

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240102009

3 种功能食品原料提取物毒性研究及安全性评价

陈力¹, 陈湛², 范青生^{2*}

(1. 中储粮江西质检中心有限公司, 南昌 330004; 2. 南昌大学中德联合研究院, 南昌 330047)

摘要: **目的** 研究 3 种功能食品原料(红景天、五味子和蜂花粉)醇/醇水提取物毒性并评价其安全性。**方法** 利用小鼠急性毒性实验、遗传毒性实验(小鼠骨髓细胞微核实验、雄性小鼠精子畸形实验)和大鼠 30 d 喂养实验对 3 种提取物的毒性进行考察。**结果** 小鼠对红景天、五味子和蜂花粉提取物的最大耐受量都大于 20 g/(kg·bw); 3 种提取物在遗传毒性实验均呈阴性反应; 给予大鼠 5.0 g/(kg·bw)红景天、五味子、蜂花粉提取物(分别相当于成人日推荐量 250 倍、250 倍、500 倍)连续灌胃 30 d, 大鼠生长正常, 无中毒症状、异常症状和死亡, 各试食组动物体重、进食量、饲料利用率、血常规指标、常见血液生化指标、脏器重量以及病理组织学等指标与阴性对照组比较, 无毒性反应。**结论** 红景天、五味子、蜂花粉提取物属无毒物质, 无遗传毒性和长期毒性。本研究为以红景天、五味子和蜂花粉提取物为原料的功能食品开发和应用提供了一定的安全性依据。

关键词: 红景天; 五味子; 蜂花粉; 醇提取物; 毒性; 安全性评价

Toxicity study and safety evaluation of extracts from 3 kinds of functional food raw materials

CHEN Li¹, CHEN Zhan², FAN Qing-Sheng^{2*}

(1. China Grain Reserves Jiangxi Quality Inspection Center Co., Ltd., Nanchang 330004, China;
2. Sino German Joint Institute, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

ABSTRACT: Objective To study the toxicity and safety of alcohol/alcohol water extracts from 3 kinds of functional food raw materials (*Rhodiola*, *Schisandra* and bee pollen). **Method** The toxicity of the extracts were investigated using acute toxicity tests, genetic toxicity tests (bone marrow micronucleus test, sperm malformation test) in mice and 30 day feeding tests in rats. The maximum tolerable dose of mice to extracts of *Rhodiola*, *Schisandra* and bee pollen were all greater than 20 g/(kg·bw). The genotoxicity tests of 3 kinds of extracts were negative in genetic toxicity tests. Rats were gavaged 5.0 g/(kg·bw) *Rhodiola*, *Schisandra* and bee pollen extract (equivalent to 250 times, 250 times and 500 times the recommended daily dose for adults, respectively) for 30 days, and the rats grew normally, without poisoning symptoms, abnormal symptoms and death. Compared with the negative control group, there was no toxic reaction in body weight, feed intake, feed utilization, blood routine index, common blood biochemical index, organ weight and histopathology. **Conclusion** *Rhodiola*, *Schisandra* and bee pollen extracts are non-toxic substances with no genetic or long-term toxicity. This study provides a safety basis for the

基金项目: 江西省重点研发计划重点项目(20192ACB60006)

Fund: Supported by the Key Project of Jiangxi Province Key Research and Development Program (20192ACB60006)

*通信作者: 范青生, 硕士, 研究员, 主要研究方向为功能食品开发。E-mail: cnfoods@163.com

*Corresponding author: FAN Qing-Sheng, Master, Professor, Nanchang University, No.235, Nanjingdong Road, Qingshanhu District, Nanchang 330047, China. E-mail: cnfoods@163.com

development and application of functional foods of *Rhodiola*, *Schisandra* and bee pollen.

KEY WORDS: *Rhodiola*; *Schisandra*; bee pollen; ethanol extract; toxicology; safety evaluation

0 引言

红景天(*Rhodiola*)、五味子(*Schisandra*)和蜂花粉(bee pollen)是保健食品常见的 3 种原料,在我国具有长期食用历史。由于一直采用水提方式食用,一般认为水提物是安全的。

红景天功效成分为红景天苷^[1],具有降血脂、保护神经系统和抗氧化等多种功能^[2-4],易溶于乙醇,因此可以用乙醇溶液进行提取^[5-6];五味子含有丰富的五味子甲素、乙素等木脂素成分,是一类脂溶性小分子化合物,具有抗炎、抗肿瘤、保肝、抗氧化、神经保护、降血糖等多种药理作用^[7-8]。木脂素溶于乙醇等有机溶剂,难溶于水^[9],因此,五味子最适合乙醇提取^[10-12];油菜蜂花粉主要功效成分为总多酚和类黄酮类化合物,适用于乙醇溶液提取^[13-15],获得的醇提物具有抗氧化、增强免疫力作用^[16]。

