

许氏平鲉消化道中部分消化酶的研究

郑家声¹, 冯晓燕^{1,2}

(1. 青岛海洋大学 海洋生命学院, 山东 青岛 266003; 2. 军事医学科学院, 北京 100036)

摘要:对许氏平鲉(*Sebastodes schlegeli*)消化道内的5种与消化吸收有关的酶进行分布和活性测定。结果表明,(1)肠道各段均具很高碱性磷酸酶活性,最适pH为9.7。食道和胃几乎没有碱性磷酸酶活性。(2)消化道各部位均含酸性磷酸酶,肠道活性最高,自幽门盲囊起依次递降。食道和胃酸性磷酸酶活性明显低于肠,胃和肠酸性磷酸酶的最适pH均为5.3。(3)肠道中羧酸酯酶活性明显高于胃,且2者羧酸酯酶最适pH差别较大,分别为8.4和6.8。(4)胃蛋白酶活性明显高于肠道,胃蛋白酶最适pH为2.6,肠蛋白酶最适pH为9.4。(5)胃淀粉酶活性明显低于肠道,胃淀粉酶最适pH为4.6,肠道淀粉酶最适pH为7.0。这表明许氏平鲉对蛋白质的初步消化在胃中进行,在肠中进一步消化和吸收,而对糖类和脂类的消化和吸收主要在肠道进行。

关键词:许氏平鲉; 消化道; 碱性磷酸酶; 酸性磷酸酶; 羧酸酯酶; 蛋白酶; 淀粉酶

中图分类号:Q959.406

文献标识码:A

文章编号:1005-8737(2002)04-0309-06

鱼类消化道的结构与其食性相适应,消化道各部位由于承担的消化机能不同,其消化酶的种类与活性也存在明显的区别。鱼类消化酶的种类很多,国内外在这方面已经开展了许多研究工作^[1-3],但至今未见有关许氏平鲉(*Sebastodes schlegeli*)消化道消化酶方面的研究。本文对许氏平鲉消化道不同部位5种与消化吸收有关的酶类进行了活性测定,以丰富鱼类消化生理的基础知识,为许氏平鲉人工养殖中饵料的配制和优化提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

实验用鱼购自青岛海滨,健康无病害,体长(14.7±1.5)cm,体重(76.8±18.2)g,在室内水族缸中充气暂养,饥饿72 h,水温(15±1)℃。

1.2 方法

1.2.1 样品制备 击鱼头部将其处死,迅速取出整个消化道,置于冰盘内,剔除表面脂肪,按不同部位分段。将各部位剖开,用4℃去离子水将内壁冲洗

干净,并用载玻片分别刮下各部位粘膜,进行不同处理备用。

1.2.2 酶活性测定 碱性磷酸酶和酸性磷酸酶活性测定参照Linhardt等^[4]的对硝基酚磷酸二钠法,酶活性单位表示为μmol(对硝基苯酚)/(min·mg蛋白);羧酸酯酶活性测定参照Hirose等^[5]的方法进行,酶活性单位表示为μmol(α-萘酚)/(min·mg蛋白);蛋白酶活性测定采用福林-酚法^[6],酶活性单位为μg(酪氨酸)/(min·g蛋白);淀粉酶活性测定采用蒋传葵等^[6]的方法,酶活性单位为mg(麦芽糖)/(min·g蛋白)。

1.2.3 蛋白质含量测定 采用Lowry等^[7]的方法进行测定。

1.3 统计处理

所有数据均为6个数值的平均值,表示为平均值±标准差。计算机上用SPSS 9.0进行单因素方差分析,并进行多重比较,显著水平设为P<0.05。

2 结果

2.1 碱性磷酸酶

许氏平鲉食道和胃几乎没有碱性磷酸酶,而肠道各段均具有很高的碱性磷酸酶活性,且由前到后呈依次下降的趋势。直肠碱性磷酸酶活性仅为幽门

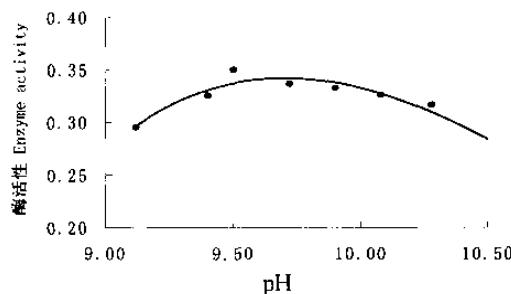
收稿日期:2001-07-13.

