

大菱鲆消化酶的活力

付新华^{1,2}, 孙 谡¹, 孙世春²

(1. 中国水产科学研究院 黄海水产研究所 青岛海洋酶与酶工程重点实验室, 山东 青岛 266071; 2. 中国海洋大学 水产学院, 山东 青岛 266003)

摘要:以1龄大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)为研究材料,研究养殖水温下大菱鲆消化酶的分布及不同温度和不同pH条件下胃、幽门盲囊、前肠、中肠、后肠中蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶的活性。确定饵料中主要营养成分的消化部位和主要消化酶的性质。结果表明,各部位蛋白酶活性的最适温度和pH依次为40℃,2.0;40℃,8.0;60℃,8.0;40℃,8.5;60℃,8.0。18℃养殖水温下,在适宜的pH范围内,各部位蛋白酶活力从高到低依次为幽门盲囊、胃、前肠、中肠、后肠;淀粉酶活性的最适温度和pH依次为40℃,6.5;40℃,8.0;40℃,7.5;50℃,7.0;40℃,8.0;淀粉酶活力从高到低依次为幽门盲囊、前肠、中肠、后肠、胃;脂肪酶活性的最适温度和pH依次为40℃,7.5;40℃,6.5;40℃,7.0;40℃,7.5;40℃,7.5;脂肪酶活力从高到低依次为前肠、中肠、幽门盲囊、后肠、胃。

关键词:大菱鲆;蛋白酶;淀粉酶;脂肪酶;活力

中图分类号:Q959.225 **文献标识码:**A **文章编号:**1005-8737-(2005)01-0026-07

大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)的人工养殖近几年来发展迅速,已成为重要的水产养殖对象。大菱鲆集约化养殖水平的不断提高是与其人工饲料的投喂与人工饲料配制技术的进步分不开的,而了解大菱鲆消化生理则是实现其人工饲料科学合理投喂与配制的基础^[1]。许多研究证实,pH和温度是影响鱼类消化酶活力的重要因素。国内大菱鲆的人工养殖常年水温为15~18℃,温度变化不大,故pH是影响大菱鲆体内消化酶活力的重要因素。国内外虽有较多关于鱼类消化酶的报道^[2-4],但有关消化道各部位消化酶的细化研究尚未见报道。本研究分析测定了养殖水温下1龄大菱鲆胃、幽门盲囊、前肠、中肠、后肠中蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶的分布以及各种消化酶在各消化部位的最适pH值,为大菱鲆人工养殖提供科学的饵料配方和投喂提供理论基础;同时本研究对不同pH和不同温度下各种酶活性进行分析,旨在以后研究消化酶性质以及分离提取提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

大菱鲆自中国水产科学研究院黄海水产研究所大菱鲆繁育基地采集,体重800~1000g;干酪素,化学纯,上海化学试剂站分装厂;可溶性淀粉,化学

纯,上海化学试剂采购供应站经销;3,5-二硝基水杨酸,化学纯,浙江湖州市菱湖精细化工厂生产;三丁酸甘油酯,化学纯,中国医药上海化学试剂站;其他生化试剂和化学分析试剂均为国产分析纯。

FJ-200高速分散均质机;DC-2006低温恒温槽;ZOPR-52D日本日立冷冻离心机;752紫外可见分光光度计;PYX-DHS-56X65-BS隔水式电热恒温培养箱;ORION Model818型pH计。

1.2 实验方法

1.2.1 消化酶的提取 参考王宏田等^[8]方法并进行适当的修改。将大菱鲆置冰盘脊髓处死,解剖,取出整个消化系统。将整个消化系统分为胃、幽门盲囊、前肠、中肠、后肠5部分,用精密试纸测定各部分的pH值,剔除内容物及肠系膜,用去离子水冲洗干净放超低温冰箱(-86℃)贮存备用。从冰箱中取出待测样品,于4℃解冻,用剪刀剪成小块。按样品重的10倍加入预冷去离子水,在高速组织匀浆机中冰浴匀浆,匀浆液以10000r/min的速率离心30min,收集上清液,置于4℃冰箱中保存,进行酶活力检测,12h内分析完毕。

1.2.2 pH与温度的设置 测养殖水温下的酶活力分布时反应温度为18℃。测各种酶的最适pH值、最适温度,pH6.0~7.5时采用磷酸盐缓冲液

收稿日期:2003-10-15; 修订日期:2004-05-26.

基金项目:青岛市科技计划项目(02-1-KJ-YJ.50).

