

新疆虫草人工发酵菌丝体食品安全性研究

潘巍, 艾米旦木·玛依提, 唐晖 (新疆乌鲁木齐市新市区疾病预防控制中心, 新疆乌鲁木齐 830011)

摘要 [目的] 对新疆虫草人工发酵菌丝体进行毒理学研究。[方法] 以昆明种小白鼠和 Wistar 大白鼠为试验动物, 用新疆虫草人工发酵菌丝体样品液对其进行灌胃或腹腔注射处理, 以腹腔注射 40 mg/kg 环磷酰胺为阳性对照, 不注射菌丝体样品液为阴性对照, 研究该菌丝体对试验动物的急性经口毒性及对动物微核率和精子畸变率的影响。[结果] 新疆虫草人工发酵菌丝体对大、小鼠的急性经口 LD₅₀ 均大于 10 g/kg; 该虫草人工发酵菌丝体不同剂量处理组小白鼠嗜多染红细胞微核率、精子畸变率及大白鼠体重、食物利用率、血液生化指标与阴性对照组均无显著差异; 病理组织学检查结果表明, 各试验动物的脏器均未见与试验因素有关的病变。[结论] 新疆虫草人工发酵菌丝体对大、小白鼠未产生毒性作用。

关键词 菌丝体; 微核率; 畸变率

中图分类号 TS201.6 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2009)14-06438-03

Study on Food Safety of Artificial Fermentation Mycelia of Xinjiang Caterpillar Fungus

PAN Wei et al (Urumqi Center of Disease Control and Prevention in New Urban Area, Urumqi, Xinjiang 830011)

Abstract [Objective] The aim was to study the toxicology of artificial fermentation mycelia of Xinjiang caterpillar fungus. [Method] With Kunming mice (body weight of 18 - 22 g) and Wistar rats (body weight of 70 - 219 g) as the tested animals, they were given sample solution of artificial fermentation mycelia of Xinjiang caterpillar fungus by gavage or intraperitoneally injected with the sample solution, with the treatments of intraperitoneally injecting 40 mg/kg cyclophosphamide as positive CK and without intraperitoneal injection of sample solution of artificial fermentation mycelia of Xinjiang caterpillar fungus as negative CK, the acute oral toxicity and the effects of the mycelia on micronucleus rate and sperm abnormal rate of tested animals were studied. [Result] The acute oral LD₅₀ of artificial fermentation mycelia of Xinjiang caterpillar fungus on mice and rats were all bigger than 10 g/kg. The micronucleus rate of polychromatic erythrocytes (PCE) and sperm abnormal rate of mice and body weight, food utilization rate and blood biochemical indices of rats in treatments with artificial fermentation mycelia of Xinjiang caterpillar fungus at different doses had no significant differences with those of negative CK. The examination results of histopathology showed that the organs of tested animals had no lesions that related with experimental factors. [Conclusion] The artificial fermentation mycelia of Xinjiang caterpillar fungus had no toxicity on rats and mice.

Key words Mycelia; Micronucleus rate; Abnormal rate

冬虫夏草是虫草真菌的子座及其寄主蝙蝠蛾幼虫僵体的菌虫复合体, 是我国特有的名贵药用真菌, 具有滋补肝肾, 止咳化痰, 提高机体免疫力及抗肿瘤等多种功效, 是典型的温性缓补性药物, 可广泛应用于食品、药品、化妆品等行业。产于新疆阿尔泰的黑槌虫草 (*P. tenuipes*) 不仅是我国的新记录种, 而且是我国发现的近 60 种虫草中除冬虫夏草之外的另一种仅以蝙蝠蛾属幼虫为寄主的珍贵药、食两用型真菌, 其功能、作用、品质等均优于寄生于其他种类昆虫体上的虫草。目前国内发酵生产的虫草产品大多以拟青霉、头孢霉、被毛孢为菌种, 而有关新疆虫草人工发酵菌丝体的食品安全性尚未见报道, 为此, 笔者依照食品安全性评价的基本原理对新疆虫草人工发酵菌丝体进行了毒理学研究。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 虫草菌丝体。新疆虫草人工发酵菌丝体, 由新疆农科院微生物研究所提供, 由中国科学院微生物所鉴定, (2001) 微检字第 228 号。

