

综述

基于系统文献检索食品添加剂脱氢乙酸及其钠盐危害识别

肖潇¹, 李国君^{2,3}, 宋雁¹, 于洲¹, 姜健⁴, 杜宏举^{2,3}

(1. 国家食品安全风险评估中心, 北京 100022; 2. 北京市疾病预防控制中心
北京市食物中毒诊断溯源技术重点实验室, 北京 100013; 3. 北京市预防医学研究中心, 北京 100013;
4. 安徽省疾病预防控制中心, 安徽 合肥 230601)

摘要: 本文基于系统性文献检索对食品添加剂脱氢乙酸及其钠盐进行危害识别。脱氢乙酸及其钠盐急性毒性属于低毒, 其主要表现为中枢神经系统中毒症状; 亚急性、亚慢性和慢性毒性主要表现为体重、进食量和其他生长指标明显降低, 以及抗凝血作用; 具有生殖发育毒性, 主要表现为降低仔代体重及抑制骨骼发育。危害识别结果表明, 脱氢乙酸及其钠盐经口暴露在一定剂量下可产生潜在毒性作用, 目前亟需制定其健康指导值, 为其作为食品添加剂使用的安全性评价提供依据。

关键词: 食品添加剂; 脱氢乙酸; 脱氢乙酸钠; 毒性; 危害识别

中图分类号: R155 **文献标识码:** R **文章编号:** 1004-8456(2020)05-0582-07

DOI: 10.13590/j.cjfh.2020.05.021

Hazard identification of dehydroacetic acid and its sodium salt used as food additives based on systematic literature searches

XIAO Xiao¹, LI Guojun^{2,3}, SONG Yan¹, YU Zhou¹, JIANG Jian⁴, DU Hongju^{2,3}

(1. China National Center for Food Safety Risk Assessment, Beijing 100022, China;
2. Beijing Key Laboratory of Diagnostic and Traceability Technologies for Food Poisoning,
Beijing Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100013, China; 3. Beijing
Preventive Medicine Research Center, Beijing 100013, China; 4. Anhui Provincial Center
for Disease Control and Prevention, Anhui Hefei 230601, China)

Abstract: The current study, using a systematic-literature-search approach, was intended to conduct hazard identification for dehydroacetic acid (DHA) and sodium dehydroacetate (DHA-S) which are currently used as food additives in China. DHA and DHA-S belong to the category of low toxic chemicals in terms of acute toxicity, mainly causing adverse effects in the central nervous system. Its subacute, subchronic and chronic toxicity mainly include significant reduction of body weight and food intake as well as anticoagulant effect. Reproductive development toxicity result show they can decrease body weight and inhibit bone development in offspring. According to the hazard identification result, oral intake of dehydroacetic acid and its sodium salt can produce a variety of toxic effects above certain doses. Further study is needed to determine the acceptable daily intake of DHA and its sodium salt and provide scientific evidence for safely use of these compounds as food additives.

Key words: Food additive; dehydroacetic acid; sodium dehydroacetate; toxicity; hazard identification

脱氢乙酸(dehydroacetic acid, DHA)及其钠盐(sodium dehydroacetate, DHA-S)为我国、美国、日本批准使用的食品添加剂(防腐剂)。我国 GB 2760—2014《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》^[1]

规定, DHA 和 DHA-S 可用于黄油和浓缩黄油、腌渍的蔬菜、腌渍的食用菌和藻类、发酵豆制品、淀粉制品、面包、糕点、焙烤食品馅料及表面用挂浆、预制肉制品、熟肉制品、复合调味料、果蔬汁(浆)共 12 类食品中, 其最大允许使用量为 1.0 g/kg(以 DHA 计)。美国允许 DHA 和 DHA-S 用于切块或去皮南瓜, 其最大使用量不超过 65 mg/kg, 日本允许 DHA 和 DHA-S 用于黄油、奶酪、人造黄油等食品中, 最大使用量不能超过 0.5 g/kg^[2-3]。2017 年, 我国曾发生一起牛奶中违规添加 DHA-S 导致低龄儿童食物

收稿日期: 2020-04-28

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFC1602703, 2018YFC1603102)

作者简介: 肖潇 男 助理研究员 研究方向为食品安全风险评估与毒理 E-mail: xiaoxiao@cfsa.net.cn

通信作者: 杜宏举 男 主管医师 研究方向为食品毒理学和神经毒理学 E-mail: skydu2008@163.com

中毒的事件^[4],引起了政府和社会的高度关注。鉴于 DHA 和 DHA-S 在我国作为食品添加剂被广泛使用,本文对 DHA 和 DHA-S 的健康危害进行系统研究,为其风险管理提供科学依据。