作者简介:付新华(1976-),女,硕士研究生,从事水生动物生物化学方面研究.

通讯作者:孙 谡. E-mail:sunmi@ysfri.ac.cn

系, pH 8.0~8.5 时采用 Tris-盐酸缓冲体系, pH 9.0~9.5 时采用甘氨酸-氢氧化钠缓冲体系, pH 1.0~3.0 时采用柠檬酸-盐酸缓冲体系, pH 梯幅为 0.5。胃蛋白酶设 pH 1.0~3.0, 5 个梯度; 幽门盲囊、前肠、中肠、后肠蛋白酶设 pH 6.5~9.0, 6 个梯度; 胃淀粉酶设 pH 5.5~7.5, 5 个梯度; 幽门盲囊淀粉酶设 pH 7.0~9.0, 5 个梯度; 前肠淀粉酶设 pH 6.5~8.5, 5 个梯度; 中肠淀粉酶设 pH 6.5~8.5, 5 个梯度; 后肠淀粉酶设 pH 7.0~9.0, 5 个梯度。各部分脂肪酶都设 pH 6.0~9.5, 8 个梯度。实验温度为 10~70 ℃ 恒温, 梯幅为 10, 7 个温度梯度。

1.2.3 蛋白酶活力的测定 参考国标 QB/T1803—93。准确称取干酪素, 用少许浓 NaOH 或乳酸溶液润湿, 溶于一定的缓冲液, 调 pH, 定容, 配成 10 g/L 的酪素溶液。将 1 mL 酪素溶液与 1 mL 粗酶提取液混合, 在一定恒温水浴中反应 10 min, 用 0.4 mol/L 三氯乙酸 2 mL 终止反应, 对照为先加三氯乙酸终止反应再加酪素。过滤, 取 1 mL 反应液于 0.4 mol/L Na_2CO_3 5 mL 混合, 再加 1 mL 福林试剂, 混匀, 40 ℃ 显色 20 min, 于 680 nm 处检测吸光值。蛋白酶活力以 1 g 鲜活组织中所含酶每分钟水解酪素产生 1 μg 酪氨酸为 1 个酶活力单位, 以 U/g 表示。

1.2.4 淀粉酶活力的测定 参考 Shinichi Yamane^[9] 所用方法并进行适当的修改, 以一定的缓冲液配 2% 可溶性淀粉溶液。取 2% 可溶性淀粉溶液 0.5 mL, 加入 0.5 mL 粗酶提取液, 在一定恒温水浴中反应 15 min, 用 2 mol/L NaOH 1 mL 终止反应, 对照为先加 NaOH 终止反应再加可溶性淀粉溶液, 然后加入 DNS 试剂 1 mL, 煮沸 5 min, 迅速冷却, 稀释至 25 mL, 于 520 nm 处检测吸光值。淀粉酶活力以 1 g 鲜活组织中所含酶每 15 分钟水解淀粉产生

1 mg 麦芽糖为一个酶活力单位, 以 U/g 表示。

1.2.5 脂肪酶活力的测定 参考 NFIA 分析方法概要^[14], 并进行适当的修改, 以一定的缓冲液配制含琼脂 2% 的培养基, 于 121 ℃ 下高压灭菌 30 min, 再加 2% 的三丁酸甘油酯乳化, 倒平板, 使其凝固。打孔(打孔器直径 0.6 cm), 每孔加样 20 μL 。在恒温培养箱中培养 60 h 后测量水解圈直径。水解圈直径的大小表示酶活力的大小, 以 U/g 表示。

2 结果

2.1 蛋白酶

在 18 ℃ 的养殖水温下, 大菱鲆消化道蛋白酶活力随 pH 的变化情况(图 1)表明, 胃在酸度较高条件下(pH 2.0 左右)有较高的蛋白酶活力; 幽门盲囊、前肠、中肠、后肠, 在碱性条件下(pH 8.5 左右)有较高的蛋白酶活力。各部分在适宜的 pH 范围内, 蛋白酶活力从高到低依次为幽门盲囊、胃、前肠、中肠、后肠。这表明了大菱鲆消化蛋白质主要在胃和幽门盲囊, 其次是前肠、中肠、后肠几乎不参加蛋白质的消化。

