

## 文冠果油对SD孕鼠毒性和胎鼠致畸性研究

陆昕<sup>1,2,3</sup>, 乌志颜<sup>2,3</sup>, 潘喜华<sup>4</sup>, 孙英杰<sup>2,3</sup>, 李竹<sup>4</sup>, 段磊<sup>2,3</sup>, 张丽<sup>2,3</sup>,  
杨旭亮<sup>2,3</sup>, 韩立华<sup>2,3</sup>, 李显玉<sup>2,3</sup>

(1. 东北林业大学林学院, 哈尔滨 150040; 2. 国家林业草原文冠果工程技术研究中心, 内蒙古赤峰 024000;  
3. 赤峰市林业科学研究院, 内蒙古赤峰 024000; 4. 上海市疾病预防控制中心, 上海 200336)

**摘要:**研究文冠果油对SD孕鼠的毒性和胎鼠致畸性。以花生油为阴性对照, 环磷酰胺为阳性对照, 文冠果油0.92、1.83、3.67 g/kg为低、中、高剂量组, 灌胃SD受孕大鼠, 解剖观察孕鼠胚胎毒性指标和胎鼠生长发育指标, 分析文冠果油对胎鼠外观畸形、骨骼发育和内脏、脑系统发育的影响。结果表明: 文冠果油各剂量组孕鼠饮食、活动正常, 未出现中毒特征。与阴性对照组相比, 各剂量组孕鼠的体重没有受到影响, 体重增重、子宫连胎重、体重净增重、黄体数、着床数、活胎数、吸收胎数、死胎数均无显著性差异( $P > 0.05$ ); 各剂量组胎鼠的体重、体长、外观畸形率、骨骼发育畸形率和内脏、脑系统发育畸形率也没有显著性差异( $P > 0.05$ )。文冠果油未观察到有害作用剂量(NOEL)为3.67 g/kg, 对SD大鼠未见明显母体毒性、胚胎毒性和致畸性。

**关键词:**文冠果油; 母体毒性; 胚胎毒性; 致畸性

中图分类号: TS225.1; TS201.6 文献标识码: A 文章编号: 1003-7969(2021)06-0071-05

**Toxicity on SD pregnant rats and teratogenicity in fetal rats fed by  
*Xanthoceras sorbifolium* Bunge. seed oil**

LU Xin<sup>1,2,3</sup>, WU Zhiyan<sup>2,3</sup>, PAN Xihua<sup>4</sup>, SUN Yingjie<sup>2,3</sup>, LI Zhu<sup>4</sup>, DUAN Lei<sup>2,3</sup>,  
ZHANG Li<sup>2,3</sup>, YANG Xuliang<sup>2,3</sup>, HAN Lihua<sup>2,3</sup>, LI Xianyu<sup>2,3</sup>

(1. College of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China; 2. National Forestry and Grassland Shiny-Leaved Yellowhorn Engineering and Technology Research Center, Chifeng 024000, Inner Mongolia, China; 3. Chifeng Academy of Forestry, Chifeng 024000, Inner Mongolia, China;  
4. Shanghai Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 200336, China)

**Abstract:** The toxicity on SD pregnant rats and teratogenicity in fetal rats of *Xanthoceras sorbifolium* Bunge. seed oil were studied. With peanut oil as negative control and cyclophosphamide as positive control, 0.92, 1.83 g/kg and 3.67 g/kg of *X. sorbifolium* Bunge. seed oils were used as the low, middle and high groups to administrate SD pregnant rats, and the pregnant rats embryo toxicity indexes and fetal rats growth and development indexes were observed by anatomy, and the effects of *X. sorbifolium* Bunge. seed oil on the appearance deformity, bone development and internal organ and brain development of fetal rats were analyzed. The results showed that the diet and activity of pregnant rats in

each dose group of *X. sorbifolium* Bunge. seed oil were normal, and no poisoning characteristics appeared. The weight of pregnant rats in each dose group was not affected. Compared with the negative control group, the weight gain, uterine continuous fetal weight, net weight gain, corpus luteum number, implantation number, live fetus number, absorbed fetus number and stillbirths number of pregnant rats in each dose group had no

