

食品添加剂 Na_2SO_3 对小鼠嗜多染红细胞微核率的影响

党卫红, 任平国, 赵美琳 (漯河职业技术学院, 河南漯河 462002)

摘要 [目的] 了解经口进入机体的亚硫酸盐对哺乳动物的毒性效应。[方法] 以 92 只 7~12 周龄的健康昆明种小鼠为试材, 采用灌胃染毒法进行剂量效应关系和时间效应关系的微核试验。[结果] Na_2SO_3 能诱发小鼠骨髓嗜多染红细胞微核, 且随剂量增高微核率明显增加 ($P < 0.01$)。时间效应关系的微核试验表明, Na_2SO_3 染毒后不同时间处死动物并制片, 骨髓嗜多染红细胞微核率不同, 染毒后 12 h 的微核率与阴性对照组相比有极显著差异 ($P < 0.01$), 随染毒后时间的延长, 细胞微核率增加, 24 h 达到高峰, 与相邻各组差异极显著 ($P < 0.01$), 之后随时间延长而降低, 表明 Na_2SO_3 诱发小鼠骨髓嗜多染红细胞微核有一定时间效应关系。[结论] 亚硫酸盐是哺乳动物染色体断裂剂和基因毒性因子。

关键词 食品添加剂; 亚硫酸钠; 微核

中图分类号 S865.1⁺3 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2009)14-06450-02

Effect of Food Additive Na_2SO_3 on the Micronucleus Rates of Mice Polychromatic Erythrocytes

DANG Wei-hong et al (Luohe Vocational Technology College, Luohe, Henan 462002)

Abstract [Objective] The aim was to know about the toxic effect of Na_2SO_3 that entered into body via mouth on mammalian.

[Method] With 92 healthy Kunming mice of 7-12-week age as tested material, the micronucleus tests of dose-response relationship and time-effect relationship were performed by using stomach exposure method. [Result] Na_2SO_3 could induce the micronucleus in polychromatic erythrocytes (PCE) from mice bone marrow, and the micronucleus rate was increased significantly with dose rising ($P < 0.01$). The micronucleus test of time-effect relationship showed that animals were sacrificed in different time and the slice production after Na_2SO_3 exposure, the micronucleus rate of bone marrow PCE was varied, the micronucleus rate after 12h exposure had extremely significant difference compared with negative control group ($P < 0.01$), along with the time extending after exposure, the micronucleus rate was increased and reached to the peak at 24h, having very significant difference with adjacent each group ($P < 0.01$), and then was decreased with time prolonging, which indicated PCE micronucleus of mice bone marrow induced by Na_2SO_3 had some time-effect relationship. [Conclusion] Sulfite was clastogen and gene virulence factor of mammals.

Key words Food additive; Sodium sulfite; Micronucleus

亚硫酸盐是食品工业广泛使用的添加剂, 通常是指 SO_2 及能够产生 SO_2 的无机亚硫酸盐类, 包括 SO_2 、硫磺、亚硫酸、亚硫酸盐、亚硫酸氢盐、焦亚硫酸盐、低亚硫酸盐。由于亚硫酸盐类具有漂白、杀菌、防腐、保鲜、抗氧化等多种功能, 被广泛用于果蔬保鲜、干果、干菜、粉丝、蜜饯、糖果、罐头类食品的生产及葡萄酒、啤酒酿造等食品加工的许多方面^[1]。

SO_2 是一种主要的大气污染物, 可引起多种呼吸系统疾病, 甚至与肺癌的发生有关^[2-3]。近年来有关 SO_2 及亚硫酸盐的研究显示: SO_2 可造成 DNA 损伤^[4-9], 是染色体断裂剂。

食品安全问题日益受到人们的关注, 亚硫酸盐的毒性作用也逐步被人们所认识, 1984 年美国 FDA 就把 SO_2 从食品添加剂 GRAS 类中去除^[10]。但由于亚硫酸盐在食品加工中的多种功能, 它在食品生产中仍被广泛使用, 甚至被一些不法商家滥用, SO_2 残留超标现象十分突出。为了解经口进入机体的亚硫酸盐对哺乳动物的毒性效应, 笔者进行了动物试验。

1 材料与方法

1.1 受试物 亚硫酸钠 (Na_2SO_3) 由北京化工厂出品。

1.2 试验动物 选用 7~12 周龄昆明系 (KM) 小鼠, 体重 (20±2) g, 共 92 只, 雌雄各半, 购于吉林省长春市高新医学动物实验研究中心, 许可证号 SCXK-(吉)2003-2004。

1.3 试剂 环磷酰胺 (CP), 上海第十二制药厂产品; 甘油 (分析纯), 北京化工厂产品; 小牛血清, 宁波第二激素厂产品; Giemsa 染料, 上海三爱试剂有限公司产品; 磷酸二氢钾 (分析纯), 天津市化学试剂六厂产品; 磷酸氢二钠 (分析纯), 北京化工厂产品; 甲醇 (分析纯), 北京化工厂产品。