胃蛋白酶在 30~50 ℃, pH 1.0~2.5 时有较高的活力, 活力最高点在 40 ℃, pH 2.0(图 2)。幽门盲囊蛋白酶在 10~60 ℃, pH 7.0~9.5 时有较高的活力, 活力最高点在 40 ℃, pH 8.0(图 3)。前肠蛋白酶在 30~60 ℃, pH 7.0~9.0 时有较高的活力, 活力最高点在 60 ℃, pH 8.0(图 4)。中肠蛋白酶活力在 30~60 ℃, pH 7.5~9.0 时有较高的活力, 活力最高点在 40 ℃, pH 8.5(图 5)。后肠蛋白酶在 50~60 ℃, pH 7.5~8.5 有较高的活力, 活力最高点在 60 ℃, pH 8.0(图 6)。在最适 pH 值和最适温度下, 各部分蛋白酶活力从高到低依次为幽门盲囊、胃、前肠、中肠、后肠。这与在养殖水温下蛋白酶的分布相一致。

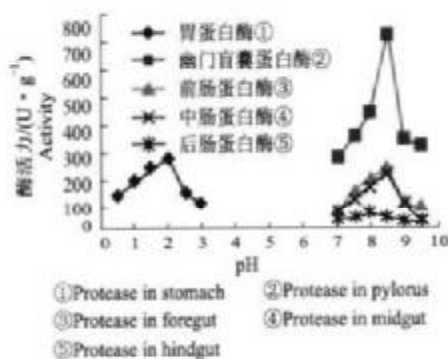


图1 pH对各部位蛋白酶活力的影响(18 ℃)

Fig.1 Effects of pH on activities of protease(18 ℃)

