

苹果多酚的促排铅功效研究

艾志录¹, 王育红¹, 塔西买买提·马合苏木², 王 娜¹, 李建新¹

(1. 河南农业大学食品科学技术学院, 河南 郑州 450002

2. 伊犁师范学院生物化学与环境科学学院, 新疆 伊宁 835000)

摘 要: 采用小鼠腹腔注射乙酸铅溶液 10d, 建立染铅小鼠模型, 连续 15d 灌胃给予苹果多酚, 研究苹果多酚的促排铅作用。石墨炉原子吸收法测试血铅、尿铅、粪铅和股骨、肝脏中铅含量。结果表明: 染毒小鼠给予苹果多酚后, 血铅和股骨、肝脏中铅含量明显低于阳性对照组, 而尿铅明显高于阳性对照组。苹果多酚具有明显的促排铅效果。

关键词: 铅中毒; 苹果多酚; 排铅

Study on Effects of Apple Polyphenols on Lead Discharging in Mice

AI Zhi-lu¹, WANG Yu-hong¹, TAXIMAIMAITI Mahesumu², WANG-Na¹, LI Jian-xin¹

(1. College of Food Science and Technology, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China;

2. College of Biochemistry and Environment Science, Yili Normal University, Yining 835000, China)

Abstract: The purpose of this paper was to evaluate the lead discharging effects of apple polyphenol (AP) on male Kunming mice given lead. Lead acetate was administered by intraperitoneal injection for 10 days. Administration of AP to mice by gastric incubation was performed for 15 days from the end of lead exposure up to the end of the experiment. Then, the mice were sacrificed for comparison of lead distribution. Concentrations of lead in the specimens were determined by graphite furnace atomic absorption spectrophotometry. It was observed that the blood lead, the liver lead and the femur level significantly decreased, but urinates lead elimination significantly increased. The results illustrated that AP could discharge lead.

Key words lead poisoning; apple polyphenol; lead discharging

中图分类号: R155.33

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)08-0468-03

当前, 我国环境污染和汽车尾气污染形势严峻, 造成铅污染已由职业环境扩展到日常环境。由于儿童代谢的独特特点^[1]和铅污染空气中悬浮的特性^[2], 我国儿童中铅中毒流行率很高^[3]。服用传统排铅剂虽然具有很好的排铅效果, 但也有较大的毒副作用, 这为天然无毒排铅剂的开发应用提供良机。

苹果多酚(apple polyphenol, AP)是苹果中所含多元酚类物质的总称。有研究报道, AP 具有抗氧化、抗癌细胞增生, 调节脂质代谢等多项生理功能, 但是在目前所看到的文献中, AP 排铅功效还未见报道。

本实验就 AP 的排铅作用进行了初步研究, 为新型排铅保健食品的开发提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物材料与试剂

成年昆明雄性小白鼠, 20~24g, 由郑州大学实验

动物中心提供; 苹果多酚冻干粉(纯度 80.7%, 以总酚计)由本实验室自制。

硝酸(分析纯) 开封开化试剂厂; 乙酸铅(分析纯) 天津市天大化工实验厂; 乙二胺四乙酸二钠钙盐(优级纯) 国药集团化学试剂有限公司。

1.2 设备

TAS-990F 普析原子吸收分光光度计 北京普析通用仪器有限公司; TDL-5-A 低速大容量离心机 上海安亭科学仪器厂。

1.3 方法

1.3.1 高铅小鼠模型的建立

采用乙酸铅腹腔注射染毒法^[4]构建小白鼠高铅模型, 每日注射一次, 连续 10d, 染毒剂量为 1/10 LD₅₀ 乙酸铅, 即 12mg/kg 体重。

1.3.2 实验设计

收稿日期: 2007-06-10

作者简介: 艾志录(1965-), 男, 副教授, 博士, 研究方向为功能性食品与农产品精深加工。

将56只昆明雄性小白鼠随机分为7组,每组8只,分别为空白对照、模型对照、低剂量AP组、中剂量AP组、高剂量AP组、EDTA二钠钙盐和AP组。

染毒小鼠采用灌胃给药法连续灌胃15d。AP剂量参考朴宰日^[5]茶多酚剂量,即:高剂量900mg/kg,中剂量300mg/kg和低剂量150mg/kg,EDTA二钠钙盐(依地酸钙钠)剂量300mg/kg,AP剂量300mg/kg。自由取水,全价饲料饲喂。实验动物每2d称重一次,25d后放入代谢笼,收集48h尿、粪后断头处死,采集血样,解剖采集股骨和肝脏样品。

