

保健食品原料安全评价技术与标准的研究简介

徐海滨 严卫星

(中国疾控中心营养与食品安全所,北京 100021)

摘要: 为了保障消费者身体健康,促进保健食品产业发展,“保健食品原料安全评价技术与标准的研究”被列入“十五”国家科技部攻关计划。该计划丰富和逐步完善我国保健食品安全的检测技术和评价技术,主要研究保健食品原料成分安全性快速筛检技术;芦荟、五味子、决明子、泽泻等代表性原料成分的作用特点和作用剂量谱研究,19种原料成分的快速筛选评价,螺旋藻类保健食品原料、产品中微囊藻毒素的污染现状调查。通过课题研究,初步建立了以动物急性毒性试验和成组体外试验为基础的“保健食品原料成分的安全性评价快速筛选方法”;提出的《保健食品安全性毒理学评价程序和检验方法》已经作为卫生部规范性技术文件颁布实施,本研究结果对比较全面的认识部分保健食品原料的安全性,为政府和企业合理运用及科学管理提供科学依据。

关键词: 食品;评价研究;参考标准;中草药

Studies on the techniques for safety assessment and standards of raw materials for health foods

Xu Haibin, Yan Weixing

(National Institute for Nutrition and Food Safety, Chinese CDC, Beijing 100021, China)

Abstract: In order to protect the health of consumers and promote the development of health food industry, the project of “Studies on the techniques for safety assessment and standards of raw materials for health foods” has been listed in the 10th Five Years Plan of National Science and Technology Program. Testing and evaluation techniques that will be established or refined in the project are most important for assuring the safety of health foods. The project included studies of methods for fast screening techniques for safety assessment of raw materials of health foods, studies on the action and dose of representative raw materials, studies on 19 kinds of raw materials using the fast screening technique and the investigation of the concentration of microcystin in raw materials and final products of spirilla health foods. The fast screening techniques for safety assessment of raw materials of health foods were established in the project. The “Technical Standards for Testing and Assessment of Safety of Health Foods” has been issued by the Ministry of Health as the technical criteria in China. The study provided scientific basis for policy-makers in government departments and food enterprises.

Key Words: Food; Evaluation Studies; Reference Standards; Drugs, Chinese Herbal

随着经济的发展,人们保健意识的提高,我国人民的膳食结构和食品消费观念发生了很大变化,人们已不单纯满足于吃饱吃好,食品的营养和保健作用越来越受到人们的重视。方兴未艾的保健食品热,为我国食品加工行业带来了新的发展机遇,中国上千年传统养生保健理论与饮食文化也由此被进一步发掘,造福于民。安全和营养是食品的存在前提,保健食品是有特定保健作用的特殊食品,必须符合

食品的基本要求,在此基础上保证具有相应功能。由于我国对保健食品的研究尚属起步阶段,保健食品中的成分或组方多运用传统的中医辨证理论和经验,以复配为主,多个功效成分与非功效成分的协同和拮抗作用尚不清楚,如果再考虑功效成分与功能间及功效成分伍间的毒性作用和功效作用的量效关系情况就更为复杂。一方面,安全和功能的关键

基金项目:国家“十五”科技攻关项目(2001BA804A06)

作者简介:徐海滨 男 研究员

This work was supported by the Grant from National Science and Technology Program Funds of Ministry of Science and Technology, China. (2001BA804A06)

