

大鼠亚慢性摄入高剂量铁皮石斛的健康效应研究

蔡德雷, 徐彩菊, 鹿伟, 夏勇, 张世鑫, 马雪, 宋燕华

浙江省疾病预防控制中心理化与毒理检验所, 浙江 杭州 310051

摘要: **目的** 研究亚慢性摄入高剂量铁皮石斛对大鼠体重、进食量、食物利用率和血生化指标的影响, 为评价铁皮石斛食用安全性提供依据。**方法** 80只SPF级SD大鼠随机分配入3个剂量组和1个对照组, 每组20只, 雌雄各半。低、中、高剂量组分别喂饲铁皮石斛饲料2.0、4.0和8.0 g/kg体重, 对照组喂饲基础饲料, 连续13周; 观察并比较各组大鼠体重、进食量、食物利用率和血生化指标变化。**结果** 实验期间各组大鼠饮食、活动正常, 未见异常症状和体征, 无大鼠死亡。各组大鼠体重、进食量、总增重、总进食量、谷丙转氨酶、谷草转氨酶、尿素氮、肌酐、三酰甘油、胆固醇、总蛋白、白蛋白、白球比和血糖比较, 差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。高剂量组雄性大鼠后7周食物利用率 ($8.71\% \pm 0.78\%$) 和总食物利用率 ($18.00\% \pm 0.41\%$) 均低于对照组 ($10.54\% \pm 1.37\%$ 、 $19.51\% \pm 1.21\%$) ($P<0.05$)。**结论** 未发现亚慢性摄入高剂量铁皮石斛对大鼠的毒性作用, 雄性大鼠食物利用率降低可能与铁皮石斛的保健功能有关。

关键词: 铁皮石斛; 多糖; 安全性评价; 健康效应

中图分类号: R992 文献标识码: A 文章编号: 2096-5087 (2023) 05-0452-05

Health effects of subchronic intake of high-dose *Dendrobium officinale* in rats

CAI Delei, XU Caiju, LU Wei, XIA Yong, ZHANG Shixin, MA Xue, SONG Yanhua

Department of Physicochemical and Toxicology, Zhejiang Provincial Center for Disease Control and Prevention, Hangzhou, Zhejiang 310051, China

Abstract: Objective To assess the effects of subchronic intake of high-dose *Dendrobium officinale* on body weight, food intake, food utilization, and blood biochemical parameters in rats, so as to provide insights into assessment of edible safety of *D. officinale*. **Methods** Eighty SPF-grade SD rats were randomly divided into the low-, medium- and high-dose groups and the control group, of 10 male and 10 female rats in each group. Rats in the low-, medium- and high-dose groups were administered with *D. officinale* feeds at doses of 2.0, 4.0, and 8.0 g/kg body weight, respectively, while animals in the control group were given basic diet for successive 13 weeks. The rat body weight, food intake, food utilization, and blood biochemical parameters were compared between groups. **Results** Normal diet and activity was seen in all rats, and no abnormal syndromes, signs or deaths were found during the study. There were no significant differences in rat body weight, food intake, total weight gain, total food intake, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, urea nitrogen, creatinine, triacylglycerol, cholesterol, total protein, albumin, albumin/globulin ratio or blood glucose among four groups ($P>0.05$). The food utilization 7 weeks post-administration [$(8.71\% \pm 0.78\%)$ vs. $(10.54\% \pm 1.37\%)$, $P<0.05$] and the total food utilization [$(18.00\% \pm 0.41\%)$ vs. $(19.51\% \pm 1.21\%)$, $P<0.05$] were significantly lower in male rats in the high-dose group than in the control group. **Conclusion** Subchronic intake of high-dose *D. officinale* shows no toxicity in rats, and reduced food utilization may be associated with the health function of *D. officinale* in male rats.

