

文章编号: 1004 - 7271(2005)02 - 0133 - 05

小肽制品对凡纳滨对虾蛋白酶和 淀粉酶活力的影响

许培玉¹, 周洪琪²

(1. 上海金童饲料有限公司, 上海 201518;
2. 上海水产大学生命科学与技术学院, 上海 200090)

摘要:采用单因子浓度梯度法,基础饲料中加入0.1%、0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5%六个不同添加梯度的小肽制品,以基础饲料为对照,饲喂凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*),初始体重0.084 g。37 d后,测定凡纳滨对虾的蛋白酶和淀粉酶活力。结果表明,添加不同水平的小肽制品对凡纳滨对虾的肝胰腺类胰蛋白酶活力没有显著影响($P > 0.05$),但添加1.0%和1.5%小肽可极显著地提高凡纳滨对虾的胃和肝胰腺的胃蛋白酶活力及胃和肠的类胰蛋白酶活力($P > 0.01$),同时添加1.0%小肽可极显著提高凡纳滨对虾胃和肠的淀粉酶活力($P > 0.01$),添加1.5%小肽显著提高凡纳滨对虾肝胰腺淀粉酶活力($P > 0.05$)。

关键词:凡纳滨对虾;小肽;蛋白酶;淀粉酶

中图分类号:S 963.1 **文献标识码:**A

Effects of small peptides on the protease and amylase activities of *Litopenaeus vannamei*

XU Pei-yu, ZHOU Hong-qi

(1. Shanghai Jin Tong Feed Company, Shanghai 201518, China;
2. College of Aqua-life Science and Technology Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China)

Abstract: *Litopenaeus vannamei* (body weight of 0.084g) were fed on basal diet with 0.0%, 0.1%, 0.5%, 1.0%, 1.5%, 2.0%, 2.5% of the peptides for 37 days respectively, with basal diet as the control. Activities of protease and amylase of hepatopancreas, stomach and the intestine of *Litopenaeus vannamei* were measured. The result showed that the peptides had no significant effect on the activities of trypsin in the hepatopancreas ($P > 0.05$). Activities of pepsin of the stomach and the hepatopancreas and activities of trypsin and amylase of the stomach and the intestine in 1.0% group and 1.5% group were significantly higher than that of the control ($P > 0.01$). The activity of amylase of the hepatopancreas in 1.5% group was notably significantly higher than that of the control ($P > 0.05$).

Key words: *Litopenaeus vannamei*; peptides; protease; amylase

有关对虾消化酶的研究已有大量的报道,但消化酶的研究多集中在中国对虾和日本对虾上,如刘玉梅等^[1]、潘鲁青等^[2]研究了我国对虾幼体和仔虾消化酶活力,潘鲁青等^[3]研究了日本对虾幼体消化酶活

收稿日期:2004-04-15

作者简介:许培玉(1970-),女,江苏海门人,硕士,从事动物营养与饲料的研究, Tel:021-57201128

通讯作者:周洪琪(1942-),女,上海市人,教授,从事水产动物营养与饲料的研究, Tel:021-65710017

力,孙建明^[4]研究了不同生长期中国对虾蛋白酶、脂肪酶活性的变化,潘鲁青等^[5]研究了温度对中国对虾幼体生长发育的影响。但对凡纳滨对虾幼体消化酶的研究未见报道,饵料成分的变化对对虾消化酶活力的变化亦仅见于中国对虾^[6]。本试验研究凡纳滨对虾不同消化器官的酶活力,以及小肽制品饲料对凡纳滨对虾消化酶活性的影响,以期对凡纳滨对虾饲料的配制及小肽制品的促生长机理研究提供依据。

1 材料与方 法

1.1 试验设计

采用单因子浓度梯度法,在基础饲料(表1)中分别添加0、0.1%、0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5%的小肽制品(大块2000特种水产专用型,美国化达公司提供),以基础饲料为对照,试验组和对照组各设三个平行组。

表1 基础饲料主要成分含量
Tab.1 Main composition of the basic diet

组分	百分含量	组分	百分含量
进口鱼粉	40	乌贼膏	4
豆粕	20	鱼油	4
宠物级鸡肉粉	9.3	高筋面粉	10
啤酒酵母	8	磷酸二氢钙	2.5
复合预混料	2.2		

