

复方翅果油的毒理学初步研究

唐慧¹,王默²,李伟³,张静¹,周雯¹,程东¹

(1. 山东省疾病预防控制中心, 济南 250014; 2. 山东省立医院, 济南 250021;

3. 济南市槐荫区疾病预防控制中心, 济南 250022)

摘要:旨在对复方翅果油(翅果油+葡萄籽油)的毒理学安全性进行初步评估。采用最大耐受剂量(MTD)法观察复方翅果油的急性毒性,选择Ames试验、骨髓嗜多染红细胞微核试验、小鼠精子畸形试验观察复方翅果油的遗传毒性,通过亚急性毒性试验观察复方翅果油的亚急性毒性。结果表明:复方翅果油对雄、雌小鼠的MTD均大于20.0 g/kg;遗传毒性试验结果为阴性;各剂量组未观察到有明显的亚急性毒性。上述结果说明复方翅果油属无毒级,无明显遗传毒性和亚急性毒性。

关键词:复方翅果油;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(2022)04-0092-07

Preliminary toxicological study of compound *Elaeagnus mollis* seed oil

TANG Hui¹, WANG Mo², LI Wei³, ZHANG Jing¹, ZHOU Wen¹, CHENG Dong¹

(1. Shandong Center for Disease Control and Prevention, Jinan 250014, China; 2. Shandong

Provincial Hospital, Jinan 250021, China; 3. Huaiyin District Center for Disease

Control and Prevention, Jinan 250022, China)

Abstract: To study the safety of compound *Elaeagnus mollis* seed oil (blend oil of *Elaeagnus mollis* seed oil and grape seed oil), maximum tolerated dose (MTD) was used to observe acute toxicity of compound *Elaeagnus mollis* seed oil, and Ames test, bone marrow polychromatic erythrocyte micronucleus test and mice sperm abnormality test were used to study the inherent toxicity, and the sub-acute toxicity test was used to study the sub-acute toxicity of compound *Elaeagnus mollis* seed oil. The results showed that the oral MTD of compound *Elaeagnus mollis* seed oil in male and female mice was above 20.0 g/kg. The result of inherent toxicity test was negative. There was no evident sub-acute toxicity in each dose group. So compound *Elaeagnus mollis* seed oil belonged to non-toxic grade and had no significant inherent toxicity or sub-acute toxicity.

Key words: compound *Elaeagnus mollis* seed oil; acute toxicity; inherent toxicity; sub-acute toxicity

翅果油树是胡颓子科、胡颓子属落叶直立乔木或灌木,距今已有200多万年的历史^[1],仅在晋、陕两地小范围内零星分布,是我国独有的珍稀优良油料树种,被称作“植物国宝”。翅果油树果实种仁含有丰富的油脂,翅果油中亚麻酸与亚油酸含量比约为1:7^[2],接近母乳中这两种成分的比例(约为1:10);翅果油中维生素E的含量较高,达0.98%;

此外,翅果油中还含有少量的植物甾醇和黄酮类化合物^[3-4]。研究表明,翅果油具有降脂减肥、抗疲劳、抗氧化及抗炎等作用^[5-8]。2011年翅果油被批准为新资源食品^[9],但产量少、规模小、成本高阻碍了其广泛深入地开发和利用,因此在过去的十年间,市面上翅果油及其相关产品屈指可数。我国葡萄种植面积居世界第二,作为葡萄酒工业副产品之一的葡萄籽油,其价格相对较低且生物活性多样,在保健食品、医药和工业领域得到市场的高度认可。翅果油中添加葡萄籽油,可在结合两种优良油脂多种功效的同时,有助于降低翅果油产品的成本,提高市场认知度,对于扩大翅果油植株种植面积,促进当

收稿日期:2021-03-16;修回日期:2021-10-31

作者简介:唐慧(1973),女,副主任技师,研究方向为毒理学安全性评价(E-mail)419670233@qq.com。

通信作者:王默,主任医师(E-mail)doctorwangmo@126.com。

地相关特色产业的形成具有重要的意义。

此前的研究多侧重于翅果油单品的生物活性,未见其复方制剂被应用于保健食品的报道。本研究对以翅果油、葡萄籽油为原料组方的复方翅果油进行初步的安全性评价,为其长期食用提供毒理学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 原料与试剂

复方翅果油,为透明油状液体,山西某公司提供,由翅果油和葡萄籽油组成,每100 g中含亚油酸42 g、亚麻酸2 g、维生素E 800 mg,人体推荐剂量为0.06 g/(kg·d);花生油。

环磷酰胺,江苏恒瑞公司;敌克松(Dexon),美国 Chemservice 公司;2-氨基苄(2-AF),美国 Sigma-Aldrich 公司;甲基磺酸甲酯(MMS),德国 Merck-Schuchand 公司;1,8-二羟基蒽醌,比利时 Acros Organics 公司;肌酐试剂盒,上海复兴长征公司;丙氨酸氨基转移酶、天冬氨酸氨基转移酶、尿素、胆固醇、甘油三酯、葡萄糖、总蛋白、白蛋白试剂盒,北京利德曼公司。