收稿日期: 2020-08-20; 修回日期: 2021-03-24

基金项目: 赤峰市本级重点区域绿化项目(2130218); 内蒙古自治区科技重大专项(ZDZX2018056); 内蒙古自治区林业科技支撑项目(内林科研[2019]003号); 中央财政林业科技推广示范项目(内林科推[2020]03号)

作者简介: 陆昕(1987), 男, 副研究员, 博士, 研究方向为文冠果油脂加工与利用(E-mail) 15804764518@qq.com。

通信作者: 李显玉, 研究员(E-mail) 13804760569@163.com。

significant difference ( $P > 0.05$ ). There was no significant difference in the weight, body length, appearance deformity rate, bone development deformity rate and visceral and brain development deformity rate of fetal rats in each dose group ( $P > 0.05$ ). No harmful effects (NOAEL) of *X. sorbifolium* Bunge. seed oil was observed at 3.67 g/kg, and there was no obvious maternal toxicity, embryo toxicity and teratogenicity to SD rats.

**Key words:** *Xanthoceras sorbifolium* Bunge. seed oil; maternal toxicity; embryo toxicity; teratogenicity

文冠果(*Xanthoceras sorbifolium* Bunge.)是无患子科文冠果属植物,属落叶灌木或小乔木,广泛分布于我国东北、西北、华北地区,以内蒙古、陕西、甘肃一带较为集中。文冠果具有良好的保持水土、涵养水源、净化空气等生态防护功能,是我国特有的乡土树种<sup>[1-3]</sup>和珍贵的木本油料树种<sup>[4-6]</sup>。文冠果种仁富含脂肪和蛋白质,具有含油率高、综合利用价值高等特点<sup>[7-9]</sup>,其种仁含油率为55%~65%,油中不饱和脂肪酸含量高达94%。文冠果油含有3%~5%的神经酸,神经酸是促进受损神经细胞修复、再生的特殊物质。另外,文冠果油中富含皂苷、甾醇、维生素等多种活性物质,具有很好的抗氧化和抗肿瘤作用<sup>[10]</sup>。因此,文冠果油具有很高的营养价值和医药价值。《国家林业发展“十一五”和中长期规划纲要》把文冠果列为我国北方发展建设林木生物质能源的重点树种之一。《粮油加工业“十三五”发展规划》(国粮储[2016]278号)明确提出要大力发展文冠果油等新型健康木本食用油。因此,充分开发利用文冠果,对于保障国家粮油安全具有重要的现实意义<sup>[11-12]</sup>。

文冠果油在民间有悠久的食用历史,但有关其食用安全性和毒理学方面的研究还很少,仅有少量报道,如:文冠果油的急性毒性、3项遗传毒性<sup>[13]</sup>,文冠果油对成年雌鼠生殖泌乳的影响<sup>[14]</sup>,文冠果种仁对SD大鼠的致畸作用<sup>[15]</sup>。目前,文冠果油尚未被列入新食品原料目录中,需进一步对其食用安全性进行评价。本研究分析了文冠果油对SD孕鼠毒性和胎鼠的致畸作用,以期为进一步文冠果油的健康风险评估和文冠果油的食用安全性评价提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

文冠果油(实验室压榨制取);花生油,商场购买。Bouin's 固定液、茜素红、氢氧化钾、甘油、2,4,6-三硝基酚(苦味酸饱和液)、甲酚、冰乙酸、环磷酰胺等。

SPF级性成熟SD大鼠,雌性120只,雄性60

只,体重范围为雄性300~350g,雌性200~250g,试验动物生产许可证号为SCXK(沪)2018-0004,由上海杰思捷实验动物有限责任公司提供。

MOTIC SMZ-168 S1459466 体视显微镜,PL3002 1227320650 电子天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司),ACS-3Aa80400024 电子秤等。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 剂量设计和分组

根据急性经口毒性的试验结果(雌性大鼠经口 $LD_{50} > 18320$  mg/kg)以及90d喂养试验的剂量设计,按照GB 15193.14-2015《食品安全国家标准致畸试验》的要求,设置低、中、高剂量组分别为0.92、1.83、3.67 g/kg。另设置阴性对照组(花生油3.67 g/kg)和阳性对照组(环磷酰胺15 mg/kg)。

