

杂色曲霉产毒培养物的诱变性研究*

廖兴广 张秀丽 王爱月 河南省卫生防疫站 (450003)

摘要 杂色曲霉产毒培养物提取液的 Ames 试验结果显示,4 株杂色曲霉产毒培养物提取液,在不加和加 S-9 活化两种条件下,其中 2 株产毒培养物提取液对鼠伤寒沙门氏菌组氨酸营养缺陷型菌株 TA98 和 TA100 显示致诱变性,各剂量组回变菌落数为阴性对照的 2~14.2 倍,且剂量与效应呈正相关(TA98 $r=0.883\sim 0.998$,TA100 $r=0.973\sim 1.0$)。在加入 S-9 活化条件下,各剂量组回变菌落数是 -S9 时的 1.4~2.9 倍。说明杂色曲霉产毒培养物经微粒体酶代谢系统活化后,毒性作用增强。

关键词 曲霉菌属 真菌毒素类 诱变力试验

杂色曲霉广泛分布于大米、小麦、饲料中,易于在干燥的物品上寄生。⁽¹⁾杂色曲霉的某些菌系在条件适合的情况下,可产生有毒代谢产物。本文以 Ames 试验研究了杂色曲霉产毒代谢物的诱变作用。

1 材料与方 法

杂色曲霉菌菌株 4 株 从河南林县小麦试样中分离并保存。

鼠伤寒沙门氏菌组氨酸营养缺陷型 TA97、TA98、TA100、TA102 菌株 由中国预防医学科学院环监所提供,经鉴定其遗传学特性和自发回复突变率均符合 Ames 试验标准要求。

大鼠肝 S-9 购自中国预防医学科学院环监所。

产毒培养及提取液的制备

产毒培养基的配制 黄玉米粒 50 g,黄豆粉 1.0 g,水 50 mL,加入 500 mL 磨口三角瓶中,瓶口处加塞一厚纸条(以便通气),121℃ 灭菌 30 min,备用。

产毒培养 用无菌水将分纯的杂色曲霉菌株新鲜培养物洗下,制成孢子悬液,取 1 mL 加至产毒培养基中,混匀,于 28℃ 静止培养 35 d。

产毒培养物提取液的制备 培养结束后,取全部培养物,参照文献方法⁽²⁾进行提取。浓缩至干后,用 5 mL 丙酮:二甲基亚砷:NaCl(1.5 mol/L)按 3:2:5 比例的混合液进行溶解,作为 Ames 试验受试液。

基质对照 取未接种的灭菌产毒培养基,按提取液制备方法制备。

Ames 试验 采用平板掺入法。⁽³⁾受试物:4 株产毒培养物粗提取液均设 3 个剂量组,分别为 1 250、2 500、5 000 $\mu\text{g}/\text{皿}$;基质对照:剂量为 5 000 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 。阴性对照:以 3:2:5 比例的丙酮:二甲基亚砷:NaCl(1.5 mol/L)混合液,剂量为 5 000 $\mu\text{g}/\text{皿}$;阳性对照:在 -S9 时,TA97、TA98 为 2,4,7-TNFone 0.2 $\mu\text{g}/\text{皿}$,TA100、TA102 为 MMS 1 $\mu\text{L}/\text{皿}$,加 S-9 时,均为 2AF 20 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 。

2 结果 各组受试物在加或 -S9 条件下 Ames 试验结果,见表(表内结果系 3 块平行板回变菌落数均值)。

3 讨论

3.1 杂色曲霉产毒培养物的诱变性 由表中数据可知,1 号、3 号杂色曲霉产毒培养物提取液组,在加或 -S9 活化条件下,各剂量组回变菌落数与阴性对照组每皿回变菌落数之比在 2~14.2 之间,其作用大小与每皿中提取液的含量成正相关(TA98 $r=0.883\sim 0.998$,TA100 $r=0.973\sim 1.0$)。在加 S-9 活化条件下,各剂

* 河南省医药卫生重点项目:“河南省粮食中伏马菌素、烟曲霉震颤素和杂色曲霉素污染状况研究”内容之一

表 各试验组对测试菌株的回复突变菌落数

受试物	剂量 μg/皿	TA97		TA98		TA100		TA102	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
1号	1250	130	141	108	310	311	621	275	272
	2500	136	147	296	495	569	820	286	265
	5000	126	135	326	621	857	1420	277	269
2号	1250	114	137	36	38	127	136	286	289
	2500	117	142	42	36	124	134	279	280
	5000	126	130	45	49	124	140	280	265
3号	1250	98	113	98	205	456	724	265	271
	2500	105	120	270	396	742	1120	263	262
	5000	101	116	510	905	1230	1980	270	273
4号	1250	123	135	37	35	125	136	251	257
	2500	120	126	39	40	123	134	253	253
	5000	124	137	40	42	128	131	256	254
基质对照		96	101	39	42	137	156	260	268
阴性对照		103	137	43	45	148	160	276	298
阳性对照		>2000	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000

注:1号、2号、3号、4号为杂色曲霉产毒培养物提取液组。

量组对 TA98、TA100 每皿回变菌落数为 -S9 时每皿回变菌落数的 1.4~2.9 倍。说明杂色曲霉产毒培养物不仅对鼠伤寒沙门氏菌组氨酸营养缺陷型 TA98 和 TA100 有诱变作用,而且这种作用可以通过 S-9 活化而增强。