1.1.2 试验动物

SPF级ICR小鼠及SD大鼠,北京华阜康生物科技股份有限公司。试验动物均适应3 d后方可开始试验。

1.1.3 试验菌株

鼠伤寒沙门氏菌组氨酸缺陷型菌株TA97、TA98、TA100和TA102,上海宝录公司。

1.1.4 主要仪器

Countermat Flash全自动菌落计数器,西班牙IUL公司;CD3700血细胞分析仪,美国Abbott公司;7180全自动任选式生化分析仪,日本Hitachi公司;组织切片机,德国Leica公司;Sakura Tissue-Tek Prisma & Tissue-TekGlasg2染色封片机,日本樱花公司。

1.2 试验方法

1.2.1 急性毒性试验

采用最大耐受剂量(MTD)法进行试验。以食用花生油为溶剂,将复方翅果油配制质量浓度为0.5 g/mL的溶液。选用18~21 g ICR小鼠20只,雄、雌各半,分两次灌胃复方翅果油溶液,每次灌胃量为0.02 mL/g,两次间隔4 h,合并染毒剂量为20.0 g/kg。染毒后连续观察14 d,记录小鼠体重、中毒及死亡情况。

1.2.2 遗传毒性试验

1.2.2.1 Ames试验(平板掺入法)

称取5.0 g复方翅果油,经0.055 MPa灭菌20

min,冷却后以丙酮为溶剂配制成质量浓度分别为50 000、10 000、2 000、400、80 μg/mL的溶液,待用。在加或不加代谢活化系统(S-9)的条件下,分别取0.1 mL不同质量浓度受试物与测试菌株(TA97、TA98、TA100、TA102)增菌液混合,倒入底层培养基平板,对应受试物剂量分别为5 000、1 000、200、40、8 μg/皿,另外设置自发回变组、溶剂对照组和阳性对照组,于37℃培养48 h,计数回变菌落数。

1.2.2.2 骨髓嗜多染红细胞微核试验

以食用花生油为溶剂,将复方翅果油配制质量浓度分别为0.125、0.250、0.500 g/mL的溶液。选用体重25~30 g ICR小鼠,10只/组,雄、雌各半,分两次灌胃不同质量浓度的复方翅果油溶液,灌胃量0.02 mL/g,两次间隔24 h。末次染毒后6 h,处死小鼠,取胸骨骨髓制片。每张涂片镜检1 000个嗜多染红细胞(PCE),计数出现微核的细胞数量,计算微核细胞率。记录计数200个PCE的过程中观察到的正染红细胞(NCE)数量,计算PCE/NCE。另设溶剂对照组和环磷酰胺阳性对照组(剂量40 mg/kg)。

1.2.2.3 小鼠精子畸形试验

以食用花生油为溶剂,将复方翅果油配制质量浓度分别为0.125、0.250、0.500 g/mL的溶液。选用体重25~30 g雄性ICR小鼠,5只/组,连续5 d灌胃不同质量浓度的复方翅果油溶液,灌胃量0.02 mL/g。灌胃后第35天处死小鼠,取两侧附睾制片。每张涂片计数1 000个结构完整的精子,记录畸变精子的类型及数量,计算精子畸变率。另设溶剂对照组和环磷酰胺阳性对照组(剂量40 mg/kg)。

1.2.3 亚急性毒性试验(30 d喂养试验)

以食用花生油为溶剂,将复方翅果油配制质量浓度分别为0.019、0.038、0.075 g/mL的溶液。选用体重60~80 g雄、雌SD大鼠,10只/组,连续30 d灌胃不同质量浓度的复方翅果油溶液,灌胃量0.08 mL/g。另外设置溶剂对照组。试验周期内,观察大鼠中毒表现及死亡情况。每周称量大鼠体重和进食量,计算每周食物利用率(每周增重/每周进食量)及总食物利用率(总增重/总进食量)。灌胃30 d后,大鼠空腹16 h,经腹主动脉取血,进行血常规指标和血生化指标检测;对大鼠进行大体解剖观察,取肝、脾、肾、睾丸等脏器称量湿重,计算脏器比(脏器质量/空腹体重);对肝、脾、肾、睾丸/卵巢、胃、肠等脏器进行固定后,制成组织切片进行组织病理学检查。

1.2.4 统计方法

计量资料使用SPSS软件进行均数、标准差的计

算和方差分析或秩和检验。计数资料采用 χ^2 检验。

现和死亡,受试物对雄、雌小鼠的经口 MTD 均大于 20.0 g/kg(见表 1)。根据急性毒性分级标准,复方翅果油属无毒级。

2 结果与分析

2.1 急性毒性试验(MTD 法)

试验期内,试验动物生长状况良好,未见中毒表

表 1 急性毒性试验结果($\bar{x} \pm s$)

