

L-阿拉伯糖大鼠 28 d 重复剂量经口毒性研究

陈耿, 刘协, 施伟庆, 陆罗定, 吴俊, 杨明晶, 吕中明, 卞倩, 奚清丽*

(江苏省疾病预防控制中心毒理与风险评估研究所, 南京 210009)

摘要: **目的** 研究 L-阿拉伯糖对大鼠的亚急性经口毒性。**方法** 根据 GB 15193.22—2014《食品安全国家标准 28 天经口毒性试验》, 选取无特定病原体(specific pathogen free, SPF)级健康 SD (Sprague-Dawley)大鼠, 依体质量随机分成 4 组, 将 L-阿拉伯糖分别按照 0.00、2.50、5.00、10.00 g/kg 掺入基础饲料, 连续饲喂 28 d, 同时加设对照组和高剂量组 2 个卫星组, 恢复期为 14 d。主试验和恢复期结束时, 称量空腹体质量和主要脏器湿重, 采集血样, 进行血液学、血清生化和组织病理学检测。**结果** 与对照组相比, L-阿拉伯糖可有效降低雌、雄大鼠的摄食量和体质量, 且正常饮食后可恢复正常; 未见 L-阿拉伯糖对大鼠一般状况、眼、食物利用率、尿常规、血液学、血生化、脏器湿重、脏器系数、大体解剖及组织病理学产生有毒理学意义的影响。**结论** 在本研究条件下, L-阿拉伯糖对雌、雄大鼠 28 d 经口毒性无可见有害作用剂量(no observed adverse effect level, NOAEL)值分别为 13.67 和 13.92 g/kg(分别相当于 15 g/d 推荐摄入量的 55 和 56 倍)。

关键词: L-阿拉伯糖; 大鼠; 亚急性; 毒性

Study on the L-arabinose 28 d repeated dose oral toxicity in rats

CHEN Geng, LIU Xie, SHI Wei-Qing, LU Luo-Ding, WU Jun, YANG Ming-Jing,
LV Zhong-Ming, BIAN Qian, XI Qing-Li*

(Institute of Toxicology and Risk Assessment, Jiangsu Provincial Center for Disease Control and Prevention,
Nanjing 210009, China)

ABSTRACT: Objective To evaluate sub-acute oral toxicity of L-arabinose in rats. **Methods** According to GB 15193.22—2014 *National food safety standard-Repeated dose 28-day oral toxicity study*, specific pathogen free (SPF) grade healthy Sprague-Dawley (SD) rats were selected and divided randomly based on their bodyweights into 4 groups, L-arabinose were administered via diet at dose levels of 0.00, 2.50, 5.00 and 10.00 g/kg for 28-day, satellite groups of control group and high dose group were added, and the recovery period was 14 d. At the end of the treatment and recovery periods, empty body and the main organs were weighed and blood samples were collected for the hematology, serum biochemistry and histopathology inspection. **Results** Compare with the control group, L-arabinose could significant decrease the body weights and food intakes of male and female rats, and the indicators could recovered after treatment-free; there were no L-arabinose-related toxicological implications on clinical observations, eyes, food utilization, urine routine, hematology, blood chemistries, organ weights, organ/body weight ratios, gross necropsies as well as histopathology in rats. **Conclusion** Under the conditions of this study, the no observed adverse effect levels (NOAEL) for L-arabinose on male and female rats are determined as 13.67, 13.92 g/kg respectively (which are 55 and 56 times of 15 g/d for recommended dose in adults) when administered via diet for 28

*通信作者: 奚清丽, 主任技师, 主要研究方向为食品毒理学研究。E-mail: 13913946652@163.com

*Corresponding author: XI Qing-Li, Chief Technician, Institute of Toxicology and Risk Assessment, Jiangsu Provincial Center for Disease Control and Prevention, No.172, Jiangsu Road, Gulou District, Nanjing 210009, China. E-mail: 13913946652@163.com

consecutive days.

KEY WORDS: *L*-arabinose; rat; sub-acute study; toxicity

0 引言

L-阿拉伯糖(*L*-arabinose)是广泛存在于植物半纤维素和果胶聚合物结构中的五碳醛糖,也是一种低热量的新型甜味剂^[1],具有控制血糖、调节脂代谢及促进肠道益生菌增殖等多种生理功效^[2]。自然界中的*L*-阿拉伯糖常以杂多糖的形式存在,游离态的*L*-阿拉伯糖十分稀少^[3],因此开发新的生产加工工艺以提高该稀有糖的产量,降低其市场价格显得尤为迫切,由此衍生而来的产品安全性问题也成为值得深究的课题。因*L*-阿拉伯糖在自然界中分布广泛,人群可通过食品中添加的阿拉伯树胶和植物性食物中非淀粉多糖(non-starch polysaccharides, NSPs)等多种形式摄入数量可观的*L*-阿拉伯糖。基于长期饮食习惯的研究,未发现食用*L*-阿拉伯糖所致的明显毒副作用^[4]。早在上世纪 70 年代美国食用香料和萃取物制造商协会(Flavour Extract Manufacturers Association, FEMA)已将*L*-阿拉伯糖作为甜味剂用于各类食品当中(FEMA No.3255)^[5]。美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)将*L*-阿拉伯糖列入一般认为安全的物质(generally recognized as safe substances. GRAS) [GRAS Notice (GRN) No.000782],作为增味剂列入添加到食物中的物质清单[(substances added to food, 之前称之为 everything added to foods in the United States (EAFUS)],并规定其在各类食品中的添加量为 0.1%~10%^[6-7]。日本也已将*L*-阿拉伯糖作为与血糖水平有关的特定健康用途食品(food for specified health uses, FOSHU)^[8]。在我国,GB 2760—2007《食品添加剂使用卫生标准》首次将*L*-阿拉伯糖列入允许使用的食品用天然香料名单,编码: N248; 2008 年,*L*-阿拉伯糖被批准作为新资源食品(现更名为新食品原料),可用于除婴幼儿食品以外的各类食品^[9-10]; 2010 年,*L*-阿拉伯糖获得保健食品批文,适宜人群为血糖偏高者或者单纯性肥胖者,食用量为 6.0 g/d^[11]; 现行 GB 2760—2014《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》仍将其列入“允许使用的食品用天然香料名单”,但未对其使用限量进行明确规定。然而,目前国内外有关*L*-阿拉伯糖毒理学安全性的研究资料十分少见,特别是大剂量重复喂养动物试验的研究更是鲜有报道。