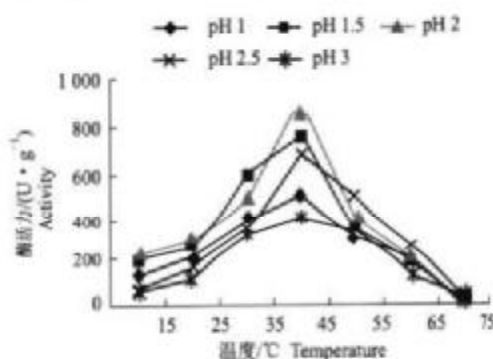


图2 pH、温度对胃蛋白酶活力的影响

Fig.2 Effects of pH and temperature on activities of protease in stomach

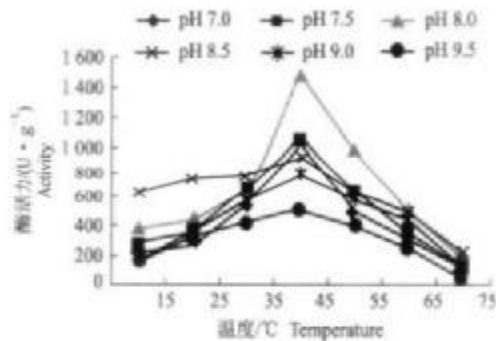


图3 pH、温度对幽门盲囊蛋白酶活力的影响

Fig.3 Effects of pH and temperature on activities of protease of pylorus

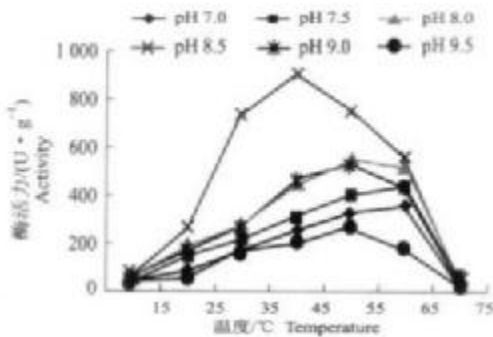


图5 pH、温度对中肠蛋白酶活力的影响

Fig.5 Effects of pH and temperature on activities of protease of midgut

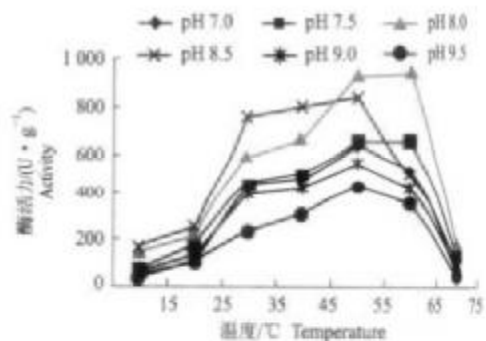


图4 pH、温度对前肠蛋白酶活力的影响

Fig.4 Effects of pH and temperature on activities of protease in foregut

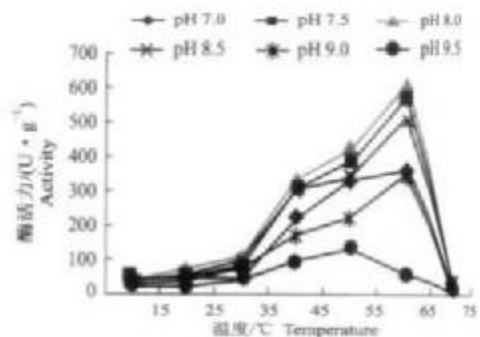


图6 pH、温度对后肠蛋白酶活力的影响

Fig.6 Effects of pH and temperature on activities of protease of hindgut

2.2 淀粉酶

在18℃的养殖水温下,大菱鲆消化道淀粉酶活力的变化情况(图7)表明,胃在中性条件下(pH 7.0左右)有较高的淀粉酶活力,幽门盲囊、前肠、中肠、后肠在碱性条件下(pH 8.0左右)有较高的淀粉酶活力。各部分在适宜的pH范围内淀粉酶活力从高到低依次为幽门盲囊、前肠、中肠、后肠、胃。这表明大菱鲆消化淀粉主要在幽门盲囊和前肠部,其次是中肠、后肠,胃几乎不参加淀粉的消化。

胃淀粉酶活力很低,活力最高点在40℃、pH 6.5(图8)。幽门盲囊淀粉酶在20~60℃、pH 7.0~9.0时有较高的活力,活力最高点在40℃、pH 8.0(图9)。前肠淀粉酶在10~60℃、pH 6.5~8.5时有较高的活力,活力最高点在40℃、pH 7.5(图10)。中肠淀粉酶在40~60℃、pH 6.0~8.0时有较高的活力,活力最高点在50℃、pH 7.0(图11)。后肠淀粉酶活力很低,活力最高点在40℃、pH 8.0

(图12)。在最适pH值和最适温度下,各部分淀粉酶活力从高到低依次为幽门盲囊、前肠、中肠、后肠、胃。这与在养殖水温下淀粉酶的分布相一致。

2.3 脂肪酶

在18℃的养殖水温下,大菱鲆消化道脂肪酶活力的变化情况(图13)表明,胃、幽门盲囊、前肠、中肠、后肠,在弱碱性条件下pH 7.5左右有较高的脂肪酶活力。各部分在适宜的pH值范围内脂肪酶活力从高到低依次为前肠、中肠、幽门盲囊、后肠、胃。大菱鲆消化脂肪主要在幽门盲囊、前肠和中肠部,胃几乎不参加脂肪的消化。

胃脂肪酶在30~40℃、pH 7.0~9.0时有较高的活性,活性最高点在40℃、pH 7.5(图14)。幽门盲囊脂肪酶在10~60℃、pH 6.0~9.0有较高的活力,活力最高点在40℃、pH 6.5(图15)。前肠脂肪酶在10~60℃、pH 6.0~9.5时有较高的活力,活力最高点在40℃、pH 7.0(图16)。中肠脂肪酶在10~

60℃, pH 6.0~9.5 时有较高的活性, 活力最高点在 40℃, pH 7.5 (图 17)。后肠脂肪酶在 10~60℃, pH 6.0~9.5 时有较高的活力, 活力最高点在 40℃, pH

7.5 (图 18)。在最适 pH 值和最适温度下, 各部分脂肪酶活力从高到低依次为前肠、中肠、幽门盲囊、后肠、胃。这与在养殖水温下脂肪酶的分布相一致。

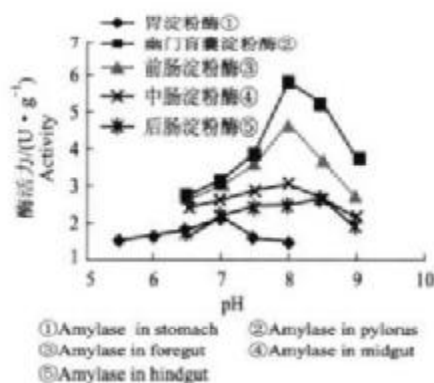


图7 pH对各部位淀粉酶活力的影响(18℃)
Fig.7 Effects of pH on activities of amylase(18℃)