Keywords: *Dendrobium officinale*; polysaccharide; safety assessment; health effect

DOI: 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2023.05.020

作者简介: 蔡德雷, 硕士, 副主任技师, 主要从事卫生毒理学工作

通信作者: 宋燕华, E-mail: yhsong@cdc.zj.cn

铁皮石斛是一种兰科石斛属的多年生草本植物, 性甘, 微寒, 具有滋阴清热、益胃生津、降血糖、抗氧化和增强免疫力等功效^[1], 于2018年5月正式进入药食同源植物名录, 民间多作茶饮或入膳。铁皮石斛的主要化学成分为多糖、菲类化合物、联苕和黄酮, 其中多糖是主要活性成分^[2], 产地不同可能对多糖含量产生影响, 进而影响铁皮石斛的功效及毒性^[3-4]。既往对云南和贵州产铁皮石斛的毒性研究未发现实验组与对照组大鼠在体重、食物利用率和血生化指标等方面存在差异^[5-6], 但考虑铁皮石斛是一种微寒性中草药, 亚慢性大剂量食用有可能对机体产生一定的毒性作用, 因此仍有必要对不同产地的铁皮石斛进行毒理学安全性评价。本研究通过90天喂养试验, 评估浙江产铁皮石斛对大鼠体重、进食量、食物利用率和血生化指标的影响, 为评价铁皮石斛食用安全性提供依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 TBA-40FR全自动生化分析仪(日本东芝); PL1001-L电子天平(梅特勒-托利多); centrifuge5810冷冻离心机(德国贝克曼)。铁皮石斛, 褐色粉末, 由浙江某公司提供。

1.2 实验动物 SPF级SD大鼠由浙江维通利华实验动物技术有限公司提供, 雌雄各半, 体重50~70g, 雌性质量合格证号为NO.20210930Aazz0619060236, 雄性质量合格证号为NO.20210930Aazz0619060193, 生产许可证号为SCXK(沪)2019-0001, 使用许可证号为SYXK(浙)2018-0018。实验动物饲料由江苏省协同医药生物工程有限责任公司提供, 生产许可证号为苏饲证(2019)01008。饲养环境: 屏障环境, 温度20~23℃, 相对湿度50%~70%。实验前在动物房中适应性饲养3d。本研究通过浙江省疾病预防控制中心实验动物伦理委员会审查, 审批号: 2021-004。

1.3 方法 设低、中、高3个剂量组和对照组, 每组20只大鼠, 雌雄各半。依据GB 15193.13—2015《食品安全国家标准 90天经口毒性试验》, 铁皮石斛在饲料中最大允许掺入量不超过10%, 每日摄入量按体重的8%计算, 最高剂量为8.0g/kg体重^[7], 故低、中、高剂量组分别为2.0、4.0和8.0g/kg体重。分别将铁皮石斛粉末按照2.5%、5.0%和10.0%的比例均匀掺入基础饲料, 用酪蛋白调整蛋白含量, 连续喂饲13周。对照组仅喂饲基础饲料。单笼饲养,

自由进食、饮水。每周记录体重和进食量, 计算食物利用率。实验期末计算实际摄入量^[7], 禁食过夜, 经异氟烷麻醉后经腹主动脉采血(非抗凝血), 3000×g离心10min, 取上清液, 采用全自动生化分析仪测定谷丙转氨酶、谷草转氨酶、尿素氮、肌酐、三酰甘油、胆固醇、总蛋白、白蛋白、白球比和血糖。

1.4 统计分析 采用SPSS 19.0软件统计分析。定量资料服从正态分布, 采用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)描述。大鼠体重、进食量和食物利用率比较采用重复测量资料的方差分析; 增重、总进食量、总食物利用率和血生化指标的比较采用单因素方差分析; 各剂量组进一步与对照组两两比较采用SNK-*q*检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 大鼠基本情况 实验期间各组大鼠饮食、活动正常, 未见异常症状和体征, 无大鼠死亡。铁皮石斛实际摄入量雌性大鼠低、中、高剂量组分别为2.0、4.2和8.4g/kg体重; 雄性大鼠低、中、高剂量组分别为1.9、4.0和8.0g/kg体重。