1.3.3 样品处理

收集的尿样混匀后,移取5ml置于10ml比色管,加入0.05ml浓硝酸,冰箱冷藏。分析前充分混匀,准确移取10μl进样,使用原子吸收光度计测定尿铅含量^[6]。

采集的血样置于事先加入肝素钠溶液的具塞离心管中,充分振摇,冷冻保存。分析前移取0.15ml于1ml具塞离心管中,加入5%硝酸溶液0.6ml,立即盖紧盖子剧烈振摇后,在漩涡混合器上振摇15s,静置15min,离心5min,取10μl上清液进样,测定吸光度^[7]。

粪、股骨和肝脏样品在烘箱中85℃烘至恒重,用研钵将样品研成粉末,准确称量样品,使用微波辅助湿法消解(硝酸:过氧化氢=4:2,V/V),挥尽余酸,用1%(V/V)硝酸溶液定容5ml,原子吸收法测定粪铅和肝脏、股骨中铅含量。

1.3.4 数据处理

采用SPSS14.0 for Windows中One-Way ANOVA进行数据处理和显著性检验。

2 结果与分析

2.1 苹果多酚对小鼠体重的影响

各实验组小鼠体重的变化情况见表1。染铅组小鼠与阴性对照组小鼠第10d相比,体重相差显著(p<0.05),说明小鼠染铅后生长发育已受到明显抑制。染铅毒小鼠给予AP和EDTA二钠钙盐后体重与阴性对照组小鼠相比仍相差显著,说明铅毒对小鼠生长发育的抑制是长期的。染铅小鼠给予不同浓度AP和EDTA二钠

钙盐处理与阳性对照组相比,小鼠体重没有显著性变化,但小鼠的外观健康状况明显好于阳性对照组,说明给予AP和EDTA二钠钙盐对小鼠的健康恢复是有利的。给予AP和EDTA二钠钙盐对染毒小鼠体重影响不大,朴宰日等在茶多酚排铅研究中也得到相似的结果。

2.2 苹果多酚对小鼠尿铅、粪铅的影响

各实验组小鼠的尿铅、粪铅结果见表2。由表2可知,与阴性对照组相比,染毒小鼠给予不同浓度AP后尿铅量增加,说明小鼠通过尿排泄铅量增大,尿铅增幅与给予AP的浓度存在剂量关系,但低浓度AP和中浓度AP组小鼠尿铅含量均低于阳性对照组。给予高浓度AP和EDTA二钠钙盐处理的小鼠尿铅含量之间差异不显著,但均明显高于阳性对照组,尿铅量约比阳性对照组增加40%。铅进入生物体内,主要是通过肾脏代谢,随尿液排出体外。染铅小鼠给予高浓度的AP处理,尿铅含量大幅增加,与经典排铅剂效果相近,说明适宜浓度的AP具有较强的增加尿铅排泄作用。

表2 各实验组小鼠的尿铅、粪铅结果($\bar{X} \pm SD$)

Table 2 Urinary lead and fecal lead level of mice in each group ($\bar{X} \pm SD$)

| 组别 | 样本 | 尿铅(μg/L) | 粪铅(μg/L) |
|---|----|--------------------------|---------------------------|
| CK | 3 | 28.32±3.65 ^a | 373.84±19.15 ^d |
| Pb ²⁺ | 3 | 83.58±2.59 ^b | 675.86±8.82 ^a |
| CK+AP ₃₀₀ | 3 | 29.25±1.43 ^a | 317.70±4.97 ^e |
| Pb ²⁺ +AP ₁₅₀ | 3 | 38.23±0.80 ^d | 370.48±3.22 ^d |
| Pb ²⁺ +AP ₃₀₀ | 3 | 57.31±2.97 ^c | 535.16±9.40 ^c |
| Pb ²⁺ +AP ₉₀₀ | 3 | 113.93±4.16 ^a | 608.49±16.79 ^b |
| Pb ²⁺ +EDTA二钠钙盐 ₃₀₀ | 3 | 118.49±4.53 ^a | 682.35±8.75 ^a |

注:1.显著水平p<0.05;2.标准差右上角标注相同字母表示统计不显著,不同字母表示统计显著。

与阴性对照组相比,染毒小鼠给予不同浓度AP后粪铅量开始增加,说明小鼠通过粪排泄铅量增大,粪铅增幅与给予AP的浓度存在剂量关系,但各浓度AP组小鼠粪铅含量均低于阳性对照组,说明在本实验给定浓度和时点范围内的AP未能增加染铅小鼠粪铅的排泄。给予EDTA二钠钙盐组小鼠粪铅含量高于阳性对照组,但二者相差不显著。