这 3 种原料的功效成分的化合物特性决定了仅用水提工艺其功效成分提取率低,采用醇提可以保证功效成分的高转移率。但采取乙醇提取的方式,各个提取物的组成可能发生改变,由此可能会产生安全问题。研究表明,水提物与醇提物的毒性具有显著差异,醇提物毒性可能大于水提物,如补骨脂^[17]、决明子^[18]、益母草^[19],作为功能食品原料尽量选用水提工艺以保证安全有效。目前,红景天、五味子和蜂花粉醇提取物安全性的研究报道不足,为保障功效成分有效利用和安全性,本研究对红景天醇提取物、五味子和蜂花粉醇水提取物进行毒理研究,以期为功能食品开发提供一定的毒理学研究支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

酒精(食品级,济南源飞伟业化工有限公司);环磷酰胺(批号 1B453A,分析纯,德国 Baxter Oncology 公司);分析试剂盒(临床化学校准血清批号 901UN,上海复星长征医学科学有限公司)。

红景天、五味子、蜂花粉提取物由西安三江生物工程有限公司提供,将红景天、五味子、蜂花粉分别用 80%食用酒精在 80℃下回流提取 2 次,每次 2 h,合并滤液。红景天过滤液经减压浓缩、6000 r/min 离心去渣、喷雾干燥制得,提取得率 20%;五味子醇提药渣加水提取 2 次,每次 1 h,合并醇提液,减压浓缩,喷雾干燥制得,提取得率 20%;将蜂花粉醇提药渣加水 90℃浸提 4 h,合并醇提液,减压浓缩,喷雾干燥制得,提取得率 10%。这 3 种原料在功能食品中成人常见用量都是每天 6 g,折合提取物用量分别为

红景天提取物 1.2 g、五味子提取物 1.2 g、油菜蜂花粉提取物 0.6 g,按成人 60 kg 体重分别折合 20 mg/(kg·bw)、20 mg/(kg·bw)、10 mg/(kg·bw)。

1.2 仪器

BC-30 全自动血液细胞分析仪、BS-200 全自动生化分析仪(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司);UV-5100 紫外可见分光光度计(上海精密仪器仪表有限公司)。

1.3 实验动物

Wistar 大鼠(SPF 级,体重 60~80 g)和昆明种小鼠(SPF 级,体重 18~22 g)从湖北省实验动物研究中心购买,SPF 级昆明种小鼠,SPF 级的 Wistar 大鼠。生产许可证号为 SCXK(鄂)2015-0018。饲养环境温度 20~26℃,湿度 40%~70%。

1.4 实验方法

1.4.1 急性毒性实验

SPF 级昆明种小鼠(体重 18~22 g) 60 只,雌雄各半。设置单一剂量 20.0 g/(kg·bw)。准确称取样品 20.0 g,加入适量纯水定容至 40 mL,质量浓度为 0.5 g/mL,配制时和使用前充分混匀。动物适应性喂养 3 d,给予受试样品前禁食不禁水,16 h 后称重,按体重分 2 次灌胃,时间间隔为 4 h,单次灌胃容量为 20 mL/(kg·bw)。灌胃当天连续观察 14 d 内小鼠健康状况和死亡数,确定最大耐受量,判断急性毒性。

1.4.2 遗传毒性实验

小鼠骨髓细胞微核实验:根据保健食品常用最大剂量,各组提取物设置剂量为 5.0 g/(kg·bw),红景天提取物、五味子提取物相当于成人日推荐量 250 倍,蜂花粉提取物相当于成人日推荐量 500 倍。将小鼠 50 只随机分为 5 组(每组 10 只,雌雄各半),设 3 个实验组(用水配制混悬液),另设溶剂水对照组、环磷酰胺阳性对照组[40 mg/(kg·bw)]。按 10 mL/(kg·bw)分别于第 0 h、24 h 灌胃,第 30 h 处死后进行动物制片。计数 1000 个嗜多染红细胞(polychromatic erythrocyte, PCE),观察含有微核 PCE 数,计数含微核的和微核 PCE 千分数。

小鼠精子畸形实验:25 只雄性小鼠随机分为 5 组,每组 5 只,设 3 个实验组(提取物用水配制成混悬液),另设对照组(水)和阳性对照组[环磷酰胺 40 mg/(kg·bw)],按 10 mL/(kg·bw)灌胃连续 5 d。第 35 d 处死小鼠并取双侧附睾制片,显微镜下观察 5000 个精子并分别记录各类畸形精子数。

1.4.3 30 d 喂养实验

SPF 级的 Wistar 大鼠 80 只(体重 60~80 g,雌雄各半)适应性喂养 3 d 后,随机分成一个对照组和 3 个实验组,实

验组设置单一剂量组 5.0 g/(kg·bw), 红景天提取物、五味子提取物相当于成人日推荐量 250 倍, 蜂花粉提取物相当于成人日推荐量 500 倍。每组雌雄各 10 只, 分别给予纯水和不同剂量的受试样品 30 d 后, 禁食 16 h, 由腹主动脉采血进行血液、生化指标的检测, 放血处死动物, 进行大体解剖观察、脏器称重和脏器的病理组织学检查。记录每周体重、两次给食量和剩食量, 计算摄食量、周食物利用率和总食物利用率。