1 文献检索方法

本文文献检索方法参考联合国粮农组织/世界卫生组织食品添加剂联合专家委员会(JECFA)关于系统文献检索的指南^[5]。通过权威的毒理学数据库及相关网站检索,获得 DHA 和 DHA-S 的相关毒理学资料。本研究的系统文献检索方法采用以下步骤进行:(1)定义研究问题。研究 DHA 和 DHA-S 的基本理化性质、毒性终点、暴露途径、检测方法及历史风险评估资料等。(2)选择数据库。数据库来源包括文献型数据库如中国知网、万方数据、PubMed、TOXNET 以及世界卫生组织(WHO)、欧洲食品安全局(EFSA)、美国食品药品监督管理局(FDA)、欧洲化学品管理局(ECHA)、澳大利亚卫生部国家工业化学品通报与评价体系(NICNAS)等食品安全相关权威机构的官方数据库。(3)检索策略构建。检索策略包括:①与研究物质所有相关的主题词;②关注的生物对象:人+人类+人群+动物+啮齿类动物+体外细胞+作用模式+替代方法+分子机制+生物标志物;③毒性:毒性+危害+急性毒性+慢性毒性+遗传毒性+神经毒性+生殖毒性+发育毒性+致癌性;④风险评估相关主题词:安全评价+安全评估+危险评估+风险评估+危害评估+暴露评估。(4)运行检索。通过多种检索策略和关键词组合对不同数据库进行检索,并记录结果。(5)数据筛选。文献排除标准:①动物染毒途径为非经口途径;②未提供全文的会议摘要。同时,利用“医学文献王”软件对文献进行重复排除,最终通过筛选、整理获得总文献详细题录。

通过上述检索方法中选定的检索词、相关数据库词表的规范词,按各项组合检索查找了国内外相关数据库,结果如下:中国知网数据库检索得到 11 篇文章,人工筛选后获得文献 4 篇;万方数据库检索得到 10 篇文章,人工筛选后获得文献 3 篇;PubMed 检索得到 10 篇文章,人工筛选后获得文献 8 篇;WHO、EFSA、FDA、ECHA、NICNAS 官方网站检索得到 4 篇。考虑到 DHA 和 DHA-S 毒理学资料较少且历史久远,有些文献资料未纳入现有的数据库。对已检索到的毒理学文献进一步分析,将检索到的参考文献中引用的参考文献再进一步分析,获得文献 19 篇。经筛选后,最终纳入参考文献共 35 篇。

2 理化性质及毒理学资料

2.1 理化性质及用途

DHA,或称 α, γ -二乙酰基乙酰乙酸,固态呈白色或淡黄色结晶粉末,无臭、无味,微溶于水,水溶液呈弱酸性,易溶于碱、丙酮、苯、乙醚和甲醇,是一种活泼不稳定和可燃的化合物^[6]。DHA-S 为 DHA 的钠盐,或称 3-(1-羟基亚乙基)-6-甲基-1,2-吡喃-2,4(3H)-二酮钠,呈白色或近白色结晶性粉末状,无臭、无味,易溶于水、丙二醇及甘油和甲醇,但不溶于大多数有机溶剂;其水溶液呈中性或微碱性,耐热及耐光性好,于 120 °C 加热 2 h 仍保持稳定。由于 DHA 水溶性有限,其钠盐常用做防腐剂。DHA 和 DHA-S 属广谱型防霉剂,对细菌、霉菌、酵母菌均有良好的抑制效果^[7],抑制有效浓度为 0.05%~0.1%,一般用量为 0.03%~0.05%。DHA 和 DHA-S 的抑菌作用基本上不受食品酸碱度的影响,适用于不同的 pH 值环境,酸性强则抑菌效果更好,特别是在中性和弱碱性下有抑菌作用,在我国被广泛应用于食品、化妆品、饲料等领域。DHA 和 DHA-S 的理化性质如表 1 所示。

表 1 DHA 和 DHA-S 的理化性质

属性	DHA	DHA-S	
化学式	$C_8H_8O_4$	$C_8H_7NaO_4 \cdot H_2O$	
CAS 号*	520-45-6	4418-26-2	
分子量	168.1	208.1	
气味	无臭、无味	无臭、无味	
形态	白色或淡黄色粉末	白色粉末	
沸点/°C	270	295	
熔点/°C	109~111	110	
溶解度(g/100 g 溶剂, 25 °C)	水	<0.1	33
	橄榄油	1.6	<0.1
	95%乙醇	3	1
	丙酮	22	0.2
	苯	18	<0.1
	四氯化碳	3	<0.1
	乙醚	5	<0.1
	甘油	<0.1	15
	正庚烷	0.7	<0.1
	甲醇	5	14
丙二醇	1.7	48	

