

长白山有机灵芝破壁孢子粉的毒理学安全性评价

林花, 金龙哲, 车成来, 王霞, 王宇辉, 王欣宇*

(延边州农业科学院, 延吉 133001)

摘要: **目的** 对长白山有机灵芝破壁孢子粉作为保健食品进行毒性实验研究。**方法** 采用小鼠急性毒性试验、遗传毒性试验, 以及大鼠 30 d 喂养实验来评价长白山有机灵芝破壁孢子粉的毒理学安全性。**结果** 样品给药后, ICR 种雌、雄小鼠的最大耐受剂量(MTD)大于 20.00 g/kg·bw, 属于无毒级; 遗传毒性试验结果中 Ames 试验、小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验及小鼠精子畸形试验均表现为阴性; 大鼠 30 d 喂养实验中, 动物生长发育良好, 各剂量组体重、食物利用率、血常规指标、血生化指标、脏器重量和系数以及病理组织学等指标均未见毒性作用。**结论** 长白山有机灵芝破壁孢子粉均未见明显毒副作用, 具有服用安全性。

关键词: 灵芝; 破壁孢子粉; 毒理学; 安全性; 保健食品

Toxicological safety evaluation of sporoderm-broken spore powders of organic *Ganoderma lucidum* of Changbai mountain

LIN Hua, JIN Long-Zhe, CHE Cheng-Lai, WANG Xia, WANG Yu-Hui, WANG Xin-Yu*

(Yanbian Korean Autonomous Prefecture Academy of Agricultural Sciences, Yanji 133001, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the toxicity of sporoderm-broken spore powders of organic *Ganoderma lucidum* of Changbai mountain as a kind of health food. **Methods** The toxicological safety of sporoderm-broken spore powders of organic *Ganoderma lucidum* of Changbai mountain was evaluated by taking acute toxicity test of mice, genetic toxicity test, and 30 d rat feeding trial. **Results** Maximum tolerated dose (MTD) of female and male mice of ICR species were greater than 20.00 g/kg·bw after gavage, which indicated that samples were non-toxic product. Ames test, micronucleus test of bone marrow cells in mice and mouse sperm malformation test were all showed negative in genetic toxicity test. In 30 d rat feeding test, animal growth and development were normal, weight, food utilization, blood routine, blood biochemistry, organ weights and pathological indexes also had no toxicity in each dose group. **Conclusion** Sporoderm-broken spore powders of organic *Ganoderma lucidum* of Changbai mountain is safe for taking, and it has no significant side effects.

KEY WORDS: *Ganoderma lucidum*; sporoderm-broken spore powders; toxicology; safety; health food

1 引言

灵芝孢子粉目前已成为功能性食品开发的研究热点之一^[1-4], 其不仅含有遗传活性物质和生物活性成分, 还含有多糖肽、生物碱、有机锗、硒元素等比子实体更加丰富

的成分, 是灵芝母体的数十倍^[5]。其药用价值远高于灵芝子实体和菌丝体^[6-8], 药理作用如在增强机体免疫力以及抗肿瘤等方面亦远远超过其母体^[9-11]。而破壁后的灵芝孢子粉中三萜、粗多糖及粗脂肪等有效成分的含量丰富, 更易溶出^[12], 可有效利用孢子内的成分, 直接被人体吸收^[13], 服用更加

*通讯作者: 王欣宇, 硕士, 主要研究方向为中药新药研究与开发。E-mail: 664130853@qq.com

*Corresponding author: WANG Xin-Yu, Master, Yanbian Korean Autonomous Prefecture Academy of Agricultural Sciences, the 2th of Xinfeng, Changbai Mountain City West Road, Yanji 133001, China. E-mail: 664130853@qq.com

方便, 利用率高^[14,15], 其药用价值高出灵芝子实体 75 倍^[16]。

我国长白山地区是天然的森林生态系统的自然保护区^[17], 森林覆盖率占 87.9%, 空气洁净度极高, 生态环境优美, 菌类资源丰富, 是灵芝生长及养分吸收的绝佳处地。目前国内对长白山灵芝进行人工种植^[18]、检测^[19]或比较分析^[20]等的研究, 但关于长白山有机灵芝破壁孢子粉尚未报道, 本研究对其进行毒理学安全性评价研究, 为以长白山有机灵芝破壁孢子粉作为原料的保健食品提供理论依据。

2 材料与方 法

2.1 样 品

长白山有机灵芝破壁孢子粉由延边农业科学院农特产品加工所提供, 是将长白山有机灵芝经过特殊的破壁工艺改进并加工而成, 人口服按推荐剂量为每日 4 g, 成人体重为 60 kg 计算, 折合剂量为 0.0667 g/kg-bw。取胶囊内容物进行实验。

