

罗氏海盘车毒性研究

刘襄欣 谢 玮 山东省卫生防疫站 (250014)

摘要 对煮熟的海盘车幽门盲囊部分进行产品安全性毒理学评价,结果说明其经口 LD₅₀大于 10g/kgBW; Ames 试验、精子畸形、睾丸染色体畸变及微核等四项试验证明其无致突作用。90 天喂养试验中血像、肝肾功能,病理等指标均与对照组无差异,但试验组小鼠体重明显低于对照组,可能是试验组饲料中蛋白质含量减少所致。

关键词 海星纲 幽门 盲囊 致突变试验

海星属于棘皮动物,种类很多,其中最常见的是罗氏海盘车(*Asterias rollestoni* Bell),呈五角形,在海洋中分布较广,有较强的再生能力。

据原旅大市水产研究所的资料^[1]介绍,有些国家用海星制造肥料,并建有专业公司。在第一次世界大战期间,欧洲某些地方曾以此作为食品。原水产部海洋水产研究所曾先后多次到山东省胶州湾阴岛西大洋生产队对当地渔民食用海星的情况做了调查,他们在 1961 年 3~10 月共捕获鲜品 328000 多斤,半数做为代食品,未发生中毒事故。海星幽门盲囊(食用部分)蛋白质含量为 15%~23%,脂肪 7.5%~14%,VB₁₂在幽门盲囊中为 96.2 μ g/100g,其蛋白质的消化率为 94.7%~96.5%,并含有人体所必需的 8 种氨基酸。由于海星幽门盲囊脂肪中含有二十二碳六烯酸(DHA)6.25%和二十碳五烯酸(EPA)11.14%,因此海星不但是很好的营养品,也是一种保健食品。法国沿海居民有食用海星幽门盲囊的习惯,我国部分地区居民也有食用的记载。据资料^[2,3]介绍,海燕(*Asterina Pectinifera*)和海星(*Asterias rollestoni* Bell)内含有水溶性的有毒物质皂甙(Saponin),但该物质经水煮之后就会破坏。为开发和利用该产品,我们对海星幽门盲囊进行了急性毒性、致突变、致畸及 90 天喂养实验研究。

1 材料和方法

1.1 材料 海星幽门盲囊 烟台市北海宾馆提供(煮熟的海星幽门盲囊系酱状,可以注射器进行灌胃或配入饲料喂养动物)。

Wistar 大白鼠 中国预防医学科学院实验动物中心提供。

昆明种小白鼠 中国预防医学科学院实验动物中心提供。

沙门氏菌菌株 卫生部药品与生物制品检定所菌种室提供。

1.2 方法

1.2.1 急性毒性试验 采用 Horn 氏法^[4,9]选体重为 20g 左右小白鼠 40 只雌雄各半,随机分为 4 组,每组 10 只,雌雄各半,剂量为 2150, 4640, 1000, 21500mg/kgBW 经口灌胃给予海星幽门盲囊试样,观察 10 天,记录动物死亡数,查表求得 LD₅₀值。

1.2.2 微核实验^[5,9] 选昆明种小白鼠 50 只,分为 5 组,每组 10 只,雌雄各半,剂量为 LD₅₀的 1/2, 1/4, 1/8,灌胃给予海星幽门盲囊试样,另设阴性组(蒸馏水)及阳性组(环磷酰胺),按常规制片镜检。

1.2.3 精子畸形实验^[6,9] 选用昆明种成年雄性小白鼠 25 只,随机分成 5 组,每组 5 只,分别给予相当于 1/2, 1/4, 1/8 LD₅₀剂量的海星幽门盲囊试样灌胃,同时用环磷酰胺和蒸馏水作阳性及阴性对照,按常规方法制片镜检。

1.2.4 Ames 试验^[7,9] 选用沙门氏菌菌株 TA97、TA98, TA100, TA102。将试样分为 500, 250, 125 μ g/皿 3 个剂量组,按常规法进行实验,另设阳性及阴性对照组。

1.2.5 小鼠骨髓细胞染色体畸变实验^[8,9] 选小白鼠 50 只分为 5 组,每组 10 只,雌雄各半,经口给予剂量为 1/4, 1/8, 1/16 LD₅₀的试样,另设阳性(环磷酰胺 40mg/kgBW)和阴性对照组,经口灌胃,按常规制片镜检。

1.2.6 90 天喂养实验 选健康大白鼠 40 只,分为 2 组,每组 20 只,雌雄各半,一组为对照组,另一组为实验组,即将基础饲料中 10% 的鱼粉以海星幽门盲囊代替。动物分笼饲养,自由饮食。在实验期每星期称体重一次和经常观察体征,实验结束时处死大白鼠,取血做血常规、生化等指标,并做大体解剖,观察脏器

