

## 论著

## β-葡聚糖生物强化大米 28 天经口毒性研究

李沙<sup>1</sup>, 田丽<sup>1</sup>, 杨华<sup>1</sup>, 高俊<sup>2</sup>, 陈晓彤<sup>1</sup>, 王红平<sup>3</sup>, 阴文娅<sup>1</sup>

(1. 四川大学华西公共卫生学院/四川大学华西第四医院, 四川 成都 610041; 2. 四川省疾病预防控制中心, 四川 成都 610041; 3. 四川省食品药品检验检测研究院, 四川 成都 610097)

**摘要:**目的 通过 28 d 经口毒性试验研究,对 β-葡聚糖生物强化大米的安全性进行评价。方法 将断乳 SD 大鼠随机分为对照组和低、中、高剂量组(2.5、5.0 和 10.0 g/kg BW),每组 22 只,雌雄各半。按照 10 mL/kg BW 经口灌胃,连续给予 28 d,实验前后对大鼠进行眼部检查,处死动物后进行尿常规、血液学、血生化、脏器系数测定及组织病理学检查。结果 与对照组相比,给药组动物外观、体质量、食物利用率、脏器系数、血生化和尿常规检测均没有明显差异;雄性中、高剂量组和雌性高剂量组在第 4 周的进食量与对照组相比具有统计学差异( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),但均无时间上的延续性,认为无毒理学意义;雄性中、高剂量组的血小板含量与对照组相比具有统计学差异( $P < 0.05$ ),但无剂量-反应关系,仅限单个指标异常,且均在实验室参考值范围之内,认为不具有毒理学意义;高剂量组病理学检查未见与受试物有关的病理性改变。结论 在本试验条件下,SD 大鼠短期经口摄入 β-葡聚糖生物强化大米未见毒性作用,但长期食用的安全性尚需进一步研究。

**关键词:** β-葡聚糖;营养强化;28 d 经口毒性试验

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2022)01-0017-06

DOI:10.13590/j.cjfh.2022.01.004

## Twenty-eight-day oral toxicity study of β-glucan biofortified rice

LI Sha<sup>1</sup>, TIAN Li<sup>1</sup>, YANG Hua<sup>1</sup>, GAO Jun<sup>2</sup>, CHEN Xiaotong<sup>1</sup>, WANG Hongping<sup>3</sup>, YIN Wenya<sup>1</sup>

(1. West China School of Public Health, Sichuan University/West China Fourth Hospital, Sichuan University, Sichuan Chengdu 610041, China; 2. Sichuan Center for Disease Control and Prevention, Sichuan Chengdu 610041, China; 3. Sichuan Institute of Food and Drug Inspection and Testing, Sichuan Chengdu 610097, China)

**Abstract: Objective** To evaluate the safety of β-glucan biofortified rice through a 28-day oral toxicity test. **Methods** Weaned SD rats were randomly divided into a control group and low, medium and high dose groups (2.5, 5.0 and 10.0 g/kg BW), 22 in each group, half male and half female. After oral gavage (10 mL/kg BW) and continuous administration for 28 d, eyes were examined before and after the experiment. After the animals were sacrificed, urine routine, hematology, blood biochemistry, organ coefficient measurement and histopathology examination were performed. **Results** Compared with the control group, there were no significant differences in the appearance, weight, food utilization, organ coefficient, blood biochemistry, and urine routine tests in the sample group. Compared with the control group, the food intake of the male medium, high-dose group and the female high-dose group was statistically different ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ), but there was no continuity in time, which is considered to be non-toxic significance. The platelets (PLT) of the male medium and high dose groups are statistically different from the control group ( $P < 0.05$ ), but there is no dose-response relationship, only a single index is abnormal, and both are within the laboratory reference value range. Within, it is considered to have no toxicological significance; the pathological examination of the high-dose group showed no pathological changes related to the test substance. **Conclusion** Under the conditions of this experiment, short-term oral intake of β-glucan bio-fortified rice showed no toxic effects, but the safety of long-term consumption needs further research.

**Key words:** β-glucan; bifortification; 28-day oral toxicity test

收稿日期:2021-07-09

作者简介:李沙 女 硕士生 研究方向为食品营养与卫生

E-mail:626290922@qq.com

通信作者:阴文娅 女 副教授 研究方向为植物化学物的功能评价

E-mail:yinwenya@scu.edu.cn

β-葡聚糖是一种非淀粉类多糖,在植物、细菌和真菌等生物体中大量存在,而燕麦 β-葡聚糖、酵母 β-葡聚糖和香菇 β-葡聚糖等较为常见。不同来源的 β-葡聚糖因其 β-糖苷键构成比例、多糖链的分支和分子量等差异而使其生物活性有所不

同<sup>[1-2]</sup>。由于人体不含有降解 $\beta$ -葡聚糖的酶, $\beta$ -葡聚糖在体内无法分解,因而具有膳食纤维的功效<sup>[3]</sup>,在降血糖、调节机体免疫、降低胆固醇、调节肠道功能、增强抗氧化能力和抗肿瘤等方面发挥健康作用<sup>[4-9]</sup>。

