

温度对中国对虾、日本对虾主要 消化酶活性的影响^{*}

吴 垠^{**}

(大连水产学院养殖系)

孙建明

周遵春

(辽宁省海洋水产研究所)

摘 要 中国对虾、日本对虾肝胰脏、胃、肠蛋白酶的最适温度分别为 45, 45, 55℃ 和 40, 40, 55℃。临界失效温度分别为 62, 59, 63℃ 和 58, 52, 69℃。脂肪酶最适温度分别为 35, 35, 40℃ 和 35, 40, 40℃。临界失效温度分别为 50, 50, 53℃ 和 51, 52, 53℃。淀粉酶最适温度分别为 30, 35, 30℃ 和 30, 30, 25℃。临界失效温度分别为 42, 45, 45℃ 和 40, 45, 45℃。中国对虾、日本对虾肝胰脏的胰蛋白酶最适温度均为 45℃, 临界失效温度为 53 和 54℃。在适温范围内, 日本对虾的蛋白酶、脂肪酶活性高于中国对虾, 而淀粉酶活性低于中国对虾。笔者同时对在栖息水温范围内消化酶活性的变化进行了分析。

关键词 中国对虾; 日本对虾; 消化酶; 酶活性; 温度

中图分类号 S912

中国对虾、日本对虾是我国及东南亚海水养殖的主要经济品种。随着对虾养殖业的发展, 对配合饲料的要求逐渐提高。在对虾配合饲料研究中, 应首先了解对虾对饲料的消化利用能力, 而评价消化能力的标准之一就是対虾消化酶的种类及在不同条件下活力的大小。

关于对虾类消化酶方面的研究国内外已有过一些报道, 主要集中在个体发育过程中不同阶段消化酶活力的变化^[1, 2]及消化酶对饵料组成的适应^[3, 4, 5], 而温度对中国对虾、日本对虾主要消化器官蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶活性及肝胰脏的胰蛋白酶活性的影响及比较分析尚未见报道。笔者就此进行了研究, 为对虾消化生理学及对虾饲料配伍提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 虾的来源和规格

实验于 1992 年 4~5 月、9~10 月及 1996 年 4~5 月间进行。中国对虾 (*P.*

收稿日期: 1996-05-30

^{*} 该文系农业部重点项目《中国对虾对蛋白质消化、吸收、积累的研究》论文报告之一

^{**} 吴垠: 1962 年生, 女, 讲师, 大连 116023

chinensis) 来源于瓦房店炮台镇增殖站及辽宁省海洋水产研究所试验池, 体重 8.6~27.2 g; 日本对虾 (*P. japonicus*) 购自大连市水产鲜活市场, 选取活泼健壮的个体作为实验材料, 体重 6.3~15.4 g

1.2 样本处理

样本虾处理前停止投喂 16 h 以上。将活虾置冰盘内解剖, 取出全部肝胰脏、胃和肠道, 用冷冻去离子水清洗胃和肠道内容物, 滤纸吸干表面水分后分别称重。将肝胰脏、胃和肠道样本, 按其重量分别加入 10 倍的去离子水 (4°C , pH 7.0), 低温条件下使用玻璃匀浆器制成匀浆后, 以 4000 r/min 离心 20 min, 取上清液作为酶原液进行酶活性测定。

1.3 酶活性测定

1) 酶液的作用温度范围为 5~80 $^{\circ}\text{C}$, 温度梯度的设置幅度为 5~10 $^{\circ}\text{C}$ 。

2) 蛋白酶活性测定用福林-酚试剂法^[6], 蛋白酶活性定义为: 在 pH 7.5 (胃蛋白酶活性在 pH 3.0 条件下测定), 底物酪蛋白浓度为 5 mg/mL, 在一定温度下保温 15 min, 以每分钟蛋白酶水解酪蛋白产生 1 μg 酪氨酸为一个活力单位。

3) 胰蛋白酶活性测定按 Devillez^[7]方法, 用 Na-对甲苯磺酰-L-精氨酸甲酯酸盐 (TAME) 为底物, 测定肝胰脏中酶粗提液的胰蛋白酶活性, 胰蛋白酶活性定义为: 在一定温度下, 每分钟对 247 nm 光的吸收增加 0.001 为 1 个酶活力单位。