1.2 试验饲料

在基础饲料中加入不同添加量的小肽制品(表2),然后用逐级扩大混合的方法将饲料混合,用绞肉机制成直径为1.5mm的颗粒,晾干备用。

表2 试验饲料营养物质含量
Tab.2 Nutrition composition of the test diet

试验饲料	水分	蛋白	灰分	钙	磷	粗脂肪
A _{0.0%}	11.76	47.6	12.05	2.52	1.96	10.45
A _{0.1%}	11.29	47.9	11.59	2.46	1.95	10.22
A _{0.5%}	10.54	48.3	12.15	2.51	1.99	10.49
A _{1.0%}	11.65	47.3	12.06	2.42	1.83	10.93
A _{1.5%}	11.43	48.0	12.06	2.41	1.95	11.95
A _{2.0%}	10.59	48.1	12.17	2.36	1.96	10.14
A _{2.5%}	11.70	47.6	12.01	2.45	1.94	10.16

1.3 饲养管理

试验用凡纳滨对虾的虾苗于2002年10月31日从广东湛江购买,暂养驯化虾苗18d,暂养的前8d喂卤虫无节幼体,第九天开始投喂卤虫无节幼体和基础饲料,11月18日开始饲养实验,将虾苗饲养于21个圆柱形水族箱(直径60cm,高87cm)中,每箱随机放55尾虾苗,初始体重为 0.084 ± 0.004 g,昼夜连续24h充气,日投饵率为体重的10%,并根据凡纳滨对虾的摄食情况作适当的调整。每天投喂5次,每隔4.5h投1次,早上第一次和晚上最后一次投饵各占日投饵量的25%,其余3次投饵量占日总投饵量的50%。每天排污2次,日换水量1/5。饲养试验12月25日结束。

1.4 试验虾的处理

生长试验结束后,将试验虾置于冰盘上解剖,取出胃、肝胰腺、肠。将10尾虾的肠合并作一个样本,

8尾虾的胃作为一个样本,6尾虾的肝胰脏作为一个样本,每饲料组取6个样本的虾肠,6个样本的虾胃和6个样本的虾肝胰脏。

1.5 酶液的制备

将肝胰腺、胃、肠道样品用滤纸吸干表面水分后分别称重,用预冷重蒸水,在冰浴内用玻璃匀浆制成匀浆后,以 9000 r/min 离心 30 min,取上清液作酶活性测定。

1.6 酶活性的测定

福林-酚试剂法测定蛋白酶活性^[7]。类胰蛋白酶活性定义为:在 pH 9.8,底物酪蛋白浓度为 5 mg/mL,37 °C下保温 15 min,以每分钟水解酪-蛋白产生 1 μg酪氨酸的酶量为一个活力单位。胃蛋白酶活性定义为:在 pH 3.0底物酪蛋白浓度为 5 mg/mL,37 °C下保温 15 min,以每分钟水解酪蛋白产生 1 μg酪氨酸的酶量为一个活力单位。

淀粉酶活性测定用淀粉-碘显色法^[8]。淀粉酶活性定义为:在 pH 7.0、37 °C条件下,30 min 内 1 mg 组织完全水解 10 mg 淀粉,为一个淀粉酶活力单位。

1.7 数据分析

应用 SPSS 统计分析软件 ANOVA 和 LSD 进行方差分析和多重比较。

2 结果

2.1 小肽制品对凡纳滨对虾蛋白酶活力的影响

凡纳滨对虾的胃、肠、及肝胰腺均能测到类胰蛋白酶的活力,每 mg 组织中其活力分别为:4.38、3.00 和 2.35(表 3)。小肽制品对凡纳滨对虾肝胰腺类胰蛋白酶活力没有显著影响,但影响胃的肠的类胰蛋白酶活力,类胰蛋白酶活力随着小肽添加量的增加而逐渐提高,当小肽添加量达 1.0% 和 1.5% 时极显著提高胃和肠类胰蛋白酶活力($P > 0.01$),而后随着小肽添加量的增加,胃和肠类胰蛋白酶活力逐渐下降。

表 3 小肽制品对凡纳滨对虾类胰蛋白酶活力的影响

Tab.3 Protease activity of *Litopenaeus vannamei* fed on the small peptides

添加量 %	肝胰腺	肠	胃
0.0	2.347 ± 0.226	3.000 ± 0.288 ^{Cd}	4.382 ± 0.904 ^{Bbc}
0.1	2.195 ± 0.131	3.245 ± 0.260 ^{Ccd}	5.190 ± 0.841 ^{ABab}
0.5	2.345 ± 0.332	3.320 ± 0.390 ^{BCcd}	5.192 ± 0.369 ^{ABab}
1.0	2.334 ± 0.135	4.600 ± 0.653 ^{Aa}	5.735 ± 0.316 ^{Aa}
1.5	2.093 ± 0.143	3.875 ± 0.277 ^{Bb}	5.850 ± 0.638 ^{Aa}
2.0	2.398 ± 0.151	3.535 ± 0.435 ^{BCbc}	5.185 ± 0.647 ^{ABab}
2.5	2.150 ± 0.296	3.385 ± 0.286 ^{BCcd}	4.265 ± 0.957 ^{Bc}