生物强化是基于人类健康需求,在农作物生长培育过程中通过改变传统育种或栽培方法,以提高农产品中一种或多种有益健康成分含量,是解决人体营养不良和微量营养素缺乏的经济有效的手段。作为一种新兴的营养干预手段,生物强化在公众认识、科研推广、市场发展、消费者接受度和国际合作等方面都已取得一定成绩<sup>[10]</sup>。

有研究表明,高血压、糖尿病和肥胖等慢性病的发生率与人们偏爱摄入高脂肪、高热量和精加工等膳食纤维含量少的食物密切相关<sup>[11]</sup>,而如何提高膳食纤维摄入量 and 改善因膳食纤维缺乏导致的营养不良问题也是全球关注的公共卫生问题。 $\beta$ -葡聚糖具有调节血糖、增强免疫和控制体质量等生理功效。美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)建议,每日至少保证摄入0.75 g的 $\beta$ -葡聚糖,而摄入3 g $\beta$ -葡聚糖就可发挥生物学作用<sup>[12]</sup>。大米作为世界上约二分之一人口、我国约三分之二人口的主食,无疑是强化 $\beta$ -葡聚糖的良好载体。本研究旨在通过SD大鼠的28 d经口毒性试验对 $\beta$ -葡聚糖生物强化大米的安全性进行评价,为 $\beta$ -葡聚糖生物强化大米的发展和利用提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品

$\beta$ -葡聚糖生物强化大米样品:由四川惠泰农业科技有限公司提供,采用NY/T 2006—2011《谷物及其制品中 $\beta$ -葡聚糖含量的测定》方法检测其 $\beta$ -葡聚糖含量为7.7 g/100 g。栽培方式:在浸种、分苗期、拔节期和出穗期等不同阶段采用营养生物调节剂进行干预,通过植物应激代谢反应,得到富含 $\beta$ -葡聚糖的产品。本试验中将 $\beta$ -葡聚糖生物强化大米经120℃烤熟后磨碎过100目筛,以羧甲基纤维素钠溶液为溶剂配制。

### 1.2 实验动物及饲养

SPF级SD大鼠:北京维通利华实验动物技术有限公司提供,许可证号SCXK(京)2016-0006;动物饲养于屏障环境,许可证号:SYXK(川)2015-127;饲养环境温度 $20\text{℃}\sim 26\text{℃}$ (日温差 $\leq 4\text{℃}$ );相对湿度 $40\%\sim 70\%$ ;12 h/12 h昼夜明暗交替;饮用灭菌水;自由进食。

### 1.3 主要仪器与试剂

全自动生化分析仪(瑞士罗氏);全自动血液细胞分析仪(德国西门子);血凝分析仪(日本希森美康);尿化学分析装置(德国西门子);双目间接检眼镜(中国KEELER);离心机[赛默飞世尔科技(中国)有限公司];电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]及注射器(山东侨牌集团有限公司)等。

血液分析试剂、生化分析试剂、尿液分析试剂和凝血分析试剂均采用仪器配套的原装试剂;组织病理标本固定液采用国产分析纯试剂配制;羧甲基纤维素钠(安徽省活力源生物科技有限公司);氯化钠注射液(四川科伦药业股份有限公司);改良Davidsons'(成都市科隆化学品有限公司);10%NBF(中性福尔马林固定液,北京索莱宝科技有限公司);戊巴比妥钠麻醉剂(Sijma);荧光素钠眼科检查(天津市晶明新技术开发有限公司)。

### 1.4 试验方法

根据《食品安全国家标准 28天经口毒性试验》(GB 15193.22—2014)对 $\beta$ -葡聚糖生物强化大米进行安全性评价。断乳SD大鼠按体质量随机分为4组,每组22只,雌雄各半。设 $\beta$ -葡聚糖生物强化大米2.5 g/kg BW、5.0 g/kg BW、10.0 g/kg BW三个剂量组。将其溶于浓度为5 g/mL羧甲基纤维素钠助溶剂中,每日灌胃,连续给予28天。试验前后对所有动物进行眼部检查(角膜、球结膜、虹膜)。饲养28 d后处死动物(处死前禁食16 h),收集动物尿液进行尿常规检测,同时进行脏器系数测定、血液学、血生化及组织病理学检查。

### 1.5 统计学分析

采用SPSS 23.0软件对各实验组与对照组均数比较使用方差分析,若不满足方差分析的条件(方差不齐或者不符合正态分布)则采用秩和检验,尿液等级资料进行赋值后采用秩和检验进行统计分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 动物外观检查

整个喂养期间,动物摄食、饮水、排便和生长发育等均正常。眼部检查未见异常,未见明显行为学改变及中毒现象。

### 2.2 $\beta$ -葡聚糖生物强化大米对体质量的影响

由表1可知,与对照组相比,各剂量组动物体质量及增重均无显著性差异( $P>0.05$ )。高剂量组的体质量较其他组大鼠要低,但体质量低与进食量的减少趋势相对应,考虑是因为进食量的减少而引起的体质量降低。