注:*表示美国化学文摘服务社(Cheical Abstracts Service, CAS)为化学物质制定的登记号

2.2 吸收、分布、代谢和排泄

DHA 和 DHA-S 经口摄入后,可被人或动物迅速吸收,并分布于血液和多个器官中,只有很小一部分未被吸收而排出体外^[8-9]。大部分 DHA 在血浆中与血清蛋白结合^[8-9]。同位素¹⁴C 示踪法结果^[8]显示,DHA 在体内无明显的蓄积性,给大鼠灌胃约 60~120 mg/kg BW 的 DHA,停药 4~5 d 后约 90% 的 DHA 从体内消除(20%~40% 通过尿液、

10%~25%通过二氧化碳、10%~20%通过粪便)。肝脏是DHA在大鼠体内的主要代谢器官,其主要代谢产物为羟基DHA和三乙酸内酯(TAL),分别约占给药剂量的8%和1%^[8]。犬的试验证明DHA和DHA-S可以通过胎盘屏障传递给仔代^[9]。大鼠两年的慢性试验证实,在相同剂量的情况下,雌性血

浆中DHA浓度明显高于雄性^[9]。从鸡的代谢研究结果看^[10-11],DHA相比于DHA-S在组织中的残留量更高(大约10~30倍),提示DHA更易被机体吸收,具有更高的生物活性,对机体潜在的健康风险也较DHA-S高。DHA和DHA-S的吸收、分布、代谢和排泄资料如表2所示。

表2 DHA和DHA-S经口摄入吸收、分布、代谢和排泄资料汇总

Table 2 Absorption, distribution, metabolism and elimination data of DHA and DHA-S by oral intake

试验对象	性别	使用物质	剂量使用	周期	结果	备注	参考文献
人类	—	DHA	500,750 mg/d	150 d; 115 或 118 d (500 mg/d) +32 或 35 d (750 mg/d)	开始给药后血浆浓度缓慢上升,15~20 d后逐渐趋于稳定在10~18 mg/dL范围内	无明显中毒症状	[9]
猕猴	—	DHA/ DHA-S	50,100,200 mg/kg BW	290,397 d	开始给药后4 h血浆浓度达到最大值: DHA:15(50) [#] ,26~28(100),45(200) mg/dL DHA-S:15(50),33(100),51(200) mg/dL	每周给药5次,200 mg/kg BW剂量组给药次数为每周小于5次	[9]
犬	—	DHA-S	160 mg/kg BW*	单次	给药后1.5~2 h血浆浓度达到最大值:22~26 mg/dL	—	[9]
犬	—	DHA-S	80 mg/kg BW*	10,15,70 d	一只犬在开始给药后第10天死亡,血中浓度为25 mg/dL;一只犬在第15天死亡,血中浓度为18 mg/dL;其他两只犬强制进食犬粮则存活到第70天试验结束,这两只犬的血中浓度最大值分别为21 mg/dL(第49天)和15 mg/dL(第41天)。后者在第49天时分娩,血浆DHA浓度为12 mg/dL。在一只仔代犬的所有受检测的组织中均检出DHA,其含量均值为13 mg/dL,血浆DHA浓度为10 mg/dL	强制喂食犬粮有助于缓解毒性症状	[9]
大鼠	—	DHA	59,67,118 mg/kg BW	4,5 d	血中残留量最高。停药4~5 d后约90%从体内消除(20%~40%通过尿液、10%~25%通过二氧化碳、10%~20%通过粪便)。尿中主要代谢产物羟基DHA和TAL。肝脏是DHA在大鼠体内的主要代谢器官	—	[8]
大鼠	—	DHA-S	0.02%, 0.05%, 0.1%, 0.2% (食物中)*	10 d	开始给药第8天血浆浓度达到最大值:8(0.05%), 11(0.1%) mg/dL;第10天血浆浓度达到最大值:6(0.02%), 18(0.2%) mg/dL;DHA-S的摄入量和血浆浓度成正比,血浆浓度范围为3(0.02%)~18(0.2%) mg/dL	—	[9]
大鼠	雌雄	DHA-S	0.02%, 0.05%, 0.1%(食物中)*	两年	停药后:雌-血浆:0.8(0.02%),3.2(0.05%),10(0.1%) mg/dL;雄-血浆:0.4(0.02%),1.6(0.05%),5.8(0.1%) mg/dL	雌性大鼠血浆中DHA浓度明显高于雄性;0.02%、0.05%、0.1%分别相当于约16、39、78 mg/kg BW	[9]
兔	—	DHA	12, 17, 60, 67, 504 mg/kg BW	3,7,10 d	血中残留量最高。停药3~7 d后约90%的DHA可从体内消除(70%~80%通过尿液、7%~10%通过二氧化碳、2%~3%通过粪便)。DHA主要在兔肝脏中进行代谢。羟基DHA和TAL是DHA尿中的主要代谢产物,TAL可被进一步代谢为乙酰乙酸、乙酸和二氧化碳,羟基DHA可进一步代谢为草酸	—	[8]
鸡	—	DHA	300, 600 mg/kg (食物中)	2周	停药后残留量分布:肝>肌肉>肾;停止给药后第1天各组织中残留量最高,之后缓慢下降;其在肝脏中的蓄积时间最长,可达17 d	—	[10]
鸡	—	DHA-S	200 mg/kg(食物中)	30 d	停药后残留量分布:肾>肝>肌肉>皮肤脂肪组织;停药后第1天,各组织中残留最高,之后缓慢下降;在肾脏中消除速率最低,可达21 d	—	[11]

