

甜菜渣对中国对虾消化酶的影响研究^{*}

罗日祥

(中国科学院海洋研究所, 青岛 266071)

提要 于1996年10月在中国科学院海洋研究所选取人工养殖中国对虾(平均体长9.02cm)。以双缩脲法测定消化器官的蛋白含量; 福林-酚试剂法测定蛋白酶活力; Somogyi比色定糖法测定淀粉酶和纤维素酶活力, 同时研究中国对虾配合饵料中添加10%的甜菜渣或10%经不同方法处理的甜菜渣时, 对消化器官蛋白酶、淀粉酶、纤维素酶活力变化的影响。结果表明, 在饵料中添加10%甜菜渣或经不同方法处理的甜菜渣饲喂中国对虾, 没有影响消化器官组织酶抽提液的蛋白含量。但添加鱼王精或黑曲霉和康氏木霉处理的甜菜渣, 会引起蛋白酶的活力降低; 添加甜菜渣或经不同方法处理的甜菜渣均会引起淀粉酶活力明显升高或显著升高, 对纤维素酶, 则只有添加黑曲霉和康氏木霉处理的甜菜渣时, 才会明显升高。

关键词 中国对虾 消化器官 蛋白酶 淀粉酶 纤维素酶 甜菜渣

有关饵料成分的变化对中国对虾消化器官中消化酶影响方面的研究报道甚少(于书坤, 1987), 国外对其它虾类在这方面的的工作也不多。Mangle等人(1982)也只在饵料中添加各种无机化合物或用蛤子肉投喂日本对虾时, 测定过消化器官的蛋白酶和淀粉酶的活力变化。本文报告以甜菜渣及经不同方法处理的甜菜渣代替全麦面粉, 制成颗粒饵料喂中国对虾后, 消化器官中3种消化酶活力变化的研究结果, 以期为进一步研究用农副产品下脚料配制鱼虾饵料提供重要依据。

1 实验材料与方法

1.1 材料

于1996年10月, 用70cm×110cm×120cm玻璃钢水槽, 在本所院内养大的中国对虾(平均体长为9.02cm)转入室内, 分4组暂养1周后, 进行实验。

甜菜渣于1994年取自山东高密糖厂, 康氏木霉(*Trichoderma koningii*)P₂·EA₃-867由中国科学院成都生物研究所提供, 里曲霉(As₃.316)由山东省科学院微生物研究所提供, 鱼王精由四川省酶能达特种饲料厂提供。

实验用虾饵料的配制: 花生饼, 8%; 豆饼, 8%; 酵母, 10%; 虾糠, 9%; 鱼粉, 35%; 其它微量元素、维生素等添加剂, 5%。将以上基础原料混匀后分成4份, 第1份加10%的全麦粉, 作为对照组; 第2份加10%未处理的甜菜渣; 第3份加用鱼王精处理的甜菜渣¹⁾, 10%; 第4份加用康氏木霉和黑曲霉处理的(各占50%)的甜菜渣10%。

^{*} 国家“九五”攻关专题资助项目, 850240123号。罗日祥, 男, 出生于1938年7月, 副研究员。

1) 用鱼王精、康氏木霉、黑曲霉处理甜菜渣的方法及处理后的营养成分的变化另文阐述。

收稿日期: 1996年11月26日, 接受日期: 1997年1月3日。

混匀后分别制成颗粒晒干备用。

1.2 样品制备

将中国对虾移入 0.3m³ 水体的圆玻璃钢水槽中, 分为 4 组, 每组 30 尾。分别用已制备好的 4 组饵料投喂 20d 后捞出, 立即解剖取出胃、肝胰脏、肠, -20℃ 冰柜保存待测消化酶用。

分别将冷冻保存的样品, 各取 1g 放入玻璃匀浆器中, 加 5ml 预冷的重蒸水, 置冰浴中匀浆。匀浆液用日制 TOMY-RD20 III 型冷冻离心机, 于 0—1℃, 以 9 000r/min 转速离心 30min, 弃沉淀, 上清液为消化酶提取液, 用作活力测定。

1.3 酶活力测定

蛋白酶活力的测定, 用福林-酚试剂法(中山大学生物系生化微生物学教研室, 1979), 以每分钟水解干酪素所产生 1μg 酪氨酸作为一个酶活力单位(μg/min)。

淀粉酶用 Somogyi 比色定糖法测定(中山大学生物系生化微生物学教研室, 1979; Nelson, 1944), 以每分钟使淀粉水解生成 1μg 葡萄糖作为一个酶活力单位(μg/min)。

