

花生红衣补血口服液改善大鼠缺铁性贫血作用的研究

张海悦*, 杨雪, 魏滢, 刘曼

(长春工业大学化学与生命科学学院, 长春 130012)

摘要: **目的** 验证花生红衣补血口服液对改善缺铁性贫血的作用效果。**方法** 用低铁饲料饲喂大鼠 5 周后, 建立缺铁性贫血大鼠模型, 随机分成低铁对照组和花生红衣补血口服液的低、中、高剂量实验组, 观察每组大鼠体重、血红蛋白(Hb)和红细胞游离原卟啉(FEP)含量的变化。**结果** 经花生红衣补血口服液低、中、高剂量灌胃后, 实验组大鼠的体重和 Hb 含量均显著高于低铁对照组($P<0.05$), FEP 含量显著低于低铁对照组($P<0.05$)。

结论 花生红衣补血口服液具有改善缺铁性贫血的功能。

关键词: 花生红衣; 口服液; 大鼠; 缺铁性贫血

Effect of the oral enriching blood liquid from red peanut skin on improving iron deficiency anemia

ZHANG Hai-Yue*, YANG Xue, WEI Ying, LIU Man

(College of Chemical and Life Science, Changchun University of Technology, Changchun 130012, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the function of improving iron deficiency anemia by the “oral enriching blood liquid from red peanut skin” (OEB). **Methods** Iron deficiency anemia animal models were made by giving the low-iron feed to rats for 5 weeks, and the rats were randomly enrolled into 4 groups. The groups included control group, low, middle and high test group. The body weight, change of Hb content and FEP content in blood of all rats were recorded. **Results** The body weight and level of Hb in OEB groups were enhanced notably than the control group ($P<0.05$). FEP and its change values in OEB groups were decreased notably than the control group ($P<0.05$). **Conclusion** The OEB can improve the iron deficiency anemia.

KEY WORDS: red peanut skin; oral liquid; rat; iron deficiency anemia

1 引言

营养性贫血是指因机体生血所必需的营养物质, 如铁、叶酸、维生素 B₁₂ 等物质相对或绝对地减少, 使

血红蛋白的形成或红细胞的生成不足, 以致造血功能低下的一种疾病。而缺铁是世界上最常见的营养缺乏症^[1], 并且缺铁性贫血作为一种健康问题, 影响着全球三分之一的人群^[2]。

基金项目: 吉林省科学技术厅资助项目

Fund: Supported by Science and Technology Department of Jilin Province

*通讯作者: 张海悦, 教授, 主要研究方向天然产物。E-mail: zhaiyue@163.com

*Corresponding author: Zhang Hai-Yue, Professor, College of Chemical and Life Science, Changchun University of Technology, No.2055, Yan'an Road, Changchun 130012, China. E-mail: zhaiyue@163.com

花生红衣补血口服液是依据中医配伍原则,以花生红衣、乙二胺四乙酸铁钠(NaFeEDTA)、红枣为原料,结合现代绿色食品加工技术制备出的一种具有改善缺铁性贫血的保健口服液。其中,红枣中含有丰富的多糖、维生素C、叶酸、铁等营养成分,这些营养物质都对补血养血具有良好的作用;NaFeEDTA是一种新型铁营养强化剂,可采用食物强化的方式改善缺铁性营养贫血,具有口感较好,临床应用无明显副作用,对钙、镁、铜的代谢无影响等多方面的优势,特别是不受植酸等抑制剂的影响,有较高的吸收率和生物学效果和不引起食物氧化的优点^[3-10];花生红衣中的生物类黄酮络合物与红枣中的多糖类化合物共同交互作用,可以调节骨髓造血机能,提高机体免疫力;特别重要的是,花生红衣中黄酮类化合物具有很高的抗氧化作用,可以将 Fe^{3+} 还原成 Fe^{2+} ,有利于人体对铁的吸收^[11]。中医理论还认为,花生红衣能抑制纤维蛋白的溶解,增加血小板的含量,改善血小板的质量,改善凝血因子的缺陷,加强毛细血管的收缩机能,促进骨髓造血机能^[11,12]。

