

鲍鱼酶解提取液的生理活性

彭汶铎¹ 陈启亮² 赵金华³

(1. 中山大学生命科学学院, 广东 广州 510275; 2. 汕尾市金海宝有限公司, 广东 汕尾 516600;
3. 深圳海王药业有限公司, 广东 深圳 518054)

摘要:为推动鲍鱼的深加工, 比较了鲍鱼酶解提取物 (Enzymolytic extracts of abalone, EEA) 与传统水提物 (Water extracts of abalone, WEA) 的生理活性。EEA 的生理作用呈良好的量效关系, 2~8 mL/kg 使小鼠耐常压缺氧时间延长 18.4%~53.9%, 耐化学性缺氧时间延长 28.0%~67.7%, 耐低温时间延长 24.3%~36.9%, 耐高温时间延长 7.3%~30.9%, 游泳时间延长 66.7%~138.9%, 爬杆时间延长 23.1%~130.8%, 碳粒吞噬指数提高 13.9%~29.1%, 溶血素水平提高 26.4%~38.8%, WEA 的生理活性较弱, 多数指标仅在剂量达到 8 mL/kg BW 时方能起效。结果表明, EEA 可提高抗应激能力和免疫功能, 作用强度远高于 WEA。

关键词:鲍鱼; 组织提取物; 免疫活性

Physiological activities of enzymolytic extracts of abalone

Peng Wenduo, et al.

(School of Life Sciences, Sun Yat-Sen University, Guangdong Guangzhou 510275, China)

Abstract: In order to promote the deep processing of abalone, the physiological activities of enzymolytic extracts of abalone (EEA) were studied in mice and compared with those of water extracts of abalone (WEA). EEA 2~8 mL/kg BW prolonged the survival time of normobaric-hypoxia mice by 18.4%~53.9%, NaNO₂-induced hypoxia mice by 28.0%~67.6%, cryo-mice by 24.3%~36.9%, heated mice by 7.3%~30.9%, swimming time by 66.7%~138.9%, and climbing time by 23.1%~130.8%, and increased phagocytic index by 13.9%~29.1% and hemolysin by 26.4%~38.8%. WEA showed far weaker effects than EEA, with the initial effective dose 8 mL/kg BW in most of the above parameters. Results of the study indicated that EEA was effective in increasing anti-stress ability and immune function.

Key Words: Abalone; Tissue Extracts; Immunocompetence

鲍鱼为传统高档滋补食品。据《名医别录》记载, 鲍鱼性甘咸温, 功能滋补肝肾、益精明目。随着鲍鱼人工养殖技术的应用和完善, 广东省汕尾市形成了全国最大的鲍鱼养殖基地, 年产鲍鱼 900 t (占全国同期产量的 40% 以上), 并呈持续上升趋势。产量的不断增加造成价格逐步下降, 一定程度上不利于调动渔民的积极性和养鲍业的可持续发展。有鉴于此, 我们研究开发了鲍鱼 (杂色鲍, *Haliotis diversicolor* Reeve) 的酶法深加工技术, 并通过动物实验观察鲍鱼酶解液 (Enzymatic extracts of abalone, EEA) 的生理活性。

1 材料与方法

1.1 EEA 和 WEA 鲜活鲍鱼由广东省汕尾市双湖鲍鱼养殖工业基地提供。鲍鱼依次经脱壳、水洗、磨浆、酶解、过滤等步骤制备酶法提取物。鲍鱼按上述方法作同样处理但不加酶, 所得清液为水提取物 (Water extracts of abalone, WEA)。每克鲍鱼肉制成 EEA 或 WEA 约 2.5 mL。

1.2 实验动物 NIH 纯系成年小白鼠, 体重 (23.2 ± 1.7) g 及封闭群豚鼠均购自广东省医用动物中心; 海康鸡, 市购。

1.3 给药 小鼠随机分组, 每天定时灌胃 1 次, 分别给予 EEA、WEA 或软化水, 连续 10 d, 第十天给药

基金项目: 广东省自然科学基金 (940631)

作者简介: 彭汶铎 男 副教授

This work was supported by the Natural Science Funds of Guangdong Province, China. (940631)

