

芦笋提取物安全性评价研究

杨文祥^{1,2*}, 田 辉^{1,2#}, 邬源泉^{1,2}, 樊 军^{1,2}, 郑艳华^{1,2}, 王利霞^{1,2}

¹湖北省疾病预防控制中心, 湖北 武汉

²湖北省应用毒理重点实验室, 湖北 武汉

收稿日期: 2023年1月9日; 录用日期: 2023年2月10日; 发布日期: 2023年2月17日

摘 要

目的: 研究芦笋提取物作为食品的安全性。方法: 小鼠急性口服毒性试验、小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验、小鼠精子畸形试验和大鼠30天喂养试验。结果: 小鼠急性口服毒性试验MTD值大于20 g/kg 体重, 小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验和精子畸形试验为阴性, 以人群推荐剂量100倍大鼠口服30天, 临床症状、血相生化、动物脏器和病理组织学检查指标均无变化。结论: 芦笋提取物符合食品安全的毒理学要求。

关键词

芦笋提取物, 急性毒性, 遗传毒性, 30天喂养试验

Safety Evaluation of Asparagus Extract

Wenxiang Yang^{1,2*}, Hui Tian^{1,2#}, Yuanquan Wu^{1,2}, Jun Fan^{1,2}, Yanhua Zhen^{1,2}, Lixia Wang^{1,2}

¹Hubei Provincial Center for Disease Control and Prevention, Wuhan Hubei

²Hubei Provincial Key Laboratory of Quality and Safety of Traditional Chinese Medicine Health Food, Wuhan Hubei

Received: Jan. 9th, 2023; accepted: Feb. 10th, 2023; published: Feb. 17th, 2023

Abstract

Purpose: To test the safety of asparagus extract as a kind of health food. **Method:** We obtained toxicology results through acute toxicity test, micronucleus test of bone marrow cell, sperm shape abnormality test and thirty days feeding tests. **Result:** The MTD value of acute oral toxicity test in mice was more than 20 g/kg bw. The micronucleus tests of bone marrow polychromatic erythrocytes and

*第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 杨文祥, 田辉, 邬源泉, 樊军, 郑艳华, 王利霞. 芦笋提取物安全性评价研究[J]. 食品与营养科学, 2023, 12(1): 21-27. DOI: 10.12677/hjfn.2023.121004

sperm abnormality test in mice were negative, there were no changes in clinical symptoms, blood biochemistry, animal viscera and histopathology. Conclusion: Asparagus extract meets the toxicological requirements of food safety.

Keywords

Asparagus Extract, Acute Toxicity, Genotoxicity, 30-Day Feeding Trial

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

芦笋学名石刁柏, 为多年生宿根性草本植物, 含有众多营养元素和功效活性成分以及人类健康必需的锰、硒、钼、铬、镁、铜、铁等微量矿物质, 世界卫生组织将其公布为“十大健康蔬菜之首” [1] [2]。我国是芦笋种植面积最大的国家, 主要以罐藏和速冻产品形式出口[3], 初级产品多, 产品附加值不高[1], 为了开发附加值高的产品, 将芦笋经水煮、过滤、浓缩、干燥获得芦笋提取物, 每克芦笋提取物相当于 5 克鲜芦笋, 由于进行了较高浓度的浓缩, 其中的活性物质含量会明显提升, 因此有必要对芦笋提取物进行安全性评价, 以保障食用安全性。

2. 材料和方法

2.1. 受试品

试验用样品为胶囊。人群推荐日摄入量为 0.03 g/kg bw (按照成人 60 kg 体重计算)。

2.2. 实验动物和实验环境

湖北实验动物研究中心提供 SPF 昆明小鼠、Wistar 大鼠和动物饲料。实验动物及饲料生产许可证号: SCXK(鄂)2008-0005。大鼠和小鼠在湖北省实验动物研究中心 SPF 实验室饲养, 实验动物使用许可证号: SYXK(鄂)2008-0014。动物的重量取决于测试的要求。实验室的温度为 20℃~26℃, 湿度为 40%~70%。

