

醋蛋液的醒酒功效及其潜在醒酒功能因子研究

赵梦鸽, 张 , 武玉群, 侯 焘

Research on the Anti-alcohol Effect of Vinegar Egg Liquid and Its Potential Sobering Functional Factors

ZHAO Mengge, ZHANG Xing, WU Yuqun, and HOU Tao

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020120123>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

荞麦蜂花粉多糖的分离纯化及结构鉴定

Isolation, Purification and Structure Identification of Polysaccharides from *Fagopyrum esculentum* Moench Bee Pollen

食品工业科技. 2020, 41(12): 35-40

生物活性肽的制备、分离纯化、鉴定以及构效关系研究进展

Research Progress on Preparation, Purification, Identification and Structure-Activity Relationship of Bioactive Peptides

食品工业科技. 2021, 42(5): 383-391

超声辅助果胶酶法提取红树莓花色苷及其成分测定

Ultrasonic-assisted Pectinase Extraction and Identification of Anthocyanins from *Rubus idaeus* L.

食品工业科技. 2018, 39(13): 198-205

大孔树脂纯化龙眼核多酚及其组分分析

Purification of Longan Seeds Polyphenols by Macroporous Resin and Its Component Analysis

食品工业科技. 2019, 40(16): 1-6, 13

核磁共振技术在食品脂质研究中的应用新进展

New advances of application of nuclear magnetic resonance technology in food lipid research

食品工业科技. 2017(12): 342-346

果胶与莲原花青素复合物理化性质及体外抑菌活性研究

Physical and Chemical Properties of Pectin-proanthocyanidin Complex and Its Antibacterial Activity *in Vitro*

食品工业科技. 2020, 41(16): 60-66, 80



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

赵梦鸽, 张婵, 武玉群, 等. 醋蛋液的醒酒功效及其潜在醒酒功能因子研究 [J]. 食品工业科技, 2021, 42(21): 370–376. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020120123

ZHAO Mengge, ZHANG Xing, WU Yuqun, et al. Research on the Anti-alcohol Effect of Vinegar Egg Liquid and Its Potential Sobering Functional Factors[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(21): 370–376. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020120123

醋蛋液的醒酒功效及其潜在醒酒功能因子研究

赵梦鸽^{1,2}, 张婵^{1,2}, 武玉群^{1,2}, 侯 焘^{1,2,*}

(1. 农业农村部蛋品加工重点实验室, 湖北武汉 430000;

2. 华中农业大学食品科技学院, 湖北武汉 430070)

摘 要: 本研究利用小鼠醉酒模型, 通过测定小鼠血液中乙醇含量、乙醇脱氢酶 (ADH)、谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST) 的活力探究在不同灌胃剂量及不同灌胃时间下, 醋蛋液的醒酒活性, 并对醋蛋液进行结构鉴定, 厘清醋蛋液发挥醒酒功能的活性因子。结果表明: 酒后 15 min 灌胃 54 mL/kg 醋蛋液时, 其醒酒效果最佳, 血醇清除率为 21.33%。同剂量下 (54 mL/kg) 与苹果醋、酸奶、“海王金樽”相比, 发现灌胃醋蛋液的小鼠其血醇清除率高于其他对照组。灌胃醋蛋液小鼠的血清乙醇脱氢酶 ADH 活力显著高于模型组、酸奶组与“海王金樽”组 ($P<0.05$), 而其肝脏中 ALT、AST 活力显著高于“海王金樽”组 ($P<0.05$)。结构鉴定结果表明, 醋蛋液的结构序列中含有较多的疏水性氨基酸如 Leu、Phe、Ala 等, 且含有如 Leu 簇 (Leu-Leu) 等结构单元。醋蛋液能激活 ADH 发挥良好的醒酒活性, 其作用可能与醋蛋液中含有较多的疏水性短肽和 Leu 簇短肽有关。

关键词: 醋蛋液, 醒酒, 血醇含量, 乙醇脱氢酶, 结构鉴定

中图分类号: TS253.9

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2021)21-0370-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2020120123

本文网刊:



Research on the Anti-alcohol Effect of Vinegar Egg Liquid and Its Potential Sobering Functional Factors

ZHAO Mengge^{1,2}, ZHANG Xing^{1,2}, WU Yuqun^{1,2}, HOU Tao^{1,2,*}

(1. Key Laboratory of Egg Processing, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Wuhan 430000, China;

2. College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: In order to explore the anti-alcohol mechanism of vinegar egg liquid on mice after acute alcoholism at different gavage doses and gavage times, blood alcohol concentration was determined by gas chromatography, and activity of alcohol dehydrogenase (ADH), alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) were also determined. Moreover, the structures of vinegar egg liquid were identified, aiming to explore the active factors that exert the functions of sobering. The results showed that when 54 mL/kg of vinegar egg liquid was given to the stomach (1 bottle) 15 minutes after alcohol gavage, the sobering effect was the best, and the blood alcohol clearance rate was 21.33%. The blood alcohol clearance rate of mice fed with vinegar egg liquid was higher than that of other three groups at the same dose (54 mL/kg), indicating that the rate of vinegar egg liquid was better than apple cider vinegar, yogurt, and "Neptune Golden Bottle". The serum ADH activity of mice gavaged with vinegar egg liquid was significantly higher than that of the model group, yogurt group and "Neptune Golden Bottle" group ($P<0.05$), while the liver ALT and AST activities were significantly higher than those of the "Neptune Golden Bottle" group ($P<0.05$). Structural identification analysis showed that most of its structural sequence contained hydrophobic amino acids such as Leu, Phe, Ala and a large number of structural units, such as Ala, Leu and Leu cluster (Leu-Leu). The vinegar egg liquid can activate ADH and has good sobering activity, which may be related to the hydrophobic short peptides, short peptides containing Ala and Leu, and the Leu cluster short peptides in the vinegar-egg liquid.