性别	剂量/(g/kg)	动物数(只)	初始体重/g	末期体重/g	死亡数(只)	MTD/(g/kg)
雄	20.0	10	19.4 ± 0.8	33.0 ± 1.8	0	>20.0
雌	20.0	10	19.6 ± 0.6	29.9 ± 1.0	0	>20.0

2.2 遗传毒性试验

由表 2 可看出,受试物各剂量组菌落数小于自

2.2.1 Ames 试验结果(见表 2)

发回变组菌落数的 2 倍,且无剂量反应关系。

表 2 Ames 试验结果($\bar{x} \pm s$)

组别	TA97				TA98			
	第一次		第二次		第一次		第二次	
	-S-9	+S-9	-S-9	+S-9	-S-9	+S-9	-S-9	+S-9
剂量组/($\mu\text{g}/\text{皿}$)								
8	136 ± 9.7	135 ± 13.3	138 ± 11.5	137 ± 13.7	34 ± 2.5	33 ± 3.1	34 ± 3.1	33 ± 3.8
40	134 ± 12.3	138 ± 11.1	136 ± 12.1	142 ± 10.4	38 ± 2.1	35 ± 2.3	35 ± 3.2	36 ± 2.6
200	139 ± 10.6	136 ± 10.1	134 ± 13.7	139 ± 11.5	36 ± 3.8	38 ± 3.2	37 ± 3.0	38 ± 4.5
1 000	137 ± 11.6	141 ± 12.4	141 ± 12.2	140 ± 12.5	35 ± 4.0	37 ± 3.8	36 ± 3.6	39 ± 4.4
5 000	140 ± 11.5	139 ± 12.5	138 ± 13.2	139 ± 12.9	38 ± 4.2	39 ± 4.7	37 ± 4.2	38 ± 4.5
自发回变组	135 ± 9.0	136 ± 8.5	134 ± 10.6	137 ± 11.0	35 ± 3.1	37 ± 4.4	36 ± 3.5	35 ± 2.1
溶剂对照组	133 ± 11.2	137 ± 11.0	135 ± 11.7	136 ± 13.5	37 ± 2.6	38 ± 3.5	36 ± 2.5	38 ± 4.0
阳性对照组*	2 130 ± 138.6 (1)	865 ± 65.1 (2)	2 118 ± 125.1 (1)	847 ± 59.3 (2)	859 ± 57.8 (1)	2 124 ± 137.0 (2)	834 ± 58.9 (1)	2 102 ± 132.6 (2)
组别	TA100				TA102			
	第一次		第二次		第一次		第二次	
	-S-9	+S-9	-S-9	+S-9	-S-9	+S-9	-S-9	+S-9
剂量组/($\mu\text{g}/\text{皿}$)								
8	145 ± 10.1	150 ± 12.0	144 ± 13.1	149 ± 12.7	256 ± 12.5	261 ± 13.1	259 ± 14.4	258 ± 13.9
40	149 ± 10.4	148 ± 9.5	146 ± 12.3	150 ± 13.7	262 ± 9.2	263 ± 12.8	257 ± 14.5	267 ± 13.7
200	151 ± 11.5	154 ± 11.7	150 ± 11.8	153 ± 14.0	265 ± 14.6	266 ± 13.7	262 ± 11.9	265 ± 13.3
1 000	153 ± 12.5	156 ± 14.0	154 ± 12.1	151 ± 14.7	264 ± 12.9	272 ± 16.1	269 ± 13.1	268 ± 10.5
5 000	149 ± 11.0	155 ± 13.2	156 ± 13.2	155 ± 14.2	268 ± 13.9	265 ± 15.6	267 ± 14.7	270 ± 16.5
自发回变组	138 ± 11.9	141 ± 12.8	139 ± 11.7	145 ± 10.1	262 ± 11.2	268 ± 12.7	268 ± 13.1	267 ± 12.6
溶剂对照组	140 ± 9.8	142 ± 11.6	140 ± 10.5	143 ± 11.4	265 ± 14.1	264 ± 11.7	262 ± 12.5	264 ± 10.6
阳性对照组*	914 ± 53.9 (3)	1 133 ± 73.9 (2)	897 ± 59.8 (3)	1 128 ± 84.6 (2)	1 932 ± 126.9 (3)	1 121 ± 74.2 (4)	1 906 ± 127.3 (3)	1 157 ± 82.7 (4)

注: * 表示与溶剂对照组比较 $P < 0.01$; (1) Dexon, 50 $\mu\text{g}/\text{皿}$; (2) 2-AF, 10 $\mu\text{g}/\text{皿}$; (3) MMS, 0.5 $\mu\text{L}/\text{皿}$; (4) 1,8-二羟基蒽醌, 50 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 。

2.2.2 骨髓嗜多染红细胞微核试验结果(见表 3)

由表 3 可见,受试物各剂量组雄、雌小鼠的 PCE/NCE 均高于溶剂对照组的 20%,表明受试物对小鼠骨髓细胞无细胞毒性。受试物各剂量组微核细胞率与溶剂对照组比较无明显剂量反应关系且无显著性差异($P > 0.05$),而阳性对照组与溶剂对照