是剂量,在一定剂量下有功能的物质在超过一定的剂量时就有可能产生毒性,任何物质的安全和功能都是在一定的剂量基础上来评价的。由于美国发生了4例服用减肥食品消费者的死亡事件,FDA认为致泻成分与4人死亡有关,并公布了部分具有致泻作用的植物名单(番泻叶、芦荟、大黄根、蓖麻油及鼠李等);除了致泻性植物外,许多中药也大量应用于保健食品;一些国内外广泛应用的食品成分,随着研究的深入也发现了新的安全问题(银杏酸、DHEA等)。这些情况的存在,社会各界对保健食品的安全性给予极大的关注。因为保健食品安全性评价是一个逐渐完善的领域,传统食品的安全性毒理学评价技术不能完全应用于保健食品的安全性评价发展的需要。保健食品安全评价技术和标准研究上有大量的相关技术尚未解决,评价技术的发展落后于工作的需要。保健食品安全评价技术和标准研究的落后状况,严重影响了保健食品产业的发展,也使保健食品功能性的可信度降低。要保证保健食品长期稳定健康的发展,必须首先解决安全性评价的关键技术。随着技术的进步,越来越多的保健食品被开发出来,对它们的安全评价如果沿用传统的评价方法和技术,不适时地解决安全性评价的关键技术,不仅效率低,而且不利于保健食品的开发。缺乏保健食品安全性评价关键技术与标准的研究是目前制约保健食品发展的技术瓶颈,大力加强保健食品安全性评价关键技术与标准的研究迫在眉睫。

1 研究内容和结果

1.1 原料的选择原则和处理要求 保健食品的原料十分广泛,即有来源于陆生动植物的,也有来源于海洋生物以及矿物质的,不仅原料来源比较复杂,而且原料的品质也缺乏严格的质量标准,因此,原料来源的不可控制,给保健食品的安全增添了诸多危险因素。保健食品的安全性主要是依赖于原料组成的安全性,从某种意义上说,如果原料的安全性得到了切实保障,保健食品产品的安全性就可以基本得到保证。基于此,从卫生部开始规范保健食品管理以来,对原料的安全性管理出台了一系列的规定,卫生部把用于保健食品的原料分成药食同源的、可以用于保健食品的、禁止用于保健食品的等3类进行管理。本课题确定了筛选原则:所研究的原料都来源《卫生部关于进一步规范保健食品原料管理的通知》的附件1(既是食品又是药品的物品名单)和附件2(可用于保健食品的物品名单)的要求,结合近年来申报保健食品的产品情况,筛选出经常用于保健食品的167种原料;通过文献检索对缺乏安全性资料

的原料物质进行研究。对上述经常用于保健食品的167种原料进行系统的文献检索,初步筛选出20种使用量较大使用频率较高的保健食品原料,最后确定了远志、肉桂、决明子、桔梗、杜仲、苍术、甘草、泽泻、白芍、芦荟、淫羊藿、白豆蔻、川芎、三七、番泻叶、巴戟天、白术、红花、枳实、五味子20种保健食品原料作为本课题研究的主要物品。根据原料有效成分的存在部位和传统的提取方法,确定了本研究保健食品原料的处理原则和方法,对存在水溶性成分的采用水煎提取,对含有挥发油类成分的采用水提和油提相结合的方法提取,对含萜类等醇溶物质的采用醇提方式。

1.2 保健食品原料安全评价快速筛选实验组合和方法的研究 在用动物实验进行保健食品的安全性毒理学评价时,存在以下问题:保健食品原料种类和数量多,用传统的安全性检验和评价方法效率低,不能满足实际工作的要求。用传统的安全性评价要消费大量的实验动物和实验用房,对设备和经费的需求大。国际上有用体外培养技术代替整体动物实验的趋势,用整体动物试验速度慢、耗资大。

对某一种化学物质致突变性和致癌性的判定是安全性中非常重要工作,保健食品原料有无致突变性对食品安全的影响极大。通过致突变性的筛选试验,可以最大限度的减少人类通过饮食暴露“三致”毒物,降低肿瘤和畸胎的发生率。因此,在保健食品原料的安全性评价快速筛选试验中,它的致突变毒性评价是毒性评价的重要一环。化学致癌物的评价要求有长期的动物致癌实验和肿瘤流行病学研究,这两项工作量大而且费时、费钱,目前评价方案都是依据体细胞突变学说为理论,利用简单快速致突变性实验作为检验化学物质致癌性的筛选手段。建立快速、可靠的实验替代模型,一直是国际上讨论的课题。根据大量的文献检索,结合研究结果,从以下3个方面建立保健食品原料安全评价快速筛选实验组合和方法。从不同培养细胞体系中筛选出易于培养、敏感、适合评价保健食品原料成分细胞毒性的细胞系组成快速筛选实验。筛选出中国仓鼠肺细胞(CHL)和中国仓鼠卵巢细胞(CHO)作为合适的细胞组合,选择NRU法(中性红吸收法)和MTT法作为合适的细胞毒性测定方法。一般用小鼠和大鼠检测受试物的急性经口毒性。保健食品原料的使用量比较大,为达到比较高的安全系数,给动物的用量就大,本研究选用了一次限量法为第一备选方法。以经口急性毒性作为基础指标,根据LD₅₀数值,判定受试物的毒性分级。由中毒表现初步提示毒作用特征。遗传毒性的筛选方法采用了一套适合评价保