根据酸解法,以阿拉伯树胶为原料,利用色谱分离提取技术制取*L*-阿拉伯糖的生产工艺具有得率高、成本低、环境友好的特点,表现出十分广阔的应用前景。该法与已批准作为新资源食品(新食品原料)的*L*-阿拉伯糖在生产原料和提取工艺上均不相同^[9]。因此,有必要对以该法制得的*L*-阿拉伯糖的食用安全性进行研究。

本研究采用大鼠 28 d 重复剂量经口染毒试验,以阐明动物长时间大剂量食用以该法制得的*L*-阿拉伯糖而可能引发的健康危害,为其开发利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

L-阿拉伯糖(纯度>99.0%,产品批号:HGBT-SCCP-SLA0-20190614-03-A,安徽禾庚生物技术有限公司生产),成人每日推荐摄入量为 15 g/d,即 0.25 g/kg(以体质量 60 kg 计,下同)。

福尔马林[分析纯,甲醛含量: 37.0%~40.0%,南京化学试剂股份有限公司];酪蛋白(化学纯,国药集团化学试剂有限公司);COMBI-SCREEN®11SYS PLUS 尿分析试纸条(德国 Analyticon Biotechnologies AG 公司);质控血浆、凝血酶原时间(prothrombin time, PT)、活化部分凝血活酶时间(activated partial thromboplastin time, APTT)等凝血检测试剂盒(德国美创医疗仪器生产贸易有限公司);中值质控品、鞘液/冲洗液(sheath rinse)、系统清洁液(EZ wash)、过氧化氢清洁液(perox sheath)、perox 1、perox 2、perox 3、红细胞/血小板(red blood cell/platelet, RBC/PLT)、血红蛋白(hemoglobin, HGB)、嗜碱性粒细胞(basophil, BA)等全套血液学分析试剂(德国 SIEMENS 公司);丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、谷氨酰转氨酶(glutamyltranspeptidase, GGT)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、总蛋白(total protein, TP)、白蛋白(albumin, ALB)、葡萄糖(glucose, GLU)、尿素氮(urine nitrogen, BUN)、肌酐(creatinine, CRE)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、Cl⁻、K⁺、Na⁺等生化试剂盒(美康生物科技股份有限公司)。

1.2 仪器与设备

DS-671 电子秤(上海寺冈电子有限公司);JJ500 型电子天平(常熟市双杰测试仪器厂);JY-A 型直接检眼镜(上海跃进医用光学器械厂);COMBI®SCAN500 尿分析仪(德国 Analyticon Biotechnologies AG 公司);COATRON®1800 全自动凝血分析仪(德国美创医疗仪器生产贸易有限公司);ADVIA®2120 五分类血液分析仪(德国 SIEMENS 公司);AU640 全自动生化分析仪(日本 OLYMPUS 公司);RM2245 半自动石蜡切片机(德国 LEICA 公司);HISTECH PANNORAMIC MIDI 数字病理扫描分析仪(匈牙利 3DHISTECH 有限公司)。

1.3 实验动物

无特定病原体(specific pathogen free, SPF)级健康 SD

(Sprague-Dawley)大鼠,雌、雄各50只,浙江维通利华实验动物技术有限公司提供,生产许可证号:SCXK(浙)2019-0001号,质量合格证号:1911150062。实验动物屏障环境设施使用许可证号:SYXK(苏)2017-0031号,环境条件:12 h明暗交替,室温(22±2)℃,相对湿度(60±5)%。

1.4 试验方法

1.4.1 动物分组

大鼠进室检疫适应3 d后,称体质量为73~93 g。依据GB 15193.22—2014《食品安全国家标准 28天经口毒性试验》和GB 15193.21—2014《食品安全国家标准 受试物试验前处理方法》的有关规定,分性别按体质量分层随机分入主试验组和卫星组,主试验组设0.00(基础饲料对照组,以下简称对照组)和2.50、5.00、10.00 g/kg 3个受试物剂量组(以下分别简称为低、中和高剂量组,约相当于推荐摄入量的10、20和40倍,高剂量按掺入饲料中的最高限量10%计),每组雌、雄各10只;卫星组由对照组和高剂量组增设而来,用于试验恢复期观察和检测,每组雌、雄各5只。

1.4.2 受试物组成及饲喂方法

动物饲料由苏州双狮实验动物饲料科技有限公司加工和提供,许可证号:苏饲证2017-05005号。低、中、高3个剂量组受试物采用逐级稀释法拌入灭菌基础饲料,掺入比例分别为2.5%、5.0%和10.0% (*m:m*),同时按掺入相应受试物质量20.0% (*m:m*)的比例分别添加酪蛋白以调节各剂量组饲料总蛋白至同批次基础饲料水平,充分混匀后制成颗粒饲料(测定对照组、低、中、高剂量组饲料中粗蛋白含量分别为21.86%、21.33%、21.15%、20.83%, *m:m*),经⁶⁰Co照射,真空密封保存。以每日约100 g/kg的摄食量给予大鼠自由食用按上述比例拌制的饲料,连续饲喂28 d,卫星组恢复期为14 d。所有大鼠均单笼饲养。

1.4.3 观察指标

试验期间的检查内容主要包括:一般观察、眼科检查、尿液检查,以及体质量、摄食量、食物利用率、各剂量组受试物实际摄入量(g/kg)的记录与计算。试验末期所有大鼠禁食(不禁水)16 h,称量空腹体质量后,股动脉放血处死,采集血样并随即进行大体解剖检查与组织病理学采样。

