

苋菜红蓄积毒性试验研究

代汉慧¹, 孔卓涛², 陈冬东¹, 彭涛¹, 李晓娟¹, 马微¹

(1. 中国检验检疫科学研究院, 北京 100123; 2. 深圳市宝安区西乡卫生监督所, 广东 深圳 518126)

摘要:目的 观察苋菜红对实验大鼠的蓄积毒性, 确定可能的毒副反应靶器官, 为深入研究提供参考。方法 Wistar 大鼠随机分 2 组, 分别为苋菜红组和对照组。苋菜红组采用剂量递增方法给药, 即于第 1~4 天 ig 给予 1/10 LD₅₀ (LD₅₀ 按 10 g/kg 计), 以后每 4 d 按前一剂量 0.5 倍递增 1 次, 累计自实验开始至出现 50% 动物死亡期间的总剂量 [Σ LD₅₀(n)]; 对照组给以蒸馏水。观察实验期间大鼠的一般毒性症状、体质量变化、死亡情况, 进行生化检测, 尸检肉眼观察器官病变。结果 实验期间动物的精神、外观均无异常。体质量、血液学、血液生化学等各项指标均无明显异常。结论 苋菜红对动物无明显蓄积毒性。

关键词: 苋菜红; 蓄积毒性; 靶器官; 毒理学

中图分类号: R99

文献标识码: A

文章编号: 1674-5515(2010)03-0201-03

Cumulative toxicity of amaranth

DAI Han-hui¹, KONG Zhuo-tao², CHEN Dong-dong¹, PENG Tao¹, LI Xiao-juan¹, MA Wei¹

(1. Chinese Academy of Inspection and Quarantine, Beijing 100123, China; 2. Xixiang Health Inspection Institute of Shenzhen Bao'an District, Shenzhen 518126, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the toxic reactions of amaranth and determine the possible target organs so as to provide certain reference for further research. **Methods** Rats were divided randomly into two groups: amaranth group and control group. In amaranth group, rats were given orally different doses of amaranth increased continuously. In the first 1-4 days, the dose was one tenth of the LD₅₀ dose (LD₅₀ by 10 g/kg). Then the dose increased by 1.5 times once every 4 days until the death of 50% rats. The cumulative total dose (Σ LD₅₀(n)) was obtained. Rats in control group were given distilled water. During the experiment, general toxic condition, body weight and death were observed, and biochemical tests were conducted. In addition, postmortem findings were also observed with naked eyes. **Results** During the experiment, there were no markedly abnormal changes in animal energy, appearance, body weight, hematological and blood biochemical parameters. **Conclusion** Amaranth does not show significant accumulative toxicity to animals.

Key words: amaranth; accumulative toxicity; target organs; toxicology

苋菜红(amaranth), 又名蓝光酸性红, 化学名称为 1-(4'-磺酸基-1-萘偶氮)-2-萘酚-3,7-二磺酸三钠盐, 是目前广泛使用的合成染料, 几乎每一种偏红色或偏棕色的加工食品都使用过。苋菜红的急性毒性较低, 对其使用的争议主要在致癌性方面。1968 年, 前苏联科学家发现苋菜红可使大鼠患癌。有研究显示, 每天用含苋菜红 0.2% (0.1 g/kg) 的饲料喂养大鼠, 连喂 830 d, 发现 1 例肠癌; 苋菜红还具有

胚胎毒性, 可致畸胎发生^[1-2]。近年来, 随着药物制剂的快速发展, 苋菜红作为一种着色剂广泛应用于胶囊、颗粒和片剂。为研究苋菜红的蓄积毒性, 保障用药安全, 笔者观察连续给予苋菜红后大鼠产生的毒性反应, 计算蓄积系数; 并进行血液生化检测, 提供可能的毒副反应靶器官, 为进一步临床应用提供参考。

基金项目 中国检验检疫科学研究院院长基金项目(食品添加剂安全风险评估研究); 中国质检总局课题(2009IK310)

作者简介 代汉慧(1976—), 女, 主要研究方向为食品安全。 Tel: 13911317912

1 材料

1.1 供试品

苋菜红,紫红色粉末,质量分数 $>85\%$,批号20090120,由天津市盛辉化工科技有限公司提供。

1.2 仪器

7080 型全自动生化分析仪,日立公司生产;HEMAVET 950 多物种血液分析仪,Drew Scientific 公司生产;PT124 电子天平,梅特勒托利多仪器(上海)有限公司生产。

