

文章编号: 2095-7300(2014)03-022-04

黄栀子中栀子黄色素含量的测定及重金属安全性评价

李玉白

(湖南环境生物职业技术学院, 湖南 衡阳 421005)

摘要:为评价黄栀子的食用安全性,以提高黄栀子的综合开发利用,本研究对黄栀子中栀子黄色素和重金属的含量分别进行了测量.将黄栀子光波消煮,用紫外分光光度计测定其矿物质和栀子黄色素的含量,测试结果显示黄栀子中的矿物质和栀子黄色素含量丰富.本研究以砷为研究对象,进行急性经口毒性、大鼠精子畸形、大鼠骨髓细胞微核、180天喂养等安全性毒理学评价试验研究.试验结果表明:所测定的40批黄栀子样品中,其水溶出物中的砷、汞、镉含量分别为: $w(\text{汞}) \leq 0.0153 \text{ ug/g}$ 、 $w(\text{砷}) \leq 0.0613 \text{ ug/g}$ 、 $w(\text{镉}) \leq 0.0167 \text{ ug/g}$,均极其微小;遗传毒性试验结果无显著相关性,180天喂养试验结果表明,在本试验剂量范围内无毒副作用.研究结果显示:黄栀子中的栀子黄色素含量丰富,且具有较好的食用安全性.表4,参8.

关键词:黄栀子;栀子黄色素;安全性毒理学评价

中图分类号:R994.4 **文献标识码:**A

黄栀子(*Yellow Gardenia jasminoides Ellis*),是常绿灌木,来源于茜草科植物栀子及同属多种植物的药用果实.栀子黄色^{1,2}素是从黄栀子的果实中提取分离的一种优良天然色素.其资源丰富,而且具有一定的营养和药理作用.许多学者对栀子黄色素的稳定因素、分离纯化、定性定量方法等方面作了研究.而作者在近年的研究中发现,黄栀子中的栀子黄色素作为天然色素在食品、药品、化妆品等领域有巨大的应用潜力.本文拟测定栀子黄色素中重金属含量,以评价其应用安全性,为栀子黄色素的进一步综合开发利用提供参考依据.

1 材料和方法

1.1 实验材料与仪器

黄栀子,安徽泰格生物技术股份有限公司;SD(Sprague Dawley)大鼠,由南华大学实验动物学部提供,许可证号:SYXK(湘)2012—0013;环磷酰胺(分析纯),北京荣达生物技术有限公司生产.

紫外分光光度计(Ultraviolet spectrophotometer, US),上海元析仪器厂;BH2BHS-312型显微摄影显微镜(美国Loymnperus公司);捣碎机,上海第一仪器厂;全自动血球计数仪,上海精细仪器公司;全自动生化分析仪(AU5600),南充蓝森科贸.

1.2 试验方法

1.2.1 栀子黄色素和微量元素测定

黄栀子^{3,4}在106℃条件下烘干备用.将黄栀子经光波消煮后,用紫外分光光度计测定其栀子黄色素和矿物质含量⁵⁻⁶.栀子黄色素和矿物质的测定全部依据我国《食品卫生检测方法》所规定的方法和标准进行.所有指标测定均在中南大学测试中心进行.

1.2.2 安全性毒理学评价试验

氧化还原滴定法测定铬的含量,马氏试砷法测定砷的含量,二硫脲比色法测定汞的含量.以铬为参考对象,对样品进行安全性毒理学评价.

收稿日期:2013-12-16

基金项目:湖南省社会发展支撑计划项目(编号:2013SK5021);湖南省林业厅科技计划项目(编号:XLK201342)

作者简介:李玉白(1963-),女,湖南湘潭人,硕士,教授,研究方向:环境健康.

1) 急性经口毒性试验

取 SD 大鼠 10 只(雌雄各半,体重 90 ~ 120 g). 将大鼠禁食 24 h 后,将受试物铅一次性经口灌胃,其注入量为每千克体质量 0.20 ug. 其后观察动物的精神状态、活动能力、毛发状态、食欲.