注:表中大写字母不同表示差异极显著($P > 0.01$),小写字母不同表示差异显著($P > 0.05$)。

凡纳滨对虾的肝胰腺和胃均有胃蛋白酶活力,每毫克组织中其活力分别为 0.54 和 0.60 活力单位(表 4)。小肽制品极显著影响凡纳滨对虾胃蛋白酶活力。添加 1.0%、1.5%、2.0%、2.5% 小肽能极显著地提高肝胰腺胃蛋白酶活力($P > 0.01$),添加 0.5% 的小肽亦能显著地提高肝胰腺胃蛋白酶活力($P > 0.05$),其中以 1.5% 组效果最佳。胃蛋白酶活力也以 1.5% 组最佳,极显著地提高凡纳滨对虾的胃部胃蛋白酶活力,并且与其余各小肽组均有极显著差异(1.0% 小肽组除外)。1.0% 小肽组胃部的胃蛋白酶活力亦极显著高于对照组。

表 4 小肽制品对凡纳滨对虾胃蛋白酶活性的影响

Tab.4 Pepsin activity of *Litopenaeus vannamei* fed on the small peptides

U/mg 组织

添加量 %	肝胰腺	胃
0.0	0.535 ± 0.046 ^{Cd}	0.595 ± 0.069 ^{Cc}
0.1	0.607 ± 0.104 ^{BCcd}	0.640 ± 0.069 ^{BCc}
0.5	0.633 ± 0.057 ^{BCbc}	0.653 ± 0.076 ^{BCbc}
1.0	0.717 ± 0.096 ^{ABab}	0.725 ± 0.065 ^{ABab}
1.5	0.793 ± 0.129 ^{Aa}	0.802 ± 0.074 ^{Aa}
2.0	0.712 ± 0.051 ^{ABab}	0.677 ± 0.071 ^{BCbc}
2.5	0.708 ± 0.044 ^{ABab}	0.637 ± 0.069 ^{BCc}

注:表中大写字母不同表示差异极显著($P > 0.01$),小写字母不同表示差异显著($P > 0.05$)。

2.2 小肽制品对凡纳滨对虾淀粉酶活力的影响

凡纳滨对虾的胃、肠及肝胰腺内均有淀粉酶活性,每毫克组织中淀粉酶活力分别为 40.96、21.09 和 9.70 活力单位(表 5)。适量添加小肽制品能提高凡纳滨对虾肝胰腺的淀粉酶活力,以添加 2.0% 小肽最佳($P > 0.01$),添加 1.5% 小肽次之($P > 0.05$)。1.0%、1.5% 小肽组极显著提高胃淀粉酶活力($P > 0.01$),其余各组间与对照组差异不显著($P > 0.05$)。肠淀粉酶活力以 1.0% 小肽组最高,高于其余各组($P > 0.01$),1.5% 小肽组除与 0.2% 小肽组无差异外,亦极显著高于其余各组($P > 0.01$)。2.0% 小肽组同对照组、0.1% 小肽组差异极显著($P > 0.01$),同 0.5%、2.5% 小肽组差异显著($P > 0.05$)。

表 5 小肽制品对凡纳滨对虾淀粉酶活性的影响

Tab.5 Amylase activity of *Litopenaeus vannamei* fed on the small peptides

U/mg 组织

添加量 %	肝胰腺	肠	胃
0.0	9.703 ± 0.151 ^{Bb}	21.090 ± 5.297 ^{Dc}	40.960 ± 7.126 ^{Bb}
0.1	9.852 ± 0.369 ^{ABab}	21.238 ± 2.447 ^{Dc}	51.605 ± 11.122 ^{ABab}
0.5	9.977 ± 0.206 ^{ABab}	22.378 ± 2.250 ^{BCc}	52.637 ± 11.081 ^{ABab}
1.0	9.897 ± 0.462 ^{ABab}	37.922 ± 4.719 ^{Aa}	59.817 ± 7.603 ^{Aa}
1.5	10.138 ± 0.163 ^{ABa}	29.852 ± 1.855 ^{Bb}	61.060 ± 15.229 ^{Aa}
2.0	10.193 ± 0.379 ^{Aa}	27.030 ± 4.068 ^{BCb}	54.420 ± 16.169 ^{ABab}
2.5	10.025 ± 0.146 ^{ABab}	22.673 ± 2.783 ^{CDc}	48.413 ± 11.107 ^{ABab}

