

文章编号:1673-1689(2006)04-0011-05

含二十八烷醇油胶囊安全性毒理学评价

钟耕^{1,2}, 魏益民², 史昌欧³, 张伟敏¹, 李浩南¹

(1. 西南大学 食品科学学院, 重庆 400716; 2. 中国农业科学院 农产品加工研究所, 北京 100094;
3. 重庆天谷生物科技有限公司, 重庆 400011)

摘要: 油胶囊的主要成分为二十八烷醇、VE 和亚油酸, 作者对其安全性毒理学进行评价。结果表明: 油胶囊对 SD 大鼠、昆明小鼠的急性经口 LD₅₀ 均大于 10 g/(kg · bw), 判属实际无毒类; Ames 试验、小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验和小鼠精子畸形试验等 3 项遗传毒性试验均为阴性, 表明该受试物无致突变作用; 在大鼠 30 d 喂养试验中未见动物健康状况、生化、血液学指标和器官组织形态的异常变化, 据此初步估计该产品的最大无作用剂量大于 2.5 g/(kg · bw) (人体推荐摄入量的 150 倍)。

关键词: 二十八烷醇; 油胶囊; 安全性毒理学; 评价

中图分类号: R 99

文献标识码: A

Safety and Toxicology Assessment of Cereal Germ Oil Capsule Containing Octacosanol

ZHONG Geng^{1,2}, WEI Yi-min², SHI Chang-ou³, ZHANG Wei-min¹, LI Hao-nan¹

(1. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400716, China; 2. Institute of Agricultural Products Processing Technology, Chinese Academy of Agriculture Science, Beijing 100094, China; 3. Tiangu Biological Science & Technology Limited Company, Chongqing 400011, China)

Abstract: The main components of cereal germ oil capsule were octacosanol, tocopherols and linoleic acid. The safety and toxicology of cereal germ oil capsule was assessed in this paper. The results showed that the oil capsule was nonpoisonous in reality with oral LD₅₀ > 10 g/(kg · bw) to SD rats and kunming mice. The results of Ames test, mice bone marrow micronucleus test and mice sperm malformation test are of negative active, which means no inducing effect of pathological changes and mutation. After 30 days feeding experiment to SD rats, there were no abnormal changes in the terms of health status, biological chemical indexes, hematology indexes, as well as organ and tissue morphology. The no-observed-adverse-effect level of the product is bigger than 2.5 g/(kg · bw) (150 times of recommended to human being).

Key words: octacosanol; cereal germ oil capsule; safety; toxicology; assessment

二十八烷醇是一种天然存在的一元高级醇, 是世界公认的抗疲劳物质^[1], 广泛存在于诸多植物的蜡质、脂质中, 具有实际开发意义的原料有蜂蜡、蔗

蜡和米糠蜡等。二十八烷醇在食品中主要是应用于功能性食品, 尤其在日本和美国普遍使用^[2]。近年来, 国内有关二十八烷醇的提取、分析研究报道

收稿日期: 2005-09-10; 修回日期: 2005-12-03.

作者简介: 钟耕 (1964-), 男, 四川叙永人, 工学博士, 教授。

很多,但基于安全等原因,以其作为保健食品基料的应用产品并未见报道^[3]。出于安全性等因素的考虑,日、美等国主要是使用含 12%二十八烷醇的原料。国内从蜂蜡和米糠蜡中可提取含量达 90%以上的二十八烷醇。作者在国内首次将高纯度(90%)二十八烷醇用于保健食品的生产,产品是由谷物胚芽油脂、二十八烷醇和天然 VE 组成的软胶囊,并通过了国家食品药品监督管理局(SFDA)认定检测机构的检测,现将其安全性毒理学试验结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 样品

含二十八烷醇油胶囊(批号 030802),样品性状为黄色透明油状物,成人建议剂量为每日 0.5 g×2。实验鼠灌胃所用的样品为金龙牌食用调和油配制稀释,Ames 实验所用的样品用二甲亚砷配制和稀释。

1.2 实验动物及饲养

昆明种小鼠和 SD 种大鼠均由四川大学实验动物中心提供(合格证号:川实动管质第 67 号和第 70 号)。实验前检疫一周,在整个实验过程中,动物自由摄食和饮水,动物房温度 21~23 ℃,相对湿度 65%~75%。