1.5 数据处理

运用 SPSS 软件按动物性别分别统计, 采用 *t* 检验, 计数资料和等级资料采用非参数统计法。数据用平均数±标准偏差表示。

2 结果与分析

2.1 急性毒性实验结果分析

急性毒性实验是评价安全性的一项重要指标, 是毒性研究的第一步。在 14 d 的观察期内, 小鼠无中毒异常症状和死亡, 两次灌胃累计剂量达 20.0 g/(kg·bw), 最大耐受剂量(maximum tolerable dose, MTD)大于 20.0 g/(kg·bw)(表 1), 按急性毒性分级标准, 红景天、五味子和蜂花粉提取物属无毒级。

表 1 急性毒性实验(n=10)
Table 1 Acute toxicity test results on mice (n=10)

组别	剂量 /[g/(kg·bw)]	动物数 /只	死亡数 /只	MTD /[g/(kg·bw)]	急性毒性 分级
红景天	20	10	0	>20	无毒级
五味子	20	10	0	>20	无毒级
蜂花粉	20	10	0	>20	无毒级

表 2 小鼠骨髓细胞微核实验结果(n=10)
Table 2 Results of the micronucleus test on mouse bone marrow cells (n=10)

性别	组别	动物数 /只	PCE 数 /个	PCE/NCE		含微核 PCE 率		
				NCE 数 /个	PCE/ (PCE+NCE)%	观察 PCE 数 /个	含微核 PCE 数 /个	含微核 PCE 率/%
雌	阴性对照	5	1000	884	53.1	5000	15	3.0±0.7
	红景天	5	1000	876	53.3	5000	16	3.2±1.1
	五味子	5	1000	887	53.0	5000	13	2.6±1.1
	蜂花粉	5	1000	873	53.4	5000	14	2.8±0.8
雄	阳性对照	5	1000	1054	48.7	5000	90*	18.0±2.5*
	阴性对照	5	1000	881	53.2	5000	4	2.8±1.3
	红景天	5	1000	880	53.2	5000	4	2.8±1.3
	五味子	5	1000	878	53.2	5000	15	3.0±1.2
	蜂花粉	5	1000	884	53.1	5000	15	3.0±1.4
	阳性对照	5	1000	1022	49.5	5000	93*	18.6±1.3*

注: * 与阴性对照组比较, 表示具有显著性差异($P < 0.01$)。

2.2 小鼠骨髓细胞微核实验结果分析

本研究观察了小鼠骨髓细胞微核发生率及 PCE 与正常红细胞(normochromatic erythrocyte, NCE)比值, 阳性对照组环磷酰胺使雌雄小鼠微核率显著升高($P < 0.01$), 红景天、五味子和蜂花粉提取物各组雌雄小鼠微核率与阴性对照组比较, 差异均无显著性($P > 0.05$), 表明红景天、五味子和蜂花粉提取物骨髓细胞微核实验结果为阴性, 结果详见表 2。

2.3 小鼠精子畸形实验结果分析

通过观察小鼠灌胃红景天、五味子和蜂花粉提取物后诱导小鼠精子形态出现异常的情况来评价其在体内是否对生殖细胞有致突变作用。与阴性对照组比较, 阳性对照组小鼠精子畸形发生率有显著性差异($P < 0.01$), 与阴性对照组比较, 各组精子畸形发生率差异均无显著性($P > 0.05$), 红景天、五味子和蜂花粉提取物精子畸形实验结果都为阴性, 结果见表 3。

2.4 30 d 喂养实验结果分析

2.4.1 动物一般表现

在 30 d 喂养实验期间, 大鼠生长发育正常, 未见异常行为和中毒表现, 无死亡, 可初步判断红景天、五味子和蜂花粉提取物具有一定的安全性。

2.4.2 对大鼠体重及食物利用率的影响

红景天、五味子和蜂花粉提取物给大鼠灌胃 30 d, 大鼠体重及总食物利用率结果见表 4。表 4 的结果显示, 红景天、五味子和蜂花粉提取物各组大鼠周体重、总增重量、总进食量及总食物利用率与对照组比较无显著变化($P > 0.05$), 说明 3 种提取物对大鼠摄食、食物利用率和生长也无明显影响。红景天、五味子和蜂花粉提取物无异味, 不影响大鼠摄取食物。

表 3 小鼠精子畸形实验结果($n=5$)
Table 3 Results of sperm shape abnormality experiment in male mice ($n=5$)

组别	剂量 /[g/(kg·bw)]	动物/只	观察精 子总数/个	畸形精子类型/个					精子畸形率/%	
				无钩	香蕉形	胖头	无定形	其他#		总数
阴性对照	0.0	5	5000	19	12	10	53	0	94	18.8±2.2
红景天	5.0	5	5000	17	15	13	51	0	96	19.2±2.5
五味子	5.0	5	5000	16	13	13	55	0	97	19.4±1.7
蜂花粉	5.0	5	5000	20	14	14	50	0	98	19.6±1.8
阳性对照	0.04	5	5000	85	51	48	84	0	272	54.4±3.5*

