

鲢、鳙蛋白酶、淀粉酶的研究

黄峰 严安生 牟松 汪小东¹

(华中农业大学淡水水产增养殖生物学农业部重点实验室, 武汉 430070)

(1 中山大学生命科学院, 广州 510275)

摘要 运用酶动力学方法研究了鲢、鳙的蛋白酶和淀粉酶的活性分布。鲢、鳙的蛋白酶活性在肝胰脏中最强, 脾脏中也较强, 而在胆汁中未测出。该酶活性在肠粘膜的第Ⅱ段最大, 第Ⅰ段向第Ⅱ段递增, 第Ⅱ段向肠后端递减, 但第Ⅴ段的该酶活性比前段要高些。鲢的淀粉酶活性分布规律与上述情况相似, 但鳙的淀粉酶活性在肠粘膜各段中由前向后呈递减趋势, 并以第Ⅰ段为最大。在相同的器官组织中, 鳙蛋白酶活性高于鲢, 但差异不显著($P>0.05$), 而淀粉酶活性则相反。这两种鱼的蛋白酶活性适宜 pH 为 8.0~8.5, 淀粉酶活性在 pH 7.5 时最适。在鲢的肠内容物中发现有纤维素酶活性, 但在肠粘膜中未检出该酶。

关键词 鲢, 鳙, 蛋白酶, 淀粉酶

鱼类消化酶不仅是鱼类消化生理的重要研究内容, 且为配合饲料的研制提供理论依据。国外在这方面的研究工作较多, 研究了鲭(*Scomber scomber*)、油鲱(*Brevoortia tyrannus*)、莫桑比克罗非鱼(*Tilapia mossambica*)、鲈鱼(*Perca fluviatilis*)、鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*)、鲤(*Cyprinus carpio*)和胡子鲇(*Clarias gariepinus*)等的消化器官组织中蛋白酶和淀粉酶活性分布^[1-4]。国内黄耀桐和刘永坚^[5]报道了草鱼的蛋白酶活性分布。消化酶的种类很多, 笔者研究了鲢和鳙(*Aristichthys nobilis*)的胰蛋白酶^[6], 本文又对这两种鱼的蛋白酶和淀粉酶等消化酶进行了研究。

1 材料与方法

1.1 材料来源及样品制备

实验用鲢、鳙均取自华中农业大学水产试验站同一鱼池, 出池后半小时内运至实验室, 使之保持正常状态。鲢体重 430~660 g, 体长 34~40 cm, 鳙体重 363~760 g, 体长 31~42 cm。

样品制备方法参照文献^[6]。

1.2 方法

1.2.1 蛋白酶活性测定 采用 Folin-酚试剂法^[7,8], 以 1% 干酪素作底物与酶反应, 于 680 nm 波长测吸光值。活性大小以 1 g 新鲜样品在 37℃、pH 8.0 的条件下, 1 min 内干酪素经酶分解所产生的酪氨酸量表示((Tyr)μg/g·min)。

1.2.2 淀粉酶活性测定^[7,9] 以 1% 可溶性淀粉作底物与酶反应, 于 540 nm 波长测吸光值。活性大小以 1 g 新鲜样品在 25℃、pH 7.5 条件下, 1 min 内使淀粉分解产生的麦芽糖的量来表示((Maltose)mg/g·min)。

1.2.3 纤维素酶活性测定^[9] 采用新华中速滤纸(1×1 cm²)与酶反应, 于 550 nm 波长光测吸光值。活性大小以 1 g 新鲜样品在 40℃、pH 4.5 的条件下, 1 min 催化分解滤纸所产生的葡萄糖量来表示((Glucose)μg/g·min)。