收稿日期: 2020-12-16

作者简介: 赵梦鸽 (1995-), 女, 博士研究生, 研究方向: 生物活性肽与分子营养, E-mail: zhaomenggehzau@163.com。

* 通信作者: 侯焘 (1989-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 生物活性肽与分子营养, E-mail: houtao@mail.hzau.edu.cn。

Key words: vinegar egg liquid; anti-alcohol; blood alcohol concentration; alcohol dehydrogenase; structure identification

目前,酒精所引发的健康风险已是一个不容忽视的问题。全球肝病病因学研究显示,超过 1.5 亿人的肝病可归于饮酒^[1]。长期或过量摄入酒精是诱发酒精性肝损伤的直接原因,同时,过量饮酒不仅会对中枢神经系统、心脏、消化道和生殖系统造成不良影响,还会导致营养失调和患癌率增高。酒精进入体内后 90% 在肝脏中代谢,其中有三个系统参与代谢:乙醇脱氢酶(ethanol dehydrogenase, ADH)系统、微粒体乙醇氧化系统以及过氧化氢酶系统^[2]。ADH 催化绝大部分的乙醇生成乙醛和自由基,多数乙醛会经乙醛脱氢酶转化为乙酸^[3],最终转化为二氧化碳和水^[4]。另一方面,乙醇的代谢会导致活性氧的产生,这些自由基不但促进细胞氧化和炎症因子释放,还能迅速与乙醇分子结合,形成活性代谢产物,使肝细胞表面脂质过度氧化,进而阻碍肝细胞代谢脂肪酸^[5],引发肝损伤。因此,开发具有促进酒精代谢的功能食品具有重要意义。

近年来,具有醒酒作用的天然活性物质日益受到关注。例如姜黄素、多糖、牛磺酸和小分子肽类等均被证明有醒酒的功效^[6-8]。隋玉杰等^[9-10]通过体外实验表明,经中性蛋白酶和碱性蛋白酶水解得到的玉米肽都可激活 ADH 活性,且中性蛋白酶水解得到的玉米肽对激活 ADH 效果更好。随后,郭辉等^[11]通过动物实验证实玉米肽在体内可以激活 ADH 活性,促进乙醇代谢。马芝丽^[12]详细研究了玉米五肽 QLLPF 的醒酒活性,发现五肽 QLLPF 对小鼠酒后体内乙醇的清除有显著的作用,当其剂量仅为混合肽剂量的 1/20(10 mg/kg·bw)时,呈现更高的血醇清除率(35.00%)。

醋蛋液是我国的传统产品,具有原料来源广、受制因素少等优点。在醋蛋液的制作过程中,鸡蛋中的蛋白质、脂肪酸等在醋酸的水解作用下被降解,形成大量的低分子化合物和活性成分,如蛋白寡肽、溶菌酶、胆碱、卵磷脂、阿维丁、生物素、碳酸钙等,其不仅易于被人体吸收利用,同时还展现出了多种生物功能^[13]。刘华桥等^[14]通过测量饮酒后成年男性血压与血醇含量,发现醋蛋液具有一定的降低血压的功效以及醒酒活性。然而,目前针对醋蛋液醒酒作用的活性因子及其作用机理的研究尚未见文献报道。因此,本研究以醋蛋液为研究对象,利用小鼠醉酒模型,以苹果醋、酸奶、“海王金樽”为对照,考察醋蛋液醒酒作用的量效关系和时效关系,并利用 nano-LC-MS/MS 对经过体外模拟消化后的醋蛋液的结构进行分析鉴定,以期醋蛋液发挥醒酒功效的关键因子提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

健康雄性昆明小鼠,体质量(20±2)g 购自三峡

大学实验动物中心,实验动物许可证号为 SCXK(鄂)2020-0018;“神丹 1 号”醋蛋液 湖北神丹健康食品有限公司;“天地壹号苹果醋” 天地壹号饮料股份有限公司;风味发酵酸奶 光明乳业股份有限公司;“海王金樽”牡蛎大豆肽肉碱口服液 深圳市海王健康科技发展有限公司;乙醇脱氢酶(ADH)检测盒(20180709)、谷丙转氨酶(ALT)检测盒(20181227)、谷草转氨酶(AST)检测盒(20181227) 南京建成生物研究所;无水乙醇(分析级)、无水乙醇(色谱级)、正丁醇(色谱级)等生化试剂 国药集团化学试剂有限公司。

UV-102-02FW 紫外-可见分光光度计 日本岛津公司;SP-7890 气相色谱仪 美国 Agilent 公司;Orbitrap FUSION LUMOS 质谱仪 美国 Thermo Scientific 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 动物实验及分组

1.2.1.1 不同剂量醋蛋液对酒后小鼠血清乙醇含量的影响 将体重为(20±2)g 昆明种雄性小鼠适应一周后随机分为 6 组,每组 8 只,分别为:空白组、模型组、醋蛋液 0.5 瓶(27 mL/kg·bw)、醋蛋液 1.0 瓶(54 mL/kg·bw)、醋蛋液 1.5 瓶(81 mL/kg·bw)、醋蛋液 2.0 瓶(108 mL/kg·bw)剂量组,实验前 12 h 禁食不禁水。所有组(除空白组)灌胃 53% 的酒精溶液(10 mL/kg·bw),15 min 后,小鼠灌胃相应剂量的醋蛋液(模型组灌胃相应剂量的生理盐水),以灌胃酒精时间为基准,50 min 后处死小鼠,眼眶取血,收集全血样本。

1.2.1.2 醋蛋液的作用时间对酒后小鼠血清乙醇含量的影响 昆明种雄性小鼠 64 只,适应一周后随机分为 8 组,每组 8 只,分别为:空白组、模型组、酒前 30 min、酒前 15 min、酒前 5 min、酒后 5 min、酒后 15 min、酒后 30 min,实验前 12 h 禁食不禁水。模型组灌胃生理盐水(灌胃时间与醋蛋液组灌胃酒精时间一致),酒前给药组分别在灌胃 54 mL/kg·bw 的醋蛋液(1.0 瓶)后 30、15、5 min 灌胃 53% 酒精溶液(10 mL/kg·bw);酒后给药组分别在灌胃 53% 酒精溶液(10 mL/kg·bw)后 5、15、30 min 灌胃 54 mL/kg·bw 的醋蛋液(1.0 瓶)。以灌胃酒精时间为基准,50 min 后处死小鼠,眼眶取血,收集全血样本。

