

牡蛎肉的醒酒作用机理初探

秦小明 林华娟 张自然 章超桦

(广东海洋大学食品科技学院, 湛江 524088)

摘 要 以小鼠血清中乙醇浓度为指标,对牡蛎肉中含有的蛋白质、糖原以及牛磺酸等生理活性成分的醒酒效果进行了初步探讨,旨在阐明牡蛎肉的醒酒作用机理。实验结果表明,牡蛎肉中的糖原和牛磺酸均具有明显的醒酒效果,最佳醒酒效果的剂量分别为 0.8、0.05 mg/ml,与阳性对照组比较,小鼠血清的乙醇浓度分别下降了 49.4% 和 43.74%;牡蛎肉蛋白质无醒酒作用,糖原和牛磺酸为牡蛎肉醒酒作用的主要有效成分。

关键词 牡蛎 粗蛋白 糖原 醒酒

中图分类号 TS210.1 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2011)01-0109-05

Preliminary studies on sobering-up effect of oyster meat

QIN Xiao-ming LIN Hua-juan ZHANG Zi-ran ZHANG Chao-hua

(College of Aquatic Products Processing and Storage Engineering, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524025)

ABSTRACT The sobering-up effects of components in oyster meat such as protein, glycogen, and taurine were investigated by determining the concentration of alcohol in the serum of the mice with oral alcohol intake. The male mice were randomly divided into three groups ($n=10$) treated respectively with protein, glycogen, and taurine, and a control group. Oyster protein, glycogen, and taurine were given to the mice 30 min before feeding a dose of alcohol. The alcohol levels in the serum of the mice were then measured 60 min later. The results showed that, compared to the control group, protein in oyster meat had no obvious sobering-up effect, while glycogen at 0.8 mg/ml and taurine at 0.05 mg/ml reduced the alcohol concentration in the mice serum by 49.41% and 43.74% respectively, indicating that glycogen and taurine are the major sobering-up substances in oyster meat.

KEY WORDS Oyster Protein Glycogen Anti-alcoholism

牡蛎(Oyster)又名海蛎子、蚝、蛎黄等,是世界上第一大养殖贝类,也是我国四大养殖贝类之一,年产量占世界牡蛎养殖产量的首位。牡蛎肉中含有丰富的蛋白质、糖原、必需氨基酸、牛磺酸、多种维生素、以及锌、硒等具有特殊生理作用的矿物质,具有很高食用和药用价值(尹淑敏等 1994)。文献报道,牡蛎提取物具有抗疲劳、抗氧化、抗肿瘤、保护心血管、护肝以及醒酒等多种生理功能(张部昌等 1999;王元勋等 1993;吴海涛等 2005;王 疑等 1997;何冬宁等 1997)。其中,牛磺酸作为牡蛎肉的主要成分之一,含量为 0.59%~1.0%,被认为与牡蛎的醒酒作用密切相关。目前,已有诸多报道称牛磺酸具有良好的醒酒作用(范建高等 1999;刘

国家 948 项目(2006-G42)、国家贝类产业技术体系专项经费和广东省贝类产业关键技术推进与产业化项目共同资助

收稿日期:2010-03-02;接受日期:2010-05-19

作者简介:秦小明(1964-),男,博士,教授,主要从事生物资源利用、水产品保健食品开发的研究。E-mail:qinxm@gdou.edu.cn

Tel:(0759)2383861

辉等 2003),但对于牛磺酸以外的醒酒作用成分研究则比较少。牡蛎肉中的蛋白质和糖原等其他化学成分是否对醒酒有作用,尚未见有任何报道。本研究对牡蛎蛋白、糖原以及牛磺酸的醒酒效果进行了初步研究,旨在阐明牡蛎肉的醒酒作用机理,为利用牡蛎研究开发醒酒功能产品奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料

近江牡蛎鲜肉,2007年9月18日采自于广东湛江东风市场。

1.1.2 实验动物

SPF级小鼠,体重 20 ± 2 g,雄性,合格证号SYXK(粤)2003-0007,由广东医学院动物中心提供。

1.1.3 主要试剂

淀粉酶;糖化酶;56°红星二锅头(北京红星股份有限公司);牛磺酸标准品(日本和光纯药工业株式会社,含量 $>99\%$);糖原标准品(Sigma公司);其他试剂为分析纯。