1.1.2 Ames 试验菌种。组氨酸缺陷型鼠伤寒沙门氏菌 TA97、TA98、TA100、TA102 及大鼠肝匀浆均由中国预防医学科学院劳卫所分子毒理室提供, 经鉴定其生物学性状合格。

1.1.3 试验动物。昆明种小白鼠、Wistar 大白鼠及全价颗粒饲料由新疆医学试验动物中心提供 (合格证号: 医动字 16-003)。

1.2 方法

1.2.1 急性经口毒性试验。取昆明种小白鼠 20 只 (体重 18

~22 g)、Wistar 大白鼠 20 只 (体重 70 ~219 g), 分为 4 组, 每组 10 只, 雌雄各半。称取虫草菌丝体样品 100 g, 定容于 100 ml 蒸馏水中备用。将大、小白鼠禁食 12 h, 分别用 10 g/kg bw 样品液对其进行灌胃, 观察 14 d, 记录中毒症状及死亡情况。

1.2.2 微核试验。取昆明小白鼠 50 只 (体重 25 ~31 g), 随机分为 5 组, 每组 10 只, 雌雄各半。用虫草菌丝体样品液对 4 组小鼠进行腹腔注射, 注射剂量分别为 0.833、1.667、3.333 g/kg bw, 另外 2 组分别为阳性对照组用 40 mg/kg 环磷酰胺腹腔注射和阳性对照组 (不注射菌丝体样品液)。各处理组采用 2 次给药法, 于末次给药后 6 h, 按常规方法取材、制片、镜检, 计算小鼠骨髓嗜多染红细胞的微核率。

1.2.3 精子畸变试验。取雄性小鼠 25 只 (体重 26 ~34 g), 随机分 5 组, 每组 5 只。样品处理剂量组及对照组均同微核试验。连续灌胃 5 d, 于第 1 次灌胃后 35 d 按常规方法取材、制片、镜检, 计算小鼠精子的畸变率。

1.2.4 Ames 试验。

(1) 阳性剂组成。-S9: TA97、TA98 均为 2,4,7-三硝基芬酮 (0.4 μg/皿), TA100 为叠氮钠 (1.5 μg/皿), TA102 为丝裂霉素 C (1 μg/皿); +S9: TA97、TA98 和 TA100 为 2-氨基芬 (20 μg/皿), TA102 为 1,8-二羟基蒽醌 (50 μg/皿)。

(2) 受试物配制。称取 0.55 g 新疆虫草人工发酵菌丝体, 用无菌水稀释至 20 ml 为最高浓度受试物, 再按 5 倍梯度, 依次稀释配成其余 4 组受试物, 每皿分别加不同浓度受试物 0.2 ml, 则各组受试物剂量分别为 0.008 8、0.044、0.22、1.1、5.5 (mg/皿)。

(3) 方法。采用标准平皿掺入法, 在加与不加 S9 活化系

作者简介 潘巍 (1969 -), 男, 上海人, 主管检验师, 从事食品卫生检验工作。

收稿日期 2009-02-11

的培养皿中,受试物加入剂量依次为 0.008 8、0.044、0.22、1.1、5.5 mg/皿,同时设自发回变、溶剂(二甲基亚砜)对照及阳性对照处理组进行致突变试验,每处理 3 个重复。

1.2.5 30 d 喂养试验。

(1) 剂量设计。按人体推荐剂量的 25、50、100 倍设计剂量,分别为 0.83、1.66、3.33 g/kg. bw。

(2) 给喂方式。分别称取样品,加入蒸馏水定容至 100 ml,各剂量组均按 10 ml/kg. bw 灌胃。

(3) 操作步骤。取 Wistar 大白鼠 80 只(雄鼠体重为 95 ± 15 g,雌鼠体重为 90 ± 15 g),随机分为 4 组,每组 20 只,雌雄各半。连续灌胃 30 d,每 7 d 称 1 次体重和食物摄入量,计算食物利用率。禁食 12 h,麻醉后眼球取血进行血液学、生化学检查,解剖取肝、脾、肾和睾丸等脏器,计算脏体比,并对

