

节为 1、2、3、4、5 ,然后显色 ,结果显示溶液 pH 为 2 的吸光度最高 ,本法选择 pH 2 溶液。

2.1.3 90 水浴中保温时间的选择 溶液加 TBA 后 ,置 90 水浴中分别保温 10、20、30、40、50、60 min ,结果显示 ,10 min 吸光值最低 ,随保温时间的增

加 ,吸光值逐渐增大。40 ~ 60 min 达到最大显色强度且一致 ,本法选用 90 水浴中保温时间 40 min。

2.2 精密度试验 对两份试样分别在不同时间各进行 7 次重复测定 ,结果相对标准偏差为 3.56、3.28 ,见表 1。

表 1 精密度试验

试样	测定值 mg/100 g							\bar{x}	s	RSD %
	1	2	3	4	5	6	7			
1	0.077	0.075	0.073	0.073	0.071	0.073	0.069	0.073	0.0026	3.56
2	0.196	0.205	0.200	0.196	0.205	0.211	0.192	0.201	0.0066	3.28

2.3 准确度试验

2.3.1 回收率试验 取 2.2 中 1 号样分别加入一定量的丙二醛标准液 ,按分析步骤分别测定 6 次 ,结果见表 2。

2.3.2 对照试验 对 10 份不同试样分别用本法和比色法^[3]测定 ,结果见表 3。

表 2 回收率试验 %

试样含量 mg/100 g	加入丙二醛量 μ g	回收范围	平均回收率	RSD
0.073	0.2	86.37 ~ 99.02	93.78	4.84
0.073	1.0	89.23 ~ 106.2	95.94	5.22
0.073	5.0	93.57 ~ 108.0	99.20	3.68

表 3 本法与比色法^[3]实验结果对照 mg/100g

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
本 法	0.088	0.097	0.124	0.161	0.196	0.205	0.235	0.247	0.260	0.308
比色法	0.091	0.109	0.118	0.106	0.178	0.205	0.210	0.230	0.282	0.310

经统计配对 t 检验 (双侧) , $t = 0.206$, $t_{0.05(9)} = 2.262$, $t < t_{0.05(9)}$,所以 $P > 0.05$,说明两种方法无显著性差异。

参考文献 :

[1] Knight JA ,Smith SE ,Kinger VE ,et al. Reference intervals for plasma lipoperoxides :age , sex , and specimen-related variations[J] . Clin Chem ,1987 ,33 :2289.

[2] 李建武 ,等 . 硫代巴比妥酸荧光法测定血清及组织脂质过氧化物 [J] . 第二军医大学学报 ,1987 ,8 (5) :371 — 373.

[3] GB 10146—88. 猪油卫生标准[S].

[4] 许龙福 . 猪油中丙二醛萃取比色检测法的改进 [J] . 食品卫生 ,1993 ,(7) :5 —7.

中图分类号 :R15 ;O657.32 文献标识码 :B 文章编号 :1004 - 8456(2001)04 - 0016 - 02

食品添加剂溴酸钾对 DNA 的氧化损伤

柯跃斌¹ 张 桥²

(1. 深圳市卫生防疫站 ,广东 深圳 518020 ;2. 广州中山医科大学 ,广东 广州 510089)

溴酸钾是一种氧化性强的食品添加剂 ,利用高效液相色谱电化学检测法分析 DNA 内 8-羟基-2-脱氧鸟苷 (oh⁸dG) 的含量可定量研究 DNA 的氧化性损伤 ,^[1,2]发现大鼠经口给予溴酸钾 (KBrO₃) 能在其靶器官肾脏产生 oh⁸dG。

1 材料和方法

1.1 仪器设备 HPLC/EC 系统为美国 BIO-RAD 公司产品 ,色谱柱用大连化物所 Spherisorb C₁₈ 5 μ m 型 (4.6 mm \times 250 mm)。

1.2 试剂 oh⁸dG 标准品由美国 Oklahoma 医学研究所提供。

1.3 动物处理 雄性 Sprague Dawley 大鼠 ,体重 100 ~ 120 g ,其中 DNA 氧化试验分 5 组 ,每组 6 只 ,

以 KBrO_3 400 mg/kg 给小鼠灌胃,分别在灌胃后 0、6、12、24、48 h 剖杀取肾。

1.4 试样处理

1.4.1 肾组织 DNA 的抽提 采用酚抽提法,并通入氩气饱和。

1.4.2 DNA 浓度测定 采用紫外分光光度法。

1.4.3 DNA 酶解消化 取 200 μl 3 ~ 5 A260 的 DNA,加热变性,冷却后加 20 μg DNase I (37 , 30 min),再加 1.3 单位碱性磷酸酶 (37 , 60 min)。

1.5 试样分析

HPLC/EC 色谱柱用 50 μm 粒径 C_{18} 柱,流动相用 50 mM KH_2PO_4 (pH 5.5) 和甲醇 (体积比 88 : 12),流速 1 mL/min,EC 检测器采用 +0.6 伏氧化电压。