1.1.4 主要仪器

组织匀浆器(HR2839,飞利浦);气相色谱仪(GC-14B,日本岛津公司);高效液相色谱仪(LC-20A,日本岛津公司);台式离心机(TDL-40B,上海安亭科学仪器厂);半自动凯氏定氮仪(KDN-2C,上海纤检仪器有限公司);紫外分光光度计(UV-3200PC,上海美谱达仪器有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 牡蛎蛋白的制备

1.2.1.1 牡蛎蒸煮蛋白的制备

采用组织捣碎机制备牡蛎肉匀浆,然后从中取100 g,按约1:8.6的比例加水,煮沸20 min,冷却,离心(4 000 r/min,20 min),取沉淀,并用蒸馏水洗涤3次,洗涤水离心,所得上清液澄清合并备用,离心所得沉淀即牡蛎蒸煮蛋白。

1.2.1.2 牡蛎脱脂蛋白的制备

称取100 g的牡蛎肉匀浆,加3倍体积的有机溶剂(三氯甲烷:甲醇=1:1),于50℃水浴环流抽提1 h,冷却,过滤,所得残渣加有机溶剂反复抽提3次,冷却,通风橱自然风干,碾磨得到脱脂牡蛎粉。加入6倍体积的水,将脱脂粉调成悬浊液($m:v=1:6$),加入0.1% α -淀粉酶,0.01%糖化酶,于50℃水浴酶解,直至检测无糖为止,离心,沉淀部分于60℃烘箱烘干,得到脱脂牡蛎蛋白粉。成分分析结果显示,牡蛎蛋白粉采用苯酚-硫酸法未检出总糖。

1.2.2 牡蛎糖原的提取

糖原的提取参考陈 骞等(2005)的方法进行。100 g左右牡蛎肉加等量水,匀浆后加入100 ml 30:100(w/v) KOH于沸水浴加热1 h,冷却至室温后加入150 ml 95%(v/v)的乙醇,滤纸过滤。过滤得到的沉淀再溶于100 ml水中,用冰醋酸调至中性,再次过滤得清液,清液中加入6 g 732 阳性树脂。室温下连续搅拌24 h,滤纸过滤。在得到的清液中加入等体积的95%(v/v)的乙醇,离心(4 000 r/min,20 min)得到沉淀。加入少量去离子水溶解沉淀,采用Sevag法脱蛋白,直到280和260 nm扫描无蛋白质和核酸吸收峰为止。收集沉淀物,冷冻干燥得到白色粉末为牡蛎糖原粗提物。结果分析,最后所得糖原提取物中蛋白含量为0.003%。因此,牡蛎糖原提取物中蛋白质的含量可以忽略不计。

1.2.2 动物醒酒实验

1.2.2.1 醒酒活性实验

醒酒活性试验参考王淑媛等(2007)的方法。将体重为20 g左右的小鼠饲养7 d后,随机分成若干组,每组10只,组间体重经 t 检验无显著差异。按实验要求对各组小鼠灌胃醒酒制剂(灌胃量为0.4 ml/20 g体重),30

min 后,灌胃 52°红星二锅头(灌胃量为 0.16 ml/10 g 体重)。1h 后眼球取血,血液经离心处理(10 000 r/min, 5 min)后得到血清,在血清中加入等体积 20%醋酸铅,混匀后再次离心(10 000 r/min, 5 min)得到上清液,上清液经过适当稀释后,采用气相色谱仪测定血清中的乙醇浓度。

1.2.3 分析方法

蛋白和糖原的测定分别采用凯氏定氮法(宁正祥 2001)和苯酚-硫酸法(DuBois *et al.* 1956)进行测定。

1.2.3.1 牛磺酸的测定

牛磺酸的测定参考高加龙等(2007)及任一平等(1995)的方法。采用 OPA 柱前衍生高效液相色谱法进行测定,衍生时间为 1.5 min。色谱条件如下:分离柱:Hypersil ODS C18, 120 mm×4.0 mm, 5 μm;流速:1.0 ml/min;进样量:1 μl;流动相 A 为甲醇,流动相 B 为 0.05 mol/L 乙酸钠溶液(pH 6.0, 冰醋酸调制),V_A:V_B=40:60,固定洗脱;检测波长:λ_{Ex} 338 nm, λ_{Em} 444 nm;柱温:室温。