1.3 主要仪器与试剂

超净生物工作台,恒温孵箱,OLYMPUS 显微镜等。叠氮化钠(NaN₃),1,8-二羟基蒽醌(Dan),2,4,7-三硝基-9-芴酮(TNF)和 2-氨基芴(2-AF)为 Fluka 公司产品;丝裂霉素 C(MMC)和环磷酰胺购自江苏恒瑞医药有限公司。

1.4 急性毒性试验

昆明种小鼠(体重 18~22 g)和 SD 大鼠(体重 180~220 g)各 20 只,雌雄各半。大小鼠均设 10 g/(kg·bw)一个剂量组,按 1 mL/(100 g·bw)于动物空腹状态下经口灌胃,灌胃后观察两周内动物死亡数及一般健康状况,求出 LD₅₀,判定毒性分级。

1.5 遗传毒性试验

1.5.1 Ames 试验 采用经鉴定符合要求的 TA97,TA98,TA100,TA102 菌株,进行加与不加大鼠肝 S9 的标准平皿掺入法试验。样品用 DMSO 配制和稀释,设 5 个油胶囊剂量:6.25,12.5,20,50,100 μg/皿,同时设自发对照组、溶剂 DMSO (100 μL DMSO/皿)对照和阳性对照。不加 S9 试验的阳性对照为 0.2 μg/皿的 2,4,7-三硝基-9 芴酮(TA97、TA98)、0.5 μg/皿的叠氮化钠(TA100),

0.5 μg/皿的丝裂霉素 C(TA102);加 S9 试验的阳性对照为 10 μg/皿的 2-氨基芴(TA97、TA98、TA100)和 50 μg/皿的 1,8-二羟基蒽醌(TA102)。每个试验剂量作 3 个平行皿,重复试验一次。

1.5.2 小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验 昆明种小鼠(体重 25~30 g)随机分为 5 组,每组 10 只,雌雄各半。一个调和油对照组、一个阳性对照组(环磷酰胺 40 mg/(kg·bw))(分别相当于人体推荐剂量的 30 倍、70 倍和 150 倍)。受试动物分别于第 0 小时和第 24 小时按 0.5 mL/(100 g·bw)经口灌胃,第 30 小时处死小鼠,按推荐程序制片,油镜下观察每只动物 1 000 个嗜多染红细胞(PCE),记录带微核的细胞数,计算微核率(%)。

1.5.3 小鼠精子畸形试验 昆明种雄性小鼠(体重 25~30 g)随机分为 5 组,每组 5 只。试验设一个调和油对照组,一个阳性对照组(环磷酰胺 40 mg/(kg·bw)) 和 3 个油胶囊剂量组,即 0.5,1.17,2.5 g/(kg·bw)(分别相当于人体推荐剂量的 30 倍、70 倍和 150 倍)。每日按 0.5 mL/(100 g·bw)经口灌胃动物,连续 5 d。于首次灌胃后第 35 天处死动物,取双侧附睾,按标准程序制片,每只动物观察 1 000 个完整精子,记录各类畸形精子数。

1.6 大鼠 30 d 喂养试验

断乳 SD 大鼠适应性喂养一周后,按体重随机分为 4 组,每组 20 只,雌雄各半。试验设一个调和油对照组和 3 个受试物剂量组,即 0.5,1.17,2.5 g/(kg·bw)(分别相当于人体推荐剂量的 30 倍、70 倍和 150 倍)。按 0.5 mL/(100 g·bw)经口灌胃,连续 30 d。每周称一次动物体重、两次给食量和剩食量,并计算摄食量,连续饲养 30 d 后处死动物,进行血液学、血清生化学及组织病理学检查和脏器系数测定,分别按周增重及周摄食量计算周食物利用率(%),同时计算食物总利用率(%).