表 1 β-葡聚糖生物强化大米对大鼠体质量的影响 ( $\bar{x}\pm s$ )

Table 1 Effects of β-glucan bioaugmentation rice on body weight of rats ( $\bar{x}\pm s$ )

| 性别 | 剂量<br>/(g/kg bw) | 动物数<br>/只 | 体质量/g    |            |            |            |            |
|----|------------------|-----------|----------|------------|------------|------------|------------|
|    |                  |           | 第 1 天    | 第 7 天      | 第 14 天     | 第 21 天     | 第 27 天     |
| 雄  | 0                | 11        | 80.6±9.4 | 127.7±14.7 | 188.8±18.4 | 244.9±22.5 | 300.2±24.9 |
|    | 2.5              | 11        | 84.8±7.1 | 132.1±9.9  | 199.8±9.5  | 259.4±11.4 | 314.3±13.3 |
|    | 5.0              | 11        | 84.0±6.0 | 138.1±10.9 | 199.8±9.5  | 256.4±24.1 | 304.7±32.5 |
|    | 10.0             | 9         | 86.2±4.0 | 134.9±11.8 | 187.8±18.0 | 238.3±23.6 | 277.2±29.4 |
| 雌  | 0                | 10        | 73.9±4.6 | 118.6±10.8 | 153.6±9.5  | 183.1±14.6 | 205.4±18.9 |
|    | 2.5              | 11        | 75.6±2.6 | 116.7±6.8  | 154.0±8.5  | 183.2±9.5  | 203.5±16.4 |
|    | 5.0              | 11        | 73.8±3.3 | 118.7±7.7  | 156.6±12.8 | 180.7±15.5 | 208.8±18.2 |
|    | 10.0             | 11        | 75.9±4.4 | 117.6±7.7  | 145.4±12.1 | 176.5±13.5 | 196.1±15.9 |

注:剂量“0”为对照组;每组动物数原本为 11 只,动物只数减少为灌胃操作不当所致

### 2.3 β-葡聚糖生物强化大米对进食量和食物利用率的影响

由表 2 可见,与对照组相比,雄性中剂量组在第 4 周、高剂量组在第 2 周和第 4 周的进食量减少,雌性高剂量组在第 2 周和第 3 周的进食量减少,差异具有

统计学意义 ( $P < 0.05$ ;  $P < 0.05$ ;  $P < 0.01$ ;  $P < 0.05$ ;  $P < 0.05$ ),但均无时间上的延续性和明显的剂量-反应关系,且总进食量和食物利用率与对照组相比也均差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),受试物本身属于食物,灌胃容量也可能会影响进食量,故认为无生物学意义。

表 2 β-葡聚糖生物强化大米对大鼠进食的影响 ( $\bar{x}\pm s$ )

Table 2 Effect of β-glucan bioaugmentation rice on the eating of rats ( $\bar{x}\pm s$ )

| 性别 | 剂量<br>/(g/kg bw) | 动物数<br>/只 | 进食量/g        |               |               |                | 总进食量         | 总食物<br>利用率 (%) |
|----|------------------|-----------|--------------|---------------|---------------|----------------|--------------|----------------|
|    |                  |           | 第 1 周        | 第 2 周         | 第 3 周         | 第 4 周          |              |                |
| 雄  | 0                | 11        | 120.03±5.31  | 166.38±13.92  | 176.87±10.17  | 183.65±9.34    | 646.21±27.02 | 34.30±3.35     |
|    | 2.5              | 11        | 122.76±5.96  | 169.45±7.34   | 181.66±6.02   | 175.54±9.59    | 646.68±22.85 | 35.86±2.37     |
|    | 5.0              | 11        | 116.57±17.67 | 162.48±7.43   | 169.13±16.81  | 164.09±15.46*  | 618.47±42.59 | 36.39±4.52     |
|    | 10.0             | 9         | 120.03±5.31  | 140.39±16.50* | 158.28±18.35  | 146.31±11.58** | 561.39±46.67 | 34.18±4.13     |
| 雌  | 0                | 10        | 100.24±10.45 | 127.02±4.07   | 137.09±4.79   | 121.85±7.93    | 488.94±14.30 | 27.52±3.52     |
|    | 2.5              | 11        | 104.02±6.18  | 130.07±6.72   | 133.70±2.48   | 118.16±7.80    | 485.94±19.54 | 26.74±2.63     |
|    | 5.0              | 11        | 103.81±6.39  | 126.70±9.07   | 127.59±5.32   | 118.50±12.00   | 476.60±25.86 | 28.94±2.77     |
|    | 10.0             | 11        | 101.28±20.17 | 111.76±12.67* | 126.85±10.90* | 105.53±9.89    | 445.43±48.78 | 27.88±2.22     |