组之间存在极显著性差异($P < 0.01$)。

2.2.3 小鼠精子畸形试验结果(见表 4)

由表 4 可见,受试物各剂量组小鼠精子畸变率与溶剂对照组比较无明显的剂量反应关系且无显著性差异($P > 0.05$),而阳性对照组与溶剂对照组之间存在极显著性差异($P < 0.01$)。

表3 骨髓嗜多染红细胞微核试验结果($\bar{x} \pm s$)

性别	组别	动物数(只)	检查细胞数(个)	微核细胞数(个)	微核细胞率/%	PCE/NCE
雄	剂量组/(g/kg)					
	2.5	5	5 × 1 000	10	0.20 ± 0.12	1.21 ± 0.13
	5.0	5	5 × 1 000	9	0.18 ± 0.08	1.26 ± 0.14
	10.0	5	5 × 1 000	8	0.16 ± 0.11	1.30 ± 0.16
	溶剂对照组	5	5 × 1 000	10	0.20 ± 0.07	1.28 ± 0.20
	阳性对照组	5	5 × 1 000	134	2.68 ± 0.87**	1.25 ± 0.19
雌	剂量组/(g/kg)					
	2.5	5	5 × 1 000	10	0.20 ± 0.12	1.28 ± 0.25
	5.0	5	5 × 1 000	11	0.22 ± 0.08	1.33 ± 0.19
	10.0	5	5 × 1 000	9	0.18 ± 0.05	1.30 ± 0.18
	溶剂对照组	5	5 × 1 000	11	0.22 ± 0.13	1.34 ± 0.19
	阳性对照组	5	5 × 1 000	129	2.58 ± 0.65**	1.19 ± 0.16

注:**表示与溶剂对照组比较 $P < 0.01$ 。下同

表4 小鼠精子畸形试验结果($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	受检精子数(个)	畸变精子数(个)							精子畸变率/%	
			无钩	香蕉型	胖头	无定型	双头	双尾	尾折叠		总量
剂量组/(g/kg)											
2.5	5	5 × 1 000	9	10	7	69	1	0	1	97	1.94 ± 0.50
5.0	5	5 × 1 000	11	12	8	70	0	1	0	102	2.04 ± 0.36
10.0	5	5 × 1 000	10	13	7	72	1	0	1	104	2.08 ± 0.33
溶剂对照组	5	5 × 1 000	12	10	5	67	0	1	0	95	1.90 ± 0.35
阳性对照组	5	5 × 1 000	71	56	52	141	2	2	2	326	6.52 ± 0.36**

2.3 亚急性毒性试验

毒体征及死亡,体重增长、进食量、食物利用率等指标与溶剂对照组比较无显著性差异($P > 0.05$)(见

2.3.1 一般表现

各试验组大鼠在试验期内生长状况良好,无中

表5~表7)。

表5 复方翅果油对大鼠体重的影响($\bar{x} \pm s$)

性别	组别	动物数(只)	体重/g					总增重/g
			初始	第1周	第2周	第3周	第4周	
	溶剂对照组	10	69.6 ± 6.1	133.1 ± 7.4	195.0 ± 11.2	255.7 ± 16.5	315.3 ± 18.6	245.7 ± 19.6
雄	剂量组/(g/kg)							
	1.5	10	69.7 ± 5.9	133.8 ± 7.6	195.6 ± 8.0	256.3 ± 11.1	316.0 ± 16.4	246.3 ± 20.0
	3.0	10	69.7 ± 5.8	133.0 ± 5.7	194.0 ± 12.7	253.0 ± 14.9	311.1 ± 16.2	241.4 ± 16.2
	6.0	10	70.2 ± 5.8	131.5 ± 7.1	191.4 ± 11.8	248.9 ± 11.7	304.5 ± 14.5	234.3 ± 17.5
	溶剂对照组	10	70.3 ± 4.8	117.0 ± 7.0	161.3 ± 7.6	190.6 ± 9.9	214.8 ± 10.6	144.5 ± 13.2
雌	剂量组/(g/kg)							
	1.5	10	70.3 ± 4.6	116.3 ± 6.3	160.6 ± 10.8	186.5 ± 13.0	208.6 ± 14.5	138.3 ± 16.1
	3.0	10	70.3 ± 4.4	113.5 ± 5.8	155.3 ± 5.1	184.0 ± 8.2	206.6 ± 10.7	136.3 ± 11.7
	6.0	10	70.2 ± 4.2	113.6 ± 6.5	155.4 ± 8.1	183.2 ± 10.3	206.1 ± 11.1	135.9 ± 12.1

表6 复方翅果油对大鼠进食量的影响($\bar{x} \pm s$)