1.7 试验数据统计

采用各试验组与对照组均数比较的方差分析对数据进行处理。

2 结果与讨论

2.1 急性毒性试验

油胶囊 10 g/(kg·bw)剂量一次经口染毒后,两周内未见动物死亡,亦无明显的中毒症状或不良反应,结果见表 1。即本品对雌、雄性昆明种小鼠和 SD 大鼠的急性经口 LD₅₀ 均大于 10 g/(kg·bw),属实际无毒类。

2.2 遗传毒性试验

2.2.1 Ames 试验 从表 2,3 可见,无论加与不加 S9 的试验,自发对照组的每皿平均回变菌落数均在正常值范围内,而阳性对照组诱发的每皿平均回变

菌落数均为自发对照组两倍以上,呈明显阳性反应。油胶囊各剂量组的平均回变菌落数均未超过自发对照组的一倍,呈阴性反应。即含有二十八烷醇的油胶囊无诱导试验菌株回复突变的作用。

表 1 油胶囊对大、小鼠的经口急性毒性

Tab.1 Acute toxicity of oil capsule on rat and mice

动物品系	性别	动物数/只	剂量/(g/(kg·bw))	死亡动物数/只	LD ₅₀ /(g/(kg·bw))	结论
昆明种小鼠	雄	10	10	0	>10	实际无毒
	雌	10	10	0	>10	实际无毒
SD 大鼠	雄	10	10	0	>10	实际无毒
	雌	10	10	0	>10	实际无毒

表 2 油胶囊 Ames 试验结果(第一次)

Tab.2 Results of Ames test of oil capsule(first)

化合物	剂量/ (μL/皿)	S9	每皿回变菌落数(个/皿)			
			TA97	TA98	TA100	TA102
自发对照		—	127.0±15.7	34.3±4.2	159.7±14.0	263.0±11.1
二甲亚砷		—	137.0±18.7	36.7±5.0	168.3±10.2	265.3±17.0
油胶囊	6.25	—	141.3±13.0	36.7±3.1	175.3±12.6	276.0±14.0
	12.5	—	150.3±14.6	41.7±7.6	184.3±20.5	283.0±16.1
	25.0	—	159.0±16.6	38.7±6.8	190.7±16.7	294.7±18.6
	50.0	—	172.0±17.3	41.7±4.7	171.0±15.5	301.3±19.6
	100	—	181.3±16.6	42.3±4.7	200.7±16.0	311.7±16.1
阳性对照		—	1480.0±80.0	1863.3±83.3	1333.3±73.7	1493.3±120.1
自发对照		+	142.7±15.5	38.0±3.0	171.7±11.5	268.3±13.3
二甲亚砷		+	151.0±11.5	36.7±4.7	181.0±12.1	278.3±13.8
油胶囊	6.25	+	167.0±10.5	36.7±5.0	178.3±13.1	288.3±13.8
	12.5	+	178.0±15.1	41.3±6.1	189.7±15.5	299.3±15.7
	25.0	+	187.7±11.6	44.7±10.4	195.3±14.0	308.3±15.0
	50.0	+	195.0±13.2	43.7±5.9	200.3±13.3	302.0±12.1
	100	+	202.0±17.1	44.0±6.0	214.3±11.6	314.7±22.5
阳性对照		+	1423.3±92.9	1920.0±75.5	1383.3±75.7	943.3±66.6

表 3 油胶囊 Ames 试验结果(第二次)

Tab.3 Results of Ames test of oil capule(second)

化合物	剂量/ (μL/皿)	S9	每皿回变菌落数(个/皿)			
			TA97	TA98	TA100	TA102
自发对照		—	135.3±13.6	35.7±4.5	162.0±11.1	270.0±18.7
二甲亚砷		—	132.3±14.2	36.0±6.2	163.7±15.6	279.0±16.6
油胶囊	6.25	—	143.3±11.9	37.0±5.6	173.3±15.8	291.0±19.7
	12.5	—	140.3±13.0	41.3±4.2	176.0±21.6	304.7±16.7
	25.0	—	155.3±17.9	42.3±7.4	187.3±20.5	315.7±18.0
	50.0	—	169.3±11.6	44.3±6.7	196.7±20.2	306.3±17.8
	100	—	181.7±13.1	46.7±7.5	203.7±11.9	326.7±17.2
阳性对照	—		1516.7±90.7	1876.7±123.4	1323.3±92.9	1546.7±97.1
自发对照		+	163.0±11.0	39.0±5.6	173.3±11.4	276.3±12.7
二甲亚砷		+	167.7±14.6	41.0±4.0	178.3±14.5	2281.7±14.0
油胶囊	6.25	+	171.7±11.9	41.0±4.4	189.0±11.0	282.3±14.2
	12.5	+	175.3±17.9	44.3±7.5	202.7±16.2	294.3±16.3
	25.0	+	182.0±13.7	43.3±4.2	192.3±14.0	301.3±14.7
	50.0	+	192.7±9.5	47.0±5.6	213.0±10.8	310.7±12.5
	100	+	203.7±17.1	48.7±5.5	228.7±12.7	319.7±19.9
阳性对照		+	1356.7±96.1	1860.0±87.2	1366.7±85.0	926.7±64.3