1.2.3.2 血清中乙醇浓度的测定方法

血清中乙醇浓度的测定参考 Bretam 等(1992)的方法采用气相色谱法进行测定。色谱条件:GC-14B 气相色谱仪,石英毛细管柱(PEG-20M, 30 m×2.5 mm×0.5 μm),氢火焰离子化检测器,柱温 70 °C,气化室 150 °C,检测室 170 °C。

1.3 数据处理

使用统计软件 SPSS 对实验数据进行统计分析。

2 结果与讨论

2.1 一般营养成分分析

表 1 牡蛎肉中主要化学成分的含量

Table 1 Contents of the major components in oyster meat

主要成分 Component	蛋白 Protein	脂肪 Lipid	总糖 Total sugar	水分 Water	灰分 Ash	非蛋白氮 Non-protein nitrogen	牛磺酸 Taurine
含量 Content (%)	10.54	2.93	1.62	86.14	0.63	0.48	0.22

将新鲜牡蛎肉打浆,测定其一般营养成分,结果见表 1。以湿基计,蛋白、总糖、牛磺酸分别占 10.54%、1.62%、0.22%。

2.2 牡蛎各组分对小鼠的醒酒作用

牡蛎肉匀浆并加热煮沸,20 min 后离心,将牡蛎肉分为牡蛎提取液和牡蛎蒸煮蛋白两个组分。比较了牡蛎全肉、牡蛎提取液、牡蛎蒸煮蛋白对小鼠的醒酒效果。表 2 列出了牡蛎各组分灌胃剂中蛋白质、糖原和牛磺

表 2 牡蛎各灌胃剂中主要成分的含量

Table 2 Contents of the components in prepared oyster samples

灌胃剂 Prepared oyster sample		成分含量 Component content(mg/ml)		
		蛋白质 Protein	牛磺酸 Taurin	糖原 Glycogen
牡蛎全肉	Oyster meat	40	0.82	0.7
牡蛎提取液	Extract of oyster	40	5.82	n. d.
牡蛎蒸煮蛋白悬浊液	Cooked protein of oyster	40	0.05	0.7
牡蛎脱脂蛋白悬浊液	Defatted protein of oyster	40	n. d.	n. d.
牡蛎糖原	Oyster glycogen	n. d.	n. d.	0.7

酸的含量。表3列出了牡蛎蒸煮组分灌胃后小鼠血清中的乙醇浓度。从表2和表3可以看出,相对于生理盐水对照组,所有药物实验组的血清乙醇浓度均有不同程度的下降,乙醇浓度下降最明显的实验组为牡蛎蒸煮蛋白组,对比生理盐水对照组,血清乙醇浓度下降了40.3%。另外,从表2可以看出,牡蛎蒸煮蛋白中主要含有蛋白质和糖原,牛磺酸的含量可以忽略不计,却表现出极为显著的醒酒效果。目前,已有诸多报道称牛磺酸具有良好的醒酒作用(范建高等 1999;刘辉等 2003)。以上结果表明,除了牛磺酸外,牡蛎蒸煮蛋白中还可能含有一些对醒酒有作用的功能成分。

表3 小鼠灌胃后血液中的乙醇浓度

Table 3 Concentrations of alcohol in the serum of the mice with oral alcohol intake

实验组 Experiment group		小鼠数 Number of mice (n)	灌胃量 Oral dose (ml/20 g)	血清乙醇浓度 Concentration of alcohol in serum (mg/ml)
生理盐水对照	Control	10	0.4	8.23±0.36
牡蛎全肉	Oyster meat	10	0.4	5.70±0.69***
牡蛎提取液	Extract of oyster	10	0.4	5.60±0.73***
牡蛎蒸煮蛋白悬浊液	Cooked protein of oyster	10	0.4	4.91±0.68***