基金项目:国家攀登计划B项目资助(PDB6-1-1).

作者简介:郑家声(1941-),男,教授,从事发育生物学研究.

Tel: (0532) 2031647, E-mail:jszheng@mail.ouqd.edu.cn

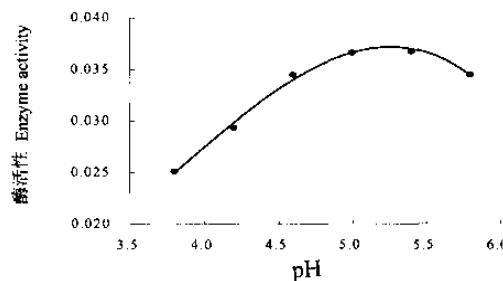
盲囊的 45.6% (表 1)。肠碱性磷酸酶的最适 pH 为 9.7, 最适范围(酶活性保存 70% 以上)为 8.9 到 10.7(图 1)。



酶活单位为 $\mu\text{mol}(\text{对硝基苯酚})/(\text{min}\cdot\text{mg})$
Unit of enzyme activity is $\mu\text{mol}(\text{para-nitrophenol})/(\text{min}\cdot\text{mg})$

图 1 pH 对肠碱性磷酸酶的影响

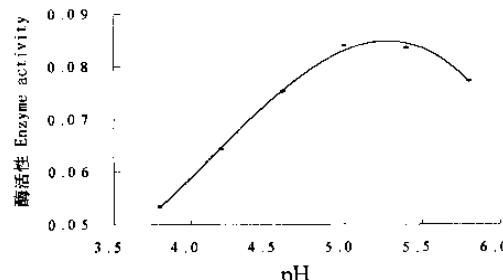
Fig. 1 Effect of pH on alkaline phosphatase in intestine of *S. schlegeli*



酶活单位为 $\mu\text{mol}(\text{对硝基苯酚})/(\text{min}\cdot\text{mg})$
Unit of enzyme activity is $\mu\text{mol}(\text{para-nitrophenol})/(\text{min}\cdot\text{mg})$

图 2 pH 对胃酸性磷酸酶的影响

Fig. 2 Effect of pH on acid phosphatase in stomach of *S. schlegeli*



酶活单位为 $\mu\text{mol}(\text{对硝基苯酚})/(\text{min}\cdot\text{mg})$
Unit of enzyme activity is $\mu\text{mol}(\text{para-nitrophenol})/(\text{min}\cdot\text{mg})$

图 3 pH 对肠酸性磷酸酶的影响

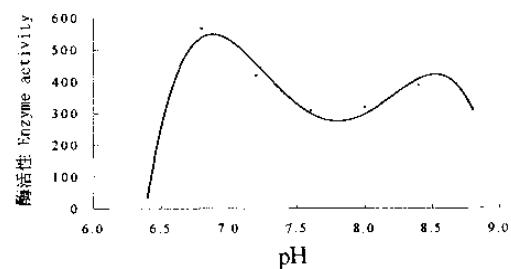
Fig. 3 Effect of pH on acid phosphatase in intestine of *S. schlegeli*

2.2 酸性磷酸酶

消化道各部位均含有酸性磷酸酶。食道有少量酶活性。胃部的酸性磷酸酶以胃盲囊的活性最高, 为 $0.024 \mu\text{mol}(\text{对硝基苯酚})/(\text{min}\cdot\text{mg}$ 蛋白)。肠道酸性磷酸酶的活性由前到后依次下降, 直肠酶活性最低, 仅为幽门盲囊的 25.0%, 为前肠的 30.7% (表 1)。胃和肠酸性磷酸酶最适 pH 曲线相同, 最适 pH 均为 5.3, 最适范围为 4.0 到 6.2(图 2, 3)。