注:剂量“0”为对照组;\*表示与对照组相比, $P < 0.05$ ;\*\*表示与对照组相比, $P < 0.01$

### 2.4 脏器系数测定结果

如表 3 所示,高剂量组的部分脏器系数有所降低,但均无剂量-反应关系,且各组实验动物的重要脏器质量和脏器系数(脏器湿重/空腹体质量×100)与对照组相比差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

### 2.5 血液学检测结果

表 4 显示,雄性 SD 大鼠中、高剂量组的血小板 (Platelet, PLT) 低于对照组,差异具有统计学意义 ( $P < 0.01$ ;  $P < 0.01$ )。将中剂量与高剂量组进行统计学检验,发现仅数值上较中剂量组偏小,差异不具有统计学意义,并未表现出明显的剂量-效应关系,且均在实验室的历史对照范围 (雄性:  $988.1 \times 10^9 \sim 1\ 533.1 \times 10^9/L$ ; 雌性:  $986.4 \times 10^9 \sim 1\ 395.8 \times 10^9/L$ ),其凝血指标 [凝血酶原时间 (Prothrombin time, PT) 和活化部分凝血酶原时间 (Activation of partial thromboplastin time, APTT)] 与对照组相比也差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),仅单个指标出现异常,推断为动物个体差异所致,不具有生物学意义,认为受试物对实验动物血液学无毒性作用。其余血液学指标与对照组相比均差异无统

计学意义 ( $P > 0.05$ )。

### 2.6 血生化检测结果

如表 5 所示,处死实验动物后对血清生化指标进行检测,各组动物的肝功、肾功、血脂和血糖等生化指标与对照组比较,差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

### 2.7 尿液检测结果

如表 6 所示,对各组实验动物的尿液指标进行检测,与对照组相比,各组试验动物的尿比重、pH、尿蛋白、尿糖和隐血等指标与对照组比较,差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

### 2.8 组织学检查结果

试验结束时对动物进行大体检查,未发现与受试物有关的相关性改变,因此仅选高剂量组和对照组的脑、胸腺和心脏等 16 个脏器进行组织病理学检查。发现仅个别动物有肝局灶汇管区轻度炎细胞浸润(雌性对照组和高剂量组各 2 只,雄性对照组和高剂量组各 1 只);个别动物有肾间质局灶轻度炎细胞浸润(雌性和雄性对照组各 1 只);个别动物有十二指肠肠黏膜轻-中度炎细胞浸润(雄性对照

表3  $\beta$ -葡聚糖生物强化大米对大鼠脏器质量和系数的影响( $\bar{x}\pm s$ )Table 3 Effects of  $\beta$ -glucan bioaugmentation rice on organ weight and coefficient ( $\bar{x}\pm s$ )

| 性别 | 剂量<br>/(g/kg bw) | 空腹体重<br>/g               | 肝                       |           | 肾         |           |           |
|----|------------------|--------------------------|-------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
|    |                  |                          | 质量/g                    | 系数/%      | 质量/g      | 系数/%      |           |
| 雄  | 0                | 270.55±23.98             | 9.04±1.01               | 3.34±0.21 | 2.30±0.22 | 0.85±0.06 |           |
|    | 2.5              | 283.54±12.98             | 9.40±0.60               | 3.31±0.15 | 2.35±0.14 | 0.83±0.04 |           |
|    | 5.0              | 276.76±28.81             | 9.12±1.07               | 3.29±0.18 | 2.35±0.25 | 0.85±0.07 |           |
|    | 10.0             | 253.21±26.54             | 8.14±1.32               | 3.11±0.26 | 2.07±0.30 | 0.81±0.06 |           |
| 雌  | 0                | 186.60±16.84             | 6.31±0.82               | 3.38±0.22 | 1.61±0.18 | 0.87±0.06 |           |
|    | 2.5              | 185.98±15.01             | 6.03±0.60               | 3.24±0.17 | 1.60±0.14 | 0.86±0.06 |           |
|    | 5.0              | 187.58±17.81             | 6.15±0.66               | 3.28±0.12 | 1.57±0.18 | 0.84±0.06 |           |
|    | 10.0             | 175.83±17.21             | 5.79±0.61               | 3.29±0.15 | 1.61±0.32 | 0.91±0.13 |           |
| 性别 | 剂量<br>/(g/kg bw) | 脾                        |                         | 胸腺        |           | 心脏        |           |
|    |                  | 质量/g                     | 系数/%                    | 质量/g      | 系数/%      | 质量/g      | 系数/%      |
| 雄  | 0                | 0.72±0.16                | 0.26±0.05               | 0.75±0.14 | 0.28±0.05 | 1.15±0.11 | 0.43±0.04 |
|    | 2.5              | 0.73±0.09                | 0.26±0.03               | 0.76±0.16 | 0.27±0.05 | 1.23±0.11 | 0.43±0.04 |
|    | 5.0              | 0.71±0.08                | 0.26±0.03               | 0.68±0.12 | 0.24±0.03 | 1.20±0.16 | 0.44±0.05 |
|    | 10.0             | 0.59±0.11                | 0.23±0.03               | 0.60±0.12 | 0.23±0.05 | 1.05±0.13 | 0.42±0.03 |
| 雌  | 0                | 0.44±0.11                | 0.23±0.04               | 0.63±0.14 | 0.33±0.05 | 0.81±0.11 | 0.43±0.04 |
|    | 2.5              | 0.44±0.07                | 0.24±0.03               | 0.55±0.10 | 0.30±0.05 | 0.79±0.10 | 0.43±0.04 |
|    | 5.0              | 0.47±0.08                | 0.25±0.03               | 0.52±0.09 | 0.28±0.04 | 0.77±0.07 | 0.41±0.03 |
|    | 10.0             | 0.43±0.07                | 0.25±0.03               | 0.50±0.15 | 0.28±0.07 | 0.78±0.11 | 0.45±0.04 |
| 性别 | 剂量<br>/(g/kg bw) | 肾上腺                      |                         | 睾丸/卵巢     |           |           |           |
|    |                  | 质量/( $\times 10^{-2}$ g) | 系数/( $\times 10^{-2}$ ) | 质量/g      | 系数/%      |           |           |
| 雄  | 0                | 4.33±0.64                | 1.60±0.21               | 0.56±0.06 | 0.21±0.02 |           |           |
|    | 2.5              | 4.76±0.52                | 1.68±0.18               | 0.63±0.05 | 0.22±0.02 |           |           |
|    | 5.0              | 4.24±0.66                | 1.53±0.21               | 0.62±0.05 | 0.22±0.03 |           |           |
|    | 10.0             | 4.30±0.60                | 1.70±0.22               | 0.57±0.05 | 0.24±0.04 |           |           |
| 雌  | 0                | 5.28±1.04                | 2.82±0.44               | 0.08±0.03 | 0.04±0.01 |           |           |
|    | 2.5              | 5.37±0.76                | 2.92±0.57               | 0.08±0.01 | 0.04±0.01 |           |           |
|    | 5.0              | 4.68±1.06                | 2.51±0.55               | 0.11±0.02 | 0.06±0.01 |           |           |
|    | 10.0             | 4.98±0.89                | 2.85±0.54               | 0.09±0.02 | 0.05±0.01 |           |           |