健食品原料成分致突变性的筛选体系,选用了 Ames 实验、TK 细胞基因实验、体外小鼠微核实验。

通过研究,建立了体外和体内实验两大系统进行保健食品原料的安全性快速筛选实验。其中,体外实验体系包括细胞毒性快速筛选实验(中性红吸收法,选用 CHO 和 CHL 两种细胞)和 Ames 实验以及 TK 基因突变实验;体内实验系统包括急性经口毒性实验和小鼠骨髓微核实验。

1.3 常用保健食品原料安全性评价快速筛选研究

选择保健食品常用原料远志、决明子、桔梗、杜仲、苍术、甘草、泽泻、白芍、芦荟、淫羊藿、白豆蔻、川芎、三七、番泻叶、巴戟天、白术、红花、枳实、五味子等提取物,按建立的快速筛选实验组合,进行了急性毒性试验、细胞毒性试验、小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验、Ames 试验、TK 基因突变试验。

用本研究建立的快速筛选方法对使用量较大、使用频率较高的保健食品原料远志、决明子、桔梗、杜仲、苍术、甘草、泽泻、白芍、芦荟、淫羊藿、白豆蔻、川芎、三七、番泻叶、巴戟天、白术、红花、枳实、五味子等进行了以急性毒性、细胞毒性、致突变性为主的安全性研究。

从研究结果看,远志、决明子、桔梗、杜仲、苍术、甘草、泽泻、白芍、芦荟、淫羊藿、白豆蔻、川芎、三七、番泻叶、巴戟天、白术、红花、枳实、五味子的急性毒性都属于实际无毒或无毒类;细胞毒性的结果差别很大,以细胞半数致死剂量算,细胞毒性从 4.5~916 mg/mL(按原料提取液计算);除番泻叶对 Ames 试验和 TK 基因突变试验有可疑阳性,桔梗的 TK 基因突变试验阳性并存在剂量反应关系外,其余 17 种原料均未发现有明显的毒性。

1.4 五味子、芦荟、决明子、泽泻的毒性作用特点和作用剂量谱研究

在毒性快速筛选试验的基础上,对保健食品代表性原料成分五味子、芦荟全叶干粉、芦荟液汁浓缩干品、决明子进行了 90 d、泽泻进行了 60 d 的大鼠喂养试验研究,观察指标包括动物的一般表现、体重、食物利用率;血常规及生化指标(白细胞计数及分类、红细胞计数、血红蛋白、谷草转氨酶、谷丙转氨酶、尿素氮、肌酐、胆固醇、甘油三脂、血糖、总蛋白、白蛋白);病理解剖(脏体比、大体观察、肝、脾、肾、心脏、胸腺、胃及十二指肠,睾丸及卵巢)等。

1.4.1 五味子的毒性作用特点和作用剂量谱研究

五味子为双子叶植物药木蓝科木蓝藤本植物,现代医学对五味子的化学成分分析,发现五味子的化学成分主要有:五味子素、去氧五味子素、五味子醇、五味子酯、五味子酚等。

传统医学中五味子是中药滋补强壮药,其作用

主要有益气生津、补肾养心、收敛故涩、涩精止血、宁心安神等。现代药理研究发现,五味子具有调节中枢神经系统、心血管系统及改善血液循环的功能,还具有抗氧化、抗衰老和增强免疫作用等多种作用。与五味子的作用资料相比,五味子的毒性资料相对有限。保健食品中五味子的使用范围从病人扩大到了健康人群的多个年龄段,而且保健食品中多数都是其粗提物,因此在本研究中,使用五味子的乙醇粗提物进行试验。