1.4 Na_2SO_3 小鼠骨髓细胞微核试验 试验动物购回后, 先经过 7 d 的适应性饲养再进行正式试验。动物室温度 22~26 °C, 湿度 (55±10)%, 昼夜明暗交替时间 12 h/12 h; 笼箱方式饲养, 笼箱内使用小刨花做垫料, 笼箱盖凹陷作为给食器^[11]。饲料是符合动物营养需求的全价颗粒饲料, 饮水瓶自由饮水, 摄食。

1.4.1 剂量效应关系。

1.4.1.1 剂量与分组。 设 1/5、1/10 和 1/20 LD_{50} 3 个剂量组、溶剂对照组 (蒸馏水) 及阳性对照组 (环磷酰胺 40 mg/kg)。给药方法: 将 Na_2SO_3 分别配制成相应浓度的溶液, 使各小鼠每次灌胃量在 0.2 ml 左右^[11]。

1.4.1.2 试验方法。 选取健康昆明种小鼠 50 只, 随机分成 5 组, 每组动物 10 只, 雌雄各半。阳性对照组、阴性对照组 (蒸馏水) 和 Na_2SO_3 剂量组均采用灌胃染毒, 连续 4 d, 每天 1 次, 第 5 天采样, 采用颈椎脱臼法处死小鼠, 取股骨剪去两端, 用 41/2 号针头吸少许小牛血清冲出骨髓, 推制涂片。涂片自然晾干后放入甲醇中固定 5~10 min, 再放入 Giemsa 应用液中, 染色 10~15 min, 立即用清水冲洗晾干, 写好标签, 置于干燥器中保存。选择细胞完整、分散均匀、着色适当的区域, 在油镜下观察, 以有核细胞形态完好作为判断制片优劣的标准, 观察嗜多染红细胞的微核 (呈灰蓝色), 而成熟红细胞呈粉红色^[12]。每只动物计数 1 000 个嗜多染红细胞 (PCE), 观察含有微核的嗜多染红细胞数, 计算微核率:

$$\text{微核率}(\%) = \frac{\text{含微核细胞数}}{\text{观察细胞数}} \times 1000$$

采用 *t* 检验法比较染毒组与对照组之间的差异是否显著。

1.4.2 时间效应关系。

1.4.2.1 剂量与分组。 设 1/10 LD_{50} 和溶剂两个剂量组。

作者简介 党卫红 (1967-), 女, 河南漯河人, 硕士, 讲师, 从事食品营养与安全的教学和研究。

收稿日期 2009-02-16

1.4.2.2 试验方法。选取健康昆明种小鼠 42 只,随机分成 7 组,每组 6 只,雌雄各半。其中一组为溶剂对照组,其他为染毒组,染毒方式同上。分别于最后一次染毒后 12、24、36、48、60、72 h 处死、制片,观察骨髓嗜多染红细胞的微核,计算微核率。采用 *t* 检验法比较染毒组与对照组之间的差异是否显著。

2 结果与分析

2.1 Na₂SO₃ 诱发小鼠骨髓嗜多染红细胞微核的剂量效应关系 从表 1 可看出,Na₂SO₃ 能诱发小鼠骨髓嗜多染红细胞微核,且随剂量增高微核率明显增加 ($P < 0.01$)。

表 1 Na₂SO₃ 对小鼠骨髓嗜多染红细胞微核形成的效应 (±S)

Table 1 Induction effect of sodium sulfite anhydrous derivatives on micronucleus in mouse bone marrow PCE cell

组别 Group	剂量 mg/kg Dose	动物数//只 Animal number	PCE 细胞数//个 PCE cell number	微核率//‰ Micronucleus rate
阴性组 Negative group	0	10	10 000	2.33 ± 0.50
阳性组 Positive group	40	10	10 000	53.83 ± 3.19**
Na ₂ SO ₃	1/20LD ₅₀	10	10 000	5.00 ± 0.82**
	1/10LD ₅₀	10	10 000	6.90 ± 0.88**
	1/5LD ₅₀	10	10 000	8.60 ± 1.22**

注: ** $P < 0.01$, 与对照组相比差异极显著; * $P < 0.05$, 与对照组相比差异显著。下表同。

Note: ** indicates $P < 0.01$, the difference is extremely significant compared with control; * indicates $P < 0.05$, the difference is significant compared with control. The same as follows.

2.2 Na₂SO₃ 诱发小鼠骨髓嗜多染红细胞微核形成的时间效应关系 从表 2 可看出,Na₂SO₃ 染毒后不同时间处死动物并制片,骨髓嗜多染红细胞微核率不同,染毒后 12 h 的微核率与阴性对照组相比有极显著差异 ($P < 0.01$),随染毒后时间的延长,细胞微核率增加,24 h 达到高峰,与相邻各组差异极显著 ($P < 0.01$),以后随时间延长而降低。表明 Na₂SO₃ 诱发小鼠骨髓嗜多染红细胞微核有一定时间效应关系。

表 2 Na₂SO₃ 染毒后不同时间小鼠骨髓 PCE 细胞微核率变化 (±S)

Table 2 Time-effect relation of micronucleus frequencies in mouse bone marrow PCE cells after exposure to sodium sulfite anhydrous derivatives