4) 脂肪酶活性测定^[6]是用聚乙烯醇橄榄油为底物, 用 NaOH 滴定底物水解产生的脂肪酸。活性定义为: 在一定温度条件下, 脂肪酶水解脂肪每分钟产生 1 μg 分子脂肪酸的酶量, 定为一个脂肪酶活力单位。

5) 淀粉酶活性测定用淀粉-碘显色法^[8], 活性定义为: 在 pH 7.0 和一定温度条件下, 30 min 内 1 mL 酶液完全水解 10 mg 淀粉, 定为一个淀粉酶活力单位。

6) 酶液蛋白量测定 按双缩脲法^[6], 用牛血清蛋白作标准。

2 结果

2.1 中国对虾、日本对虾主要消化酶的最适温度及临界失效温度

中国对虾、日本对虾的几种消化酶活性与温度关系见图 1~7。在 5~70 $^{\circ}\text{C}$ 范围内, 随着温度升高, 各种酶活性均呈现先上升后下降趋势, 上升到最大值时的温度为酶的最适温度。两种虾主要消化器官肝胰脏、胃、肠蛋白酶作用的最适温度比较见表 1。

临界失效温度 (酶在一小时内, 丧失一半活力的温度) 是酶对热灵敏的衡量指标。表 1 列出了中国对虾、日本对虾各种酶的临界失效温度。

2.2 中国对虾、日本对虾主要消化酶反应的温度系数 Q_{10}

酶作用的温度系数是温度升高 10 $^{\circ}\text{C}$ 时酶反应速度增加的因素, 是该酶的一个特性值。试验结果表明, 两种对虾的蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶反应的温度系数 Q_{10} 值随温度升