1 h 后开始测试。

1.4 应激反应实验

1.4.1 耐缺氧实验 小鼠随机分组,按上述方法给药后,将小鼠放入装有 15 g 钠石灰的 250 mL 广口瓶中,每瓶 1 只,加盖密封,^[1]或给予亚硝酸钠(NaNO₂) 200 mg/kg(ip),以呼吸停止为终点记录动物存活时间。实验过程中保持室温恒定于(25 ±1) 。

1.4.2 耐热、耐寒实验^[2] 小鼠随机分组,按上述方法给药后,将小鼠放入 55 烘箱或 - 20 冰箱中,同上法记录其存活时间。

1.4.3 耐力实验

负荷游泳 每鼠尾部给予 10 %体重的负荷,将小鼠投入水箱中(水深 40 cm,水温(25 ±1)),记录此时至其鼻孔沉下水面时的时间为游泳时间。

爬杆 于水箱中央竖立一光滑玻璃棒(φ0.8 cm ×60 cm),将小鼠放在棒的上端,记录此时至小鼠臀部接触水面的时间为爬杆时间。

1.5 免疫功能实验

1.5.1 碳粒吞噬指数^[3] 小鼠末次给药 30 min 后,尾静脉注射印度墨汁 5 mL/kg BW,1 和 5 min 后分别从眶后静脉丛取血 20 μL,溶于 2 mL 0.1 % Na₂CO₃ 中,用 721A 分光光度计于 540 nm 测吸光度,计算吞噬指数。

1.5.2 血清溶血素水平^[4] 给小鼠腹腔注射 5 %鸡红细胞悬液 0.2 mL/鼠进行免疫,然后按上述方法给药 7 d,第七天摘眼球取血,分离血清稀释 100 倍,取稀释液 1 mL 加入 5 %鸡红细胞悬液 0.5 mL 和补体(10 %豚鼠血清)0.5 mL,37 恒温 30 min,0 终止反应,离心取上清液于 721B 分光光度计测吸光度(540 nm),代表血清溶血素水平。

1.6 统计 实验数据用 t 检验方法统计。

2 结果

2.1 提高应激反应能力

2.1.1 延长耐常压缺氧和化学性缺氧的时间 EEA 可明显延长小鼠对缺氧的耐受时间,并呈良好的量效关系(表 1),2、4 和 8 mL/kg BW 分别使常压缺氧存活时间延长 18.4 %、30.3 %和 53.9 %,使化学性缺氧存活时间延长 28.0 %、56.1 %和 67.6 %。WEA 仅在 8 mL/kg BW 时对化学性缺氧有明显作用,但强度远不及 EEA。

2.1.2 延长耐热、耐寒时间 EEA 明显延长小鼠对高温和低温的耐受时间(表 2),其中对在低温条件下延长生存的时间的作用更大,2 和 4 mL/kg BW 分别使存活时间延长 24.3 %和 36.9 %。WEA 对高温生存时间的影响与 EEA 相近,但对低温生存时间的

作用明显弱于 EEA。

表 1 WEA 和 EEA 对小鼠常压缺氧和化学性缺氧生存时间的影响($\bar{x} \pm s$) min

组别	剂量 mg/kg BW	生存时间			
		常压 缺氧	延长率 %	化学性 缺氧	延长率 %
空白	4	7.6 ±1.4		16.4 ±2.1	
WEA	2	7.8 ±1.6 ⁽¹⁾	2.6	17.9 ±2.7 ⁽¹⁾	9.1
	4	8.1 ±1.9 ⁽¹⁾	6.6	20.5 ±4.4 ⁽¹⁾	25.0
	8	8.5 ±1.8 ⁽¹⁾	11.8	22.2 ±3.6 ⁽²⁾	35.4
EEA	2	9.0 ±1.5 ^(3,4)	18.4	21.0 ±4.2 ^(1,4)	28.0
	4	9.9 ±1.7 ^(3,5)	30.3	25.6 ±3.5 ^(3,4)	56.1
	8	11.7 ±2.1 ^(3,6)	53.9	27.5 ±3.8 ^(3,5)	67.6

注:1. 与空白组比较,(1) $P > 0.05$, (2) $P < 0.05$, (3) $P < 0.01$;与 WEA 组同剂量比较,(4) $P > 0.05$, (5) $P < 0.05$, (6) $P < 0.01$ 。2. $n = 10 \sim 13$ 。