表1 各实验组小鼠体重随时间的变化情况($\bar{X} \pm SD$)

Table 1 Mice weight varied with time in each group ($\bar{X} \pm SD$)

| 组别 | 样本 | 初始体重(g) | 第10d体重(g) | 第25d体重(g) |
|---|----|-----------|-------------------------|-------------------------|
| CK | 8 | 22.02±1.3 | 30.75±2.31 ^a | 37.60±3.14 ^a |
| Pb ²⁺ | 8 | 22.01±1.4 | 25.87±2.15 ^b | 30.26±3.77 ^b |
| CK+AP ₃₀₀ | 8 | 22.07±1.0 | 31.20±2.59 ^a | 36.95±3.60 ^a |
| Pb ²⁺ +AP ₁₅₀ | 8 | 22.00±1.6 | 25.73±1.80 ^b | 30.45±3.00 ^b |
| Pb ²⁺ +AP ₃₀₀ | 8 | 22.01±1.4 | 25.90±1.70 ^b | 31.54±3.12 ^b |
| Pb ²⁺ +AP ₉₀₀ | 8 | 22.12±1.3 | 25.74±2.35 ^b | 30.70±3.76 ^b |
| Pb ²⁺ +EDTA二钠钙盐 ₃₀₀ | 8 | 22.27±1.0 | 25.82±1.71 ^b | 30.17±2.18 ^b |

注:1.显著水平p<0.05;2.标准差右上角标注相同字母表示统计不显著,不同字母表示统计显著。

表3 各实验组小鼠血铅和股骨、肝脏中的铅含量($\bar{X} \pm SD$)
Table 3 Lead level in blood and femurs and liver of mice in each group($\bar{X} \pm SD$)

| 组别 | 样本数 | 血铅($\mu\text{g/L}$) | 股骨($\mu\text{g/L}$) | 肝脏($\mu\text{g/L}$) |
|--|-----|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| C K | 3 | 50.16 \pm 8.66 ^e | 107.12 \pm 10.41 ^f | 73.26 \pm 9.10 ^e |
| Pb ²⁺ | 3 | 465.85 \pm 15.86 ^a | 489.72 \pm 9.48 ^a | 495.16 \pm 5.54 ^a |
| Ck+AP ₃₀₀ | 3 | 54.89 \pm 2.37 ^e | 104.70 \pm 10.51 ^f | 74.63 \pm 3.97 ^e |
| Pb ²⁺ +AP ₁₅₀ | 3 | 432.17 \pm 6.32 ^b | 437.53 \pm 6.67 ^b | 423.40 \pm 13.25 ^b |
| Pb ²⁺ +AP ₃₀₀ | 3 | 337.00 \pm 5.51 ^c | 411.56 \pm 7.96 ^c | 362.79 \pm 7.37 ^c |
| Pb ²⁺ +AP ₉₀₀ | 3 | 219.02 \pm 17.96 ^d | 286.65 \pm 6.28 ^d | 325.07 \pm 15.36 ^d |
| Pb ²⁺ +EDTA 二钠钙盐 ₃₀₀ | 3 | 232.17 \pm 26.25 ^d | 219.58 \pm 5.40 ^e | 317.61 \pm 13.26 ^d |

注: 1、显著水平 $p < 0.05$; 2、标准差右上角标注相同字母表示统计不显著, 不同字母表示统计显著。

2.3 苹果多酚对小鼠血铅和股骨、肝脏中铅含量的影响

各实验组小鼠血铅和股骨、肝脏中铅含量结果见表3。从表3中可看到, 利用腹腔注射染毒小鼠与阴性对照组相比, 血液、股骨和肝脏中的铅含量显著增加($p < 0.05$), 说明建立高铅模型成功。通过灌胃给予不同浓度AP后, 染铅毒小鼠与阳性对照组相比, 血液、股骨和肝脏中铅含量显著性降低, 而且铅含量的下降水平与给予AP的浓度存在剂量关系, 随着AP浓度的增加而铅含量水平递减。EDTA二钠钙盐组小鼠血铅和股骨、肝脏中铅含量也降低显著, 但与高浓度AP相比差异不显著。表明浓度范围内AP有助于促进血铅排出, 降低股骨和肝脏中的铅含量, 作用显著。

