

琼崖海棠籽油的遗传毒性评价

钟文权^{1,2}, 郑联合³, 邹易³, 李豫强^{1,2}, 张威^{1,2}, 戴煌^{1,2}, 肖安红^{1,2}

(1. 武汉轻工大学 食品科学与工程学院, 武汉 430023; 2. 湖北省农产品加工与转化重点实验室, 武汉 430023;
3. 海南省粮油科学研究所, 海口 571400)

摘要:通过小鼠骨髓红细胞微核试验、精子畸形试验和 Ames 试验, 对琼崖海棠籽毛油的遗传毒性进行了研究。结果表明: 琼崖海棠籽毛油小鼠骨髓红细胞微核试验、精子畸形试验的中(1/4 LD₅₀)、高(1/2 LD₅₀) 剂量组均较阴性对照组具有极显著差异($P < 0.01$), 且呈剂量-反应关系, 为阳性结果; Ames 试验各剂量组均为阴性结果。琼崖海棠籽毛油中所含咕吨酮类、香豆素类、萜类和生物碱等化学物质可能是遗传毒性为阳性的原因。小鼠骨髓红细胞微核试验、精子畸形试验阴性结果剂量明显高于体重 50 kg 成年人的日推荐油脂摄入量(500 ~ 600 mg/kg)。因此, 在推荐油脂摄入量下, 琼崖海棠籽毛油对受试物不具有遗传毒性。

关键词:琼崖海棠籽油; 骨髓红细胞微核试验; 精子畸形试验; Ames 试验; 遗传毒性

中图分类号: TS225.1; TS201.6 文献标识码: A 文章编号: 1003-7969(2020)12-0066-06

Evaluation of genotoxicity of *Calophyllum inophyllum* seed oil

ZHONG Wenquan^{1,2}, ZHENG Lianhe³, ZOU Yi³, LI Yuqiang^{1,2},
ZHANG Wei^{1,2}, DAI Huang^{1,2}, XIAO Anhong^{1,2}

(1. School of Food Science and Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China;
2. Key Laboratory of Processing and Transformation of Agricultural Products in Hubei Province,
Wuhan 430023, China; 3. Hainan Institute of Grain and Oil Science, Haikou 571400, China)

Abstract: Through the bone marrow erythrocyte micronucleus test, sperm malformation test in mice and Ames test, the genotoxicity of crude *Calophyllum inophyllum* seed oil was studied. The results showed that compared with the negative control group, the medium (1/4 LD₅₀) and high (1/2 LD₅₀) dose groups of crude *Calophyllum inophyllum* seed oil showed extremely significant differences in the bone marrow erythrocyte micronucleus test and sperm malformation test, and showed dose-dependent relationship, indicating positive result. The Ames test was negative for all dose groups. The presence of xanthenes, coumarins, terpenoids and alkaloids in the oil might be the reason for the positive result of the genotoxicity. The doses of negative results of bone marrow erythrocyte micronucleus test and sperm malformation test in mice were obviously higher than the daily recommended oil intake dose of 500-600 mg/kg for adults weighing 50 kg. So the crude *Calophyllum inophyllum* seed oil was not genotoxic to the tested mice under the recommended oil intake.

Key words: *Calophyllum inophyllum* seed oil; bone marrow erythrocyte micronucleus test; sperm malformation test; Ames test; genotoxicity

收稿日期: 2020-03-19; 修回日期: 2020-07-25

基金项目: 海南省创新能力建设计划-省属科研院所技术开发专项(KYYS-2018-34)

作者简介: 钟文权(1995), 男, 硕士研究生, 研究方向为粮食、油脂及植物蛋白(E-mail) 1614429915@qq.com。

通信作者: 肖安红, 教授, 硕士生导师, 博士(E-mail) 1090106395@qq.com。

琼崖海棠(*Calophyllum inophyllum* L.), 又名海棠果、红厚壳、胡桐、海桐、君子树、海棠木, 为藤黄科(Guttiferae) 红厚壳属(*Calophyllum* genus) 常绿乔木, 喜高温、耐旱热、防海潮、抗强风, 在热带沿海作为防风林和护堤林被广泛种植, 目前在广东、广西、台湾及东南亚、非洲等热带地区均有分布^[1]。

