

文章编号:1000-0615(2009)02-0271-07

鲤肠道对 L-甲硫氨酸和 L-苯丙氨酸的离体吸收动力学

向 泉¹, 周兴华¹, 叶元土², 陈 建¹, 段 彪¹

(1. 西南大学荣昌校区水产系, 重庆 荣昌 402460;

2. 苏州大学生命科学学院, 江苏 苏州 215123)

摘要:采用离体灌注试验系统和茚三酮对氨基酸显色的试验方法,定量分析了鲤肠道壁对氨基酸吸收和跨壁运输量,在相同的试验环境下,分别研究鲤肠道对 L-甲硫氨酸和 L-苯丙氨酸的吸收转运量。结果表明,在 60 min 内鲤肠道可对灌流液的氨基酸进行持续的吸收转运,并在肠道外积累;当肠道内灌流氨基酸浓度逐渐增加时,肠道外培养液中氨基酸的浓度与其起始浓度呈正相关变化,并未出现高浓度氨基酸对吸收转运的“抑制”效应;通过对吸收转运量达到最大值时试验氨基酸的浓度与吸收转运量的比较,以及氨基酸吸收转运量随时间的变化规律等的比较分析表明,鲤肠道能有效地吸收、运输 L-甲硫氨酸和 L-苯丙氨酸。鲤肠道对 L-甲硫氨酸和 L-苯丙氨酸的吸收曲线符合 Michaelis-Menten 方程。两种氨基酸的吸收动力学方程分别为: $1/V=0.1251 \times 1/[S] + 0.0524 (R^2=0.9781, P<0.05)$ 和 $1/V=0.1887 \times 1/[S] + 0.0288 (R^2=0.9762, P<0.05)$, 动力学参数为:L-甲硫氨酸: $V_{max}=19.08 \mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{min})$, $K_{max}=2.39 \text{ mmol/L}$; L-苯丙氨酸: $V_{max}=34.72 \mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{min})$, $K_{max}=6.55 \text{ mmol/L}$ 。吸收动力学特征分析表明:鲤肠道对两种氨基酸的吸收是一种逆浓度、需要转运载体的主动吸收方式,且对不同的氨基酸有不同的吸收、运输特异性,鲤肠道对 L-甲硫氨酸的吸收率和跨壁运输能力均强于 L-苯丙氨酸 ($P<0.05$)。

关键词:鲤; L-甲硫氨酸; L-苯丙氨酸; 吸收动力学; 肠道

中图分类号: S 963.16⁺²

文献标识码: A

动物对蛋白质的需要就是对必需氨基酸和合成非必需氨基酸的吸收^[1]。消化道对蛋白质的吸收是动物对食物蛋白质利用效率的重要环节。鱼体肠道对食物蛋白质水解产物氨基酸(AA)的吸收、转运是鱼类营养学研究的重要内容之一。动物肠道除了对蛋白质的最终水解产物——氨基酸,进行有效的吸收外,对次级水解产物如二肽、三肽等小肽也能进行有效的吸收和转移,且与氨基酸的吸收、转运存在不同的生理机制和通道^[2-3]。目前关于鱼类消化道对食物消化产物的吸收规律的研究仍然相对较少。研究表明:草鱼的肠道能够主动地吸收、转运亮氨酸、酪氨酸,且结构相似的氨基酸之间有竞争抑制作用^[4]。叶元土等^[5-6]表明,在离体灌流的试验系统中,相同的试验环境下,草鱼肠道氨基酸的吸收、释放、运

输量对不同的氨基酸有差异。本文就鲤肠道对 L-甲硫氨酸、L-苯丙氨酸的吸收和转运进行了初步研究,旨在探讨鲤肠道对氨基酸的吸收、转运的规律,补充和完善鱼类对氨基酸的吸收、转运的基础资料。

1 材料与方法

1.1 试验用鱼

试验鱼为 1 龄鲤鱼种,购自双河梅石坝渔场,共 100 尾。平均体长 $(8.26 \pm 0.45) \text{ cm}$, 平均体重 $(24.35 \pm 1.48) \text{ g}$ 。室温下暂养于室内循环养殖系统。试验前停食 24 h。