#### 1.2.2 样品处理及配制

高剂量组直接灌胃文冠果油。分别称取文冠果油18.3、9.2 g,加花生油至40 mL,充分混匀,即为中、低剂量组的供试液。阴性对照组给予花生油灌胃。灌胃量按体重每次4 mL/kg计,每天1次。另称取150 mg环磷酰胺加入生理盐水至100 mL制成1.5 mg/mL溶液作为阳性对照组的供试液。

#### 1.2.3 试验环境

试验环境为屏障环境,温度20~24℃,相对湿度54%~69%,日光灯模拟自然光照,12h更替。试验动物饲养于干式饲养架上的塑料饲养盒内,各组孕鼠单笼饲养,笼具每周更换2次。动物饲料由江苏协同医药生物工程有限公司提供。动物饮水符合GB 5749-2006《生活饮用水卫生标准》要求,在整个受试期间动物自由摄食、饮水。

#### 1.2.4 动物试验

将性成熟雌、雄大鼠按2:1比例合笼交配,次日早查看雌鼠阴栓并涂片用显微镜检查精子,作为受孕第0天。将检出的孕鼠,按检出顺序S形随机分配到低、中、高剂量组,阴性和阳性对照组,称重、编号,每组至少有20只已交配雌鼠(见表1)。随机分组后,于胚胎器官的形成期染毒。即在受孕的6~20d,每日1次按4 mL/kg经口给予不同剂量的

文冠果油和阴性对照的花生油,边搅拌边灌胃。雌鼠受孕的0、6、9、12、15、20 d称重,按体重调整灌胃量,每天上午9:00—11:00定时灌胃。阳性对照组大鼠于妊娠至12 d腹腔注射1次10 mL/kg(15 mg/kg)环磷酰胺供试液。每日对孕鼠进行一次临床观察,及时记录中毒体征。于大鼠妊娠至20 d处死母鼠,剖腹迅速取出子宫称重。记录着床情况:黄体数、吸收胎数、早死胎数、晚死胎数、活胎数及着床数。检查胎仔发育,逐一记录胎仔性别、体重、体长。检查胎仔有无外观畸形。把取出的奇数号(1,3,5,7…)胎鼠用作骨骼检查,把偶数号(2,4,6,8…)胎鼠浸入 Bouin's 固定液用作内脏检查。

表1 大鼠分组情况

组别	大鼠数量(只)
阴性对照	20
阳性对照	20
低剂量组	20
中剂量组	20
高剂量组	21

### 1.2.5 数据分析

Excel 软件录入数据后,用 SPSS 21.0 软件对试

表2 文冠果油对孕鼠体重的影响

组别	孕鼠数(只)	体重/g						体重增重/g	子宫连胎重/g	体重净增重/g
		0 d	6 d	9 d	12 d	15 d	20 d			
阴性对照组	16	260.0±21.8	297.0±26.0	313.0±28.3	335.0±26.5	356.0±31.4	420.0±48.7	123.1±27.9	65.8±28.4	57.4±22.2
阳性对照组	17	262.0±23.6	304.0±23.8	321.0±25.5	341.0±24.2	353.0±25.1	397.0±36.5	93.3±27.3**	43.5±28.0*	49.8±10.5
低剂量组	17	262.0±23.1	302.0±25.0	320.0±25.7	340.0±24.4	358.0±27.0	427.0±33.2	124.8±19.6	73.7±22.1	51.1±14.1
中剂量组	17	254.0±22.7	295.0±24.6	312.0±26.1	336.0±27.5	355.0±25.9	423.0±28.7	128.1±19.9	73.1±20.3	55.0±11.1
高剂量组	18	252.0±20.9	291.0±22.4	309.0±23.1	330.0±24.0	352.0±25.1	425.0±30.5	134.0±20.6	79.9±22.3	54.1±14.5

注:体重增重=处死时母体体重-孕6 d体重;体重净增重=处死时母体体重-子宫连胎重-孕6 d体重;与阴性对照组比较,\*表示差异显著 $P<0.05$ ,\*\*表示差异极显著 $P<0.01$ 。

