. 中国微生物学杂志,2003,12(6):321-322.
- [25] Pedreschi R, Campos D, Noratto G, et al. Andean yacon root (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. Endl) fructooligosaccharides as a potential novel source of prebiotics[J]. J Agric Food Chem,2003,51(18):5278-5284.
- [26] 肖明松,王志耕,孙玉军,等. 饲料中添加果寡糖和糖萜素对中华鳖消化酶活性的影响[J]. 中国畜牧兽医,2004,31(2):10-14.