2.2 实验动物

SPF 级 ICR 种小鼠, 取自湖南斯莱克景达实验动物有限公司, 生产许可证号: SCXK(湘)2011-0003; 昆明种小鼠、SD 大鼠, 由长沙市天勤生物技术有限公司提供, 生产许可证号: 2009-0012。实验环境为屏障环境。相对温度: 22~23 °C, 相对湿度: 52%~58%。实验动物使用许可证号: SYXK(湘)2010-0011。

2.3 仪器与试剂

SYSYEMX XT-2000i 全自动血球计数仪(日本希森美康公司), BECKMAN COULTER AU680 全自动生化分析仪(美国贝克曼库尔特有限公司), 谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、总蛋白(total protein, TP)、白蛋白(albumin, ALB)、胆固醇(cholesterol, CHOL)、尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、血糖(blood glucose, GLU)、甘油三酯(triglyceride, TG)试剂盒(上海复星长征医学科学有限公司); 肌酐(Cr)试剂盒(上海申能一德赛诊断技术有限公司)。

2.4 小鼠急性毒性试验

采用最大耐受剂量法。随机选取 SPF 级 ICR 种雌、雄各半小鼠, 共 20 只, 体重为 18~22 g。本样品称取 50.00 g, 加适量蒸馏水至 100 mL, 达到灌胃最大浓度。按 2 次/日, 每次间隔 4 h 给小鼠灌胃, 灌胃体积为 0.2 mL/10 g-bw, 累积剂量为 20.00 g/kg-bw。首次灌胃前禁食 16 h, 灌胃后连续观察两周, 每周称重 1 次, 试验结束后记录中毒表现及死亡情况, 并进行解剖观察。按急性毒性分级标准来评价受试物。

2.5 遗传毒性试验

2.5.1 Ames 试验

对经鉴定符合要求的鼠伤寒沙门氏菌组氨酸缺陷型

TA97、TA98、TA100、TA102 4 株菌株进行试验。将多氯联苯(PCB)诱导的大鼠肝微粒体酶(S-9)作为体外代谢活化系统。试验设 500、1000、200、40、8 μg/皿 5 个剂量, 同时设自发回变、溶剂对照和阳性对照组。样品配制时, 称取样品 1.25 g 加 DMSO 定容至 25 mL, 其浓度为 50 mg/mL, 以此液为原液, 取 5 mL 加 DMSO 至 25 mL 配成 10 mg/mL, 取 10 mg/mL 浓度的液体 5 mL 加 DMSO 至 25 mL 配成 2 mg/mL, 以此类推配成 0.4、0.08 mg/mL 浓度组, 经 0.103 MPa、20 min 灭菌, 备用。试验时, 在顶层琼脂中加入 0.1 mL 受试物溶液、0.1 mL 试验菌株增菌液和 0.5 mL S-9 混合液(当需要代谢活化时), 混匀并倒入底层培养基平板上, 37 °C 培养 48 h, 计每皿菌落数。如受试物的回变菌落数超过自发回变菌落数的 2 倍以上, 且有剂量-反应关系者视为阳性。每个剂量设有 3 个平行皿, 整套试验再重复 1 次。

2.5.2 小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验

采用间隔 24 h 两次经口灌胃法进行试验。将 50 只体重为 25~30 g 的昆明种小鼠, 随机分为 5 组, 雌、雄各半。以 0.04 g/kg-bw 剂量的环磷酰胺为阳性对照, 蒸馏水为阴性对照。试验组低、中、高剂量分别为 2.50、5.00、10.00 g/kg-bw, 分别取样品 12.5、25.00 和 50.00 g 加蒸馏水至 100 mL, 配成受试液 0.2 mL/10 g-bw 的体积给动物灌胃。末次灌胃后 6 h 颈椎脱臼处死动物, 将胸骨骨髓用小牛血清稀释涂片, 甲醇固定, Giemsa 染色。于光学显微镜下, 每只小鼠计数 200 个嗜多染红细胞, 计算嗜多染红细胞与成熟红细胞的比值(PCE/NCE)。计数 1000 个嗜多染红细胞(PCE), 观察含有微核的嗜多染红细胞数及微核率(微核率以千分率计)。