1.2 试验氨基酸及溶液制备

试验 L-甲硫氨酸和 L-苯丙氨酸为生化试剂,由上海生化试剂厂生产。氨基酸溶液参照尾崎久

收稿日期:2008-01-09 修回日期:2008-11-05

资助项目:重庆市科委攻关项目资助(97-4767)

通讯作者:叶元土, E-mail: yeyuant@pub.sz.jsinfo.net

雄^[7]和江上信雄^[8]的生理盐水溶液配方进行配制。试验氨基酸溶液采用先配制高浓度的母液置于4℃左右的冰箱内进行短期保存,使用时根据需要进行逐级稀释的方法得到。为防止微生物的干扰,在氨基酸溶液中加入青霉素钠0.09 mg/mL、硫酸链霉素0.15 mg/mL简称“双抗”)。试验氨基酸浓度根据预试验结果,在1.5~10.0 mmol/L范围内设置4个浓度梯度:2.5、5.0、7.5和10.0 mmol/L。

1.3 肠道的制备

随机选取试验鲤,称重后麻醉,用常规解剖取出鲤全肠,在生理盐水溶液浸渍下除去脂肪、血污等,用10 mL的医用注射器吸取10 mL生理盐溶液冲洗干净肠道内容物,置于生理盐溶液中备用^[9-10]。

1.4 肠道吸收量及肠道跨壁运输量的测定

采用离体灌流装置^[11],叶元土等^[9]证明,水产动物离体肠道对氨基酸的跨壁运输在60 min以内,肠道生理活性的变化不大,其吸收转运能力下降较小;而对氨基酸的吸收速率的变化则只集中在前10~20 min内,在20 min后,吸收速率达到最大值并趋于相对稳定^[6]。则0~21 min内每隔3 min从收集器中取肠道流出液0.2 mL×5(5个平行样品)个样品,采用茚三酮显色法^[7]确定灌流液经肠道吸收后流出液中氨基酸浓度的减少量,推知氨基酸量的变化量(肠道吸收量);0~60 min内,分别在0, 10, 20, 30, 40, 50, 60 min的各时间点从培养液中取样1次,每次取样0.2 mL×5个样品,并补充相应体积的生理盐水溶液,采用茚三酮显色法^[12]测定肠道外培养液中氨基酸浓度的变化,确定氨基酸的跨过肠道壁的量(跨壁运输量)。

1.5 数据的表示与处理

由于鱼体大小差异使肠道长度和重量有一定的差异,为减小试验误差,试验设计中把鲤肠道对试验氨基酸的吸收量(或跨壁运输量)表示为单位肠道组织重量(g)对试验氨基酸的吸收量(或跨壁运输量),适合于淡水鱼类的灌流流速为每分钟8~10滴(即0.4~0.5 mL/min),计算公式如下:

$$\text{氨基酸吸收量}(\mu\text{mol/g}) = [\text{灌流液中 AA 的}$$

$$\text{浓度}(\text{mmol/L}) - \text{流出液中 AA 的浓度}(\text{mmol/L})] \times \text{灌流液流速}(\text{mL/min}) \times \text{灌流时间}(\text{min}) \times 1000 / \text{肠道重量}(\text{g})$$

$$\text{跨壁运输量}(\mu\text{mol/g}) = [\text{培养液中 AA 浓度}(\text{mmol/L}) - \text{空白培养液中 AA 浓度}(\text{mmol/L})] \times \text{培养液总体积}(\text{L}) \times 1000 / \text{肠道重量}(\text{g})$$

$$\text{氨基酸吸收速率}[\mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{min})] = \text{氨基酸吸收量}(\mu\text{mol}/\mu\text{g}) / \text{灌流时间}(\text{min})$$

其中把21 min时的吸收量称为最大吸收量,60 min时的跨壁运输量称为最大跨壁运输量^[5]。

采用SPSS 13.0 for Windows软件中单因子方差(ANOVA)对试验数据进行处理和统计学分析。差异达到显著,则进行Duncan氏多重比较,显著性水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 肠道对L-甲硫氨酸、L-苯丙氨酸吸收变化