注: #: 其他畸形包括尾折叠、双头、双尾等; *: 与阴性对照组比较, 表示具有显著性差异($P<0.01$)。

表 4 大鼠体重及总食物利用率的结果($n=10$)
Table 4 Results of body weight and total food utilization in rats ($n=10$)

性别	剂量组	动物/只	初重/g	第 1 周/g	第 2 周/g	第 3 周/g	终末重量/g	总增重量/g	总进食量/g	总食物 利用率/%
雌	对照组	10	79.8±5.1	125.2±8.3	160.2±5.5	196.8±7.9	221.1±9.2	141.3±7.6	479.0±19.8	29.5±1.3
	红景天	10	78.6±7.8	122.6±7.9	161.2±14.6	197.5±23.4	219.4±18.2	140.8±19.1	477.2±41.0	29.4±2.5
	五味子	10	81.4±5.2	123.2±7.6	160.5±13.1	193.5±16.9	218.4±15.1	137.1±16.1	488.3±35.9	28.0±2.3
	蜂花粉	10	79.3±6.5	122.7±9.1	161.3±16.5	193.1±19.3	220.2±15.8	140.9±17.4	489.8±41.1	28.7±2.5
雄	对照组	10	78.0±5.4	138.0±8.6	193.8±13.5	253.4±12.2	316.3±20.4	238.4±18.8	625.6±25.1	38.1±2.5
	红景天	10	75.5±4.8	135.4±10.4	201.2±19.0	262.0±24.1	319.0±26.0	243.4±22.3	640.1±44.0	38.0±1.2
	五味子	10	75.3±6.3	131.0±14.8	191.5±16.5	251.1±21.8	313.9±25.9	238.6±24.0	602.8±40.5	39.5±2.1
	蜂花粉	10	74.4±6.5	137.1±17.9	199.6±16.4	259.1±23.1	319.5±21.0	245.1±18.0	621.9±45.7	39.5±3.2

2.4.3 对大鼠血常规指标的影响

对大鼠血常规指标的影响见表 5。

血液有形成分包括红细胞、白细胞及血红蛋白等, 它们参与机体代谢和所有功能活动, 如发生病变就会影响全身的组织器官。因此, 通过血液学有形成分指标可以了解大鼠健康状况。表 5 的结果可见, 红景天、五味子和蜂花粉提取物的各试食组大鼠的血红蛋白、血细胞总数及其分类与对照组比较均无显著性差异($P>0.05$), 可进一步判断红景天、五味子和蜂花粉提取物具有一定的安全性。

2.4.4 对大鼠血液生化指标的影响

对大鼠血液生化指标的影响结果见表 6。

监测机体血液中的各种酶、蛋白质、糖类、脂类等代

谢产物的含量能指示健康状况。血液生化检查最重要的有肝肾功能、血糖、血脂、蛋白质等指标。表 6 结果显示, 红景天组与对照组比较, 血糖显著降低($P<0.05$), 五味子组与对照组比较, 甘油三酯显著降低($P<0.05$), 但在正常范围之内, 无毒理学意义。红景天、五味子和蜂花粉提取物的各试食组大鼠的胆固醇、总蛋白、白蛋白、谷草转氨酶、谷丙转氨酶、尿素氮、肌酐等生化指标与对照组比较均无显著性差异($P>0.05$), 表明该剂量的红景天、五味子和蜂花粉提取物对大鼠血生化指标无明显影响, 这些敏感指标表明机体健康状况正常, 说明了红景天、五味子和蜂花粉提取物的安全性。

2.4.5 对大鼠脏器重量的影响

对大鼠脏器重量的影响结果见表 7。

表 5 大鼠血常规指标结果($n=10$)
Table 5 Results of blood examination in rats ($n=10$)

性别	剂量组	动物/只	血红蛋白/(g/L)	红细胞/(10^{12} /L)	白细胞总数 /(10^9 /L)	淋巴细胞/%	粒细胞/%	单核细胞 /(10^9 /L)
雌	对照组	10	138.0±15.8	6.33±0.46	15.0±3.9	75.5±3.0	20.4±2.9	4.2±0.6
	红景天	10	130.4±8.6	5.98±0.54	12.0±3.1	78.3±4.6	17.7±5.0	4.1±0.8
	五味子	10	126.8±7.1	5.99±0.53	13.0±2.1	74.3±3.9	21.6±4.1	4.2±0.7
	蜂花粉	10	127.2±10.2	6.01±0.51	13.0±3.0	77.8±3.7	17.8±3.7	4.5±0.6
雄	对照组	10	128.8±9.9	5.94±0.59	16.0±1.9	76.1±5.6	19.6±5.3	4.3±0.6
	红景天	10	126.1±10.2	5.85±0.60	14.8±3.9	75.9±4.1	20.2±4.5	3.9±0.9
	五味子	10	126.4±6.9	5.78±0.36	13.8±2.8	79.1±6.0	16.6±6.1	4.3±0.7
	蜂花粉	10	128.4±4.5	6.00±0.37	13.8±2.7	78.0±4.5	18.1±4.9	3.9±0.8