1.2.1.3 醋蛋液与其他醒酒饮料醒酒效果 昆明种雄性小鼠 48 只,适应一周后随机分为 6 组,每组 8 只,分别为空白组、模型组、醋蛋液(54 mL/kg·bw)、苹果醋(54 mL/kg·bw)、酸奶(54 mL/kg·bw)、海王金樽(54 mL/kg·bw)组,实验前 12 h 禁食不禁水。所有组灌胃 53% 的酒精溶液,15 min 后,小鼠灌胃相应剂量的醋蛋液或市售样品(模型组灌胃相应剂量的生理盐水),以灌胃酒精时间为基准,50 min 后处死

小鼠,眼眶取血,收集全血与肝脏样本。

1.2.2 气相色谱法测定小鼠血清中乙醇含量 仪器条件:气相色谱仪(SP-7890),TG-WAXMS 毛细管色谱柱:30.0 m×0.25 mm×0.25 μm,进样口温度 150 ℃,FID 检测器,温度 250 ℃,进样量 1 μL,程序升温从 40 ℃ 开始,以 5 ℃/min 的速度增加到 60 ℃,然后以 20 ℃/min 的速度增加到 120 ℃,并保留 3 min。

方法:内标物为 0.05% 的正丁醇标准溶液。分别配制 0.2%、0.4%、0.6%、0.8%、1.0% 的乙醇(色谱级)标准溶液,将不同浓度的乙醇标准溶液与内标物以 1:8 的体积比混匀,上机测定,以乙醇与正丁醇的峰面积比值对乙醇标准溶液的浓度作标准曲线。将上述小鼠全血在 10000 r/min 的转速下低温(4 ℃)离心 10 min,用移液枪定量移取血清至离心管中,并用封口膜封口后,置于-20 ℃ 冰箱冷冻保存,防止乙醇挥发。吸取 50 μL 血清与 0.05% 正丁醇以 1:8 的体积比混匀后上机测定,记录乙醇及正丁醇的峰面积,并通过标准曲线(拟合方程 $y=1.6355x+0.0042$,相关系数=0.9988,计算样品中的乙醇浓度,此值即为所测得的血醇浓度^[12]。

1.2.3 肝脏谷丙转氨酶、谷草转氨酶活力 将 1.2.1.3 所述小鼠处死后解剖取肝脏并用生理盐水漂洗,取适量肝脏,按重量(g):体积(mL)=1:9 的比例,加入 9 倍体积的生理盐水,冰水浴条件下机械匀浆,2500 r/min,离心 10 min,取上清液按照试剂盒说明直接测定肝脏中谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)活性。

1.2.4 血清乙醇脱氢酶活力 将 1.2.1.3 所述小鼠血清中乙醇脱氢酶活性按照试剂盒说明直接进行测定。

1.2.5 醋蛋液醒酒肽的结构鉴定 取 100 μg 醋蛋液(酶解蛋白总量根据项目要求调整)加入到 1.5 mL 离心管中;按胰蛋白酶(μg):底物蛋白(μg)=1:20 加入酶液,涡旋振荡后,低速离心 1 min,37 ℃ 孵育 4 h;取出消化好的肽段液进行除盐操作;将除盐后得到的肽段液冷冻抽干(<50 Pa, -37 ℃, 12 h)。抽干的肽段样品用流动相 A(2% 乙腈, 0.1% 甲酸)复溶,20000×g 离心 10 min 后,取上清进样。通过 UltiMate 3000 UHPLC 进行分离。样品首先进入 trap 柱富集并除盐,随后与自装 C₁₈ 柱(75 μm 内径, 3 μm 柱料粒径, 25 μm 柱长)串联,以 300 mL/min 流速通过如下有效梯度进行分离:0~5 min, 5% 流动相 B(98% 乙腈, 0.1% 甲酸);5~45 min, 流动相 B 从 5% 线性升至 25%;45~50 min, 流动相 B 从 25% 升至 35%;50~52 min, 流动相 B 从 35% 升至 80%;52~54 min, 80% 流动相 B;54~60 min, 5% 流动相 B^[15]。纳升液相分离末端直接连接质谱仪。

经过液相分离的肽段通过 NanoESI 源离子化后进入到串联质谱仪 Orbitrap Fusion Lumos 进行 DDA(Data Dependent Acquisition)模式检测。其主

要参数设置为:离子源电压设置为 2 kV;一级质谱扫描范围 350~1500 m/z;分辨率设置为 60000;二级质谱起始 m/z 固定为 100;分辨率 15000。二级碎裂的母离子筛选条件为:电荷 2⁺到 6⁺,峰强度超过 20000 的强度排在前三的母离子。离子碎裂模式为 HCD,碎片离子在 Orbitrap 中进行检测。动态排除时间设定为 30 s。AGC 设置为:一级 1E5,二级 2E4。

1.3 数据处理

每个实验均重复三次,实验结果采用平均数±标准差的方式表示,应用统计分析软件 SPSS25.0 进行单因素方差分析(one-way ANOVA),结果判定标准为: $P<0.05$ 表示差异显著; $P<0.01$ 表示差异极显著。图采用软件 Graphpad Prism7.0 绘制。

