

鲜榨山茶油食用安全性毒理学评价

陈劲松¹, 谭传波¹, 杨耀学¹, 赖琼玮¹, 周刚平¹,

张帆¹, 卢芳国², 吴苏喜³

(1. 湖南大三湘茶油股份有限公司, 湖南 衡阳 421141; 2. 湖南中医药大学 医学院, 长沙 410208;

3. 长沙理工大学 化学与生物工程学院, 长沙 410114)

摘要:通过急性毒性试验、遗传毒性试验和亚急性毒性试验对鲜榨山茶油进行毒理学研究, 并做安全性评价。结果表明:鲜榨山茶油对大鼠的急性经口 LD_{50} 大于 10 000 mg/kg, 判属实际无毒级;遗传毒性试验(Ames 试验、小鼠骨髓细胞微核试验和体外哺乳类细胞染色体畸变试验)结果均为阴性;在大鼠 28 d 喂养试验中未见动物健康状况、血液生化指标和器官组织形态的异常变化。因此,鲜榨山茶油无急性毒性、遗传毒性和亚急性毒性, 具有较高的食用安全性。

关键词:鲜榨山茶油; 安全性; 毒理学; 急性毒性; 遗传毒性; 亚急性毒性

中图分类号:TS225.1;TS201.6 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2020)03-0068-07

Toxicological assessment of fresh pressed oil – tea camellia seed oil

CHEN Jinsong¹, TAN Chuanbo¹, YANG Yaoyue¹, LAI Qiongwei¹, ZHOU Gangping¹,
ZHANG Fan¹, LU Fangguo², WU Suxi³

(1. Hunan Great Sanxiang Camellia Oil Co., Ltd., Hengyang 421141, Hunan, China; 2. School of Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China; 3. School of Chemistry and Bio-engineering, Changsha University of Science & Technology, Changsha 410114, China)

Abstract: Acute toxicity test, genetic toxicity tests and sub-acute toxicity test of fresh pressed oil – tea camellia seed oil were performed to evaluate its safety. The results showed that acute toxicity test in rats demonstrated actual non-toxicity of fresh pressed oil – tea camellia seed due to its LD_{50} higher than 10 000 mg/kg. The results of genotoxicity tests (Ames test, mouse bone marrow cells micronucleus test and mammalian cell chromosome aberration test in vitro) were negative. No abnormal changes of animal health, biochemical indexes of blood and organ morphology were found in the 28 d feeding test of rats. The fresh pressed oil – tea camellia seed oil had no acute toxicity, genetic toxicity and sub-acute toxicity, so it had high edible safety.

Key words: fresh pressed oil – tea camellia seed oil; safety; toxicology; acute toxicity; genetic toxicity; sub-acute toxicity

油茶(*Oil Camellia*), 又名茶子树、茶油树、白花茶等, 为山茶科(Theaceae)山茶属(*Camellia*)中常绿大灌木或小乔木。油茶已有 2 300 多年的栽培历史, 集经济、生态和社会效益于一身, 是我国特有的

优质木本油料树种。油茶与油棕、油橄榄、椰子并列被称为世界四大木本油料植物^[1-2]。

山茶油取自油茶籽, 富含不饱和脂肪酸, 油酸含量高达 75% ~ 80%, 因其理化性质与“植物油皇后”橄榄油相似而享有“东方橄榄油”的美誉^[3-5]。山茶油中含有油酸、亚油酸、亚麻酸、生育酚、植物甾醇和角鲨烯等营养物质, 长期食用, 具有降低胆固醇、预防心血管疾病的作用^[6-8]。最近开发的鲜榨山茶油含有丰富的天然活性物质, 其品质媲美特级初榨

收稿日期:2019-07-02;修回日期:2019-10-23

基金项目:2018 年度湖南省科技重大专项(2018NK1030)

作者简介:陈劲松(1986), 男, 工程师, 主要从事食用油脂加工研究工作(E-mail)gsx_cjs@163.com。

通信作者:谭传波, 工程师(E-mail)tcb315@163.com。

橄榄油^[9-11],而有关鲜榨山茶油的毒理学评价还未见报道。

本研究依据 GB 15193—2014《食品安全性毒理学评价程序和方法》对鲜榨山茶油的食用安全性进行毒理学评价,为鲜榨山茶油的开发应用提供安全性指导。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验原料

鲜榨山茶油,采用湖南大三湘茶油股份有限公司鲜榨工艺所得^[9];玉米油,压榨一级,市购。

1.1.2 试验动物

SPF级昆明种小鼠、SPF级SD大鼠,均购自湖南斯莱克景达试验动物有限公司,动物生产许可证号为SCXK(湘)2016-0002,动物检疫期为3~5 d。辐照灭菌清洁级大鼠饲料,由北京科澳协力饲料有限公司提供,饲料生产许可证号为SCXK(京)2014-0010。

