

文章编号: 1004-616X(2003)02-0091-03

· 检测研究 ·

浙江几种传统腌制食品的致突变性及抗突变研究^①

袁振华, 丁友昌

(杭州市疾病预防控制中心, 浙江 杭州 310006)

【摘要】目的: 研究浙江民间传统腌制食品(包括腌鱼、腌猪肉、火腿、冬腌菜、臭冬瓜、霉干菜)的致突变性, 同时研究3种天然抗突变物(大蒜、松针和叶绿酸铜钠)对腌肉及霉干菜的抗突变作用, 为肿瘤的化学预防提供实验依据。方法: 采用植物检测方法——蚕豆根尖细胞微核试验。结果: 经检测证实, 腌鱼、腌肉及霉干菜的微核率与阴性对照组相比, 有显著性差异($P < 0.01$, $P < 0.05$); 3种天然抗突变物可明显降低腌鱼、霉干菜的微核率($P < 0.01$)。结论: 腌鱼、腌肉、霉干菜具有致突变性, 大蒜、松针和叶绿素铜钠可用于抑制腌制食品的致突变性, 以预防肿瘤。

【关键词】腌制食品; 致突变性; 天然抗突变物

中图分类号: R994.4

文献标识码: A

人类肿瘤的发生与环境因素, 特别是食品有密切关系。目前一般认为有30%~65%的癌症与膳食有关, 其中与饮食关系最为密切的肿瘤为消化道肿瘤, 如胃癌、肝癌等。在研究食物中致癌物的过程中, 人们逐渐认识到膳食结构和某些特殊饮食习惯对癌症的发生发展可能起到了更大的作用。为了解浙江民间的传统加工食品, 如腌制食品中可能存在的致突变物, 并通过研究, 寻找有效的具有抗突变作用的天然食物(植物), 如大蒜、松针、叶绿酸铜钠盐等, 为癌症的化学预防提供依据。现将部分研究结果报告如下。

1 材料

1.1 样品

从市场购入腌黄鱼、腌猪肉、火腿、霉干菜、臭冬瓜、冬腌菜, 各500g, 冷藏, 备用。

1.2 测试用蚕豆

由华中师大提供的纯种松滋青皮豆。

1.3 天然抗突变物

大蒜, 从市场购入的山东苍山县产品; 叶绿酸铜钠, 由杭州叶绿素厂提供, 纯度>90%; 松针提取液, 由浙江中医学院分子研究所惠赠。

2 方法

2.1 样品制备^[1-3]

腌肉制品: 将样品打碎, 于索氏提取器中, 用甲醇70℃回流16h, 甲醇提取液置于旋转蒸发器中60℃蒸除甲醇, 然后每100g样品加入酸性(pH 1)蒸馏水约100ml溶解残渣, 而后再将pH调为中性, 此液通过2根XAD-2树脂柱, 弃去流出的液, 再用丙酮洗脱XAD-2柱, 洗脱液于蒸发器中去除丙酮, 加纯DMSO定容, 待测。

腌鱼制品: 将腌鱼置于冷水中浸泡半天, 取鱼肉用组织捣碎机打碎, 加二氯甲烷于索氏提取器中(48℃), 提取8h, 提取液于旋转蒸发器中蒸去二氯甲烷, 然后加入蒸馏水(每100g样品加100ml), 溶解残留物, 调pH值为中性, 过XAD-2柱, 丙酮洗脱, 取洗脱液蒸发至干, 加DMSO定容, 待测。

腌菜: 取100g样品, 加450ml甲醇: 氯仿溶液(1:1)提取2次, 取上清液, 合并, 蒸发挥干, 加DMSO定容, 备用^[4]。

2.2 天然抗突变物制备:

大蒜: 取大蒜球茎, 研磨成匀浆, 二层沙布及滤纸过滤, 得滤液, 保存于-10℃, 备用^[5]。

松针提取液: 取鲜马尾松针叶2.3kg, 粉碎后, 用酒精提取, 过滤, 滤液经低温(50℃)浓缩成浸膏

① 收稿日期: 2002-12-24; 修订日期: 2003-01-27

基金项目: 浙江省卫生厅资助项目(2000A006)

作者简介: 袁振华(1942-), 男, 浙江湖州人, 主任技师, 主要从事食品和环境毒理学研究。

600 ml, 4 °C 保存, 备用^[6]。

叶绿酸铜钠盐: 从桑蚕粪便中提取叶绿素, 经一定工艺加工成叶绿酸铜钠盐结晶, 其性质稳定, 110 °C 以上才分解, 水溶性极好。

2.3 致突变性和抗突变测试方法

采用蚕豆根尖细胞微核试验, 按《环境监测技术规范(第四册)生物监测(水环境)部分》进行^[7]。试验步骤: 浸种、催芽、染毒、修复、固定、染色、制片、镜检读片。每个样品用 3 个根尖, 计数 3 000 个细胞, 记录含微核的细胞数, 统计微核千分率(‰)。各组数据与对照组比较采用 *t* 检验, 判断差异的显著性。