注:—表示文献中没有提供该信息;*表示DHA-S剂量以DHA计;#括号中的数字代表剂量使用

2.3 动物毒性效应

2.3.1 急性毒性

DHA 和 DHA-S 的急性毒性属低毒级,主要表现为重度呕吐、流涎增多、乏力、运动失调、抽搐及

呼吸衰竭等中枢神经系统中毒症状,严重情况下可能导致死亡。其半数致死剂量(LD₅₀)范围大约为 500~1 500 mg/kg BW。其他详细资料如表 3 所示。

表 3 DHA 和 DHA-S 急性经口毒性试验结果
Table 3 Acute toxicity test results of DHA and DHA-S by oral intake

实验动物	使用物质	性别	剂量使用 /(mg/kg BW)	毒性终点	LD ₅₀ /(mg/kg BW)	参考文献
犬	DHA/DHA-S	—	DHA: 200, 250, 500, 1 000; DHA-S: 400*	DHA: 死亡(200, 500, 1 000 mg/kg BW), 共济失调、抽搐 (1 000 mg/kg BW); DHA-S: 死亡(400 mg/kg BW*), 共济失 调(400 mg/kg BW*), 呕吐(400 mg/kg BW*)	—	[12]
大鼠	DHA/DHA-S	雌雄	DHA: 700~2 000; DHA-S: 400~810*	—	DHA: 1 000; DHA-S: 570*	[6]
大鼠	DHA	雌雄	680, 920, 1 240, 1 670, 2 250, 3 040, 4 010	死亡(1 240, 1 670, 2 250, 3 040, 4 010 mg/kg BW)	1 500(雄), 1 450(雌)	[13]
大鼠	DHA-S	雌雄	500, 690, 952, 1 313, 1 812, 2 500	死亡(690, 952, 1 313, 1 812, 2 500 mg/kg BW)	1 231	[14]
小鼠	DHA	雌雄	500, 690, 952, 1 313, 1 812, 2 500	死亡(952, 1 313, 1 812, 2 500 mg/kg BW)	1 313	[15]
小鼠	DHA-S	雌雄	800, 1 042, 1 357, 1 768, 2 303, 3 000	死亡(1 357, 1 768, 2 303, 3 000 mg/kg BW)	1 768	[14]

注:—表示文献中未提供; *表示剂量以 DHA 计

2.3.2 亚急性、亚慢性和慢性毒性

DHA 和 DHA-S 的亚急性、亚慢性和慢性毒性主要表现为体质量、进食量和其他生长指标明显降低,高剂量会导致动物出现共济失调、呕吐和抽搐等中毒症状,严重情况会导致死亡^[6],具有抗凝血作用^[2,16-17]。

2.3.3 遗传毒性

DHA 和 DHA-S 的 Ames 试验结果为阴性^[18-20]。小鼠红细胞微核和骨髓细胞微核试验结果为阴性^[20-22]。体外哺乳类细胞染色体畸变试验结果为阴性^[20]。高剂量的 DHA-S(3 000 mg/L)染毒 48 h,可导致中国仓鼠成纤维细胞染色体结构异常率明显升高(23%)^[19]。液体枯草芽孢杆菌重组修复试验研究了 DHA-S 的 DNA 损伤活性,试验结果为阳性^[23]。DHA 和 DHA-S 的遗传毒性有待进一步研究。

2.3.4 生殖发育毒性

大鼠孕期经口给予 DHA-S 可导致母鼠和胎鼠体质量明显降低,胎鼠死亡率明显增高并出现明显的骨畸形^[24]。小鼠的生殖发育毒性试验也发现了类似的结果,孕期经口给予 DHA-S 可导致胎鼠死亡率升高,体质量减轻,第 14 根肋骨发育异常,胸骨和肋骨畸形。但是,以上发育异常与对照组比较差异无统计学意义^[25]。

2.3.5 致癌性

在研究 DHA 对 DAB 诱导肝癌影响的大鼠试验中,未发现 0.25% DHA(约为 250 mg/kg BW)有致癌效应^[26]。另外,一项大鼠的肝癌试验也未发现