1.4.4 检测指标及方法

血液学检测:PT、APTT:凝固法;白细胞(white blood cell, WBC)、RBC、PLT:流式细胞术结合光散射法;HGB:氰化高铁血红蛋白比色法;红细胞:比容(hematocrit, HCT)计算法;中性粒细胞(neutrophil, NE)、淋巴细胞(lymphocyte, LY)、单核细胞(monocyte, MO)、嗜酸性粒细胞(eosinophil, EO)、BA:光散射法结合过氧化物酶染色法。

生生化检测:ALT:丙氨酸底物法;AST:天门冬氨酸底物法;BUN:脲酶-谷氨酸脱氢酶法;CRE:肌氨酸氧化酶法;TC:胆固醇氧化酶-过氧化物酶偶联法;TG:甘油磷酸氧化酶-过氧化物酶法;GLU:己糖激酶法;TP:双缩脲法;ALB:溴甲酚绿法;Cl⁻、K⁺、Na⁺:电极法。

病理学检查:取肝、脾、肾、睾丸、卵巢等脏器称重,并计算脏器比(脏器比=脏器湿重/空腹体质量×100%);12%福尔马林溶液固定大脑、小脑、心、胸腺、肺、肝、肾、肾上腺、脾、胃、十二指肠、睾丸、卵巢、子宫等脏器,石蜡包埋、苏木素-伊红染色(hematoxylin-eosin staining, HE)染色、阅片。

1.5 统计学分析

采用SPSS Ver.25.0软件进行统计学分析,计量资料以平均数±标准偏差($\bar{x} \pm s$)表示,组织病理学等级资料,根据病变严重程度,以“未见(-)”、“轻度(+)”、“中度(++)”、“重度(+++)”进行量化。各处理组数据均与相应对照组数据相比,满足正态分布且方差齐性数据采用Dunnett-*t*检验,否则采用Kruskal-Wallis秩和检验。与对照组相比,**P*<0.05表示差异显著,***P*<0.01表示差异极显著。

2 结果与分析

2.1 L-阿拉伯糖的检测结果与组成

经国家加工食品及食品添加剂质量监督检验中心(南京)检测,L-阿拉伯糖的含量(以干基计, *m:m*)为99.2%,符合企业标准Q/CZHG01—2018《L-阿拉伯糖》质量规格要求。其他各项理化及微生物学检测结果均符合产品质量要求。检测结果见表1。

表1 L-阿拉伯糖的理化及微生物学检测结果
Table 1 Results of physicochemical and microbiological inspection of L-arabinose

检测项目	技术要求	实测结果	单项评定	检验检测依据
水分/%	≤0.5	0.012	合格	GB 5009.3—2016《食品安全国家标准 食品中水分的测定》
熔点/℃	154.0~160.0	155.0	合格	GB/T 617—2006《化学试剂 熔点范围测定通用方法》
灼烧残渣/%	≤0.1	0.02	合格	GB/T 23532—2009《木糖》
铅/(以Pb计,%)	≤0.5	未检出(定量限:0.05 mg/kg)	合格	GB 5009.12—2017《食品安全国家标准 食品中铅的测定》
总砷/(以As计,%)	≤0.5	未检出(定量限:0.010 mg/kg)	合格	GB 5009.11—2014《食品安全国家标准 食品中总砷及无机砷的测定》
L-阿拉伯糖含量/(以干基计,%)	99.0~102.0	99.2	合格	GB/T 23532—2009
菌落总数/(CFU/g)	≤1000	<10	合格	GB 4789.2—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》

2.2 动物一般状况、生长情况、进食量及食物利用率

试验期间各组大鼠被毛、行为活动、饮水、眼科检查以及尿液外观等未见明显异常,尿液相对密度、pH、尿蛋白、尿糖和潜血等检测指标均无组间差异($P>0.05$,数据略),亦未见其他明显中毒体征或死亡。大鼠生长情况、进食量及食物利用率等结果详见图 1、表 2~4。与对照组相比(下同),高剂量组雌鼠第 2、3、4 周及雄鼠第 1、3、4 周的体质量,以及雌、雄大鼠总增重显著降低($P<0.05$, $P<0.01$);卫星组高剂量组雌鼠第 4 周,雄鼠第 2、3、4 周体质量显著降低($P<0.05$, $P<0.01$),但雌、雄大鼠第 5、6 周恢复期的体质量及 6 周总增重均无显著变化($P>0.05$)。各剂量组雌、雄大鼠多个观察点摄食量及总摄食量显著减少($P<0.05$, $P<0.01$);各剂量组雄鼠食物利用率第 1 周降低,第 2 周升高($P<0.05$, $P<0.01$),但雌、雄大鼠总食物利用率均无显著变化($P>0.05$)。卫星组高剂量组雌鼠第 4 周,雄鼠第 2、3、4 周及 6 周总摄食量显著降低($P<0.05$, $P<0.01$),但雌、雄大鼠第 5、6 周恢复期的摄食量、各观察点食物利用率以及 6 周总食物利用率均无显著变化($P>0.05$)。由此表明,*L*-阿拉伯糖可有效降低雌、雄大鼠的摄食量和体质量,但不影响食物利用率,且饮食恢复正常后,其摄食量、体质量均可恢复正常。主试验高剂量组雌、雄大鼠 28 d 经口实际摄入 *L*-阿拉伯糖的剂量分别为 13.67 和 13.92 g/kg(分别相当于 15 g/d 推荐摄入量的 55 和 56 倍)。