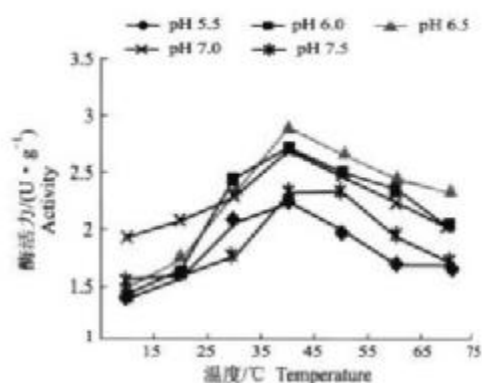


图8 pH、温度对胃淀粉酶活力的影响
Fig.8 Effects of pH and temperature on activities of amylase in stomach

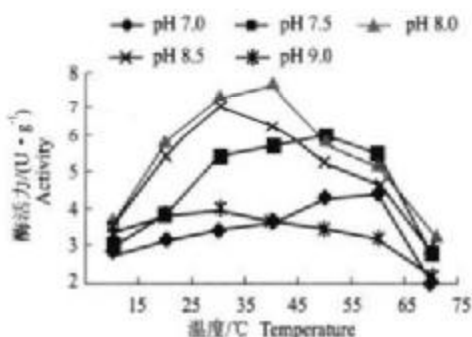


图9 pH、温度对幽门盲囊淀粉酶活力的影响
Fig.9 Effects of pH and temperature on activities of amylase in pylorus

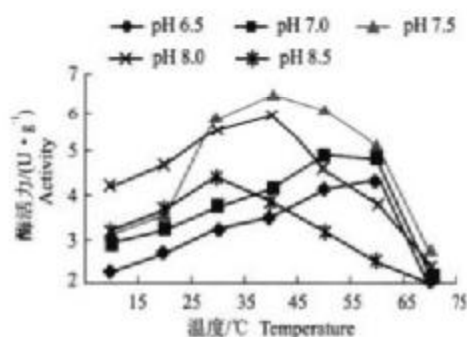


图10 pH、温度对前肠淀粉酶活力的影响
Fig.10 Effects of pH and temperature on activities of amylase in foregut

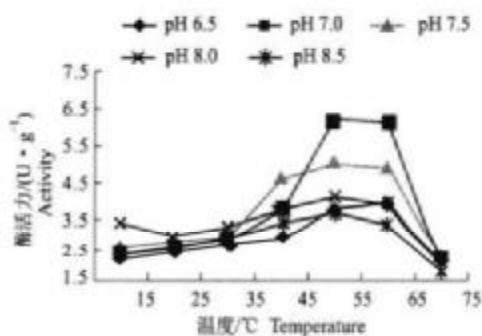


图11 pH、温度对中肠淀粉酶活力的影响
Fig.11 Effects of pH and temperature on activities of amylase in midgut

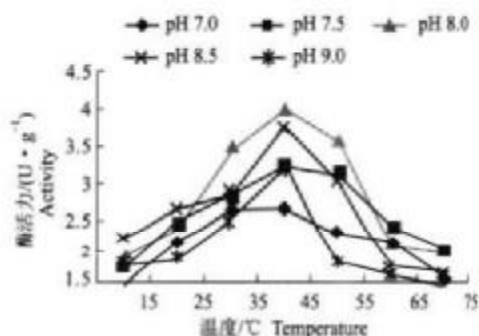


图12 pH、温度对后肠淀粉酶活力的影响
Fig.12 Effects of pH and temperature on activities of amylase in hindgut

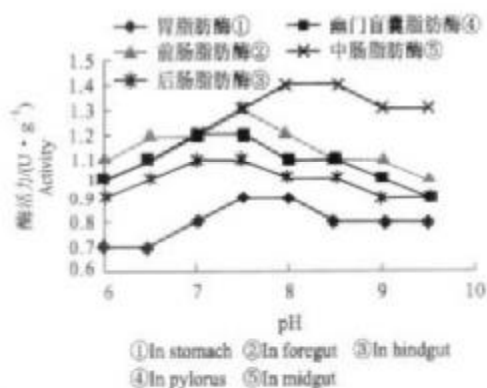


图13 pH对各部位脂肪酶活力的影响(18℃)

Fig.13 Effects of pH on activities of lipase(18℃)