琼崖海棠籽富含油脂,种仁干基粗脂肪含量为50%~60%^[2]。琼崖海棠籽油的主要脂肪酸为9-十八碳烯酸(27.67%)、9,12-十八碳二烯酸(16.78%)、9-十八碳烯酸(*E*)(13.54%)、十八碳烯酸(12.92%)、十六碳烯酸(10.77%)、11,14-二十碳二烯酸(7.17%)、正十六碳烯酸(5.24%)、十七碳烯酸(5.13%)^[3]。在海南,琼崖海棠籽油常被民间用作防腐剂、抗菌剂、收敛药、止疼剂等,用于治疗跌打损伤、外伤出血,减缓关节痛、神经痛等疾病^[4-5]。由于琼崖海棠籽中含有具有一定毒性的酚类、香豆素类、黄酮类、三萜类^[6]和生物碱^[7]等物质,在制油时,这些物质会转移至油中,并使油脂呈深绿色、浑浊、味苦并具有类似中草药特殊气味,所以琼崖海棠籽未作为新食用油料资源进行研发。

为开发琼崖海棠籽作为新的食用油料资源,前期本实验室对琼崖海棠籽毛油和精炼油进行了小鼠急性经口毒性试验,其中琼崖海棠籽毛油急性经口毒性试验采用寇氏法^[8],精炼油采用限量法^[8]。结果显示:琼崖海棠籽毛油对雄性小鼠的LD₅₀为9 217.6 mg/kg,LD₅₀的95%可信限为8 606.4~9 871.3 mg/kg,雌性小鼠的LD₅₀为9 066.4 mg/kg,LD₅₀的95%可信限为8 546.9~9 617.5 mg/kg^[9];琼崖海棠籽精炼油的LD₅₀大于15 000 mg/kg。从而判定琼崖海棠籽毛油毒性级别为实际无毒级,精炼油毒性级别为无毒^[8]。在此基础上,本文采用体内与体外试验、体细胞试验与生殖细胞试验相结合的原则,从不同的遗传学终点和靶向的角度,即Ames试验、小鼠骨髓红细胞微核试验和精子畸形试验对琼崖海棠籽毛油的遗传毒性进行了全面评价,以期海棠籽开发作为新食用油料资源积累基础数据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

琼崖海棠籽毛油,实验室自制,主要理化指标和油脂伴随物含量分别见表1和表2。

试验用昆明种小鼠,清洁级,由华中科技大学同济医学院动物实验中心提供。动物合格证号为SCXK(京)2019-0010,使用许可证号为SYXK(鄂)2016-0057。

Gimesa 染液、小牛血清,江苏南京建成生物工程研究所;玉米油,中粮福临门食品有限公司;无水乙醇、环磷酰胺、甲醇、磷酸二氢钾、氢氧化钠,分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

E3CMOS06300KPA 生物显微镜,河南兄弟仪器设备有限公司。

表1 琼崖海棠籽毛油主要理化指标

项目	指标
色泽	
133.4 mm 罗维朋比色槽	蓝 8.7 黄 30.0 红 4.5
25.4 mm 罗维朋比色槽	蓝 6.9 黄 30.0 红 2.3
气味、滋味	有类似中草药气味,有苦味。
透明度	微浊
水分及挥发物/%	0.095 ± 0.003
水不溶性杂质/%	0.69 ± 0.02
酸价(KOH)/(mg/g)	52.466 7 ± 0.262 6
过氧化值/(mmol/kg)	3.258 7 ± 0.008 5
加热试验	有多量析出物,黄值不变,红值增加1.3。
烟点/°C	136.5 ± 1.1
折光指数(<i>n</i> ₂₀)	1.482 3 ± 0.003 2
相对密度(<i>d</i> ₄ ²⁵)	0.919 1 ± 0.012 1
磷脂含量/(mg/kg)	931.40 ± 0.02
碘值(I)/(g/100 g)	83.87 ± 0.33
皂化值(KOH)/(mg/g)	144.29 ± 0.47