2) 骨髓细胞微核试验

取 SD 大鼠 12 只(雌雄各半,体重 90 ~ 120 g) 随机分为 4 组,每组 3 只. 四个试验组灌胃剂量分别为每千克体质量灌 0.855 ug, 0.645 ug, 0.358 ug, 0.243ug. 以环磷酰胺(每千克体重灌 40 mg 剂量)为阳性对照,以蒸馏水为阴性对照,采用间隔 24 小时 2 次经口进行鼠骨髓细胞微核试验. 末次给药 6 小时后,处死动物(颈椎脱臼法),备用.

稀释各试验动物的头骨骨髓,涂片,待干后再置甲醇溶液中 5 - 10min 完全固定,彻底脱水,适度透明,充分浸蜡,并用苏木精-尹红(hematoxylin-eosin, H-E)染色. 荧光显微镜在油镜下观察含有微核的嗜多染红细胞数,每只动物计数 1200 个 PEC(嗜多染红细胞),计算其微核发生率(含微核的 PEC 千分率),以统计学中的 Poisson 分布统计处理结果.

3) 精子畸形试验

取 SD 大鼠 20 只(雄性,体重为 90 ~ 120 g),随机分为 5 组,每组 4 只. 以腹腔注射蒸馏水的 SD 大鼠为阴性对照组,以体重/千克添加 120 mg 甲基磺酸乙脂腹腔注射的雄性 SD 大鼠为阳性对照组. 3 个试验组采用高剂量铬(每千克体重注射 0.850 μg)、中剂量铬(每千克体重注射 0.645 μg)、低剂量铬(每千克体重注射 0.458 μg)分别处理,每日注射一次,连续 5 d,阴性对照组给予相同剂量的蒸馏水. 并于末次注射后的第 30 d 处死动物,剪开腹腔,分离及摘取其副睾,将副睾实放入盛有 3ml 生理盐水的平皿中,制片,以 HE 染色,荧光显微镜观察,每只大

鼠计数 1 200 个结构完整的精子,计算精子畸变率,按统计学 χ^2 检验处理.

4) 180 天喂养试验与指标检测

取 SD 大鼠 20 只(雌雄各半,体重 90 ~ 120 g) 随机分为 4 组,每组 5 只. 用捣碎机将试验物黄栀子捣碎,加入饲料中,充分搅拌均匀. 配成黄栀子色素添加质量分数为 6.65%, 9.96%, 13.52% 的 3 种饲料(约相当于体重的 30, 60, 100 倍). 阴性对照组喂以普通饲料. 3 个试验组喂饲配制饲料. 连续喂养 180 天. 每周末称体重一次. 每天观察同时记录精神状态、活动能力、毛发状态、摄食和饮不情况.

180 天喂养后的大鼠禁食 12 小时后采血. 实验中期取尾血;实验末期摘眼球取血. 每次采血量 0.6 ~ 0.1ml. 用全自动血球计数仪测定血细胞数. 用 7150 全自动生化分析仪分别测定所采样品的 Alb(清蛋白)、Tb(总蛋白)、Chol(胆固醇)、TG(三脂酰甘油)、ALT(丙氨酸氨基转移酶)、AST(天冬氨酸氨基转移酶)、A/G(清/球)比值、BUN(尿素氮)、Cr(肌酐, m jhnnn). 解剖实验大鼠,取其内脏组织肝、心肌、肾称重,并计算脏/体比.

2 实验结果与分析

2.1 微量元素和栀子黄色素含量

通过对 40 批黄栀子样品进行测定,结果显示黄栀子水浸出物中的砷(As)、汞(Hg)、镉(Cr)质量分数值极其小,各重金属的浸出值分别为 w(汞) \leq 0.0153 ug/g, w(砷) \leq 0.0613 ug/g, w(镉) \leq 0.0167 ug/g

黄栀子中所含的矿物质和栀子黄色素数据如表 1 所示,其中各元素的质量为每 100 克干黄栀子中所含的矿物质或栀子黄色素的质量,以 mg 计.