主要脏器进行病理组织学检查。

1.3 数据处理 试验数据采用《中国医学百科全书—医学统计学》统计软件包进行分析。

2 结果与分析

2.1 急性经口毒性试验结果 在 14 d 的观察期内,动物生长良好,无任何不良症状,无死亡鼠。说明新疆虫草人工发酵菌丝体对大、小鼠急性经口 LD₅₀均大于 10 g/kg,该虫草菌丝体属无毒物质。

2.2 微核试验结果 由表 1 可知,样品各剂量组小鼠嗜多染红细胞微核率与阴性对照组无显著差异($P > 0.05$),而阳性组与阴性组有显著差异($P < 0.01$)。说明在试验剂量条件下,新疆虫草人工发酵菌丝体样品不会增加小鼠嗜多染红细胞的微核率。

表 1 新疆虫草人工发酵菌丝体样品对骨髓微核的影响

Table 1 The effect of artificial fermentation mycelium of Xinjiang caterpillar fungus on bone marrow micronucleus

剂量//mg/kg	动物数//只	观察嗜多染红细胞数//个	有微核细胞数//个	PCE/NCE//‰	微核率//‰	P
Dose	Animal number	Polychromatic erythrocyte	Micronucleus cell number		Micronucleus rate	
♀ 阴性对照	5	5 000	1	1.21	0.2	
♀ 低剂量组	5	5 000	2	1.04	0.4	0.563
♀ 中剂量组	5	5 000	5	1.25	1	0.102 1
♀ 高剂量组	5	5 000	1	1.22	0.2	1
♀ 阳性对照	5	5 000	59	1.17	11.8	<0.01
♂ 阴性对照	5	5 000	3	1.19	0.6	
♂ 低剂量组	5	5 000	5	1.59	1	0.478 8
♂ 中剂量组	5	5 000	1	1.18	0.2	0.316 6
♂ 高剂量组	5	5 000	2	0.93	0.4	0.654 1
♂ 阳性对照	5	5 000	59	1.19	11.8	<0.01

2.3 精子畸变试验结果 由表 2 可知,样品各剂量组小鼠精子畸变率与阴性对照组无显著差异($P > 0.01$),而阳性组与阴性组有显著差异($P < 0.05$)。说明新疆虫草人工发酵菌丝体不会增加小鼠精子的畸变率。

表 2 新疆虫草人工发酵菌丝体样品对精子畸变率的影响

Table 2 The effect of artificial fermentation mycelium of Xinjiang caterpillar fungus on sperm aberration rate

剂量	动物数//只	畸变精子数//个	畸变率//%
Dose	Animal number	Aberration sperm number	Aberration rate
阴性对照	5	179	3.58
低剂量组	5	161	3.22
中剂量组	5	146	2.92
高剂量组	5	168	3.36
阳性对照	5	595	11.90

2.4 Ames 试验结果 由表 3 可知,样品各剂量组回变菌落数均未超过阴性对照组的 2 倍,而阳性对照组回变菌落数明显大于自发回变菌落数,说明样品 Ames 试验结果为阴性。

2.5 30 d 喂养试验结果

2.5.1 生长情况及食物利用率。由表 4、表 5 可知,各试验组与对照组大白鼠体重和食物利用率无显著差异($P > 0.05$),高剂量组雌雄大鼠体重总增加量和总进食量较低是由于高剂量受试物浓度较高,粘稠度较大,灌胃后在一定程度上造成大鼠胃扩张并有部分大鼠灌胃后出现反流现象,从而影响了大鼠进食。