2.3 血液学和血生化检测结果

低、中剂量组雌鼠 EO%显著降低($P<0.05$),其余各剂量组及卫星组高剂量组雌、雄大鼠各项血液学指标均无显著性变化($P>0.05$,数据略)。

由表 5 可见,雌鼠低剂量组 AST、CRE 以及各剂量组 Na^+ 降低,高剂量组 Cl^- 升高;雄鼠各剂组 TP、BUN 升高,GLU 降低,低剂量组 Na^+ 升高,卫星组高剂量组 K^+ 降低,上述差异均有显著性($P<0.05$, $P<0.01$);其余各剂量组及卫星组高剂量组雌、雄大鼠各项生化指标和电解质浓度值均无显著性变化($P>0.05$)。上述差异指标或因数据中存在离群值或因变异系数过小而导致组间出现统计学差异,但各差异指标数值均在正常值范围内(雌鼠 EO% 95%参考区间:0.60~2.60^[12];雌鼠 AST、CRE、 Na^+ 、 Cl^- 95%参考区间分别为:67.89~229.60、19.20~34.19、140~148、99~107;雄鼠 TP、BUN、 Na^+ 、 K^+ 95%参考区间分别为:48.83~68.68、2.73~5.83、139~147、6.08~7.36),也无剂量-反应关系,且雌雄大鼠变化趋势不一致,指标变化值之间无关联性,故不认为上述变化具有生物学意义。特别需要注意的是,雌鼠中、高剂量组和雄鼠各剂量组 GLU 均降低,且雄性大鼠各剂量组 GLU 均显著降低($P<0.05$),而卫星组高剂量组雌、雄大鼠 GLU 无显著性变化($P>0.05$),各组 GLU 数值均在本实验室正常范围内(雌、雄大鼠 GLU 95%参考区间分别为:4.61~7.59 和 4.52~7.28),因此认为 *L*-阿拉伯糖可有效降低大鼠血糖水平,且其降糖作用是生理性的。

2.4 大体解剖及组织病理学检查结果

2.4.1 大体解剖检查

试验结束时对所有大鼠进行大体解剖检查,体表、皮下、颅腔、胸腔、腹腔、盆腔及其脏器均未发现明显异常。由表 6 可见,雌性高剂量组大鼠肝、肾、心脏湿重显著降低($P<0.01$, $P<0.05$),但其脏/体比值差异均无显著性($P>0.05$),结合高剂量组大鼠体质量偏低考虑,认为这些变化不具有毒理学意义;其余各剂量组以及卫星组高剂量组雌、雄大鼠各脏器湿重和脏/体比值差异均无显著性($P>0.05$)。

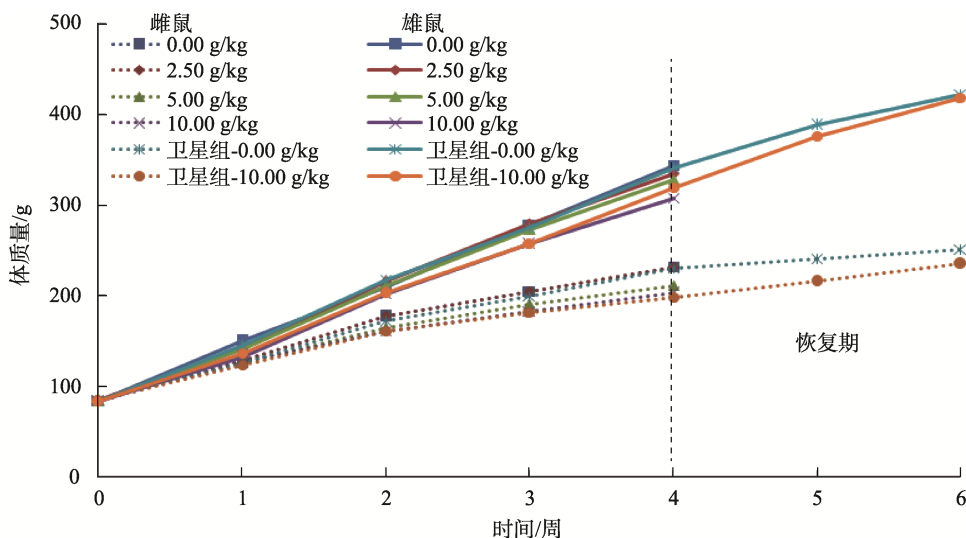


图 1 *L*-阿拉伯糖对大鼠生长曲线的影响

Fig.1 Effects of *L*-arabinose on the growth curves of rats

表 2 *L*-阿拉伯糖对大鼠每周摄食量的影响(g)
Table 2 Effects of *L*-arabinose on weekly food intakes in rats (g)

性别	时间/周	主试验组(<i>n</i> =10)				卫星组(<i>n</i> =5)	
		0.00 g/kg	2.50 g/kg	5.00 g/kg	10.00 g/kg	0.00 g/kg	10.00 g/kg
雌	1	116±5	116±4	114±6	112±6	109±9	104±10
	2	182±13	163±13*	166±19*	155±10**	156±15	159±8
	3	173±11	157±12*	154±18**	152±9**	159±14	146±9
	4	172±16	164±16	160±15	162±14	185±6	152±14**
	5	—	—	—	—	151±10	165±14
	6	—	—	—	—	166±9	169±12
雄	1	139±7	139±7	138±8	132±6	148±4	145±6
	2	224±12	217±8	221±11	218±10	229±2	219±7*
	3	234±16	206±19**	214±18*	204±9**	232±11	217±7*
	4	238±10	217±15**	232±14	211±9**	241±7	223±5**
	5	—	—	—	—	230±12	235±11
	6	—	—	—	—	243±12	239±10

注: —为未检测; 与对照组相比, **P*<0.05 表示差异显著, ***P*<0.01 表示差异极显著, 下同。

表 3 *L*-阿拉伯糖对大鼠每周食物利用率的影响(%)
Table 3 Effects of *L*-arabinose on weekly food utilization in rats (%)