在0~21 min内鲤肠道对L-甲硫氨酸和L-苯丙氨酸的吸收在持续进行,主要表现为此时间内肠道粘膜面能有效地吸收氨基酸并积累甲硫氨酸和苯丙氨酸;并未出现肠道外的培养液中氨基酸积累到一定量后的平稳状态或“反馈抑制”现象(图1,图2)。当氨基酸的浓度分别为2.5、5.0、7.5和10.0 mmol/L时,在21 min时鲤肠道L-甲硫氨酸的吸收量分别为10.54、27.15、40.09和42.08 $\mu\text{mol/g}$,鲤对不同浓度的L-甲硫氨酸的吸收量差异显著($P < 0.05$);对L-苯丙氨酸的吸收量则分别为7.46、21.74、34.57和36.86 $\mu\text{mol/g}$ ($P < 0.05$)。

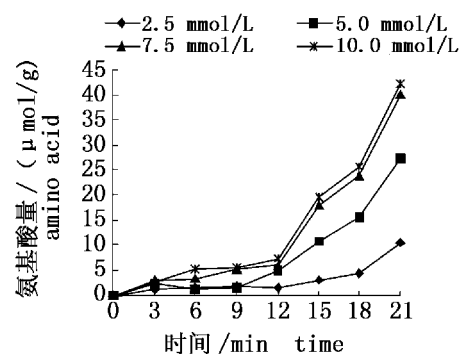


图1 鲤肠道对L-Met的吸收量随时间的变化曲线
Fig. 1 The L-Met absorption curves by the intestine of *Cyprinus carpio*

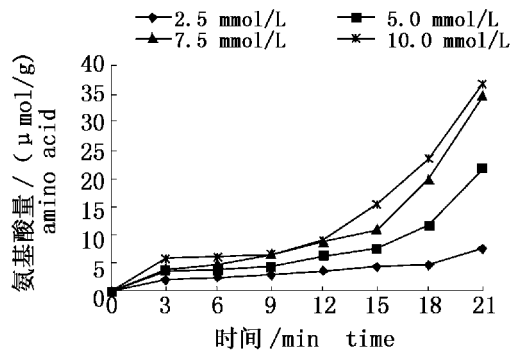


图2 鲤肠道对 L-Mhe 的吸收量
随时间的变化曲线

Fig.2 The L-Mhe absorption curves by the
intestine of *Cyprinus carpio*

鲤对甲硫氨酸和苯丙氨酸的吸收动力学特征不同。含酰胺基的甲硫氨酸在 0~12 min 内各浓度下的吸收曲线较平缓,吸收速率较慢,且在部分浓度下的吸收曲线有交叉。在 12~21 min 时,各浓度下的吸收速率均有所增加;而含苯环的苯丙氨酸在 0~3 min 内吸收速率较快,在 3~15 min 时吸收速率曲线较平缓,且有部分交叉,15 min 后多数浓度下的吸收速率增大($P < 0.05$)。

2.2 氨基酸浓度对吸收率的影响

在 21 min 内,L-甲硫氨酸和 L-苯丙氨酸分别在 2.5、5.0、7.5、10.0 mmol/L 浓度时,鲤肠道粘膜对两种氨基酸的吸收速率见图 3,从图 3 可看出,在 0~21 min 内,氨基酸的浓度分别为 2.5、5.0、7.5、10.0 mmol/L 时,鲤肠道对 L-甲硫氨酸的吸收速率分别为 0.50、1.29、1.90、2.00 $\mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{min})$ ($P < 0.05$);对 L-苯丙氨酸的吸收速率则分别为 0.36、1.04、1.65、1.76 $\mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{min})$ ($P < 0.05$);鲤肠道粘膜对 L-甲硫氨酸和 L-苯丙氨酸的吸收速率—氨基酸的浓度曲线为双曲线,其回归方程分别为:L-Met: $V = 34.12[S]/(6.55 + [S])$ ($R^2 = 0.9781, P < 0.05$); L-Phe: $V = 19.08[S]/(2.39 + [S])$ ($R^2 = 0.9762, P < 0.05$),与 Michaelis-Menten 方程 $V = V_{\max} \cdot [S]/(K_m + [S])$ 相似。氨基酸的浓度在 5.0 mmol/L 以下时的吸收率近似于直线,而在 7.5 mmol/L 以上时的吸收率则趋于稳定。饱和动力学特征表