2.2 大鼠体重变化 各组大鼠体重均随时间延长而增加($P<0.05$); 组间体重差异无统计学意义($P>0.05$); 时间与组间交互作用无统计学意义($P>0.05$), 见表1。各组大鼠前6周增重、后7周增重和总增重比较, 差异均无统计学意义($P>0.05$), 见表2。

2.3 大鼠进食量变化 各组大鼠进食量随时间延长而增加($P<0.05$); 组间差异无统计学意义($P>0.05$); 时间与组间交互作用无统计学意义($P>0.05$), 见表1。各组大鼠总进食量比较, 差异均无统计学意义($P>0.05$), 见表2。

2.4 大鼠食物利用率变化 各组大鼠食物利用率随时间延长而降低($P<0.05$); 雌性大鼠食物利用率组间差异无统计学意义($P>0.05$), 雄性大鼠食物利用率组间差异有统计学意义($P<0.05$), 其中高剂量组雄性大鼠食物利用率低于对照组($P<0.05$); 时间与组间交互作用无统计学意义($P>0.05$), 见表1。各组雄性大鼠总食物利用率比较, 差异有统计学意义($P<0.05$), 其中高剂量组雄性大鼠总食物利用率低于对照组($P<0.05$); 各组雌性大鼠总食物利用率比较, 差异无统计学意义($P>0.05$), 见表2。

表 1 各组大鼠体重、进食量和食物利用率比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)
Table 1 Changes of rat body weight, food intake and food utilization in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	体重/g			进食量/g		食物利用率/%	
	实验前	第6周	第13周	前6周	后7周	前6周	后7周
雌性							
对照组	82.11±5.84	260.85±27.26	311.23±34.12	761.02±71.75	941.50±95.79	23.44±1.37	5.33±1.03
低剂量组	81.98±6.01	250.79±30.06	307.19±32.28	740.84±78.66	923.00±76.40	22.81±2.78	6.15±0.73
中剂量组	81.73±7.24	242.96±24.69	298.04±29.24	734.05±55.95	942.76±77.66	21.88±1.76	5.84±0.59
高剂量组	81.93±7.03	251.54±39.83	298.65±38.12	759.70±100.69	946.36±96.57	22.19±2.33	5.05±0.97
$F_{时间}/P$ 值	1 270.020/<0.001			752.621/<0.001		1 969.974/<0.001	
$F_{组间}/P$ 值	0.383/0.766			0.162/0.921		1.480/0.236	
$F_{时间*组间}/P$ 值	1.776/0.116			0.895/0.453		1.302/0.289	
雄性							
对照组	86.50±5.86	407.79±33.90	551.90±51.29	1 017.53±58.00	1 361.82±119.60	31.54±2.32	10.54±1.37
低剂量组	87.06±5.82	427.68±29.47	568.23±45.82	1 036.79±63.74	1 382.14±92.32	32.86±1.40	10.13±1.08
中剂量组	85.07±5.36	412.92±29.85	546.29±41.02	1 039.69±63.05	1 412.00±106.66	31.54±1.88	9.44±0.77
高剂量组	86.65±8.86	402.27±38.97	522.74±42.05	1 032.88±86.43	1 390.04±114.87	30.51±1.19	8.71±0.78 ^a
$F_{时间}/P$ 值	2 287.359/<0.001			1 075.779/<0.001		5 033.551/<0.001	
$F_{组间}/P$ 值	1.334/0.279			0.311/0.817		5.892/0.002	
$F_{时间*组间}/P$ 值	1.891/0.094			0.365/0.779		1.354/0.272	