2.2.2 小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验 阳性对照组雌、雄动物的微核率均显著高于调和油对照组 ($P<0.01$),油胶囊各组的微核率与调和油对照组比较均无显著差异 ($P>0.05$),结果见表 4。表明油胶囊在小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验中的结果为阴性。

表 4 油胶囊对小鼠骨髓嗜多染红细胞微核发生率的影响
Tab.4 Effect of oil capsule on mice bone marrow micronucleus rates

性别	剂 量/ (g/(kg·bw))	动物数/只	观察细胞数/个	微核细胞数/个	微核率/%	PCE/RBC
雄	0	5	1000×5	13	2.6±1.14	1.35±0.21
	0.5	5	1000×5	12	2.4±1.34	1.30±0.21
	1.17	5	1000×5	12	2.4±2.07	1.31±0.16
	2.5	5	1000×5	11	2.2±1.10	1.42±0.37
	环磷酰胺	5	1000×5	126	25.2±4.66*	1.44±0.37
雌	0	5	1000×5	14	2.8±1.64	1.36±0.25
	0.5	5	1000×5	14	2.8±1.29	1.43±0.22
	1.17	5	1000×5	13	2.6±0.89	1.47±0.35
	2.5	5	1000×5	14	2.8±1.30	1.31±0.26
	环磷酰胺	5	1000×5	123	24.6±6.65*	1.29±0.20

注: * 与调和油对照比较 $P<0.01$.

表 5 油胶囊小鼠精子畸形试验结果
Tab.5 Result of mice sperm malformation test by oil capsule

组别	剂 量/(g/(kg·bw))	动物数/只	观察精子数/个	畸形精子数/个	精子畸形率/%
调和油对照	0	5	1000×5	58	1.16±0.15
油胶囊	0.5	5	1000×5	63	1.26±0.25
	1.17	5	1000×5	51	1.02±0.39
	2.5	5	1000×5	57	1.14±0.29
环磷酰胺	0.04	5	1000×5	346	6.92±1.16*

注: 与调和油对照比较 *, $P<0.01$

2.3 大鼠 30 d 喂养试验

调和油和油胶囊 3 个剂量组动物在 30 d 喂养期间,摄食、饮水、大小便正常,生长发育情况和一般表现良好,未观察到明显异常、行为改变和中毒症状。

对体重和食物利用率的影响进行研究,各实验组在整个试验期间的体重和食物利用率结果表明,油胶囊各剂量组的动物周摄食量、周增重量、周食物利用率与调和油对照组比较均无显著性差异 ($P>0.05$)。表明该油胶囊对机体生长无不良影响。

万方数据

2.2.3 小鼠精子畸形试验 由表 5 可见,阳性对照组的精子畸形率显著高于调和油对照组 ($P<0.01$),油胶囊各剂量组的精子畸形率与调和油对照组相比均无显著性差异 ($P>0.05$)。说明含二十八烷醇的油胶囊在小鼠精子畸形试验中为阴性。