表 3 Ames 试验结果

Table 3 Test result of Ames

剂量//mg/皿		TA97	TA98	TA100	TA102
Dose					
自发回变	-S9	170	43	160	270
自发回变	+S9	173	38	183	294
溶剂对照	-S9	177	47	172	309
溶剂对照	+S9	190	48	176	202
0.008 8	-S9	182	48	193	323
0.008 8	+S9	187	55	182	310
0.044	-S9	182	44	178	325
0.044	+S9	182	49	183	318
0.22	-S9	178	49	188	311
0.22	+S9	178	51	182	305
1.10	-S9	208	53	188	322
1.10	+S9	192	58	189	318
5.50	-S9	172	54	200	343
5.50	+S9	140	48	132	310
阳性对照	-S9	3 830	4 887	1 070	1 081
阳性对照	+S9	1 092	3 696	2 231	933

2.5.2 血液学与血液生化指标测定结果。由表 6、表 7 可知,各剂量组与对照组及各剂量组之间大白鼠血液学及血液生化指标均无显著差异($P > 0.05$),说明新疆虫草人工发酵菌丝体对大鼠的红细胞数、白细胞数、血红蛋白含量及肝、肾功能、脂代谢、蛋白质代谢、糖代谢均无不良影响。

表4 新疆虫草人工发酵菌丝体对大白鼠体重的影响

Table 4 The effect of artificial fermentation mycelium of Xinjiang caterpillar fungus on white rat weight g

组别	动物数//只	0 d	7 d	14 d	21 d	28 d
Groups	Animal number					
♂ 阴性对照	10	88.6	128.9	177.6	213.5	260.8
♂ 低剂量组	10	85.9	123.1	172.6	212.7	259.6
♂ 中剂量组	10	88.8	130.3	176.6	216.9	258.3
♂ 高剂量组	10	92.1	135.9	180.2	213.4	249.1
♀ 阴性对照	10	92.8	117.3	144.7	164.2	186.3
♀ 低剂量组	10	93.3	121.1	147.5	170.6	190.1
♀ 中剂量组	10	93.8	122.3	148.1	170.4	189.9
♀ 高剂量组	10	95.9	127.6	149.9	165.3	183.9

表5 新疆虫草人工发酵菌丝体对大白鼠食物利用率的影响

Fig. 5 The effect of artificial fermentation mycelium of Xinjiang caterpillar fungus on white rat food efficiency

组别	动物数//只	总增重//g	总进食//g	食物利用率//%
Groups	Animal number	Total increased weight	Total eating amount	Food efficiency
♂ 阴性对照	10	172.4	534.6	32.23
♂ 低剂量组	10	173.7	525.7	33.02
♂ 中剂量组	10	169.5	514.7	32.97
♂ 高剂量组	10	157.0	496.4	31.49
♀ 阴性对照	10	93.5	429.4	21.65
♀ 低剂量组	10	96.8	442.9	21.86
♀ 中剂量组	10	96.1	434.6	22.03
♀ 高剂量组	10	87.1	413.1	21.06

表7 新疆虫草人工发酵菌丝体对大白鼠生化指标的影响

Fig. 7 The effect of artificial fermentation mycelium of Xinjiang caterpillar fungus on biochemical result of white rat

组别	动物数//只	ALT	BUN	Gr	BG	AST	总蛋白//g/L	白蛋白//g/L	甘油三脂//mmol/L	总胆固醇//mmol/L
Groups	Animal number	U/L	mmol/L	μmol/L	mmol/L	U/L	Total protein	White protein	Three acids glyceride	Total cholesterol
♂ 阴性对照	10	37.5	4.79	41.6	5.66	87.9	58.0	19.0	1.08	0.98
♂ 低剂量组	10	34.6	5.13	39.2	5.93	82.8	59.0	18.9	1.05	0.94
♂ 中剂量组	10	35.9	4.80	41.5	5.59	92.6	61.7	19.5	0.82	0.96
♂ 高剂量组	10	38.5	5.25	41.6	5.11	94.0	60.0	18.4	0.86	0.93
♀ 阴性对照	10	31.5	5.54	44.7	6.23	92.2	62.4	22.2	1.35	0.81
♀ 低剂量组	10	32.6	5.64	44.7	6.29	93.5	61.4	21.1	1.18	0.7
♀ 中剂量组	10	32.6	5.53	46.2	6.33	93.5	63.8	22.1	1.22	0.72
♀ 高剂量组	10	29.0	4.93	42.5	5.86	83.9	69.3	21.0	0.75	0.69