注:剂量“0”为对照组;每组动物数同表1

表4  $\beta$ -葡聚糖生物强化大米对大鼠血液学指标的影响( $\bar{x}\pm s$ )Table 4 Effects of  $\beta$ -glucan bioaugmentation rice on hematological parameters in rats ( $\bar{x}\pm s$ )

| 性别 | 剂量<br>/(g/kg bw) | 动物数<br>/只 | WBC           | RBC              | Hb         | PLT            | PT        | APTT       |
|----|------------------|-----------|---------------|------------------|------------|----------------|-----------|------------|
|    |                  |           | /( $10^9$ /L) | /( $10^{12}$ /L) | /(g/dL)    | /( $10^9$ /L)  | /s        | /s         |
| 雄  | 0                | 11        | 5.36±1.54     | 7.05±0.26        | 17.64±0.67 | 1417.0±120.4   | 8.33±0.47 | 15.07±2.44 |
|    | 2.5              | 11        | 6.13±2.15     | 7.01±0.51        | 17.73±1.01 | 1299.4±158.1   | 8.22±0.37 | 15.23±1.55 |
|    | 5.0              | 11        | 5.82±2.44     | 7.05±0.34        | 17.64±0.67 | 1230.5±85.2**  | 8.33±0.47 | 15.10±2.74 |
|    | 10.0             | 9         | 4.96±1.06     | 7.09±0.24        | 17.50±0.53 | 1194.4±167.2** | 8.63±0.35 | 15.95±0.90 |
| 雌  | 0                | 10        | 3.24±0.58     | 7.09±0.36        | 17.60±0.84 | 1307.6±176.8   | 7.22±0.13 | 13.60±1.32 |
|    | 2.5              | 11        | 3.82±1.25     | 7.05±0.48        | 16.00±4.71 | 1198.2±144.0   | 7.34±0.14 | 14.31±1.14 |
|    | 5.0              | 11        | 3.59±0.97     | 6.93±0.48        | 16.82±0.98 | 1383.5±512.7   | 7.24±0.15 | 14.14±1.06 |
|    | 10.0             | 11        | 4.00±0.91     | 7.05±0.43        | 17.18±0.98 | 1305.4±223.6   | 7.31±0.21 | 14.60±1.51 |

注:WBC为白细胞,RBC为红细胞,Hb为血红蛋白,PLT为血小板,PT为凝血酶原时间,APTT为活化部分凝血酶原时间;剂量“0”为对照组;每组动物数原本为11只,动物只数减少为灌胃操作不当所致;\*\*表示与对照组相比, $P<0.01$ 