注:***与生理盐水组对比, $P<0.001$

表4 不同牡蛎组分灌胃后小鼠血液中的乙醇浓度

Table 4 Effect of oyster components on the concentration of serum alcohol for mice

实验组 Experiment group		小鼠数 Number of mice (n)	灌胃量 Oral dose (ml/20 g)	血清乙醇浓度 Concentration of alcohol in serum (mg/ml)
生理盐水对照	Control	10	0.4	8.23±0.36
牡蛎蒸煮蛋白悬浊液	Cooked protein of oyster	10	0.4	4.91±0.68***
牡蛎脱脂蛋白悬浊液	Defatted protein of oyster	10	0.4	7.98±0.22
牡蛎糖原溶液	Oyster glycogen	10	0.4	5.83±0.43***
牛磺酸溶液	Taurin (0.05 mg/ml)	10	0.4	4.63±0.65***

注:***与生理盐水组对比, $P<0.001$

表4显示,相对于生理盐水组,牡蛎蒸煮蛋白的醒酒效果与0.05 mg/ml的牛磺酸溶液效果相当。将牡蛎肉经脱脂、除牛磺酸和糖原后所得脱脂蛋白悬浊液无明显醒酒效果。牡蛎糖原和牛磺酸具有显著的醒酒作用。以上结果表明,牡蛎肉中牡蛎糖原和牛磺酸为醒酒作用的有效成分,二者分别使血醇浓度降低29.16%和43.74%;牡蛎肉中的蛋白质对醒酒作用没有贡献。

2.3 牡蛎中糖原的醒酒活性剂效关系

对小鼠按体重随机分组,分别给以不同浓度的糖原溶液,对照组给以等量的生理盐水,测定酒后血清中的乙醇浓度,结果见表5。从表5可以看出,牡蛎糖原的几个受试剂量中,存在明显的剂量-效应关系,即随着牡蛎糖原剂量的增加,醒酒效果显著增强,但增加到一定程度后效果有所减弱。在牡蛎糖原浓度为0.8 mg/ml时,小鼠血清中乙醇浓度极显著地降低49.41%;而当糖原浓度分别为0.4和1.6 mg/ml时,小鼠血液中的乙醇浓度分别降低了6.81%和37.21%。

表5 牡蛎糖原的醒酒活性剂效关系

Table 5 Effect of oyster glycogen on the concentration of alcohol in the serum of the mice

实验组 Experiment group		小鼠数 Number of mice (n)	糖原浓度 Concentration of glycogen (mg/ml)	灌胃量 Oral dose (ml/20 g)	血醇浓度 Concentration of alcohol in serum (mg/ml)
生理盐水组	Control	10	n. d.	0.4	8.52±0.41
低剂量组	Low dose	10	0.4	0.4	7.94±0.57
中剂量组	Medium dose	10	0.8	0.4	4.31±0.9*** ^{ΔΔ}
高剂量组	High dose	10	1.6	0.4	5.35±0.53***

注:*** $P<0.01$;***与生理盐水组对比, $P<0.001$;^{ΔΔ}与低剂量组对比, $P<0.01$

2.3 牛磺酸的醒酒作用剂效关系

表6 牛磺酸的醒酒活性剂效关系

Table 6 Effect of taurin on the concentration of alcohol in serum of the mice

实验组 Experiment group		小鼠数 Number of mice (n)	牛磺酸浓度 Concentration of taurin (mg/ml)	灌胃量 Oral dose (ml/20 g)	血醇浓度 Concentration of alcohol in serum (mg/ml)
生理盐水组	Control	10	n. d.	0.4	8.52±0.41
低剂量组	Low dose	10	0.05	0.4	4.46±0.31*** [△]
中剂量组	Medium dose	10	0.1	0.4	4.83±0.90***
高剂量组	High dose	10	0.2	0.4	5.64±0.46***