2.3 羧酸酯酶

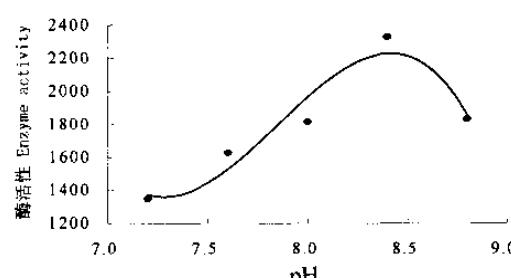
肠道中酶的活性明显高于胃($P < 0.05$), 其中中肠活性最高, 为 $1688.05 \mu\text{mol}(\alpha\text{-萘酚})/(\text{min}\cdot\text{mg}$ 蛋白)(表 1)。胃羧酸酯酶在 pH 6.0~10.0 时具有 2 个明显的峰, 而肠中该酶只有 1 个峰, 其最适 pH 差别较大, 分别为 6.8 和 8.4, 最适范围分别为 6.6 到 7.3 和 7.7 到 8.9(图 4, 5), 说明它们为 2 种不同性质的酶分子。食道到胃幽门之间羧酸酯酶活性无显著差异($P > 0.05$)。



酶活单位为 $\mu\text{mol}(\alpha\text{-萘酚})/(\text{min}\cdot\text{mg})$
Unit of enzyme activity is $\mu\text{mol}(\alpha\text{-Naphthol})/(\text{min}\cdot\text{mg})$

图 4 pH 对胃羧酸酯酶的影响

Fig. 4 Effect of pH on carboxylic esterase in stomach of *S. schlegeli*



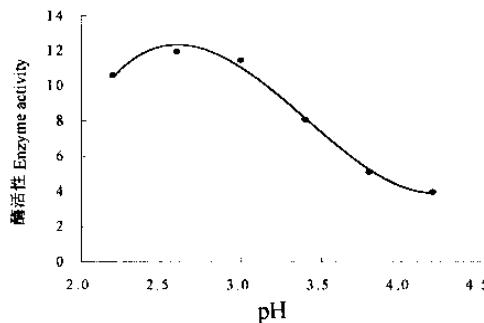
酶活单位为 $\mu\text{mol}(\alpha\text{-萘酚})/(\text{min}\cdot\text{mg})$
Unit of enzyme activity is $\mu\text{mol}(\alpha\text{-Naphthol})/(\text{min}\cdot\text{mg})$

图 5 pH 对肠羧酸酯酶的影响

Fig. 5 Effect of pH on carboxylic esterase in intestine of *S. schlegeli*

2.4 蛋白酶

胃的蛋白酶活性明显高于肠($P < 0.05$)。胃贲门和胃盲囊部蛋白酶活性无明显差别($P > 0.05$), 分别为 11.10 和 $10.29 \mu\text{g}(\text{酪氨酸})/(\text{min}\cdot\text{g} \text{蛋白})$, 而胃幽门部则明显较低。肠道蛋白酶活性以中肠和直肠最高, 分别为 5.159 和 $7.366 \mu\text{g}(\text{酪氨酸})/(\text{min}\cdot\text{g} \text{蛋白})$, 后肠次之, 前肠最低(表1)。胃蛋白酶最适pH为 2.6 , 最适范围为 2.2 到 3.4 (图6), 肠蛋白酶的最适pH为 9.4 , 最适范围为 9.2 到 9.6 (图7)。



酶活性单位为 $\mu\text{g}(\text{酪氨酸})/(\text{min}\cdot\text{g})$

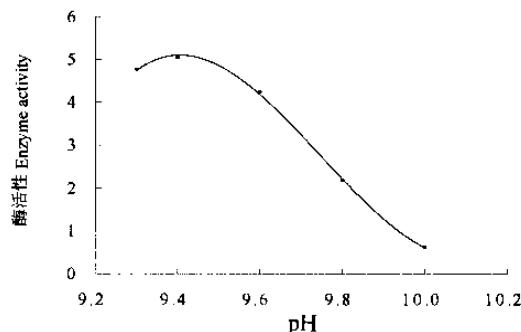
Unit of enzyme activity is $\mu\text{g}(\text{Try})/(\text{min}\cdot\text{g})$