DHA(约为 20 mg/kg BW)具有致癌性^[27],DHA 和 DHA-S 的致癌性有待进一步研究。动物毒理学资料汇总见表 4。

2.4 体外毒性研究结果

DHA 处理 NIH/3T3 细胞 4 和 24 h 的半抑制浓度(IC₅₀)值分别为 440 和 170 mg/L;处理 Neuro-2a 细胞 4 和 24 h 的 IC₅₀ 值分别为 550 和 750 mg/L^[28]。0.5 mmol/L 以上浓度的 DHA-S 可引起 α-亚麻酸处理的大鼠肝细胞内丙二醛(MDA)含量明显增加,表明 DHA-S 可诱导脂质过氧化反应,但对未经 α-亚麻酸处理的大鼠肝细胞无明显作用^[29]。该研究还发现,1 mmol/L 以上的 DHA-S 可明显降低 α-亚麻酸处理的肝细胞内谷胱甘肽(GSH)和蛋白巯基水平。2 mmol/L 以上浓度的 DHA-S 可导致肝细胞培养基中乳酸脱氢酶(LDH)的释放水平明显增加,提示细胞损伤增加。加入抗氧化剂 N,N'-二苯基-P-苯二胺(DPPD)可几乎完全抑制 DHA-S 诱导的脂质过氧化反应和细胞损伤。综上所述,DHA-S 在体外可引起肝细胞产生脂质过氧化反应和细胞损伤,其效应取决于有无 α-亚麻酸存在。该试验观察到 DHA-S 产生不良作用的最低剂量(LOAEL)值为 0.5 mmol/L(约为 104 mg/L)。

2.5 对人类健康的影响

2017 年,我国宁夏地区曾发生牛奶中非法添加 DHA-S 导致儿童食物中毒事件,问题牛奶样品中 DHA-S 的含量为 1.70 和 1.71 g/kg^[4]。依据该文献数据进行估算,儿童通过牛奶摄入 DHA-S 的量约为

表4 DHA和DHA-S动物毒理学资料汇总
Table 4 Data summary of DHA and DHA-S toxicities in animals