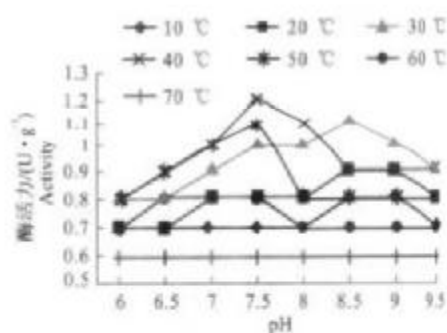


图14 pH、温度对胃脂肪酶活力的影响

Fig.14 Effects of pH and temperature on activities of lipase in stomach

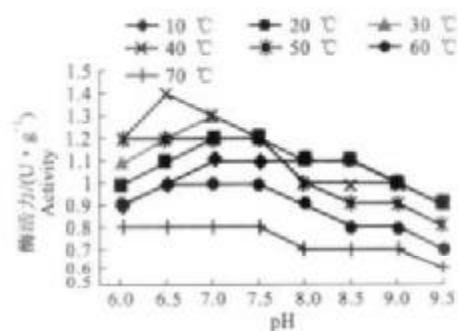


图15 pH、温度对幽门盲囊脂肪酶活力的影响

Fig.15 Effects of pH and temperature on activities of lipase in pylorus

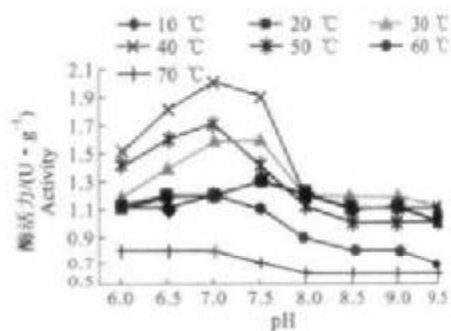


图16 pH、温度对前肠脂肪酶活力的影响

Fig.16 Effects of pH and temperature on activities of lipase in foregut

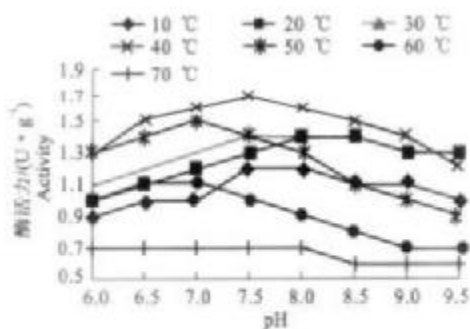


图17 pH、温度对中肠脂肪酶活力的影响

Fig.17 Effects of pH and temperature on activities of lipase in midgut

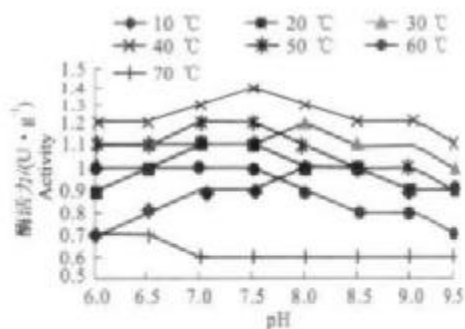


图18 pH、温度对后肠脂肪酶活力的影响

Fig.18 Effects of pH and temperature on activities of lipase in hindgut

3 讨论

3.1 消化酶活力与消化器官

大菱鲆的胃和前肠相当发达,幽门盲囊、中肠和

后肠相对不很发达。实验表明,胃蛋白酶活力很高,淀粉酶和脂肪酶活力最弱。胃是消化蛋白质的主要器官,但其消化淀粉和脂肪的能力很弱。幽门盲囊蛋白酶和淀粉酶活力在消化器官中最高,脂肪酶活

力很低,幽门盲囊主要分泌蛋白酶和淀粉酶至前肠,分泌脂肪酶的能力很弱。肠脂肪酶活力最高,脂肪和淀粉主要靠肠来消化。大菱鲆的前肠、中肠、后肠分化明显,其消化能力由前向后逐渐递减。

3.2 pH、温度与消化酶活力

鱼类的幽门盲囊和肠道内在中性和弱碱性条件下存在一定量的蛋白酶活力;而胃内的蛋白酶只有在强酸条件下(pH 2~3)才能分解蛋白质^[4-5]。这与本实验结果相一致。Munilla-M 等^[6]曾报道,大菱鲆幼鱼淀粉酶在中性条件下有最高活力,最适温度为 35~45℃,这与本实验结果不完全一致,这可能与鱼龄有关。大菱鲆不同鱼龄消化酶性质的异同还需做进一步的研究。大菱鲆在中性和弱碱性条件下存在一定量的脂肪酶活力,这与 Koven 等^[7]的报道相一致。鱼类消化道内的 pH 值受摄食的影响很大,空腹时的 pH 值高于饱腹时的 pH 值;并且随着食物的消化,消化道内的 pH 值变化很大^[11]。在多数情况下,鱼的消化道内的 pH 值条件能够极大地满足其不同种消化酶活力的表现。