1.3 实验动物

6~8 周龄 Wistar 大鼠,SPF 级,体质量 180~220 g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,许可证编号:SCXK(京)2007-0001。

2 方法

2.1 动物分组与给药

Wistar 大鼠 40 只,雌雄各半,按随机区组方法分成两组,分别为苋菜红给药组和对照组,每组 20 只,雌雄各半。苋菜红给药组第 1~4 天给 $1/10$ 的 LD_{50} (LD_{50} 按 10 g/kg 计),此后剂量每 4 d 按前一剂量的 0.5 倍递增一次,即第 5~8 天剂量为 1.5 g/kg,第 9~12 天为 2.25 g/kg,第 13~16 天为 3.38 g/kg,第 17~20 天为 5.06 g/kg。苋菜红以饲料添加剂方式给予;对照组给予蒸馏水 10 mL/kg。实验期间,动物每周称质量 2 次。在第 20 天(累计剂量达到约 5.3 倍 LD_{50})雌、雄大鼠均未出现 50% 死亡时,则终止试验^[3-4]。累计自实验开始至第 20 天或在实验期间 50% 动物死亡时(即终止实验)的总剂量 $[\sum LD_{50}(n), n$ 为动物数],计算蓄积系数 K ($K =$

$\sum LD(n)/LD_{50}$)。

2.2 检测指标

在给药期间每天观察动物的一般状况。如体质量、身体状况、粪便排泄等。给药结束后进行血液学检查,测定动物的白细胞计数(WBC)、红细胞计数(RBC)、血红蛋白(HGB)、红细胞压积(HCT)、平均红细胞体积(MCV)、红细胞血红蛋白计数(MCH)、红细胞血红蛋白浓度(MCHC)和血小板计数(PLT)。还进行血液生化检测,测定动物血清的天冬氨酸转氨酶(AST)、丙氨酸转氨酶(ALT)、碱性磷酸酶(ALP)、尿素氮(Urea)、肌酐(Crea)、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、球蛋白(GLB)、白蛋白与球蛋白比例(A/G)、血糖(GLU)、总胆红素(TBIL)、总胆固醇(TCH)、甘油三酯(TG)、肌酸磷酸激酶(CK)。

2.3 数据处理

计量资料采用 SPSS 软件组间 t 检验,计数资料采用 SPSS NPar Tests 检验方法分析。根据实际情况综合分析苋菜红对动物各项指标的影响。

3 结果

3.1 苋菜红对大鼠死亡率和一般症状的影响

在实验期间无动物死亡。动物的鼻、眼等未见异常分泌物,无竖毛等现象出现。苋菜红组动物给药后出现红色粪便,与苋菜红性状有关,无毒理学意义。实验期间苋菜红与对照组动物体质量均呈增加趋势,无明显差异($P>0.05$),表明苋菜红对动物体质量无明显影响。结果见表 1、2。

表 1 苋菜红对雄性大鼠体质量的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	体质量/g				
	给药 1 d	给药 5 d	给药 9 d	给药 13 d	给药 17 d
对照	197.2 $\pm$ 8.4	232.3 $\pm$ 10.9	244.8 $\pm$ 12.5	275.2 $\pm$ 21.8	286.9 $\pm$ 27.0
苋菜红	196.7 $\pm$ 10.7	242.4 $\pm$ 18.5	252.6 $\pm$ 19.4	276.2 $\pm$ 33.0	287.9 $\pm$ 37.1

表 2 苋菜红对雌性大鼠体质量的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	体质量/g				
	给药 1 d	给药 5 d	给药 9 d	给药 13 d	给药 17 d
对照	180.0 $\pm$ 5.5	197.3 $\pm$ 6.6	203.2 $\pm$ 7.5	214.4 $\pm$ 8.1	217.8 $\pm$ 8.2
苋菜红	179.7 $\pm$ 4.8	198.4 $\pm$ 8.3	209.4 $\pm$ 7.2	216.1 $\pm$ 9.8	221.1 $\pm$ 8.6