2 结果与分析

2.1 不同剂量醋蛋液对酒后小鼠血清乙醇含量的影响

如表 1 所示,灌胃 27 mL/kg·bw 醋蛋液(0.5 瓶)具有一定的醒酒效果,但是其小鼠血醇浓度与乙醇模型组相比无显著性差异($P>0.05$);醋蛋液在灌胃剂量为 54 mL/kg·bw 时(1.0 瓶),血醇清除率为 16.97%;剂量为 81 mL/kg·bw 时(1.5 瓶),其血醇清除率为 13.78%;剂量为 108 mL/kg·bw 时(2 瓶),血醇清除率为 15.71%。在 1.0 瓶剂量下,醋蛋液内的活性因子已经达到发挥醒酒效果的峰值,因此继续增加灌胃剂量没有得到更加强烈的效果。这与张自然^[16]的研究保持一致,即牡蛎肉中醒酒活性成分并非含量越高,醒酒效果越好。并且醋蛋液的醒酒作用可能是由于醋蛋液能够在小鼠胃肠道内形成一层屏障,阻止酒精的体内吸收,而 1.0 瓶的剂量足够形成保护屏障,增加灌胃剂量不会有进一步的增效效果。因此,后续实验将使用 1.0 瓶醋蛋液为最优剂量,通过血醇浓度测定实验,探究不同作用时间的醋蛋液的醒酒效果。比较灌胃醋蛋液 1.0 瓶、1.5 瓶、2.0 瓶组小鼠血醇浓度,可以发现三者之间醒酒效果没有显著性差异,因此从经济利益考虑,采用 1.0 瓶醋蛋液为最佳灌胃剂量。

表 1 醋蛋液灌胃剂量与血醇浓度

Table 1 Intragastric dose of vinegar egg liquid and serum alcohol concentration

组别	剂量(mL/kg·bw)	血醇浓度(mg/mL)	血醇清除率(%)
空白组	—	—	—
模型组	—	0.515±0.041 ^a	—
醋蛋液0.5瓶	27	0.495±0.073 ^{ab}	3.96
醋蛋液1.0瓶	54	0.428±0.058 ^c	16.97
醋蛋液1.5瓶	81	0.444±0.053 ^{bc}	13.78
醋蛋液2.0瓶	108	0.434±0.064 ^c	15.71

注:不同字母表示差异具有统计意义($P<0.05$);表2、表3同。

2.2 醋蛋液的作用时间对酒后小鼠血清乙醇含量的影响

由表 2 所示,酒前 30、15、5 min 灌胃醋蛋液后,其血醇清除率随灌胃时间的增加而增加,在灌胃乙醇前 30 min 给予醋蛋液时,醒酒效果最佳,其血醇清除率达到 20.70%,而酒前 15 min 和 5 min 醒酒效果不

显著($P>0.05$)。酒后 5、15、30 min 灌胃醋蛋液后,其血醇清除率随灌胃时间的增加而增加,血醇清除率分别为 20.04%、21.33%、23.94%,但这三组之间小鼠血醇浓度没有显著性差异($P>0.05$)。酒前灌胃具有一定醒酒效果是因为醋蛋液在胃壁上形成一层保护屏障,阻止酒精的吸收。但是酒前灌胃醋蛋液的醒酒效果普遍次于酒后灌胃可能是因为只有机体摄入酒精后,醋蛋液才能够激活 ADH,发挥醒酒效果。后续实验将使用血醇清除率最高的灌胃时间为最佳时间,即酒后 15 min 和 30 min,考虑到时间成本,最终选择酒后 15 min 为最佳灌胃时间,通过血醇浓度测定实验比较醋蛋液与其他市售饮料或功能食品的醒酒效果。

表 2 醋蛋液灌胃时间与血醇浓度
Table 2 Intragastric administration time of vinegar egg liquid and serum alcohol concentration

组别	剂量(mL/kg·bw)	血醇浓度(mg/mL)	血醇清除率(%)
空白组	—	—	—
模型组	—	0.506±0.122 ^a	—
酒前30 min	54	0.401±0.119 ^b	20.70
酒前15 min	54	0.431±0.062 ^{ab}	14.70
酒前5 min	54	0.458±0.051 ^{ab}	9.31
酒后5 min	54	0.404±0.070 ^b	20.04
酒后15 min	54	0.398±0.064 ^b	21.33
酒后30 min	54	0.384±0.056 ^b	23.94

2.3 醋蛋液与其他醒酒饮料对酒后小鼠血清乙醇含量的影响

由表 3 数据可知,在摄入相同剂量的四种饮料时,醋蛋液具有最优异的醒酒效果。与模型组相比,灌胃醋蛋液与酸奶后,其小鼠血醇浓度显著下降($P<0.05$),血醇清除率分别为 20.82% 和 16.03%;灌胃苹果醋与“海王金樽”后,在血醇浓度数据上具有一定的醒酒效果,但是与乙醇模型组相比,没有显著性差异($P>0.05$)。有研究发现,食用型果醋与酸奶均具有一定醒酒效果^[17-18],海王金樽牌牡蛎大豆肽口服液具有对化学性肝损伤有辅助保护作用、缓解体力疲劳的功能。以上结果表明醋蛋液具有良好的醒酒效果,且在同一剂量下优于苹果醋、酸奶、“海王金樽”。

表 3 不同醒酒饮料与血醇浓度
Table 3 Different sobering-up drinks and serum alcohol concentration

组别	剂量(mL/kg·bw)	血醇浓度(mg/mL)	血醇清除率(%)
空白组	—	—	—
模型组	—	0.487±0.060 ^a	—
醋蛋液	54	0.386±0.070 ^b	20.82
苹果醋	54	0.429±0.070 ^{ab}	11.85
酸奶	54	0.409±0.064 ^b	16.03
海王金樽	54	0.452±0.076 ^{ab}	7.30

2.4 醋蛋液与其他醒酒饮料对酒后小鼠肝脏 ALT、AST 活力的影响

血清谷丙转氨酶是一种肝细胞内丙酮酸和谷氨

酸的转氨酶,在肝细胞浆内生存,而谷草转氨酶则是在肝细胞浆的粒体中。如果肝细胞受到损伤,就会使血清中谷丙转氨酶和谷草转氨酶的水平增高,因此,谷丙转氨酶水平、谷草转氨酶可作为检测肝功能损害的比较敏感指标^[19-20]。如图 1 所示,仅以“海王金樽”灌胃小鼠时,其肝脏中 ALT 活力显著低于乙醇模型组($P<0.05$)。如图 2 所示,以酸奶与“海王金樽”灌胃小鼠时,其肝脏中 AST 活力均显著低于乙醇模型组($P<0.05$),灌胃醋蛋液与苹果醋后,小鼠肝脏中 AST 活力与乙醇模型组相比无显著性差异($P>0.05$)。“海王金樽”牡蛎提取物含有糖原、牛磺酸、甘氨酸、蛋氨酸、胱氨酸、谷氨酸等各种氨基酸,可以分解体内的毒素并将其运输到体外从而起到保肝功能^[21]。以上结果结合表 3 中小鼠血清血醇清除率,表明醋蛋液、苹果醋、酸奶等均具有一定的醒酒效果,且醋蛋液醒酒效果最为优异;“海王金樽”具有良好的保肝作用,但是其醒酒效果远远低于醋蛋液等。