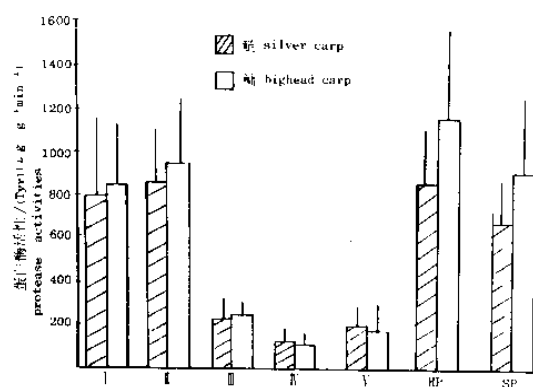
2 结果

2.1 蛋白酶活性分布

由图 1 可以看出, 鲢、鳙的蛋白酶活性在所测定的器官组织中以肝胰脏中最强, 脾脏中也较高; 而胆汁经前后 12 次检验, 均未测出该酶活性。在 5 段肠粘膜中, 第Ⅰ段和第Ⅱ段中的该酶活性较大, 第Ⅱ段中最大, 从第Ⅰ段至Ⅱ段略有上升, 自第Ⅱ段向肠后端

收稿日期: 1997-08-07

呈下降趋势,但第V段的酶活性稍高于前段。就两种鱼的相同器官组织来看,鳙的蛋白酶活性高于鲢的,但差异不显著($P>0.05$)。



I ~ V 第 I 至第 V 段肠粘膜 Intestine section I to V; HP 肝胰脏 Hepatopancreas; SP 脾脏 Spleen.

图 1 鲢、鳙各组织器官中的蛋白酶活性分布

Fig. 1 Distribution of protease activities in different organs of silver carp and bighead carp

2.2 淀粉酶活性分布规律

分布规律基本上和蛋白酶相似(图 2),但鳙的淀粉酶活性在肠粘膜由前向后呈递减趋势。在这两种鱼相同器官组织中,鳙的淀粉酶活性较高,但差异不显著($P>0.05$)。

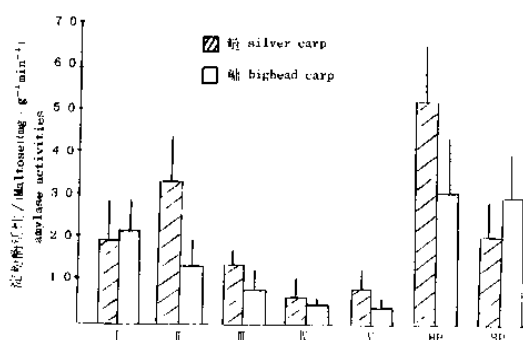


图 2 鲢、鳙各组织器官中淀粉酶活性的分布

Fig. 2 Distribution of amylase activities in different organs of silver carp and bighead carp

2.3 纤维素酶活性分布

用鲢鱼五等分肠内容物的酶粗提液,测定纤维素酶活性,结果见表 1。这种酶活性由前肠至后肠

并不呈某种递增或递减趋势。而对肠粘膜的 25 次检测,均未检测出纤维素酶活性。

表 1 纤维素酶活性在鲢肠内容物中的分布

Table 1 Distribution of cellulase activity in gut content of silver carp

分布部位 distribution	$\bar{X}$ - 葡萄糖/((Glucose) $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$)
I c	0.369 ± 0.241
II c	0.181 ± 0.166
III c	0.199 ± 0.070
IV c	0.166 ± 0.054
V c	0.207 ± 0.059

