

蔷薇果汁、余甘果汁和桔皮粉对大鼠体内 N-亚硝基脯氨酸合成的阻断作用

徐国平* 宋圆菊 梁学军

(北京医科大学营养与食品卫生教研室 北京)

[提要] 本文观察了蔷薇果汁、余甘果汁及桔皮粉阻断大鼠体内N-亚硝基脯氨酸(NPRO)合成的作用。结果表明, 3ml蔷薇果汁或余甘果汁(含维生素C36 μ mol)能完全阻断40 μ molL-脯氨酸、亚硝酸钠在大鼠体内合成NPRO, 阻断率分别达96.4%和100.3%。效果强于同量维生素C的作用(阻断率86.5%)。0.5g桔皮粉(含维生素C1.4 μ mol)也能发挥有效的阻断作用, 阻断率为65.5%。本研究提示, 蔷薇果汁、余甘果汁及桔皮粉中还含有维生素C以外的其它阻断成分。

致癌性N-亚硝基化合物(NOC)是各种实验动物的强致癌物。目前认为它们可能也是人类胃癌、食道癌等恶性肿瘤的主要病因。人类除从膳食中直接摄入这类致癌物外, 还可通过摄入这类致癌物的前体物, 即硝酸盐、亚硝酸盐、胺类及酰胺类化合物, 在体内合

成相应的NOC。这可能是人类接触NOC致癌物的主要途径。因此, 研究NOC体内合成的阻断作用、寻找有效的阻断剂, 对预防NOC对人类的潜在致癌性危害具有积极意义。

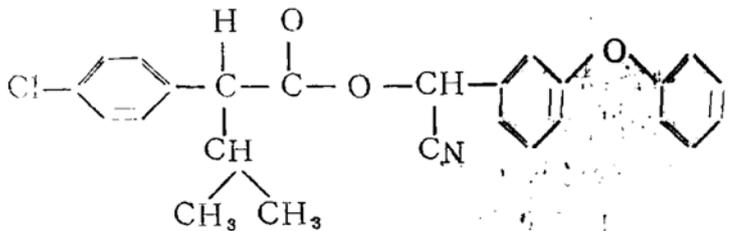
研究表明, 维生素C、维生素E^[1]及某

速灭杀丁的高效液相色谱分析法

秦皇岛市卫生防疫站 赵惠兰 陶文茹

速灭杀丁为中等毒性杀虫剂, 通用名 Fenvalerit 其它名: 杀灭菊酯, 氰戊菊酯, 戊酸氰醚酯。化学名称: α -氰基-3-苯

氧基苯基-2-(4-氯苯基)-3-基丁酸酯。化学结构式:



此农药是日本产, 1983年已在我国登记使用在棉花、柑桔、蔬菜作物上。但在美国、巴西等国用在大豆、玉米等多种作物上^[1]。

该农药有触杀和胃毒作用, 残效期长。为确保人身健康联合国粮农组织和世界卫生

组织规定: 粮食、水果中最大残留量为 5 mg/kg^[2]。

速灭杀丁的检验方法国内外报道较少,

(下接58页)

些多酚类化合物²对NOC的体内外合成有一定的阻断作用。1981年Ohshima和Bartsch建立了一种能直接反映体内亚硝化的方法³为定量研究体内NOC的合成及阻断作用提供了模型。本文利用这一方法研究野生水果蔷薇果汁、余甘果汁及桔皮粉对大鼠体内NOC合成的阻断作用。

1 材料和方法

1.1 材料

动物：雄性Wistar大鼠，体重 400 ± 15 g。本校实验动物科学部提供。

试剂：蔷薇果汁由广东省提供，含维生素C 216.8 mg/100ml。余甘果汁由广西省提供，含维生素C 265.0 mg/100ml。上述果汁在用时，以PH 3.2 的柠檬酸—磷酸氢二钠缓冲液稀释至含维生素C 2.1 mg/ml，此液 3 ml¹含维生素C 6.3 mg(36μ mol)。桔皮粉自制，用干燥的红、黄桔皮(各半)粉碎成粉末状，过40目筛，密封备用。其中含维生素C 50 mg/100g。用时以PH 3.2 的缓冲液配成10%溶液。亚硝酸钠(AR，北京红星化工厂)、L-脯氨酸分析纯，武汉大学生化实验厂)均用上述缓冲液配成 0.08 M溶液。维生素C(AR，北京红星化工厂)用缓冲液配成 0.012 M溶液。上述溶液均临用前配制。N-亚硝基脯氨酸(NPRO)和N-亚硝基派可酸(NPIC)标准品由国际癌瘤研究机构(IARC)赠送，用无水乙醇配成 40μ g/ml溶液。其它试剂均用分析纯。

重氮甲烷按文献方法³制备。先用盐酸甲胺和亚硝酸钠制备N-亚硝基甲基脒(MNU)，然后在含有50ml乙醚、7ml60% KOH和10ml甲醇的250ml双口烧瓶中加入2.0g MNU，轻轻摇匀，置 4°C 冰箱中备用。

仪器：气相色谱仪(GC)，SP-2305型，北京分析仪器厂出品。热能分析仪(TEA)，543型，美国热电子公司出品。

1.2 方法

大鼠体内亚硝化：健康大鼠14只，以自身为对照，分期给予不同受试物(实验设计见表)。每期间隔48小时。大鼠禁食过夜后，经灌胃给予 0.5 ml L-脯氨酸和亚硝酸钠溶液。各期阻断实验在给予两种前体物后，立即给予 3 ml余甘果汁、蔷薇果汁、维生素C溶液或 5 ml桔皮粉溶液。大鼠置代谢笼中单笼饲养，自由饮水，4小时后喂食，收集24小时尿于预先加了 2 ml 20%氨基磺酸铵/ 1.8 M硫酸溶液(AS)的聚乙烯塑料瓶中。