1.1.3 试验试剂

环磷酰胺(CP),由江苏盛迪医药有限公司提供;大鼠肝微粒体酶(S-9),实验室自制;氧化型辅酶Ⅱ;2-氨基苄,批号为252361689,Fluka公司;敌克松,标准号为HG2318-92,上海金桥化工厂;叠氮钠,批号为A0345092,ACROS公司;1,8-二羟基蒽醌,批号为200808054,上海晶纯试剂有限公司。

生化试剂盒,由四川新健康成生物股份有限公司提供;血液学试剂盒,由深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司提供。

鼠伤寒沙门氏菌组氨酸缺陷型TA97a、TA98、TA100、TA102、TA1535 5株标准突变型菌株,由美国MOLTOX公司提供,经鉴定符合要求。

中国仓鼠肺(CHL)细胞株,购自中国科学院细胞库。

1.1.4 仪器与设备

JA3003型电子分析天平,奥林巴斯生物显微镜,BECKMAN COULTER全自动生化分析仪,BC-5300Vet兽用全自动血液细胞分析仪,超净工作台等。

1.2 试验方法

1.2.1 急性经口毒性试验

采用SD大鼠20只,雌、雄各半,设10 000 mg/kg 1个剂量组,动物隔夜禁食但不禁水。取适量的鲜榨山茶油,用玉米油配制成质量浓度为666.7 mg/mL的混悬液,按1.5 mL/100 g(以大鼠体重计)一次性经口灌胃。观察动物染毒后14 d内的中毒症状及死亡情况。

1.2.2 遗传毒性试验

1.2.2.1 Ames 试验

采用经鉴定符合要求的鼠伤寒沙门氏菌组氨酸缺陷型TA97a、TA98、TA100、TA102、TA1535 5株标准突变型菌株进行试验,并以多氯联苯(PCB)诱导的大鼠肝微粒体酶(S-9)作为体外代谢活化系统。根据预试验结果,试验设312.5、625.0、1 250.0、2 500.0、5 000.0 μg/皿5个剂量,同时设自发回变、溶剂(玉米油)对照组(100 μL/皿)和阳性突变剂对照组(100 μL/皿)。首先配制受试液:准确称取0.5 g受检样品,加玉米油定容至10 mL混匀即为最高剂量所用受试液,质量浓度为50 mg/mL,以该质量浓度受试液为基础,用玉米油2倍依次往下稀释,即得2 500.0、1 250.0、625.0、312.5 μg/皿剂量组所用受试液,质量浓度分别为25、12.5、6.25、3.125 mg/mL,经0.103 MPa灭菌20 min,静置至室温备用。试验采用平板掺入法,在加与不加S-9的条件下进行测试。试验时取各受试液0.1 mL加入平皿,每个剂量3个平皿,37℃培养48 h后,计数每皿回复突变菌落数。

1.2.2.2 小鼠骨髓细胞微核试验

采用昆明种小鼠50只,体重26.0~30.0 g,雌、雄各半,试验设2.5、5.0、10 g/kg(以小鼠体重计,下同)3个剂量组,另设溶剂(玉米油)对照组(20 mL/kg)及阳性(环磷酰胺)对照组(40 mg/kg)。取16.0 mL受检样品加玉米油至30 mL混匀即得质量浓度为0.5 g/mL受试液,供10 g/kg剂量组动物使用,然后分别取该受试液4.0、8.0 mL加玉米油至16 mL,即得0.125、0.25 g/mL受试液供2.5、5.0 g/kg剂量组动物使用;取环磷酰胺200 mg加注射用氯化钠溶液10 mL配得母液,取该母液按1:9的比例用注射用氯化钠溶液稀释成质量浓度为2 mg/mL的环磷酰胺溶液,供阳性对照组动物使用。灌胃量为20 mL/kg,试验采用30 h两次灌胃法,间隔24 h,于末次给样后6 h颈椎脱臼处死动物,取胸骨骨髓按GB 15193—2014《食品安全性毒理学评价程序和方法》中骨髓细胞微核试验的规定进行制片,固定,Giemsa染色后,在油镜下每只小鼠计数2 000个嗜多染红细胞(PCE)中含微核细胞数,计算微核率。计数200个嗜多染红细胞,计算嗜多染红细胞与成熟红细胞比值(PCE/NCE)。

1.2.2.3 体外哺乳类细胞染色体畸变试验

选用中国仓鼠肺(CHL)细胞株进行试验。预试验结果显示,在加与不加S-9的条件下,5 000 μg/皿剂量组均不影响细胞相对生长率,故正式试验设1 250、2 500、5 000 μg/mL 3个剂量组,另设溶