组1只),伴局部肠黏膜毛细血管轻度充血;其余受检脏器未见明显异常改变。以上的病理改变无特异性,无剂量-反应关系,考虑为自发性病变,与受试物无关。

### 3 讨论

生物强化是通过改变育种或栽培条件从而提高作物中对人体健康有利的营养素含量的方法。近年来,中国经济发展突飞猛进,但隐性饥饿和营养过剩等健康问题却亟待解决。2004年,中国启动

生物强化工程,旨在培育富含微量营养素(铁、锌、维生素A、叶酸等)的新作物。《中国食物与营养发展纲要(2014—2020)》指出要加快食物与营养科技创新,逐步形成生产、需求、营养和健康协调发展的产业体系,为营养型农业的发展提供了政策和环境支持。生物强化具有生产易推广、食用安全、受益人群广和经济有效的优势<sup>[10]</sup>,并在国内外都已取得一定成果且正在蓬勃发展,具有广阔的应用和发展前景,而以生物强化技术为核心的营养型农业也被认为是解决国民营养健康问题的有效途径之一。

表 5 β-葡聚糖生物强化大米对大鼠血清生化指标的影响( $\bar{x}\pm s$ )

Table 5 Effects of β-glucan bioaugmentation rice on serum biochemical indexes of rats ( $\bar{x}\pm s$ )

| 性别 | 剂量<br>(g/kg bw) | ALT        | AST          | TP           | ALB        | UREA        | CREA       | GLU         |
|----|-----------------|------------|--------------|--------------|------------|-------------|------------|-------------|
|    |                 | /(U/L)     | /(U/L)       | /(g/L)       | /(g/L)     | /(mmol/L)   | /(μmol/L)  | /(mmol/L)   |
| 雄  | 0               | 21.85±3.42 | 81.4±8.71    | 52.30±1.89   | 39.08±2.08 | 5.85±1.18   | 24.27±3.23 | 7.14±0.88   |
|    | 2.5             | 19.73±4.07 | 75.92±8.67   | 53.37±3.11   | 40.29±2.99 | 5.81±1.06   | 25.82±4.02 | 7.00±1.01   |
|    | 5.0             | 22.07±3.45 | 85.47±24.39  | 51.54±2.18   | 38.58±2.39 | 5.35±0.74   | 24.91±4.83 | 6.77±1.32   |
|    | 10.0            | 18.20±3.13 | 85.31±26.90  | 51.01±2.03   | 38.58±3.31 | 6.06±1.00   | 25.56±4.28 | 8.11±1.38   |
| 雌  | 0               | 15.92±2.16 | 94.58±26.6   | 56.93±5.34   | 45.73±3.65 | 6.93±1.06   | 27.30±2.91 | 6.34±0.56   |
|    | 2.5             | 15.35±2.64 | 85.90±16.83  | 56.25±4.01   | 44.85±4.40 | 6.55±1.79   | 25.09±3.36 | 6.38±0.55   |
|    | 5.0             | 17.00±2.61 | 101.23±30.81 | 54.96±4.12   | 43.75±4.17 | 7.01±1.56   | 26.09±4.78 | 6.34±0.43   |
|    | 10.0            | 17.02±3.59 | 97.65±25.71  | 54.18±3.21   | 42.52±3.90 | 6.79±1.51   | 28.64±5.26 | 6.81±1.06   |
| 性别 | 剂量<br>(g/kg bw) | TG         | CHO          | ALP          | GGT        | Na          | K          | Cl          |
|    |                 | /(mmol/L)  | /(mmol/L)    | /(U/L)       | /(U/L)     | /(mmol/L)   | /(μmol/L)  | /(mmol/L)   |
| 雄  | 0               | 0.36±0.18  | 1.77±0.20    | 221.91±49.38 | 0.45±1.13  | 146.89±2.49 | 4.10±0.24  | 105.41±1.06 |
|    | 2.5             | 0.23±0.10  | 1.83±0.34    | 207.91±63.23 | 0.18±1.40  | 147.09±1.71 | 3.94±0.23  | 104.86±1.59 |
|    | 5.0             | 0.36±0.20  | 1.70±0.26    | 249.09±48.43 | 0.09±0.70  | 146.16±1.80 | 4.05±0.24  | 104.63±1.39 |
|    | 10.0            | 0.25±0.15  | 1.66±0.29    | 222.22±55.13 | 0.11±0.60  | 145.81±1.80 | 4.12±0.25  | 105.16±1.09 |
| 雌  | 0               | 0.20±0.07  | 1.88±0.40    | 122.00±28.13 | 0.40±0.84  | 147.15±1.69 | 3.85±0.20  | 106.89±0.93 |
|    | 2.5             | 0.22±0.10  | 1.76±0.19    | 124.73±39.83 | 0.36±0.81  | 145.78±1.74 | 3.94±0.36  | 106.26±1.26 |
|    | 5.0             | 0.20±0.05  | 1.83±0.28    | 143.36±63.36 | 0.73±1.27  | 145.54±1.84 | 3.89±0.25  | 105.63±1.03 |
|    | 10.0            | 0.19±0.04  | 1.87±0.32    | 138.18±66.37 | 0.27±0.65  | 146.35±3.12 | 3.83±0.35  | 106.10±1.70 |