有无异常,取肝、肾、脾称重计算脏体系数。将肝、肾、胃、心、肺、肠等用 10% 福尔马林固定,石蜡包埋切片,HE 染色镜检。

2 结果与讨论

表 1 微核实验结果

剂 量	动物数 只	受检细胞数 个	微核检出数 个	微核率 ‰
雄 1/2 LD ₅₀	5	5000	14	2.8
性 1/4 LD ₅₀	5	5000	13	2.6
小 1/8 LD ₅₀	5	5000	15	3.0
白 阳性对照组	5	5000	180	36
鼠 阴性对照组	5	5000	13	2.6
雌 1/2 LD ₅₀	5	5000	15	3.0
性 1/4 LD ₅₀	5	5000	13	2.6
小 1/8 LD ₅₀	5	5000	12	2.4
白 阳性对照组	5	5000	182	36.4
鼠 阴性对照组	5	5000	14	2.8

表 2 精子畸形实验结果

剂 量	动物数 只	受检精子数 个	精子畸形数 个	精子畸形率 ‰
1/2 LD ₅₀	5	5000	260	52.0
1/4 LD ₅₀	5	5000	263	52.6
1/8 LD ₅₀	5	5000	265	53.0
阳性对照组	5	5000	667	133.4
阴性对照组	5	5000	259	51.8

2.3 90 天喂养实验 实验组动物在整个实验过程中未发现异常和死亡。血常规,肝功、肾功、脏器系数结果见表 6,7,8,实验组的各项指标与对照组比较无明显差异,病理组织学检查也未发现异常。

从表 5 可见,实验组体重明显低于对照组,分析原因:一是以罗氏海盘车幽门盲囊(湿品)替代进口鱼粉,试样组饲料中蛋白质比对照组低的缘故;二是罗氏海盘车幽门盲囊虽然经过脱毒处理,可能还残留部分皂甙。1977 年桥本芳郎用鼠和鸭进行的试验表明,过量进食皂甙妨碍动物的生长发育。

3 小结

2.1 急性毒性实验 给予试样 10 天后未发现动物死亡,所以推算 LD₅₀大于 10g/kg,按急性毒性分类应属实际无毒物质。

2.2 微核、精子畸形,Ames,染色体畸形试验结果见表 1,2,3,4,由各表可见该物质对小鼠无致突变作用。

国内外对海星幽门盲囊部分均有食用习惯,本文对煮熟的海星幽门盲囊试样进行了毒性研究。根据实验结果认为:1,海星幽门盲囊试样急性毒性 LD₅₀大于 10g/kg,属实际无毒物质。2,Ames 试验,微核试验,精子畸形试验及骨髓染色体畸变分析等四项试验证明海星幽门盲囊试样无致突变作用。3,90 天喂养试验证明饲料中含试样为 10% 时,对 RBC,WBC,Hb,GPT,UN 及脏体比,病理组织学检查均无影响。实验组体重明显低于对照组,其原因可能为实验组以海星幽门盲囊试样代替鱼粉后饲料中蛋白质含量减少所致,尚待证实。4,应进一步研究证明其营养及保健功能。

表3 Ames 实验结果

受试物	浓度 μg / 皿	TA97		TA98		TA100		TA102	
		- S9	+ S9	- S9	+ S9	- S9	+ S9	- S9	+ S9
自发回变数		199	190	25	29	126	160	231	286
试样	500	247	235	22	35	112	140	205	235
	250	223	198	24	28	135	161	210	217
	125	220	223	23	30	130	163	200	225
	0.5	299		356					
阳性对照	4 - NaNO ₂								
	NaN ₃					1180			
	MMC							1108	
阴性对照	2 - AF		1132		2412		1340		1851

表4 染色体分析结果

剂量和组别	动物数 只	观察 细胞数	染色体中期项分析						总畸变数	畸变率 %
			裂隙	断裂	断片	双着丝柱	四射体	环状连接		
1/4 LD ₅₀	10	1000	4	3	0	3	0	1	11	1.1
1/8 LD ₅₀	10	1000	2	2	0	2	1	1	9	0.9
1/16LD ₅₀	10	1000	3	1	2	1	0	2	9	0.9
阳性对照	10	1000	28	30	28	23	15	38	162	16.2
阴性对照	10	1000	2	3	1	2	0	1	9	0.9

表5 大白鼠体重变化($\bar{x} \pm SD$)

组别	实验前	30d	60d	90d
对照组 雄	74.5 ± 9.6	297 ± 15.7	378.5 ± 14.7	413 ± 13.1
实验组 性	86 ± 6.6	232.5 ± 32.2	311 ± 37.9	319.1 ± 74.6 ⁽¹⁾
对照组 雌	66.9 ± 10.5	218 ± 14.8	266.5 ± 12.3	294 ± 16.8
实验组 性	77 ± 5.9	199 ± 15.6	222 ± 22.6	226.5 ± 46.5 ⁽¹⁾

注:(1) p < 0.01

表6 大白鼠血液学检查($\bar{x} \pm SD$)