性别	时间/周	主试验组(<i>n</i> =10)				卫星组(<i>n</i> =5)	
		0.00 g/kg	2.50 g/kg	5.00 g/kg	10.00 g/kg	0.00 g/kg	10.00 g/kg
雌	1	38.4±3.6	39.9±5.7	36.4±3.0	38.9±4.5	37.3±6.1	38.0±6.1
	2	26.0±5.5	23.7±5.9	23.0±3.5	21.2±5.1	30.0±1.8	23.2±5.4
	3	16.5±3.0	19.3±4.0	16.2±3.4	14.2±5.0	16.4±9.2	13.9±4.8
	4	15.3±4.6	14.7±5.7	13.3±3.3	12.6±5.6	16.8±2.8	10.5±4.6
	5	—	—	—	—	6.6±3.0	11.0±2.0
	6	—	—	—	—	6.0±2.6	11.4±3.2
雄	1	47.1±5.5	41.6±4.8*	37.1±4.5**	36.0±4.3**	41.1±5.7	36.4±4.7
	2	27.1±3.3	33.8±2.3**	34.2±5.0**	32.4±2.8**	31.8±4.8	30.2±4.7
	3	28.8±4.3	30.8±2.2	28.8±3.7	27.0±2.4	25.0±5.5	25.3±5.5
	4	27.6±7.1	25.4±2.8	23.9±2.9	23.8±2.9	26.7±2.5	27.4±4.7
	5	—	—	—	—	20.7±2.5	24.3±4.2
	6	—	—	—	—	13.8±3.1	17.6±3.0

表 4 大鼠总增重、总进食量、总食物利用率和实际摄取剂量
Table 4 Total bodyweight gains, total food intakes, total food utilization and actual intake doses in rats

性别	项目	主试验组(<i>n</i> =10)				卫星组(<i>n</i> =5)	
		0.00 g/kg	2.50 g/kg	5.00 g/kg	10.00 g/kg	0.00 g/kg	10.00 g/kg
雌	总增重/g	148±25	140±21	127±18	118±13**	166±15	150±26
	总摄食量/g	644±36	601±35*	594±53*	581±21**	925±28	895±40
	总食物利用率/%	22.9±2.8	23.3±3.5	21.3±1.5	20.4±2.3	17.9±1.2	16.7±2.7
	实际摄取剂量/(mg/kg)	—	3329±362	6818±407	13669±768	—	13439±1452
雄	总增重/g	260±21	250±18	244±15	223±12**	337±10	334±17
	总摄食量/g	835±26	779±37**	804±36	765±21**	1323±36	1278±12*
	总食物利用率/%	31.1±2.5	32.1±1.6	30.3±1.4	29.2±1.4	25.5±0.8	26.1±1.6
	实际摄取剂量/(mg/kg)	—	3292±150	6954±147	13920±472	—	14361±621

注: 卫星组实际摄取剂量以染毒期(0~4 周)的数据进行核算。

表 5 *L*-阿拉伯糖 28 d 经口毒性试验大鼠血清生化结果
Table 5 Serum biochemical results of rats in *L*-arabinose 28 d oral toxicity test

性别	项目	主试验组(<i>n</i> =10)				卫星组(<i>n</i> =5)	
		0.00 g/kg	2.50 g/kg	5.00 g/kg	10.00 g/kg	0.00 g/kg	10.00 g/kg
雌	ALT/(U/L)	34±5	35±8	35±7	34±5	41±7	32±5
	AST/(U/L)	154±28	124±9*	153±23	161±24	162±32	130±24
	ALP/(U/L)	156±19	165±37	135±19	171±42	112±38	101±28
	GGT/(U/L)	0.33±0.18	0.43±0.28	0.47±0.18	0.46±0.25	0.56±0.22	0.48±0.25
	TP/(g/L)	65±6	64±4	67±4	64±4	65±5	69±4
	ALB/(g/L)	36±4	36±4	38±3	37±3	37±3	40±2
	GLU/(mmol/L)	6.5±0.5	6.5±0.6	6.2±0.3	6.0±0.6	6.3±0.6	6.6±0.4
	TG/(mmol/L)	0.66±0.30	0.61±0.20	0.59±0.14	0.55±0.20	0.58±0.22	0.70±0.26
	CHO/(mmol/L)	2.12±0.38	2.01±0.37	2.19±0.33	2.18±0.56	2.09±0.26	2.45±0.44
	BUN/(mmol/L)	5.1±0.9	4.6±0.7	5.6±1.2	4.7±0.8	4.8±0.6	4.7±0.6
	CRE/(μmol/L)	31±3	27±2**	29±3	30±4	31±3	32±4
	Na ⁺ /(mmol/L)	144±2	142±2*	141±1**	141±2**	148±2	146±3
	K ⁺ /(mmol/L)	6.70±0.32	6.40±0.41	6.81±0.46	6.57±0.63	6.57±0.59	6.10±0.82
	Cl ⁻ /(mmol/L)	104±2	104±1	104±2	106±1**	106±1	105±2
	ALT/(U/L)	37±6	34±4	39±10	39±6	32±6	42±7
	雄	AST/(U/L)	138±22	143±17	157±42	142±13	119±18
ALP/(U/L)		283±47	265±46	241±47	291±45	193±11	183±34
GGT/(U/L)		0.22±0.10	0.14±0.05	0.26±0.16	0.33±0.11	0.28±0.13	0.28±0.15
TP/(g/L)		55±2	59±3**	58±2**	58±1*	58±4	58±5
ALB/(g/L)		29±2	31±2	30±1	30±2	29±2	29±2
GLU/(mmol/L)		6.8±0.8	6.1±0.5*	6.1±0.6*	6.1±0.3*	7.0±0.9	6.7±0.4
TG/(mmol/L)		0.74±0.26	0.68±0.21	0.76±0.23	0.68±0.23	0.87±0.25	0.97±0.25
CHO/(mmol/L)		1.91±0.32	1.76±0.32	2.03±0.29	1.97±0.35	2.27±0.41	2.26±0.42
BUN/(mmol/L)		3.6±0.4	4.4±0.6**	4.2±0.5*	4.2±0.3**	4.5±0.8	3.7±0.3
CRE/(μmol/L)		24±4	25±2	26±2	27±1	27±3	27±3
Na ⁺ /(mmol/L)		140±2	142±1*	141±1	140±2	146±2	146±2
K ⁺ /(mmol/L)		6.35±0.61	6.57±0.42	6.74±0.18	6.87±0.40	6.83±0.32	6.35±0.25*
Cl ⁻ /(mmol/L)		105±1	105±1	105±1	105±1	105±1	105±2