试验属性	使用物质	实验动物	性别	周期	剂量	毒性终点	备注	参考文献
亚急性	DHA-S	小鼠	雄	14 d	50,100,200,400 mg/kg BW	死亡、体质量减轻、进食量下降(200, 400 mg/kg BW);凝血酶原时间和活化部分凝血酶原时间升高(100, 200 mg/kg BW)	DHA-S在体外能抑制大鼠肝微粒体中维生素K ₁ 环氧化物还原酶活性(IC ₅₀ : 3.15 μmol/L); NOAEL:50 mg/kg BW, LOAEL: 100 mg/kg BW	[2]
	DHA-S	大鼠	雌雄	12 d	50,100,150,200 mg/kg BW	体质量降低、凝血酶原时间和活化部分凝血酶原时间升高、内脏出血(50, 100,150,200 mg/kg BW)	LOAEL:50 mg/kg BW	[16]
	DHA-S	大鼠	雌雄	13 d	40,80,120,160 mg/kg BW	体质量降低、进食量下降、血清维生素K水平下降、凝血酶原时间和活化部分凝血酶原时间升高(40,80,120,160 mg/kg BW)	雌性比雄性更加敏感; LOAEL: 40 mg/kg BW	[30]
	DHA-S	大鼠	雌雄	13 d	150,200 mg/kg BW	凝血酶原时间和活化部分凝血酶原时间升高、维生素K水平下降、肝脏中VKORC1 mRNA基因表达下降(150, 200 mg/kg BW)	注射维生素K可阻碍DHA-S导致的凝血酶原时间和活化部分凝血酶原时间升高	[17]
	DHA-S	犬	—	14 d	80 mg/kg BW*	厌食症、流口水、体质量减轻(13%~33%)、抽搐和死亡(10~23 d以后)	灌胃DHA-S的同时强制进食犬粮未出现不良反应	[12]
亚慢性	DHA-S	仔猪	雌雄	42 d	0.02%, 0.1%, 0.2%(食物中)	血清超氧化物歧化酶活力明显降低、总抗氧化能力明显降低(0.2%);肝脏丙二醛升高(0.02%, 0.1%)	LOAEL:0.02%	[31]
	DHA-S	鸡	—	42 d	200,1 000,2 000 mg/kg(食物中)	日体质量增量、平均体质量等生长指标下降,血中白细胞增加,血清蛋白下降(1 000,2 000 mg/kg BW);血中血红蛋白下降(200 mg/kg BW)	LOAEL:200 mg/kg(食物中)	[32]
	DHA	大鼠	雄	34 d	10,30,100,300 mg/kg BW	第7天和第11天出现死亡、20%~30%体质量减轻、胃肠出血(300 mg/kg BW)	NOAEL:100 mg/kg BW, LOAEL: 300 mg/kg BW	[6]
	DHA-S	大鼠	—	94 d	1 830 mg(总剂量)	肝损伤	—	[33]
	DHA	大鼠	—	15周	20 mg/d	生长缓慢、肝酶活性降低、肝脏增生、肾小球功能下降、肾脏萎缩	—	[33]
慢性	DHA-S	大鼠	雌雄	半年	0.05%, 0.15%, 0.5%(食物中)	雄:体质量降低,血清总蛋白、葡萄糖、谷草转氨酶和尿素氮降低(0.5%);红细胞数减少(0.05%, 0.15%)。雌:体质量降低(0.15%, 0.5%);血红蛋白含量增加,血清总蛋白、葡萄糖和总胆固醇降低(0.5%)	LOAEL: 0.05%	[34]
	DHA	犬	—	200 d	50,80 mg/kg BW	无不良反应	NOAEL:50 mg/kg BW	[9]
	DHA/DHA-S	猕猴	雌雄	1年	50,100,200,300 mg/kg BW	死亡、肾小管上皮退化、小肠发炎(300 mg/kg BW),体质量和食欲降低(200, 300 mg/kg BW);共济失调、呕吐、抽搐(200, 300 mg/kg BW)	NOAEL:100 mg/kg BW;强制进食有助于减轻症状(200 mg/kg BW);肝脏总脂肪含量增加(50 mg/kg BW),由于其他组未见此效应,排除与受试物相关	[6]
	DHA	大鼠	雌雄	2年	0.02%, 0.05%, 0.10%(食物中)	无不良反应	NOAEL:78 mg/kg BW	[6]
	DHA-S	小鼠	雌雄	30 h	137,275,549 mg/kg BW	红细胞微核试验阴性	NOAEL:137 mg/kg BW	[20]
遗传毒性	DHA-S	小鼠	雄	24,30,96 h	62.5,125,250,500,1 000 mg/kg BW(静脉注射); 37.5, 75, 150, 300,312.5, 625, 1 250 mg/kg BW(经口灌胃)	微核试验阳性(125, 250, 500, 1 000 mg/kg BW;静脉注射);MNPCE百分比明显增高(150, 300, 312.5, 625, 1 250 mg/kg BW;经口灌胃)	当灌胃150, 300, 312.5, 625, 1 250 mg/kg BW剂量时, MNPCE相对于对照组明显增高,在趋势测试中P值接近于统计学上的显著差异(P=0.052),但是无法构成剂量-反应关系,因此判定经口灌胃微核试验结果为阴性;NOAEL:75 mg/kg BW	[22]
	DHA	小鼠	雌雄	24, 48 h	130,260,660 mg/kg BW	小鼠骨髓微核试验阴性	660 mg/kg BW剂量组微核率与正常对照组比较明显升高; NOAEL:260 mg/kg BW	[21]

续表 4

试验属性	使用物质	实验动物	性别	周期	剂量	毒性终点	备注	参考文献
生殖发育毒性	DHA-S	小鼠	雌雄	孕期第6~15天	50, 100, 200 mg/kg BW	胎鼠死亡比例增高、体质量减轻 (200 mg/kg BW); 出现第 14 根肋骨 (50, 100, 200 mg/kg BW), 胸骨节和肋骨畸形	与对照组比较差异无统计学意义; LOAEL: 50 mg/kg BW	[25]
	DHA-S	大鼠	雌雄	孕期第6~17天	25, 50, 100 mg/kg BW	母鼠体质量降低、进食量下降 (50, 100 mg/kg BW); 胎鼠体质量下降、骨骼畸形、骨骼发育迟缓 (50, 100 mg/kg BW); 胎鼠死亡率增高 (100 mg/kg BW)	NOAEL: 25 mg/kg BW LOAEL: 50 mg/kg BW	[24]
	DHA	大鼠	雄	64周	10 mg/dL(饮用水中)	未发现肝癌	—	[27]
致癌性	DHA	大鼠	雄	288, 250, 350 d	0.25% (食物中)	未发现肝癌	DHA 提高了微粒体酶活性; DHA 对 DAB 引起的肝癌具有抑制作用。试验方案: 0.06% DAB 喂饲 126 d, 接着 0.25% DHA 或者普通食物喂饲 162 d; 0.06% DAB 加 0.25% DHA 喂饲 173 d, 普通食物喂饲 77 d; 0.25% DHA 喂饲 350 d	[26]