3.2 苋菜红对血液学指标的影响

结果显示,苋菜红组动物的 WBC、RBC、HGB、HCT、MCV、MCH、MCHC、PLT 等血液学指标与

对照组比较无明显差异($P>0.05$),表明苋菜红未对动物的血液系统产生不良影响。结果见表 3、4。

3.3 苋菜红对大鼠血液生化指标的影响

表3 苋菜红对雄性大鼠血液学指标的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	WBC/ ($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)	RBC/ ($\times 10^{12} \cdot L^{-1}$)	HGB/ ($G \cdot L^{-1}$)	HCT/%	MCV/f	MCH/pg	MCHC/ ($g \cdot L^{-1}$)	PLT/ ($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)
对照	14.0 $\pm$ 2.3	7.8 $\pm$ 0.4	156.4 $\pm$ 6.8	0.5 $\pm$ 0.1	61.6 $\pm$ 1.5	20.2 $\pm$ 0.5	328.3 $\pm$ 8.5	1172.1 $\pm$ 379.7
苋菜红	12.9 $\pm$ 3.3	7.6 $\pm$ 0.3	153.5 $\pm$ 6.8	0.5 $\pm$ 0.0	62.2 $\pm$ 1.6	20.1 $\pm$ 0.8	323.4 $\pm$ 6.4	1221.9 $\pm$ 215.2

表4 苋菜红对雌性大鼠血液学指标的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	WBC/ ($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)	RBC/ ($\times 10^{12} \cdot L^{-1}$)	HGB/ ($G \cdot L^{-1}$)	HCT/%	MCV/f	MCH/pg	MCHC/ ($g \cdot L^{-1}$)	PLT/ ($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)
对照组	8.3 $\pm$ 4.2	7.4 $\pm$ 0.5	145.9 $\pm$ 7.8	0.5 $\pm$ 0.0	60.4 $\pm$ 1.6	19.8 $\pm$ 0.7	327.9 $\pm$ 10.0	1248.6 $\pm$ 123.8
苋菜红	9.5 $\pm$ 3.3	7.4 $\pm$ 0.6	140.9 $\pm$ 4.3	0.4 $\pm$ 0.0	59.8 $\pm$ 1.4	19.2 $\pm$ 1.1	321.4 $\pm$ 15.5	999.8 $\pm$ 454.2

与对照组比较,苋菜红组雄性大鼠 Crea 降低($P<0.01$),雌性大鼠 ALP 升高($P<0.05$)。但这2个值变化幅度较小,可认为只具有统计学意义,而

无明显毒理学意义。其余各项指标均未见异常,结果见表5、6。

3.4 剂量蓄积系数的变化

表5 苋菜红对雄性大鼠血液生化指标的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	ALT/ ($U \cdot L^{-1}$)	AST/ ($U \cdot L^{-1}$)	TP/ ($g \cdot L^{-1}$)	TBIL/ ($\mu mol \cdot L^{-1}$)	ALP/ ($U \cdot L^{-1}$)	Urea/ ($mmol \cdot L^{-1}$)	Crea/ ($\mu mol \cdot L^{-1}$)	GLU/ ($mmol \cdot L^{-1}$)
对照	51.4 $\pm$ 19.0	100.8 $\pm$ 16.9	59.2 $\pm$ 3.6	2.7 $\pm$ 0.5	157.0 $\pm$ 40.0	6.9 $\pm$ 1.0	31.1 $\pm$ 2.8	5.3 $\pm$ 1.6
苋菜红	41.9 $\pm$ 4.1	94.2 $\pm$ 8.1	58.0 $\pm$ 2.9	2.9 $\pm$ 0.9	152.9 $\pm$ 31.1	6.4 $\pm$ 0.6	26.2 $\pm$ 2.4**	6.7 $\pm$ 2.4