尿中NPRO含量分析：取尿样 25 ml，加入 400 ng NPIC(内标)和 2 ml AS，用 50 ml 乙酸乙酯萃取两次，合并萃取液，经无水硫酸钠干燥后在K-D浓缩器上蒸干(浴温 60°C)。用 3 ml乙醚溶解残渣，经重氮甲烷甲酯化后，用氮气浓缩至 0.2 ml，于GC-TEA上测定NPRO含量。GC-TEA测定条件：色谱柱 2 m \times 3 mm 不锈钢柱，充填物为涂有10% Carbowax 20M的 $60 \sim 80$ 目 Chromsorb WAW-DMCS。柱温 180°C ，汽化室温度 210°C ，TEA热解室温度 500°C 。载气(氩气)流速 25 ml/分。在此条件下，NPRO与NPIC分离良好，NPRO最小检出限 < 0.5 ppb，回收率 $86.9 \pm 8.6\%$ 。

2 结果

各实验期大鼠24小时尿中NPRO排出量见表。不给任何受试物时大鼠24小时尿NPRO排出量(本底)平均为 2.55 nmol。给予L-脯氨酸和亚硝酸钠后，尿中NPRO排出量达 96.75 nmol，较本底升高达 37.9 倍，差异有高度显著性($P < 0.01$)。这说明大鼠体内发生了明显的亚硝化反应。各鼠间个体差异较大。在给予两种前体物的同时，给予维生素C后，尿中NPRO排出量显著降低($p < 0.01$)至 15.22 nmol，阻断率达 86.5% 。但此值仍显著高于本底水平($p < 0.01$)。同时给予蔷薇果汁、余甘果汁或桔皮粉后，大鼠尿中NPRO排出量均显著降低($p < 0.01$)，其中

蔷薇果汁期和余甘果汁期NPRO排出量显著低于维生素C期($p < 0.01$), 降低至本底水平($p > 0.05$), 分别为5.98和2.29 μmol , 阻

断率达96.4%和100.3%; 桔皮粉期NPRO排出量仍高于本底($p < 0.01$), 阻断率65.5%。

表

大鼠实验各期24小时尿NPRO排出量(μmol)

动物 编号	实 验 期					
	无处理 (1)	L-脯氨酸 亚硝酸钠 (2)	L-脯氨酸 亚硝酸钠 维生素C (3)	L-脯氨酸 亚硝酸钠 蔷薇果汁 (4)	L-脯氨酸 亚硝酸钠 余甘果汁 (5)	L-脯氨酸 亚硝酸钠 桔皮粉 (6)
1	5.15	224.68	13.91	9.03	2.00	19.50
2	1.03	58.72	10.44	7.55	2.73	46.70
3	4.20	61.93	16.60	3.86	trace	22.43
4	0.95	34.47	15.86	8.09	2.52	22.02
5	1.00	74.05	15.16	5.90	4.25	45.46
6	3.30	205.96	27.94	5.60	2.07	41.44
7	1.37	77.82	13.42	6.98	1.18	36.08
8	2.36	105.18	11.38	6.31	2.19	61.34
9	2.74	108.08	10.62	5.31	4.05	42.78
10	2.21	62.93	11.53	3.54	2.14	26.94
11	2.38	160.82	12.70	5.79	1.07	46.23
12	1.80	51.74	12.94	6.25	3.76	14.17
13	1.37	90.15	18.13	2.93	2.48	37.60
14	5.79	37.87	17.08	6.64	1.68	27.75
平均	2.55a	96.75b	15.22b	5.98a	2.29a	35.03b
阻断率(%)**			86.5	96.4	100.3	65.5

*L-脯氨酸、亚硝酸钠均为40 μmol , 维生素C剂量36 μmol 。蔷薇果汁、余甘果汁含维生素C36 μmol , 桔皮粉溶液(含干粉0.5g)1.4 μmol 。灌胃体积: L-脯氨酸、亚硝酸钠均为0.5ml; 桔皮粉溶液5ml; 其它均为3ml。

**阻断率(%) = (实验2 - 实验3、4、5或6) ÷ (实验2 - 实验1) × 100%

a. t检验, 与b比较, $p < 0.01$

b. t检验, 各期间两两比较, $p < 0.01$

3 讨论

NPRO试验方法在实验室研究和胃癌、食道癌等肿瘤现场的病因研究中, 已被证明是反映体内亚硝化水平的一个较好指标^[4]。Ohshima等曾研究了维生素C对大鼠体内NPRO合成的阻断作用^[5]。在维生素C与前体物L-脯氨酸、亚硝酸钠的摩尔比为1时(均为10 μmol), 维生素C的阻断率为81%。本研究中维生素C与前体物的摩尔为0.9, 阻断率为86.5%, 较Ohshima等报告的略高。不过本研究所用的维生素C及前体物的

用量较Ohshima等的高。

蔷薇果和余甘果均为产自华南的野生水果。在同量维生素C条件下, 3ml蔷薇果汁和余甘果汁抑制NPRO合成的效果显著强于维生素C, 并完全阻断了外源性前体物在体内的亚硝化反应。蔷薇果和余甘果均含有丰富的多酚类化合物, 其中余甘果中含量达45%。多酚类化合物抑制体内亚硝化反应的作用已有报道^[2]。因此维生素C与多酚类化合物等成分在抑制内源性亚硝化反应中可能发挥了明显的相加或协同作用。桔皮粉含维生素C