注：^a表示与对照组比较， $P<0.05$ 。

表 2 各组大鼠总增重、总进食量和总食物利用率比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)
Table 2 Changes of total weight gain, total food intake and total food utilization in rats in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	前6周增重/g	后7周增重/g	总增重/g	总进食量/g	总食物利用率/%
雌性					
对照组	178.74±23.72	50.38±12.38	229.12±31.09	1 702.52±158.51	13.42±0.84
低剂量组	168.81±26.06	56.40±5.11	225.21±27.83	1 663.84±148.24	13.53±1.04
中剂量组	161.23±22.25	55.08±6.77	216.31±26.58	1 676.81±131.63	12.88±0.77
高剂量组	169.61±36.99	47.11±6.17	216.72±35.89	1 706.06±194.65	12.68±1.02
F 值	0.662	2.794	0.432	0.162	1.988
P 值	0.581	0.054	0.731	0.921	0.133
雄性					
对照组	321.29±34.67	144.11±27.20	465.40±53.60	2 379.35±165.28	19.51±1.21
低剂量组	340.62±26.41	140.55±21.12	481.17±42.18	2 418.93±144.82	19.86±0.79
中剂量组	327.85±29.46	133.37±16.15	461.22±40.03	2 451.69±168.58	18.81±0.84
高剂量组	315.62±32.04	120.47±10.13	436.09±35.69	2 422.92±192.66	18.00±0.41 ^a
F 值	1.218	2.815	1.854	0.311	9.174
P 值	0.317	0.053	0.155	0.817	<0.001

注：^a表示与对照组比较， $P<0.05$ 。

2.5 大鼠血生化指标变化 各组大鼠谷丙转氨酶、谷草转氨酶、尿素氮、肌酐、三酰甘油、胆固醇、总

蛋白、白蛋白、白球比和血糖均在本实验室历史对照范围内，差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 3。

表3 各组大鼠血生化指标比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Table 3 Comparison of blood biochemical parameters in rats in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	谷丙转氨酶/ (U/L)	谷草转氨酶/ (U/L)	尿素氮/ (mmol/L)	肌酐/ ($\mu\text{mol/L}$)	三酰甘油/ (mmol/L)
雌性					
对照组	30.6±7.7	88.7±13.1	5.54±1.08	58.20±3.65	0.48±0.19
低剂量组	30.9±12.6	87.0±23.1	5.49±0.59	54.40±4.06	0.43±0.09
中剂量组	30.6±10.0	82.8±12.7	5.71±0.82	54.50±2.27	0.37±0.13
高剂量组	29.9±5.5	85.3±11.1	6.18±0.80	56.40±4.01	0.33±0.06
F值	0.021	0.255	1.362	2.549	2.666
P值	0.996	0.857	0.270	0.071	0.062
雄性					
对照组	32.9±5.4	82.7±10.8	5.78±0.74	48.20±3.05	0.77±0.29
低剂量组	29.1±4.0	82.5±13.4	5.70±0.29	48.50±3.50	0.70±0.22
中剂量组	35.1±4.2	90.6±16.4	5.37±1.02	47.20±3.74	0.70±0.25
高剂量组	31.8±5.4	74.5±7.6	5.64±0.66	45.00±1.94	0.56±0.24
F值	2.711	2.766	0.596	2.554	1.214
P值	0.059	0.056	0.622	0.071	0.319
组别	胆固醇/ (mmol/L)	总蛋白/ (g/L)	白蛋白/ (g/L)	白球比	血糖/ (mmol/L)
雌性					
对照组	1.94±0.39	69.00±3.75	40.60±2.58	1.43±0.10	7.63±0.57
低剂量组	1.98±0.53	71.44±5.50	41.10±3.74	1.36±0.14	7.48±0.43
中剂量组	1.85±0.34	69.49±4.07	40.75±2.35	1.42±0.07	7.57±0.56
高剂量组	1.97±0.48	69.27±5.91	40.24±3.91	1.39±0.08	7.50±0.61
F值	0.176	0.516	0.122	0.989	0.149
P值	0.912	0.674	0.946	0.409	0.930
雄性					
对照组	1.45±0.27	61.45±4.40	34.13±2.59	1.26±0.14	8.04±0.85
低剂量组	1.56±0.31	65.18±2.66	35.30±0.92	1.19±0.13	8.00±0.58
中剂量组	1.78±0.31	63.91±2.79	34.45±0.82	1.18±0.09	7.62±0.55
高剂量组	1.58±0.19	62.73±1.74	35.22±0.98	1.28±0.08	8.12±0.75
F值	2.498	2.742	1.444	2.059	1.038
P值	0.075	0.057	0.246	0.123	0.387