表 2 WEA 和 EEA 对小鼠在 55 和 - 22 生存时间的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 mL/kg BW	生存时间 min			
		55	延长率 %	- 22	延长率 %
空白	4	12.3 ±2.7		36.6 ±4.2	
WEA	2	12.8 ±3.6 ⁽¹⁾	4.1	39.4 ±4.7 ⁽¹⁾	10.8
	4	14.8 ±3.0 ⁽²⁾	20.3	45.3 ±5.5 ⁽³⁾	23.8
EEA	2	13.2 ±2.3 ^(1,4)	7.3	45.5 ±4.8 ^(3,5)	24.3
	4	16.1 ±3.4 ^(3,4)	30.9	50.1 ±6.0 ^(3,4)	36.9

注:1. 与空白组比较,(1) $P > 0.05$, (2) $P < 0.05$, (3) $P < 0.01$;与 WEA 组同剂量比较,(4) $P > 0.05$, (5) $P < 0.05$ 。2. $n = 11$ 。

2.1.3 延长游泳时间和爬杆时间 EEA 依剂量大小延长小鼠游泳时间和爬杆时间(表 3)。2、4 和 8 mL/kg BW 分别使游泳时间延长 66.7 %、111.1 %和 138.9 %,使爬杆时间延长 23.1 %、76.9 %和 130.8 %,这些作用也明显强于 WEA。

表 3 WEA 和 EEA 对小鼠游泳时间和爬杆时间的影响($\bar{x} \pm s$) min

组别	剂量 mL/kg BW	游泳时间	延长率 %	爬杆时间	延长率 %
空白	4	1.8 ±0.5		26 ±10	
WEA	2	2.0 ±0.5 ⁽¹⁾	11.1	30 ±15 ⁽¹⁾	15.4
	4	2.9 ±0.7 ⁽²⁾	61.1	37 ±19 ⁽¹⁾	42.3
	8	3.3 ±0.7 ⁽³⁾	83.3	40 ±11 ⁽²⁾	53.8
EEA	2	3.0 ±1.0 ^(2,5)	66.7	32 ±20 ^(1,4)	23.1
	4	3.8 ±0.9 ^(3,5)	111.1	46 ±18 ^(2,4)	76.9
	8	4.3 ±1.2 ^(3,4)	138.9	60 ±23 ^(3,5)	130.8

注:1. 与空白组比较,(1) $P > 0.05$, (2) $P < 0.05$, (3) $P < 0.01$;与 WEA 组同剂量比较,(4) $P > 0.05$, (5) $P < 0.05$ 。2. $n = 10$ 。

2.2 提高免疫功能

2.2.1 非特异性免疫功能 EEA 和 WEA 均提高动

物的碳粒吞噬指数(表4)并呈一定的量效关系,其中EEA的起效剂量为4 mL/kg BW,低于WEA的8 mL/kg BW,而且EEA 8 mL/kg BW的作用明显强于同剂量的WEA,提示在增强网状内皮系统功能进而调节机体非特异性免疫方面EEA也比WEA更为有效。

表4 WEA和EEA对小鼠吞噬指数的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 mL/kg BW	吞噬指数	提高率 %
空白	4	3.02 $\pm$ 0.21	
WEA	2	3.13 $\pm$ 0.26 ⁽¹⁾	3.6
	4	3.22 $\pm$ 0.18 ⁽¹⁾	6.6
	8	3.50 $\pm$ 0.28 ⁽²⁾	15.9
EEA	2	3.44 $\pm$ 0.25 ^(1,4)	13.9
	4	3.54 $\pm$ 0.30 ^(2,4)	17.2
	8	3.90 $\pm$ 0.33 ^(3,5)	29.1

注:1. 与空白组比较,(1) $P > 0.05$, (2) $P < 0.05$, (3) $P < 0.01$;与WEA组同剂量比较,(4) $P > 0.05$, (5) $P < 0.05$ 。2. $n = 15$ 。