注:表中大写字母不同表示差异极显著($P > 0.01$),小写字母不同表示差异显著($P > 0.05$)。

3 讨 论

本试验对凡纳滨对虾蛋白酶活力测定的结果表明,各器官类胰蛋白酶活力大于胃蛋白酶活力。这与刘玉梅等^[1]报道的中国对虾和潘鲁青^[3]报道的日本对虾试验结果一致。说明凡纳滨对虾类胰蛋白酶对于蛋白质的水解能力要比胃蛋白酶高。也由此说明甲壳动物在分类位置上相近的种类,其消化酶活力规律类似^[9]。

谭北平^[10]报道,用半精饲料饲养凡纳滨对虾,其对蛋白质需要量为 37.6%。而中国对虾蛋白质最适需求量在 40%~50%之间,以 45%为最适^[11-13]。徐新章等^[11]报道,中国对虾饲料中淀粉的最适含量为 26%,谭北平等^[10]报道,凡纳滨对虾饲料中淀粉水平可达到 35%。这与本试验的结果相符,凡纳滨对虾的胃肠道具有较强的淀粉酶活性,对淀粉有较高的消化能力,淀粉吸收后作为能量贮存,从而减少了蛋白质作为能源物质的降解,与中国对虾相比,较低水平的蛋白质即可满足凡纳滨对虾生长的需要。

饲料中添加小肽制品可刺激消化酶的分泌与活性,从而促进营养物质的消化吸收。Zambohino 等^[14]分别用 20%和 40%的小肽替代鱼粉饲养海鲈 3 周后发现,海鲈的胰凝乳酶和 γ -谷氨酰肽酶活性

提高。在断奶仔猪饲料中添加小肽制品后,发现小肽制品可显著提高淀粉酶、脂肪酶和蛋白酶活性^[15,16]。在草鱼日粮中添加小肽制品,饲料表观消化率和蛋白质消化率提高^[17],其原因亦可能是小肽制品提高了草鱼消化酶活力,本实验中添加小肽制品后,除了胰腺的类胰蛋白酶外,各种消化酶活性随着小肽添加量的增加,逐渐提高,添加量达到适宜水平 1.0%、1.5%时,消化酶的活性也达到最大,亦可证实小肽制品可刺激消化酶的分泌,从而促进营养物质的消化吸收。

参考文献:

- [1] 刘玉梅,朱谨钊,吴厚余,等.中国对虾幼体和仔虾消化酶活力及氨基酸组成的研究[J].海洋与湖沼,1991,22(6):571-575.
- [2] 潘鲁青,王克行.中国对虾幼体消化酶活力的实验研究[J].水产学报,1997,21(1):26-31.
- [3] 潘鲁青,王伟.日本对虾几种消化酶活力的研究[J].海洋湖沼通报,1997,(2):15-18.
- [4] 孙建明,刘亚杰,周遵春.不同生长时期中国对虾蛋白酶、脂肪酶活性变化的研究[J].水产科学,1995,14(2):11-13.
- [5] 潘鲁青,王克行.温度对中国对虾幼体生长发育与消化酶活力的影响[J].中国水产科学,1997,4(3):17-22.
- [6] 罗日祥.甜菜渣对中国对虾消化酶的影响研究[J].海洋与湖沼,1997,28(3):280-284.
- [7] 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:人民教育出版社,1979.52-59.
- [8] 上海市医学化验所编.临床生化检验(上册)[M].上海:上海科技出版社,1979.366-368.
- [9] 于书坤.中国对虾消化酶的研究 I [J].消化酶的活力测定及性质的研究.海洋科学集刊,1987,28:85-90.
- [10] 谭北平,阳会军,朱旺明.南美白对虾的营养需要[J].广东饲料,2201,10(6):35-37.
- [11] 徐新章.中国对虾酸饵中蛋白质、糖、纤维素、脂肪的适宜含量及日需要量研究[J].海洋科学,1998,6:1-6.
- [12] 李爱杰,宋学君,楼伟凤.不同蛋白含量对中国对虾生长的影响[J].齐鲁渔业,1986,3:19-22.
- [13] 梁萌青.中国对虾配合饵料最适蛋白质含量试验[J].饲料工业,1992,13(5):47-49.
- [14] Zambohino I J, Cahu C, Peres A. partial substitution di-and tripeptides for of di-and tripeptides for native proteins in sea bass diets improves *dicentrarchus labras* larval development[J]. Nutrition, 1997, 127: 608-614.
- [15] 王 恬,傅永明等.小肽营养素对断奶仔猪生产性能及小肠发育的影响[J].畜牧与兽医,2003,35(6):4-7.
- [16] 计 成.猪肠膜蛋白粉对早期断奶仔猪的饲养效果[J].仔猪营养生理与饲料配制技术研究[M].北京:中国农业科技出版社,2001.
- [17] 冯 健,刘栋辉.小肽对幼龄草鱼生长性能的影响[J].广东饲料,2003,12(1):23-25.