表 6 大鼠血液生化指标结果($n=10$)
Table 6 Results of blood biochemical index in rats ($n=10$)

性别	剂量组	动物数/只	谷草转氨酶 /(U/L)	谷丙转氨酶 /(U/L)	尿素氮 /(mmol/L)	肌酐 /(μ mol/L)	总胆固醇 /(mmol/L)	甘油三酯 /(mmol/L)	总蛋白 /(g/L)	白蛋白 /(g/L)	血糖 /(mmol/L)
雌	对照组	10	81.3 \pm 9.2	30.8 \pm 4.8	2.59 \pm 0.69	52.5 \pm 2.7	1.75 \pm 0.43	0.74 \pm 0.14	58.0 \pm 1.5	31.8 \pm 0.9	5.87 \pm 0.55
	红景天	10	89.8 \pm 9.3	34.9 \pm 4.4	3.16 \pm 0.66	54.0 \pm 6.3	2.01 \pm 0.44	0.71 \pm 0.18	58.9 \pm 3.1	32.0 \pm 1.7	4.91 \pm 1.26*
	五味子	10	82.2 \pm 12.2	30.1 \pm 6.5	2.64 \pm 0.58	53.0 \pm 3.5	1.58 \pm 0.44	0.62 \pm 0.10*	57.1 \pm 1.8	30.7 \pm 1.3	5.33 \pm 0.59
	蜂花粉	10	93.3 \pm 20.7	32.2 \pm 7.4	3.04 \pm 1.01	55.9 \pm 8.7	1.65 \pm 0.40	0.66 \pm 0.05	58.2 \pm 1.7	31.1 \pm 1.1	5.29 \pm 0.88
雄	对照组	10	81.1 \pm 7.1	30.8 \pm 4.6	2.72 \pm 0.51	54.7 \pm 3.0	1.73 \pm 0.26	0.75 \pm 0.33	58.7 \pm 2.5	31.2 \pm 1.2	5.23 \pm 0.87
	红景天	10	84.9 \pm 8.8	33.4 \pm 3.2	2.91 \pm 0.39	53.9 \pm 3.1	1.69 \pm 0.25	1.04 \pm 0.80	59.6 \pm 1.5	31.0 \pm 0.5	5.18 \pm 1.14
	五味子	10	83.8 \pm 12.1	32.6 \pm 7.1	2.94 \pm 0.52	53.1 \pm 2.6	1.85 \pm 0.40	1.06 \pm 0.57	60.1 \pm 2.0	31.6 \pm 0.7	5.11 \pm 1.06
	蜂花粉	10	81.8 \pm 7.6	30.2 \pm 4.1	3.18 \pm 0.77	54.7 \pm 3.6	1.90 \pm 0.44	0.99 \pm 0.53	60.7 \pm 1.8	31.7 \pm 0.9	5.44 \pm 0.61

注: *与对照组比较, 表示具有显著性差异($P<0.05$)。

表 7 大鼠脏器重量结果($n=10$)
Table 7 Results of organ weights in rats ($n=10$)

性别	剂量组	动物数/只	体重/g	肝脏/g	肾脏/g	脾脏/g	睾丸/g
雌	对照组	10	206.6 \pm 10.1	6.73 \pm 0.35	1.64 \pm 0.07	0.64 \pm 0.05	-
	红景天	10	199.7 \pm 21.9	6.71 \pm 1.10	1.55 \pm 0.29	0.57 \pm 0.13	-
	五味子	10	200.1 \pm 14.5	6.73 \pm 0.67	1.57 \pm 0.18	0.62 \pm 0.07	-
	蜂花粉	10	204.7 \pm 13.6	6.92 \pm 0.67	1.60 \pm 0.17	0.64 \pm 0.08	-
雄	对照组	10	293.2 \pm 20.0	10.44 \pm 1.34	2.44 \pm 0.18	1.07 \pm 0.14	2.86 \pm 0.24
	红景天	10	299.1 \pm 27.3	11.02 \pm 1.26	2.57 \pm 0.27	1.15 \pm 0.19	3.04 \pm 0.24
	五味子	10	290.3 \pm 23.8	10.51 \pm 1.48	2.48 \pm 0.23	1.05 \pm 0.16	3.01 \pm 0.17
	蜂花粉	10	299.3 \pm 20.4	11.06 \pm 0.69	2.52 \pm 0.19	1.12 \pm 0.12	2.88 \pm 0.31

注: -表示无此项。

表 7 结果显示, 大鼠灌胃 30 d, 红景天、五味子和蜂花粉提取物的各试食组大鼠的器官(肾、雄鼠睾丸、脾、肝)重量与对照组比较差异均无显著性差异($P>0.05$)。大鼠的主要脏器重量及其各组变化趋势是评判毒性反应的重要指标, 红景天、五味子和蜂花粉提取物对大鼠主要的脏器重量无明显影响。