3 讨论与结论

王继伟等^[8]认为橡子粉中单宁类物质分子上含有多邻位酚羟基团, 酸性条件下, 可作为多基配体与铅离子络合形成沉淀物, 具有明显的降低血铅, 增加尿铅排泄功能。高桂珍等^[9]认为茶叶显著降低血铅、尿铅能力与茶叶中成分吸附铅离子性能突出有关。

许多研究表明, 活性氧应激介导的氧化损伤参与了铅中毒的病理学过程^[10-13], 抗氧化剂在铅中毒的治疗中可能起到重要作用。朴宰日等认为茶儿茶素具有自由基清除及络合金属离子能力, 能够阻断并逆转铅诱导的细胞氧化损伤, 同时也观测到茶多酚能显著降低肝脏中铅含量。VC、菊花也都具有氧化损伤和促进排铅作用^[14-15]。

苹果多酚具有比茶多酚更高的抗氧化活性, 同时AP中缩和单宁类物质含量较多^[16]。本试验结果可能是苹果多酚的抗氧化作用阻断了铅中毒的病理学过程, 苹果多酚中某些成分整合沉淀铅离子的共同作用。不过, 苹果多酚对铅中毒后机体健康状况改善和苹果多酚与机体中铅的作用机理, 有必要再作深入研究。

本实验初步探讨了苹果中提取的苹果多酚的排铅效果, 结果表明: 苹果中多酚物质具有明显的排铅功能,

能够促进尿铅排出, 拮抗金属铅所致的血铅吸收, 降低血铅水平, 减少金属铅在股骨、肝脏的蓄积。将其制成保健食品可以有效抑制人体对铅的吸收, 达到排除铅毒, 减轻铅毒对人体损伤的作用, 为苹果多酚在防治铅中毒方面的应用提供新的思路 and 途径。

参考文献:

- [1] Environmental Health Criteria 59. Principles for evaluating health risks from chemicals during infancy and early childhood[S]. International Programme on Chemical Safety, Commission of European Communities. World Health Organization, Geneva, 1986.
- [2] 凌关庭. 保健食品功能与评价(八)[J]. 粮食与油脂, 2002(1): 46-48.
- [3] 磨希娥, 苏旭. 我国儿童铅中毒的研究现状[J]. 中国职业医学, 2003, 30(2): 48-49.
- [4] 孙敬方. 动物实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 199.
- [5] 朴宰日, 王岳飞, 杨贤强, 等. 儿茶素对铅诱导HepG2细胞氧化损伤及茶多酚对铅毒小鼠体内铅含量的影响[J]. 茶叶科学, 2003, 23(2): 119-123.
- [6] 中华人民共和国卫生部. WS/T18-1996 尿中铅的石墨炉原子吸收光谱测定方法[S].
- [7] 中华人民共和国卫生部. WS/T174-1999 血中铅、镉的石墨炉原子吸收光谱测定方法[S].
- [8] 王继伟, 蒋丽萍, 赵全, 等. 橡子保健食品排铅功能的研究[J]. 食品科学, 2005, 26(4): 253-255.
- [9] 高桂珍, 顾向荣, 张希桥, 等. 茶叶驱铅的实验研究[J]. 卫生毒理学杂志, 1995, 9(2): 110-113.
- [10] HERMES-LIMA M, PEREIRA B, BECHARA E J H. Are free radicals involved in lead poisoning?[J]. Xenobiotica, 1991, 21: 1085-1090.
- [11] MONTERIRO H P, ABDALLA D S P, ARCURI A S, et al. Oxygen toxicity related to exposure to lead[J]. Clin Chem, 1985, 31: 1673-1676.
- [12] HSU P C, LIU M Y, JSI C C, et al. Effects of vitamin E and(or) C on reactive oxygen species-related lead toxicity in the rat sperm[J]. Toxicology, 1998, 128: 169-179.
- [13] GURER H, OZGUNES H, OZTEZCAN S, et al. Antioxidant role of α -lipoic acid in lead toxicity[J]. Free Radical Biology and Medicine, 1999, 27: 75-81.
- [14] 赖建强. 某些营养素对铅毒性的影响[J]. 国外医学卫生学分册, 1999, 26(2): 95.
- [15] 范广勤, 朱建华, 阎冀, 等. 杭白菊的排铅作用及对睾丸组织SOD和GSH-Px活性的影响[J]. 卫生毒理学杂志, 1998, 12(3): 163.
- [16] 唐传核, 彭志英. 苹果多酚的开发及应用[J]. 中国食品添加剂, 2001(2): 41-45.