1.6 统计处理 采用 SPSS 软件 (SPSS Inc. ,USA) 作统计分析。

2 结果 食品添加剂 KBrO_3 一次作用于 SD 大鼠后,其靶器官肾脏 DNA 中 oh^8dG 含量在短期内增高,以 24 h 所测值最高;0 ~ 24 h oh^8dG 增高呈时间—反应关系 ($r = 0.92$, $P < 0.05$),结果见表 1、图 1。

表 1 KBrO_3 对大鼠肾 DNA oh^8dG 含量的影响

组别	数量 只	时间 h	oh^8dG fmol/ μg
0	6	0	12.9 \pm 3.45 ⁽¹⁾
1	6	6	24.5 \pm 7.39 ⁽¹⁾
2	6	12	46.4 \pm 7.07 ⁽¹⁾
3	6	24	61.5 \pm 15.88 ⁽¹⁾
4	6	48	44.5 \pm 6.23 ⁽¹⁾

注: q 检验:6 h,1 组与其他各组比较 $P < 0.01$;12 h,2 组与 0、1、3 组比较 $P < 0.01$;24 h,3 组与其他各组比较 $P < 0.01$;48 h,4 组与 0、1、3 组比较 $P < 0.01$ 。

3 讨论 KBrO_3 是一种应用广泛的食物添加剂,主要用于面包的生产过程,面包中的 KBrO_3 在烘烤时可转化为 KBr 。 KBrO_3 经口给予大鼠可致癌,对其他动物和人亦有肾毒作用。 KBrO_3 在 Ames 试验中呈阴性,小鼠微核试验为阳性。 KBrO_3 还能使脂质过氧化水平升高,说明 KBrO_3 引起的 oh^8dG 升高可能是通过自由基的作用。本研究提示 KBrO_3 能使大鼠肾组织氧自由基含量升高,导致 DNA 氧化,产生 oh^8dG ,从而可引发肾肿瘤。^[3,4,5]

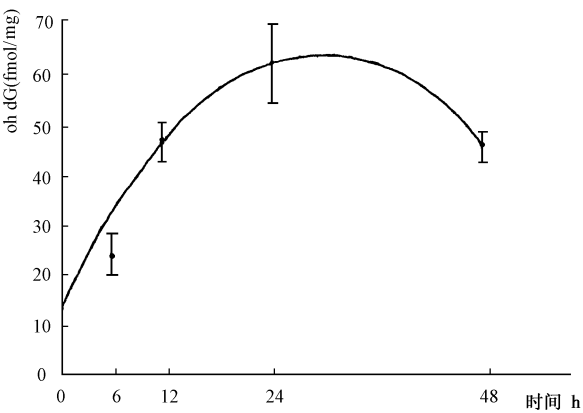


图 1 KBrO_3 对大鼠肾 DNA 的氧化作用

肾组织 DNA 遭氧化打击后, oh^8dG 水平迅速增高;后续过程可能存在氧化和修复两种作用,所以 oh^8dG 水平在 24 h 达到峰值后,又出现回落。^[6] 鉴于此,对面包中 KBrO_3 含量应予关注。

参考文献:

[1] Adachi S, Zeisig M, et al. Improvements in the analytical method for 8-hydroxydeoxyguanosine in nuclear DNA [J]. Carcinogenesis, 1995, 16 (2) :253 —258.

[2] Barnes D, Garcia G, et al. A Simplified Method for the Determination of 8-Hydroxy-2-Deoxyguanosine (8-OH-DG) in Nuclear DNA by HPLC-EC [C]. Submitted to the American Association of Pharmaceutical Scientists 1997 Annual Meeting.

[3] Raizo Y, Takeshi H, et al. Increase in the 8-Hydroxyguanine Repair Activity in the Rat Kidney after the Administration of a Renal Carcinogen [J]. Ferric Nitrilotriacetate Environ Health Perspect, 1996, 104 (Suppl 3) :651 —653.

[4] Toxicity and carcinogenicity of potassium bromate —a new renal carcinogen [J]. Environ Health Perspect, 1990, 87 :309 —935.

[5] Adama T, et al. Combined effects of okadaic acid and cadmium on lipid peroxidation and DNA bases modifications (m5dC and 8-(OH)-dG) in Caco-2 cells [J]. Arch Tox. Abst, 2000, 74 (2) :79 —84.

[6] Naoko M. Determination of carcinogenic potential of mineral fibers by 8-hydroxydeoxyguanosine as a marker of oxidative DNA damage in mammalian cells [J]. Int Arch Occup Environ Health, 1997, 70 (5) :321 —326.