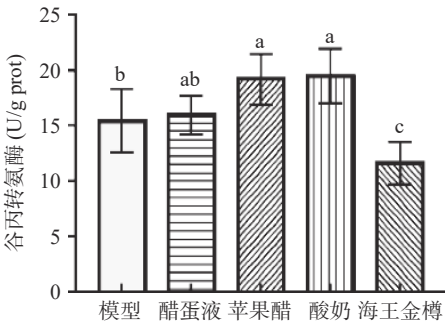


图 1 各组醒酒饮料对酒后小鼠肝脏谷丙转氨酶活力的影响
Fig.1 Effect of various sobriety drinks on the liver alanine transaminase activity of mice after alcoholic beverages
注: 不同字母表示差异具有统计意义($P<0.05$); 图 2、图 3 同。

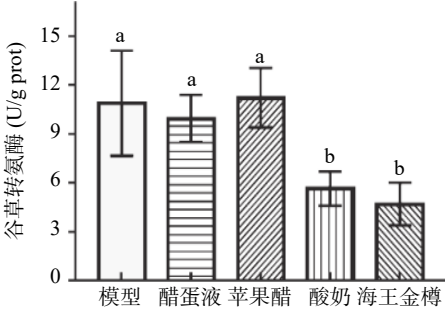


图 2 各组醒酒饮料对酒后小鼠肝脏谷草转氨酶活力的影响
Fig.2 Effect of various sobriety drinks on the liver aspartate aminotransferase activity of mice after alcoholic beverages

2.5 醋蛋液与其他醒酒饮料对酒后小鼠血清 ADH 活力的影响

正常情况下,进入人体内的乙醇 90% 以上是在脱氢酶系统——乙醇脱氢酶和乙醛脱氢酶的催化作用下完成代谢的,ADH 可以直接参与酒精的代谢,催化乙醇氧化为乙醛,产物乙醛又通过乙醛脱氢酶转变为乙酸,最终转化为二氧化碳和水^[22],ADH 活力水平是人体乙醇代谢的关键^[23]。如图 3 所示,与乙醇模型组比较,灌胃醋蛋液和苹果醋后,小鼠血清中

ADH 活力显著升高($P<0.05$), 灌胃酸奶和“海王金樽”后, 小鼠血清 ADH 活力有所上升, 但是均未达显著水平($P>0.05$)。以上结果说明醋蛋液具有良好的醒酒功效, 且与苹果醋的醒酒效果持平, 并优于酸奶与“海王金樽”。

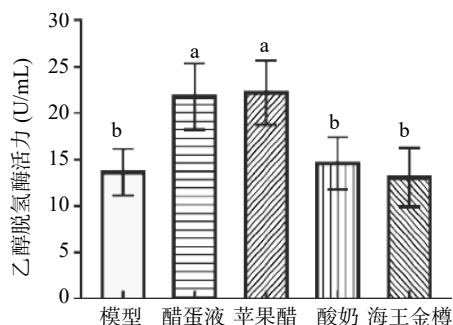


图3 各组醒酒饮料对酒后小鼠血清乙醇脱氢酶活力的影响
Fig.3 Effect of various sobriety drinks on the serum ethanol dehydrogenase activity of mice after alcoholic beverages

2.6 醋蛋液醒酒肽的结构鉴定

醋蛋液总离子流图如图4所示。蛋白质谱鉴定主要是通过实验串联质谱数据, 与数据库模拟得到的

理论质谱数据进行匹配。利用 UniProt、NCBI 和 Ensembl 提供的在线质谱数据库进行比对, 确定最终的肽段结构见表4。然后基于非标记定量蛋白质组学分析(intensity-based absolute-protein-quantification, iBAQ)算法, 将每个蛋白组中总的峰面积除以理论能够观察到的肽段数目, 从而获得最终的 iBAQ 值。