为了验证该产品的功效,对其进行功能学评价,选用SD大鼠进行实验,并以体重、血红蛋白(Hb)、红细胞游离原卟啉(FEP)三项指标对该产品的改善缺铁性贫血功效进行评价。

2 材料和方法

2.1 材料与试剂

健康初断乳雌性SD大鼠,体重60~80 g,购买于吉林大学实验动物中心(合格证号:SCXK(吉)2008-0004);低铁饲料(美国AIN-93G标准,购买于南通特洛菲饲料科技有限公司);高铁血红蛋白测定试剂(科研专用,南京建成生物工程研究所);大鼠FEP酶联免疫分析(科研专用,上海博研生物工程研究中心)。

2.2 仪器与设备

电子天平(YP3002型,常州宏伟衡电子仪器厂);数显可见分光光度计(721型,上海光学仪器五厂有限公司);肝素钠抗凝管(12×100 mm,山东省成武县医用制品厂);玻璃毛细管(华西医科大学仪器厂);移液枪(10~100 μL ,北京青云航空仪表有限公司);电热恒温水浴锅(DK-8D型,上海医用恒温设备厂);酶标仪(ELX50型,上海酶联生物科技有限公司)。

2.3 花生红衣补血口服液的制备

取适量花生红衣,以20倍的60%的乙醇在60℃下回流提取2 h,滤布过滤,减压抽滤,用旋转蒸发器浓缩,然后于烘箱内60℃烘干,得花生红衣粉末,备用。将大枣干果清洗,在烘箱中60℃烘烤30 min,去核,称重,加入10倍水在100℃水中预煮15 min,打浆,再加入5倍水进行酶解(果胶酶:纤维素酶=1:1,酶添加量0.03%,酶解温度50℃,酶解时间60 min)浸提,滤布过滤,用旋转蒸发器浓缩至可溶性固形物含量为18%。按照配比:花生红衣提取物0.15%,红枣浓缩液20%,白砂糖6%,柠檬酸0.08%,先将花生红衣粉末、NaFeEDTA、白砂糖和柠檬酸用适量水完全溶解,然后与红枣浓缩汁混合,加水定容至1000 mL,过滤去除杂质。将调配好的口服液分装在已灭菌的玻璃瓶内,每瓶100 mL,密封,在85℃下杀菌30 min,取出,冷却。

2.4 动物模型

健康初断乳雌性SD大鼠在SPF级的实验条件(饲养温度保持在18~23℃,相对湿度55%~60%,经常通风换气,自然采光)适应4 d后,饲予低铁饲料(美国AIN-93G标准,购买于南通特洛菲饲料科技有限公司)及去离子水,采用不锈钢笼及食罐,实验过程中避免铁污染。自第3周开始每周选取部分大鼠,眶下静脉采血测血红蛋白(Hb)含量,直至多数动物的Hb低于100 g/L以下时,测定全部大鼠的体重及Hb。选取Hb<100 g/L的大鼠作为实验动物,根据贫血大鼠Hb水平和体重将其随机分为低铁对照组和高、中、低三个剂量实验组,每组10只。实验期间,各组均继续饲喂低铁饲料和去离子水,低铁对照组给予15 mL/kg去离子水,将花生红衣补血口服液分别稀释2倍和10倍,高、中、低剂量组分别给予15 mL/kg原液、2倍稀释液、10倍稀释液(分别相当于人体每日摄入量的10、5、1倍),灌胃给予时间30 d,测定体重及各项血液学指标。所有的实验方案已获吉林大学动物实验伦理审查委员会准许。