明:鲤肠道粘膜对这两种氨基酸的吸收是一个跨生物膜的需要载体的主动运输过程。

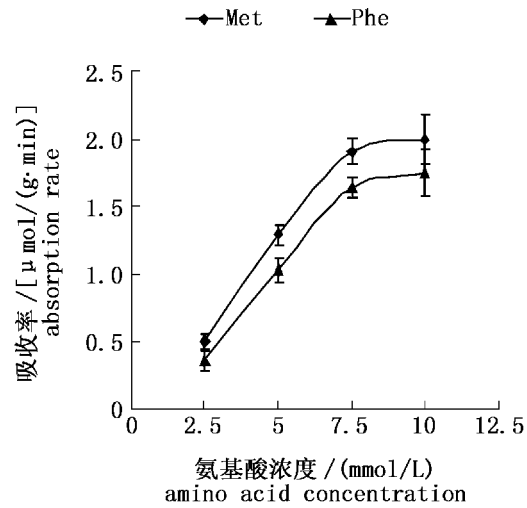


图3 甲硫氨酸和苯丙氨酸的浓度对吸收率的影响

Fig.3 The effect of L-Met and L-Phe
concentration on the absorption

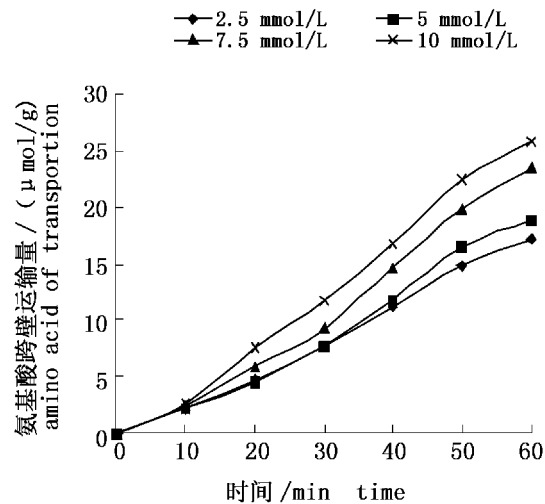


图4 L-甲硫氨酸的跨壁运输量随时间的变化曲线

Fig.4 The L-Met transportation curves by the
intestine of *Cyprinus carpio*

将氨基酸的浓度与吸收率的关系用 Michaelis-Menten 方程描述。则两种氨基酸的吸收动力学常数用 Lineweaver-Burk 双倒数法求得^[9-10](表 1)。

表 1 采用双倒数法对 $1/V$ 和 $1/[S]$ 作回归方程及吸收动力学常数
 Tab. 1 The regression equation to $1/V-1/[S]$ and kinetic constants of L-Met & L-Phe

氨基酸 amino acid	回归方程 regression equation	显著性检验 significant tests	V_{\max}^* [$\mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{min})$]	K_{\max}^{**} (mmol/L)
L-甲硫氨酸 L-methionine	$Y=0.1887X + 0.0288$	$R^2 = 0.9781, P < 0.05$	34.72	6.55
L-苯丙氨酸 L-phenylalanine	$Y=0.1251X + 0.0524$	$R^2 = 0.9762, P < 0.05$	19.08	2.39

注: * V_{\max} —最大吸收速率; ** K_{\max} —吸收率为最大吸收率 1/2 时的氨基酸浓度, $Y=1/V, X=1/[S]$

Notes: * V_{\max} —Maximum absorption rate; ** K_{\max} —The amino concentration on the half of Maximum absorption rate, $Y=1/V, X=1/[S]$