高而下降 (见表 2~ 5), 但不同组织各种酶的 Q_{10} 值差异显著。将两种虾蛋白酶反应的温

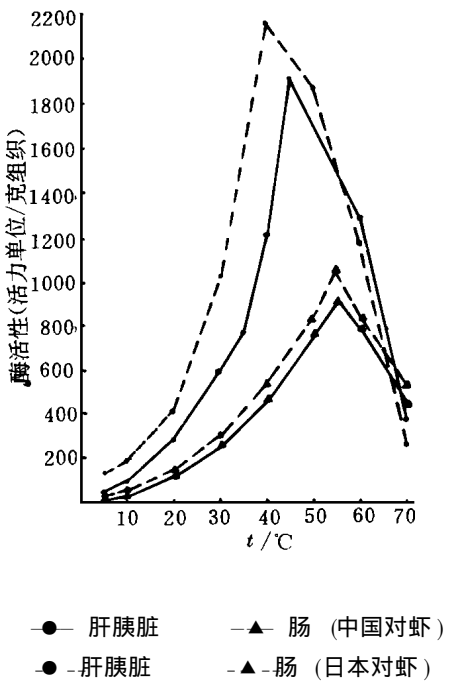


图 1 中国对虾、日本对虾肝胰脏和肠蛋白酶活性与温度关系

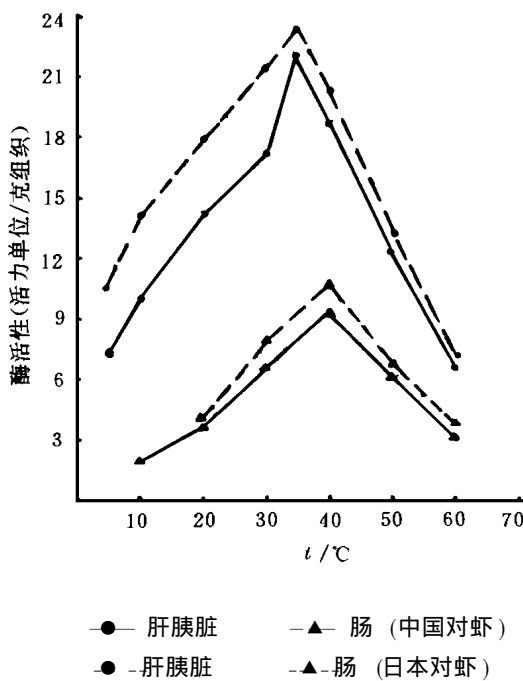


图 2 中国对虾、日本对虾肝胰脏、肠脂肪酶活性与温度关系

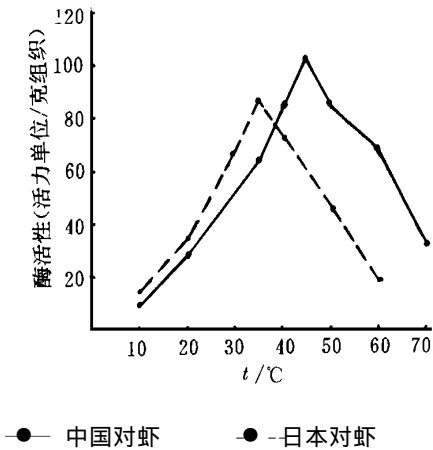


图 3 中国对虾、日本对虾胃蛋白酶活性与温度关系

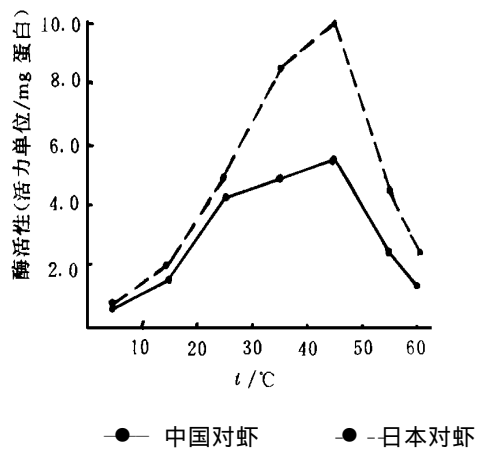


图 4 中国对虾、日本对虾肝胰脏胰蛋白酶活性与温度关系

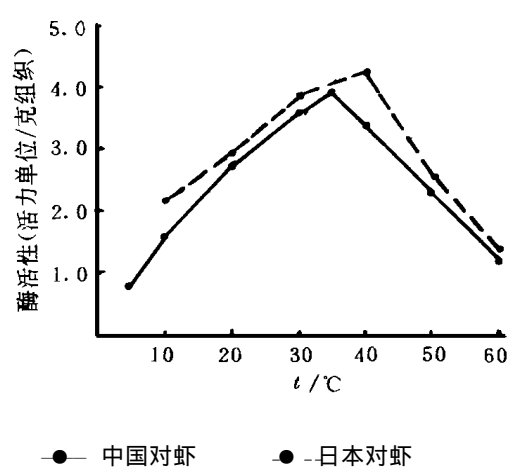


图 5 中国对虾、日本对虾肝胰脏、
肠脂肪酶活性与温度关系

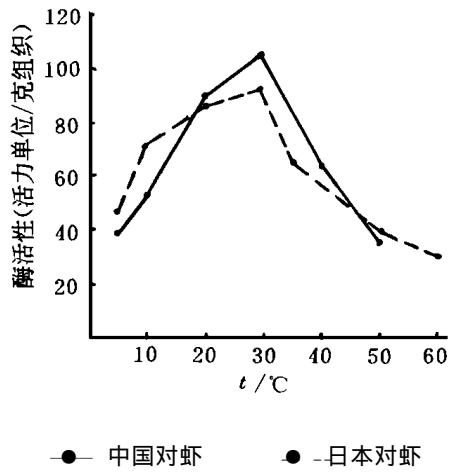


图 6 中国对虾、日本对虾肝胰脏
淀粉酶活性与温度关系

度系数 Q_{10} 作比较, 中国对虾各组织在 5~ 30℃ 时大于 2, 30~ 50℃ 大于 1, 50~ 70℃ 小于 1; 日本对虾肝胰脏、胃蛋白酶 Q_{10} 值在 5~ 20℃ 时大于 2, 20~ 40℃ 大于 1, 40~ 70℃ 小于 1, 而肠的 Q_{10} 值变化趋势与中国对虾相同。肝胰脏、胃脂肪酶两种虾在 5~ 30℃ 时均大于 1, 30~ 60℃ 小于 1; 肠脂肪酶 Q_{10} 值在 5~ 40℃ 大于 1, 40~ 60℃ 小于 1, 两种对虾肝胰脏、胃 (中国对虾除外)、肠淀粉酶 Q_{10} 值在 5~ 30℃ 大于 1, 30~ 50℃ 小于 1; 中国对虾胃脂肪酶在 5~ 40℃ 大于 1, 40~ 50℃ 小于 1 (见表 2)。两种对虾胰蛋白酶反应的温度系数 Q_{10} 值变化趋势基本相似 (见表 3)。