表8 新疆虫草人工发酵菌丝体对大白鼠脏体比的影响

Fig. 8 The effect of artificial fermentation mycelium of Xinjiang caterpillar fungus on white rat visceral body ratio

组别	动物数//只	肝体比//%	肾体比//%	脾体比//%	辜体比//%
Groups	Animal number	Liver body ratio	Kidney body ratio	Spleen body ratio	Testis body ratio
♂ 阴性对照	10	3.34	0.66	0.26	0.95
♂ 低剂量组	10	3.44	0.67	0.26	0.95
♂ 中剂量组	10	3.24	0.68	0.26	0.96
♂ 高剂量组	10	3.22	0.65	0.27	1.02
♀ 阴性对照	10	3.21	0.64	0.29	/
♀ 低剂量组	10	3.14	0.63	0.29	/
♀ 中剂量组	10	3.17	0.62	0.29	/
♀ 高剂量组	10	3.07	0.66	0.29	/

表6 新疆虫草人工发酵菌丝体对大白鼠血常规测定结果的影响

Fig. 6 The effect of artificial fermentation mycelium of Xinjiang caterpillar fungus on blood routine examination result of white rat

组别	动物数//只	WBC	RBC	HGB	PLT	LYM	NEUT
Groups	Animal number	10 ⁹ /L	10 ¹² /L	g/L	10 ⁹ /L	%	%
♂ 阴性对照	10	6.92	6.29	140.9	976.2	0.87	0.13
♂ 低剂量组	10	7.57	6.35	137.7	1 000	0.86	0.14
♂ 中剂量组	10	7.01	6.39	142.5	964.6	0.86	0.14
♂ 高剂量组	10	8.29	6.51	141.3	998.4	0.83	0.17
♀ 阴性对照	10	5.37	6.26	137.4	986.2	0.90	0.10
♀ 低剂量组	10	4.84	6.07	134.9	942.6	0.90	0.10
♀ 中剂量组	10	5.53	5.43	133.7	1 082.3	0.88	0.12
♀ 高剂量组	10	5.54	5.19	142.8	918.3	0.91	0.06

2.5.3 脏体比结果。由表8可知,试验组与对照组无显著差异(P>0.05),说明新疆虫草人工发酵菌丝体对大白鼠脏体比无不良影响。

2.5.4 病理组织学检查结果。各试验组大白鼠未见异常,肝、肾、脾、胃、肠、睾丸等脏器未见与试验因素有关的病变。

各试验组大白鼠肝脏小胆管轻度增生,偶见小圆细胞浸润灶,但各试验组之间无显著差异。

3 结论

新疆虫草人工发酵菌丝体对雌雄大、小白鼠的急性经口LD₅₀均大于10 g/kg,相当于人体推荐剂量的300倍;微核试验、精子畸变试验和Ames试验结果均为阴性,无致突变作用;30 d喂养试验,结果表明,试验动物生长正常,血液学检

查、生化检查、主要脏体及组织病理学检查结果与对照菌无显著差异。说明新疆虫草人工发酵菌丝体对雌雄大、小白鼠的各项观察指标均未产生毒性作用。

综上所述,新疆虫草人工发酵菌丝体对人体较安全,可广泛应用于保健食品、保健膳食和其他滋补类食品加工。

参考文献

- [1] 常玮,张慧清,杨新平.新疆虫草理化性质的研究[J].新疆农业科学,2004,41(S1):24-25.
- [2] 梁佩琼.中国冬虫夏草[J].微生物学杂志,1986,6(4):68-72.
- [3] 车振明.人工培育的蛹虫草孢子实体食用安全性研究[J].食用菌,2003,25(3):45-46.