2.3. 主要仪器和试剂

日立 7020 全自动生化分析仪、日本光电 MEK-6318K 型自动血球计数仪。试剂为上述仪器配套试剂, 生化试剂为上海丰汇医学技术公司生产, 血球试剂为上海东湖医学技术公司生产的试剂。

2.4. 方法

2.4.1. 小鼠急性经口毒性试验[4]

昆明小鼠(体重 18~22 g, 雄性 10 只, 雌性 10 只)以最大耐受剂量(MTD)喂食 20.0 g/kg bw (677 倍推荐的人每日摄入量)。观察期为 14 天。

2.4.2. 30 天喂养试验[4]

选择 SPF 级 80 只(雄性大鼠 40 只, 雌性大鼠 40 只), 体重 70~90 g。分为阴性对照组和低、中、高

剂量组(分别为 0.00、0.75、1.50、3.00 g/kg 体重), 分别相当于人群每日推荐摄入量的 0、25、50 和 100 倍。每组 20 只(10 只雄性大鼠和 10 只雌性大鼠), 单笼饲养。受试样品采用灌胃的方法给予[3]。

检查项目为: 1、每天观察一般临床症状。2、每周测定体重、食物摄入量和食物利用率。3、实验结束时检测血相、血液生化、动物脏/体比值测定及大体解剖和病理组织学检查。

2.4.3. 小鼠骨髓细胞微核试验[4]

选用 SPF 昆明种小鼠(雄性 25 只, 雌性 25 只, 体重 25~30 g)。他们被随机分为 5 组: 阴性对照组, 环磷酰胺阳性对照组(40 mg/kg bw)和 3 个剂量组(2.5、5.0、10.0 g/kg bw), 每组 5 只雄鼠和 5 只雌鼠。高剂量组相当于人群日摄入量的 333 倍。所有小鼠均按灌胃容量 0.2 ml/10 g BW。采用 30 小时试验方法。第二次给予受试物后 6 h 动物被处死, 取出股骨骨髓制片。观察并记录多染红细胞微核率, 计算 PCE 在红细胞总数中的百分比。

2.4.4. 小鼠精子畸形试验[4]

选用 SPF 级昆明种雄性小鼠 25 只, 其体重、分组、剂量、灌胃均与骨髓细胞微核试验相同。连续 5 天灌胃。第 35 天处死动物, 取附睾涂片。观察 1000 个精子, 记录异常精子数, 计算异常精子发生率。

2.5. 实验数据统计

利用 Excel 软件建立实验数据库。小鼠骨髓细胞微核试验: 各剂量组雌雄动物分别与相应的阴性对照组比较, 采用卡方检验对微核率进行统计; 小鼠精子畸形试验: 各剂量组分别与相应的阴性对照组比较, 用秩和检验评价精子畸形阳性率; 大鼠 30 天喂养试验: 计量资料采用 t 检验, 计数资料和等级资料采用 SPSS 软件进行非参数检验, 并按动物性别分别统计。

3. 结果

3.1. 芦笋提取物小鼠急性经口毒性试验

观察 14 天无明显中毒症状, 无动物死亡, MTD > 20.0 g/kg bw。

3.2. 芦笋提取物大鼠 30 天喂养试验

饲喂 30 天后, 各剂量组与阴性对照组比较, 总食物利用率和体重增重无显著性差异($P > 0.05$, 见表 1)。血清 ALT、AST、BUN、TCH、TG、ALB、TP、Cr、Glu 无显著性差异($P > 0.05$), 均在正常范围内(见表 2、表 3)。各剂量组与对照组脏器重量及脏/体比值均无显著性差异($P > 0.05$, 表 4)。大体解剖: 各实验剂量组雄性和雌性大鼠心、肝、脾、肺、肾、胃、肠等脏器外观颜色和大小与阴性对照组相比均正常, 未见明显渗出、增生、水肿和萎缩。镜检结果显示, 与阴性对照组相比, 各剂量组的形态学结果均在正常范围内, 未见明显的毒性病理改变。