表 6 *L*-阿拉伯糖 28 d 经口毒性试验大鼠主要脏器湿重和脏体比
Table 6 Organ weights, organ/body weight ratios of rats in 28 d *L*-arabinose oral toxicity test

性别	项目	主试验组(<i>n</i> =10)				卫星组(<i>n</i> =5)	
		0.00 g/kg	2.50 g/kg	5.00 g/kg	10.00 g/kg	0.00 g/kg	10.00 g/kg
雌	空腹体质量/g	221±23	216±19	199±16	191±12	240±18	227±29
	肝/g	7.94±1.33	7.53±0.68	6.93±0.79	6.68±0.74*	7.30±1.01	7.47±1.12
	肝体比/%	3.58±0.30	3.49±0.18	3.48±0.29	3.50±0.30	3.03±0.23	3.29±0.21
	肾/g	2.10±0.23	1.97±0.22	1.92±0.24	1.70±0.14**	1.96±0.26	1.99±0.38
	肾体比/%	0.95±0.08	0.91±0.08	0.96±0.07	0.89±0.06	0.82±0.05	0.87±0.07
	脾/g	0.52±0.11	0.47±0.12	0.41±0.07	0.46±0.06	0.50±0.06	0.51±0.15
	脾体比/%	0.23±0.03	0.21±0.04	0.21±0.04	0.24±0.02	0.21±0.02	0.22±0.04
	心/g	0.92±0.09	0.92±0.12	0.84±0.15	0.80±0.08*	0.86±0.02	0.91±0.15
	心体比/%	0.42±0.04	0.43±0.05	0.42±0.05	0.42±0.03	0.36±0.03	0.40±0.04

表 6(续)

性别	项目	主试验组($n=10$)				卫星组($n=5$)	
		0.00 g/kg	2.50 g/kg	5.00 g/kg	10.00 g/kg	0.00 g/kg	10.00 g/kg
雌	胸腺/g	0.69±0.12	0.65±0.18	0.54±0.19	0.59±0.11	0.56±0.10	0.57±0.16
	胸腺体比/%	0.31±0.05	0.30±0.06	0.28±0.10	0.31±0.05	0.23±0.02	0.25±0.05
	肾上腺/g	0.058±0.010	0.062±0.015	0.062±0.009	0.057±0.009	0.069±0.007	0.071±0.008
	肾上腺体比/%	0.026±0.004	0.029±0.008	0.031±0.004	0.030±0.004	0.029±0.004	0.031±0.004
	空腹体质量/g	326±20	318±21	311±12	289±15	409±16	400±22
	肝/g	10.98±0.82	11.24±1.80	11.14±0.82	10.13±0.75	12.89±0.81	13.05±1.14
	肝体比/%	3.37±0.31	3.53±0.36	3.59±0.17	3.51±0.24	3.15±0.11	3.27±0.30
	肾/g	2.91±0.34	3.02±0.36	2.97±0.29	2.68±0.30	3.31±0.22	3.24±0.27
	肾体比/%	0.89±0.08	0.95±0.11	0.95±0.07	0.93±0.09	0.81±0.05	0.81±0.09
	脾/g	0.76±0.13	0.73±0.16	0.81±0.18	0.71±0.21	0.88±0.04	0.82±0.08
雄	脾体比/%	0.23±0.04	0.23±0.04	0.26±0.05	0.25±0.08	0.22±0.01	0.20±0.02
	心/g	1.36±0.20	1.24±0.10	1.29±0.12	1.21±0.19	1.39±0.07	1.34±0.06
	心体比/%	0.42±0.06	0.39±0.02	0.42±0.05	0.42±0.08	0.34±0.02	0.34±0.03
	胸腺/g	0.85±0.17	0.87±0.07	0.79±0.18	0.82±0.21	0.75±0.19	0.64±0.12
	胸腺体比/%	0.26±0.05	0.27±0.02	0.25±0.05	0.28±0.06	0.18±0.04	0.16±0.03
	肾上腺/g	0.059±0.007	0.058±0.013	0.058±0.012	0.051±0.012	0.060±0.013	0.058±0.015
	肾上腺体比/%	0.018±0.002	0.019±0.004	0.019±0.003	0.018±0.004	0.015±0.003	0.014±0.003
	睾丸/g	2.83±0.32	2.89±0.21	2.83±0.15	2.77±0.20	3.37±0.23	3.23±0.33
睾丸体比/%	0.87±0.09	0.91±0.07	0.91±0.07	0.96±0.09	0.82±0.04	0.81±0.04	

2.4.2 组织病理学检查

对高剂量组和对对照组大鼠的组织病理学进行检查,发现对照组雌鼠 2 例肝小叶肝细胞轻度脂肪变性、雄鼠 1 例肝局部中央静脉轻度充血,高剂量组雌、雄鼠各 1 例局部肝细胞轻度脂肪变性、雄鼠 1 例局部肝叶门管区轻度炎细胞浸润,其余各组织均未见明显异常,见图 2。肝组织的病理改变程度较轻且无组间差别($P>0.05$,数据略),考虑与实验动物质量及动物自发性病变有关^[13-14],而排除与 *L*-阿拉伯糖明显有关的特异性组织病理学改变。