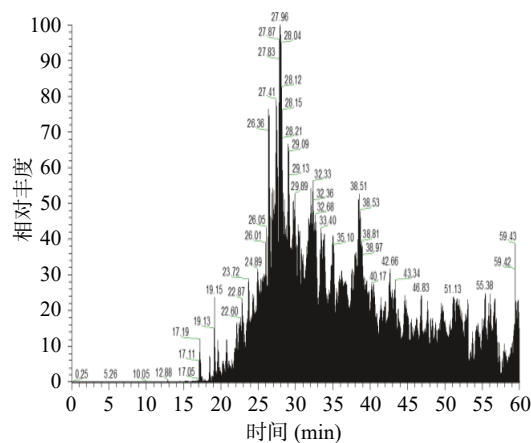


图4 醋蛋液的总离子流图

Fig.4 Total ion chromatogram of vinegar egg liquid

表4 醋蛋液的结构解析结果

Table 4 Peptides identified from vinegar egg liquid using nano-LC-MS/MS

序号	肽序列	iBAQ	序号	肽序列	iBAQ
1	LPFSIK	9207.9	36	MSPHHWYPVR	48177.8
2	LPLPLG	7072.7	37	LPENAYLLKVR	3240172.9
3	PIQLLK	20970.2	38	ADTYFDNYRVG	3240172.9
4	IDFLTK	5711981.1	39	KDSNVNWNLLK	1206666.7
5	DLFILK	607728.8	40	IAAEGQLQEMFVR	1378767.2
6	YSKVIR	3240172.9	41	KILDDTDNQATR	1378767.2
7	LPLLSPK	3029402.1	42	DLFLKDSAIMLK	1206666.7
8	ISLTVIK	200302.1	43	LLQMPLIRVK	8602.7
9	IPIPIR	66201.3	44	NFHFTFDHVK	75135.6
10	ADVISSLK	0	45	LPDMILYQKAVR	3240172.9
11	DVHILLK	816777.3	46	EILNMAQYQPSR	697402.6
12	KLNFIK	0	47	IEDLKSHVEALK	697402.6
13	LQEMFVR	1378767.2	48	DVIPPGITIVAQAVR	1378767.2
14	LSSKLEISG	3240172.9	49	VDSKCYSTEPVLR	3240172.9
15	FDAKIDVK	3240172.9	50	LPLEYGSYTTALAR	3240172.9
16	LFLPPYLAG	67786.8	51	NVPLYNAIGEHALR	1378767.2
17	KSLWDILK	697402.6	52	SHEIDMHPVNGQVK	3240172.9
18	IEAHVSVKAG	697402.6	53	ISQAVHAAHAEINEAG	0
19	LPLSLPVGPR	3240172.9	54	MSFKPVYSDVPIEK	1378767.2
20	LPENAYLLK	3240172.9	55	VEGNVIFDPSSYPVK	697402.6
21	AQSDFGVDTK	1206666.7	56	SELLQLPVHLFKIK	1378767.2
22	QQLTLVEVR	3240172.9	57	DDNKVEDIWSFLSK	1206666.7
23	SDVEKFLK	85215.6	58	DASFIQNTYLHLKIG	3240172.9
24	AQIEEVLQR	0	59	SFVASHIANILDSDEVG	697402.6
25	ALKLMHLLR	1378767.2	60	EALQPIHDLADEAISR	3240172.9
26	HNRSQEVVK	84047.6	61	LYPEKDEPLNVLNLK	697402.6
27	QFAAHPAIQVK	84047.6	62	NILQNNADKAYMFAAR	697402.6
28	QMKLLINLIK	0	63	LVLNMPANKNSVPITVR	11748.2
29	DSNVNWNLLK	1206666.7	64	ASLWIHNENQGFALAAPG	3240172.9
30	VEDIWSFLSK	1206666.7	65	NVIFDPSSYPKETMLK	697402.6
31	LQELNIQKIK	697402.6	66	EILNMAQYQPSRASFYG	697402.6
32	AVILNLEKLIK	697402.6	67	QVVSMAELIHSDKDLFILK	607728.8
33	ILDDTDNQATR	1378767.2	68	VEMNSNIFHESGIEAHVSVK	697402.6
34	LSLSARTAEVTK	607728.8	69	IVLMPVHTDADIDKIQLEIQAG	3240172.9
35	STTSYYAVAVVK	1206666.7			

利用 nano-LC-MS/MS 对经过体外模拟消化后的醋蛋液进行了分析鉴定。通过与数据库比对,从醋蛋液中共发现 69 条多肽序列与鸡蛋源高度吻合。鉴定出的肽段以 8~12 肽为主,分子质量在 700~3100 u 之间。研究表明,分子量小于 5 ku 的玉米肽具有较强的血醇清除效果^[24],醋蛋液中的肽段分子量较小,这是其发挥醒酒作用的基础。从表 4 可知, IDFLTK, ADTYFDNYRVG, ASLWIHNENQGFAL-AAPG, DASFIQNTYLHKLIG, EALQPIHDLADE-AISR, FDAKIDVK, IVLMPVHTDADIDKIQLEI-QAG, LPDMILYQKAVR, LPENAYLLK, LPENAYLLKVR, LPLEYGSYTTALAR, LPLSLVGPGR, LSSKLEISG, QQLTLVEVR, SHEIDMHPVNGQVK, VDSKCYSTEPVLR, YSKVIR 具有较高的 iBAQ 值,表明这些肽段在醋蛋液中具有较高的丰度。

此外,醋蛋液中含有大量的疏水性氨基酸,如苯丙氨酸(Phe, F)、亮氨酸(Leu, L)、异亮氨酸(Ile, I)和丙氨酸(Ala, A)。研究发现, L 和 A 具有促进酒精代谢、清除自由基和防止脂质过氧化等活性^[25], 69 条序列中仅有 8 条序列完全不含有 L 和 A。同时,鉴定所得的多肽序列中含有丰富的抗氧化特征氨基酸,如 L、F 和脯氨酸(Pro, P), 53 条含有支链氨基酸 L, 29 条含有支链氨基酸 F, 41 条含有支链氨基酸 P。值得注意的是,表 4 所述序列中, 16 条肽段的端基存在 L, 10 条肽段序列含有 L-L(Leu-Leu)重复结构单元。

3 讨论与结论

数据分析显示,灌胃 1.0 瓶、1.5 瓶、2.0 瓶醋蛋液组均具有一定的醒酒效果,其中以灌胃 1.0 瓶醋蛋液醒酒效果最佳。酒前 30 min 给醋蛋液醒酒效果优于酒前 15 min 和 5 min 给醋蛋液,酒后 5、15、30 min 灌胃醋蛋液,均具有优异的醒酒效果,且三种灌胃时间的平均血醇清除率相差不显著($P>0.05$)。通过与市面上具有一定醒酒效果的饮料—苹果醋、酸奶、“海王金樽”相比,醋蛋液具有优于这三种饮料的醒酒效果。苹果醋虽然有一定的解酒效果,但因其富含二氧化碳会加速酒精在全身的扩散和渗透,导致酒精未被分解就被人体吸收,解酒效果不佳。酸奶中含有乳酸菌、乳酸、乳清酸等物质,促进人体肠道有益菌的增殖同时抑制有害菌的增殖,使机体对脂肪的吸收与利用增加,以降低心肌张力从而减小血管阻力促进新陈代谢起到醒酒效果^[14]。醋蛋液中富含三羧酸循环中相关的含酶、辅酶及有机酸等使三羧酸循环和心血管血液循环顺畅,从而促进新陈代谢发挥醒酒功效^[13]。乙醇脱氢酶系在乙醇代谢中起着十分重要的作用,其活性的高低决定了酒精在人体内的代谢速度^[26]。实验结果表明,灌胃醋蛋液小鼠的血清乙醇脱氢酶活力高于对照组,而其肝脏中 ALT、AST 活力显著高于“海王金樽”组($P<0.05$)。