2.5.3 小鼠精子畸形试验

随机选取 25 只体重为 25~35 g 的雄性昆明种小鼠, 分成 5 组。以 0.04 g/kg-bw 剂量的环磷酰胺为阳性对照, 蒸馏水为阴性对照。试验组低、中、高剂量分别为 2.50、5.00、10.00 g/kg-bw, 分别取样品 12.50、25.00、50.00 g 加蒸馏水至 100 mL, 配成相应的受试液给动物灌胃 0.2 mL/10 g-bw。连续灌胃 5 d, 每日 1 次, 于末次灌胃起计 30 d 时处死动物, 将副辜涂片, 伊红染色, 每只小鼠计数 1000 个结构完整的精子, 计算畸变精子发生率。

2.6 30 d 喂养试验

将 80 只雌雄各半 SD 大鼠, 随机分为 4 组, 即对照组及 3 个受试物组, 每组 20 只。设低、中、高剂量分别为 1.67、3.33、6.67 g/kg-bw, 分别相当于人体推荐剂量的 25、50、100 倍。采用将样品掺入饲料给样, 按体重 10%折算, 低、中、高 3 个剂量组分别 1.67%、3.33%、6.67%比例添加样品, 饲料蛋白质含量为 20%, 高剂量组因样品掺入量过高, 故饲料加入 1.91%酪蛋白以调整蛋白含量与其余各组相同。对照组饲以基础饲料连续喂养 30 d。

实验期间每只大鼠单笼饲养, 每天摄食饮水, 自由活

动,每周加食2次,称1次体重,观察其生长情况,记录给食量和剩食量,计算进食量和食物利用率,给样30 d后禁食16 h采血。禁食前和禁食后(采血前)称量动物体重。每只动物眼球采集两份血:抗凝血用全自动血球计数仪测定血红蛋白(Hb)、红细胞压积(HCT),并计数红细胞(RBC)、白细胞(WBC)及其分类、血小板(PLT);非抗凝血分离血清,用全自动生化分析仪测定TP、AST、Cr、ALB、BUN、TG、CHOL、ALT和GLU。颈椎脱臼处死动物后进行解剖,称取肝、肾、脾及睾丸,计算脏/体比值,并对肝、肾、胃、脾、卵巢、睾丸、十二指肠进行病理切片检查。在对各剂量组动物检查若未发现明显病变或生化指标改变,则只对最高剂量组和对照组动物进行组织病理学检查,若发现病变则需要检查较低剂量组相应器官及组织。

2.7 实验数据统计

用Excel、SPSS、INSTAT软件进行统计分析。对数据进行方差齐性检验分析时,若方差齐,采用单因素方差分析进行比较,发现差异则用Dunnett法进行比较。

3 结果与分析

3.1 急性经口毒性试验结果

小鼠经样品给ICR种雌、雄小鼠灌胃后,每周体重均正常,未见明显中毒症状,观察14 d无死亡现象发生。观察期末将受试动物处死进行解剖检查,肝、脾、肾、胃、肠、心、肺等主要脏器,未见明显异常改变,小鼠的最大耐

受剂量(MTD)为20.0 g/kg-bw,根据《保健食品检验与评价技术规范》(2003年版)^[21]中的急性毒性分级标准,说明长白山有机灵芝破壁孢子粉属无毒级。

3.2 遗传毒性试验结果

3.2.1 Ames 试验

无论是否加入S-9混合液,TA97、TA98、TA100、TA102 4株试验菌株各剂量组的回变菌落数均未达到自发回变菌落数的2倍,且无剂量—反应关系,结果表明该受试物诱变试验为阴性,结果见表1~表2。

3.2.2 小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验

从表3可知,环磷酸胺组小鼠的骨髓微核率与阴性对照组比较,具有显著性差异($P<0.01$),而样品各剂量组与阴性对照组比较,均无显著性差异($P>0.05$)。样品各剂量组PCE/NCE比值未少于阴性对照组的20%,表明该样品对小鼠骨髓细胞未见损伤或突变,无明显毒性。

3.2.3 小鼠精子畸形试验

由表4可见,除环磷酸胺组与阴性对照组比较具有显著性差异($P<0.01$),样品各剂量组的小鼠精子畸形发生率与阴性对照组比较均无显著性差异($P>0.05$)。表明该样品对小鼠精子无畸变作用。

3.3 30 d 喂养试验结果

30 d喂养期间,各组动物生长发育良好,无异常现象发生。

表1 样品Ames试验结果(第1次)($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 1 Ames test results of samples (The first time) ($\bar{x} \pm s, n=3$)