脏器系数测定显示,油胶囊各剂量组的重要脏器系数(脏器湿重/体重×1000)与调和油对照组比较均无显著性差异 ($P>0.05$)。

试验末期的常规血液学指标(红细胞、血红蛋白、白细胞及分类)测定结果说明,油胶囊各剂量组雌、雄鼠的测定指标与空白对照组比较均无显著性差异 ($P>0.05$)。

末期生化指标检验见表 6,油胶囊各剂量组雌、雄动物的所有测定指标与空白对照组均无显著性差异 ($P>0.05$)。

表 6 油胶囊对大鼠血清生化指标的影响
Tab. 6 Effect of oil capsule on rat serum biomarkers index

性别	剂量/ (g/(kg·bw))	ALT 酶活/ (U/L)	AST 酶活/ (U/L)	TP 质量 浓度/ (g/L)	ALB 质量 浓度/ (g/L)	BUN 浓度/ (mmol/L)	CR 浓度/ (mmol/L)	GLU 浓度/ (mmol/L)	CHO 浓度/ (mmol/L)	TG 浓度/ (mmol/L)
雄	0	44.2± 11.4	165.2± 9.2	69.0± 3.6	29.6± 3.2	6.4± 0.8	74.5± 10.4	3.41± 0.38	1.70± 0.26	1.07± 0.25
	0.5	41.3± 7.3	147.6± 23.4	71.3± 5.9	30.8± 1.5	6.0± 1.0	77.3± 7.78	3.90± 0.79	1.79± 0.23	1.19± 0.48
	1.17	44.6± 11.5	163.1± 12.2	69.8± 3.1	30.0± 2.4	6.3± 1.1	74.1± 5.03	3.30± 0.52	1.56± 0.30	1.15± 0.43
	2.5	49.5± 12.9	156.4± 20.2	71.8± 5.3	29.4± 3.4	6.0± 1.3	71.2± 7.20	3.52± 0.82	1.86± 0.37	1.07± 0.28
雌	0	37.3± 6.5	154.0± 15.4	73.0± 3.8	33.0± 1.4	6.0± 1.6	71.9± 4.8	4.58± 1.46	2.60± 0.36	1.45± 0.72
	0.5	37.3± 5.3	140.5± 16.2	73.4± 4.4	32.2± 1.5	6.9± 1.8	70.9± 6.4	4.63± 0.84	2.29± 0.47	1.18± 0.50
	1.17	38.6± 7.5	158.3± 12.6	73.7± 4.6	33.0± 1.1	6.5± 1.3	72.6± 3.0	4.1± 30.67	2.12± 0.44	1.08± 0.46
	2.5	40.8± 7.5	160.6± 17.9	72.3± 5.5	32.5± 2.2	6.4± 1.4	68.3± 6.7	3.75± 0.88	2.16± 0.40	1.52± 0.44

注:ALT 是谷丙转氨酶,AST 是谷草转氨酶,TP 为总蛋白质,ALB 为白蛋白,BUN 为尿素氮,CR 为肌酐,GLU 为血糖,CHO 为胆固醇,TG 为甘油三脂。剂量“0”为调和油对照。

试验结束时,大体检查各剂量组动物,未发现明显病变,因此仅对样品高剂量组和调和油对照组的肝、肾、脾脏、胃肠、睾丸和卵巢等进行组织病理学检查。结果表明,除调和油对照组 1 例动物出现脾淤血,其余未见异常,故可认为所观察到的异常变化属动物的自发病变,受试油胶囊高剂量组亦未引起实验动物中毒性损伤改变。

以上各项生物学指标的检查结果表明,在大鼠 30 d 喂养试验(最高剂量为人体推荐摄入量的 150 倍)中,油胶囊未引起大鼠的整体健康状况、生理生化功能和器官组织形态学等各项重要指标的异常变化,据此初步估计该产品的最大无作用剂量大于 2.5 g/(kg·bw)(是人体推荐摄入量的 150 倍)。

3 小 结

二十八烷醇具有特殊的生物活性,其可应用领

域包括功能性食品、化妆品、医药、饲料等,国内保健制品(食品和化妆品)还没有将二十八烷醇正式应用,安全性是其中的关键因素。而二十八烷醇的应用对粮食加工、蔗糖产业和蜂产业的副产物增值有重要而积极的作用,可推动这些产业的健康发展。动物试验表明,含高纯度二十八烷醇的油胶囊对大鼠、小鼠的急性经口 LD₅₀ 均大于 10 g/(kg·bw),判属实际无毒类。Ames 试验、小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验和小鼠精子畸形试验等 3 项遗传毒性试验均为阴性,表明该受试物无致突变作用。在大鼠 30 d 喂养试验中未见动物健康状况、生化、血液学指标和器官组织形态的异常变化,据此初步估计该产品的最大无作用剂量大于 2.5 g/(kg·bw)(人体推荐摄入量的 150 倍)。本研究通过了 SFDA 认定保健食品检验机构的检测,为二十八烷醇在国内的安全应用提供了依据。

参考文献:

[1] Cureton T K. The Physiological effects of wheat germ oil on humans[M]. Illinois: Charles C Thomas, 1972. 296.
[2] 姚惠源. 稻米深加工[M]. 北京:化学工业出版社,2004.
[3] 凌关庭. 保健食品原料手册[M]. 北京:化学工业出版社,2002.

(责任编辑:李春丽)