表2 琼崖海棠籽毛油油脂伴随物含量

油脂伴随物	含量/(mg/g)
δ-生育酚	0.231 0 ± 0.000 2
γ-生育酚	0.679 8 ± 0.000 4
α-生育酚	0.694 9 ± 0.000 5
菜油甾醇	1.880 5 ± 0.000 7
豆甾醇	1.330 5 ± 0.000 4
谷甾醇	0.370 9 ± 0.000 3
角鲨烯	0.24 ± 0.01
谷维素	1.12 ± 0.02
总酚	7.286 3 ± 0.040 8
总三萜	1.796 1 ± 0.030 8
总黄酮	0.484 4 ± 0.001 7
总香豆素	1.164 6 ± 0.007 0
总生物碱	0.700 7 ± 0.003 1

1.2 试验方法

1.2.1 小鼠骨髓红细胞微核试验^[10]

选用昆明种健康成年小鼠,体重22~25 g,适应性喂养5 d。根据急性毒理试验结果,按1/8 LD₅₀、1/4 LD₅₀和1/2 LD₅₀分为3个剂量组,雌性分别为1 133.3、2 266.6、4 533.2 mg/kg,雄性分别为1 152.2、2 304.4、4 608.8 mg/kg,以玉米油为阴性对照组(剂量为1/8 LD₅₀),以环磷酰胺水溶液为阳性对照组(剂量为40 mg/kg),随机分组,每组10只,每组雌雄各半。0、24 h经口2次灌胃,30 h时颈椎脱臼处死小鼠,四肢固定于解剖板,将腹中线被毛浸湿,剖开胸腹部,取下胸骨,擦净血污,剔去肌肉,剪去骨髓,用小型弯止血钳将骨髓挤于有一滴小牛

血清的清洁载玻片上,混合均匀后推片,自然晾干。按以下操作步骤制片:①浸入 99.5% 甲醇溶液缸中固定 15 min,取出自然晾干;②将固定后的玻片浸入 Gimesa 染液缸中染色 15 min,然后立即用 pH 为 6.8 的磷酸盐缓冲液冲洗掉玻片上的染色液,自然晾干,阴凉干燥处保存备检。

将制好的骨髓片先在低倍显微镜下观察,选择细胞完整、分布均匀、染色较好的区域作为检测区域;然后用油镜阅片,观察骨髓嗜多染红细胞、正多染红细胞、含微核细胞并计数。

每只小鼠计数 1 000 个骨髓嗜多染红细胞 (polychromatic erythrocyte, PCE),观察含微核的嗜多染红细胞数,并计数微核数,计算微核细胞率(微核细胞率 = 含微核的嗜多染红细胞数/嗜多染红细胞总数 × 100%),计数 200 个细胞中骨髓嗜多染红细胞与正多染红细胞 (normochromatic erythrocyte, NCE) 的比值,结果采用 U 检验法检验结果的差异性。

饲养条件:试验小鼠在 19 ~ 25 °C、相对湿度 50%、光照强度 130 ~ 325 lx、氨质量浓度小于等于 20 mg/L、噪声小于等于 50 dB 环境下分笼饲养,每天上午 9 点更换饲料、垫料和水并正常饲养,自由采食、饮水。

1.2.2 小鼠精子畸形试验^[11]

选用昆明种健康成年雄性小鼠,体重 20 ~ 35 g,适应性喂养 1 周,剂量分组、饲养条件均同 1.2.1。连续 5 d 上午 9 点灌胃,第 35 天脱臼处死小鼠,取出睾丸附近二侧的附睾器官,放进装有 2 mL 左右生理盐水(0.9% 氯化钠溶液)的平皿里,用眼科剪将洗净的附睾纵向剪 1 ~ 2 刀,静置 3 ~ 5 min,轻轻摇动,用四层擦镜纸将剪碎的附睾溶液进行过滤,吸滤液进行涂片,在空气中自然干燥后,浸入 1% 伊红染液缸中染色 1 h,再浸入 99.5% 甲醇溶解缸中 5 min 左右,取出自然晾干,1 h 后用蒸馏水轻轻地冲掉染液,自然晾干,阴凉干燥处保存备检。