受试物	剂量 ($\mu\text{g}/\text{皿}$)	TA97		TA98		TA100		TA102	
		+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9
	5000	143.7 \pm 19.0	134.0 \pm 11.4	43.7 \pm 7.5	38.0 \pm 5.6	171.3 \pm 18.9	176.7 \pm 11.2	267.3 \pm 14.6	276.0 \pm 15.0
	1000	138.0 \pm 17.4	142.7 \pm 11.6	35.0 \pm 7.9	42.0 \pm 3.0	154.7 \pm 11.7	167.3 \pm 24.5	270.3 \pm 17.2	281.3 \pm 13.7
受试物	200	145.7 \pm 10.0	141.0 \pm 22.1	33.7 \pm 8.1	39.3 \pm 3.5	170.7 \pm 13.1	151.7 \pm 11.9	285.3 \pm 13.3	274.0 \pm 14.7
	40	150.0 \pm 15.5	136.0 \pm 13.1	38.3 \pm 6.7	41.3 \pm 5.7	167.7 \pm 14.5	163.3 \pm 19.0	272.0 \pm 14.7	261.7 \pm 13.5
	8	149.3 \pm 10.7	149.0 \pm 16.5	40.7 \pm 4.7	34.7 \pm 3.2	171.0 \pm 9.6	175.0 \pm 13.9	272.7 \pm 20.3	272.3 \pm 20.5
自发回变		154.3 \pm 22.9	143.3 \pm 12.9	34.3 \pm 5.9	33.3 \pm 4.0	174.0 \pm 10.8	170.7 \pm 16.9	284.3 \pm 29.9	273.0 \pm 14.0
溶剂对照		135.3 \pm 30.1	146.3 \pm 34.9	38.7 \pm 1.2	43.0 \pm 4.6	157.7 \pm 10.6	171.3 \pm 15.3	287.0 \pm 13.5	268.3 \pm 26.3
阳性对照		1 254.7 \pm 138.0	1 284.0 \pm 152.7	2 534.7 \pm 150.5	2 360.3 \pm 139.7	2 535.3 \pm 216.4	2 466.0 \pm 140.3	1 108.3 \pm 104.3	2 324.7 \pm 136.6

注:阳性对照:TA97-S9、TA98-S9采用9-芴酮(剂量:0.2 $\mu\text{g}/\text{皿}$);TA100-S9采用NaN₃(剂量:1.5 $\mu\text{g}/\text{皿}$);TA97+S9、TA98+S9、TA100+S9采用2-AF(剂量:10.0 $\mu\text{g}/\text{皿}$);TA102-S9采用MMC(剂量:0.5 $\mu\text{g}/\text{皿}$);TA102+S9采用1,8-二羟基蒽醌(剂量:50.0 $\mu\text{g}/\text{皿}$)。

Note: Positive control: TA97-S9, TA98-S9 using 9-fluorenone (dose: 0.2 μg each plate); TA100-S9 using NaN₃ (dose: 1.5 μg each plate); TA97+S9, TA98+S9, TA100+S9 using 2-AF (dose: 10.0 μg each plate); TA102-S9 using MMC (dose: 0.5 μg each plate); TA102+S9 using 1,8-two hydroxy anthraquinone (dose: 50.0 μg each plate).

表 2 样品 Ames 试验结果(第 2 次)($\bar{x} \pm s, n=3$)
Table 2 Ames test results of samples (The second time) ($\bar{x} \pm s, n=3$)

受试物	剂量 ($\mu\text{g}/\text{皿}$)	TA97		TA98		TA100		TA102	
		+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9
	5000	140.7 \pm 15.0	139.0 \pm 13.0	38.0 \pm 4.6	40.3 \pm 6.4	163.3 \pm 13.1	157.3 \pm 16.1	266.0 \pm 12.2	276.7 \pm 16.6
	1000	139.7 \pm 15.9	134.0 \pm 10.8	33.3 \pm 5.5	42.7 \pm 5.9	170.3 \pm 12.7	165.0 \pm 12.1	285.3 \pm 16.5	289.0 \pm 15.7
受试物	200	152.3 \pm 11.6	145.3 \pm 10.0	44.3 \pm 7.5	41.7 \pm 3.8	156.7 \pm 11.0	170.0 \pm 14.0	289.7 \pm 16.0	276.3 \pm 14.2
	40	138.7 \pm 10.3	135.3 \pm 10.1	37.0 \pm 6.1	36.0 \pm 3.0	164.3 \pm 15.5	176.7 \pm 13.6	262.0 \pm 20.8	276.0 \pm 16.8
	8	134.7 \pm 13.1	153.0 \pm 12.0	41.0 \pm 5.0	39.3 \pm 4.2	155.0 \pm 14.0	164.7 \pm 19.9	288.0 \pm 13.0	279.7 \pm 14.6
自发回变		142.3 \pm 17.8	150.7 \pm 14.5	34.3 \pm 3.1	40.0 \pm 6.6	166.0 \pm 14.9	155.0 \pm 11.1	272.3 \pm 17.0	292.7 \pm 10.1
溶剂对照		130.0 \pm 23.1	133.7 \pm 23.8	42.3 \pm 3.5	41.0 \pm 4.4	176.0 \pm 12.1	182.0 \pm 12.3	266.0 \pm 19.1	287.0 \pm 10.8
阳性对照		1 333.0 \pm 130.4	1347.0 \pm 111.92	755.7 \pm 145.6	2180.0 \pm 115.6	2485.7 \pm 138.6	2534.3 \pm 143.5	1058.7 \pm 114.3	2211.3 \pm 115.8