表6 苋菜红对雌性大鼠血液生化指标的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	ALT/ ($U \cdot L^{-1}$)	AST/ ($U \cdot L^{-1}$)	TP/ ($g \cdot L^{-1}$)	TBIL/ ($\mu mol \cdot L^{-1}$)	ALP/ ($U \cdot L^{-1}$)	Urea/ ($mmol \cdot L^{-1}$)	Crea/ ($\mu mol \cdot L^{-1}$)	GLU/ ($mmol \cdot L^{-1}$)
对照	35.6 $\pm$ 4.5	91.0 $\pm$ 10.2	56.6 $\pm$ 3.0	2.7 $\pm$ 0.5	98.8 $\pm$ 19.7	9.2 $\pm$ 1.6	44.1 $\pm$ 9.0	7.4 $\pm$ 1.7
苋菜红	38.5 $\pm$ 5.5	100.5 $\pm$ 12.7	55.6 $\pm$ 4.8	3.0 $\pm$ 1.1	83.0 $\pm$ 8.9	9.1 $\pm$ 1.7	40.5 $\pm$ 7.5	7.1 $\pm$ 1.8

剂量蓄积系数 $K = (4 \times 0.1 \times 10 + 4 \times 1.5 \times 0.1 \times 10 + 4 \times 1.5 \times 1.5 \times 0.1 \times 10 + 4 \times 1.5 \times 1.5 \times 1.5 \times 0.1 \times 10) / 10 = (4 + 6 + 9 + 13.5 + 20.25) / 10 = 5.275$ 。 $K > 5$,可认为无蓄积毒性^[6-7]。

3.5 系统尸检结果

尸检结果显示,苋菜红组与对照组各大鼠的胸膜、腹膜光滑,无粘连,胸腔、腹腔内未见积液;心、肺、肝、肾、胸腺、淋巴结、食管、胃、肠、肾上腺、甲状腺、睾丸、附睾、子宫、卵巢、前列腺、膀胱等各主要脏器均没有肉眼可见的病变。

4 讨论

苋菜红是偶氮磺酸型水溶性红色素,属于偶氮色素,这类物质大多具有一定的致癌性。尽管磺化偶氮染料的毒性已大大降低,但其在生物体内可脱去磺基团,恢复毒性。此外,这类化合物在生物体的胃肠道中很容易还原为亚胺类致癌物。研究显示,102种偶氮化合物中只有12种不能转化为亚胺化合物。1976年起,美国 and 英国等国家禁止苋菜红在食品中使用,其他一些国家容许其用于冰淇淋、香口胶、巧克力等食品。目前我国规定苋菜红可用于碳酸饮料、配制酒、罐头等食品,用量为0.05 g/kg。近年来有研究表明,采用彗星实验法发现苋菜红能

导致雄鼠及孕鼠的结肠细胞DNA损伤^[8]。在本实验中,大鼠给予苋菜红后的精神及外观均未出现异常现象,体质量增长正常,血液学、血液生化学和组织病理学等各项指标也未出现与苋菜红相关的改变;并且蓄积系数大于5。由此可以认为,苋菜红对动物无明显蓄积毒性。

参考文献

- [1] Collins T F X, McLaughlin J. Teratology studies on food colorings 1: Embryo toxicity of amaranth (FD and C red No. 2) in rats [J]. Food Cosmet Toxicol, 1972, 10(5): 619-624.
- [2] Collins T F X, McLaughlin J. Teratology studies on food colorings 2: Embryo toxicity of R salt and metabolites of amaranth (FD and C Red No. 2) in rats [J]. Food Cosmet Toxicol, 1973, 11(3): 355-360.
- [3] Ray D E, Richards P G. The potential for toxic effects of chronic, low-dose exposure to organophosphates [J]. Toxicol Lett, 2001, 120(3): 343-351.
- [4] USDA/Extension service/National agricultural pesticide impact assessment program. Pesticide information profiles: Chlorpyrifos [EB/OL]. <http://extoxnet.orst.edu/pips/chlorpyr.htm>. [1998-06-09].
- [5] 梁宇杰. 两种测定农药在大鼠和小鼠体内毒性蓄积的方法[J]. 中国比较医学杂志, 2009, 19(5): 62-65.
- [6] 周立人. 化学物质安全性评价程序 [J]. 中国公共卫生学报, 1992, 11(1): 37-40.
- [7] 沈建忠. 动物毒理学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 101-103.
- [8] Tsuda S, Murakami M. DNA Damage induced by red food dyes orally administered to pregnant and male mice [J]. Toxicol Sci, 2001, 61(2): 92-99.

(收稿日期 2010-02-02)