纤维素酶活力测定基本上按测淀粉酶的方法进行, 但底物要改用 0.5% 的羧甲基纤维素钠。

酶提取液的蛋白含量测定, 以牛血清蛋白作标准, 用双缩脲法测定(潘家秀, 1962)。

2 实验结果和讨论

2.1 中国对虾肝、胃、肠酶抽提液的蛋白含量

秋天虾用不同配比的饵料投喂 20d 后, 消化器官(肝、胃、肠)的蛋白含量见表 1。经 *t* 检验, 在基础配料上加 10% 的全麦面粉、10% 的甜菜渣、10% 经鱼王精处理的甜菜渣, 或 10% 经黑曲霉和康氏木霉处理的甜菜渣 4 个组之间, 消化器官的蛋白含量无明显差异。即表明该饵料配比的变化没有引起组织中蛋白含量明显改变。

2.2 中国对虾肝、胃、肠蛋白酶活力

秋季中国对虾, 在基本配料的基础上加 10% 全麦面粉、10% 的甜菜渣经不同处理后制成颗粒饵料喂 20d, 取其肝、胃、肠测定蛋白酶的活力, 见表 2。经 *t* 检验, 2 组 $P > 0.10$, 所以 2 组的蛋白酶的比活力同用全麦面粉的对照组无明显差异; 而 3 组和 4 组的 $P < 0.01$ 。因此, 3 组和 4 组的蛋白酶比活力有极显著的差异, 即 3 组和 4 组肝、胃、肠的蛋白酶与对照组比较, 有极显著的降低, 这可能是鱼王精、康氏木霉和黑曲霉对蛋白酶有抑制作用, 但其抑制机制有待于进一步实验阐明。

2.3 淀粉酶的活力

分别用 4 组饵料饲喂中国对虾 20d 后, 取其肝、胃、肠测定淀粉酶的活力, 结果见表 3。对各组进行 *t* 检验, 2 组和 3 组的 *t* 值分别为 3.7390, 3.2639, 它们均大于 $t_{0.10}^{(2)} = 2.920$, 即 2 组和 3 组的 $P < 0.10$, 所以 2 组和 3 组的淀粉酶的比活力均有明显的升高。4 组的 *t*

表 1 中国对虾肝、胃、肠蛋白含量

Tab.1 Protein contents in hepatopancreas, stomach, midgut of *P. chinensis*

组别	蛋白含量(μg)		平均
	<i>n</i> ₁	<i>n</i> ₂	
1	10.0	8.6	9.30±0.70
2	7.5	9.7	8.60±1.10
3	7.7	9.4	8.50±0.84
4	6.7	9.2	7.95±1.25

n 取组织测定号, 以下均同。

表 2 中国对虾肝、胃、肠蛋白酶的活力

Tab.2 Protease activity in henatopancreas, stomach, midgut of *P. chinensis*

组别	实验号	水解成酪氨酸 (mg)	淀粉酶活力(μg/min)		
			活力	比活力	平均
1	n_1	0.130	8.67	0.932	0.95±0.018
	n_2	0.135	9.00	0.968	
2	n_1	0.125	8.33	0.969	0.892±0.078
	n_2	0.105	7.00	0.814	
3	n_1	0.045	3.00	0.381	0.402±0.051
	n_2	0.058	3.87	0.453	
4	n_1	0.035	2.33	0.293	0.222±0.071
	n_2	0.018	1.20	0.151	

表 3 中国对虾肝、胃、肠淀粉酶的活力比较

Tab.3 Amylase activity in henatopancreas, stomach, midgut of *P. chinensis*

组别	实验号	水解成葡萄糖 (μg)	淀粉酶活力(μg/min)		
			活力	比活力	平均
1	n_1	112	22.4	2.409	2.66±0.258
	n_2	136	27.2	2.925	
2	n_1	144	28.8	3.349	3.349±0
	n_2	144	28.8	3.349	
3	n_1	140	28.0	3.275	3.263±0.012
	n_2	139	27.8	3.251	
4	n_1	151	30.2	3.799	3.711±0.088
	n_2	144	28.8	3.623	

值为 5.4177, 它小于 $t_{0.05}^{(2)}=4.303$, 即 4 组的 $P<0.05$ 。因此 4 组的淀粉酶比活力高于 2,3 两组。该结果说明, 中国对虾饵料中加进 10% 的甜菜渣进行投喂, 可使中国对虾消化器官的淀粉的比活力增加, 而添加 10% 用黑曲霉和康氏木霉处理的甜菜渣, 促进淀粉酶的活力升高的幅度更大。