组别 Group	染毒后时间//h Time after poisoned	动物数//只 Animal number	PCE 细胞数//个 PCE cell number	微核率//‰ Micronucleus rate
阴性组 Negative group	24	6	6 000	2.33 ± 1.37
Na ₂ SO ₃ (1/10 LD ₅₀)	12	6	6 000	4.50 ± 0.82**
	24	6	6 000	6.83 ± 0.83**
	36	6	6 000	4.20 ± 0.80**
	48	6	6 000	4.00 ± 0.63**
	60	6	6 000	3.83 ± 0.75*
	72	6	6 000	3.50 ± 0.69*

3 讨论

微核 (Micronucleus) 是染色单体或染色体的无着丝点断

片,或因纺锤体受损而丢失的整个染色体,在细胞分裂后期,仍然遗留在细胞质中。末期之后,单独形成 1 个或多个规则的次核,被包含在子细胞的胞质内,因比主核小,故称为微核。凡能使染色体发生断裂或使染色体和纺锤体联结损伤的化学物,都可用微核试验来检测。

环境毒理学对 SO₂ 的研究证明,接触 SO₂ 污染的工人其血淋巴细胞染色体畸变,姊妹染色体互换及微核率均显著提高。即使在车间空气中 SO₂ 浓度未超标的情况下,SO₂ 对人体细胞遗传物质也已产生了明显的损伤效应^[4-6]。为更多了解食品添加剂 Na₂SO₃ 的遗传毒性,笔者用 2 种方法对小鼠骨髓嗜多染红细胞作微核试验,其中的剂量-一效应关系显示,Na₂SO₃ 能诱发小鼠嗜多染红细胞微核,且随剂量增多微核率明显增加,表明亚硫酸盐是染色体断裂剂和基因毒性因子。而 Na₂SO₃ 诱发小鼠骨髓嗜多染红细胞微核形成的时间效应关系显示,小鼠最后一次染毒后 12 h,微核频率即显著升高,随染毒后时间的延长,细胞微核率增加,24 h 达到高峰,以后随时间的延长而降低。

文献报道,多数化学物质 24~48 h 可在体内被转化为活性物质。由于小鼠骨髓 PCE 细胞平均寿命约为 24 h,故 Heddl 建议在给药后 12、24、48 h 取样,即可观察到微核的出现最高频率时间^[13]。笔者的时间效应试验结果表明,Na₂SO₃ 与文献报道的多数化学物相似。

笔者是从中央电视台《焦点访谈》节目曝光福建硫磺熏蒸银耳事件开始关注亚硫酸盐在食品中的应用及其毒性作用等问题的,相关资料及动物试验表明亚硫酸盐确有一定毒性作用。笔者认为,虽然在干菜制作过程中亚硫酸盐应用得比较多,但干菜在使用前都要经过泡发、清洗,可除去其中的亚硫酸盐;而在一些食用前不需或不能清洗的食物(如啤酒、葡萄酒及淀粉类食物)中的应用,应严格控制用量,按照国标规定使用,以免对食用者造成健康损害。

参考文献

- [1] 党卫红,徐启红.亚硫酸盐在食品加工中的应用[J].食品工程,2007,108(3):22-25.
- [2] 杨洪斌,马雁军,张云海.大气污染与健康损害研究综述[J].环境科学,2005,34(1):14-15.
- [3] 何丽.二氧化硫及其酸雨(雾)对人体的危害[J].湖北气象,1999(7):41-43.
- [4] 孟紫强,张连珍.亚硫酸氢钠(SO₂)对人体血淋巴细胞染色体畸变、姊妹染色单体互换及微核的效应[J].遗传学报,1994,21(1):1-6.
- [5] 孟紫强,张波,秦国华,等.二氧化硫对小鼠不同脏器 DNA 的损伤作用[J].中国环境科学,2005,25(4):424-427.
- [6] 孟紫强.二氧化硫对人体血淋巴细胞的遗传毒理效应[J].城市环境与城市生态,1994,7(4):17-21.
- [7] 孟紫强,桑楠,张波.二氧化硫体内衍生物诱发 CHL 细胞染色体畸变效应[J].中国环境科学,2000,20(1):8-12.
- [8] 仪慧兰,孟紫强.SO₂ 衍生物对大蒜根尖细胞遗传损伤作用的研究[J].环境科学学报,2001,21(4):486-490.
- [9] 李宏.亚硫酸氢钠诱发蚕豆根尖细胞有丝分裂异常性的研究[J].渝州大学学报,1997,14(4):1-7.
- [10] 尹卓容,王隼.葡萄酒生产中合理使用 SO₂ [J].中外葡萄与葡萄酒,2000(2):54-57.
- [11] 孙敬方.动物实验方法学[M].北京:人民卫生出版社,2002.
- [12] 张桥.卫生毒理学基础[M].3版.北京:人民卫生出版社,1999:16.
- [13] HEDDLE J A. The bone marrow micronucleus test [C]//KILBEY B J. Handbook of mutagenicity test procedure [M]. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier Scientific Publishing Company, 1984:441-457.