2.4.6 解剖大体观察及组织学检查结果

在 30 d 喂养整个实验期间, 动物毛色正常, 阴性对照组及各试食组大鼠精神状态良好, 未见行为异常, 无死亡发生。大体解剖肉眼所见各脏器肉眼均未见明显异常。对全部大鼠的肝、肾、脾、胃、十二指肠、卵巢或睾丸进行组织病理切片检查, 各组大鼠组织病理学检查结果正常, 表明该剂量红景天、五味子和蜂花粉提取物对大鼠脏器组织无损害作用, 提示实验样品对主要脏器无明显损伤作用, 具有较高安全性。

3 讨论与结论

红景天、五味子和蜂花粉提取物小鼠急性毒性实验属无毒级, 遗传毒性实验均呈阴性反应, 30 d 喂养实验结果表明, 红景天提取物、五味子提取物相当于成人日推荐量

250 倍, 蜂花粉提取物相当于成人日推荐量 500 倍, 对大鼠连续给予 30 d, 动物未见明显的中毒症状和死亡。受试样品各试食组检测和观察指标与阴性对照组比较, 无毒性反应。以上结果说明红景天、五味子和蜂花粉提取物属无毒物质, 无遗传毒性和亚急性毒性, 食用安全。

本研究的毒理实验按成人每天保健食品用量上限^[20]设计, 折合红景天、五味子、蜂花粉原料各 6 g/d, 这 3 种原料传统的食用方法是水提取, 因此水提取物安全性较高。本研究证明了 3 种乙醇提取物在此剂量的食用安全性同样较高。

贾国夫等^[21]、赵生友等^[22]、王惠琴等^[23]对红景天软胶囊、红景天水提取物和粉进行了毒理学研究, 结果表明安全无毒, Ames 实验、小鼠骨髓细胞微核实验为阴性, 未引起中国仓鼠肺细胞染色体畸变率的升高, 无致突变性及无致畸胎作用[3.2 g/(kg·bw)]。边庆荣等^[24]采用 90 d 喂养实验和致畸实验表明, 红景天在 80 g/(kg·bw)高剂量组未出现对大鼠明显的毒性作用和致畸作用。这些研究用的红景天受试物为软胶囊^[21]、水提取物^[22]、水溶性饮料^[23]或粉^[24], 结果与本研究的乙醇提取物结果相似, 说明红景天醇提取物未增加毒性。

向韵等^[25]研究表明,高剂量组 6.4 g/(kg·bw)五味子超微粉与普通粉无毒性;庞树和^[26]观察五味子油对灌胃给药小鼠的最大给药量为 1638 mg/(kg·bw),未测得半数致死量;张曼等^[27]给予五味子水浸提液[15 g/(kg·bw)生药],未见明显的母体毒性与胚胎毒性。上述结果说明说明五味子超微粉、五味子油、五味子水提取物安全性高。

迄今从花粉中提取分离出黄酮、黄酮醇、二氢黄酮、原花青素、双黄酮等黄酮类化合物,主要以黄酮醇及其苷类化合物为主^[28]。油菜花粉易产生真菌毒素^[29],在花粉中还有多种有毒重金属^[30-31]。采用乙醇提取蜂花粉,可以提高黄酮类提取得率,抑制真菌生长,脱去重金属,本研究证明了乙醇提取安全性高,值得推广应用。

传统功能保健食品原料多使用水煎方式提取,如果采取有机溶剂提取的方式,虽然保证了功效成分转移率,但残留的溶剂可能有害。使用食用酒精提取无有毒有害物质残留风险,且能提高功效成分转移率。提取工艺的改变可能会引起毒性和保健功能的变化,如山茱萸^[32]、小白菊^[33]醇提物的毒性较水提物明显,其功能活性也存在一定的差异。本研究表明,红景天、五味子、蜂花粉采用醇提取安全性高,有必要进一步研究其保健功能和量效关系变化。