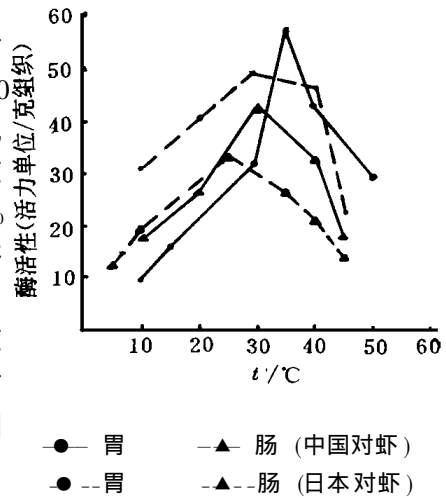


图 7 中国对虾、日本对虾胃、肠
淀粉酶活性与温度关系

3 讨论

3.1 在适温条件下, 中国对虾与日本对虾主要消化酶活性比较

笔者使用相同条件比较分析了对虾属中不同种的中国对虾与日本对虾主要消化酶——蛋白酶、胰蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶的活性强度, 可见有一定规律。日本对虾蛋白酶、胰蛋白酶、脂肪酶活性在适温条件下均高于中国对虾, 而淀粉酶活性低于中国对虾, 这种差异可能与两种虾长期的生理适应性有关, 尤其表现在机体的营养需求及对饲料成

表 1 中国对虾、日本对虾主要消化酶的最适温度、临界失效温度

℃											
种类	温度	肝胰脏				胃			肠		
		酪蛋白酶	胰蛋白酶	脂肪酶	淀粉酶	蛋白酶	脂肪酶	淀粉酶	蛋白酶	脂肪酶	淀粉酶
中国对虾	最适温度	45	45	35	30	45	35	35	55	40	30
	临界失效温度	62	53	50	42	59	50	45	63	53	45
日本对虾	最适温度	40	45	35	30	40	40	30	55	40	25
	临界失效温度	58	54	51	40	52	52	45	69	53	45

表 2 中国对虾、日本对虾三种消化酶反应的温度系数 Q_{10}

酶的种类	温度 t /℃	中国对虾			日本对虾		
		肝胰脏	胃	肠	肝胰脏	胃	肠
蛋白酶	5~ 15	3. 10		3. 80	2. 93		3. 51
	10~ 20	3. 06	3. 59	2. 60	2. 36	2. 33	2. 58
	20~ 30	2. 05		2. 12	2. 28	1. 52	2. 25
	30~ 40	2. 00	2. 40	1. 77	2. 12	1. 05	1. 91
	40~ 50	1. 61	1. 01	1. 61	0. 87	0. 52	1. 51
	50~ 60	0. 66	0. 82	0. 98	0. 63		0. 98
	60~ 70	0. 30	0. 47	0. 56	0. 24		0. 67
脂肪酶	5~ 15	1. 64	2. 69		1. 49		
	10~ 20	1. 46	1. 75	1. 35	1. 28	1. 37	
	20~ 30	1. 21	1. 29	1. 64	1. 17	1. 31	1. 80
	30~ 40	0. 96	0. 94	1. 50	0. 80	0. 98	1. 50
	40~ 50	0. 65	0. 71	0. 67	0. 65	0. 59	0. 60
	50~ 60	0. 53	0. 51	0. 54	0. 54		
淀粉酶	5~ 15	1. 89			1. 69		
	10~ 20	1. 75	1. 86	1. 78	1. 26	1. 32	1. 39
	20~ 30	1. 15	1. 86	1. 55	1. 03	1. 23	1. 25
	30~ 40	0. 58	1. 27	0. 76	0. 67	0. 93	0. 63
	40~ 50	0. 58	0. 72	0. 55	0. 70	0. 48	0. 68
	50~ 60				0. 70		0. 16

表 3 中国对虾、日本对虾胰蛋白酶反应的温度系数 Q_{10}

实验虾	温度 t / $^{\circ}\text{C}$				
	5~ 15	15~ 25	25~ 35	35~ 45	45~ 55
中国对虾	3. 04	2. 48	1. 14	1. 16	0. 47
日本对虾	3. 01	2. 34	1. 71	1. 17	0. 42

