

黔西北马缨杜鹃花红色素的毒性试验

阮海星 王子坚 吴克枫 俞红 李锦兰

(贵州省食品卫生研究所, 贵阳 550004)

摘要 马缨杜鹃(*Rhododendron delavayi* Franch.)是贵州省分布较广的一种植物。为提高其利用价值,对花的红色素进行了毒性试验。结果表明:急性毒性试验属实际无毒范围,Ames试验,骨髓细胞微核试验和精子畸形试验均未显示诱变作用。为开发马缨杜鹃花资源提供了科学依据。

关键词 马缨杜鹃;花红色素;毒性试验

Toxic test on the red pigment from the flower of *Rhododendron delavayi* in northwest Guizhou Province Ruan Hai-Xing, Wang Zi-Jian, Wu Ke-Feng, Yu Hong and Li Jing-Lan (Guizhou Provincial Institute of Food Hygiene, Guiyang 550004), *J. Plant Resour. & Environ.* 1997, 6(1): 25~28

Rhododendron delavayi Franch. is widely distributed in northwest Guizhou. Toxic test of red pigment from its flower was investigated. The results showed that it belongs to non-toxic range from acute foxic test; in Ames test, PCE micronuclear test and sperm aberration test, no positive effects were appeared. It will provide valuable basis for exploiting.

Key words *Rhododendron delavayi* Franch.; red pigment; toxic test

贵州省有杜鹃花属(*Rhododendron* L.)植物70余种,为主要的野生花卉资源,黔西北是集中分布区。1990~1992年作者对黔西县的金坡、砂厂、夏木和大方县的普底等地杜鹃花的主要林区进行调查,发现在数十种杜鹃花林中,马缨杜鹃(*Rhododendron delavayi* Franch.)分布广,资源较多,且花色艳红,极引人注目。在海拔1450~1800m山坡和强酸性黄壤地带的灌丛中,马缨杜鹃生长最盛。在黔西县金坡的高家岩脚存有马缨杜鹃的纯林。本文报道马缨杜鹃花红色素的毒性试验,为开发利用该植物资源提供依据。

1. 实验方法和结果

1.1 样品处理

采集马缨杜鹃鲜花,去蕊保留萼片,及时处理,或在-10~-20℃下速冻保存备用。提取工艺流程如下^[1]:

将杜鹃花(萼片)洗净在0.1% HCl乙醇(1:5)→浸渍3天(密封)压榨过滤→滤液60℃以下水浴→浓缩4℃沉降过滤→滤液30~45℃浓缩→稠状液(黑红色 pH 1~2)棕色瓶存放→4℃保存或喷雾干燥备用。

上述工艺均在减压条件下进行。

1.2 急性毒性试验

供试昆明系小鼠体重 20~23 g, Wistar 大鼠体重 200~250 g。按霍恩代法(Horn's)进行剂量级分组,分别设 1 000 mg/kg bw, 2 150 mg/kg bw, 4 640 mg/kg bw, 10 000 mg/kg bw 及阴性对照 5 个剂量组,各组中小鼠和大鼠雌雄各 5 只。用杜鹃花红色素提取液经口灌胃,观察 1 周。未出现明显中毒症状和不良反应。按急性毒性分级标准,大、小鼠最高剂量达 10 000 mg/kg bw,均属实际无毒范围^[2]。见表 1。

表 1 马缨杜鹃花红色素提取液的大、小白鼠急性毒性试验结果(LD₅₀)

Tab 1 Acute toxic test result of *Rhododandron delavayi* red pigment on rats and mice (LD₅₀)

剂量 Dosage (mg/kg bw)	小鼠 Mice (No. of die/ No. of mice)		大鼠 Rats (No. of die/ No. of rats)	
	雄♂	雌♀	雄♂	雌♀
Control	0/5	0/5	0/5	0/5
1000	0/5	0/5	0/5	0/5
2150	0/5	0/5	0/5	0/5
4640	0/5	0/5	0/5	0/5
10000	0/5	0/5	0/5	0/5

1.3 致突变试验^[3]

1.3.1 Ames 试验 鼠伤寒沙门氏菌 TA₉₇, TA₉₈, TA₁₀₀和 TA₁₀₂经鉴定合格后作为测试菌株,受试物剂量分别为 0.2 μg/皿, 2 μg/皿, 20 μg/皿和 500 μg/皿,每一剂量均做 2 次,每次 2~3 个平皿。用 Ø 9 cm 平皿进行加与不加 S₀活化系统的掺入法试验,同时,用 2 μg/皿 甲基甲烷磺酸酯(MMS)和 40 μg/皿 二乙酰胺基芴(2-AAF)作加与不加 S₀活化系统的阳性诊断剂,10 μl/皿 二甲基亚砷(DMSO)为 MMS 和 2-AAF 的稀释剂。结果见表 2,各剂量组处理结果