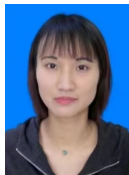
参考文献

- [1] 黄成安,黎小兰,吴斯燕,等. 高效液相色谱法测定红景天提取物中红景天苷的不确定度评定[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(23): 8653-8657.
HUANG CAN, LI XL, WU SY, *et al.* Uncertainty evaluation for determination of salidroside in *Rhodiola rosea* L. extract by high performance liquid chromatography [J]. J Food Saf Qual, 2020, 11(23): 8653-8657.
- [2] KIM JK, JUNG SY, YOU MD, *et al.* Neuroprotective effects of ethanolic extract from dry *Rhodiola rosea* L. rhizomes [J]. Food Sci Biotechnol, 2021, 30(2): 1-11.
- [3] TSVETOV NS, DVORNIKOV KY, NIKOLAEVA EV, *et al.* Antioxidant activity and content of salidroside in ethanolic extracts of *Rhodiola rosea* [J]. IOP Conf Ser Earth Environ Sci, 2020, 548(8): 082028.
- [4] 赵岩,赵天琦,蔡恩博,等. 狭叶红景天乙醇提取物的降血脂和抗氧化活性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(12): 5046-5052.
ZHAO Y, ZHAO TQ, CAI ENB, *et al.* Hypolipidemic and antioxidant properties of ethanol extract from *Rhodiola kirilowii* (Regel) Maxim [J]. J Food Saf Qual, 2015, 6(12): 5046-5052.
- [5] 李辰,陈东生,陈娟,等. 红景天中红景天苷和酪醇提取工艺研究[J]. 中药材, 2006, (11): 1239-1241.
LI C, CHEN DS, CHEN J, *et al.* Research on the extraction process of salidroside and tyrosol from *Rhodiola* [J]. Chin Herb Med, 2006, (11): 1239-1241.
- [6] LI C, CHEN DS, CHEN J, *et al.* Study on the extraction process for salidroside and *p*-tyrosol in *Rhodiola crenulata* [J]. J Chin Med Mater, 2006, 29(11): 1239-1241.
- [7] KE F, HONGLIN Z, CHENG W, *et al.* A review: Pharmacology and pharmacokinetics of *Schisandrin A* [J]. Phytother Res, 2022, 36(6): 2375-2393.
- [8] BEATA O. Cardioprotective potential of berries of *Schisandra chinensis* Turcz. (Baill.), their components and food products [J]. Nutrients, 2023, 15(3): 592-593.
- [9] HUANG F, XIONG YT, XU LH, *et al.* Sedative and hypnotic activities of the ethanol fraction from *Fructus schisandrae* in mice and rats [J]. J Ethnopharmacol, 2007, 110: 471-475.
- [10] 芦金清,何则华. 五味子提取工艺的研究[J]. 中成药, 1998, 20(12): 1-2.
LU JQ, HE ZH. Study on the extraction process of *Schisandra chinensis* [J]. Chin Tradit Patent Med, 1998, 20(12): 1-2.
- [11] 石畅,高畅,郭晓瑞,等. 层次分析-熵权法结合响应面法优化五味子藤茎木脂素超声提取工艺[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(12): 293-302.
SHI C, GAO C, GUO XR, *et al.* Optimization of ultrasonic extraction process of lignans from *Schisandra chinensis* vine stem by analytic hierarchy process-entropy weight method combined with response surface methodology [J]. J Food Saf Qual, 2023, 14(12): 293-302.
- [12] 张悦怡,刘勇慧,赵岩,等. 响应面法优化超声辅助乙醇提取五味子木脂素工艺研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(6): 1855-1861.
ZHANG YY, LIU YH, ZHAO Y, *et al.* Study on ultrasonic assisted ethanol extraction process of lignans from *Schisandra chinensis* by response surface methodology [J]. J Food Saf Qual, 2014, 5(6): 1855-1861.
- [13] YUE Y, MINGCHANG L, KAI W, *et al.* Chemical and cytological evaluation of honeybee pollen antioxidant ability [J]. J Food Sci, 2020, 85(3): 824-833.
- [14] LOZADA IL, OKHEE Y, YONG LL, *et al.* Optimisation of bee pollen extraction to maximise extractable antioxidant constituents [J]. Antioxidants, 2021, 10(7): 1113.
- [15] 王满生,曾新安,熊夏宇,等. 油菜蜂花粉中粗黄酮提取物成分分析[J]. 食品与机械, 2016, 32(9): 144-148.
WANG MS, ZENG XAN, XIONG XY, *et al.* Analysis of crude flavonoid extracts from rapeseed bee pollen [J]. Food Mach, 2016, 32(9): 144-148.
- [16] 李震,刘志勇,李龙雪,等. 天然蜂粮和蜂花粉对小鼠免疫功能的调节作用[J]. 动物营养学报, 2020, 32(1): 397-404.
LI Z, LIU ZY, LI LX, *et al.* Regulating effect of natural bee bread and bee pollen on immune function of mice [J]. Chin J Anim Nutr, 2020, 32(1): 397-404.
- [17] 李卓柯,刘洋,李晔,等. 补骨脂炮制品水提和醇沉物化学成分及肝毒性研究[J]. 中国药房, 2023, 34(12): 1443-1448.
LI ZK, LIU Y, LI Y, *et al.* Study on chemical compositions and hepatotoxicity of water extract and ethanol precipitate of processed products of *Psoralea corylifolia* [J]. China Pharm, 2023, 34(12): 1443-1448.
- [18] 葛俊德,黄娜娜,郭欣,等. 不同提取工艺对炒决明子急性毒性和物质基础的影响[J]. 药物评价研究, 2019, 42(4): 641-647.
GE JD, HUANG NN, GUO X, *et al.* Effects of different extraction