剂(DMSO)对照组及阳性(不加S-9:甲磺酸甲酯(MMS),10 μg/mL。加S-9:环磷酰胺,10 μg/mL)对照组。准确称取5 g受检样品,加DMSO定容至10 mL混匀即得质量浓度为0.5 g/mL受试液,供5 000 μg/mL剂量组使用,然后分别取该受试液5、2.5 mL加DMSO至10 mL,即得0.25、0.125 g/mL受试液,供2 500、1 250 μg/mL剂量组使用;分别取甲磺酸甲酯10 mg和环磷酰胺10 mg加无菌蒸馏水定容至10 mL,配得质量浓度均为0.001 g/mL溶液供阳性对照组使用。调整细胞密度至 5×10^5 个/mL,每瓶5 mL,置37℃、5% CO₂培养箱内培养24 h后吸去培养瓶中的培养液,加入相应质量浓度的受试物50 μL,4 mL不含血清的培养液和1 mL S-9(不加S-9时,用培养液补足),37℃培养4 h。吸去含受试物的培养液,换入新鲜含胎牛血清的培养液5 mL,继续于37℃培养24 h。培养结束前4 h向培养瓶中加入秋水仙素(终质量浓度为1 μg/mL)。秋水仙素作用4 h后,用0.25%胰蛋白酶液消化,离心并收获细胞,常规制片。Giemsa染色后,在高倍镜下每组镜检100个中期分裂相细胞,观察记录畸变细胞数和畸变类型等,计算染色体畸变率。

1.2.3 大鼠28 d经口毒性试验

选用断乳SD大鼠100只,雌、雄各半,雌鼠体重为75~92 g,雄鼠体重为79~91.5 g。因溶媒为玉米油,最大灌胃量为4 mL/kg,故高剂量组的剂量为3.752 g/kg。试验设0.938、1.876、3.752 g/(kg·d)(分别相当于人拟用剂量的5.2、10.5、21倍)3个受试物剂量组,1个对照组,每组20只大鼠,雌、雄各半。另设对照组和高剂量卫星组,每组10只大鼠,雌、雄各半,做恢复期观察。试验采用灌胃法,灌胃量为4 mL/(kg·d)。受试液每天新鲜配制,根据设计剂量,第1周每天分别取5.0、10.0、20.0 mL受检样品加玉米油至20 mL混匀即得质量浓度分别为234.5、469.0、938.0 mg/mL受试液,供

0.938、1.876、3.752 g/(kg·d)剂量组动物使用;随后每周根据动物体重增长情况配制相应体积的受试液,配制方法及受试液质量浓度同第1周。溶剂对照组给予等体积的玉米油。每天定时灌胃1次,连续灌胃28 d。卫星组动物于染毒停止后继续观察14 d。试验动物单笼喂养,自由饮水、进食。每天观察动物的一般表现、行为、中毒症状及死亡情况。每周末称1次体重及食物摄入量(第1~4周每周称2次体重)。染毒结束后,各剂量组和对照组动物隔夜禁食约16 h,经腹主动脉采血检测血清天冬氨酸氨基转移酶(AST)、血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、碱性磷酸酶(ALP)、尿素(Urea)、肌酐(Cre)、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、血糖(GLU)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、谷氨酰转酞酶(GGT)、钾、钠、氯等血液生化指标。试验结束时将动物处死,解剖动物观察内脏改变,称心、胸腺、肝、脾、肾、肾上腺、睾丸质量并计算其脏体比。

1.2.4 数据处理

小鼠骨髓细胞微核试验用泊松分布和卡方检验进行统计学处理,大鼠28 d经口毒性试验采用IBM SPSS Statistics 20 统计软件对各项检测数据作单因素方差分析,秩和检验或t检验对各项检测数据进行统计分析。显著性水平 $\alpha=0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 急性经口毒性试验

鲜榨山茶油大鼠急性经口毒性试验结果表明,动物染毒后活动如常,未出现明显中毒症状,观察期内未发生死亡。7 d和14 d称重动物体重均有增长。雌、雄大鼠急性经口LD₅₀均大于10 000 mg/kg,按照剂量分级评定鲜榨山茶油雌、雄大鼠急性经口毒性级别均属实际无毒级。