注:—表示文献中未提供; * 表示剂量以 DHA 计; DAB: 对 4-二甲氨基偶氮苯; LOAEL: 观察到不良作用的最低剂量; NOAEL: 未观察到不良作用剂量; MNPC: 微核多色红细胞; VKORC1: 维生素 K 环氧化物还原酶复合体 1

每天 25~74 mg/kg BW。3 名住院患者每天经口摄入 6~13 mg/kg BW 的 DHA, 连续 173 d, 未见对人体产生不良影响。其中, 有 2 名患有芽生菌病的患者, 每日摄入 14~17 mg/kg BW 的 DHA, 有一名患者在 26 d 的试验中有 2 d 出现厌食反应, 另有一名患者在 48 d 的试验中有 2 d 出现厌食症, 在第 13 天时该患者出现恶心、呕吐现象。但鉴于患者有时候能耐受更高的剂量而不出现任何毒性反应, 因此, 尚不能确定是摄入 DHA 引起这些患者产生以上不良反应^[35]。3 名正常受试者每日早餐、晚餐经口服用含 DHA 250 mg 的药片, 每日中午取血浆进行检测, 连续服用 115 或 118 d 后, 每日中午再增加服用一次药片, 每天服用总量为 750 mg 的 DHA, 继续服用 32~36 d。结果显示, 血浆中 DHA 浓度一直保持在 10~18 mg/dL 的浓度水平, DHA 给药期间和给药后 (约 20 d) 未见明显中毒反应^[9]。

3 小结

现有资料显示, DHA 和 DHA-S 经口摄入急性毒性属于低毒, 主要表现为呕吐、乏力、运动失调、抽搐等中枢神经系统中毒症状; 亚急性、亚慢性和慢性毒性主要表现为体质量、进食量和其他生长指标明显降低, 以及抗凝血作用; 具有生殖发育毒性, 主要表现为导致仔代体质量降低及抑制骨骼发育; 尚未发现确凿的遗传毒性和致癌性的证据。目前, WHO 和 JECFA 等权威机构尚未制定 DHA 和 DHA-S 的人体每日允许摄入量 (ADI) 值。危害识别

结果表明, DHA 和 DHA-S 经口暴露在一定剂量下可产生多种毒性作用, 目前亟需开展危害评估并确立健康指导值, 将其作为食品添加剂使用安全性评价的依据。

参考文献

- [1] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品添加剂使用标准: GB 2760—2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.
- [2] SAKAGUCHI Y, SUGA S, OSHIDA K, et al. Anticoagulant effect of sodium dehydroacetate (DHA-S) in rats [J]. *Journal of Applied Toxicology*, 2008, 28(4): 524-529.
- [3] United States Food and Drug Administration. 21CFR172.130-Code of Federal Regulations Title 21 [EB/OL]. (2019-04) [2020-04-28]. <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfCFR/CFRSearch.cfm?fr=172.130>.
- [4] 刘峰, 徐飞, 袁秀娟, 等. 一起牛奶中脱氢乙酸钠中毒事件调查分析[J]. *中国食品卫生杂志*, 2019, 31(5): 490-493.
- [5] World Health Organization (WHO). Guidance to JECFA experts on systematic literature searches prepared by WHO JECFA Secretariat [EB/OL]. (2017-01) [2020-04-28]. https://www.who.int/foodsafety/chem/jecfa/Literature_Search.pdf.
- [6] SPENCER H, ROWE V, MCCOLLISTER D. Dehydroacetic acid (DHA). I. Acute and chronic toxicity [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1950, 99(1): 57-68.
- [7] 李忠平, 周岩民, 陈敏, 等. 脱氢醋酸钠防霉效果的研究 [J]. *粮食与饲料工业*, 2008(7): 32-34.
- [8] BARMAN T E, PARKE D V, WILLIAMS R T. The metabolism of dehydroacetic acid (DHA) [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1963, 5(5): 545-568.