本研究以五味子的雌性 LD₅₀ 为基础设计 90 d 喂养试验剂量,(按 9.73 g 浸膏/kg BW 计算)。分别为 1/2 LD₅₀、1/4 LD₅₀、1/8 LD₅₀、1/16 LD₅₀,即分别为 4.88、2.44、1.22 和 0.61 g 浸膏/kg BW(分别相当于生药 10.0、5.0、2.5 和 1.25 g/kg BW)。本研究提示,大量、长期服用五味子会对实验动物肾脏、肝脏产生一定的损伤,在保健食品的应用中应限制使用量和服用期限。

1.4.2 芦荟的毒性作用特点和作用剂量谱研究

芦荟是保健食品原料中使用频次较高的中药,具有清肝热、通便功效,有 3 000 余年药用历史,20 多个国家将其载入国家药典。传统经验认为芦荟毒性较低,临床应用比较安全。随着芦荟使用范围扩大,人群暴露水平增加,1998 年美国 FDA 特殊营养品不良反应事件监控系统,报道了 27 个不良反应事件中有 30 条与芦荟匹配,其中有 7 条芦荟是单一成分。现代毒理学研究发现,芦荟主要活性成分蒽醌化合物芦荟大黄素含有 1,8-二羟基结构,为潜在致突变物。目前芦荟在食用安全方面,最具争议的是其主要活性成分蒽醌类泻素,其代表成分芦荟甙。为了更加贴切的反映出芦荟作为保健食品原料有争议的成分最大可能摄入量与其他各种成分综合食用的安全性,针对芦荟全叶成分的安全性研究资料不多的现状,本研究选用芦荟甙含量较高的芦荟全叶干粉、液汁浓缩干品 2 种成分进行试验。芦荟全叶干粉按药典人体推荐量 2 g/60 kg BW d⁻¹ 计算,设 2、4、8 g/kg BW 3 个剂量组(含芦荟甙 11.8、23.6、47.2 mg/kg BW);芦荟液汁浓缩干品按药典人体推荐量 2 g/60 kg BW d⁻¹ 计算,设 1.65、3.30、6.60 g/kg BW 3 个剂量组(含芦荟甙 332、664、1328 mg/kg BW)。

研究显示,芦荟全叶干粉和芦荟液汁浓缩干品使大鼠尿量及排便量明显增多,且随芦荟甙含量的增加有明显剂量反应关系;对雄性大鼠生长有影响。病理组织学检查发现,芦荟全叶干粉和芦荟液汁浓缩干品均能引起大鼠肾曲管上皮内、肠系膜淋巴结、结肠粘膜固有层色素沉积,黑色素染色阳性,且病变发生率及程度随芦荟甙含量的增加而加重,有明显剂量反应

关系,同时可刺激肠系膜淋巴结反应性增生。

在研究条件下,芦荟液汁浓缩干品有毒作用剂量为 1.65 g/kg BW(芦荟甙 330 mg/kg BW),芦荟全叶粉有毒作用剂量为 2 g/kg BW(芦荟甙 11.8 mg/kg BW),折合人体日摄入量分别为 1.2、0.99 g,小于卫生部制定的人体摄入 2 g 的限量要求。因此,芦荟作为保健食品原料不宜大量、长期食用。

1.4.3 决明子的毒性作用特点和作用剂量谱研究

决明子为豆科植物决明或小决明的成熟种子,其主要成分为蒽醌类物质,有清热明目、润肠通便、降压、降血脂、抑菌、免疫调节等作用。由于决明子是卫生部认定的药食同源名单内的物质,本研究以药典中决明子人体推荐量(9~15 g/d)为试验设计依据,设计 5 个受试物剂量组,分别为每日每公斤体重 5、15、25、35、45 g 生药量。

研究表明,决明子在 25、35、45 g/kg BW 剂量时对动物有明显的泻下和利尿作用,对动物肾功能有一定的损伤。病理组织学检查发现,决明子能引起大鼠肾曲管上皮内、肠系膜淋巴结、结肠粘膜固有层色素沉积,黑色素染色阳性。根据本研究结果,应限制决明子在保健食品中的使用量和服用期限。