组别	红细胞(个/10 ⁴ mm ³)	白细胞(个/mm ³)	血红蛋白(g%)
对照组 雄	980 ± 181	8516 ± 4059	14.2 ± 0.2
实验组 性	792 ± 176	10365 ± 8762	13.7 ± 0.8
对照组 雌	850 ± 169	10915 ± 4333	14.1 ± 0.2
实验组 性	686 ± 147	9040 ± 2023	14.1 ± 0.2

表7 大白鼠血液生化检查($\bar{x} \pm SD$)

组别	谷一丙转氨酶		尿素氮
	IU/100mL		mg/100mL
对照组 雄	135 ± 22.4		13.7 ± 2.2
实验组 性	120 ± 17.6		11.7 ± 4.1
对照组 雌	122.2 ± 12.3		14.1 ± 2.4
实验组 性	115 ± 8.3		12 ± 2.0

表8 大白鼠脏器系数($\bar{x} \pm SD$) %

组别	肝/体	肾/体	脾/体
对照组 雄	0.039 ± 0.05	0.008 ± 0.001	0.003 ± 0.001
实验组 性	0.04 ± 0.005	0.009 ± 0.002	0.003 ± 0.002
对照组 雌	0.036 ± 0.003	0.009 ± 0	0.003 ± 0
实验组 性	0.039 ± 0.004	0.001 ± 0.002	0.002 ± 0

4 参考文献

- 1 中华人民共和国药典. 附录 22. 1953
- 2 Yoshino Hashimoto, Takeshi Yasumoto, Confirmation of Saponin as a Toxic Principle of Starfish, Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 1960, 26, (11), 1132
- 3 桥本芳郎, 安元健. 日本水产学会志. 1960, 275~296
- 4 上海第一医学院主编. 食品毒理. 北京: 人民卫生出版社, 1978, 206
- 5 江泉观. 基础毒理学. 北京: 化学工业出版社, 1991, 379
- 6 刘敏捷, 等. 甘草抗氧灵的生殖毒理研究. 癌变. 畸变. 突变, 1994, 5(6): 22
- 7 刘淑英, 等. Ames 试验检测不同工艺制作灵草浸膏的突变性, 卫生毒理学杂志, 1994, 1(8): 42
- 8 殷学军, 等. 102 种中药水溶性提取物的诱变性筛选, 癌变. 畸变. 突变, 1989, 1(1): 27
- 9 食品安全性毒理学评价程序和检验方法. 1994

[上接第 2 页]

2.3 简易调查法同称重法相关性检验

简易法同称重法相关性检验结果, 能量($r = 0.61$ $P < 0.01$), 蛋白质($r = 0.67$ $P < 0.01$), 脂质($r = 0.94$ $P < 0.01$), 糖质($r = 0.77$ $P < 0.01$)呈正相关; Na($r = 0.79$ $P < 0.01$), Ca($r = 0.64$ $P < 0.01$), 磷($r = 0.72$ $P < 0.01$), VA($r = 0.76$ $P < 0.01$), VB₁($r = 0.76$ $P < 0.01$), 食盐($r = 0.76$ $P < 0.01$)也呈有意义的正相关, 铁、VB₂ 及 VC 摄入量间无明确相关关系。由 2.2 的显著性检验及 2.3 的相关性检验结果, 可以说明简易调查法是准确、可行的。

3 讨论

本调查将简易法同常规称重法进行了对比研究, 结果看到食物群别摄取量和营养素摄取量两群间无显著性差别, 进而证实了简易法的可信性。本方法应用计算机程序进行计算, 并且采用问诊方式, 不需调查对象认真回忆和记录每天摄取的食物量, 即可准确

掌握其营养状态, 同时获得的结果迅速简单, 可为广泛开展个体营养指导和调查提供新途径。可望在营养流行病学研究方面发挥作用。

4 参考文献

- 1 刘志诚. 营养与食品卫生学. 1990
- 2 大里进子. 营养实习指导(日). 1990
- 3 香川芳子. 吃什么如何吃好(日). 1990
- 4 食物成分表. 中国预防医学科学院. 1991
- 5 城田知子. 简易食物摄取量研究方法分析(日). 日本公共卫生杂志, 1990, (36)
- 6 藤泽良知. 营养状态的判定方法(日). 1985
- 7 张春元. 对中国饮食生活评价的研究(日). 日本中村学园研究纪要, 1991, (22)
- 8 张春元. 中国辽宁省幼儿营养状况的研究(日). 日本营养学杂志, 1992, 50(1)
- 9 饮食生活调查指导. 日本九州实践营养研究会(日)
- 10 1991 年日本营养现状. 东京: 1991, 1(7)
- 11 日本卫生部公共卫生局编. 高血压者的营养指导(日)
- 12 Burke, B S: J AM, Diet, Assol 1947, 23(1041)