表 3 样品对小鼠骨髓微核发生率的影响
Table 3 Effects of samples on the incidence of bone marrow cells micronucleus in mice

性别	组别	动物数(只)	受检 PCE 数(个)	含微核 PCE 数(个)	微核率 $\bar{x} \pm s(\%)$	受检 PCE 数(个)	NCE 数(个)	PCE/NCE $\bar{x} \pm s$
雄	高剂量组	5	5000	7	1.4 \pm 0.9	1000	896	1.125 \pm 0.111
	中剂量组	5	5000	5	1.0 \pm 1.0	1000	903	1.113 \pm 0.085
	低剂量组	5	5000	8	1.6 \pm 0.5	1000	884	1.139 \pm 0.101
	阴性对照	5	5000	7	1.4 \pm 0.9	1000	862	1.163 \pm 0.062
	阳性对照	5	5000	124	24.4 \pm 3.1*	1000	963	1.044 \pm 0.086
雌	高剂量组	5	5000	5	1.0 \pm 1.0	1000	869	1.155 \pm 0.076
	中剂量组	5	5000	9	1.8 \pm 0.4	1000	887	1.135 \pm 0.107
	低剂量组	5	5000	6	1.2 \pm 0.8	1000	880	1.143 \pm 0.101
	阴性对照	5	5000	8	1.6 \pm 0.9	1000	871	1.152 \pm 0.070
	阳性对照	5	5000	116	23.2 \pm 3.6*	1000	977	1.026 \pm 0.058

注: *与阴性对照组比较, $P < 0.01$ 。

Note: * compared with the negative control group, $P < 0.01$.

表 4 样品对小鼠的精子畸形发生率的影响
Table 4 Effects of samples on sperm deformity rate in mice

组别	动物数(只)	受检精子数(个)	畸形总数	畸形率(%) ($\bar{x} \pm s$)	各类精子畸形的构成比(%)						
					无钩	香蕉形	胖头	无定形	尾折叠	双头	双尾
高剂量组	5	5000	123	2.46 \pm 0.36	31.7	13.8	18.7	35.8	0.0	0.0	0.0
中剂量组	5	5000	132	2.64 \pm 0.24	30.3	14.4	20.5	34.8	0.0	0.0	0.0
低剂量组	5	5000	115	2.30 \pm 0.35	32.2	16.5	13.0	38.3	0.0	0.0	0.0
阴性对照	5	5000	120	2.40 \pm 0.52	34.2	11.7	14.2	40.0	0.0	0.0	0.0
阳性对照	5	5000	382	7.64 \pm 0.83*	28.8	21.5	16.0	33.5	0.0	0.0	0.3

注: *与阴性对照组比较, $P < 0.01$ 。

Note: * compared with the negative control group, $P < 0.01$.

3.3.1 样品对大鼠体重及食物利用率的影响

饲养期间,各剂量组雌雄鼠每周体重、末重和增重、每周及总进食量、每周及总食物利用率,同性别组间与对照组比较无差异。

3.3.2 样品对大鼠血常规指标的影响

各剂量组雌雄大鼠的血红蛋白、血小板数、红细胞压积、红细胞总数,与对照组比较,差异无显著性

($P>0.05$),大鼠白细胞计数及淋巴细胞、中性粒细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞均无异常。结果见表5、表6。

3.3.3 样品对大鼠生化指标的影响

各剂量组雌雄大鼠的谷丙转氨酶、谷草转氨酶、总蛋白、白蛋白、肌酐、胆固醇、甘油三酯、尿素氮、血糖均达到正常指标,结果见表7、表8。

表5 样品30 d 喂养试验的血液学检查结果($\bar{x} \pm s$)Table 5 Results of hematological examination of 30 d feeding trial of sample ($\bar{x} \pm s$)