2.4 纤维素酶活力比较

表 4 中国对虾肝、胃、肠纤维素酶的活力

Tab.4 Cellulase activity in henatopancreas, stomach, midgut of *P. chinensis*

组别	实验号	水解成葡萄糖 (μg)	纤维素酶活力		
			活力	比活力	平均
1	n_1	7.5	1.5	0.1613	0.2043±0.0430
	n_2	11.5	2.3	0.2473	
2	n_1	4.0	0.8	0.0930	0.1106±0.0175
	n_2	5.5	1.1	0.1279	
3	n_1	9.0	1.8	0.02105	0.2281±0.0176
	n_2	10.5	2.1	0.02456	
4	n_1	14.5	2.9	0.3648	0.4151±0.0503
	n_2	18.5	3.7	0.4654	

采用添加 10% 的甜菜渣、10% 被鱼王精处理的甜菜渣或 10% 被康氏木霉和黑曲霉(各占 50%)处理的甜菜渣配制的饵料喂中国对虾 20d 后, 取消化器官匀浆上清液, 测定纤维素酶的活力结果见表 4。经 t 检验, 2, 3 两组的 t 值分别为 2.8628, 0.7256, 它们均小于 $t_{0.10}^{(2)}=2.920$, 即它们的 $P>0.10$, 所以它们均无明显差异。4 组的 t 值为 3.585, 大于 $t_{0.10}^{(2)}=2.920$, 即 $P<0.10$, 所以 4 组的纤维素酶活力与对照组相比, 有明显的升高。其原因可能有两种, 一是黑曲霉和康氏木霉对中国对虾消化器官的纤维素酶有激活作用, 另一种是经黑曲霉和康氏木霉发酵的霉液中本身也含有一定的纤维素酶所致。

3 结语

在中国对虾饵料中添加 10% 的甜菜渣, 或添加 10% 经不同方法处理的甜菜渣, 没有影响消化器官本身酶抽提液的蛋白含量, 但对消化器官中的蛋白酶、淀粉酶、纤维素酶

活力影响, 由添加物的处理方法不同而异, 如添加 10% 经鱼王精或黑曲霉和康氏木霉处理的甜菜渣会使消化器官中的蛋白酶活力降低; 而添加甜菜渣, 或经不同方法处理的甜菜渣, 均会使淀粉酶活力明显升高或显著升高; 对纤维素酶, 则只有添加黑曲霉和康氏木霉处理的甜菜渣时, 才会明显升高。上述结果表明, 中国对虾消化器官中的蛋白酶、淀粉酶、纤维素酶活力不是恒定的, 可以随食物的成分变化而适当地变化。

参 考 文 献

- 于书坤, 1987, 海洋科学集刊, 28: 93—96。
 中山大学生物系生化微生物学教研室编, 生化技术导论, 1979, 人民出版社(北京), 53—58。
 潘家秀, 1962, 蛋白质化学研究技术, 科学出版社(北京), 12。
 Nelson, N., 1944, *J. Biol. Chem.*, 153: 375。
 Mangle, P. D. et al., 1982, *Bull. Jap. Sci. Fish.*, 48(12): 1753—1757, 1759—1764。

STUDIES ON THE EFFECTS OF BEET DREGS ON THE ACTIVITIES OF DIGESTIVE ENZYMES OF THE SHRIMP *PENAEUS CHINENSIS*

Luo Rixiang

(Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071)

Abstract Shrimps (*Penaeus chinensis*) averaging 9.02cm in body length as the experimental material were cultured in our laboratory from June to September, 1996. The protein content of hepatopancreas, stomach and midgut were measured by Biuret reaction. The protease activity was measured by Folin-Phen reaction; the amylase and cellulose activity by the Somogyi method. The shrimps were fed with dry supplemented added with 10% beet dregs or 10% various mould fermented beet dregs; and the effects of these two kinds of feed activities were studied. The results were as follows:

1. The protein content in hepatopancreas, stomach and midgut was 7.95—9.30 μg , and was not affected by the diet supplemented with 10% beet dregs or 10% beet dregs fermented by *Trichoderma koningii* and *Aspergillus niger*.

2. The protease activity in hepatopancreas, stomach and midgut was 0.892 μg / min in the shrimp fed with the diet supplemented with 10% beet dregs; and 0.222 μg / min for the shrimps fed with 10% beet dregs fermented by *T. koningii* and *A. niger*.

3. The amylase activities were increased in the shrimps fed the diet supplemented with 10% beet dregs or 10% beet dregs fermented by *T. koningii* and *A. niger*; and 3.349 μg / min, 3.711 μg / min respectively, and the control was 2.66 μg / min respectively.

4. The cellulase activity of the shrimps was increased only by the diet supplemented with 10% beet dregs fermented by *T. koningii* and *A. niger*, and was $0.451\mu\text{g} / \text{min}$. The cellulase activity of the shrimps fed with diet supplemented with 10% beet dregs was $0.1106\mu\text{g} / \text{min}$, and was $0.2043\mu\text{g} / \text{min}$ in the control.

Key words *Penaeus chinensis* Digestive organs Protease Amylase Cellulase
Beet dreg