3.2 杂色曲霉素的毒性 杂色曲霉可产生有毒代谢产物,主要是杂色曲霉素(ST)。该毒素在化学结构上与黄曲霉毒素很相似,二者均具有二呋喃甲氧苯环,故有人认为这两种霉菌毒素在其生物合成上可能来自共同的中间产物。⁽⁴⁾Purchase 等⁽⁵⁾每日以 0.15~2.25 mg ST 喂大鼠,第 42 周后,有 39/50 的动物发生原发性肝癌,其致癌性与黄曲霉毒素有相似之处。Van Der Watt⁽⁶⁾用¹⁴C 标记研究证明,ST 经动物体内酶系统代谢后可转变为黄曲霉毒素 B₁,导致其毒性作用增强。本次试验结果也表明,ST 在体外微粒体酶系统存在条件下,致突变作用增强。因此,人体在经常摄入被杂色曲霉毒素污染的食品时,患病的危险性增高。

3.3 杂色曲霉产毒培养物的诱变类型 在 4 株鼠伤寒沙门氏菌突变型菌株中,TA97 和 TA98 可检测各种移码诱变剂,TA100 可检测引起碱基置换的诱变剂,TA102 检测其它测试菌株不能检出或极少检出的某些诱变剂。⁽⁵⁾在被检测的杂色曲霉产毒培养物中,1 号、3 号组对 TA98、TA100 产生诱变作用,说明杂色曲霉产毒培养物中含有引起 DNA 碱基移码和碱基置换的诱变物质。

4 参考文献

- 1 孟昭赫,等译.真菌毒素图解.北京:人民卫生出版社,1983,46~47
- 2 孟昭赫,等主编.真菌毒素研究进展.北京:人民卫生出版社,1979,175~179
- 3 中华人民共和国卫生部.鼠伤寒沙门氏菌/哺乳动物微粒体酶试验.GB 15193.4-94.1994-08-10
- 4 Eomoto, M, et al. Ann Rev of Microbial, 1972, 26: 279
- 5 Purchase, I F H, et al. Food and Cosmet. Toxicol, 1970, 8: 289
- 6 Van Der Watt, J J. Microbial toxins. Academic Press, London 1974, 13: 345

Mutagenic Study on *Aspergillus versicolor* Toxigenic Cultures/liao Xingguang Zhang Xiuli (Wang Aiyue//Chinese Journal of Food Hygiene. - 1999, 11(4): 7~9

The mutagenicity of the toxigenic culture extracts of 4 strains of *A. versicolor* were detected by Ames test. The

results showed that two extracts could result reverse mutation of the Salmonella typhimurium TA98 and TA100 with histidine nutrition deficiency with S-9 influx or without. The colony formig units from reverse mutation for all dose groups in each plate exceeded the gegative control group's by 2~14.2 times, and the dose effect positive (TA98 $r = 0.883 - 0.998$, TA100 $r = 0.973 - 1.0$). The reverse mutation colony forming units for each dose group S-9 influx were 1.4~2.9 times as many as those without S-9. With results showed the toxicity of the toxigenic culture extracts od A. versicolor strains was increased by adding mammals microsomal enzyme system.

Author's address Liao Xingguang, eslth and Anti - epidemistitionof Henan Province, 450003 PRC

Key words Aspergillus Mycotoxins Mutagenicity Tests

外经贸部、卫生部、海关总署、国家环境保护总局、 国家出入境检验检疫局、国家国内贸易局、国家工商行政管理局 关于暂停进口和禁止经销 比利时等国受二恶英(Dioxin)污染食品的紧急通告

自 1999 年 1 月 15 日以来,比利时、荷兰、法国、德国相继发生因动物饲料被二恶英污染,导致畜禽类产品及乳制品含高浓度二恶英事件。二恶英不但可引起严重的皮肤病,甚至可致癌和伤及胎儿,被国际癌症研究中心列为人类一级致癌物,其化学性质非常稳定,可通过食物进入人体,不被降解和排出,对人类的身体健康和生命安全构成严重威胁。欧盟委员会已通过一项行动计划,要求比利时销毁所有受到污染的鸡肉、鸡蛋和其它受污染的食品。许多国家都已采取禁止进口这类受污染食品的措施。

为保障人民的身体健康和生命安全,根据《中华人民共和国对外贸易法》第十七条、《中华人民共和国食品卫生法》第九条等我国有关法律规定,现通告如下:

一、自通告之日起,暂停自比利时、荷兰、法国、德国进口动物(指牛、猪、禽、兔、鱼,下同)、动物饲料、肉、禽、蛋类、乳及乳制品等可食用性动物产品和以此为原料的食品。

二、禁止邮寄或旅客携带来自上述四国的上述受污染食品进境,一经发现,即行销毁。

三、已从上述四国进口的上述动物和动物食品一律封存,暂停销售。经检验合格后方可使用。

四、经检验查明属受二恶英污染的食品,有关部门应按环保标准和要求立即采取销毁措施。

五、本通告执行中有何问题,请立即上报。

特此通告。

外经贸部 卫生部 海关总署 国家环境保护总局
国家出入境检验检疫局 国家国内贸易局 国家工商行政管理局
一九九九年六月十一日