性别	组别	动物数(只)	进食量/g				总进食量/g
			第1周	第2周	第3周	第4周	
	溶剂对照组	10	104.0 ± 7.6	135.1 ± 12.9	169.1 ± 12.3	192.7 ± 10.9	600.9 ± 29.7
雄	剂量组/(g/kg)						
	1.5	10	103.6 ± 4.3	140.0 ± 6.0	172.0 ± 8.3	196.8 ± 14.8	612.4 ± 28.9
	3.0	10	100.3 ± 3.8	140.5 ± 13.6	176.6 ± 13.0	196.9 ± 16.9	614.3 ± 36.7
	6.0	10	99.5 ± 9.0	139.7 ± 12.4	173.8 ± 16.9	187.6 ± 21.9	600.6 ± 47.2

续表 6

性别	组别	动物数(只)	进食量/g				总进食量/g
			第1周	第2周	第3周	第4周	
	溶剂对照组	10	95.9 ± 9.3	123.1 ± 8.3	132.0 ± 10.1	141.6 ± 9.6	492.6 ± 28.5
雌	剂量组/(g/kg)						
	1.5	10	91.0 ± 7.4	117.6 ± 11.6	124.1 ± 11.4	137.9 ± 18.2	470.6 ± 44.0
	3.0	10	90.0 ± 5.4	114.3 ± 8.1	128.2 ± 7.3	139.6 ± 29.2	472.1 ± 44.5
	6.0	10	90.5 ± 4.9	114.3 ± 7.5	121.3 ± 11.1	137.7 ± 18.2	463.8 ± 34.8

表 7 复方翅果油对大鼠食物利用率的影响($\bar{x} \pm s$)

性别	组别	动物数(只)	食物利用率/%				总利用率/%
			第1周	第2周	第3周	第4周	
	溶剂对照组	10	60.92 ± 7.68	45.67 ± 3.46	35.90 ± 2.35	30.92 ± 4.37	40.85 ± 1.83
雄	剂量组/(g/kg)						
	1.5	10	61.72 ± 7.73	44.18 ± 3.38	35.29 ± 2.44	30.29 ± 3.26	40.17 ± 1.75
	3.0	10	63.19 ± 8.68	43.48 ± 4.77	33.43 ± 2.47	29.80 ± 4.20	39.35 ± 2.52
	6.0	10	61.51 ± 6.71	42.85 ± 4.06	33.25 ± 3.76	30.08 ± 5.87	39.13 ± 3.04
	溶剂对照组	10	48.57 ± 8.20	36.13 ± 3.32	22.16 ± 2.14	16.96 ± 3.46	29.33 ± 1.98
雌	剂量组/(g/kg)						
	1.5	10	50.28 ± 6.03	37.56 ± 3.57	20.90 ± 4.00	16.16 ± 3.28	29.37 ± 2.17
	3.0	10	47.85 ± 6.81	36.72 ± 4.64	22.47 ± 4.76	16.34 ± 3.55	28.99 ± 2.60
	6.0	10	47.93 ± 8.77	36.53 ± 3.77	22.92 ± 3.29	16.69 ± 4.43	29.31 ± 1.65

2.3.2 血常规指标测定结果(见表 8)

由表 8 可见:受试物低、高剂量组雄性大鼠的中性粒细胞占比、淋巴细胞占比与溶剂对照组比较存在显著性差异($P < 0.05$ 、 $P < 0.01$),但数值均在实

验室正常范围内,不认为存在生物学意义;其他血常规指标均在实验室正常范围内,且与溶剂对照组比较均无显著性差异($P > 0.05$)。

表 8 血常规指标测定结果($\bar{x} \pm s$)

性别	组别	动物数(只)	血红蛋白/(g/L)	红细胞计数/ $(10^{12}/L)$	白细胞计数/ $(10^9/L)$	中性粒细胞占比/%	淋巴细胞占比/%	单核细胞占比/%	嗜碱性粒细胞占比/%	嗜酸性粒细胞占比/%
	溶剂对照组	10	139.9 ± 6.8	6.30 ± 0.35	10.7 ± 2.9	20.5 ± 5.7	73.2 ± 5.8	5.11 ± 2.06	0.49 ± 0.63	0.71 ± 0.29
雄	剂量组/(g/kg)									
	1.5	10	137.0 ± 8.1	6.11 ± 0.45	10.2 ± 3.3	13.0 ± 2.9*	80.9 ± 3.3*	3.79 ± 1.11	0.63 ± 0.80	0.76 ± 0.24
	3.0	10	135.2 ± 5.4	6.18 ± 0.35	10.0 ± 2.3	19.2 ± 7.5	76.8 ± 7.3	3.15 ± 0.92	0.32 ± 0.22	0.57 ± 0.25
	6.0	10	134.1 ± 3.9	6.19 ± 0.19	10.0 ± 1.9	13.0 ± 3.0*	81.7 ± 4.1**	3.90 ± 1.26	0.76 ± 0.66	0.67 ± 0.10
	溶剂对照组	10	135.4 ± 6.4	6.05 ± 0.31	8.0 ± 1.7	16.7 ± 5.9	76.5 ± 5.7	5.38 ± 1.06	0.44 ± 0.26	0.98 ± 0.33
雌	剂量组/(g/kg)									
	1.5	10	136.7 ± 7.3	6.26 ± 0.42	8.4 ± 1.5	13.2 ± 2.6	80.7 ± 3.5	4.84 ± 1.50	0.31 ± 0.10	0.94 ± 0.39
	3.0	10	133.3 ± 7.4	6.11 ± 0.38	8.2 ± 1.3	13.5 ± 3.7	80.6 ± 4.2	4.65 ± 0.96	0.30 ± 0.16	0.89 ± 0.34
	6.0	10	133.0 ± 3.5	6.09 ± 0.23	7.9 ± 2.0	15.5 ± 4.8	78.5 ± 4.7	4.74 ± 1.14	0.39 ± 0.24	0.84 ± 0.26