表 1 100 克干黄栀子中矿物质和栀子黄色素的质量

Tab. 1 Mineral and yellow pigment content in 100 grams of dry matler of Yellow Gardenia jasminoides Ellis

元素符合	Na	K	Ca	Cu	Fe	Zn	Mn	Se	yellow Ezi
质量/mg	516	82.9	1 173	0.29	6.91	1.06	0.79	0.006 1	42

根据表 1 中测得的数据,每 100 g 实验样品黄栀子中含栀子黄色素 42 mg, 含钙(Ca) 1173 mg, 与含钙丰富的虾米(含钙量 882 毫克/100 克)相比较,黄栀子的含钙量高;每 100 克黄栀子中含铁 6.91 毫

克,与蛋黄中铁的含量 6.5 毫克/100 克相当;每黄栀子中含铜 0.27 毫克,与 100 克薯片含铜量 0.29 毫克/100 克相当;每 100 克黄栀子中含锰 0.79 毫克,与生姜中每 100 克含锰量 0.83/100 克接近;每

100 克黄栀子中含硒 0.006 1 毫克,接近每 100 g 蘑菇中的含硒量 0.006 5 毫克/100 克;参照国家食品卫生标准,本次实验结果显示:黄栀子中的微量元素含量较高。

2.2 安全性毒理学试验结果

2.2.1 急性毒性试验结果

对腹腔注射 SD 大鼠的活动情况进行为期 14 天的观察,发现所有实验老鼠的精神状态无异常,进食情况无异常,活动状况亦无明显变化,未见中毒症状,未有死亡发生。

参照食品中铬的允许限量(国家食品卫生标准,铬限量 0.12 ug/g),汞的允许限量(世界卫生组织规定,汞限量,0.025 ug/g),砷的允许限量(世界卫生组织规定,砷限量 0.015 ug/g),实验样品黄栀子中的微量元素 Cr、Se、Hg 在安全摄入范围内,其对动物的毒性作用可以忽略。

2.2.2 骨髓细胞微核率统计与分析

测试 SD 大鼠的骨髓细胞微核率,结果见表 2。

表 2 大鼠骨髓细胞微核率

Tab. 2 The micronucleus rate of rat bone marrow cell

组别	对照组		实验组			
	阴性	阳性	1	2	3	4
微核率/%	1.05	1.89	1.21 ^{ab}	1.16 ^{ab}	1.28 ^{ab}	1.37 ^{ab}

注:a $P < 0.05$, b $P > 0.05$

由表 2 可看出,4 个剂量试验组的微核率分别为:1.21%,1.16%,1.28%,1.37%,将它们与阴性对照组的微核率(1.05%)比较,可知其差异不显著($P < 0.05$);将他们与阳性对照组微核率(1.89%)比较,可知其差异显著($P > 0.05$)。

2.2.3 精子畸形率统计与分析

进行 SD 雄性大鼠精子畸形试验,结果见表 3。

表 3 大鼠精子畸形率

Tab. 3 The Pentoxifylline' deformity rate of SD rat

组别	对照组		实验组		
	阴性	阳性	高剂量	中剂量	低剂量
精子畸形率/%	2.13	2.62	2.21	2.45	1.94

注:a $P < 0.01$, b $P > 0.01$

根据表 3,3 个剂量试验组的分别为 2.21%,2.45%,1.94%,与阴性对照组的精子畸形率 2.13%比较,其差异不显著($P < 0.01$),与阳性对照组的精子畸形率 2.62%比较,其差异显著($P > 0.01$)。

2.2.4 喂养试验与分析检测指标

喂养试验全程未见动物死亡。本次试验显示,在本次试验剂量范围内,Cr、Se、He 的 180 天喂养试验对 SD 大鼠没有呈现毒性反应,黄栀子中的微量元素 Cr、Se、He 在安全摄入范围之内。

喂养试验后,大鼠的肝、肾功能等生化指标检测结果如表 4 所示。

表 4 大鼠各项生化指标

Tab. 4 The biochemistry indexes of SD rat

生化指标	清蛋白 /(g·L ⁻¹)	总蛋白 /(g·L ⁻¹)	Chol /(mmol·L ⁻¹)	TG /(mmol·L ⁻¹)	ALT /卡门氏 单位	AST /卡门氏 单位	血糖 /(mmol·L ⁻¹)	A/G	尿素氮 /(mmol·L ⁻¹)	Cr /(μmol·L ⁻¹)
对照组	35.7	58	2.49	0.35	5.13	9.02	3.10	1.6	3.13	43
试验组	36.1	56.2	2.38	0.38	4.98	9.11	3.14	1.80	3.32	44.7