3 讨论

本研究结果显示,各剂量组雌性大鼠体重、进食量、食物利用率和血生化指标无明显差异,未见铁皮石斛的亚慢性毒性作用;而高剂量组雄性大鼠后7周增重较低,导致后7周食物利用率和总食物利用率降低。雄性与雌性大鼠在食物利用率上的差异,与相关研究认为铁皮石斛对大鼠食物利用率无显著影响的结论^[8-9]不同,考虑与本研究选用的铁皮石斛多糖含量较高(58.7%)有关。

铁皮石斛中多糖含量除受产地影响外,也与品种来源、生长年限、采收季节、提取部位和提取工艺有

关^[8-11]。研究显示,高剂量(6 g/kg 体重)铁皮石斛可促进小鼠胃排空和肠推进,缩短食物在胃肠道内停留时间,加快粪便排出^[12]。铁皮石斛多糖可通过提高肠道菌群多样性,促进短链脂肪酸产生菌及有益菌的增殖,调控辅酶、维生素和氨基酸代谢以维持肠道稳态^[13],有利于机体营养代谢^[14]。因此,多糖含量较高的铁皮石斛可起到通便、调节肠道菌群的功能。本研究各剂量组大鼠进食量无明显差异,提示铁皮石斛未影响大鼠胃口,能满足其生长发育所需。这些因素在一定程度上可能导致大鼠体重减轻,增重减少,使食物利用率降低,但相关机制仍需进一步研究。

(下转第459页)

过四极杆定向监测目标母离子,同时获取母离子产生的所有碎片离子,并提取精准质量的碎片离子作为定量离子。PRM与三重四极杆SRM或MRM通道监测模式相类似,均可用于食品基质中的兽药残留检测。

方法学验证结果显示,32种抗生素的检出限为0.8~5.8 μg/kg,基质加标回收率为71.3%~111.5%,RSD为3.2%~14.2%,提示该方法能够满足鸡肉中抗生素药物残留的定量检测要求。

参考文献

- [1] 陈兴连,李倩,王志飞,等.超高效液相色谱-串联质谱法同时测定鸡肉和鸡蛋中25种兽药残留[J].质谱学报,2021,42(6):1046-1058.
- [2] 潘晓东,吴平谷,姜维.超高效液相色谱-串联质谱法同时测定鱼肉中氯霉素、甲砒霉素和氟甲砒霉素[J].中国食品卫生杂志,2014,26(6):572-574.
- [3] 张弛,任君,陈达炜,等.分散微固相萃取-超高效液相色谱-高分辨质谱法测定火锅底料中罂粟壳生物碱[J].中国食品卫生杂志,2021,33(1):29-35.

- [4] 唐晓琴,赵舰,贺丽迎,等.72种生物碱高分辨质谱数据库建立与应用[J].中国食品卫生杂志,2020,32(3):228-233.
- [5] 潘晓东,黄百芬,张京顺,等.猪肉中16种β-内酰胺类抗生素UPLC-Q-Orbitrap检测方法研究[J].预防医学,2019,31(11):1100-1104.
- [6] CHEN Q, PAN X D, HUANG B F, et al. Quantification of 16β-lactams in chicken muscle by QuEChERS extraction and UPLC-Q-Orbitrap-MS with parallel reaction monitoring [J]. J Pharmaceut Biomed, 2017, 145: 525-530.
- [7] 刘善菁,宋慧敏,曲斌,等.液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱法测定牛奶中8种氨基糖苷类抗生素残留[J].中国兽药杂志,2022,56(8):46-57.
- [8] 韩梅,焦颖,郭灵安,等.QuEChERS-超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法同时测定生姜中21种喹诺酮类抗生素残留[J].食品安全质量检测学报,2021,12(23):9251-9259.
- [9] 吴明媛,余焘,谢宗升,等.液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法快速筛查海水中大环内酯类抗生素[J].理化检验(化学分册),2021,57(5):444-449.