首先在低倍显微镜下找到背景比较清晰而且精子重叠比较少的区域为受检区域,然后再用高倍显微镜按从左到右和从上到下的顺序逐个检查并记录精子的形态,其中无钩、香蕉形、胖头、无定形、尾折叠、双头等为畸形精子。每只试验动物以 1 000 个结构完整的精子为基数,计数精子畸形数,计算精子畸形率,并采用 Wilcoxon 秩和检验法检验进行显著性分析。

1.2.3 Ames 试验^[12]

依照 GB 15193.4—2014《食品安全国家标准

细菌回复突变试验》中平板掺入法进行。试验分琼崖海棠籽毛油组、溶剂对照组(二甲基亚砜)、阳性对照组和空白对照组(不添加受试物),阳性诱变剂采用敌克松(TA97、TA98,不加 S9)、甲基磺酸甲酯(TA100、TA102,不加 S9)、2-氨基芴(TA97、TA98、TA100,加 S9)及 1,8-二羟基蒽醌(TA102,加 S9)。

选用鼠伤寒沙门氏菌突变型菌株 TA97、TA98、TA100、TA102,经鉴定合格后开展试验。活化系统为多氯联苯诱导的大鼠肝 S9,蛋白质含量为 37.5 mg/mL,其对 2-氨基芴具良好代谢激活能力,每 100 mL S9 混合液中加入 10 mL S9。

由于受试物对菌株无细菌毒性,设置受试物的最高剂量为 5 μL/皿(约 4 647 μg/皿),在加与不加 S9 混合液的情况下,分两次试验,第一次以 5.0、2.5、1.3、0.6 μL/皿及 0.3 μL/皿剂量进行试验,第二次以 5.0、1.0、0.2、0.04 μL/皿及 0.008 μL/皿剂量进行试验,每个剂量设 3 个平行。受试样品的称量和配制均在无菌条件下进行,受试样品用二甲基亚砜溶解配制成 50 μL/mL 高剂量组,以下 8 个剂量组分别用二甲基亚砜逐级稀释,加样量均为 0.1 mL/皿。在 2 mL 顶层培养基中加入 0.1 mL 试验菌株增菌液、0.1 mL 受试样品溶液和 0.5 mL S9 混合液(当需要活化时)。混匀后迅速倾注在底层培养基上,37 °C 培养 48 h,计数每皿回变菌落数,当受试物菌落回变数超过自发回变数的 2 倍以上并有剂量反应关系时判定为阳性。

2 结果与讨论

2.1 小鼠骨髓红细胞微核试验结果(见表 3)

表 3 小鼠骨髓红细胞微核试验结果

组别	剂量/(mg/kg)	微核细胞率/%	PCE/NCE
雌性			
低剂量组	1 133.3	0.36 ± 0.10	1.20 ± 0.10
中剂量组	2 266.6	0.62 ± 0.08**	1.09 ± 0.18
高剂量组	4 533.2	1.26 ± 0.10**	1.26 ± 0.18
阳性对照组	40	1.92 ± 0.17**	1.69 ± 0.29
阴性对照组	1 133.3	0.26 ± 0.05	1.28 ± 0.10
雄性			
低剂量组	1 152.2	0.30 ± 0.06	1.20 ± 0.11
中剂量组	2 304.4	0.64 ± 0.10**	1.21 ± 0.16
高剂量组	4 608.8	1.18 ± 0.13**	1.27 ± 0.24
阳性对照组	40	1.90 ± 0.17**	1.29 ± 0.17
阴性对照组	1 152.2	0.24 ± 0.05	1.63 ± 0.12