3.3. 小鼠骨髓细胞微核试验

与阴性对照组比较, 阳性对照组雄性小鼠和雌性小鼠的微核率有显著性差异($P < 0.01$)。各剂量组雄性小鼠和雌性小鼠的微核率无显著性差异($P > 0.05$), 均在本实验室测定值正常范围内, 受试各剂量组未成熟红细胞与总红细胞的比率 $[(PCE)/(PCE + RBC)]$ 均不少于阴性对照组的 20%; 结果显示骨髓细胞微核试验为阴性(见表 5)。

3.4. 小鼠精子畸形试验

阳性对照组与阴性对照组比较精子畸形率差异有统计学意义($P < 0.01$), 受试物各剂量组与阴性对照

Table 1. Effect of asparagus extract on weight gain and total food availability in rats ($\chi \pm S$) (N = 10)**表 1.** 芦笋提取物对大鼠增重及总食物利用率的影响($\chi \pm S$) (N = 10)

性别	剂量(g/kg bw)	动物数(只)	体重增重	总进食量	总食物利用率
			(g)	(g)	(%)
雌	0.00	10	133.5 ± 16.9	461.4 ± 20.4	28.9 ± 2.7
	0.75	10	141.9 ± 9.1	465.1 ± 13.9	30.5 ± 1.7
	1.50	10	133.2 ± 15.2	451.9 ± 39.1	29.4 ± 1.6
	3.00	10	133.7 ± 8.5	452.1 ± 24.6	29.6 ± 1.9
雄	0.00	10	220.3 ± 21.3	590.5 ± 33.7	37.2 ± 1.9
	0.75	10	209.6 ± 12.3	574.0 ± 37.0	36.5 ± 1.3
	1.50	10	215.5 ± 21.5	586.4 ± 32.8	36.7 ± 2.7
	3.00	10	209.4 ± 20.0	577.3 ± 36.1	36.2 ± 1.8

各剂量组与阴性对照组比较, $P > 0.05$ 。

Table 2. Effect of asparagus extract on blood routine examination in rats ($\chi \pm S$) (N = 10)**表 2.** 芦笋提取物对大鼠血常规检查结果的影响($\chi \pm S$) (N = 10)

性别	剂量(g/kg bw)	WBC	RBC	Hb	淋巴细胞	单核细胞	中性粒细胞
		($\times 10^9/L$)	($\times 10^{12}/L$)	(g/L)	(%)	(%)	(%)
雌	0.00	10.3 ± 3.5	6.53 ± 0.66	129.7 ± 13.2	65.2 ± 6.7	5.4 ± 1.0	29.5 ± 6.5
	0.75	12.4 ± 4.1	6.20 ± 0.28	121.9 ± 4.3	64.4 ± 4.1	5.7 ± 1.1	29.9 ± 3.5
	1.50	12.3 ± 2.2	6.19 ± 0.45	123.1 ± 8.7	65.9 ± 8.6	5.7 ± 1.1	28.4 ± 9.4
	3.00	11.7 ± 2.7	6.45 ± 0.41	128.2 ± 7.1	62.1 ± 5.6	5.6 ± 0.8	32.3 ± 6.1
雄	0.00	12.8 ± 3.7	6.55 ± 0.52	124.2 ± 8.0	60.7 ± 6.0	5.7 ± 1.5	33.6 ± 5.5
	0.75	13.5 ± 3.1	6.57 ± 0.38	127.3 ± 6.8	58.2 ± 5.3	6.4 ± 1.9	35.4 ± 5.7
	1.50	12.7 ± 2.7	6.32 ± 0.31	120.2 ± 9.0	60.0 ± 5.4	5.6 ± 1.2	34.4 ± 5.9
	3.00	14.0 ± 1.0	6.47 ± 0.59	124.9 ± 11.5	58.2 ± 4.7	6.1 ± 1.3	35.7 ± 5.5