和 MMS, 2-AAF, DMSO 均以诱发回变菌落数(Rt)/自发回变菌落数(Rc)的比值表示。

1.3.2 小鼠骨髓嗜多染红细胞(PEC: polychrome cell)微核试验 选用昆明系小鼠,体重 19~26 g,随机分为 5 组,每组 10 只,雌雄各半。设 1 000 mg/kg bw, 3 000 mg/kg bw, 6 000 mg/kg bw; 阴性对照和阳性对照。两次经口灌胃给马缨杜鹃花红色素提取液,间隔 24 h,第二次给提取液后间隔 6 h,脊椎脱臼,处死动物,取胸骨骨髓涂片。每只动物镜检 1 000 个嗜多染红细胞,计数微核率。

试验结果均用泊松分布的概率统计进行比较,结果见表 3。除阳性组与阴性对照组有极显著性差异(P<0.01)外。其余各剂量组与阴性对照组无显著性差异(P>0.05)。

表 2 马缨杜鹃花红色素提取液的 Ames test 结果(Rt/Rc)

Tab 2 Results of Ames Test (Rt/Rc) from *Rhododandron delavayi* pigment extract

剂量 Dosage (μg/皿)	TA ₉₇ *		TA ₉₈		TA ₁₀₀		TA ₁₀₂	
	+S ₀	-S ₀	+S ₀	-S ₀	+S ₀	-S ₀	+S ₀	-S ₀
0.2	1.02	1.42	0.82	0.78	0.89	0.76	1.11	0.95
2.0	1.38	1.53	0.57	0.70	0.95	1.02	1.46	1.07
20	1.09	1.18	0.57	1.52	0.98	1.06	1.41	1.13
500	1.37	1.34	0.84	0.56	1.07	0.85	1.38	0.99
10 μl/皿 二甲基亚砷 (DMSO)			0.72			1.13		
40 μl/皿 二乙酰胺基芴 (2-AAF)			4.83					
2 μl/皿 甲基甲烷磺酸酯 (MMS)						24.01		

* TA₉₇, TA₉₈, TA₁₀₀, TA₁₀₂为鼠伤寒沙门氏菌 TA₉₇, TA₉₈, TA₁₀₀, TA₁₀₂ is salmonella typhimurium; S₀为活化系统 S₀ is activation system; MMS 为不加 S₀ (-S₀)活化系统的阳性对照诊断剂 MMS is non-S₀ activation system positive; 2-AAF 为加 S₀ (+S₀)活化系统的阳性诊断剂 2-AAF is +S₀ activation system positive; DMSO 为 MMS 和 2-AAF 的稀释剂 DMSO is MMS, 2-AAF diluter.

1.3.3 精子畸形试验 选用体重26~30g昆明系雄小鼠,每组5只。设600mg/kg bw, 1 200 mg/kg bw, 2 400 mg/kg bw, 阴性对照与阳性对照组。经口灌胃给予马缨杜鹃花红色素提取液,每日按设计量给一次,连续5日。第一次给色素提取液的第35天,脊椎脱白,处死动物,取两侧附睾剥开,用0.9% NaCl浸入使精子游出,过滤,滤液离心弃上清液,沉淀精子涂片。每只小鼠镜检1 000个完整精子,统计精子畸形率。

结果见表4,各剂量组的精子畸形率结果均用卡方(X^2)检验进行统计比较。除阳性对照组与阴性对照组有显著性差异($P < 0.05$)外,其余各剂量组与阴性对照组无显著性差异($P > 0.05$)。

表3 马缨杜鹃花红色素对小鼠嗜多染红细胞微核试验结果(%)

Tab 3 PEC micronuclear test result (%) of *Rhododandron clelavayi* red pigment

剂量(mg/kg bw) Dosage	动物数 No. of mice	嗜多染红细胞数 No. of PEC	有核细胞数($\bar{X} \pm SD$) No. of nuclearcell	微核率($\% \pm SD$) Micronuclear rate
空白组 Control	10	10000	15.0(± 0.50)	1.5(± 0.50)
阳性组 Normal	10	10000	430(± 2.16)	43 ^a (± 2.16)
1000	10	10000	13.0(± 0.46)	1.3 ^b (± 0.46)
3000	10	10000	10.0(± 0.41)	1.0 ^b (± 0.41)
6000	10	10000	15.0(± 0.50)	1.5 ^b (± 0.50)

a: $P < 0.01$; b: $P > 0.05$

表4 马缨杜鹃花红色素对小鼠精子畸形试验结果(%)