性别	组别	动物数(只)	血红蛋白(g/L)	红细胞总数($10^{12}/L$)	红细胞压积(L/L)	血小板数($10^9/L$)
雄	对照组	10	139±5	7.84±0.39	0.42±0.02	756±172
	低剂量	10	140±10	7.86±0.48	0.42±0.03	782±94
	中剂量	10	137±4	7.66±0.28	0.41±0.01	765±99
	高剂量	10	137±7	7.69±0.65	0.41±0.03	702±102
雌	对照组	10	144±8	7.96±0.47	0.42±0.02	578±147
	低剂量	10	140±12	7.54±0.75	0.41±0.04	586±132
	中剂量	10	142±6	7.91±0.47	0.42±0.02	644±125
	高剂量	10	140±8	7.57±0.55	0.41±0.04	672±143

表6 样品对大鼠WBC计数及其分类的影响($\bar{x} \pm s$)Table 6 Effects of samples on white blood cell count and its classification of rats ($\bar{x} \pm s$)

性别	组别	动物数(只)	白细胞计数($10^9/L$)	淋巴细胞(%)	中性粒细胞(%)	单核细胞(%)	嗜酸性粒细胞(%)	嗜碱性粒细胞(%)
雄	对照组	10	10.0±1.50	71.9±5.84	21.0±4.90	6.08±1.65	0.74±0.50	0.02±0.01
	低剂量	10	10.44±2.95	71.12±5.69	21.12±5.64	6.41±1.51	1.11±0.85	0.02±0.01
	中剂量	10	11.30±2.74	70.62±8.12	21.50±7.24	6.60±1.48	1.09±1.00	0.02±0.00
	高剂量	10	11.74±2.11	71.01±8.25	21.89±7.78	6.16±1.21	0.77±0.47	0.02±0.01
雌	对照组	10	9.51±2.84	74.43±8.19	17.83±6.58	6.04±1.63	1.39±0.94	0.03±0.01
	低剂量	10	8.36±1.77	73.70±6.88	19.02±7.17	5.83±1.70	1.10±0.86	0.04±0.02
	中剂量	10	9.28±2.98	75.37±5.45	17.46±4.28	5.44±1.47	1.48±1.05	0.03±0.02
	高剂量	10	9.65±2.63	74.30±7.40	18.15±6.48	6.00±1.23	1.27±1.19	0.03±0.01

表7 样品30 d 喂养试验末期生化检验结果($\bar{x} \pm s$)Table 7 Results of biochemical test at the end of 30 d feeding test of samples ($\bar{x} \pm s$)

性别	组别	动物数(只)	谷丙转氨酶(U/L)	谷草转氨酶(U/L)	总蛋白(g/L)	白蛋白(g/L)
雄	对照组	10	51.23±8.24	148.12±24.40	65.67±3.80	31.90±1.88
	低剂量	10	52.21±8.43	146.54±18.00	64.99±4.55	31.46±1.88
	中剂量	10	55.44±8.79	142.71±28.37	65.74±3.67	32.25±1.96
	高剂量	10	54.45±9.18	138.74±16.48	64.60±4.29	31.40±0.84
雌	对照组	10	54.25±10.41	152.78±24.96	65.58±3.27	31.46±3.39
	低剂量	10	51.37±6.73	146.18±16.48	63.90±7.20	31.43±2.36
	中剂量	10	53.04±8.72	153.92±21.22	64.16±4.56	32.46±1.89
	高剂量	10	54.54±9.30	150.33±15.16	63.07±2.69	32.34±1.71

表 8 样品 30 d 喂养试验末期生化检验结果($\bar{x} \pm s$)
Table 8 Results of biochemical test at the end of 30 d feeding test of samples ($\bar{x} \pm s$)

性别	组别	动物数(只)	胆固醇(mmol/L)	甘油三酯(mmol/L)	尿素氮(mmol/L)	肌酐($\mu\text{mol/L}$)	血糖(mmol/L)
雄	对照组	10	2.05±0.18	1.12±0.36	4.16±0.75	48.57±2.45	4.20±0.69
	低剂量	10	2.01±0.31	1.03±0.25	4.24±0.60	48.33±2.80	3.85±0.34
	中剂量	10	2.06±0.38	1.08±0.28	4.48±0.74	49.87±3.02	4.27±0.62
	高剂量	10	2.03±0.32	1.09±0.33	4.32±0.78	47.95±3.24	4.24±0.64
雌	对照组	10	2.07±0.14	1.12±0.29	5.17±0.91	52.70±3.95	4.87±0.54
	低剂量	10	2.02±0.27	1.04±0.41	5.43±0.84	51.11±4.26	4.88±0.88
	中剂量	10	2.04±0.35	1.01±0.31	5.21±0.63	50.11±3.65	4.50±0.58
	高剂量	10	2.01±0.36	1.15±0.28	5.08±0.80	51.21±4.22	4.83±0.62