各剂量组与阴性对照组比较, $P > 0.05$ 。

Table 3. Effect of asparagus extract on blood biochemical examination in rats ($\chi \pm S$) (N = 10)**表 3.** 芦笋提取物对大鼠血液生化检查结果的影响($\chi \pm S$) (N = 10)

性别	剂量 g/kg bw	ALT	AST	TP	ALB	Glu	BUN	Cr	TCH	TG
		(U/L)	(U/L)	(g/L)	(g/L)	(mmol/L)	(mmol/L)	($\mu\text{mol/L}$)	(mmol/L)	(mmol/L)
雌	0.00	44.4 ± 6.8	147.2 ± 36.8	67.1 ± 1.7	31.7 ± 1.1	3.36 ± 0.53	6.57 ± 0.92	61.0 ± 4.8	2.16 ± 0.40	0.42 ± 0.25
	0.63	41.2 ± 10.0	120.8 ± 32.4	67.4 ± 2.9	31.5 ± 1.4	3.66 ± 1.20	6.41 ± 1.17	63.1 ± 7.6	2.19 ± 0.41	0.59 ± 0.18
	1.26	39.7 ± 5.3	121.1 ± 20.9	67.2 ± 2.8	31.5 ± 1.2	3.05 ± 1.02	6.15 ± 0.95	64.3 ± 6.2	2.21 ± 0.40	0.43 ± 0.19
	2.53	41.5 ± 6.2	122.3 ± 17.3	68.1 ± 2.6	31.9 ± 1.6	3.06 ± 0.60	6.64 ± 1.10	63.7 ± 10.9	2.07 ± 0.40	0.55 ± 0.23
雄	0.00	41.0 ± 7.0	141.2 ± 51.1	64.7 ± 2.7	30.6 ± 0.9	3.46 ± 0.95	5.98 ± 0.47	72.4 ± 4.8	1.86 ± 0.32	0.72 ± 0.33
	0.63	38.1 ± 4.9	125.3 ± 28.4	65.7 ± 2.7	30.9 ± 0.8	3.77 ± 0.91	5.99 ± 0.70	71.1 ± 3.8	1.78 ± 0.35	0.91 ± 0.30
	1.26	40.3 ± 5.5	142.4 ± 30.5	66.0 ± 2.7	30.8 ± 1.1	3.36 ± 1.44	5.68 ± 1.08	69.0 ± 4.0	1.75 ± 0.58	0.85 ± 0.36
	2.53	40.4 ± 5.9	122.4 ± 28.0	66.3 ± 2.9	31.1 ± 1.4	3.50 ± 1.12	6.14 ± 0.66	70.0 ± 3.1	1.90 ± 0.41	0.90 ± 0.30

各剂量组与阴性对照组比较, $P > 0.05$ 。

Table 4. Effect of asparagus extract on the ratio of viscera to body in rats ($\bar{x} \pm S$) (N = 10)**表 4.** 芦笋提取物对大鼠脏/体比值的影响($\bar{x} \pm S$) (N = 10)

性别	剂量(g/kg bw)	剖杀时体重(g)	动物脏/体比			
			肝脏/体比值(%)	脾脏/体比值(%)	肾脏/体比值(%)	睾丸脏/体比值(%)
雌	0.00	202.8 ± 14.2	3.46 ± 0.33	0.28 ± 0.04	0.80 ± 0.08	-
	0.75	209.8 ± 8.8	3.27 ± 0.25	0.28 ± 0.02	0.78 ± 0.05	-
	1.50	202.2 ± 14.9	3.44 ± 0.33	0.30 ± 0.03	0.82 ± 0.04	-
	3.00	201.7 ± 10.1	3.33 ± 0.18	0.29 ± 0.03	0.77 ± 0.06	-
雄	0.00	283.5 ± 20.4	3.65 ± 0.21	0.29 ± 0.04	0.79 ± 0.06	1.08 ± 0.06
	0.75	272.3 ± 15.5	3.61 ± 0.27	0.31 ± 0.04	0.80 ± 0.07	1.09 ± 0.06
	1.50	279.5 ± 25.1	3.51 ± 0.37	0.30 ± 0.04	0.83 ± 0.12	1.07 ± 0.09
	3.00	274.7 ± 22.4	3.53 ± 0.34	0.31 ± 0.03	0.82 ± 0.10	1.12 ± 0.14