注:试验组与对照组比较($P > 0.01$)

肝肾心组织病理切片,显微镜观察,未见明显病理改变。根据黄栀子中 Cr、Se、Hg 含量的测量数值,依据世界卫生组织规定和我国食品卫生标准,黄栀子中微量元素 Cr、Se、Hg 未致大鼠组织突变,未发生蓄积中毒。

3 结论

该次实验研究的结论如下:

1) 黄栀子中栀子黄色素含量较多,且微量元素

含量较为丰富,对人体有一定的保健作用;

2) 经安全性毒理学试验研究,依据世界卫生组织(World Health Organization, WHO)规定以及中国食品卫生标准,栀子黄色素食用安全性良好。

栀子黄色素作为天然色素在食品、药品、化妆品等领域有巨大的应用潜力。

以上各结论表明,黄栀子的综合开发利用将大有可为。

参考文献:

- [1] 刘华德. 中华药海[M]. 哈尔滨出版社, 2010; 1 238-1 463.
- [2] 于英. 营养和食品卫生学[M]. 第二版. 北京: 人民卫生出版社, 2011.
- [3] 张鸿雁. 黄酮抗氧化和降血脂作用研究[J]. 食品工业

科技, 2009, 6(10): 18-27.

- [4] 黄红焰, 李玉白. 萱草活性成分黄酮干对糖尿病大鼠抗动脉粥样硬化活性的研究[J]. 湖南环境生物职业技术学院学报, 2010, 16(4): 26-28.
- [5] 秦园, 陈小城, 李峰等. 黄栀子挥发物中手性单萜的组成与相对含量[J]. 分析测试学报, 2011, 5(2): 14-15.
- [6] 陈长武, 昌友权, 曲红光, 等. 松针提取物抗衰老氧化作用研究[J]. 食品科学, 2012, 26(9): 465-467.
- [7] Ahn J S, Hellenas L, Clarke DB, et al. Verification of the Findings of Acrylamide in Heated Foods[J]. Food Addit Contam, 2012, 15: 1 123-1 128.
- [8] Svensson K, Abramson L, Bamker W, et al. Dietary Intake of Acrylamide in Sweden[J]. Food Chem Toxicol, 2010, 20: 1 534-1 536.

Determination of the Content of Gardenia Yellow Pigment and Toxicological Evaluation of Safety on Heavy Metals in Yellow Ezi

LI Yu-bai

(Hunan Polytechnic of Environment and Biology, Hengyang 421005, China)

Abstract: In order to evaluate edible safety of Yellow Ezi and improve its comprehensive utilization, this study determined respectively the content of gardenia yellow pigment and Heavy Metals in Yellow Ezi. By digestion of the yellow Ezi light, the content of minerals and gardenia yellow pigment were determined by UV spectrophotometry. The results showed that the content of minerals and gardenia yellow pigment in Yellow Ezi was rich. Arsenic as the object of study, the experimental study was carried out to evaluate the acute oral toxicity, rat, micronucleus, sperm deformity of bone marrow cells of rat in 180 days feeding safety toxicology. The results showed that in the determination of the 40 batch of Yellow Ezi samples, arsenic, mercury compounds, cadmium content were dissolved in water: $w(\text{arsenic}) \leq 0.0613 \text{ ug/g}$, $w(\text{mercury}) \leq 0.0153 \text{ ug/g}$, $w(\text{CD}) \leq 0.0167 \text{ ug/g}$, which were extremely small. Genetic toxicity tests showed no significant correlation, 180 days feeding test results showed that, under the experimental dose range, there were non-toxic side effects. The results show that the content of gardenia yellow pigment in Yellow Ezi is rich, which has good food safety. 4 tabs., 8 refs.

Keywords: Yellow Ezi; gardenia yellow pigment; toxicological safety evaluation