2.5 测定指标

2.5.1 血红蛋白(Hb)的测定

采用高铁血红蛋白试剂盒测定大鼠血液中Hb的含量。

测定血红蛋白应用液的配制:临用前将试剂浓缩液用双蒸水1:99稀释,即100倍稀释,现用现配。

配好的试剂 2~8 ℃避光保存, 可存放 1 个月左右。

抗凝全血的制备: 立即将未经处理的大鼠全血加入到肝素钠抗凝管中, 轻摇混匀。

血红蛋白含量的测定: 取 10 μL 全血, 加入 2.5 mL 上述应用液, 混匀, 放置 5 min 后, 移入 1 cm 比色皿中, 用双蒸水调零, 在 540 nm 处测定吸光度值。

血红蛋白含量的计算: 血红蛋白(g/L)= $OD_{540nm} \times 367.7$

2.5.2 红细胞内游离原卟啉(FEP)的测定

采用酶联免疫测定大鼠血液中游离原卟啉。

操作步骤:

1)标准品稀释: 根据试剂盒提示, 按照表 1 对原倍标准品进行稀释。

2)加样: 首先设置空白孔、标准孔、测试样孔, 空白孔不需要加入样品和试剂, 其他操作一样。将 50 μL 标准品准确加于酶标包被板上, 先在测试样孔中加入 40 μL 的样品稀释液, 再加 10 μL 的测试样(实际稀释度即为 5 倍)。加样品时不要接触到孔壁, 放于板孔的底部, 轻晃混匀。

3)温育: 以封板膜将板封好, 置 37 ℃条件下温育 30 min。

4)配液: 将 30 倍浓缩洗涤液用蒸馏水 30 倍稀释后备用。

5)洗涤: 揭开封板膜, 弃去液体, 甩干, 向每个孔中加满清洗液, 静置 30 s 后弃去, 如此重复 5 次, 拍干。

6)加酶: 向每个孔中加入 50 μL 酶标试剂, 空白

孔不加。温育: 操作同 3); 洗涤: 操作同 5)。

7)显色: 每孔先加入显色剂 A 50 μL, 再加入显色剂 B 50 μL, 轻轻震荡混匀, 37 ℃避光显色 10 min。

8)终止: 每孔加终止液 50 μL, 终止反应(此时蓝色立转黄色)。

9)测定: 以空白调零, 450 nm 波长依序测量各孔的吸光度(OD 值)。测定应在加终止液后 15 min 以内进行。

10)计算: 以标准物的浓度为横坐标, OD 值为纵坐标绘制标准曲线, 用标准物的浓度与 OD 值计算出标准曲线的直线回归方程式, 将样品的 OD 值代入方程式, 计算出样品浓度, 再乘以稀释倍数, 即为样品的实际浓度。

2.6 统计分析

采用 SPSS19.0 统计软件进行各试验组与低铁对照组均数比较的方差分析, 数据结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果与分析

3.1 缺铁性贫血大鼠模型建立

断乳大鼠在清洁级动物实验室适应 4 d 后饲予低铁饲料及去离子水, 3 周后发现部分大鼠皮毛开始变得粗糙, 皮肤苍白, 生长开始减慢; 随着实验时间的延长, 上述症状更加明显, 食欲下降, 身体消瘦, 毛色失去光泽。表现疲劳倦怠, 活动减少, 反应迟钝, 喜欢缩成团。在第 3、4、5 周时随机抽取一定数量的大鼠, 测定其 Hb 的含量, 结果见表 2。

表 1 标准品的稀释
Table 1 The dilution of standard

浓度(ng/L)	标准品序号	具体操作
160	5	150 μL 的原倍标准品加入 150 μL 标准品稀释液
80	4	150 μL 的 5 号标准品加入 150 μL 标准品稀释液
40	3	150 μL 的 4 号标准品加入 150 μL 标准品稀释液
20	2	150 μL 的 3 号标准品加入 150 μL 标准品稀释液
10	1	150 μL 的 2 号标准品加入 150 μL 标准品稀释液