注: $n=5$

2.4 pH 对蛋白酶和淀粉酶活性的影响

在其他条件不变,仅改变缓冲液 pH 值的情况下,分别检测了 pH 对鲢和鳙的第 II 段肠粘膜中蛋白酶和淀粉酶活性的影响(图 3,图 4)。结果表明这

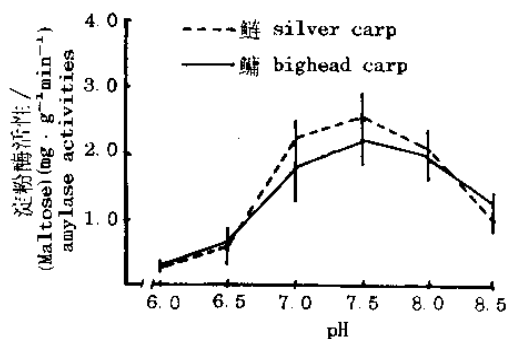


图 3 pH 对鲢、鳙蛋白酶活性的影响

Fig. 3 Effect of pH value on protease activities of silver carp and bighead carp

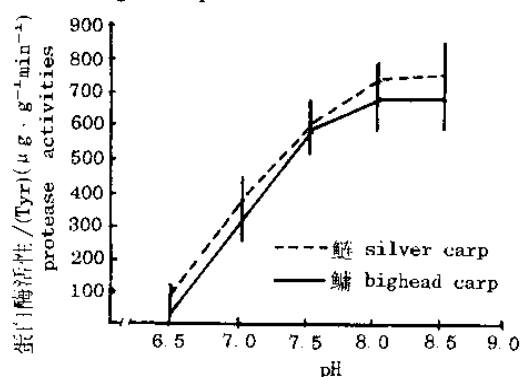


图 4 pH 对鲢、鳙淀粉酶活性的影响

Fig. 4 Effect of pH value on amylase activities of silver carp and bighead carp

两种鱼的蛋白酶活性在 pH 8.0~8.5 时最大,且较稳定,低于 7.5 时活性减弱。淀粉酶活性在 pH 7.5 时最大,低于 7.0 和高于 8.0 活性均急剧下降。

3 讨论

3.1 肝胰脏的蛋白酶和淀粉酶活性

鱼类的消化机能是与其结构相适应的。鲢、鳙的肝胰脏蛋白酶活性显著高于其他组织器官中的^[6],鲈鱼、罗非鱼^[2]、鲢、油鲈^[1]、胡子鲇^[10]的胰脏组织和真鲷(*Pagrosomus major*)^[11]、草鱼^[5]肝胰脏的蛋白酶或淀粉酶比其它组织的要高。本次实验结果说明鲢、鳙肝胰脏的蛋白酶和淀粉酶活性明显大于其它组织器官的($P > 0.05$),同时胆汁中没有测出这 2 种酶活性;另有组织学证据表明,这两种鱼胰脏虽与肝脏混在一起,但两组织间存在结缔组织使之分隔^[6],因此我们认为散布于鲢、鳙肝脏内的胰脏组织是产生蛋白酶、淀粉酶的主要器官。

3.2 脾脏、肠粘膜中的蛋白酶和淀粉酶的活性

鲢、鳙的脾脏表面和内部均有胰脏组织的分布,脾脏中的胰蛋白酶来源于其中的胰脏^[6]。本次实验测得鲢、鳙的脾脏中的蛋白酶和淀粉酶活性较强,其来源并非脾脏本身,而是分布于其中的胰脏组织。

有胃鱼和无胃鱼的肠道前部是消化食物的主要场所^[6,11]。鲢¹⁾、鲤^[3]、鲈鱼、罗非鱼^[2]和虹鳟(*Salmo gairdneri*)^[12]等鱼的肠道胰蛋白酶、蛋白酶和淀粉酶等消化酶活性由前端向后呈递减趋势,本实验结果与此相符。

3.3 纤维素酶活性

鲢是以浮游植物为主的滤食性鱼类,具有一定的消化蓝藻等一些有纤维素细胞壁藻类的能力^[13~15]。本实验其的初步研究发现鲢肠内容物中具有纤维素酶活性,结果与以上结论一致。