注:**表示与阴性对照组相比, $P < 0.01$ 。下同。

琼崖海棠籽毛油两次细菌回复突变试验,平板上菌株生长良好,未观察到污染菌落。由表5和表6可知:空白对照组的试验结果表明4种菌株的自发回变菌落数与GB 15193.4—2014和文献[13—14]报道一致,结合菌株鉴定结果,表明菌株状态正常;阳性对照组的回变菌落数显著高于自发突变,表明阳性诱变剂有效。将不同剂量的受试物样品组与溶剂对照组的试验结果进行比较,结果表明,在添加与不添加S9混合物情况下,两次试验中所有剂量的受试物样品组的回变菌落数均未超过溶剂对照组回变菌落数的2倍,且无剂量-反应关系。说明受试物琼崖海棠籽毛油对鼠伤寒沙门氏菌突变型菌株TA97、TA98、TA100及TA102 4株试验菌株,在添加与不添加S9混合物情况下,均未观察到致基因突变作用。

2.4 讨论

遗传终点具有多样化特性,本研究采用Ames试验、小鼠精子畸形试验和小鼠骨髓红细胞微核试验组合检测多个遗传终点。Ames试验是检测基因突变的体外试验,利用鼠伤寒沙门氏菌的突变营养缺陷菌株为指示物,检测DNA碱基序列是否改变。小鼠精子畸形试验检测受试物对精子不同发育阶段的影响,评价生殖细胞的受损情况。小鼠精子畸形受基因控制,具有高度遗传性,许多染色体及X、Y性染色体基因直接或间接地决定精子形态。精子畸形主要是指形态的异常,已知精子的畸形是决定精子形成的基因发生突变的结果。因此,形态的改变提示有关基因及其蛋白质产物的改变,说明环境因子对精子生成、发育有影响。小鼠骨髓红细胞微核试验是检测染色体或有丝分裂器损伤的一种遗传毒性试验方法。无着丝粒的染色体片段或因纺锤体受损而丢失的整个染色体,在细胞分裂后期仍留在子细胞的胞质内成为微核。有很多化学物质能引起染色体的异常。染色体是遗传物质的载体并含有生物体全部的遗传信息,染色体遗传信息的异常可不同程度地影响生物机体的生存,轻者突变,重者死亡。染色体仅出现微小的异常变化,都可能对人体健康产生非常严重的影响。

本实验室前期经口急性毒性试验结果显示琼崖海棠籽毛油属于实际无毒,精炼油属于无毒。在遗传毒性试验中,琼崖海棠籽毛油各剂量组在Ames试验(鼠伤寒沙门氏菌TA97、TA98、TA100、TA102)中结果均为阴性,表明琼崖海棠籽毛油在体外试验中未发现致突变作用。在小鼠骨髓红细胞微核试验中,与阴性对照组相比,琼崖海棠籽毛油中、高剂量组微核细胞率存在极显著差异($P < 0.01$),有明显

的剂量-反应关系,为阳性结果,引起染色体异常。在小鼠精子畸形试验中,相对阴性对照组,琼崖海棠籽毛油中、高剂量组精子畸形率存在极显著差异($P < 0.01$),有剂量-反应关系,结果也为阳性,对决定精子形成的基因发生了突变。