3.3.4 样品对大鼠实验末禁食后体重、脏器重量和脏器/体重比值的影响

各组 10 只大鼠实验末禁食 16 h 后体重均无异常变化, 其脏器中肝脏、肾脏、脾脏、睾丸的绝对重量无异常, 各脏器/体重的比值均显正常, 组间无显著差异。

3.3.5 大体解剖及组织学检查结果

对 80 只雌、雄各半大鼠的心、肺、肾、肝、脾、胃、肠、睾丸(卵巢)进行大体解剖检查。通过肉眼观察其脏器的形态结构、色泽、大小均未见异常。对 40 只雌、雄各半高剂量组及对照组大鼠进行镜下检查。结果发现, 高剂量组雌、雄大鼠的肾、肝、脾、胃、肠、睾丸(卵巢)均未见明显与试验因素相关的病理组织学改变。

4 结 论

本研究对长白山有机灵芝破壁孢子粉进行毒理学安全性评价, 结果表明, 在对 ICR 种雌、雄小鼠进行急性毒性试验中发现, 样品的最大耐受剂量(MTD) > 20.00 g/kg·bw, 属无毒级。3 项遗传毒性试验中的结果均为阴性。30 d 喂养试验中, 以 1.67%、3.33%、6.67% 的比例将样品掺入饲料进行喂饲后发现各剂量组体重、食物利用率、血常规指标、血生化指标、脏器重量及系数均无任何影响, 大体解剖和组织病理学检查未见与样品有关的异常变化, 提示长白山有机灵芝破壁孢子粉 30 d 喂养对大鼠未见明显毒副作用。通过各项试验及各项指标观察结果, 说明长白山有机灵芝破壁孢子粉对人体细胞无致突变作用, 无毒副作用。

参考文献

- [1] 陈祖琴, 黄文丽, 金鑫等. 我国灵芝精深加工研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(2): 639-644.
Chen ZQ, Huang WL, Jin X, et al. Research progress on *Ganoderma lucidum* intensive processing in China [J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(2): 639-644.

- [2] 谢意珍, 张智, 李森柱等. 灵芝的开发及加工研究新进展[J]. 微生物学杂志, 2002, 22(6): 43-45.
Xie YZ, Zhang Z, Li SZ, et al. Recent Advances in the development and processing works of the Ling-Zhi fungus (*Ganoderma lucidum*) [J]. J Microbiol, 2002, 22(6): 43-45.
- [3] 徐铮奎. 灵芝类保健品市场发展势头迅猛[J]. 中国医药报, 2010, 3: 1-2.
Xu ZK. Rapid development on health products market momentum of *Ganoderma lucidum* [J]. China Med J, 2010, 3.
- [4] 陶婷婷, 黄厚今. 灵芝孢子粉的保健作用及展望[J]. 北方药学, 2015, 12(5): 113.
Tao TT, Huang HJ. Health function and prospect of *Ganoderma lucidum* spore powder [J]. Northern Pharm, 2015, 12(5): 113.
- [5] 陈宝田, 龙亚秋, 李华, 等. 灵芝孢子粉的药理作用研究进展[J]. 中国药房, 2010, 21(15): 1439-1440.
Chen BT, Long YQ, Li H, et al. Research progress of pharmacological action about spore powder of *Ganoderma lucidum* [J]. Chin Pharm, 2010, 21(15): 1439-1440.
- [6] 罗志明. 灵芝孢子的微量元素含量和药理应用分析[J]. 广东微量元素科学, 2003, 10(8): 42-48.
Luo ZM. Trace element content and pharmacological application Analysis of *Ganoderma lucidum* spores [J]. Guangdong Trace Elem Sci, 2003, 10(8): 42-48.
- [7] 简丽, 方能虎, 吴旦. 灵芝有效成份的研究概况[J]. 中成药, 2002, 24(10): 793-796.
Lin L, Fang NH, Wu D. Research progress on the effective components of *Ganoderma lucidum* [J]. Chin Patent Med, 2002, 24(10): 793-796.
- [8] Bao XF, Fang JN, Li XY. Structural characterization and immunomodulating activity of complex glucan from spores of *Ganoderma lucidum* [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2001, 65(11): 2384-2391.
- [9] 王卫霄, 吕艳茹, 姚苗苗, 等. 灵芝孢子粉抗肿瘤活性的研究进展[J]. 河北医药, 2015, 37(1): 105-108.
Wang WX, Lv YR, Yao MM, et al. Research progress on anti-tumor activity of *Ganoderma lucidum* spore powder [J]. Hebei Med, 2015, 37(1): 105-108.
- [10] 周芬霞. 孢子粉灵芝粉剂活性成分分析及增强免疫力功能研究[D]. 福州: 福建中医药大学, 2014.