收稿日期:2023-01-04 修回日期:2023-04-17 本文编辑:徐文璐

(上接第455页)

实验期间大鼠正常饮食、活动,未出现异常症状和体征,结合高剂量组雄性大鼠体重、进食量、食物利用率和血生化指标结果,推测高剂量组雄性大鼠总食物利用率降低可能是机体的一种正常反应,是铁皮石斛的保健功能,而非毒性^[15-16],但仍需进一步研究证实。

本研究按照铁皮石斛在饲料中的最大允许掺入量^[7]进行实验设计,确定雌性大鼠最大未观察到有害作用剂量等于高剂量,为8.0 g/kg体重,以100倍安全系数计算,人体每日铁皮石斛推荐食用量为0.08 g/kg体重。雄性动物最大有害作用剂量尚需进一步研究确定。

参考文献

- [1] 中华人民共和国国家药典委员会.中华人民共和国药典(2020版)[M].北京:中国医药科技出版社,2020.
- [2] ZOU R C, WANG Q, SUN J, et al. Research progress in *Dendrobium officinale* polysaccharides in China in the latest decade [J]. Food Res Dev, 2018, 39: 209-214.
- [3] 赵斌,邓仙梅,刘敬.我国近5年铁皮石斛多糖研究概况[J].亚太传统医药,2021,19(9):192-201.
- [4] TANG H X, ZHAO T W, SHENG Y J, et al. *Dendrobium officinale* Kimura et Migo: a review on its ethnopharmacology, phytochemistry, pharmacology and industrialization [J/OL]. Evid Based Complement Alternat Med, 2017 [2023-04-07]. <https://doi.org/10.1155/2017/7436259>.

- [5] 王雨,刘佳,苑洁,等.铁皮石斛的亚慢性毒性研究[J].毒理学杂志,2020,34(3):270-275.
- [6] 李姿,刘敏,胡嘉想,等.铁皮石斛对大鼠血液生化指标影响的研究[J].食品安全质量检测学报,2019,10(11):3579-3583.
- [7] 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90天经口毒性试验:GB 15193.13-2015[S].北京:中国标准出版社,2015.
- [8] 栾洁,辛甜,储智勇,等.不同来源铁皮石斛多糖,微量元素及氨基酸含量分析[J].时珍国医国药,2014,25(7):728-729.
- [9] 秦子芳,谭晓妍,宁慧娟,等.不同生长年限铁皮石斛多糖含量与特性分析[J].食品科学,2018,39(6):189-193.
- [10] 曾瑶,陆安静,谭道鹏,等.不同栽培方式铁皮石斛多糖含量的对比分析[J].遵义医科大学学报,2020,43(2):174-178.
- [11] 韩瑜,张久磊,王芳,等.铁皮石斛不同部位、不同时期药用成分分布规律分析[J].时珍国医国药,2015,26(12):3014-3016.
- [12] 朱丽娜,刘贤武,朱红云,等.五种不同基源石斛对小鼠肠推进及胃排空的影响[J].中药与临床,2012,3(1):11-14.
- [13] 谢果珍,唐圆,宁晓妹,等.铁皮石斛多糖对正常小鼠肠道菌群的影响[J].湖南农业大学学报(自然科学版),2021,47(4):449-454.
- [14] JANDHYALA S M, TALUKDAR R, SUBRAMANYAM C, et al. Role of the normal gut microbiota [J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(29): 8787-8803.
- [15] 孙乐,陈晓梅,吴崇明,等.铁皮石斛多糖药理活性研究进展[J].药学学报,2020,55(10):2322-2329.
- [16] 刘雪娜,吴雪娇,刘顺航,等.铁皮石斛的药理作用及其保健食品研发进展[J].保鲜与加工,2021,21(10):144-150.

收稿日期:2023-02-22 修回日期:2023-04-07 本文编辑:吉兆洋