图6 pH对胃蛋白酶的影响

Fig.6 Effect of pH on pepsin in stomach of *S. schlegeli*

2.5 淀粉酶

胃淀粉酶活性明显低于肠($P < 0.05$), 在肠道中以幽门盲囊活性最高为 $6.21 \text{ mg}(\text{麦芽糖})/(\text{min}\cdot\text{g} \text{蛋白})$, 前肠和中肠酶活性稍低, 后肠最低, 直肠的淀粉酶活性又略有升高(表1)。胃淀粉酶最适pH为 4.6 , 最适范围为 4.2 到 5.2 (图8)。此外胃淀粉酶在pH接近 7.0 处还有一个较小的峰。肠道淀粉酶的最适pH为 7.0 , 最适范围为 6.5 到 7.3 (图9)。



酶活性单位为 $\mu\text{g}(\text{酪氨酸})/(\text{min}\cdot\text{g})$

Unit of enzyme activity is $\mu\text{g}(\text{Try})/(\text{min}\cdot\text{g})$

图7 pH对肠蛋白酶的影响

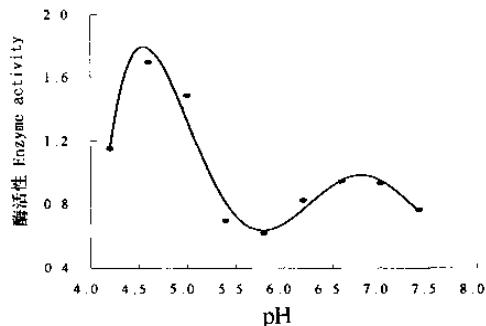
Fig.7 Effect of pH on proteinase in intestine of *S. schlegeli*

表1 许氏平鲉消化道各部位酶活性

Table 1 Activities of digestive enzymes in different part of digestive tract of *S. schlegeli*

部位 Section	碱性磷酸酶 Alkaline phosphatase	酸性磷酸酶 Acid phosphatase	羧酸酯酶 Carboxylic esterase	蛋白酶 Proteinase	淀粉酶 Amylase
食道 Oesophagus	0.0060 ± 0.0018^a	0.0140 ± 0.0014^a	152.72 ± 88.92^a	5.42 ± 2.98^a	1.06 ± 0.43^a
胃贲门 Cardiac part	0.0031 ± 0.0004^a	0.0192 ± 0.0018^a	142.12 ± 22.87^a	11.10 ± 2.15^b	1.89 ± 0.97^a
胃盲囊 Caecum gastricus	0.0039 ± 0.0006^a	0.0246 ± 0.0026^a	127.77 ± 12.88^a	10.29 ± 1.63^b	1.70 ± 0.82^a
胃幽门 Pyloric part	0.0068 ± 0.0031^a	0.0102 ± 0.0028^a	322.59 ± 114.05^a	1.52 ± 1.11^{ad}	1.04 ± 0.32^a
幽门盲囊 Pyloric caecum	0.4587 ± 0.0866^b	0.0819 ± 0.0049^b	1401.93 ± 194.08^b	3.38 ± 1.71^{dc}	6.21 ± 2.08^c
前肠 Pre-intestine	0.4366 ± 0.1419^{bc}	0.0667 ± 0.0158^c	1294.01 ± 387.35^b	0.94 ± 0.39^c	5.96 ± 3.27^c
中肠 Mid-intestine	0.3613 ± 0.1092^c	0.0520 ± 0.0091^{dc}	1688.05 ± 618.17^b	5.16 ± 3.03^{ac}	5.05 ± 1.94^{bc}
后肠 Hind-intestine	0.2295 ± 0.0637^d	0.0393 ± 0.0081^e	1558.50 ± 622.90^b	1.43 ± 0.83^{ad}	2.33 ± 2.04^a
直肠 Rectum	0.2093 ± 0.1063^d	0.0205 ± 0.0047^a	466.20 ± 206.22^a	7.37 ± 2.33^f	3.14 ± 2.47^{ab}

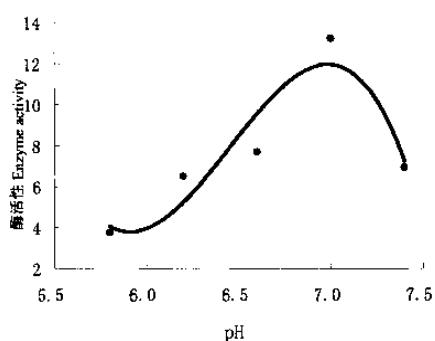
注: 不同字母上标表示差异显著($P < 0.05$)。Different superscripts show significant difference ($P < 0.05$).