### 2.2 文冠果油对孕鼠胚胎毒性指标的影响(见表3)

由表3可知,文冠果油各剂量组之间,孕鼠胚胎黄体数、着床数均无显著性差异( $P>0.05$ )。与阴性对照组相比,阳性对照组孕鼠胚胎活胎数减少,吸

验数据进行统计分析。对孕鼠体重、体重增重、子宫连胎重、体重净增重、黄体数、着床数、活胎数、吸收胎数、死胎数进行方差分析。对胎鼠体重、体长进行 $t$ 检验,对胎鼠数量和畸形率进行卡方检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 文冠果油对大鼠母体的影响

试验过程中,阳性对照组未见死亡或濒死需人为处死的孕鼠,未见母体中毒体征,与阴性对照组相比,受孕数无显著性差异( $P>0.05$ )。低、中、高剂量组均未见死亡或濒死需人为处死的孕鼠,未见母体中毒体征。与阴性对照组相比,低、中、高剂量组的受孕数均无显著差异( $P>0.05$ )。

对孕鼠体重的变化进行分析,结果见表2。

由表2可知:与阴性对照组相比,阳性对照组孕鼠的体重没有受到影响,体重增重有极显著性差异( $P<0.01$ ),子宫连胎重减少,有显著性差异( $P<0.05$ ),具有统计学意义;低、中、高剂量组,孕鼠的体重没有显著性差异,体重增重、子宫连胎重、体重净增重都没有显著性差异( $P>0.05$ )。

收胎、死胎数均增加,但均无显著性差异( $P>0.05$ );各剂量组孕鼠黄体数、着床数、活胎数及吸收胎、死胎数均无显著性差异( $P>0.05$ ),均无统计学意义。这与范雪层<sup>[13]</sup>、邓红<sup>[16]</sup>等的研究结果相似,均表明文冠果油不具有毒性。

表3 文冠果油对孕鼠胚胎毒性指标的影响

组别	孕鼠数(只)	黄体数(个)		着床数(个)		活胎数(只)		吸收胎数(只)	吸收胎发生率/%	死胎数(只)	死胎发生率/%
		总数	$\bar{x}\pm s$	总数	$\bar{x}\pm s$	总数	$\bar{x}\pm s$				
阴性对照组	16	292	18.3±4.1	193	12.1±5.7	183	11.4±5.6	10	5.2	0	0
阳性对照组	17	292	17.2±2.6	204	12.0±4.6	170	10.0±5.9	23	11.3	11	5.4
低剂量组	17	318	18.7±3.6	241	14.2±4.3	228	13.4±4.3	13	5.4	0	0
中剂量组	17	306	18.0±3.3	248	14.6±4.3	229	13.5±3.9	19	7.7	0	0
高剂量组	18	323	17.9±3.4	274	15.2±4.1	261	14.5±3.8	12	4.4	1	0.4

注:与阴性对照组比较,\*表示差异显著 $P<0.05$ ,\*\*表示差异极显著 $P<0.01$ 。下同

### 2.3 文冠果油对胎鼠性别、体重、体长的影响(见表4)

由表4可知:与阴性对照组相比,阳性对照组的雌雄比例无显著性差异( $P > 0.05$ );而阳性对照组

胎鼠的体重、体长有极显著性差异( $P < 0.01$ );低、中、高剂量组胎鼠雌雄比例,体重、体长均无显著性差异( $P > 0.05$ )。

表4 文冠果油对胎鼠性别、体重、体长的影响

组别	活胎数(只)	雌雄比例	胎鼠体重/g	胎鼠体长/mm
阴性对照组	183	1.41(107/76)	3.95 ± 0.53	35.79 ± 2.29
阳性对照组	170	1.30(96/74)	3.12 ± 0.81**	32.19 ± 4.10**
低剂量组	228	0.97(112/116)	3.87 ± 0.77	35.53 ± 3.70
中剂量组	229	1.10(120/109)	3.88 ± 0.61	35.82 ± 2.57
高剂量组	261	1.04(133/128)	3.85 ± 0.52	35.65 ± 2.32