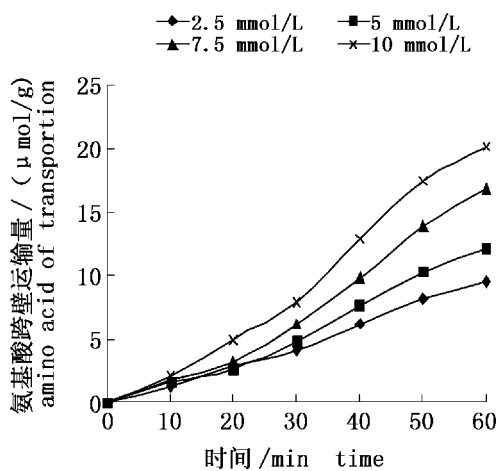


图 5 L-苯丙氨酸的跨壁运输量随时间的变化曲线
 Fig. 5 The L-Phe transporation curves by the intestine of *Cyprinus carpio*

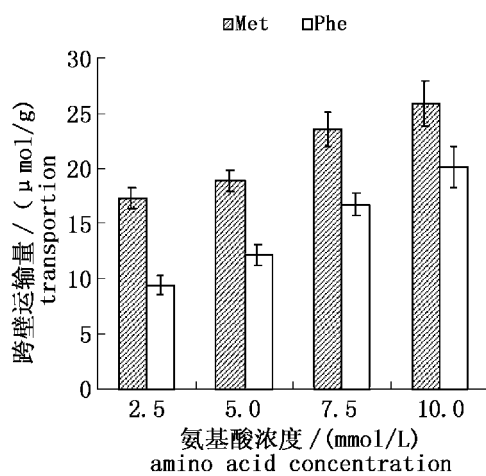


图 6 L-甲硫氨酸和 L-苯丙氨酸的跨壁运输量随浓度的变化
 Fig. 6 The effect of L-Met and L-Phe concentration on the transporation

从上表的动力学常数可知, 鲤肠道粘膜对 L-

甲硫氨酸的吸收能力强于对 L-苯丙氨酸的吸收能力。鲤肠道粘膜对 L-甲硫氨酸的 V_{\max} 为 L-苯丙氨酸的 1.82 倍 ($P < 0.05$), 而对 L-甲硫氨酸的 K_{\max} 为 L-苯丙氨酸的 2.74 倍 ($P < 0.05$)。说明鲤肠道对 L-甲硫氨酸的吸收速率大对 L-苯丙氨酸的吸收速率。

2.3 肠道对 L-甲硫氨酸、L-苯丙氨酸跨壁运输

在 0-60 min 内, 鲤肠道粘膜对 L-甲硫氨酸和 L-苯丙氨酸的跨壁运输量与时间的变化曲线近似于直线, 且这两种氨基酸均随着灌流液浓度的增大, 肠道外培养液中氨基酸的积累也明显加快。图 4, 图 5 以灌流氨基酸的浓度为 5.0 mmol/L 为例, 此时鲤肠道对两种氨基酸的跨壁运输量与时间的回归方程分别为: L-甲硫氨酸: $Y = 3.3186X - 4.4186$ ($R^2 = 0.9852, S = \pm 0.9619, P < 0.05$); L-苯丙氨酸: $Y = 2.1036Y - 2.8343$ ($R^2 = 0.9811, S = \pm 0.8418, P < 0.05$)。由动力学方程可知, 鲤肠道粘膜对 L-甲硫氨酸的跨壁运输量要比 L-苯丙氨酸大得多 ($P < 0.05$)。在 60 min 里, 鲤肠道对 2.5、5.0、7.5、10.0 mmol/L 等四种浓度的 L-甲硫氨酸液的运输量分别为 L-苯丙氨酸溶液的 1.83、1.55、1.40、1.29 倍 ($P < 0.05$)。因此, 虽然 L-甲硫氨酸和 L-苯丙氨酸两种氨基酸跨壁运输量随时间的变化的动力学特征相似, 但肠道对它们的运输速率有差异 (图 6)。