由于酶本身的蛋白质属性,温度对消化酶的影响最为直接和明显。大菱鲆的生长极限水温为 0~30℃,生长水温一般为 14~20℃^[1]。本研究结果表明,消化酶活力的最适温度与大菱鲆所栖息的水环境温度相比较,均远远高于生存的水环境温度,这充分说明了水环境温度难以达到大菱鲆消化酶活力的最适温度,这与目前了解的其他鱼类消化酶活力均高于所处环境温度^[2]的普遍现象是一致的,其原因还有待进一步研究和探讨。最适温度的测定是在实验规定的反应条件下进行的,实际上生物体内酶起作用的时间会长得多,所以最适温度只是在一定条件下才有意义,但也在一定程度上反映消化酶的耐热性,这为内源酶和外源酶的应用研究及生产提供了适宜的条件。

3.3 消化酶活力与食性

动物的食性总是和其本身的消化酶组成状况密切相关^[12-13]。大菱鲆为肉食性鱼类,主要以消化蛋白质为主,其蛋白酶活性较高,淀粉酶的活性较低。具体原因还需进一步深入研究。另外,由于鱼类是变温动物,并不要求饵料中有更多的非蛋白能源产生热量^[15]。

最适 pH 值和最适温度下的活化能的大小可以用来比较不同种酶活力的大小,但本实验中的消化酶浓度太低而杂蛋白太多,需做进一步的提纯才能测

定淀粉酶和脂肪酶的活化能。大菱鲆对淀粉的消化很低,这在一定程度上降低了对蛋白质消化的竞争,另外单糖还阻止氨基酸的运输和酶活力的降低^[5]。有报道将淀粉膨化可以提高淀粉的消化率^[13]。大菱鲆脂肪酶活力较低,与报道的肉食性鱼类的脂肪酶活力较高不一致^[5],这与大菱鲆的食物构成有关,大菱鲆主要以鲜杂鱼为食,食物中的脂肪含量很少,此外还可能与底物有关,实验中曾以橄榄油为底物,但测不出脂肪酶活性。

本实验所作图中的曲线并不是理想的平滑线而是出现两个峰,这与材料有关,如该粗酶液中的酶是混合酶而不是纯酶。

参考文献:

- [1] 雷霖霖,门强.大菱鲆人工繁殖与养殖技术讲座[J].齐鲁渔业,2002,19(9):43-48.
- [2] 叶元土,林仕梅,罗莉,等.温度、pH 值对南方大口鲶、长吻鮠蛋白酶和淀粉酶活力的影响[J].大连水产学院学报,1998,13(2):17-23.
- [3] 桂远明,吴垠.温度对草鱼、鲤、鲢主要消化酶活性的影响[J].大连水产学院学报,1993,8(4):1-8.
- [4] Vys W, Hecht T. Assays on the digestive enzymes of sharp tooth catfish *Clarias gariepinus* (Pisces: clariidae)[J]. Aquaculture, 1987, 63:301-310.
- [5] R Munilla-M, F Saborido-R. Digestive enzymes in marine species. I. Proteinase activities in gut from redfish (*Sépioteuthis mentella*), seabream (*Sparus aurata*) and turbot (*Scophthalmus maximus*)[J]. Comp Biochem Physiol, 1996, 113B, (2): 395-402.
- [6] Munilla-M R, Saborido-R F. Digestive enzymes in marine species. II. Amylase activities in gut from redfish (*Sépioteuthis mentella*), seabream (*Sparus aurata*) and turbot (*Scophthalmus maximus*)[J]. Comp Biochem Physiol, 1996, 113B, (4): 827-834.
- [7] Koven W M, Henderson R J. Lipid digestion in turbot (*Scophthalmus maximus*): in-vivo and in-vitro studies of the lipolytic activity in various segments of the digestive tract[J]. Aquaculture, 1997, 151, 155-171.
- [8] 王宏田,张培军.牙鲆体内消化酶活性的研究[J].海洋与湖沼,2002,33(5):472-476.
- [9] Shinichi Yamane. Location of amylase activity in digestive organs of carp determined by a substrate film method[J]. Bull Japan Soc Sci Fish, 1973, 39(5):497-504.
- [10] Shinichi Yamane. Localization of amylase activity in digestive organs of mozambique mouth brooder and bluegill determined by a starch substrate film method[J]. Bull Japan Soc Sci Fish, 1973, 39(6):595-600.
- [11] 周景祥,陈勇,黄权,等.鱼类消化酶的活性及环境条件