表 2 大鼠缺铁性贫血模型造模情况
Table 2 Manufacture of iron deficiency anemia rat models

检查时间	检查动物(只)	H b< 100 g /L 的动物数(只)	死亡动物数(只)	造模成功率(%)	死亡率(%)
第三周	10	3	0	30%	0%
第四周	30	21	0	70%	0%
第五周	47	41	3	87%	6%

由表 2 可以看出,当造模的第 3 周时,抽取 10 只大鼠测定 Hb 含量,其中 $Hb < 100\text{ g/L}$ 大鼠有 3 只,无死亡;当第 4 周时,抽检的 30 只大鼠中依然没有出现死亡, $Hb < 100\text{ g/L}$ 大鼠的比例为 70%,第 5 周时,其造模率达到 87%,3 只大鼠死亡。以上结果说明本实验所选用的低铁饲料的造模成功率较高,但是实验过程中会出现动物死亡现象,所以后面设计实验时要考虑此条件,适当增加实验动物数量,才能保证实验的顺利进行。从第 6 周开始,选 40 只血红蛋白含量最低的大鼠随机分成 4 组进行实验。

3.2 花生红衣补血口服液对缺铁性贫血大鼠体重的影响

从表 3 可以看出,在实验前每组大鼠的体重都没有显著的差异,基本保持一致;在实验进行 20 d 之前,虽然实验组与低铁对照组大鼠的体重相比,均有不同程度的增长,但是各组的体重还没有显著的变化;当实验到第 20 d 时,花生红衣补血口服液高剂量组与低铁对照组中大鼠的体重相比,有显著的增长;当实验终末时,低、中、高剂量组大鼠的体重均显著多于低铁对照组的,且中、高剂量组与低铁对照组相比,体重增加表现为极显著($P < 0.01$),这说明花生红衣补血口服液可以促进大鼠机体生长。

3.3 花生红衣补血口服液对缺铁性贫血大鼠 Hb 的影响

血红蛋白是红细胞的主要组成部分,是高等生物体内负责运载氧的一种蛋白质,红细胞的机

能主要由血红蛋白完成^[13]。血红蛋白分子是由珠蛋白、原卟啉和二价铁离子(Fe^{2+}) 所组成的结合蛋白质,贫血的产生与血红蛋白合成受阻有密切关系^[14],是评价人体是否贫血的重要指标。从表 4 可以看出,在实验之前 4 个实验组大鼠的 Hb 含量基本一致,没有明显的差别,但是,实验结束后,低铁对照组的 Hb 含量反而减少了,这是因为大鼠在整个实验过程中都食用低铁饲料,并且实验环境没有其他铁污染,大鼠体内由于缺少铁元素而导致 Hb 的减少;而与低铁对照组相比,灌胃花生红衣补血口服液的中、高剂量组的 Hb 含量有极显著的升高($P < 0.01$),并且所有实验组的增加值也都同时显著升高,这表明该产品可以提高缺铁性贫血大鼠的 Hb 含量,对改善缺铁性贫血具有一定的作用。

3.4 花生红衣补血口服液对缺铁性贫血大鼠 FEP 的影响

红细胞游离原卟啉是诊断早期铁缺乏的灵敏指标之一;在血红蛋白合成的过程中,幼红细胞中的原卟啉在血红素合成酶的作用下与铁结合,当铁供应不足时,FEP 便以游离形式积累起来超过正常水平,因此检测 FEP 含量是检查缺铁性红细胞生成的有效方法^[15]。由表 5 可以看出,在实验前,各组大鼠的 FEP 含量几乎相同,没有特别大的差异,实验结束后,灌胃花生红衣补血口服液的低、中、高剂量组的 FEP 含量均低于低铁对照组的,而且变化的差异为显著($P < 0.01$);从数据可以看出,剂量越高,FEP 的含量降低的越大。