3 结果

3.1 腌制食品的致突变性测试结果

本次研究所检测的 6 种腌制食品, 其中腌鱼、腌肉及霉干菜的微核率与阴性对照组相比有显著性差异 ($P < 0.01$, $P < 0.05$) 在本测试系统中呈现明显的致突变性, 另外 3 种未发现致突变性, 结果见表 1。

表1. 几种腌制食品的致突变性检测结果

样品	浓度(mg/ml)	观察细胞数	微核率(‰, $\bar{x} \pm s$)
咸肉	200	3 000	32.33 ± 7.57* *
	100	3 000	9.67 ± 0.58
	50	3 000	6.67 ± 0.58
咸鱼	200	3 000	22.67 ± 3.06* *
	100	3 000	4.6 ± 71.53
	50	-	-
火腿	200	3 000	4.33 ± 1.53
	100	-	-
	50	-	-
霉干菜	200	3 000	38.33 ± 2.52* *
	100	3 000	11.0 ± 2.65*
	50	3 000	6.67 ± 1.53
臭冬瓜	200	3 000	6.33 ± 1.53
	100	3 000	4.33 ± 0.58
	50	-	-
冬腌菜	200	3 000	10.67 ± 4.04
	100	3 000	5.0 ± 1.0
	50	-	-
蒸馏水		3 000	4.0 ± 1.0
DMSO		3 000	5.33 ± 1.15
环磷酰胺(1 mg/ml)		3 000	24.67 ± 1.53* *

* * $P < 0.01$, * $P < 0.05$.

3.2 三种天然抗突变剂的抗突变性的测试结果

在本测试系统中, 3 种天然抗突变剂叶绿酸铜钠盐、松针、大蒜可明显降低腌鱼、霉干菜的微核率 ($P < 0.01$), 结果见表 2。

表2. 天然抗突变物对腌制食品致突变性的抑制效应

样品	浓度(mg/ml)	抗突变剂	浓度(mg/ml)	观察细胞数	微核率(‰, $\bar{x} \pm s$)
咸鱼	200	CHY(a)	120	3 000	2.67 ± 1.15*
	200		12	3 000	4.33 ± 1.53*
	200		1.2	3 000	8.67 ± 0.58*
	200	PN(b)	5 000	3 000	4.0 ± 1.0*
	200		500	3 000	5.67 ± 2.08*
	200		50	3 000	9.0 ± 1.0*
	200	GBE(c)	1 475	3 000	3.0 ± 1.0*
	200		147.5	3 000	6.0 ± 1.0*
	200		14.75	3 000	8.0 ± 2.65*
	霉干菜	200	CHY	120	3 000
200		12		3 000	6.0 ± 2.0*
200		1.2		3 000	8.67 ± 1.53*
200		PN	5 000	3 000	4.33 ± 1.53*
200			500	3 000	5.67 ± 1.52*
200			50	3 000	6.67 ± 1.53*
200		GBE	1 475	3 000	4.0 ± 1.0*
200			147.5	3 000	6.33 ± 2.52*
200			14.75	3 000	9.33 ± 1.53*
CHY		12 000			3 000
PN	500			3 000	5.33 ± 1.15
GBE	1 475			3 000	6.33 ± 1.53

* $P < 0.01$. (a): 叶绿酸铜钠 (b): 松针 (c): 大蒜

4 讨论

6 种腌制食品均为浙江民间的传统食品。国内研究发现, 腌制食品中有较多量的硝酸盐和亚硝酸盐, 可与肉中的二级胺合成亚硝基化合物(NOC), 其中包括亚硝胺和亚硝酰胺。林慧芝研究证实, 咸猪肉未经亚硝化处理以及经亚硝化处理, 加与不加 $-S_0$ 条件下, 均能使 TA₉₈ 回变菌落数明显增加, 呈现强致突变性^[8], 这与我们的研究结果一致。其中霉干菜的致突变性可能与霉菌污染有关, 经检测, 含 AFTB1。

本次研究的 3 种天然的抗突变物(叶绿酸铜钠盐、松针、大蒜), 均证明有显著的抗突变作用。对大蒜的研究文献报道甚多。据刘近周研究, 大蒜提取液能阻断二甲基亚硝胺、二乙基亚硝胺和二丁基亚硝胺的化学合成。又据 Byler DM 研究, 大蒜阻断 N-亚硝基化合物合成的机制在于大蒜含有巯基化合物, 其含量为 5.138 mmol/L, 远远高于大葱等蔬菜的含量, 消除亚硝酸盐的效果也以大蒜提取物为最好, 消除率达 100%。在巯基化合物中, 烯丙基硫醇与亚硝酸盐反应, 可产生一种新的化合物——烯丙基硫代亚硝酸盐, 从而阻断亚硝胺的合成^[9]。刘近周等报告大蒜及其制剂有抑制霉菌生长和阻断其促进亚硝胺合成的作用^[10]。陈少华等研究表明, 用大蒜汁灌胃处理小鼠能降低环磷酰胺(CP, 30 mg/kg)诱发的