3 讨论

3.1 肠道对 L-甲硫氨酸、L-苯丙氨酸吸收和运输的机理

水产动物对饲料中氨基酸 (包括次级水解产物小肽等) 的吸收是通过肠粘膜细胞来进行的。肠道粘膜面对氨基酸的吸收量实际为肠道粘膜面对灌流液中氨基酸的吸收和积累量, 而跨壁运输

量为肠道吸收后直接向肠道周围扩散的量。尾崎久雄^[7]认为,鱼类肠道对氨基酸的吸收是一种能逆浓度梯度、需要转运载体的主动吸收方式。鱼类通过肠粘膜细胞的纹状缘(或微绒毛)对食物中氨基酸主动吸收而进入粘膜,吸收进入肠粘膜细胞的氨基酸再通过被动扩散方式进入粘膜基底层的毛细血管而进入血液、淋巴循环及组织间隙^[5]。鱼类肠道粘膜必需氨基酸的消耗和利用,可能影响到氨基酸的营养价值的充分发挥^[13]。本试验中鲤肠道培养液中的氨基酸则是灌流液中的氨基酸经肠道粘膜细胞的吸收进入血管运输并在肠道组织内积累和迁移,最终越过肠道壁而进入肠道外培养液的,这部分氨基酸在活体中应是通过肠粘膜的吸收、在肠道组织内积累、迁移并离开肠道组织而进入血液循环系统运输(只是从肠道组织向其他组织单向运输而不包括从其他组织运输来)的氨基酸。氨基酸在水产动物活体中的吸收和运转是一个吸收、积累、迁移和运输等几个行为的复杂过程;本试验采用较为简单的试验方法,在同一个离体试验体系中,将氨基酸的吸收和转运分成两步来测定,暂且忽略其内部的氨基酸吸收、迁移途径和机制,麦康森等^[10]和叶元土等^[5,9,11]的试验证明此研究方法是有效的。

本试验中,鲤肠道培养液中的 L-甲硫氨酸和 L-苯丙氨酸是灌流液中的氨基酸经肠道粘膜细胞的吸收而进入血管运输,并在肠道组织内积累和迁移,最终越过鲤肠道壁而进入肠道培养液的。从鲤肠道 2 种氨基酸的吸收动力学特征来看,完全符合 Michaelis-Menten 方程。鲤肠道粘膜对 L-甲硫氨酸吸收的 $V_{\max} = 34.72 \mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{min})$; $K_{\max} = 6.55 \text{ mmol/L}$,均大于鲤肠道对 L-苯丙氨酸吸收的 $V_{\max} = 19.08 \mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{min})$; $K_{\max} = 2.39 \mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{min})$,说明鲤肠道粘膜对 L-甲硫氨酸的吸收率要大于 L-苯丙氨酸($P < 0.05$),且在不同浓度时,鲤肠道粘膜对 L-甲硫氨酸的跨壁运输量也显著大于 L-苯丙氨酸($P < 0.05$),与杨凤^[1]的结论“非反刍动物的氨基酸吸收率顺序为甲硫氨酸 > 苯丙氨酸”相一致。由于 L-甲硫氨酸为脂肪族氨基酸,且为含酰氨基的氨基酸,为动物体内物质的中间代谢中甲基的供体,而 L-苯丙氨酸则为含苯环的芳香族氨基酸,在动物机体代谢中的作用不同,其需求量有差异,使得鲤肠道粘膜对其吸收和运输能力也不同。表明鲤肠道对 L-

甲硫氨酸、L-苯丙氨酸两种必需氨基酸的吸收动力学参数有较大差异,对其吸收、释放、运输量也不同。从吸收动力学特征来看,鲤对 L-甲硫氨酸、L-苯丙氨酸的吸收速率和运输能力要比草鱼肠道对 L-Leu、L-苯丙氨酸、L-Tyr 的吸收速率和运输能力强^[4-5];也比中国对虾(*Penaeus chinensis*)中肠对 L-Leu^[10]和墨吉对虾(*Penaeus marginatus*)对 L-Gly^[14]的运输能力强。