注:ALT 为谷丙转氨酶,AST 为谷草转氨酶,TP 为总蛋白,ALB 为白蛋白,UREA 为尿素,CREA 为肌酐,GLU 为血糖,TG 为甘油三酯,CHO 为胆固醇,ALP 为碱性磷酸酶,GGT 为谷氨酰转肽酶,Na、K、Cl 分别为钠、钾、氯;剂量“0”为对照;每组动物数同表 1

表 6 β-葡聚糖生物强化大米对大鼠尿液指标的影响( $\bar{x}\pm s$ )

Table 6 Effects of β-glucan bioaugmentation rice on urine indexes of rats ( $\bar{x}\pm s$ )

| 性别 | 剂量<br>(g/kg·bw) | 动物数<br>(只) | 尿比重       | pH        | 尿蛋白(%) |    | 葡萄糖(%)    |           | 隐血(%) |    |
|----|-----------------|------------|-----------|-----------|--------|----|-----------|-----------|-------|----|
|    |                 |            |           |           | 2+     | 3+ | 2+        | 3+        | 2+    | 3+ |
|    |                 |            |           |           | 0      | 11 | 1.01±0.00 | 8.55±0.27 | 0     | 0  |
| 雄  | 2.5             | 11         | 1.01±0.00 | 8.41±0.20 | 0      | 0  | 0         | 0         | 0     | 0  |
|    | 5               | 11         | 1.01±0.01 | 8.32±0.40 | 0      | 0  | 0         | 0         | 0     | 0  |
|    | 10              | 9          | 1.01±0.00 | 8.50±0.25 | 0      | 0  | 0         | 0         | 0     | 0  |
|    | 0               | 10         | 1.01±0.00 | 8.55±0.16 | 0      | 0  | 0         | 0         | 0     | 0  |
| 雌  | 2.5             | 11         | 1.01±0.00 | 8.50±0.50 | 0      | 0  | 0         | 0         | 0     | 0  |
|    | 5               | 11         | 1.01±0.00 | 8.55±0.15 | 0      | 0  | 0         | 0         | 0     | 0  |
|    | 10              | 11         | 1.01±0.00 | 8.45±0.35 | 0      | 0  | 0         | 0         | 0     | 0  |

注:剂量“0”为对照;每组动物数原本为 11 只,动物只数减少为灌胃操作不当所致

β-葡聚糖是一种膳食纤维,具有降血糖、降血脂、免疫调节、抗氧化和抗肿瘤等多种生物活性,近年来在医药、保健食品、化妆品等多个领域的研究应用逐步增加<sup>[13]</sup>。世界上约有一半人口、我国约有三分之二的人口以大米为主食,因而以大米作为载体获得的 β-葡聚糖大米在改善营养缺乏上具有很大的发展空间,目前市场上也已经有钙强化大米和锌强化大米等营养强化大米<sup>[14-15]</sup>。本研究中的强化大米是在栽培过程中使用生物调节剂进行干预,通过增强作物光合作用和改变光照条件的原理从而使水稻通过本身的生物反应合成 β-葡聚糖,经检测其 β-葡聚糖含量为 7.7 g/100 g,而普通大米中 β-葡聚糖的含量仅约 0.13 g/100 g。根据中国居民平衡膳食宝塔的推荐,以强化大米为主食每天可摄入约 4~12 g 的 β-葡聚糖,而每天摄入 β-葡聚糖达 3 g 以上就可改善胆固醇水平并保护心脏健康<sup>[16]</sup>,对糖尿病患者具有降血糖的功效。我国也将酵母 β-葡

聚糖(卫生部公告 2010 年第 9 号)和燕麦 β-葡聚糖(国家卫生和计划生育委员会公告 2014 年第 20 号)作为新资源食品,可作为食品原料应用于食品中。

28 天经口毒性试验是通过连续 28 天经口给予动物受试物,通过对动物的外观、体重、食物消耗、血液学、血生化、尿液和病理等全面的检查,确定受试物是否对实验动物有毒性作用,并了解其毒性作用特征和靶器官,为进一步的长期毒性试验提供依据。β-葡聚糖生物强化大米作为一种新资源食品,对其进行安全性毒理学评价是必要的。在前期研究中,已有研究表明 β-葡聚糖生物强化大米不具有急性毒性和遗传毒性<sup>[17]</sup>,其 LD<sub>50</sub>>15 g/kg,属于实际无毒级,并具有提高机体免疫力和改善糖脂代谢异常的潜在功效<sup>[18-19]</sup>。