酶活单位为 mg(麦芽糖)/(min·g)
Unit of enzyme activity is mg(Maltose)/(min·g)

图 8 pH 对胃淀粉酶的影响

Fig.8 Effect of pH on amylase in stomach of *S. schlegeli*



酶活单位为 mg(麦芽糖)/(min·g)
Unit of enzyme activity is mg (Maltose)/(min·g)

图 9 pH 对肠淀粉酶的影响

Fig.9 Effect of pH on amylase in intestine of *S. schlegeli*

3 讨论

碱性磷酸酶活性和脂类、葡萄糖、钙和无机磷的吸收存在正相关关系^[8-9]，许氏平鲉食道与胃各部位碱性磷酸酶活性极低且无显著差异，碱性磷酸酶也不可能在胃内强酸性环境中发挥作用。所以食道和胃的吸收作用很微弱。

许氏平鲉肠道中的碱性磷酸酶活性很高，其中以幽门盲囊最高，这表明许氏平鲉的肠道尤其是前段具有重要的吸收作用。直肠仍具有较强的碱性磷酸酶活性，可见直肠的吸收功能亦不可忽视。

许氏平鲉消化道各部位均可检测到酸性磷酸酶活性。胃和肠酸性磷酸酶的最适 pH 均为 5.3，且最适 pH 范围也相似，为 4.0 到 6.2。但在最适 pH 时，肠的酸性磷酸酶活性几乎是胃的 1 倍，如果是同

一种酶，所造成酶活性差别的原因是胃的酸性环境对酶的活性有抑制作用。是否胃和肠的酸性磷酸酶为同一种酶，需进一步研究证实。在肠道中酸性磷酸酶活性由前至后逐渐减弱，表明小肠粘膜吸收细胞的细胞内消化能力由前向后逐渐减弱。

羧酸酯酶活性的强弱可以间接反映对脂类物质的消化和吸收状况^[8,10]。在许氏平鲉消化道中，食道、胃的羧酸酯酶活性明显低于幽门盲囊和肠的各段。而肠道中该酶活性以中肠为最高，后肠次之，幽门盲囊和前肠最低，但彼此之间无显著性差异。以上结果表明肠道是脂类的主要消化和吸收场所。

许氏平鲉食道中可检测到胃蛋白酶活性，表明许氏平鲉对蛋白质的消化起始于食道。Sabapathy 和 Teo^[11]也曾在 *Siganus canaliculatus* 食道中发现了胃蛋白酶活性。

胃贲门和胃盲囊的胃蛋白酶活性明显高于其他部位的蛋白酶，这与肉食性鱼类乌鳢和鳗鲡一致^[12-13]。表明对于有胃肉食性鱼类而言，胃是蛋白质初步水解消化和形成食糜的主要场所，谭北平^[14]对几种肉食性鱼的研究结果也证明了此观点。胃幽门部蛋白酶活性很低，可从组织学方面得到解释，许氏平鲉胃幽门部无胃腺，不能合成胃蛋白酶原^[15]。Einarsson 和 Davies^[16]用免疫定位方法同样发现大西洋鲑胃蛋白酶原仅存在于胃贲门部和胃盲囊部的胃腺细胞，胃幽门部无胃蛋白酶原。

肠道蛋白酶活性以中肠最高，表明中肠是蛋白质进一步消化和吸收的主要场所。许氏平鲉直肠蛋白酶活性也很高，是由于直肠运动变慢蛋白酶富集回收的原因还是其他原因，有待于进一步研究。许氏平鲉肠蛋白酶最适 pH 偏高，为 9.4，这与平鲉属的尖吻平鲉^[17]及其他肉食性的冷水性鱼类如虹鳟^[18]相似。

与哺乳动物一样，鱼类淀粉酶在胰脏中产生，需要时分泌到肠腔，主要吸附在幽门盲囊和小肠的表面^[19-21]。许氏平鲉整个消化道的淀粉酶活性无显著差异。但肠道的淀粉酶活性均高于胃，再加上胃内酸性环境很难使淀粉酶发挥作用，所以肠是碳水化合物的主要消化器官。肠道的淀粉酶活性由前到后逐渐减弱，表明对碳水化合物的消化主要在前肠和中肠进行。直肠淀粉酶略高于后肠，可能是因为直肠粘膜对酶的吸附作用较强而致^[22]。无论是胃还是肠道，许氏平鲉淀粉酶活性均明显低于草食性和杂食性鱼，可见，对于肉食性海洋鱼类而言，对食