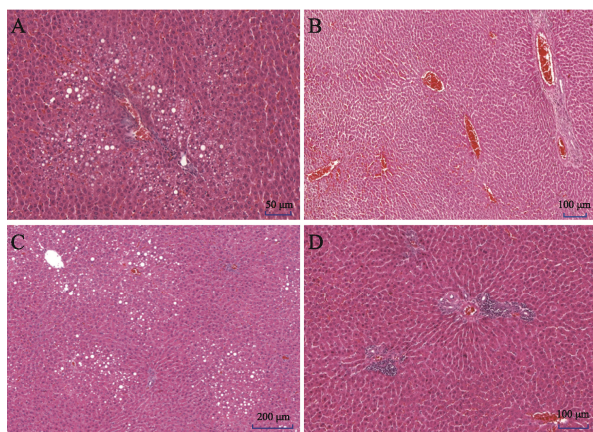
3 结论与讨论

本研究对根据酸解法,以阿拉伯树胶为原料,经稀酸水解、中和、脱色、色谱分离、除盐、浓缩、结晶、干燥等步骤生产的 *L*-阿拉伯糖进行 28 d 经口毒性试验,结果显示:与对照组相比,高剂量组大鼠摄食量减少、体质量和总增重降低、脏器湿重降低,但是食物利用率和脏/体比值差异无显著性;卫星组试验结果显示高剂量组大鼠摄食量、体质量和总增重在经历 2 周的恢复期后,与对照组无显著性差异。尿液、血液学、血生化、大体解剖

及组织病理学检查均未见与 *L*-阿拉伯糖明显有关的异常变化或特异性组织病理学改变。故由摄食量减少引起的体质量和总增重降低,可能与 *L*-阿拉伯糖的某些生理功能有关^[15-17]。这与 SHUNSUKE 等^[18]的 *D*-阿拉伯糖 28 d 喂养研究结果一致。该研究结果显示:在日粮中以 0%、5%、10%、15% 的比例掺入 *D*-阿拉伯糖连续饲喂 3 周龄 Waster 大鼠 28 d,发现各受试物剂量组大鼠均可见明显腹泻,终末体质量、总增重及日平均摄食量均明显降低,且呈现明显剂量-反应关系,但总食物利用率未见明显差异。由此可见,不同构象的阿拉伯糖均表现出减少摄食、减轻体质量的生理功效。这可能与 *L*-阿拉伯糖作为蔗糖酶的抑制剂,可有效减缓碳水化合物分解为葡萄糖或果糖的速度、减少葡萄糖的吸收、抑制进食后血糖的急剧上升、降低胃排空的速度、抑制摄食的生理机制有关^[19]。基于美国 FDA 规定 *L*-阿拉伯糖在各类食品中的添加量为 0.1%~10% ($m:m$)^[6]、我国食品亚急性/亚慢性毒性试验“首选将受试物掺入饲料中喂养”的原则^[20]以及“*L*-阿拉伯糖不属于具有挥发性、有刺激性气味而影响适口性的物质”^[21-22]等因素的考虑,本研究选择通过掺入饲料的方式

作为评价 *L*-阿拉伯糖亚急性毒性的染毒方法。然而, 上述各受试物组大鼠体质量、摄食量的变化也可能与 *L*-阿拉伯糖掺入饲料比例较高, 影响饲料适口性的有关, 对此需进行更深入地研究。

综上所述, 28 d 经口重复染毒试验, 未发现 *L*-阿拉伯糖的毒性效应或靶器官, 根据主试验高剂量组动物的实际摄入量计算, 其对雌、雄大鼠 28 d 经口毒性无可见有害作用剂量(no observed adverse effect level, NOAEL)值分别为 13.67 和 13.92 g/kg(分别相当于 15 g/d 推荐摄入量的 55 和 56 倍)。值得注意的是, *L*-阿拉伯糖能降低 SD 大鼠血糖水平, 特别对雄性大鼠降糖作用显著, 且其降糖作用是可逆的、生理性的。这为 *L*-阿拉伯糖在食品工业当中的进一步应用提供了安全性和功能学数据。



注: A. 门管区肝细胞轻度脂肪变性; B. 中央静脉轻度充血; C. 肝细胞轻度脂肪变性; D. 门管区轻度炎细胞浸润。

图 2 *L*-阿拉伯糖 28 d 经口毒性试验大鼠肝组织病理学变化
Fig.2 Histopathologic changes of the livers of rats in 28 d *L*-arabinose oral toxicity test

参考文献

- [1] NOLLES R, BENSCHOP A. *L*-Arabinose: A novel food ingredient for a healthier living [C]. Annual TechConnect world innovation conference & expo; National SBIR/STTR conference; Annual nanotech conference and expo, 2016.
- [2] 王立, 王雨, 李言, 等. *L*-阿拉伯糖生理活性研究进展[J]. 食品与生物技术学报, 2021, 40(1): 20–27.
WANG L, WANG Y, LI Y, *et al*. Research progress of physiological activities of *L*-arabinose [J]. *J Food Sci Biotechnol*, 2021, 40(1): 20–27.
- [3] 张军良, 郭燕文. 基础糖化学[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2008.
ZHANG JL, GUO YW. *Basic carbohydrate chemistry* [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2008.
- [4] European Chemicals Agency. *L*-arabinose repeated dose toxicity: Oral [EB/OL]. [2017-07-01]. [https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/25105/7/6/2/?DocumentUUID=8882f8e0-78fd-45a4-](https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/25105/7/6/2/?DocumentUUID=8882f8e0-78fd-45a4-9f7b-f1ef6b8f5c94)