- processes on acute toxicity and material basis of roasted seeds of *Cassia obtusifolia* [J]. Drug Eval Res, 2019, 42(4): 641–647.
- [19] 吕莉莉, 赵红, 李世民, 等. 不同提取方式对益母草小鼠急性毒性及毒靶器官的影响[J]. 中国药物警戒, 2015, 12(12): 705–710.
- LU LL, ZHAO H, LI SM, *et al.* Influence of different extraction methods on acute toxicity and toxicity target organs of herba *Leonuriin* mice [J]. Chin J Pharm, 2015, 12(12): 705–710.
- [20] 范青生. 保健食品配方原理与依据[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007.
- FAN QS. Principles and basis of health food formula [M]. Beijing: China Traditional Chinese Medicine Press, 2007.
- [21] 贾国夫, 何正军, 尼科, 等. 红景天软胶囊毒理学试验研究[J]. 草业与畜牧, 2010, (12): 3–9.
- JIA GF, HE ZI, NICO, *et al.* Toxicological experimental study of *Rhodiola* soft capsules [J]. Grassland Anim Husb, 2010, (12): 3–9.
- [22] 赵生友, 王玮, 姜晓春, 等. 红景天提取物致突变性及致畸作用[J]. 癌变·畸变·突变, 1997, (5): 40–42.
- ZHAO SY, WANG W, JIANG XC, *et al.* Mutagenicity and teratogenic effects of *Rhodiola* extract [J]. Carcinog Teratog Mutag, 1997, (5): 40–42.
- [23] 王惠琴, 孔祥环, 蒋致诚, 等. 大鼠口服红景天致畸作用的研究[J]. 首都医学院学报, 1993, (2): 90–93.
- WANG HQ, KONG XH, JIANG ZC, *et al.* Study on the teratogenic effect of oral *Rhodiola* in rats [J]. J Capit Med Univ, 1993, (2): 90–93.
- [24] 边庆荣, 赵文, 秦淑珍, 等. 红景天的毒性研究[J]. 癌变·畸变·突变, 1991, (1): 45–47.
- BIAN QR, ZHAO W, QIN SZ, *et al.* Toxicity study of *Rhodiola* [J]. Carcinog Teratog Mutag, 1991, (1): 45–47.
- [25] 向韵, 雷昌, 王宇红, 等. 五味子超微粉、普通粉重复给药毒性作用研究[J]. 亚太传统医药, 2017, 13(16): 8–13.
- XIANG Y, LEI C, WANG YH, *et al.* Study on the toxic effects of repeated administration of *Schisandra chinensis* ultrafine powder and ordinary powder [J]. Asia-Pacific Tradit Med, 2017, 13(16): 8–13.
- [26] 庞树和. 五味子油急性毒性试验研究[J]. 黑龙江医药, 2015, 28(3): 479–481.
- PANG SH. Acute toxicity test study of *Schisandra* oil [J]. Heilongjiang Pharm, 2015, 28(3): 479–481.
- [27] 张旻, 刘晓萌, 宋捷, 等. 五味子水浸提液对SD大鼠胚胎和胎仔的发育毒性研究[J]. 癌变·畸变·突变, 2010, 22(3): 226–229.
- ZHANG M, LIU XM, SONG J, *et al.* Study on developmental toxicity of *Schisandra chinensis* water extract on SD rat embryos and fetuses [J]. Carcinog Teratog Mutag, 2010, 22(3): 226–229.
- [28] ZHANG H, LIU R, LU Q. Separation and characterization of phenolamines and flavonoids from rape bee pollen, and comparison of their antioxidant activities and protective effects against oxidative stress [J]. Molecules, 2020, 25(6): E1264.
- [29] KIM KH, KIM KH, JEONG SJ, *et al.* Effects of gamma irradiation on quality characteristic and microbiological safety of rape (*Brassica napus*) pollen [J]. J Korean Soc Food Sci Nutr, 2013, 42(11): 1843–1847.
- [30] KALAYCIOĞLU Z. Characterization of Turkish honeybee pollens by principal component analysis based on their individual organic acids, sugars, minerals, and antioxidant activities [J]. LWT, 2017, 84: 402–408.
- [31] 李硕, 李红霞, 李莉, 等. 油菜花粉和茶花花粉中重金属含量的分布特征研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(11): 4596–4601.
- LI S, LI HX, LI L, *et al.* Distribution of heavy metals in the species of *Brassica campestris* L. bee pollen and *Camellia japonica* L. bee pollen [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(11): 4596–4601.
- [32] 杨明华, 毛培江, 杨苏蓓. 浙产山茱萸水醇提取物毒性、药效比较研究[J]. 中药材, 2006, (6): 588–590.
- YANG MH, MAO PJ, YANG SB, *et al.* Comparative study on the toxicity and efficacy of water alcohol extracts of *Cornus officinalis* from Zhejiang Province [J]. J Chin Med Mater, 2006, (6): 588–590.
- [33] MA AJ, CRUZ AZ, BELMARES SS, *et al.* Phytochemical and biological characterization of the fractions of the aqueous and ethanolic extracts of *Parthenium hysterophorus* [J]. Separations, 2022. DOI: 10.5530/PJ.2021.13.145

(责任编辑: 于梦娇 郑丽)

作者简介



陈力, 硕士, 工程师, 主要研究方向为功能食品检验。

E-mail: 327477891@qq.com



范青生, 硕士, 研究员, 主要研究方向为功能食品开发。

E-mail: cnfoods@163.com