分与组成的适应性方面。中国对虾与日本对虾均属肉食性种类，对饲料中蛋白质的需求
量高。日本对虾要求含蛋白质为 52% ~ 57% 的配合饲料或鲜活饵料，且基本上限于动物
性蛋白组成^[9]；中国对虾则对饲料中蛋白质需求量为 40% ~ 50%^[10]；因此由于饲料中蛋
白质水平的差异而造成日本对虾与中国对虾在蛋白酶、胰蛋白酶活性方面的差异现象十
分明显。饲料的碳水化合物含量在 20% ~ 40% 范围内与蛋白质含量呈反比关系，由于中
国对虾饲料中蛋白质水平低于日本对虾，则碳水化合物含量相应升高，由此引起淀粉酶
活性高于日本对虾。Kawai 等^[11]用鱼粉和马铃薯淀粉含量不同的饲料饲养幼鲤 75 d，发
现在一个星期内，肠道麦芽糖酶、淀粉酶和蛋白酶活性对饲料呈现出适应性的变化规律，
本试验结果也表明这一点。中国对虾与日本对虾饲料中脂肪含量均以 6% 左右为宜，而且
机体的脂肪酸组成相近似^[12]，但在适温条件下，日本对虾脂肪酶活性高于中国对虾 3. 3%
~ 22. 3%，这种差异可能是由于不同种类虾在长期的环境适应中，通过自身调节机制来
调节酶的合成与分泌及其与其它酶的对应关系而形成的。

3. 2 关于中国对虾与日本对虾主要消化酶的最适温度问题

中国对虾与日本对虾主要消化酶最适温度不同，蛋白酶（包括肝胰脏胰蛋白酶）中
国对虾为 45~ 55 $^{\circ}\text{C}$ ，日本对虾为 40~ 55 $^{\circ}\text{C}$ ；脂肪酶两种对虾均为 35~ 40 $^{\circ}\text{C}$ ；淀粉酶中
国对虾为 30~ 35 $^{\circ}\text{C}$ ，日本对虾为 25~ 30 $^{\circ}\text{C}$ 。两种对虾消化酶的最适温度远高于栖息水温
（尤其蛋白酶），这一点与桂远明^[13]在研究温度与鱼消化酶作用关系时的结论相近似。

关于对虾主要消化酶的最适温度，于书坤^[14]认为中国对虾肝胰脏酪蛋白酶最适温度
为 47 $^{\circ}\text{C}$ 左右，淀粉酶在 37 $^{\circ}\text{C}$ 左右。Paul. D. Maugle 等^[15]认为日本对虾肝胰脏蛋白酶和
淀粉酶最适温度均在 40 $^{\circ}\text{C}$ 。笔者比较了不同消化器官肝胰脏、胃和肠主要消化酶的最适
温度，显示最适温度在不同组织是不一致的，而且不具有明显的规律性，所以在分析时
应全面考虑。比较中国对虾、日本对虾肝胰脏蛋白酶最适温度与于书坤、Paul D. Maugle
的报道相一致，而肝胰脏淀粉酶最适温度两种对虾均为 30 $^{\circ}\text{C}$ 左右，低于前者报道的结果，
这说明最适温度产生要受很多条件的严格制约，例如 pH、离子浓度、作用时间等。

3. 3 在栖息水温环境中消化酶的作用特点及人工饲料配伍原则

中国对虾与日本对虾均属于温水性种类，栖息水温 10~ 30 $^{\circ}\text{C}$ 。中国对虾是中国沿海
主要经济养殖品种，日本对虾自然分布于日本、台湾省。由于适温广，近年来做为新开
发的养殖品种已进入我国南北方。本研究结果显示两种对虾行使消化作用酶的最适温度
多在 30~ 50 $^{\circ}\text{C}$ ，可以说消化过程中消化酶常在最适温度值以下进行作用的，具有低温适