### 2.4 文冠果油对胎鼠外观畸形、骨骼发育和内脏、脑系统发育的影响(见表5~表7)

由表5可知:与阴性对照组相比,阳性对照组外观畸形胎鼠数量、脑膨出胎鼠数量、顶骨裂胎鼠数量增加,有极显著性差异( $P < 0.01$ );低、中、高剂量组外观畸形胎鼠数量与单项外观畸形胎鼠数量均无显著性差异( $P > 0.05$ )。

由表6可知:与阴性对照组相比,阳性对照组骨骼畸形胎鼠数量、枕骨畸形胎鼠数量、椎骨畸形胎鼠数量、肋骨畸形胎鼠数量、胸骨畸形胎鼠数量、四肢

骨畸形胎鼠数量增高,有极显著性差异( $P < 0.01$ );低、中、高剂量组骨骼畸形胎鼠总数量与单项骨骼畸形胎鼠数量均无显著性差异( $P > 0.05$ )。

由表7可知:与阴性对照组相比,阳性对照组内脏畸形胎鼠数量、侧脑室扩张胎鼠数量、第三脑室扩张胎鼠数量、无脑症胎鼠数量增高,有极显著性差异( $P < 0.01$ );低、中、高剂量组内脏畸形胎鼠数量与单项内脏、脑系统畸形胎鼠数量均无显著性差异( $P > 0.05$ )。李慧等<sup>[15]</sup>的研究表明,文冠果种仁对妊娠大鼠无母体毒性,对胎鼠无致畸性,与本研究结果一致。

表5 文冠果油对胎鼠外观畸形的影响

组别	受检胎鼠数(只)	外观畸形胎鼠		脑膨出胎鼠		顶骨裂胎鼠	
		数量(只)	畸形率/%	数量(只)	畸形率/%	数量(只)	畸形率/%
阴性对照组	183	0	0	0	0	0	0
阳性对照组	170	134	78.8**	110	64.7**	31	18.2**
低剂量组	228	0	0	0	0	0	0
中剂量组	229	0	0	0	0	0	0
高剂量组	261	0	0	0	0	0	0

表6 文冠果油对胎鼠骨骼发育的影响

组别	受检胎鼠数(只)	骨骼畸形胎鼠		枕骨畸形胎鼠		椎骨畸形胎鼠		肋骨畸形胎鼠		胸骨畸形胎鼠		四肢骨畸形胎鼠	
		数量(只)	畸形率/%	数量(只)	畸形率/%	数量(只)	畸形率/%	数量(只)	畸形率/%	数量(只)	畸形率/%	数量(只)	畸形率/%
阴性对照组	95	1	1.1	0	0	0	0	0	0	1	1.1	0	0
阳性对照组	90	90	100**	64	71.1**	33	36.7**	49	54.4**	33	36.7**	22	24.4**
低剂量组	120	1	0.8	0	0	0	0	0	0	1	0.8	0	0
中剂量组	119	1	0.8	0	0	0	0	0	0	1	0.8	0	0
高剂量组	134	1	0.7	0	0	0	0	0	0	1	0.7	0	0

表7 文冠果油对胎鼠内脏、脑系统发育的影响

组别	受检胎鼠数(只)	内脏畸形胎鼠		侧脑室扩张胎鼠		第三脑室扩张胎鼠		无脑症胎鼠	
		数量(只)	畸形率/%	数量(只)	畸形率/%	数量(只)	畸形率/%	数量(只)	畸形率/%
阴性对照组	88	4	4.5	0	0	2	2.3	0	0
阳性对照组	80	29	36.3**	25	31.3**	20	25.0**	17	21.3**
低剂量组	108	3	2.7	0	0	2	1.9	0	0
中剂量组	110	3	2.7	0	0	2	1.8	0	0
高剂量组	127	4	3.1	0	0	2	1.6	0	0