目前,对于琼崖海棠籽毛油中存在的化学成分未完全分析鉴定清楚,根据目前国外学者对红厚壳属植物的叶、茎、根、皮、种子等部位的化学成分进行分析研究结果推断,琼崖海棠籽毛油中可能有咕吨酮类、香豆素类、黄酮类、萜类^[7]、酚类、生物碱类等多种化合物存在。其中咕吨酮类包括Calozeoylo-xanthone、1,5-Dihydroxyxanthone、6-Deoxyjacareubin和Caledonixanthone等^[6],香豆素类包括Inophyllum A、B、C、D和Calophyllolide等^[6],黄酮类包括Amentoflavone、Biflavanone和Pyranoamentoflavone等^[6],萜类包括Canophyllal、Canophyllol和Taraxerone等^[6]。本研究测定了琼崖海棠籽毛油中黄酮、三萜、总酚、香豆素和生物碱含量(见表2),这些成分有些具有一定的毒性。Oodyke^[15]研究结果显示,香豆素类对大鼠口服LD₅₀为293 mg/kg,按照我国化合物经口急性毒性分级标准^[16]中的毒性分级判定可知,香豆素为中等毒性。香豆素类化合物在高剂量时具有遗传毒性和肝脏毒性等^[17]。由此可以推断,琼崖海棠籽毛油的小鼠骨髓红细胞微核试验、小鼠精子畸形试验为阳性,可能与其含有咕吨酮类、香豆素类、萜类和生物碱类等化学物质有关。

物质的毒性不仅与物质的本身性质有关,也与摄入该物质的剂量有关。若按照体重50 kg的成年人每人每天油脂的摄入量25~30 g^[18]计算,则琼崖海棠籽毛油或精炼油的摄入剂量为500~600 mg/kg,低于琼崖海棠籽毛油小鼠骨髓红细胞微核试验、小鼠精子畸形试验阴性结果的低剂量1133.2 mg/kg(雌性)和1152.2 mg/kg(雄性)。由此,可推断对于琼崖海棠籽毛油在推荐摄入量(500~600 mg/kg)时对受试物不具遗传毒性。

3 结论

琼崖海棠籽毛油的小鼠骨髓红细胞微核试验和精子畸形试验的中、高剂量组为阳性结果;Ames试验结果均为阴性。琼崖海棠籽毛油中所含咕吨酮类、香豆素类、萜类和生物碱等化学物质可能是遗传毒性为阳性的原因。小鼠骨髓红细胞微核试验、精子畸形试验为阴性结果的低剂量,高于推荐油脂摄入量,说明在推荐油脂摄入量下,琼崖海棠籽毛油对受试物不具遗传毒性。

(下转第104页)

56 °C, pH 4.8, 酶解时间 6 h。在最佳工艺条件下, 大豆异黄酮糖苷的水解率及苷元得率分别达到 96.84% 和 99.74%。大豆异黄酮糖苷酶解制备苷元的反应条件温和、底物水解率及产物得率高、操作简便、绿色环保, 具有广阔的应用前景。

参考文献:

- [1] 郭嘉. 大豆异黄酮的营养探究[J]. 现代食品, 2016, 18: 32-33.
- [2] AHUJA V, MIURA K, VISHNU A, et al. Significant inverse association of equol - producer status with coronary artery calcification but not dietary isoflavones in healthy Japanese men[J]. Br J Nutr, 2017, 117: 260-266.
- [3] WANG H, MURPHY P A. Isoflavone content in commercial soybean foods[J]. J Agric Food Chem, 2001, 42(8): 1666-1673.
- [4] 李珊珊. 大豆胚芽中异黄酮提取研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2004.
- [5] IZUMI T, PISKULA M K, OSAWA S, et al. Soy isoflavone aglycones are absorbed faster and in higher amounts than their glucosides in humans[J]. Brit J Nutr, 2000, 130(7): 1695-1699.
- [6] VILLARES A, ROSTAGNO M A, GARC A A, et al. Content and profile of isoflavones in soy - based foods as a function of the production process[J]. Food Bioproc Tech, 2011, 4(1): 27-38.
- [7] 李紫微, 曹庸, 苗建银. 大豆异黄酮及其苷元的研究进

展[J]. 食品工业科技, 2019, 40(20): 348-355.