2.2 遗传毒性试验

2.2.1 Ames 试验

鲜榨山茶油细菌回复突变试验结果见表1。

表1 鲜榨山茶油细菌回复突变试验结果

组别	TA97a		TA98		TA100		TA102		TA1535	
	-S-9	+S-9	-S-9	+S-9	-S-9	+S-9	-S-9	+S-9	-S-9	+S-9
鲜榨山茶油										
312.5 μg/皿	99 ± 4	113 ± 7	33 ± 2	31 ± 2	123 ± 4	124 ± 3	253 ± 6	262 ± 9	10 ± 2	11 ± 3
625.0 μg/皿	109 ± 5	108 ± 3	32 ± 3	37 ± 0	128 ± 4	131 ± 5	265 ± 9	264 ± 5	13 ± 1	14 ± 2
1 250.0 μg/皿	110 ± 4	110 ± 4	31 ± 2	34 ± 1	120 ± 3	125 ± 2	248 ± 7	267 ± 9	11 ± 1	11 ± 1
2 500.0 μg/皿	101 ± 4	113 ± 5	32 ± 2	35 ± 3	123 ± 2	129 ± 5	253 ± 5	258 ± 5	12 ± 2	10 ± 2
5 000.0 μg/皿	104 ± 3	110 ± 2	34 ± 1	33 ± 1	125 ± 1	130 ± 4	254 ± 4	264 ± 4	11 ± 2	10 ± 2
自发回变	102 ± 5	105 ± 3	32 ± 2	33 ± 2	121 ± 2	128 ± 4	256 ± 5	256 ± 3	11 ± 2	9 ± 1
溶剂对照	106 ± 5	103 ± 5	31 ± 2	33 ± 3	123 ± 2	134 ± 3	258 ± 7	261 ± 6	11 ± 2	12 ± 1
阳性对照	2 013 ± 92 ^a	1 687 ± 67 ^b	1 122 ± 57 ^a	1 568 ± 53 ^b	1 758 ± 56 ^c	1 351 ± 84 ^b	880 ± 40 ^a	690 ± 57 ^d	831 ± 76 ^c	723 ± 46 ^d

注:a为敌克松,50 μg/皿;b为2-氨基芴,10 μg/皿;c为叠氮钠,1.5 μg/皿;d为1,8-二羟基蒽醌,50 μg/皿。

由表1可见,受检样品各剂量组对各试验菌株在加与不加S-9代谢活化系统条件下,回复突变菌落数均未超过自发回变的2倍,亦无剂量反应关系,而阳性对照组的平均回复突变菌落数均超过对照组2倍,呈现明显阳性反应,上述结果表明该受试样品未诱导5种菌株回复突变菌落数增加。因上述试验结果为阴性,故整套Ames试验重复1次,重复试验

设8、40、200、1 000、5 000 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 5个剂量,其他试验条件保持不变。重复试验亦未见受试样品诱导5种菌株回复突变菌落数增加。

2.2.2 小鼠骨髓细胞微核试验

鲜榨山茶油对小鼠骨髓嗜多染红细胞微核率的影响见表2。

表2 鲜榨山茶油对小鼠骨髓嗜多染红细胞微核率的影响

组别	性别	动物数(只)	镜检PCE数(个)	含微核的PCE数(个)	微核率/%	PCE/NCE
溶剂对照	雌	5	10 000	25	0.25 \pm 0.12	1.11 \pm 0.19
(20 mL/kg)	雄	5	10 000	23	0.23 \pm 0.04	1.01 \pm 0.08
鲜榨山茶油						
2.5 g/kg	雌	5	10 000	26	0.26 \pm 0.06	1.12 \pm 0.12
	雄	5	10 000	15	0.15 \pm 0.08	0.96 \pm 0.04
5.0 g/kg	雌	5	10 000	23	0.23 \pm 0.03	1.07 \pm 0.12
	雄	5	10 000	15	0.15 \pm 0.05	1.04 \pm 0.04
10.0 g/kg	雌	5	10 000	25	0.25 \pm 0.04	1.00 \pm 0.11
	雄	5	10 000	16	0.16 \pm 0.07	1.04 \pm 0.06
阳性对照	雌	5	10 000	281	2.81 \pm 0.40 **	1.13 \pm 0.04
(40 mg/kg)	雄	5	10 000	244	2.44 \pm 0.24 **	0.99 \pm 0.07

注: **表示与溶剂对照组比较,差异有统计学意义, $P < 0.01$ 。下同。

由表2可见,各剂量组PCE/NCE比值正常,未见受检样品对昆明种雌、雄小鼠骨髓细胞增殖有抑制作用。溶剂对照组昆明种雌、雄小鼠骨髓PCE微核率分别为0.25%和0.23%。各剂量组昆明种雌、雄小鼠骨髓PCE微核率分别为0.23%~0.26%和0.15%~0.16%,与溶剂对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。阳性对照组昆明种雌、雄小鼠骨

髓PCE微核率分别为2.81%和2.44%,与溶剂对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.01$)。上述结果表明未见受试样品诱发小鼠骨髓嗜多染红细胞微核率增高。