### 3 结论

本试验以环磷酰胺作为阳性对照组,以0.92、1.83、3.67 g/kg文冠果油为低、中、高剂量组,灌胃SD受孕大鼠,解剖观察孕鼠胚胎毒性指标及胎鼠生长发育指标。结果表明,文冠果油各剂量组和阳性对照组孕鼠饮食、活动正常,均未出现死亡、濒死孕鼠以及表现出中毒特征的孕鼠。与阴性对照组相比,各剂量组孕鼠体重增重、子宫连胎重、体重净增重均无显著性差异( $P > 0.05$ ),说明文冠果油未对孕鼠体重产生明显影响。同时,文冠果油各剂量组孕鼠的黄体数、着床数、活胎数及吸收胎数、死胎数均无显著性差异( $P > 0.05$ ),说明文冠果油未对孕鼠胚胎毒性指标产生明显影响。与阴性对照组相比,各剂量组胎鼠的体重、体长均无显著性差异( $P > 0.05$ ),各剂量组胎鼠的外观畸形率、骨骼发育畸形率和内脏、脑系统发育畸形率也无显著性差异( $P > 0.05$ ),说明文冠果油未对胎鼠体重、体长及发育产生明显影响。

因此,根据《食品安全性毒理学评价程序》和GB 15193.14—2015《食品安全国家标准 致畸试验》判定,文冠果油未观察到有害作用剂量(NOEL)为3.67 g/kg,对SD大鼠未见明显母体毒性、胚胎毒性和致畸性。

#### 参考文献:

- [1] 闫冬佳. 我国文冠果资源及可开发利用研究[J]. 山西农业科学, 2007, 35(3): 15-17.
- [2] 敖妍,段劫,于海燕,等. 文冠果研究进展[J]. 中国农业大学学报, 2012, 17(6): 197-203.
- [3] 高述民,马凯,杜希华,等. 文冠果(*Xanthoceras sorbifolia*)研究进展[J]. 植物学通报, 2002, 19(3): 289, 296-301.
- [4] WU C, YIN Y L, YANG X M, et al. Effects of fertilization based on soil microorganisms on the growth of *Xanthoceras*

*sorbifolia* and soil enzyme activity [J]. Revista De La Facultad De Agronomia De La Universidad Del Zulia, 2019, 36(4): 890-901.

- [5] GUO H H, LI Q Q, WANG T T, et al. Xsfad2 gene encodes the enzyme responsible for the high linoleic acid content in oil accumulated in *Xanthoceras sorbifolia* seeds [J]. J Sci Food Agric, 2014, 94(3): 482-488.
- [6] CHEN S Y, ZHANG X Z. Characterization of the complete chloroplast genome of *Xanthoceras sorbifolium*, an endangered oil tree [J]. Conserv Genet Resour, 2017, 9(4): 595-598.
- [7] 邓红,孙俊,张媛,等. 不同方法提取的文冠果籽油的GC-MS分析[J]. 食品科学, 2007, 28(8): 354-358.
- [8] 李招娣,邓红,范雪层,等. 反胶团法萃取文冠果种仁蛋白的前萃工艺研究[J]. 食品科学, 2009, 30(10): 86-91.
- [9] 杨小慧,石光波,拜晓彬,等. 文冠果落果黄酮成分分析及抑菌性评价[J]. 食品科学, 2018, 39(10): 53-58.
- [10] XIAO W, WANG Y, ZHANG P, et al. Bioactive barrigenol type triterpenoids from the leaves of *Xanthoceras sorbifolia* Bunge. [J]. Eur J Med Chem, 2013, 60:263-270.
- [11] 王瑞元. 2014年我国粮油生产、消费及油脂工业发展简况[J]. 粮油加工(电子版), 2015(5): 14-19.
- [12] 谭晓风,马履一,李芳东,等. 我国木本粮油产业发展战略研究[J]. 经济林研究, 2012, 30(1): 1-5.
- [13] 范雪层,邓红,张立云. 冷榨文冠果油食用安全性毒理学评价[J]. 中国油脂, 2009, 34(5): 32-37.
- [14] 朱莲珍,冯祖琳,郑素芳. 文冠果油食用价值的研究[J]. 卫生研究, 1974, 3(4): 26-30.
- [15] 李慧,李伟,温成丽,等. 文冠果种仁对SD大鼠的致畸作用[J]. 卫生研究, 2019, 48(5): 799-802, 806.
- [16] 邓红,范雪层,田子卿,等. 文冠果种仁冷榨油体内抗氧化功能研究[J]. 中国油脂, 2010, 35(12): 38-40.

· 公益广告 ·



## 节能减排, 提质增效!

《中国油脂》宣