- Zhou FX. Studies on the analysis of the active constituents in *Ganoderma lucidum* spore powder and its function of enhancing immunity [D]. Fuzhou: Fujian University of Traditional Chinese Medicine, 2014.
- [11] 李捷, 郑晓艳, 左蕾蕾, 等. 增强免疫力的灵芝孢子保健胶囊的研制[J]. 食品研究与开发, 2012, 33(9): 177-180.
Li J, Zheng XY, Zuo LL, et al. Development of the *Ganoderma Lucidum* spore powder capsule improving immunity [J]. Food Res Dev, 2012, 33(9): 177-180.
- [12] 赵晓燕, 倪伟锋, 邢增涛, 等. 破壁处理对灵芝孢子粉质量的影响[J]. 食用菌学报, 2011, 18(3): 71-73.
Zhao XY, Ni WF, Xing ZT, et al. Effect of sporoderm breakage on the quality of *Ganoderma lucidum* spore powders [J]. Acta Edulis Fungi, 2011, 18(3): 71-73.
- [13] 蔡津生, 曹剑虹, 林树钱, 等. 灵芝孢子粉破壁工艺与装备[J]. 中国食用菌, 2001, 20(1): 35-38.
Cai JS, Cao JH, Lin SQ, et al. *Ganoderma lucidum* spore powder broken technology and equipment [J]. Edible Fungi China, 2001, 20(1): 35-38.
- [14] Zhang SQ, Zhu JJ, Wang CZ, et al. Development of wall breaking method of *Ganoderma lucidum* spores [J]. Trans Chin Soc Agric Mach, 2004, 35(2): 160-162.
- [15] 赵洁胜, 魏联, 虞燕萍等. 灵芝孢子粉破壁率的检验方法研究进展[J]. 中国医药指南, 2013, 11(5): 431-433.
Zhao JS, Wei L, Yu YP, et al. Research progress on the test method of Reishi mushroom powder broken rate [J]. Guide China Med, 2013, 11(5): 431-433.
- [16] Luo ZM. Analysis on the content of trace elements in *Ganoderma* spore and its pharmacology and clinical application [J]. Guangdong Trace Elem Sci, 2003, 10(8): 42-48.
- [17] 陈明. 长白山特色农产品发展战略研究[D]. 上海: 上海交通大学, 2010.
Chen M. The research of development strategy for special farm products in Changbai Mountain [D]. Shanghai: Shanghai Jiaotong University, 2010.
- [18] 李永刚. 人工种植长白山灵芝获得成功[N]. 北京科技报, 2000-7-19(005).
Li YG. Changbai mountain *Ganoderma lucidum* was succeed in artificial cultivation [N]. Beijing Sci-Tech Report, 2000-7-19(005).
- [19] 郑友兰, 刘育辰, 刘刚, 等. 长白山灵芝中糖类物质分析及方法学的研究[J]. 人参研究, 2005, (3): 34-37.
Zheng YL, Liu YC, Liu G, et al. Analysed the contents of sugar constituents in *Ganoderma lucidum* of Changbai Moution and studied methodology [J]. Ginseng Res, 2005, (3): 34-37.
- [20] 聂健, 杨水莲, 莫美华, 等. 7种不同来源灵芝热水提取物体外抗氧化活性研究[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(18): 134-136, 174.
Nie J, Yang SL, Mo MH, et al. Antioxidant activity of hot water extracts from seven different sources of *Ganoderma lucidum* [J]. J Anhui Agric Sci, 2016, 44(18): 134-136, 174.
- [21] 中华人民共和国卫生部. 保健食品检验与评价技术规范(2003版)[Z]. Ministry of health of the people's republic of China. Technical standards for testing & assessment of health Food (The 2003 Edition) [Z].

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



林花, 助理研究员, 主要研究方向为天然产物有效成分提取。
E-mail: 23124951@qq.com



王欣宇, 硕士, 主要研究方向为中药新药研究与开发。
E-mail: 664130853@qq.com