物中碳水化合物的消化并不是很重要的。也有学者认为淀粉酶不适用于在这类鱼的肠道环境(低温,高盐)中发挥作用,同时过多的单糖还可抑制肠道中氨基酸的吸收转运。肉食性鱼对碳水化合物的消化率较低,使肠道中游离单糖浓度低,有利于其对食物中蛋白质的利用。在配制许氏平鲉配合饵料时应考虑这一点。

一般鱼类淀粉酶的最适pH为7.0到8.5^[23-24],许氏平鲉肠的淀粉酶最适pH为7.0,而胃部淀粉酶最适pH为4.6,且在pH中性处还有一个较小的峰。可见许氏平鲉胃内的淀粉酶可能有2种,一种为与胃的酸性环境相适应的酶,另一种与肠道中的淀粉酶相同,这在其他文献中未见报道。

参考文献:

- [1] Agrawal V P. Digestive enzymes of three teleost fishes[J]. *Acta Physiol Hung*, 1975, 46: 93-98.
- [2] 黄峰,严安生,汪小东.鮰、鱥胰蛋白酶的研究[J].水产学报,1996,20(1):68-71.
- [3] 杨蕙萍,童圣英,王子臣,等.国内外关于水产动物消化酶研究的概况[J].大连水产学院学报,1998,37(3):64-71.
- [4] Linhardt K, Walter K. Phosphatase (Phosphomonoestekases) Methods of Enzymatic Analysis[M]. London: Academic Press, 1963. 779-787.
- [5] Hirose T, Morita A, Yamada M, et al. Selective purification of sex-influenced esterase from rat serum by immunoaffinity chromatographies[J]. *Eur J Biochem*, 1990, 189: 431-435.
- [6] 蒋传葵,金承德,吴仁龙.工具酶活力的测定[M].上海:上海科学出版社,1982.20-80.
- [7] Lowry O H, Rosebrough N J, Farr A L, et al. Protein measurement with the folin phenol reagent[J]. *J Biol Chem*, 1951, 193: 265-275.
- [8] Tengjaroenkul B, Smith B J, Cacceti T, et al. Distribution of intestinal enzyme activities along the intestinal tract of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. [J]. *Aquaculture*, 2000, 182: 317-327.
- [9] Malagelada J R, Linscheer W G, Fishman W H. The effect of fatty acid perfusion on intestinal alkaline phosphatase; II. Studies on the rat[J]. *Am J Digest Dis*, 1977, 22: 516-523.
- [10] Hirji K N, Courtney W A M. Nonspecific carboxylic esterase activity in the digestive tract of the perch, *Perca fluviatilis* L. [J]. *J Fish Biol*, 1983, 22: 1-7.
- [11] Sabapathy U, Teo L A. A quantitative study of some digestive enzymes in the rabbitfish, *Siganus canaliculatus* and the sea bass, *Lates calcarifer* [J]. *J Fish Biol*, 1993, 42: 595-602.
- [12] 刘金兰,严安生,杨广.乌鳢消化系统蛋白酶活性研究[J].湖北农学院学报,1997,17(4):265-269.
- [13] 龙良岩,熊邦喜,白乐清,等.池养鳗鲡胃肠组织消化酶的初步研究[J].华中农业大学学报,1996,15(3):265-268.
- [14] 谭北平.太湖沿岸几种肉食性鱼类蛋白酶活性的研究[J].湖北农学院学报,1995,15(2):96-98.
- [15] 冯晓燕,朱丽岩,王梅林,等.许氏平鲉消化道形态学和组织学的初步研究[J].青岛海洋大学学报,2000,30(2-II):135-140.
- [16] Einarsson S, Davies P S. On the localisation and ultrastructure of pepsinogen, trypsinogen and chymotrypsinogen secreting cells in the Atlantic salmon, *Salmo salar* L. [J]. *Comp Biochem Physiol*, 1996, 114B(3): 295-301.
- [17] Munilla-Moran R, Saborido-Rey F. Digestive enzymes in marine species. I. Proteinase activities in gut from redfish (*Sebastodes mentella*), seabream (*Sparus aurata*) and turbot (*Scophthalmus maximus*) [J]. *Comp Biochem Physiol*, 1996, 113B(2): 395-402.
- [18] Spannhof L, Plantikow H. Studies on carbohydrate digestion in rainbow trout[J]. *Aquaculture*, 1983, 30: 95-108.
- [19] Ugolev A M, Egorova V V, Kuzmina V V, et al. Comparative-molecular characterization of membrane digestion in fish and mammals [J]. *Comp Biochem Physiol*, 1983, 76B: 627-635.
- [20] Munilla-Moran R, Stark J R. Metabolism in marine flatfish. VI. Effect of nutritional state on digestion in turbot, *Scophthalmus maximus* L. [J]. *Comp Biochem Physiol*, 1990, 95B: 625-634.
- [21] Munilla-Moran R, Saborido-Rey F. Digestive enzymes in marine species. II. Amylase activities in gut from seabream (*Sparus aurata*), turbot (*Scophthalmus maximus*) and redfish (*Sebastodes mentella*) [J]. *Comp Biochem Physiol*, 1996, 113B(4): 827-834.
- [22] 尾崎久雄.鱼类消化生理(下)[M].上海:上海科学技术出版社,1985.393-398.
- [23] Bitterlich G. Digestive enzyme pattern of two stomachless filter feeders, silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix* Val., and big-head carp, *Aristichthys nobilis* Rich[J]. *J Fish Biol*, 1985, 27: 103-112.
- [24] Uys W, Hecht T. Assays on the digestive enzymes of sharp tooth catfish, *Clarias gariepinus* (Pisces: clariidae)[J]. *Aquaculture*, 1987, 63: 301-313.