Tab 4 Mice sperm aberration test result of *Rhododandron clelavayi* red pigment

剂量组(mg/kg bw) Dosage	动物数 No. of mice	检查精子总数 Observed no. of sperm	精子畸形总数 No. of sperm aberration	畸形率($\% \bar{X} \pm SD$) Aberration rate
空白组 Control	5	5000	79	15.8(± 1.92)
阳性组 Normal	5	5000	185	37 ^a (± 3.87)
600	5	5000	66	13.2 ^b (± 3.77)
1200	5	5000	27	5.4 ^b (± 1.14)
2400	5	5000	107	21.4 ^b (± 1.86)

a: $P < 0.05$; b: $P > 0.05$

2. 讨 论

(1) 马缨杜鹃在极强酸性土壤上生长最盛。根据这一特点,在酸性条件(pH 1~3)下提取的红色素较稳定。马缨杜鹃花红色素易溶于水和乙醇溶剂中。故在提取花红色素时须考虑这些因素。

(2) 马缨杜鹃花红色素的毒理学一、二阶段试验结果所示:大、小白鼠急性毒性试验,一日灌胃量达10 g/kg bw,未出现任何异常情况和死亡,故LD₅₀只能按>10 g/kg bw实际无毒范围判定其结果。在致突变试验中,Ames试验及小鼠骨髓微核和小鼠精子畸形试验,兼顾体细胞和生殖细胞,体内真核和体外原核试验范围。检测结果表明,在测试剂量范围内均未有致突变和染色体畸变现象。

(3) 马缨杜鹃花红色素经花色甙试验证明^[4],具有该类色素的特点。其主要成分为花色甙类物质。据有关资料报道^[5],红色素(花色甙)为矢车菊素-3-葡萄糖甙(cyanidin-3-glucoside)

和矢车菊-3,5-双葡萄糖甙(cyanidin-3,5-diglucoside)。一般这两种色素在该植物中共存。

马缨杜鹃除民间少量药用外,国家对这一品种一直未列入收购范围,也未见有关天然色素利用的报道。但马缨杜鹃花期长,分布广,花色艳红,资源丰富。其红色素的一、二阶段毒性试验表明,作食品添加剂应用是可取的。但在食品工业中广泛应用还需对其稳定性作进一步的研究。

参 考 文 献

- 1 中国医学科学院药物研究所编. 中草药有效成分的研究 第一分册. 北京:人民卫生出版社,1972. 233.
- 2 上海第一医学院,中国医学科学院卫生研究所主编. 食品毒理. 北京:人民卫生出版社,1977. 3.
- 3 黄幸行,陈星若主编. 环境化学物致突变、致畸、致癌试验方法. 杭州:浙江科学技术出版社,1988.
- 4 张志红,陈清轩. 萝卜色素的提取及其性质. 食品科学,1992,(7):14.
- 5 江苏新医学院编. 中药大辞典 上册. 上海:上海人民出版社,1977. 300,1036.

(责任编辑:盛国英)

悬钩子属3个种粗制备物糖成分的差异

宋长铤 王传永 李维林 顾 娟

(江苏省植物研究所,南京 210014)
中国科学院

供试材料系南京中山植物园生长的山莓(*Rubus corchorifolius* L. f.)、蓬蘽(*R. hirsutus* Thunb.)和高粱泡(*R. lambertianus* Ser.)鲜果。以95%乙醇提取。提取液浓缩至小体积后,再用乙醚萃取。水相在沸水浴上浓缩即得粗制备物。

用Somogyi滴定法测定制备物的还原糖含量。制备物经2% HCl水解后,如上测得水解液中的可溶性糖含量。两项测定的差值就是非还原糖含量(以葡萄糖量计)。

纸层析用下行法。展开剂为正丁醇-冰乙酸-水(4:1:5,上层),用邻苯二甲酸苯胺试剂和邻氨基酚试剂显色。

3种材料粗制备物的各类糖含量见表1。可以看出:(1)蓬蘽粗制备物的可溶性糖含量高达72%,且无非还原糖;(2)高粱泡粗制备物含糖量虽最低(亦达60%),非还原糖含量却占46%。依据得率折算,鲜果的含糖量山莓为最高(表2)。

表1 3种悬钩子果实粗制备物中各类糖的含量(%)

种类	还原糖	非还原糖	可溶性糖
山莓	60.55±0.54	6.91±0.61	67.46±0.08
蓬蘽	72.43±2.50	0	72.43±2.50
高粱泡	31.49±0.60	27.39±1.33	59.88±1.93

表2 3种悬钩子鲜果含糖量(%)

种类	还原糖	非还原糖	可溶性糖
山莓	5.90	0.68	6.58
蓬蘽	4.68	0	4.68
高粱泡	3.26	2.83	6.20

纸层析结果表明,山莓粗制备物含阿拉伯糖、果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖和棉子糖。蓬蘽只含果糖和葡萄糖。高粱泡除含葡萄糖和果糖外,在层析谱原点还有一个未知非还原糖。