2.2.3 体外哺乳类细胞染色体畸变试验

鲜榨山茶油对CHL细胞染色体畸变率的影响(4 h)见表3。

表3 鲜榨山茶油对CHL细胞染色体畸变率的影响(4 h)

组别	S-9	中期分裂相细胞数(个)	染色体数目改变(个)		染色体结构变化(个)					畸变细胞数	畸变率/%
			非整倍体或多倍体	内复制	断裂	断片	微小体	环状	其他		
溶剂对照 (10 $\mu\text{L}/\text{mL}$)	-	100	0	0	3	1	0	0	0	4	4.0
	+	100	0	0	2	1	0	0	0	3	3.0
鲜榨山茶油											
1 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$	-	100	0	0	2	0	0	0	0	2	2.0
	+	100	0	0	2	1	0	0	0	3	3.0
2 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$	-	100	0	0	3	1	0	0	0	4	4.0
	+	100	0	0	4	0	0	0	0	4	4.0
5 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$	-	100	0	0	3	0	0	0	0	3	3.0
	+	100	0	0	2	0	0	0	0	2	2.0
阳性对照											
MMS(10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)	-	100	0	0	10	3	0	0	12	25	25.0 **
CP(10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)	+	100	0	0	9	5	2	0	12	28	28.0 **

由表3可见:在不加S-9与加S-9的条件下接触受试物4 h,溶剂对照组CHL细胞染色体畸变率分别为4.0%和3.0%;鲜榨山茶油各剂量组CHL

细胞染色体畸变率分别为2.0%、4.0%、3.0%和3.0%、4.0%、2.0%,与相应的溶剂对照组比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。阳性对照组(MMS

和 CP) CHL 细胞染色体畸变率分别为 25.0% 和 28.0%, 与相应的溶剂对照组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。因上述试验结果为阴性, 故另设不加 S-9 的试验, 将受试物接触时间延长至 24 h, 重复体外哺乳类细胞染色体畸变试验 1 次。鲜榨山茶油对 CHL 细胞染色体畸变率的影响 (24 h) 见表 4。由表 4 可见: 在不加 S-9 条件下, 受试物染毒时间延长至 24 h, 溶剂对照组 CHL 细胞染色体畸变率为

3.0%; 鲜榨山茶油各剂量组 CHL 细胞染色体畸变率分别为 2.0%、3.0%、4.0%, 与相应的溶剂对照组比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。阳性对照组 (MMS) CHL 细胞染色体畸变率为 31.0%, 与相应的溶剂对照组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。在本试验条件下, 鲜榨山茶油未引起 CHL 细胞染色体畸变率增高。

表 4 鲜榨山茶油对 CHL 细胞染色体畸变率的影响 (24 h)

组别	S-9	中期分裂相 细胞数(个)	染色体数目改变(个)		染色体结构变化(个)					畸变细 胞数	畸变 率/%
			非整倍体或 多倍体	内复制	断裂	断片	微小体	环状	其他		
溶剂对照 (10 $\mu\text{L}/\text{mL}$)	-	100	0	0	3	0	0	0	0	3	3.0
鲜榨山茶油											
1 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$	-	100	0	0	2	0	0	0	0	2	2.0
2 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$	-	100	0	0	3	0	0	0	0	3	3.0
5 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$	-	100	0	0	3	1	0	0	0	4	4.0
阳性对照 MMS (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)	-	100	0	0	12	4	1	0	14	31	31.0**

2.3 大鼠 28 d 经口毒性试验

试验发现各剂量组雌、雄大鼠在整个试验期间的活动、进食、饮水基本正常, 粪便性状正常, 亦未见

明显行为改变和中毒表现。鲜榨山茶油 28 d 经口毒性试验各组 SD 大鼠体重及总增重见表 5。

表 5 鲜榨山茶油 28 d 经口毒性试验各组 SD 大鼠体重及总增重 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

性别	剂量/ ($\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$)	体重/g					总增重/g
		第 0 周	第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周	
雌	0	84.4 \pm 3.4	123.7 \pm 7.6	166.4 \pm 11.2	193.2 \pm 16.2	213.9 \pm 16.1	129.6 \pm 14.6
	0.938	83.8 \pm 4.7	124.8 \pm 7.1	163.5 \pm 10.1	194.7 \pm 14.6	208.7 \pm 12.0	124.8 \pm 10.8
	1.876	83.3 \pm 5.5	125.3 \pm 10.7	165.9 \pm 10.4	197.8 \pm 12.6	220.0 \pm 10.9	136.7 \pm 8.7
	3.752	84.4 \pm 3.2	129.4 \pm 9.7	169.3 \pm 16.8	197.1 \pm 21.2	215.9 \pm 19.9	131.5 \pm 18.4
	0	85.0 \pm 4.2	135.4 \pm 6.6	202.4 \pm 14.9	261.5 \pm 20.8	318.0 \pm 28.5	233.0 \pm 27.1
雄	0.938	84.6 \pm 5.2	133.8 \pm 8.0	200.1 \pm 9.7	258.0 \pm 13.4	312.2 \pm 19.2	227.6 \pm 19.1
	1.876	84.1 \pm 5.9	134.0 \pm 10.0	199.2 \pm 12.0	258.5 \pm 17.0	318.4 \pm 19.4	234.3 \pm 15.8
	3.752	85.2 \pm 3.8	132.8 \pm 14.9	196.0 \pm 21.0	254.6 \pm 26.9	310.4 \pm 33.5	225.2 \pm 30.9