各剂量组与阴性对照组比较, $P > 0.05$ 。

Table 5. Results of micronucleus test of asparagus extract on mouse bone marrow cells**表 5.** 芦笋提取物对小鼠骨髓细胞微核试验结果

性别	剂量(g/kg bw)	动物数(只)	PCE (个)	RBC (个)	PCE/(PCE+ RBC) (%)	微核		
						观察 PCE (个)	微核数(个)	微核率(‰)
雌	0.00	5	1000	816	55.1	5000	14	2.8 ± 0.8
	2.50	5	1000	820	55.0	5000	14	2.8 ± 0.8
	5.00	5	1000	816	55.1	5000	13	2.6 ± 0.5
	10.00	5	1000	818	55.0	5000	14	2.8 ± 0.8
	0.04 (CP)	5	1000	1235	44.8	5000	126	25.2 ± 1.6**
雄	0.00	5	1000	820	55.0	5000	13	2.6 ± 0.5
	2.50	5	1000	833	54.6	5000	13	2.6 ± 0.5
	5.00	5	1000	831	54.6	5000	13	2.6 ± 0.9
	10.00	5	1000	824	54.8	5000	13	2.6 ± 0.9
	0.04 (CP)	5	1000	1258	44.3	5000	131	26.2 ± 2.4**

**：与阴性对照组比较, $P < 0.01$ 。

Table 6. Results of sperm abnormality test of asparagus extract in mice**表 6.** 芦笋提取物对小鼠精子畸形试验结果

剂量(g/kg bw)	动物数(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	尾折叠	双头	双尾	总数	
0.00	5	5000	18	15	0	58	2	0	0	93	18.6 ± 1.7
2.50	5	5000	16	16	0	59	1	0	0	92	18.4 ± 1.7
5.00	5	5000	15	14	0	57	2	0	0	88	17.6 ± 2.2
10.00	5	5000	15	16	0	64	3	0	0	98	19.6 ± 1.1
0.04 (CP)	5	5000	147	148	70	123	51	11	11	561	112.2 ± 2.8**

**：与阴性对照组比较, $P < 0.01$ 。

组比较精子畸形率差异无统计学意义($P > 0.05$), 在本实验室测定值正常范围内, 试验结果为阴性(见表 6)。

4. 讨论

芦笋(*Asparagus officinalis* L.)学名石刁柏, 又名龙须菜、露笋等, 是百合科天门冬属多年生宿根性草本植物[5]。芦笋嫩茎是一种具有较高药用价值的营养蔬菜和保健食品, 被誉为“十大名菜之一”, 《神农本草经》将芦笋列为“上品之上”[5], 芦笋营养成分丰富, 不仅含钾、钠、磷、钙等大量元素, 还含有多种微量元素, 如硅、锌、铁、铜、锰、锶、钼、铬、钴、硒等。在有机成分中[6], 含有丰富的组蛋白及多种氨基酸, 其中天门冬氨酸含量最高, 占氨基酸总量的 13.5%, 比其他常见果蔬平均高 5 倍~10 倍。芦笋含有丰富的芦笋多糖、黄酮类化合物、维生素、蛋白质和甾体皂苷等物质, 芦笋中提取的皂苷、粗多糖、黄酮类等活性成分, 具有抗癌抗肿瘤、免疫调节、抗氧化、降血糖、血脂等多方面的药理作用[7] [8], 作为药食两用的名贵蔬菜, 具有很高的营养保健价值。芦笋及相关产品在抗疲劳研究方面已有报道[8] [9] [10] [11] [12]。芦笋在食品、医药等领域具有广阔的应用前景, 芦笋产品在国际市场需求量很大, 研究和开发芦笋系列保健食品, 市场前景十分广阔。芦笋对高血压、心脏病、心动过速、疲劳、水肿、膀胱炎、排尿困难等症均有一定疗效。有防止癌细胞扩散的功能, 对淋巴瘤、膀胱癌、肺癌、皮肤癌及肾结石等有疗效[13]。