1.4.4 泽泻的毒作用特点和作用剂量谱研究

泽泻作为一种历史悠久的传统中药材,大量的临床研究表明,泽泻及其复方在治疗高血脂症、脂肪肝、免疫复合物型及抗基底模型肾炎、肾结石、高血压、冠心病、腹水及美尼尔氏综合症等常见病方面具有良好的疗效。

本研究按照药典人体用量 10 g 为标准,设计为 8.3、16.7 和 33.3 g/kg BW 3 个剂量组。60 d 动物喂养发现,泽泻可能对大鼠肾脏产生一定的损伤。本研究只得出了一些趋势,进一步的研究还需要继续。

1.4.5 螺旋藻类保健食品原料及保健食品中微囊藻毒素的污染现状研究

藻类保健食品是一种由藻类单细胞植物为主要成分,加入或单纯用藻类成分为配方的保健食品。在螺旋藻的培养过程中,如果培养环境被某些蓝藻污染,就可能对螺旋藻类保健食品的食用安全性带来危险。蓝藻中代表性的有毒代谢产物是微囊藻毒素,它是明确的肝脏毒物和促癌剂。保健食品中的微囊藻毒素污染是否会引起微囊藻毒素对人类潜在的食物安全问题尚未获得明确结论。为了使所采集的样品能够符合螺旋藻生产的各个环节特点,能反映出养殖生产加工过程中微囊藻毒素的污染状况和程度的差异,初步判定微囊藻毒素污染的来源,根据螺旋藻原料产品生产的工艺,采集不同过程的样品,包括水源水、养殖池内含螺旋藻中图分类号:R15;TS218;TS202.1 文献标识码:A

藻水、螺旋藻浆以及螺旋藻粉等。

研究发现,养殖用水、螺旋藻浆和螺旋藻原料粉中均能检出微囊藻毒素。从有关地区随机购买螺旋藻产品中均可检测出微囊藻毒素。

2 研究成果和效益评估

2.1 通过课题研究,建立的以动物急性毒性试验和成组体外试验为基础的《保健食品原料成分的安全性评价快速筛选方法》组合是符合国际安全性评价的发展趋势的,又具有中国的特色。《保健食品原料成分安全性评价快速筛选方法》(草案)的提出,对保健食品种类繁多的原料进行大量快速筛选,可以降低费用、提高效率,增加经济效益。

2.2 根据现有的技术水平提出了《保健食品安全性毒理学评价程序和检验方法》,已经作为卫生部规范性技术文件颁布实施,是我国保健食品管理中一部重要的不可缺少的技术法规,为规范市场、保证人民的身体健康、维护企业和消费者的合法权益发挥了重要作用,产生了很好的社会效益。

2.3 通过对芦荟、五味子、决明子等保健食品代表性原料成分的作用特点和作用剂量谱研究、19 种原料成分的快速筛选评价、螺旋藻类保健食品原料产品中微囊藻毒素的污染现状调查,使我们对部分保健食品原料的安全性有了比较明确的认识,为合理运用和科学管理提供科学依据。

3 存在的问题和建议

3.1 受时间和经费的限制,本研究只对 19 种保健食品原料进行了快速筛选验证,对卫生部发布的药食两用名单和可用于保健食品原料的名单而言,所作试验的种类还很少,通过本课题的研究,为今后进一步开展此项工作奠定了基础。

3.2 我国中药的品种很多,用于保健食品的药食两用品种中多数安全性资料不完整,从目前本课题的初步结论来看,其安全性值得认真考虑。从保障人民健康的角度出发,进一步加强这方面的研究刻不容缓。目前部分市售的螺旋藻产品中存在一定的微囊藻毒素污染,希望加强检验和监督力度,建立有关食品中的限量标准,预防对健康的危害。

3.3 确保用于保健食品原料的安全性,对提高我国保健食品的科技含量,保证我国保健食品的产业化、可持续发展具有重要意义。做好这方面的工作需要多部门的通力协作。

[收稿日期:2004-08-14]

文章编号:1004-8456(2004)06-0481-04