- 的影响[J]. 华大学学报, 2001(2): 70-74.
- [12] Kenji Takai, Sadao Shimeno. The effect of feeding stimulant in diet on digestive enzymes in carp intestine[J]. Bull Japan Soc Science Fish, 1986, 52(8): 1 449-1 454.
- [13] Kawai S, Ikeda S. Effects of dietary changes on the activities of digestive enzymes in carp intestine[J]. Bull Japan Soc Science Fish, 1972, 38(3): 265-269.
- [14] Lee P G, Lawrence A L. Effects of diet and size on growth, food digestibility and digestive enzyme activities of marine shrimp *Penaeus stiferus linnaeus*[J]. J World Maricult Soc, 1986, 16: 275-287.
- [15] 李伟格译. 饲料添加剂分析. 美国全国饲料协会(NFIA)分析方法概要[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1998. 254.
- [16] 马爱军, 雷霖霖, 陈西清, 等. 大菱鲆营养需求与饲料研究进展[J]. 海洋与湖沼, 2003, 34(4): 430-439.

Activity of digestive enzymes in *Scophthalmus maximus*

FU Xin-hua^{1,2}, SUN Mi¹, SUN Shi-chun²

(1. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fisheries Science, Qingdao 266071, China; 2. Fishery College, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: The samples of tubot *Scophthalmus maximus* were sampled from the turbot breeding base of Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fisheries Science, in Penglai County. Body weight ranged from 800 g to 1 000 g. The whole digest system was divided into stomach, pylorus, foregut, midgut and hindgut. Protease activity was measured using casein as substrate, 1 mL of casein (10 mg/mL) and 1 mL of enzymatic extract were mixed and incubated for 10 min under the specific conditions of the experiment (pH, temperature). The reaction was halted by adding 2 mL of trichloroacetic acid. After mixture strained, the clear supernatant was measured in the spectrophotometer at 680 nm against blanks in which trichloroacetic acid (4% in distilled water) and enzymatic extract were mixed firstly, then casein was added in. Enzymatic extracts were diluted if required. One unit of activity was defined as the amount of enzyme in 1 g of wet tissues hydrolytic casein liberated 1 μ g of tyrosine permin.

Amylase activity was measured using soluble starch as substrate, and 0.5 mL of soluble starch (20 mg/mL) and 0.5 mL of enzymatic extract were mixed and incubated for 15 min under the specific conditions of the experiment (pH, temperature). The reaction was stopped by adding 1 mL of NaOH (2 mol/L), then 1 mL reagent of DNS was added in. After the mixture was boiled for 5 min, cooled quickly. Then 23 mL of distilled water was added in, and the clear supernatant was measured on the spectrophotometer at 520 nm against blanks in which NaOH and enzymatic extract were mixed, then soluble starch was added in. One unit of activity was defined as the amount of enzyme in 1 g of wet tissue which can produce 1 mg of maltose in 15 min by hydrolyzing soluble starch. Lipase activity was measured using glycerin tributyrat as substrate. The results showed that the optimum temperature and pH in stomach, pylorus, foregut, midgut and hindgut for the protease are 40 $^{\circ}$ C, 2.0; 40 $^{\circ}$ C, 8.0; 60 $^{\circ}$ C, 8.0; 40 $^{\circ}$ C, 8.5 and 60 $^{\circ}$ C, 8.0; and for the amylase are 40 $^{\circ}$ C, 6.5; 40 $^{\circ}$ C, 8.0; 40 $^{\circ}$ C, 7.5; 50 $^{\circ}$ C, 7.0 and 40 $^{\circ}$ C, 8.0; and for the lipase are 40 $^{\circ}$ C, 7.5; 40 $^{\circ}$ C, 6.5; 40 $^{\circ}$ C, 7.0; 40 $^{\circ}$ C, 7.5 and 40 $^{\circ}$ C, 7.5. Under aquaculture conditions (18 $^{\circ}$ C) and optimum pH, the order of protease activity from high to low is pylorus, stomach, foregut, midgut, hindgut, and that of amylase activity is pylorus, foregut, midgut, hindgut, stomach; and that of lipase activity is foregut, midgut, hindgut, pylorus, stomach.

Key words: *Scophthalmus maximus*; protease; amylase; lipase; activity

Corresponding author: SUN Mi. E-mail: sunmi@ysfri.ac.cn