应性。在栖息水温条件下 ($10\sim 30^{\circ}\text{C}$), 对虾各种消化酶的活力由低到高均随温度上升而增加, 但各种酶上升幅度不同, 以反应系数 Q_{10} 为指标, 蛋白酶 Q_{10} 值在 $10\sim 30^{\circ}\text{C} > 2$, 脂肪酶、淀粉酶 $Q_{10} > 1$, 蛋白酶上升幅度大于脂肪酸和淀粉酶。以两种对虾作比较, 蛋白酶、胰蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶的温度系数 Q_{10} 在 $5\sim 20^{\circ}\text{C}$ 时, 中国对虾大于日本对虾; 在 $20\sim 30^{\circ}\text{C}$ 时, 中国对虾小于日本对虾。说明低温情况下, 中国对虾消化酶随温度上升活性升高较快, 这与其栖息环境温度偏低而形成的生理适应性有关。而且当水温下降时, 由于酶活性的大幅度降低 (尤其蛋白酶), 将妨碍对营养物的消化分解, 所以在不同温度情况下应根据消化酶的活性来决定饵料成分的配比及投饵量。

参 考 文 献

- 1 刘玉梅等. 中国对虾幼体和仔虾消化酶活力及氨基酸组成的研究. 海洋与湖沼, 1991, 22(6): 571~ 575
- 2 孙建明等. 不同生长时期中国对虾蛋白酶、脂肪酶活性变化的研究. 水产科学, 1995, 14(2): 11~ 13
- 3 徐土荣等. 维生素 B1 和 B6 对中国对虾消化酶的影响. 海洋渔业, 1987, 4: 34~ 37
- 4 Lee P G. Digestive protease of *Penaeus vannamei* Boone: relationship between enzyme activity, size and diet. Aquaculture, 1984, 42: 225~ 239
- 5 Maugle Paul D. Effects of short-necked clam diet on shrimp growth and digestive enzyme activities. Bull. Jap Soc Sci Fish, 1982, 48(12): 1759~ 1764
- 6 中山大学生物系生化微生物教研室编. 生化技术导论. 北京: 科学出版社, 1979
- 7 Devillez E J. Isolation of the proteolytic digestive enzymes from the gastric juice of the crayfish orconectes virilis. Comp Biochem Physiol, 1965, 14: 577~ 586
- 8 上海市医学化验所等编. 临床生化检验. 上海: 上海科技出版社, 1979
- 9 弟子丸修. Optimum level of dietary protein for prawn. Bull. Jap Soc Sci Fish, 1978, 44(12): 1395~ 1397
- 10 李爱杰等. 不同蛋白质含量对中国对虾的影响. 齐鲁渔业, 1986, 3: 19~ 22
- 11 Kawai S. Studies on digestive enzymes of fish II, Effect of dietary change on the activities of digestive enzymes in Carp intestine. Bull. Jap Soc Sci Fish, 1972, 38(3): 265~ 270
- 12 季文娟等. 中国对虾的几种必需脂肪酸营养价值的比较研究. 中国水产科学, 1994, 1(1): 1~ 9
- 13 桂远明等. 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, 1993, 7(4): 1~ 6
- 14 于书坤. 中国对虾消化酶的研究. 海洋科学集刊, 1987, 28(10): 85~ 90
- 15 Paul D Maugle. Characteristics of amylase and protease of the shrimp *penaeus japonicus*. Bull. Jap Soc Sci Fish, 1982, 48(12): 1753~ 1757

The Effect of Temperature on the Main Digestive Enzyme Activity of *Penaeus Chinensis* and *Penaeus Japonicus*

Wu Yin

Sun Jianming

Zhou Zuncun

(Department of Aquaculture, DFU)

(Marine Fisheries Research Institute of Liaoning Province)

Abstract In this article the optimum temperature and the critical inactive temperature for the main digestive enzyme activity in the hepatopancreas, stomach and intestine of *Penaeus chinensis* and *P. japonicus* were investigated. The optimum temperature for the general protease activity of *P. chinensis* and *P. japonicus* were 45, 45, 55°C and 40, 40 40°C; the amylase activity were 35, 35, 40°C and 30, 30, 25°C. The critical inactive temperature for the general protease activity of *P. chinensis* and *P. japonicus* were 62, 59, 63°C and 58, 52, 69°C; the lipase activity were 50, 50, 53°C and 51, 52, 53°C; the amylase activity were 42, 45, 45°C and 40, 45, 45°C. The optimum temperature and critical inactive temperature for trypsin in the hepatopancreas of *P. chinensis* and *P. japonicus* were 45, 45°C and 53, 54°C. Under the suitable temperature, the general protease and lipase activity of *P. japonicus* were higher than that of *P. chinensis*; In the amylase activity, however, the results were opposite.

Key words *Penaeus chinensis*; *Penaeus japonicus*; digestive enzyme activity; temperature