注:与溶剂对照组比较,*表示 $P < 0.05$,**表示 $P < 0.01$ 。

2.3.3 血生化指标测定结果(见表 9)

由表 9 可见:受试物雄性大鼠高剂量组、雌性大鼠中剂量组谷丙转氨酶,雌性大鼠高剂量组白蛋白与溶剂对照组比较存在显著性差异($P < 0.05$),但数值均在实验室正常范围内,不认为存在生物学意义;其他生化指标均在实验室正常范围内,且与溶剂

对照组比较均无显著性差异($P > 0.05$)。

2.3.4 大体解剖及病理组织学观察结果

试验末期大鼠大体解剖未见明显异常。各试验组雄、雌大鼠的肝、脾、肾、睾丸等脏器湿重及脏器比与溶剂对照组比较无统计学意义($P > 0.05$)(见表 10)。

表 9 血生化指标测定结果($\bar{x} \pm s$)

性别	组别	动物数 (只)	谷丙转氨酶/ (U/L)	谷草转氨酶/ (U/L)	尿素/ (mmol/L)	肌酐/ ($\mu\text{mol/L}$)	总胆固醇/ (mmol/L)	甘油三酯/ (mmol/L)	葡萄糖/ (mmol/L)	总蛋白/ (g/L)	白蛋白/ (g/L)	白球比
	溶剂对照组 剂量组/(g/kg)	10	63.3 \pm 5.5	129.9 \pm 11.1	5.97 \pm 0.31	36.9 \pm 6.2	1.41 \pm 0.19	0.60 \pm 0.14	6.77 \pm 0.82	57.6 \pm 3.0	27.9 \pm 2.3	0.94 \pm 0.08
雄	1.5	10	62.2 \pm 8.3	123.4 \pm 15.8	5.81 \pm 0.85	32.5 \pm 7.8	1.28 \pm 0.21	0.56 \pm 0.12	6.75 \pm 0.71	56.7 \pm 2.6	27.7 \pm 1.9	0.96 \pm 0.06
	3.0	10	63.4 \pm 5.1	114.8 \pm 17.4	5.62 \pm 0.41	31.3 \pm 7.7	1.26 \pm 0.22	0.61 \pm 0.14	6.34 \pm 0.99	56.0 \pm 2.7	27.2 \pm 1.6	0.95 \pm 0.07
	6.0	10	55.3 \pm 6.5*	114.6 \pm 18.5	5.79 \pm 0.48	34.6 \pm 5.5	1.40 \pm 0.25	0.61 \pm 0.12	6.60 \pm 0.98	57.2 \pm 2.5	27.9 \pm 1.2	0.95 \pm 0.03
	溶剂对照组 剂量组/(g/kg)	10	56.8 \pm 6.6	120.6 \pm 12.9	6.75 \pm 0.60	37.3 \pm 3.0	1.37 \pm 0.25	0.59 \pm 0.20	6.54 \pm 0.79	55.7 \pm 3.0	27.5 \pm 1.5	0.98 \pm 0.04
雌	1.5	10	56.5 \pm 4.0	133.9 \pm 23.5	7.32 \pm 0.78	40.4 \pm 7.9	1.60 \pm 0.36	0.62 \pm 0.19	6.13 \pm 0.50	55.4 \pm 1.3	27.7 \pm 1.3	1.00 \pm 0.08
	3.0	10	49.9 \pm 7.1*	108.1 \pm 19.7	6.89 \pm 0.88	33.4 \pm 7.9	1.51 \pm 0.35	0.66 \pm 0.20	6.23 \pm 0.48	57.1 \pm 2.2	29.0 \pm 1.6	1.04 \pm 0.09
	6.0	10	52.0 \pm 5.8	108.0 \pm 12.6	6.74 \pm 0.89	34.4 \pm 4.8	1.30 \pm 0.28	0.65 \pm 0.20	6.91 \pm 0.91	57.7 \pm 4.0	29.4 \pm 2.0*	1.04 \pm 0.08