由表 5 可见, 各剂量组雌、雄大鼠试验期间各周体重、总增重与对照组比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

鲜榨山茶油 28 d 经口毒性试验末期各组 SD 大鼠血液生化指标测定结果见表 6。

由表 6 可见: 试验末期高剂量组雌性大鼠尿素 (Urea)、甘油三酯 (TG) 和中剂量组雌性大鼠血糖 (GLU)、尿素 (Urea) 均高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 试验末期高剂量组雄性大鼠血糖 (GLU)、氯 (Cl) 均高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 以上几个指标

值均在本实验室正常范围内, 没有生物学意义; 各剂量组雌、雄大鼠其他各项血液生化指标与对照组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

鲜榨山茶油 28 d 经口毒性试验各组 SD 大鼠脏器质量与脏体比测定结果见表 7。

由表 7 可见, 各剂量组雌、雄大鼠各项脏器质量、脏体比及禁食后体重与对照组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。试验中未见器官组织形态的异常变化。恢复期观察表明高剂量卫星组亦未见动物健康状况、血液生化指标和器官组织形态的异常变化。

表6 鲜榨山茶油28 d经口毒性试验末期各组SD大鼠血液生化指标测定结果($\bar{x} \pm s, n=10$)

性别	剂量/(g/(kg·d))	TP/(g/L)	ALB/(g/L)	AST/(U/L)	ALT/(U/L)	GGT/(U/L)	ALP/(U/L)	Urea/(mmol/L)
雌	0	58.1±2.0	32.9±1.3	123.2±14.2	27.9±5.1	2.80±1.32	145.3±40.9	5.55±0.76
	0.938	57.6±5.8	33.4±2.7	109.5±16.3	25.6±2.7	2.00±0.82	117.9±23.1	6.10±0.95
	1.876	56.3±3.9	32.1±1.8	102.9±14.7	25.3±4.0	2.40±0.52	143.3±26.2	6.75±0.66**
	3.752	58.3±6.0	32.8±3.0	109.6±30.5	27.7±5.3	2.20±0.92	144.1±26.5	6.74±0.70**
雄	0	54.2±2.4	29.7±1.2	105.7±9.2	30.4±4.2	4.40±0.97	259.9±62.3	4.51±0.78
	0.938	53.6±2.9	29.8±1.2	112.5±29.9	34.9±8.3	4.40±0.84	271.6±59.8	4.59±0.76
	1.876	52.9±1.9	29.8±0.9	96.4±9.9	29.7±3.2	5.20±0.92	285.2±35.0	4.45±0.44
	3.752	55.5±1.6	30.8±0.7	100.7±6.3	35.9±6.1	5.50±1.58	300.0±77.5	4.89±0.72
性别	剂量/(g/(kg·d))	Cre/(μmol/L)	TG/(mmol/L)	TC/(mmol/L)	GLU/(mmol/L)	K/(mmol/L)	Na/(mmol/L)	Cl/(mmol/L)
雌	0	56.1±4.1	0.30±0.05	1.77±0.24	5.82±0.90	4.40±0.47	144.4±1.5	101.2±1.0
	0.938	53.3±3.3	0.29±0.05	1.74±0.42	6.78±1.33	4.36±0.32	144.1±1.3	100.7±1.3
	1.876	55.2±7.3	0.34±0.09	1.62±0.39	8.14±1.48**	5.02±2.68	144.2±1.5	99.5±1.3
	3.752	54.4±6.0	0.39±0.10*	1.72±0.20	6.84±2.38	7.44±0.78	143.7±3.1	100.0±2.0
雄	0	51.8±4.7	0.25±0.08	1.86±0.32	6.32±1.39	4.71±0.45	146.8±1.4	102.0±0.9
	0.938	51.0±3.4	0.19±0.07	1.84±0.40	5.73±0.86	5.96±1.97	147.4±1.8	102.8±1.5
	1.876	47.6±3.3	0.25±0.04	1.88±0.40	7.24±1.05	4.55±0.25	147.4±0.9	103.3±1.0
	3.752	48.5±4.8	0.34±0.17	2.01±0.40	7.89±1.47*	4.36±0.36	148.6±1.5	104.2±1.5**