在本试验中,与对照组相比,给药组动物外观、体重、食物利用率、脏器系数、血生化和尿常规检测

均没有明显差异;雄性中、高剂量组和雌性高剂量组的进食量具有统计学差异( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),但均无时间上的延续性和明显的剂量-反应关系,且受试物本身属于食物,会增加动物的饱腹感,也会影响摄食,故认为无毒理学意义;雄性中、高剂量组的血小板(PLT)具有统计学差异( $P < 0.05$ ),但其数值均在实验室的参考范围内,其凝血指标(PT和APTT)与对照组相比也无异常,脾脏大体解剖、质量、系数和病理组织检查均无异常,推断血小板异常可能为动物个体差异所致,认为在本实验无毒理学意义。由于28天经口毒性试验的时间较短,为了进一步验证受试物对血液系统是否有毒性作用,后续研究可通过亚慢性和慢性毒性试验进一步评价其安全性。

根据《食品安全国家标准 28天经口毒性试验》(GB 15193.22—2014),对于人体摄入量较大的摄食物,高剂量组可按最大给予量设计,本研究的高剂量组(10.0 g/kg BW)是预实验时大鼠可耐受的最大给予量,中剂量组(5.0 g/kg BW)和低剂量组(2.5 g/kg BW)以两倍的组间距进行设计。研究结果表明,短期经口摄入 $\beta$ -葡聚糖生物强化大米在本试验条件下未表现出任何毒性作用,但能否长期食用尚需进一步研究。

## 参考文献

- [ 1 ] BALDASSANO S, ACCARDI G, VASTO S. Beta-glucans and cancer: The influence of inflammation and gut peptide [J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2017, 142: 486-492.
- [ 2 ] 郑梅霞, 朱育菁, 刘波, 等.  $\beta$ -葡聚糖及其在食品工业中的研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2018, 9(16): 4333-4342.
- [ 3 ] 朱宏, 徐佳, 任膺洁, 等. 食品营养强化剂 $\beta$ -葡聚糖及其标准化现状与发展建议[J]. *中国标准化*, 2019(23): 87-94.
- [ 4 ] 朱婷, 谢晶, 邵则淮, 等. 燕麦 $\beta$ -葡聚糖降血糖性能研究进展[J]. *麦类作物学报*, 2020, 40(3): 381-386.
- [ 5 ] GOODRIDGE H S, WOLF A J, UNDERHILL D M. Beta-glucan recognition by the innate immune system [J]. *Immunological Reviews*, 2009, 230(1): 38-50.
- [ 6 ] 陈晨, 何蒙蒙, 吴泽蓉, 等. 青稞 $\beta$ -葡聚糖的研究现状与展望[J]. *中国食品添加剂*, 2020, 31(2): 172-177.
- [ 7 ] 王如月, 余讯, 徐静静, 等. 燕麦 $\beta$ -葡聚糖及其寡糖对肠道菌群结构和代谢的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(11): 85-91, 97.
- [ 8 ] ZHAI H L, GUNNESS P, GIDLEY M J. Barley  $\beta$ -glucan effects on emulsification and *in vitro* lipolysis of canola oil are modulated by molecular size, mixing method, and emulsifier type[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 103: 105643.
- [ 9 ] 陶佳, 崔进.  $\beta$ -葡聚糖( $\beta$ -glucan)抗肿瘤作用的研究进展[J]. *中外医疗*, 2010, 29(20): 187+189.
- [ 10 ] 青平, 曾晶, 李剑, 等. 中国作物营养强化的现状与展望[J]. *农业经济问题*, 2019(8): 83-93.
- [ 11 ] 朱静, 蒋金鑫. 膳食纤维生理功能的研究进展[J]. *现代食品*, 2016(18): 4-6.
- [ 12 ] US FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. FDA final rule for federal labeling: health claims; oats and coronary heart disease, federal register[J]. *Journal of Nutrition*, 1997, 62: 3584-3681.
- [ 13 ] ZHU Q L, ZENG D C, YU S Z, et al. From Golden Rice to aSTARice: Bioengineering astaxanthin biosynthesis in rice endosperm[J]. *Molecular Plant*, 2018, 11(12): 1440-1448.
- [ 14 ] 张坤生, 任云霞, 张巧玲, 等. 强化钙营养米工艺的研究[J]. *食品科学*, 2001, 22(5): 44-45.
- [ 15 ] 陆勤丰. 锌强化大米的研究开发[J]. *粮油食品科技*, 2004, 12(3): 15-17.
- [ 16 ] INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. *Diabetes Atlas* [M]. 8th ed. Abu Dhabi: IDF, 2017.
- [ 17 ] 王礼群, 阴文娅, 何秋蓉, 等.  $\beta$ -葡聚糖生物强化大米急性毒性和遗传毒性评价[J]. *四川大学学报(医学版)*, 2020, 51(4): 505-509.
- [ 18 ] 牛雅萱, 杨华, 王礼群, 等.  $\beta$ -葡聚糖生物强化大米对小鼠免疫功能的影响[J]. *现代预防医学*, 2019, 46(21): 3977-3980.
- [ 19 ] 陈晓彤, 王礼群, 何秋蓉, 等.  $\beta$ -葡聚糖强化大米对高血糖大鼠糖脂代谢功能的影响[C]. *四川: 四川省营养学会*, 2018: 1.