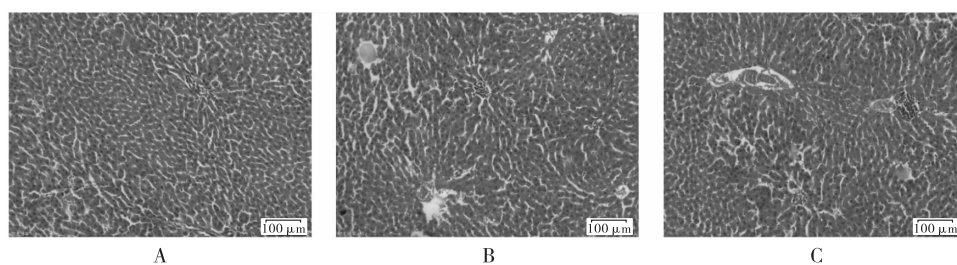
注:与溶剂对照组比较,*表示 $P < 0.05$ 。

表 10 大鼠 30 d 喂养脏器湿重及脏器比结果($\bar{x} \pm s$)

性别	组别	动物数(只)	空腹体重/g	肝脏/g	脾脏/g	肾脏/g	睾丸/g	肝体比/%	脾体比/%	肾体比/%	睾体比/%
	溶剂对照组 剂量组/(g/kg)	10	290.3 \pm 19.3	10.49 \pm 0.78	0.80 \pm 0.09	2.69 \pm 0.22	2.83 \pm 0.22	3.63 \pm 0.39	0.28 \pm 0.03	0.93 \pm 0.08	0.98 \pm 0.08
雄	1.5	10	290.7 \pm 13.7	10.84 \pm 0.64	0.81 \pm 0.05	2.81 \pm 0.14	2.66 \pm 0.13	3.74 \pm 0.27	0.28 \pm 0.02	0.97 \pm 0.04	0.92 \pm 0.05
	3.0	10	286.2 \pm 14.2	10.95 \pm 0.85	0.74 \pm 0.06	2.65 \pm 0.23	2.75 \pm 0.13	3.83 \pm 0.36	0.26 \pm 0.02	0.93 \pm 0.07	0.96 \pm 0.06
	6.0	10	280.1 \pm 15.6	10.28 \pm 0.90	0.75 \pm 0.09	2.54 \pm 0.14	2.67 \pm 0.17	3.68 \pm 0.37	0.27 \pm 0.04	0.91 \pm 0.06	0.95 \pm 0.06
	溶剂对照组 剂量组/(g/kg)	10	197.4 \pm 10.2	7.30 \pm 0.52	0.54 \pm 0.06	1.82 \pm 0.09		3.70 \pm 0.25	0.27 \pm 0.03	0.92 \pm 0.06	
雌	1.5	10	191.7 \pm 13.7	7.19 \pm 0.71	0.56 \pm 0.10	1.86 \pm 0.17		3.75 \pm 0.29	0.29 \pm 0.05	0.97 \pm 0.08	
	3.0	10	189.9 \pm 11.0	7.22 \pm 0.58	0.50 \pm 0.09	1.81 \pm 0.11		3.81 \pm 0.30	0.26 \pm 0.04	0.96 \pm 0.07	
	6.0	10	189.4 \pm 11.1	7.49 \pm 0.61	0.48 \pm 0.10	1.72 \pm 0.10		3.96 \pm 0.25	0.25 \pm 0.06	0.91 \pm 0.06	

对大鼠肝、脾、肾、睾丸/卵巢、胃、肠的组织病理切片检查结果显示,高剂量组和溶剂对照组个别大鼠标本可见肝小叶内点状炎细胞浸润灶或肝脏汇管区内点状炎细胞浸润灶(见图 1B、图 1C),但所见病

变程度轻,发生率低,且高剂量组的病变程度和发生率与溶剂对照组比较未见加重,属于大鼠自发病变,未见高剂量组大鼠出现毒性相关的特异性病理改变。



注:A.溶剂对照组大鼠正常肝组织切片;B.高剂量组大鼠肝小叶内点状炎细胞浸润;C.溶剂对照组大鼠肝脏汇管区点状炎细胞浸润。

图 1 大鼠肝组织病理切片镜下观察(HE,200 \times)

3 结论

本次试验条件下,复方翅果油急性经口毒性试验结果表明,其对雄、雌小鼠的MTD均大于20g/kg,根据急性毒性分级标准,属于无毒级物质;遗传毒性试验阶段,复方翅果油在体外、体内两个试验系统中,对鼠伤寒沙门氏菌TA97、TA98、TA100、TA102无诱变阳性,未见致小鼠骨髓嗜多染红细胞微核作用,也未观察到致小鼠精子畸变作用,表明其

对原核细胞、哺乳动物的体细胞与生殖细胞均未呈现遗传毒性作用;亚急性毒性试验显示,复方翅果油各剂量组大鼠在试验期间一般表现良好,体重及食物利用率等各项指标正常,血常规及血生化各指标均在实验室正常范围内,大鼠大体解剖与病理组织学检查均未显示特异性的病理改变。初步认定复方翅果油无明显毒副作用,可安全应用于食品及保健食品。

(下转第 101 页)