2.2.2 体液免疫功能 EEA提高溶血素水平(表5),起效剂量为2 mL/kg BW,此剂量的作用甚至强于WEA 8 mL/kg BW的作用。

表5 WEA和EEA对小鼠血清溶血素水平的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 mL/kg BW	溶血素水平	提高率 %
空白	4	0.201 $\pm$ 0.024	
WEA	2	0.210 $\pm$ 0.035 ⁽¹⁾	4.5
	4	0.237 $\pm$ 0.022 ⁽²⁾	17.9
	8	0.240 $\pm$ 0.021 ⁽²⁾	19.4
EEA	2	0.254 $\pm$ 0.029 ^(3,5)	26.4
	4	0.271 $\pm$ 0.037 ^(3,4)	34.8
	8	0.279 $\pm$ 0.033 ^(3,4)	38.8

注:1. 与空白组比较,(1) $P > 0.05$, (2) $P < 0.05$, (3) $P < 0.01$;与WEA组同剂量比较,(4) $P > 0.05$, (5) $P < 0.05$ 。2. $n = 13$ 。

3 讨论 应激反应以肾上腺活动的增强为基础,是机体对抗环境变化最主要的防御途径。EEA提高动物在多种伤害性刺激因素下的生存时间,提示EEA能够提高机体非特异性抵抗力。

在免疫功能的研究中,网状内皮系统的吞噬能力和血清溶血素水平常作为评价机体非特异性和特异性免疫的指标。^[5]网状内皮系统是机体保持内环境稳定的一个最重要的系统,是中医“正气”的重要生理学基础。^[3]机体对体内异物的识别和清除主要就是依靠此系统来完成。EEA可增强机体的免疫

功能。有文献^[6]报道,鲍鱼水溶性多糖能明显抑制裸鼠移植人鼻咽癌的生长,诱导肿瘤细胞凋亡和坏死。而众所周知,机体免疫功能和对各种有害刺激的抵抗力与癌症是密切相关的。另外有研究指出,鲍鱼水提取液具有抗凝血作用,与中医“活血化淤、软坚散结”有关,^[7]对于保持内环境稳定也是有意义的。

此外,EEA明显延长动物的运动时间,表明EEA可能还具有抗疲劳作用。

按照传统物理方法加工制备的WEA,其生理活性较弱,对某些检测指标如动物耐缺氧能力等甚至没有影响,其他指标也多在剂量达到8 mL/kg BW时方能起效,相比之下,EEA多在剂量2 mL/kg BW时就已有明显作用,而且EEA 2 mL/kg BW的作用接近甚至超过WEA 8 mL/kg BW的作用;再者,同剂量进行比较,EEA某些作用的强度可达WEA的5倍以上。

上述结果表明,利用酶工程技术制备的EEA,其生理活性远高于传统的物理加工产品WEA。虽然EEA的全部成分还远远未能阐明,但根据实验结果可以预计,EEA中必然含有对人体健康有意义的生物活性物质,这是传统物理加工方法所难以做到的。EEA能显著提高机体运动耐力、抗应激能力和免疫功能,是进一步配制功能食品的优良材料。

参考文献:

[1] 彭汶铎,唐孝礼,许实波. 蚊狮醇提取物(IAL)的药理作用[J]. 中药材,1998,21(3):149—150.
[2] 秦英,王起凤,钱彦丛,等. 归脾汤对小鼠抗应激作用的实验研究[J]. 中成药,1996,18(12):28—31.
[3] 周爱香,田甲丽,郭淑英,等. 不同品种鳖甲的主要药效学比较[J]. 中药材,1998,21(4):197—201.
[4] 姚治,李扬,王晓华. 河蚌肉提取物的药理作用[J]. 中药材,1998,21(4):191—193.
[5] 郭国华,鲁耀邦,蒋茂恒,等. 人参五灵脂水煎液配伍对免疫低下小鼠免疫功能的影响[J]. 中草药,1994,25(5):253—256.
[6] 王兵,蒋建敏,许东晖,等. 鲍鱼多糖对荷人鼻咽癌裸鼠抗癌作用的研究[J]. 中草药,2000,31(8):587—599.
[7] 杨晓峰,慕红丹,李红兵. 鲍鱼、海龟甲及海蒿子等提取物对凝血和纤溶系统的影响[J]. 中国海洋药物,2000,13(2):35—36.

[收稿日期:2003-11-25]