已有研究表明,玉米肽因其富含疏水性短肽,能够激活 ADH3,促进乙醇代谢,从而起到解酒功效^[8,11]。

对醋蛋液成分进行结构鉴定,发现其结构序列中含有较多的疏水性氨基酸如 L、F 和 A 等。疏水性氨基酸的存在也有利于活性物质在体内发挥活性^[27-28],因为疏水性氨基酸可以改善肽段的脂溶性,使肽段更容易通过肠粘膜细胞的脂质屏障与脂肪酸自由基结合。此外, A 和 L 还与三羧酸循环中的氧化型辅酶 1 的产生密切相关,使三羧酸循环和心血管血液循环顺畅,从而促进新陈代谢,发挥醒酒功效^[29]。鉴定所得的多肽序列中还含有丰富的具有抗氧化活性贡献的氨基酸,如 L、F 和 P,芳香族氨基酸如 Phe 能够提供电子将自由基转化为稳定的分子从而发挥其抗氧化功能^[30]; Pro 可抵抗乙醇的代谢产生的活性氧,从而抑制细胞氧化和炎症因子释放,使乙醇诱导的肝细胞表面脂质过度氧化减缓^[31]; Leu 的疏水性侧链基团可以增加水-油界面肽的存在量,使其更易接近并清除脂相所产生的自由基,防止脂质过氧化^[25]。更重要的是,从醋蛋液中鉴定的肽结构中发现了较多的 L-L 单元,此单元序列在醒酒玉米肽、源于朴树种子的抗氧化肽、降血压肽中也有发现,其存在显著影响醒酒活性的发挥^[12]。

饮用醋蛋液可以促进血醇代谢,酒前饮用醋蛋液不仅具有解酒功效还可以保护胃黏膜不受损。醋蛋液能激活 ADH,其醒酒效果可能与其有较多由疏水性氨基酸组成的多肽序列有关,且含有大量对醒酒有作用的结构单元,如 Ala、Leu 及 Leu 簇(Leu-Leu)等。建议在酒后 15 min 以上时或酒前 30 min 时,饮下 1~2 瓶醋蛋液,以发挥其醒酒效果。

参考文献

- [1] 张明媛,牛俊奇. 东方国家原发性肝癌发病趋势及影响因素[J]. 临床肝胆病杂志, 2018, 34(7): 1399-1402. [Zhang M Y, Niu J Q. Prevalence of primary liver cancer in Eastern countries and related influencing factors[J]. *Journal of Clinical Hepatobiliary Diseases*, 2018, 34(7): 1399-1402.]
- [2] 丁荣荣. 壳寡糖对急性酒精性肝损伤的保护作用研究[D]. 无锡: 江南大学, 2019 [Ding R R. Study on hepato protective activity of chitooligosaccharide on acute alcoholic liver disease[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2019.]
- [3] Sugimoto K, Takei Y. Pathogenesis of alcoholic liver disease[J]. *Hepatology Research the Official Journal of the Japan Society of Hepatology*, 2017, 47(1): 70-79.
- [4] Teschke R. Alcoholic liver disease: Alcohol metabolism, cascade of molecular mechanisms, cellular targets, and clinical aspects[J]. *Biomedicine*, 2018, 6(4): 106.
- [5] Cederbaum A I. Cytochrome P450 2E1-dependent oxidant stress and upregulation of anti-oxidant defense in liver cells[J]. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2006, 21(Supplement 3): S22-S25.
- [6] 朱晔,田会婷,郭呈斌,等. 姜黄素-玉米肽复合物的制备及其对小鼠的醒酒保肝作用研究[J]. 河南大学学报:医学版, 2019, 38(1): 16-20. [Zhu Y, Tian H, Guo C, et al. Study on the preparation of curcumin-corn peptide complex and its effect on anti-alcoholism and hepatic-protection[J]. *Journal of Henan*

University: Medical Edition, 2019, 38(1): 16–20.]

[7] 杨建成, 吴高峰, 刘梅, 等. 牛磺酸解酒防醉作用的研究[J]. *安徽农业科学*, 2012(4): 2062–2063. [Yang J C, Wu G F, Liu M, et al. Study on relieving alcoholism and preventing drunkenness effect of taurine[J]. *Anhui Agricultural Sciences*, 2012(4): 2062–2063.]

[8] 于国才. 新型高活性玉米醒酒保肝肽的制备、活性与结构[D]. 武汉: 华中农业大学, 2010 [Yu G C. Preparation, activity and structures of neotype potent bioactive corn peptides as alcohol metabolism stimulator and hepato protective agent[D]. Wuhan: Huazhong agriculture university, 2010.]

[9] 隋玉杰, 何慧, 王进, 等. 中性蛋白酶及碱性蛋白酶制备玉米粗肽的醒酒活性比较[J]. *中国粮油学报*, 2006(3): 102–106. [Sui Y J, He H, Wang J, et al. Comparison the anti-alcoholism bioactivities between corn crude peptides prepared by neutrase and alcalase[J]. *Journal of the Chinese Cereals Oils Association*, 2006(3): 102–106.]

[10] 隋玉杰, 何慧, 石燕玲, 等. 玉米肽的醒酒活性体外试验及其醒酒机理研究[J]. *中国粮油学报*, 2008, 23(5): 54–58. [Sui Y J, He H, Shi Y L, et al. A study on mechanism and tests *in vitro* for corn peptides facilitating alcohol metabolism[J]. *Journal of the Chinese Cereals Oils Association*, 2008, 23(5): 54–58.]