3.2 肠道对 L-甲硫氨酸、L-苯丙氨酸的吸收与跨壁运输的分析

随着时间的延长,鲤肠道对 L-甲硫氨酸和 L-苯丙氨酸吸收量与跨壁运输量有明显的变化。从两者的比例关系来看,跨壁运输量与吸收量的比值随时间的变化相对恒定。对同一氨基酸而言,灌流液氨基酸的减少量要显著大于该种氨基酸在培养液中的增加量($P < 0.05$),说明由本试验系统测得的肠道外培养液中的氨基酸增加量只是肠上皮细胞吸收的氨基酸的一部分。肠道组织对氨基酸也有一定的积累作用。动物对游离氨基酸的吸收是一个依靠 $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ 泵,需要不同载体的主动运转过程^[15]。则动物对氨基酸的吸收、跨壁运输需要肠道粘膜表面的载体和转运通道,且具有最大、最小吸收量和最大、最小跨壁运输量时肠道内氨基酸浓度的大小与载体或通道的饱和性、亲和力有关。浓度愈低,愈容易达到吸收、跨壁运输的饱和状态。反之,则需要较高的氨基酸浓度才达到饱和状态。

本试验表明:由于 L-甲硫氨酸、L-苯丙氨酸的结构不同,在动物代谢过程中的生化作用有差异,L-甲硫氨酸、L-苯丙氨酸的浓度对吸收、转运量的影响程度不同;此 2 种氨基酸在最大吸收率和转运量时的氨基酸浓度值的大小不同;2 种氨基酸培养液中所积累的氨基酸的数量随时间的变化也有一定的差异;在相同氨基酸浓度下 L-甲硫氨酸、L-苯丙氨酸具有不同的吸收速度和跨壁运输能力。L-甲硫氨酸、L-苯丙氨酸吸收速度随氨基酸的浓度增大,在一定范围内成线形增加,当氨基酸达到一定浓度时,其速度增加的幅度则逐渐减慢,鲤对 L-甲硫氨酸、L-苯丙氨酸的吸收动力学方程完全与 Michaelis-Menten 方程相吻合。这与 William 等^[16]对小鼠,麦康森等^[10]对中国对虾,叶元土等^[17]对草鱼和斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)的结论相一致。同时,鲤生长过程中对

L-甲硫氨酸的需要量为占饲料蛋白质含量的3.1%,L-苯丙氨酸的需要量为占饲料蛋白质含量的6.5%^[18],说明鲤生长过程中对L-苯丙氨酸的需要量要大于对L-甲硫氨酸的需要量。因此,鲤对L-甲硫氨酸和L-苯丙氨酸的吸收和转运速度有可能还与鲤自身对这2种氨基酸的需求量有关。

参考文献:

- [1] 杨 凤. 动物营养学[M]. 北京:中国农业出版社, 2000:24-25.
- [2] 赵轶千. 生理学试验指导[M]. 北京:人民卫生出版社,1985:111-112.
- [3] 吴冠芸, 潘华珍, 吴 攀. 生物化学与分子生物学试验常用数据手册[M]. 北京:科学出版社,2002:112-113.
- [4] 邝雪梅, 叶元土, 蔡春芳, 等. 离体草鱼肠道对亮氨酸和酪氨酸的吸收与利用[J]. 水生生物学报, 2005,29(4):424-429.
- [5] 叶元土, 林仕梅, 罗 莉, 等. 草鱼肠道对亮氨酸和苯丙氨酸的吸收[J]. 动物学报,2000,46(1):52-57.
- [6] 曾 端, 叶元土, 林仕梅, 等. 草鱼肠道对AA吸收的离体培养方法的研究[J]. 中国水产科学,2001,4:18-22.
- [7] 尾崎久雄. 鱼类消化生理[M]. 李爱杰, 译. 上海:上海科技出版社,1985:349-352.
- [8] 江上信雄. 鱼类试验动物[M]. 迟英杰, 译. 北京:海洋出版社,1992:55-57.
- [9] 叶元土, 林仕梅, 罗 莉. 南方大口鲈胃肠道对L-亮氨酸和L-苯丙氨酸吸收动力学的研究[C]//中国水产学会2000年学术年论文集. 北京:海洋出版社,2000:562-580.
- [10] 麦康森, 李爱杰, 尹左芬. 中国对虾中肠对氨基酸运输的动力学研究[J]. 海洋与湖沼, 1987, 18(5):426-431.
- [11] 叶元土, 蔡春芳, 林仕梅, 等. 鱼类肠道离体灌流试验系统[J]. 中国畜牧兽医,2002,29(6):26-27.
- [12] 向 泉, 叶元土, 周兴华, 等. 鲇胃肠道、胰脏对7种饲料蛋白质的酶解动力学[J]. 水生生物学报, 2006,30(4):493-498.
- [13] Stoll B, Henry J, Reeds P J. Catabolism dominates the firstpass intestinal metabolism of dietary essential amino acids in milkprotein-fed piglets[J]. J Nutr,1998,128:606-614.
- [14] Ahearn G A. Kinetics characteristics of glycine transport by the isolated midgut of the shrimp, *Penaeus marginatus*[J]. J Exp Biol, 1974,61:677-696.
- [15] 李茂深. 物质代谢[M]. 北京:人民卫生出版社, 1987:31-39.
- [16] William H, David K S, Carter S, et al. Uptake pathways for amino acids in mouse intestine[J]. Am J Physiol,1986,251:501-508.
- [17] 叶元土, 罗 莉, 林仕梅. 斑点叉尾鱼回胃肠道对亮氨酸的吸收[J]. 水产学报,1999,23(增刊):46-50.
- [18] 李爱杰. 水产动物营养与饲料学[M]. 北京:中国农业出版社,2004:20-21.

Absorption kinetics of L-methionine and L-phenylalanine in isolated intestine of common carp (*Cyprinus carpio*)

XIANG Xiao¹, ZHOU Xing-hua¹, YE Yuan-tu², CHEN Jian¹, DUAN Biao¹

(1. Department of Fisheries, Southwest University, Rongchang 402460, China;

2. College of the Life Science, Soochow University, Suzhou 215123, China)

Abstract: The experiment methods were used to determine the absorption and transportation of L-methionine and L-phenylalanine in isolated intestine. The method simulates the physiological condition *in vitro*. According to the change of amino acid solutions and outside the intestine that was controlled flowing through the intestine. We determined the L-methionine and L-phenylalanine absorbed and transported across the intestine mural directly. In the experiment, the fingerling *Cyprinus carpio* were employed and after 24 h starvation the intestine was obtained and cultured *in vitro*. The concentration levels of L-methionine and L-phenylalanine were designed at 2.5 mmol/L, 5.0 mmol/L, 7.5 mmol/L and 10.0 mmol/L respectively. In each solution, the penicillin was added at 0.09 mg/mL, at the same time, sulfate streptomycin was added at 0.15 mg/mL. The absorbing capacity of L-methionine and L-phenylalanine in the intestine was analysed within 21 min, the concentrations of the L-methionine and L-phenylalanine in the exudation outside the intestine mural was analysed within 60 min. The result showed that the intestine of common carp could absorb and transport effectively. The mucosal influx of both L-methionine and L-phenylalanine occurred via a carrier-mediated. Active transportation entry process showed Michaelis-Menten kinetics. The absorption kinetic equations of L-methionine and L-phenylalanine were $1/V = 0.1251 \times 1/[S] + 0.0524$ ($R^2 = 0.9781$, $P < 0.05$) and $1/V = 0.1887 \times 1/[S] + 0.0288$ ($R^2 = 0.9762$, $P < 0.05$), respectively; At the same time, the kinetic constants of L-methionine and L-phenylalanine were $V_{\max} = 19.08 \mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{min})$, $K_{\max} = 2.39 \text{ mmol/L}$; $V_{\max} = 34.72 \mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{min})$, $K_{\max} = 6.55 \text{ mmol/L}$, respectively. The absorption kinetics characteristic analysis indicated that the mucosal influx and the transmural of L-methionine were higher than those of L-phenylalanine ($P < 0.05$).

Key words: *Cyprinus carpio*; L-methionine; L-phenylalanine; absorption kinetics; intestine