微核率,效果极显著($P < 0.01$)。用大蒜处理小鼠,使 CP 所诱发的 SCE 率均受到抑制,差异有显著性($P < 0.05$)^[11]。

叶绿酸铜钠作为天然色素的衍生物,目前已用作食品添加剂及抗贫血药,但目前叶绿素及其衍生物还没有以预防肿瘤为目的的实际应用。经研究证实,叶绿素能抑制 B(a)P、3-甲基胆蒎(3-MC)等多环芳烃的诱变作用^[12]。此外,它还能抑制许多环境和膳食中经常接触的复杂混合物,如炸牛肉、羊肉的提取物、红葡萄汁、红葡萄酒、香烟烟雾、煤尘、柴油排出物等的诱变作用。这表明叶绿素很可能有防癌作用^[13]。

松针作为一种野生植物资源,它的抗突变作用在国内研究甚少。据浙江中医学院胡钧等报道,松针(马尾松)提取液具有抗基因突变和 DNA 损伤作用^[14]。孔志明等报道,松针提取物能明显抑制烷化剂环磷酰胺的致突变性^[15]。以上证明,松针在肿瘤防治方面具有潜在的应用价值。

通过本次研究提示,在高危人群中广泛应用该3种天然物的制剂,对预防肿瘤的发生将发挥重要的作用。

参考文献:

- [1] 韩 驰,徐 勇,施瑞丽,等. 中国传统加工食品致突变性的研究[J]. 癌变·畸变·突变, 1991; 3(1): 8-12.
- [2] Leonard FB, Karl RG, Paul HD *et al.* An XAD-2 resin method for efficient extraction of mutagens from fried ground beef[J]. *Mutat res*, 1982; 105: 43-49.

- [3] Skog, K, Jagersad M and Reutersward AL. Inhibitory effect of carbohydrates on the formation of mutagens in fried beef patties[J]. *Fd Chem Toxic*, 1992; 30(8): 681-688.
- [4] 任 莹,陈炳卿,张宇秋,等. 酸菜中黄酮类致突变物栲精的分离鉴定[J]. 中国公共卫生学报, 17(2): 128.
- [5] 张岳生,袁振华,陈星若,等. 大蒜和二烯丙三硫的抗 MNNG 诱变作用[J]. 营养学报, 1990; 12(3): 243-247.
- [6] 刘明哲,赵革平,黄品钱,等. 41种中药的诱变和抗诱变作用的研究[J]. 癌变·畸变·突变, 1992; 4(3): 25-28.
- [7] 中国环保局. 环境监测技术规范(第四册), 生物监测(水环境)部分[S]. 中国环境科学出版社, 1986. 75-78.
- [8] 林慧芝,张荫昌,白希文,等. 胃癌高发区庄河咸猪肉等食品致突变性与胃粘膜病变关系的研究[J]. 中国医科大学学报, 1990; 19(4): 265-268.
- [9] Byler DM. Spectroscopic estimation of the extent of s-nitrosothiol formation by nitric action on sulfhydryl groups[J]. *J Agric Food Chem*, 1983; 31: 523.
- [10] 刘近周,蔺新英,李长林,等. 大蒜阻断霉菌对亚硝酸合成的促进作用[J]. 营养学报, 1986; 8(3): 262.
- [11] 陈少华,洪振丰,林 丽,等. 大蒜对环磷酰胺诱发的小鼠骨髓细胞微核和姐妹染色单体交换的保护作用[J]. 遗传, 1992, 14(2): 16-17.
- [12] Ong T, Whong WZ, Stewart JD, *et al.* Comparative antimutagenicity of 5 compounds against 5 mutagenic complex mixtures in *Salmonella typhimurium* Strain TA₉₈ [J]. *Mutat Res*, 1989; 222: 19-25.
- [13] 朱新强. 叶绿素的抗诱变作用及机理[J]. 国外医学卫生分册, 1992; 4: 214-217.
- [14] 胡 钧,吕圭源,李万里,等. 马尾松松针提取物保健及药用价值研究[J]. 林产化工通讯, 1992; 6: 10-11.
- [15] 孔志明,乔金荣,徐玉军,等. 松针提取物拮抗环磷酰胺诱发人外周血淋巴细胞微核及 SCE 的研究[J]. 癌变·畸变·突变, 1995; 7(6): 349-351.

致作者——数字修约规则

对实验测定和计算所得的各种数值常常要进行修约,数的修约应遵循 GB 3101-1993 附录 B 规定的规则。

1. 数的修约是用一修约数代替一已知数,该修约数即来自选定的修约区间的整数倍。

①如果只有 1 个整数倍接近已知数,则此整数倍就是修约数;②如果有 2 个连续的整数倍同等地接近已知数,为使修约误差最小,通常选取偶数整数倍作为修约数。

2. 为避免多次修约可能产生的误差,对一个已知数必须 1 次完成修约。

3. 对于极大值或极小值,经单位换算后进行修约时,应遵循“极大值只舍不入,极小值只入不舍”的原则。

4. 数的修约口诀。4 舍 6 入 5 看右,5 右有数便进 1,5 右为 0 看左方,左为奇数便进 1,左为偶数全舍去;无论舍去多少位,均应一次修完毕。