脱除后天然维生素 E 油中 PAH4 含量为 7.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (苯并(a)芘含量为 1.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$),符合欧盟标准 EU 1881-2006 中 PAH4 含量小于或等于 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$,苯并(a)芘含量小于或等于 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的要求,与正交实验所得最优脱除率 97.79% 的相对误差为 2.56%,且实验重复性良好,证明了连续脱除工艺具有可行性。

2.3 PAH4 脱除过程对维生素 E 含量的影响

对优化工艺条件下脱除 PAH4 前后的天然维生素 E 油样品进行维生素 E 含量分析,考察 PAH4 脱除过程中活性炭对天然维生素 E 含量的影响,结果见表 5。

表 5 PAH4 脱除过程对维生素 E 含量的影响 %

天然维生素 E 油	PAH4 脱除前	PAH4 脱除后
样品 1	50.62	49.55
样品 2	50.89	49.62
样品 3	50.41	49.41

由表 5 可知,PAH4 脱除前后维生素 E 含量未发生明显变化,表明活性炭虽然对维生素 E 有一定吸附作用,但在可接受范围内。

3 结论

本文建立了一种连续脱除天然维生素 E 油中 PAH4 的方法,并对关键条件进行了优化,最终建立一套连续脱除工艺:用 3 倍体积的 95% 乙醇将天然维生素 E 油充分溶解后,在保持体系温度 40 $^{\circ}\text{C}$ 条件

下,通过装填颗粒活性炭的固定床,并保证 4 h 的吸附时间对 PAH4 进行吸附,之后收集流出液,蒸发除去乙醇后,得到低 PAH4 含量的天然维生素 E 油产品。该方法可以在不影响维生素 E 含量的前提下脱除天然维生素 E 油中微量的 PAH4,使其残留量符合欧盟标准要求,提高产品附加值和市场竞争力。

参考文献:

- [1] 董新艳,任其龙,杨亦文,等.天然生育酚中痕量多环芳烃脱除工艺的研究[J].中国油脂,2008,33(1):43-46.
- [2] 崔凤杰,王宏媛,陈志蔚,等.脱臭馏出物提取天然生育酚研究进展[J].粮食与油脂,2012(7):9-11.
- [3] 曹国锋,龚任,刘红天.脱臭馏出物中天然维生素 E 提取[J].粮食与油脂,2001(5):42-43.
- [4] 伍林,王艳,秦晓蓉,等.多环芳烃脱除方法及其在维生素 E 油中的应用[J].中国油脂,2005,30(11):51-53.
- [5] 张莉华,俞益,孙晓霞.天然维生素 E 中 PAHs 脱除工艺初探[J].中国食品添加剂,2009(3):91-94.
- [6] 曹佳鑫.天然生育酚中痕量多环芳烃分析方法及脱除方法的研究[D].杭州:浙江大学,2015.
- [7] 刘玉兰,石龙凯,刘畅.吸附法脱除油脂中多环芳烃的效果研究[J].中国油脂,2015,40(9):70-76.
- [8] 薛鸿斌.多环芳烃在颗粒活性炭上的吸附脱附研究[D].南京:南京信息工程大学,2011.
- [9] 邓东丰,张新.活性炭固定床吸附分离多环芳烃研究[J].环境科学导刊,2019(6):63-65.
- [5] 郭彩霞,韩丽,乔进平.翅果油对高脂饮食小鼠的降脂减肥作用[J].食品工业科技,2020,41(5):293-298.
- [6] 王晓敏.翅果油亚微乳的制备及其抗疲劳活性研究[J].食品研究与开发,2018,39(8):159-165.
- [7] 陈雨娜.翅果油对小鼠抗氧化能力及脂质代谢的影响[J].中国油脂,2017,42(6):77-80.
- [8] 权洪峰,杨婷,彭晓东.翅果油树种子 CO_2 超临界萃取物抗炎及神经保护活性初步研究[J].宁夏医学杂志,2017,39(11):980-982.
- [9] 中华人民共和国卫生部.可用于食品的菌种(卫办监督发[2010]65号)名单.批准翅果油和 β -羟基- β -甲基丁酸钙为新资源食品的公告[J].食品与发酵工业,2011,37(1):93.

(上接第 97 页)

参考文献:

- [1] 庞晓慧,张华新,刘涛.我国特有珍稀植物翅果油树开发利用的探讨[J].林业资源管理,2006(3):58-60,67.
- [2] 杜俊民,侯相林,齐永琴,等.翅果种子油的脂肪酸组成和理化性质研究[J].中成药,2005,27(9):1070-1071.
- [3] 安媛,石阶平,闫文杰.翅果油植物甾醇的提取分离与结构分析[J].中国食品学报,2006,6(1):235-237.
- [4] 张直峰.翅果油树不同部位总黄酮含量及抗氧化活性比较研究[C]//中华中医药学会.第二届中草药提取关键技术与提取物产业应用研讨会论文集.福建 厦门:中华中医药学会,2009:137-141.