Distribution of intestinal enzymes in digestive tract of *Sebastes schlegeli*

ZHENG Jia-sheng¹, FENG Xiao-yan^{1,2}

(1. College of Marine Life Sciences, Ocean University of Qingdao, Qingdao 266003, China;

2. Academy of Military Medical Science, Beijing 100036, China)

Abstract: The observation was conducted after the *Sebastes schlegeli* were starved for 72 h. Five enzymes were tested along the digestive tract. The alkaline phosphatase activity is high in the intestine with the optimum pH 9.7 and the acid phosphatase activity in the intestine is significantly higher than that in the stomach and the optimum pH of the enzyme in both stomach and intestine are 5.3. The carboxylic esterase activity in the intestine is obviously higher than that in the stomach and the optimum pHs in stomach and intestine are very different, which are 6.8 and 8.4, respectively. The proteinase activity in the stomach is much higher than that in the intestine and the optimum pHs are 2.6 and 9.4, respectively. The amylase activity in the stomach is much lower than that in the intestine and the optimum pHs are 4.6 and 7.0, respectively. It comes to the conclusion that the digestion of protein is mainly conducted in the stomach and the digestion of carbohydrates and lipid is mainly conducted in the intestine.

Key words: *Sebastes schlegeli*; digestive tract; alkaline phosphatase; acid phosphatase; carboxylic esterase; proteinase; amylase

中国水产科学研究院首席科学家简介

唐启升 男,1943年12月出生,研究员,博士生导师,中国工程院院士。海洋渔业资源与生态学家。现任中国水产科学研究院黄海水产研究所所长,农业部科学技术委员会委员,中国水产学会理事长。长期从事渔业生态学、海洋资源增殖与管理和远洋渔业等方面的科学研究,取得一系列有重要学术意义和应用价值的成果。先后获得国家科技进步二等奖、三等奖等多项奖励。开拓我国大海洋生态系和海洋生态系统动力学研究,在海洋生物资源可持续开发利用研究方面取得显著成绩。现为国家基础研究重大项目计划(973计划)“东、黄海生态系统动力学与生物资源可持续利用”项目首席科学家。先后在35个国际和国家科学组织及学报刊物担任学术职务。获“全国农业科教优秀回国留学人员”、“中华农业科教奖”和“国家级有突出贡献的中青年专家”等7个国家及省部级个人荣誉称号。在国内外发表论文、论著160篇(册)。