注:与对照组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 差异有统计学意义。

表7 鲜榨山茶油28 d经口毒性试验各组SD大鼠脏器质量与脏器比测定结果($\bar{x} \pm s, n=10$)

性别	剂量/(g/(kg·d))	体重/g	脏器质量/g						
			心	胸腺	肝	脾	肾	肾上腺	睾丸
雌	0	200.6±16.6	0.70±0.05	0.54±0.07	6.46±0.69	0.47±0.05	1.55±0.07	0.05±0.01	-
	0.938	198.3±12.7	0.68±0.06	0.58±0.11	6.60±0.49	0.51±0.06	1.64±0.15	0.06±0.01	-
	1.876	206.5±11.9	0.73±0.04	0.56±0.08	7.10±1.11	0.49±0.07	1.72±0.16	0.06±0.01	-
	3.752	207.4±24.5	0.69±0.08	0.55±0.14	7.35±0.92	0.52±0.09	1.65±0.26	0.06±0.01	-
雄	0	292.8±29.2	1.03±0.14	0.71±0.11	9.28±0.73	0.74±0.08	2.24±0.14	0.06±0.01	2.75±0.23
	0.938	292.5±19.7	0.96±0.09	0.61±0.12	9.71±1.39	0.70±0.10	2.38±0.29	0.05±0.01	2.76±0.14
	1.876	294.0±20.8	1.07±0.09	0.74±0.13	9.14±0.73	0.70±0.08	2.32±0.20	0.05±0.01	2.81±0.24
	3.752	289.5±31.9	0.99±0.10	0.74±0.13	9.48±0.63	0.72±0.12	2.32±0.19	0.06±0.01	2.69±0.18
性别	剂量/(g/(kg·d))	脏器比/%							
		心体比	胸腺体比	肝体比	脾体比	肾体比	肾上腺体比	睾丸体比	
雌	0	0.35±0.02	0.27±0.03	3.22±0.15	0.24±0.02	0.78±0.04	0.03±0.00	-	
	0.938	0.35±0.03	0.29±0.06	3.33±0.19	0.26±0.02	0.83±0.07	0.03±0.00	-	
	1.876	0.35±0.03	0.27±0.03	3.44±0.56	0.24±0.03	0.84±0.07	0.03±0.00	-	
	3.752	0.33±0.02	0.27±0.06	3.71±0.65	0.26±0.02	0.81±0.18	0.03±0.01	-	
雄	0	0.35±0.05	0.24±0.03	3.18±0.17	0.25±0.04	0.77±0.04	0.02±0.00	0.95±0.16	
	0.938	0.33±0.02	0.21±0.04	3.31±0.34	0.24±0.04	0.81±0.07	0.02±0.00	0.95±0.05	
	1.876	0.36±0.03	0.25±0.04	3.11±0.22	0.24±0.03	0.79±0.07	0.02±0.00	0.96±0.08	
	3.752	0.34±0.05	0.26±0.03	3.31±0.42	0.25±0.04	0.80±0.06	0.02±0.01	0.94±0.15	

3 结论

通过小鼠急性毒性试验、遗传毒性试验和亚急性毒性试验对鲜榨山茶油进行毒理学研究,并对其做安全性评价。鲜榨山茶油对大鼠的急性经口 LD_{50} 大于10 000 mg/kg,判属实际无毒级;遗传毒性试验(Ames试验、小鼠骨髓细胞微核试验和体外哺乳类细胞染色体畸变试验)结果均为阴性;在大鼠28 d喂养试验中未见动物健康状况和器官组织形

态的异常变化,大鼠体重、TP、ALB、AST、ALT、GGT、ALP、Cre、TC、Na、K、脏器质量、脏器比与对照组相比均无显著差异,Urea、TG、GLU、Cl均在实验室正常范围内。恢复期观察表明高剂量卫星组亦未见动物健康状况、血液生化指标和器官组织形态的异常变化。鲜榨山茶油无急性毒性、遗传毒性和亚急性毒性,具有较高的食用安全性。

(下转第97页)