注: ** $P<0.01$; ***与生理盐水组对比, $P<0.001$; [△]与高剂量组对比, $P<0.05$

将小鼠按体重随机分组,将不同剂量的牛磺酸溶液对小鼠实施灌胃,对照组为生理盐水组。从表6可以看出,牛磺酸溶液随着浓度的升高,其醒酒效果有下降的趋势,在所考察的浓度范围内,浓度为0.05 mg/ml时醒酒效果最佳,可将小鼠血液中的乙醇浓度降低47.54%。

3 小结

通过研究牡蛎不同组分的醒酒效果发现,牡蛎肉中除了牛磺酸以外,糖原也具有显著的醒酒活性,二者分别将酒后小鼠血清中乙醇浓度降低了47.54%和49.41%,牡蛎肉中的蛋白质对醒酒作用没有贡献。相关资料表明,乙醇在血液中主要是通过乙醇脱氢酶及与氧有关的肝脏微粒体酶的乙醇氧化系统参与乙醇乙醛化来完成的(Harada *et al.* 1980; Petersen *et al.* 1977)。牡蛎肉中的牛磺酸和糖原的醒酒作用是否是通过激活这一系统来加速乙醇乙醛化实现醒酒,还有待于进一步研究。

参 考 文 献

- 尹淑敏,李风谦. 1994. 牡蛎的药用. 中国药学杂志, 29(12): 751~752
- 王元勋,赵利英,刘兆乾,孙宝海. 1993. 扇贝、牡蛎提取液的抗疲劳作用的实验研究. 体育科学, 13(6): 70~73
- 王 疑,马安伦,张惠珍,薛宝华,赵振军,傅方浩,周光炎. 1997. 牡蛎提取物抗肿瘤作用的实验研究. 中国海洋药物, 1: 18~22
- 王淑媛,王素英. 2007. 中性蛋白酶酶解玉米肽及其醒酒活性研究. 食品研究与开发, (4): 60~64
- 宁正祥. 2001. 食品成分分析手册. 北京: 中国轻工业出版社
- 吴海涛,张缪琪,朱蓓薇. 2005. 牡蛎水提液的抗氧化特性. 食品与发酵工业, 31(4): 42~45
- 刘 辉,金玉兰,周瑞华,徐应军. 2003. 牛磺酸对大鼠酒精性肝损伤保护作用的研究. 营养学报, 25(3): 290~292
- 任一平,黄百芬,胡红伟. 1995. 应用OPA柱前衍生法测定食品中的牛磺酸. 食品与发酵工业, 1: 43~48
- 何冬宁,何锡坤,许绍华,汪建平. 1997. 牡蛎提取液对大剂量致小鼠急性肝损伤的保护作用. 中国公共卫生学报, 16(3): 152~153
- 张部昌,高桂春,袁大鹏,毛春燕,李宝芳. 1999. 牡蛎口服液抗疲劳作用的研究. 安徽大学学报, 23(1): 103~106
- 范建高,曾民德,钟 岚,徐正婕,王国良. 1999. 牛磺酸、金牡蛎对大鼠酒精性肝损伤的防治作用. 肝脏, 4(3): 154~155
- 陈 骞,杨瑞金,顾聆琳. 2005. 牡蛎糖原的研究(I)——牡蛎糖原的分离提取和化学组成. 食品科学, 26(6): 99~101
- 项 伟,夏延斌,余望怡,邓后勤,李 蓉. 2006. 金葛露及其改良产品降低血液中乙醇浓度的作用研究. 食品研究与开发, 27(7): 74~77
- 高加龙,章超桦,刘书成,吉宏武. 2007. 邻苯二甲酰柱前衍生高效液相色谱法测定马氏珠母贝肉中牛磺酸含量. 广东海洋大学学报, 27(1): 55~58
- DuBois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., and Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem. 28(3): 350~356
- Harada, S., Misawa, S., Agarwal, D. P., and Goedde, H. W. 1980. Liver alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase in the Japanese: isozyme variation and its possible role in alcohol intoxication. Am. J. Hum. Genet. 32: 8~15
- Petersen, D. R., Collins, A. C., and Deitrich, R. A. 1977. Role of liver cytosolic aldehyde dehydrogenase isozymes in control of blood acetaldehyde concentrations. J. Pharmacol. Exp. Ther. 201: 471~481