表 3 花生红衣补血口服液对缺铁性贫血大鼠体重的影响(g, $\bar{x} \pm s$)
Table 3 Effect of enriching the blood oral liquid of red peanut skin on iron deficiency anemia rats' body weight (g, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	0 d	10 d	20 d	30 d	增重
低铁对照组	10	181.35±3.18	195.29±2.61	206.78±3.03	214.25±2.65	31.90±3.31
低剂量组	10	183.95±3.06	200.21±1.85	213.40±1.82	224.08±1.66*	40.13±2.04
中剂量组	10	183.51±3.40	200.71±2.77	212.99±2.45	226.06±2.27**	42.55±1.60**
高剂量组	9	183.66±3.57	201.22±2.79	216.85±2.87*	229.70±2.58**	46.04±1.71**

注:与低铁对照组比较* $P < 0.05$,与低铁对照组比较** $P < 0.01$ 。

表 4 花生红衣补血口服液对缺铁性贫血大鼠 Hb 的影响(g/L, $\bar{x} \pm s$)

Table 4 Effect of enriching the blood oral liquid of red peanut skin on iron deficiency anemia rats' Hb (g/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	实验前	实验后	Hb 增加值
低铁对照组	10	85.71±2.93	83.68±2.79	-2.03±1.43
低剂量组	10	84.84±3.12	90.49±3.44	5.66±1.03**
中剂量组	10	84.68±3.04	113.11±3.40**	28.43±2.75**
高剂量组	9	84.89±2.56	121.01±1.95**	36.12±1.44**

注: 与低铁对照组比较* $P<0.05$, 与低铁对照组比较** $P<0.01$ 。

表 5 花生红衣补血口服液对缺铁性贫血大鼠 FEP 的影响($\mu\text{g/L}$, $\bar{x} \pm s$)

Table 5 Effect of enriching the blood oral liquid of red peanut skin on iron deficiency anemia rats FEP ($\mu\text{g/L}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	实验前	实验后	FEP 的增加值
低铁对照组	10	100.44±0.79	90.06±0.77	-10.38±0.48
低剂量组	10	100.17±0.65	86.68±0.99*	-13.49±0.83**
中剂量组	10	100.75±0.77	80.08±1.01**	-20.67±0.78**
高剂量组	9	101.61±0.95	71.37±1.14**	-30.25±1.31**

注: 与低铁对照组比较* $P<0.05$, 与低铁对照组比较** $P<0.01$ 。

4 结 论

花生红衣补血口服液可以显著增加受试动物的体重, 与对照组比较, 动物血液中的血红蛋白浓度显著升高, 而且可显著地降低红细胞游离原卟啉含量, 说明该产品具有改善缺铁性贫血的功能。

参考文献

[1] Sean R, Lynch. The impact of iron fortification on nutritional Anaemia [J]. Best Pract Res Clin Haematol, 2005, 18(2): 333-346.

[2] Giovanna P, Giuseppe T, Gennara C, et al. Inulin-iron complexes: A potential treatment of iron deficiency anaemia [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2008, 68, 267-276.

[3] Tuma RB. Impact of cassava flour fortified with iron amino acid chelae on the HB level in preschools [J]. Rev Nutr, 2003, 16(3): 185.

[4] Range L. Hematological changes in anemia school children treated with a meat product fortified with bovine red blood cells [J]. Rev Cient, 2003, 13(20): 96-102.

[5] Layrisse M. Impact of fortification of flours with iron to reduce the prevalence of anemia and iron deficiency among school children in Caracas Venezuela-a follow-up [J]. Food Nutr Bull,

2003, 23(4): 384-389.

[6] Mmeidac A. Control of iron deficiency anemia in Brazilian pre-school children using iron fortified orange juice [J]. Nutr Res, 2003, 23(1): 27-33.