[11] 郭辉, 何慧, 韩樱, 等. 玉米肽对小鼠酒后肝脏乙醇脱氢酶活力的影响及醒酒机理[J]. *食品科学*, 2011, 32(11): 265–269. [Guo H, He H, Han Y, et al. Effect of corn peptides on alcohol dehydrogenase activity in live of mice after drinking and its anti-alcohol mechanism[J]. *Food Science*, 2011, 32(11): 265–269.]

[12] 马芝丽. 玉米肽对酒精致肝细胞凋亡干预分子机制及QLLPF的代谢、醒酒构效关系研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2015 [Ma Z L. Mechanism of corn peptides on hepatocyte apoptosis induced by ethanol, metabolism and structure-activity relationship of QLLPF[D]. Wuhan: Huazhong Agriculture University, 2015.]

[13] 王学英, 丁淑娟, 范玉婷. 醋蛋液的成分及保健功效研究进展[J]. *中国调味品*, 2013, 38(5): 7–11. [Wang X Y, Ding S J, Fan Y T. Research progress of composition and health function of vinegar egg-juice[J]. *China Condiment*, 2013, 38(5): 7–11.]

[14] 刘华桥, 李清逸, 李双艳, 等. 醋蛋液解酒功效的研究[J]. *食品安全导刊*, 2019(12): 65–68. [Liu H Q, Li Q Y, Li S Y, et al. Study on antialcoholism effect of vinegar egg solution[J]. *China Food Safety Magazine*, 2019(12): 65–68.]

[15] Wu Y, He H, Hou T. Purification, identification, and computational analysis of xanthine oxidase inhibitory peptides from kidney bean[J]. *Journal of Food Science*, 2021.

[16] 张自然. 牡蛎肉的醒酒作用及其醒酒机理的研究[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2009 [Zhang Z R. Study on the anti-alcoholism and mechanism of *Oyster* meat[D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2009]

[17] 杜双奎, 赵晓野, 李志西. 枳椇醋解酒护肝、减肥降脂作用研究[J]. *食品科学*, 2012(1): 235–238. [Du S K, Zhao X Y, Li Z X. Hepatoprotective, weight-reducing and hypolipidemic effects of *Hovenia dulcis* thunb. fruit vinegar[J]. *Food Science*, 2012(1): 235–238.]

[18] 杜鹏, 赵亚东, 穆莹, 等. 解酒酸乳饮料的生产及功效[J]. *中国乳品工业*, 2010, 38(1): 26–28. [Du P, Zhao Y D, Mu Y, et al. Production and function of dealcohol yogurt beverage[J]. *China*

Dairy Industry, 2010, 38(1): 26–28.]

[19] 张效敏, 芦瑞萍, 海秀玲, 等. 浅析血清谷丙转氨酶水平与肝脏病理改变的关系[J]. *医药前沿*, 2019, 9(11): 32–34. [Zhang X M, Lu R P, Hai X L, et al. Analysis of the relationship between serum alanine aminotransferase level and liver pathological changes[J]. *Medical Frontier*, 2019, 9(11): 32–34.]

[20] 钟锐, 张俊. 肝功能指标在原发性肝癌中的诊断价值[J]. *中国现代医学杂志*, 2015, 25(8): 102–105. [Zhong R, Zhang J. Diagnostic value of common biochemical indicators of liver function for primary hepatocellular cancer[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2015, 25(8): 102–105.]

[21] 李旭, 苑隆国, 王晓辉. 牡蛎提取物对小鼠肝脏保护作用研究[J]. *医学研究通讯*, 2005, 34(1): 51–52. [Li Xu, Yuan L G, Wang X H. Protective effect of oyster extract on mouse liver[J]. *Medical Research Newsletter*, 2005, 34(1): 51–52.]

[22] Laniewska D M, Jelski W, Orywal K, et al. The activity of class I, II, III and IV of alcohol dehydrogenase (ADH) isoenzymes and aldehyde dehydrogenase (ALDH) in brain cancer[J]. *Neurochemical Research*, 2013, 38(7): 1517–1521.

[23] Cederbaum A I. Alcohol metabolism[J]. *Clinics in Liver Disease*, 2012, 16(4): 667–685.

[24] Guo C Y, Jiang T L, Hui H, et al. Ultrafiltration preparation of potent bioactive corn peptide as alcohol metabolism stimulator *in vivo* and study on its mechanism of action[J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2013, 37(2): 161–167.

[25] Wang C, He H, Zhang J L, et al. High performance liquid chromatography (HPLC) fingerprints and primary structure identification of corn peptides by HPLC-diode array detection and HPLC-electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Food & Drug Analysis*, 2016, 24(1): 95–104.

[26] 韩光顺, 梁华益, 韦家河, 等. 茴香提取液对小鼠酒精性肝损伤的保护作用[J]. *现代预防医学*, 2017(18): 58–62. [Hang G S, Liang H Y, Wei J H. Protective effect of fennel extract on alcoholic liver injury in mice[J]. *Modern Preventive Medicine*, 2017(18): 58–62.]

[27] Shimizu M, Tsunogai M, Arai S. Transepithelial transport of oligopeptides in the human intestinal cell, Caco-2[J]. *Peptides*, 1997, 18(5): 681–687.

[28] 赵梦鸽, 何慧, 马爱民, 等. 蛋清源生物活性肽功能及其构效关系研究进展[J]. *华中农业大学学报*, 2020: 1–9. [Zhao M G, He H, Ma A M, et al. Bioactive peptides derived from duck and chicken egg white proteins: A review[J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2020: 1–9.]

[29] Yamaguchi M, Takada M, Nozaki O, et al. Preparation of corn peptide from corn gluten meal and its administration effect on alcohol metabolism in stroke-prone spontaneously hypertensive rats[J]. *Journal of Nutritional ence & Vitaminology*, 1996, 42(3): 219–231.

[30] Rajapakse N, Mendis E, Jung W K, et al. Purification of a radical scavenging peptide from fermented mussel sauce and its antioxidant properties[J]. *Food Research International*, 2005, 38(2): 175–182.

[31] Chen C, Dickman M B. Proline suppresses apoptosis in the fungal pathogen *colletotrichum trifolii*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, 102(9): 3459–3464.