有关芦笋提取物的功效作用研究较多, 但对芦笋产品的安全性评价研究还未见报道。本次实验表明: 芦笋提取物对两种性别的 SPF 级昆明种小鼠急性经口毒性试验, 累计两次灌胃剂量达 20.0 g/kg bw (相当于人群推荐日摄入量 0.03 g/kg bw 的 677 倍), 在 14 天的观察期内动物未见明显中毒症状和死亡, 依据急性毒性分级评价标准规定, 该受试样品属无毒级; 30 天喂养试验结果表明: 将受试样品按 0.75、1.50、3.00 g/kg bw 剂量(分别相当于人群推荐日摄入量 0.03 g/kg bw 的 25、50、100 倍)对 SPF 级 Wistar 大鼠连续给予 30 天, 动物未见明显的中毒症状和死亡。受试样品各剂量组大鼠体重、进食量、食物利用率、血液学、血液生化、脏器重量、脏/体比值以及病理组织学等指标与阴性对照组比较, 差异均无显著性, 结果为: 未发现该受试样品有明显的毒性作用。小鼠骨髓细胞微核试验和精子畸形试验结果均为阴性: 说明口服人群推荐量 333 倍的芦笋提取物, 不会引起小鼠骨髓细胞突变, 不会引起小鼠精子畸形。本实验为芦笋产品的开发提供了毒理学安全性评价依据。

基金项目

湖北省科技重大专项, 项目编号: 2021ACB003。

参考文献

- [1] 幸胜平, 肖华志, 冯健准, 等. 浅论我国芦笋加工利用现状及发展趋势[J]. 江西农业学报, 2008, 20(12): 4.
- [2] 张新明, 黄少华. 芦笋研究开发现状及展望[J]. 山东食品发酵, 2008(2): 16.
- [3] 沈火林. 芦笋业产销现状、发展趋势及对策[M]. 中国科协首届青年学术年会论文集农科分册. 北京: 中国科学技术出版社, 1992: 537-541.
- [4] 中华人民共和国卫生部. 保健食品检验与评价技术规范(2003 年版) [S]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 2003: 22-34.
- [5] 叶春勇, 林媚. 芦笋营养成分分析研究[J]. 中国果菜, 2005(2): 37-38.
- [6] 乜兰春, 孟庆荣, 李英丽, 等. 芦笋矿质元素吸收特性研究[J]. 植物营养与肥料学报, 2009(5): 1236-1239.
- [7] Guo, Q.B., Wang, N.F., Liu, H.H., et al. (2019) The Bioactive Compounds and Biological Functions of *Asparagus officinalis* L.: A Review. *Journal of Functional Foods*, **65**, 103727. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103727>
- [8] 詹姿女, 徐向红, 朱卫丰, 等. 芦笋的化学成分及生物活性研究[J]. 江西中医药, 2011, 42(2): 46-49.
- [9] 冯翠萍, 程红艳, 刘喜文, 等. 芦笋皮对小鼠抗疲劳作用的实验研究[J]. 营养学报, 2003, 25(3): 330-332.
- [10] 吴细丕. 芦笋对小鼠的抗疲劳作用[J]. 北京实验动物科学, 1993, 10(1): 28-30.

-
- [11] 吴细丕, 杜俊声, 钱林法, 等. 芦笋升白口服液对小鼠的抗疲劳作用[J]. 河南中医药学刊, 1994, 9(3): 8-10.
- [12] 田颖刚, 牛俊卿, 谢明勇, 等. 芦笋提取物抗疲劳及耐缺氧活性研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(13): 325-329.
- [13] Sun, C.Y., Zhao, B.T., Yu, Z.F., *et al.* (2004) The Development of Chemical Components in *Asparagus officinalis* and Their Medical Effects. *Chinese Wild Plant Resources*, **23**, 1-5.