- [9] WOODS L A, SHIDEMAN F E, SEEVERS M H, et al. Dehydroacetic acid (DHA): III. Estimation, absorption and distribution [J]. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1950, 99(1): 84-97.
- [10] ZHANG Y M, DU Y F, YIN J, et al. Determination and depletion of dehydroacetic acid residue in chicken tissues [J]. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 2012, 29(6): 918-924.
- [11] ZHANG Y M, LIU H L, YU Z R, et al. Sodium dehydroacetate levels in chicken tissues [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2016, 47: 31-37.
- [12] SEEVERS M H, SHIDEMAN F E, WOODS L A, et al. Dehydroacetic acid (DHA). II. General pharmacology and mechanism of action [J]. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1950, 99(1): 69-83.
- [13] UCHIDA O, NAITO K, YASUHARA K, et al. Studies on the acute oral toxicity of dehydroacetic acid, sorbic acid and their combination compound in rats [J]. *Eisei Shikenjo Hokoku*, 1985 (103): 166-171.
- [14] 戴有金, 夏亮. 脱氢乙酸钠大小鼠急性毒性实验 [J]. *中国畜禽种业*, 2019, 15(12): 52.
- [15] 杜玉锋. 脱氢乙酸的毒性及在鸡组织中消除规律的研究 [D]. 扬州: 扬州大学, 2009.
- [16] 余峥嵘, 吴银超, 谢佳玉, 等. 防霉剂脱氢醋酸钠致大鼠出血试验 [J]. *动物医学进展*, 2018, 39(1): 73-78.
- [17] CHEN X, WEI Q H, LU Q Q, et al. Sodium dehydroacetate induces coagulation dysfunction by inhibiting liver vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 in Wistar rats [J]. *Research in Veterinary Science*, 2019, 124(5): 399-405.
- [18] ZEIGER E, ANDERSON B, HAWORTH S, et al. *Salmonella* mutagenicity tests; III. Results from the testing of 255 chemicals [J]. *Environmental Mutagenesis*, 1987, 9(S9): 1-60.
- [19] ISHIDATE M, SOFUNI T, YOSHIKAWA K, et al. Primary mutagenicity screening of food additives currently used in Japan [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 1984, 22(8): 623-636.
- [20] 耿雪, 张晓鹏, 李永宁, 等. 脱氢乙酸钠遗传毒性研究 [J]. *中国食品卫生杂志*, 2020, 32(2): 118-123.
- [21] 李佳常, 杜玉峰, 史玉静. 脱氢乙酸小鼠骨髓细胞微核试验 [J]. *药学研究*, 2014, 33(6): 319-320, 325.
- [22] HAYASHI M, KISHI M, SOFUNI T, et al. Micronucleus tests in mice on 39 food additives and eight miscellaneous chemicals [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 1988, 26(6): 487-500.
- [23] NONAKA M. A study on the liquid *Bacillus subtilis* rec-assay for detecting the DNA-damaging activity of food additives [J]. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 1991, 253(3): 267.
- [24] TANAKA S, KAWASHIMA K, NAKAURA S, et al. Studies on the teratogenic potential of sodium dehydroacetate in rats [J]. *Eisei Shikenjo Hokoku*, 1988(106): 54-61.
- [25] SHIOBARA S. Effect of sodium dehydroacetate (DHA-Na) orally administered to pregnant mice on the pregnancy and their fetuses [J]. *Nippon Kosho Eisei Zasshi*, 1980, 27(2): 91-97.
- [26] MIYAKI K, AKAO M, KAGAYA Y, et al. Inhibitory effect of dehydroacetic acid on induction of hepatoma in rats fed 4-(dimethylamino) azobenzene [J]. *Gan*, 1968, 59(2): 85-95.
- [27] DICKENS F, JONES H E, WAYNFORTH H B. Oral, subcutaneous and intratracheal administration of carcinogenic lactones and related substances; the intratracheal administration of cigarette tar in the rat [J]. *British Journal of Cancer*, 1966, 20(1): 134-144.
- [28] YAMASHOJI S, ISSHIKI K. Rapid detection of cytotoxicity of food additives and contaminants by a novel cytotoxicity test, menadione-catalyzed H₂O₂ production assay [J]. *Cytotechnology*, 2001, 37(3): 171-178.
- [29] SUGIHARA N, SHIMOMICHI K, FURUNO K. Cytotoxicity of food preservatives in cultured rat hepatocytes loaded with linolenic acid [J]. *Toxicology*, 1997, 120(1): 29-36.
- [30] ZHANG Y M, YING D L, LIU H, et al. Serum pharmacokinetics and coagulation aberration induced by sodium dehydroacetate in male and female Wistar rats [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 46210.
- [31] 屈长波, 王恬. 脱氢醋酸钠对断奶仔猪抗氧化能力的影响 [J]. *食品科学*, 2014, 35(11): 54-57.
- [32] 孙得发, 杨志斌, 屈长波, 等. 食品防霉剂脱氢醋酸钠的肉鸡耐受性研究 [J]. *食品科学*, 2015, 36(7): 189-193.
- [33] Final report on the safety assessment of sodium dehydroacetate and dehydroacetic acid [J]. *J Am Coll Toxicol*, 1985, 4(3): 123-159.
- [34] TANIGUCHI S, YAMADA A, MORITA S, et al. Absence of synergistic toxicity of two food additives, sodium dehydroacetate and dibutyl hydroxy toluene, in rats treated orally for 6 months [J]. *Food Hygiene and Safety Science*, 1981, 22(5): 366-380.
- [35] SHIDEMAN F, WOODS L, SEEVERS M. Dehydroacetic acid (DHA). IV. Detoxication and effects on renal function [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1950, 99(1): 98-111.