- 9f7b-f1ef6b8f5c94 [2021-05-18].
- [5] OSER BL, HALL RL. Recent progress in the consideration of flavoring ingredients under the food additives amendment. 5.GRAS substances [J]. *Food Technol*, 1972, 26(5): 35–42.
- [6] Food and Drug Administration. GRAS Notices No. 782. *L*-arabinose [EB/OL]. [2018-08-29]. <https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices&id=782> [2021-05-18].
- [7] Food and Drug Administration. Substances added to food (formerly EAFUS) *L*-arabinose [EB/OL]. [2021-03-23]. <https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=FoodSubstances&id=ARABINOSE> [2021-05-18].
- [8] Food for Specified Health Uses website. Japanese Ministry of Health, Labour and Welfare [EB/OL]. [2021-03-23]. <http://www.mhlw.go.jp/english/topics/foodsafety/fhc/02.html> [2021-05-18].
- [9] 中华人民共和国卫生部. 关于批准嗜酸乳杆菌等 7 种新资源食品的公告(卫生部公告 2008 年第 12 号)[EB/OL]. [2008-05-26]. <http://www.nhc.gov.cn/bgt/pw10807/200805/8a2f4c86115347679991de64d6408f93.shtml> [2021-05-18].
Ministry of Health of the People's Republic of China. Notice on the approval of *Lactobacillus acidophilus* *et al* as new resources food [EB/OL]. [2008-05-26]. <http://www.nhc.gov.cn/bgt/pw10807/200805/8a2f4c86115347679991de64d6408f93.shtml> [2021-05-18].
- [10] 国家卫生和计划生育委员会. 新食品原料安全性审查管理办法(国家卫生和计划生育委员会令 2013 年第 1 号)[EB/OL]. [2013-05-31]. http://www.gov.cn/gongbao/content/2013/content_2501883.htm [2021-05-18].
National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China. Administration methods of safety review on new food raw materials (Ordinance of National Health and Family Planning Commission. No.1 of 2013) [EB/OL]. [2013-05-31]. http://www.gov.cn/gongbao/content/2013/content_2501883.htm [2021-05-18].
- [11] 中华人民共和国市场监督管理总局. 特殊食品信息查询平台国产保健食品[EB/OL]. [2019-07-16]. <http://tsspxx.gsxt.gov.cn/gcbjp/detail.xhtml?id=C272152CD02F5057E055620810C6201A&lb=GC> [2021-05-18].
State Administration for Market Regulation of the People's Republic of China. Special Food Information Query Platform Domestic health food [EB/OL]. [2019-07-16]. <http://tsspxx.gsxt.gov.cn/gcbjp/detail.xhtml?id=C272152CD02F5057E055620810C6201A&lb=GC> [2021-05-18].
- [12] 陈耿, 张颖, 施伟庆, 等. SPF 级 SD 大鼠血液学指标 95%参考区间的建立及性别差异探讨[J]. 江苏预防医学, 2019, 30(6): 614–616, 621.
CHEN G, ZHANG Y, SHI WQ, *et al*. The establishment of reference ranges with 95% confidence levels of hematological indexes of SPF grade SD rats and investigation of differences between genders [J]. *Jiangsu J Prev Med*, 2019, 30(6): 614–616, 621.
- [13] ELIZABETH FM. Background Lesions in Laboratory Animals. A Color Atlas [M]. Edinburgh: W.B. Saunders Ltd, 2011.
- [14] 李超, 董浩迪, 徐琳凯, 等. 2014 年北京地区啮齿类实验动物质量的病理学评价[J]. 中国比较医学杂志, 2015, 25(5): 67–70.
LI C, DONG HD, XU LK, *et al*. Assessing the quality of rodent laboratory animals in Beijing area by pathological diagnosis in October 2014 [J]. *Chin J Comp Med*, 2015, 25(5): 67–70.

- [15] ZHAO L, WANG Y, ZHANG G, *et al.* *L*-arabinose elicits gut-derived hydrogen production and ameliorates metabolic syndrome in C57BL/6J mice on high-fat-diet [J]. *Nutrients*, 2019, 11(12): 3054–3082.
- [16] WANG Y, GUAN Y, XUE L, *et al.* *L*-arabinose suppresses gluconeogenesis through modulating AMP-activated protein kinase in metabolic disorder mice [J]. *Food Funct.* 2021, 12(4): 1745–1756.
- [17] HAO L, LU X, SUN M, *et al.* Protective effects of *L*-arabinose in high-carbohydrate, high-fat diet-induced metabolic syndrome in rats [J]. *Food Nutr Res*, 2015, 10(59): 28886–28895.
- [18] SHUNSUKE H, TATSUHIRO M. Toxicity of *D*-arabinose in male and female rats [J]. *J Food Hyg Soc Jap*, 2018, 59(3): 114–120.
- [19] SERI K, SANAI K, MATSUO N, *et al.* *L*-arabinose selectively inhibits intestinal sucrase in an uncompetitive manner and suppresses glycemic response after sucrose ingestion in animals [J]. *Metabolism*. 1996, 45(11): 1368–1374.
- [20] 国家食品安全风险评估中心. 《食品安全国家标准食品安全性毒理学评价程序和方法》实施指南[M]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
China National Center for Food Safety Risk Assessment. Implementation guide of “Food Safety National Standards Procedures and methods for toxicological assessment of food safety” [M]. Beijing: Quality and Standards Press of China, 2016.
- [21] 周克夫, 韩伟, 张忠英, 等. *L*-阿拉伯糖对高糖高脂喂养小鼠体质量及耐糖量的影响[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2008, 47(6): 772–776.
- ZHOU KF, HAN W, ZHANG ZY, *et al.* Effects of *L*-arabinose as inhibitor on body mass and sucrose tolerance in mice with high fat and high sucrose feeding [J]. *J Xiamen Univ (Nat Sci Ed)*, 2008, 47(6): 772–776.
- [22] National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 5460291, *L*-(+)-arabinose [EB/OL]. [2021-05-07]. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5460291> [2021-05-18].

(责任编辑: 郑丽 张晓寒)

作者简介

陈耿, 助理研究员, 主要研究方向为食品毒理学。

E-mail: cheng@jcsdc.cn



奚清丽, 主任技师, 主要研究方向为食品毒理学研究。

E-mail: 13913946652@163.com