- [8] CHENG Q B, ZHANG L W. Highly efficient enzymatic preparation of daidzein in deep eutectic solvents[J/OL]. Molecules, 2017, 22(1): 186[2020-02-25]. <https://www.doc88.com/p-0768675690691.html>.
- [9] 郭天赐, 赵石磊, 刘石生. 苦杏仁 β -葡萄糖苷酶水解豆浆中大豆异黄酮的工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2019(12): 82-88.
- [10] 周文红, 郭咪咪, 李秀娟, 等. 大豆异黄酮提取及其生物转化的研究进展[J]. 粮油食品科技, 2019(5): 37-42.
- [11] 周文红, 郭咪咪, 毕艳红, 等. 大豆豆脐中异黄酮的提取工艺优化[J]. 现代食品科技, 2020(2): 224-229.
- [12] 孙艳梅. β -葡萄糖苷酶水解大豆异黄酮糖苷的研究[D]. 沈阳: 东北农业大学, 2003.
- [13] MITSUO M, KOJI T, HIDEO A. Biotransformation of isoflavones by *Aspergillus niger* as biocatalyst[J]. J Chem Technol Biot, 2006, 81(4): 674-678.
- [14] 夏伟, 石鹏君, 柏映国, 等. 真菌来源第 3 家族 β -葡萄糖苷酶催化机理初步研究[R]. 江苏 镇江: 中国酶工程与糖生物工程学术研讨会, 2015.
- [15] 原野, 胡彦波, 周义发. 糖苷水解酶——生物转化制备活性糖苷与苷元的有效工具[J]. 微生物学报, 2017(8): 93-108.
- [16] 王金虎. 葡萄糖苷酶催化机理及几类新型药物作用机制的理论研究[D]. 济南: 山东大学, 2012.

(上接第 70 页)

参考文献:

- [1] 金惠娟, 殷宁, 彭黎旭, 等. 海南红厚壳花浸膏、精油的提取及化学成分分析[J]. 精细化工, 2007(1): 60-63.
- [2] 中国油脂植物编写委员会. 中国油脂植物[M]. 北京: 科学出版社, 1987: 387-388.
- [3] 郑联合, 赵阔, 王涛. 琼崖海棠籽油的理化性质及脂肪酸组成分析[J]. 中国油脂, 2011, 36(9): 60-63.
- [4] KILHAM C. Tamanu oil; a tropical topical remedy[J]. Herbalgram, 2004, 63: 26-31.
- [5] CRANE S, AURORE G, JOSEPH H, et al. Composition of fatty acids triacylglycerols and unsaponifiable matter in *Calophyllum calaba* L. oil from Guadeloupe [J]. Phytochemistry, 2005, 66(15): 1825-1831.
- [6] IINUMA M, ITO T, TOSA H, et al. Prenylated xanthonoids from *Calophyllum apetalum* [J]. Phytochemistry, 1997, 46(8): 1423-1429.
- [7] 韩淑云, 韩长日. 海南红厚壳中生物碱的提取与含量测定[J]. 应用化工, 2010, 39(9): 1419-1421.
- [8] 食品安全国家标准 急性经口毒性试验: GB 15193.3—2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.

- [9] 郑联合, 钟文权, 邹易, 等. 琼崖海棠籽油急性毒性的评价[J]. 食品科技, 2020(5): 17-21.
- [10] 食品安全国家标准 哺乳动物红细胞微核试验: GB 15193.5—2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.
- [11] 小鼠精子畸形试验: GB 15193.7—2003[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.
- [12] 食品安全国家标准 细菌回复突变试验: GB 15193.4—2003[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.
- [13] 刘玉明, 蒋定文, 李珂娴, 等. 银参胶囊遗传毒性研究[J]. 中国药业, 2020, 27(3): 17-19.
- [14] 赵毓梅, 郑定仙, 黄业宇, 等. 鲨鱼肝油胶丸毒理学安全性评价[J]. 中国公共卫生, 2002(3): 46-48.
- [15] OODYKE D L. Monographs on fragrance raw materials [J]. Food Cosmet Toxicol, 1974, 12(3): 385-405.
- [16] 沈建忠. 动物毒理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 83-97.
- [17] 孔令雷, 胡金凤, 陈乃宏. 香豆素化合物药理和毒理作用的研究进展[J]. 中国药理学报, 2012, 28(2): 165-168.
- [18] 中国营养学会. 中国居民膳食指南(2016)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2016.