参 考 文 献

- 1 Chesley L C. The concentration of protease, amylase, and lipase in certain marine fishes. *Biol Bull*, 1934, 66:133~144
- 2 Fish G R. The comparative activity of some digestive enzymes in the alimentary canal of Tilapia and Perch. *Hydrobiologia*, 1960, X V(1/2):161~177
- 3 Fraisse M, Woo N Y S, Noailao - Depeyre J, et al. Distribution pattern of digestive enzyme activities in the intestine of the catfish (*Ameiurus nebulosus* L.) and of the carp (*Cyprinus carpio* L.). *Biochem Physiol*, 1981, 70A:443~446
- 4 Jones E. Proteolytic digestive enzymes of carnivorous (*Silurus glanis* L.), herbivorous (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.) and omnivorous (*Cyprinus carpio* L.) fishes. *Aquaculture*, 1983, 80:145~154
- 5 黄耀桐,刘永坚.草鱼肠道肝胰脏蛋白酶活性初步研究.水生生物学报,1988,12(4):328~332
- 6 黄 峰,严安生,汪小东.鲢、鳙胰蛋白酶的研究.水产学报,1996,20(1):68~71
- 7 中山大学生物系生化微生物学教研室.生化技术导论.北京:人民教育出版社,1978.52~88
- 8 张龙翔,张庭芳,李令媛.生化实验方法和技术.北京:人民教育出版社,1981.155~183
- 9 蒋传葵,金承德,吴仁龙,等.工具酶活力的测定.上海:上海科学技术出版社,1982.20~80
- 10 Uys W, Hecht T. Assays on the digestive enzymes of sharptooth catfish, *Clarias gariepinus* (Pisces: Clariidae). *Aquaculture*, 1987, 83:301~318
- 11 尾崎久雄.鱼类消化生理(上、下册).吴尚忠译.上海:上海科学技术出版社,1983.296~328
- 12 Molese J M, Stevens E D. The effect of acclimation temperature, assay temperature, and ration on the specific activity of trypsin and chymotrypsin from rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Comp Biochem Physiol*, 1982, 73B(3):831~834
- 13 朱 蕙.鱼类对藻类消化吸收的研究 I.白鲢对斜生栅藻的消化与吸收.水生生物学集刊,1982,7(4):547~550
- 14 朱 蕙.鱼类对藻类消化吸收的研究 II.鲢、鳙对微囊藻和裸藻的消化吸收.见:鱼类学论文集(第 3 辑).北京:科学出版社,1983.77~91
- 15 陈少莲.论鲢、鳙对微囊藻的消化利用.水生生物学报,1990,13(3):250~258

1) 张幼敏译.白鲢摄食蓝藻时消化酶的活性.淡水渔业译丛,1985,4:51~54

The protease and amylase of *Hypophthalmichthys molitrix* and *Aristichthys nobilis*

Huang Feng Yan Ansheng Mu Song Wang Xiaodong

(The Key Laboratory of Biology in Freshwater Aquaculture and Enhancement
of Ministry of Agriculture, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070)

(1 Zhongshan University, Guangzhou 510275)

Abstract The activities of protease and amylase of silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix* and bighead carp, *Aristichthys nobilis* were researched with the method of enzyme kinetics. Protease activity in hepatopancreas was higher than that in any other organs in the 2 species. The protease activity was higher in spleen, but not detected in bile. As for 5 - equal sections of the intestine, the biggest activity of protease was in section II. The activity increased from intestine section I to II, and decreased rapidly thereafter, except the activity was higher in section V than that in section IV. The activity distribution of amylase was similar to that above in silver carp, but in bighead carp, the amylase activity decreased from section I to V, with the biggest in section I. As for the same organ and tissues in both of the 2 species, protease activity in bighead carp were higher than that in silver carp, but was not significantly different between them ($P > 0.05$). The differences of amylase activity between the 2 species were contrary to those of protease activities. Protease activity of the 2 species had an optimum pH ranging from 8.0 to 8.5 and amylase at 7.5. Cellulase activity was detected in the gut content, but not in the intestinal mucosa in silver carp.

Key words *Hypophthalmichthys molitrix*, *Aristichthys nobilis*, protease, amylase