- [46] KISHK Y F M, ELSHESHETAWY H E, MAHMOUD E A M. Influence of isolated flaxseed mucilage as a non-starch polysaccharide on noodle quality[J]. *Int J Food Sci Tech*, 2011, 46(3):661-668.
- [47] DE MOURA C M A, SOARES JÚNIOR M S, FIORDA F A, et al. Cooking and texture properties of gluten-free fettuccine processed from defatted flaxseed flour and rice flour[J]. *Int J Food Sci Tech*, 2016, 51(6):1495-1501.
- [48] ZHU F, LI J. Physicochemical properties of steamed bread fortified with ground linseed (*Linum usitatissimum*) [J]. *Int J Food Sci Tech*, 2018, 54(5):1670-1676.
- [49] HAO M, BETA T. Development of Chinese steamed bread enriched in bioactive compounds from barley hull and flaxseed hull extracts[J]. *Food Chem*, 2012, 133(4):1320-1325.
- [50] SANTIAGO A, RYLAND D, CUI S, et al. Effect of milled flaxseed and storage conditions on sensory properties and selected bioactive compounds in banana and cinnamon muffins used in a clinical trial[J]. *J Sci Food Agric*, 2019, 99(2):831-843.
- [51] KAUR R, KAUR M. Microstructural, physicochemical, antioxidant, textural and quality characteristics of wheat muffins as influenced by partial replacement with ground flaxseed[J]. *LWT - Food Sci Technol*, 2018, 91:278-285.
- [52] MOUSAVI M, HESHMATI A, GARMAKHANY A D, et al. Optimization of the viability of *Lactobacillus acidophilus* and physico-chemical, textural and sensorial characteristics of flaxseed-enriched stirred probiotic yogurt by using response surface methodology[J]. *LWT - Food Sci Technol*, 2019, 102:80-88.
- [53] KRISTINA B, IRENA N, JAN K, et al. Influence of flaxseed components on fermented dairy product properties [J]. *Czech J Food Sci*, 2018, 36(1):51-56.
- [54] BILSKA A, WASZKOWIAK K, BLASZYK M, et al. Effect of liver pate enrichment with flaxseed oil and flaxseed extract on lipid composition and stability[J]. *J Sci Food Agric*, 2018, 98(11):4112-4120.
- [55] WANDERSLEBEN T, MORALES E, BURGOSDÍAZ C, et al. Enhancement of functional and nutritional properties of bread using a mix of natural ingredients from novel varieties of flaxseed and lupine[J]. *LWT - Food Sci Technol*, 2018, 91:48-54.
- [56] WANG H, WANG J, QIU C, et al. Comparison of phytochemical profiles and health benefits in fiber and oil flaxseeds (*Linum usitatissimum* L.) [J]. *Food Chem*, 2017, 214:227-233.
- [57] MYSIUKIEWICZ O, BARCZEWSKI M. Utilization of linseed cake as a postagricultural functional filler for poly(lactic acid) green composites[J]. *J Appl Polym Sci*, 2019, 136(10):47152.
- [58] HEAD B, BIONAZ M, CHERIAN G. Flaxseed and carbohydrase enzyme supplementation alters hepatic *n-3* polyunsaturated fatty acid molecular species and expression of genes associated with lipid metabolism in broiler chickens [J]. *J Vet Sci*, 2019, 6:25.

(上接第73页)

参考文献:

- [1] 王斌,王开良,童杰洁,等.我国油茶产业现状及发展对策[J]. *林业科技开发*,2011,25(2):11-15.
- [2] 李远发,胡灵,王凌晖.油茶资源研究利用现状及其展望[J]. *广西农业科学*,2009,40(4):450-454.
- [3] 郭华,周建平,罗军武,等.茶籽油的脂肪酸组成测定[J]. *中国油脂*,2008,33(7):71-73.
- [4] 龙伶俐,薛雅琳,张东,等.油茶籽油主要特征成分的研究分析[J]. *中国油脂*,2012,37(4):78-81.
- [5] PREEDY R V, WATSON R R, PATEL V. Nuts and seeds in health and disease prevention[M]. London, Burlington, San Diego: Academic Press, 2011:1115-1122.
- [6] SNYDER J M, FRANKEL E N, SELKE E. Capillary gas chromatographic analyses of headspace volatiles from vegetable oils[J]. *J Am Oil Chem Soc*, 1985, 62(12):1657-1679.
- [7] 王萍,张银波,江木兰.多不饱和脂肪酸的研究进展[J]. *中国油脂*,2008,33(12):42-46.
- [8] 刘世鹏,周伯川.油茶籽的开发利用[J]. *中国油脂*, 1996,21(4):39-42.
- [9] 谭传波,赖琼玮,杨耀学,等.鲜榨油茶籽油提取工艺研究[J]. *中国油脂*,2018,43(8):12-14.
- [10] 谭传波,田华,赖琼玮,等.不同工艺山茶油中生物活性物质含量的比较[J]. *中国油脂*,2018,43(12):41-44.
- [11] 谭传波,田华,周刚平,等.鲜榨山茶油与特级初榨橄榄油营养价值的比较[J]. *中国油脂*, 2019, 44(1):67-69.