[7] Whittaker P, Ali SF, Imam SZ. Acute toxicity of carbonyl iron and sodium iron edta compared with ferrous sulfate in young rats [J]. Regul Toxicol Pharm, 2002, 136(3): 280.

[8] 霍君生, 孙静, 苗虹, 等. 乙二胺四乙酸铁钠强化酱油对学生贫血状况的改善[J]. 卫生研究, 2001, 30(5): 296-298.

Huo JS, Sun J, Miao H, et al. Effect of NaFeEDTA fortified soy sauce on iron deficiency anemia in students [J]. Health Res, 2001, 30(5), 296-298.

[9] 孙静, 黄建, 李文仙, 等. 不同铁营养强化剂对贫血学生体内铁储量的影响[J]. 中国食品卫生杂志, 2008, 20(3): 220-223.

Sun J, Huang J, Li WX, et al. Influence of iron fortificants on body iron store of anemia students [J]. Chin J Food Hyg, 2008, 20(3), 220-223.

[10] 张海悦, 魏滢, 刘曼. 花生红衣补血口服液的研制[J]. 食品工业科技, 2012, 20: 262-268.

Zhang HY, Wei Y, Liu M. Development of peanut oral blood red [J]. Food Sci Technol, 2012, 20: 262-268

[11] 管文荻. 花生红衣中原花色素的提取与纯化工艺研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2013.

- Guan WS, Researchs on extraction and purification process of proanthocyanidins from pesnut red skin [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2013.
- [12] 韩升廷. 花生红衣中多酚的提取及体外抗氧化研究[D]. 长春: 长春工业大学, 2013.
- Han ST. Extraction and anti-oxidation in vitro of polyphenols from peanut red skin [D]. Changchun: Changchun University of Technology, 2013.
- [13] 郑善奎, 于文彬, 杨友贵, 等. 贫血患者红细胞免疫功能的探讨[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2003, 19(6): 613.
- Zheng SL, Yu WB, Yang YG, *et al.* Discussion on erythrocyte immune function in patients with anemia [J]. China J Cell Mol Immunol, 2003, 19(6), 613.
- [14] 朱金芳, 冯崑, 马小华, 等. 阿胶铁口服液改善营养性贫血的功能研究[J]. 新疆医科大学学报, 2007, 30(8), 797-799.
- Zhu JF, Feng W, Ma XH, *et al.* The study on efficiency of donkey hide glue iron oral solution in improving nutritional anemia [J]. J Xingjiang Med Univ, 2007, 30(8), 797-799.
- [15] 刘志伟. 补血功能食品[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- Liu ZW. Functional foods of enriching the blood [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005.

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



张海悦, 教授, 主要研究方向天然产物。
E-mail: zhhaiyue@163.com

“食品贮藏与保鲜”专题征稿

随着人们生活水平的提升, 消费者对食品的质量与安全性的要求也越来越高, 今天的消费者不仅要求食品新鲜, 而且要求食品保持原有的天然风味和营养结构, 因此如何再延长食品贮藏期的同时, 保持食品原有风味, 降低能耗, 已成为人们研究的重点。

鉴于此, 本刊特别策划了“食品贮藏与保鲜”专题, 由渤海大学的冯叙桥教授担任专题主编, 围绕**食品贮藏保鲜工艺研究、食品贮藏保鲜新技术进展(如栅栏技术、生物酶技术、可食性包装膜、超高压等)、食品贮藏保鲜机制分析等**或您认为本领域有意义的问题进行论述, 计划在 2014 年 12 月份出版。

本刊编辑部和冯教授欢迎各位专家为本专题撰写稿件, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。综述、实验报告、研究论文均可, 请在 **2014 年 11 月 15 日前**通过网站或 E-mail 投稿。我们将快速处理并优先发表。

投稿方式:

网站: www.chinafoodj.com

Email: tougao@chinafoodj.com

《食品安全质量检测学报》编辑部