

# 香露兜粉的毒理学评价

鱼欢<sup>1</sup>, 张昂<sup>1</sup>, 马永忠<sup>2</sup>, 宗迎<sup>1</sup>, 冯丁山<sup>2</sup>, 吉训志<sup>1</sup>, 秦晓威<sup>1\*</sup>

(1. 中国热带农业科学院香料饮料研究所, 海南省热带香辛饮料作物遗传改良与品质调控重点实验室, 农业农村部香辛饮料作物遗传资源利用重点实验室, 海南万宁 571533) (2. 海南省疾病预防控制中心, 海南海口 570203)

**摘要:** 该文主要研究了食用香露兜粉对大鼠的亚慢性毒性, 为相关食品的开发提供毒理学安全性依据。研究依照 GB 15193.13-2015《食品安全国家标准 90 天经口毒性试验》的方法, 将大鼠随机分为对照组以及香露兜粉样品低剂量组 (2.00 g/kg BW)、中剂量组 (4.00 g/kg BW)、高剂量组 (8.00 g/kg BW), 每组 20 只, 雌雄各半。通过一般临床观察、体重和摄食、眼部检查、血液学及血生化学检查、尿液检查、大体解剖与组织病理学检查等评估香露兜粉亚慢性毒性。试验期间大鼠生长发育良好, 雄鼠与雌鼠分别增重 438 g 和 274 g, 食物利用率分别为 17.4% 和 13.2%, 并且香露兜粉各剂量组体重、增重、食物利用率与处理对照相比无显著差异 ( $p>0.05$ )。此外, 不同香露兜粉剂量组雄鼠与雌鼠的各项血常规指标、血生化指标、凝血功能指标、脏器重量及脏器/体重比值与对照处理相比均无显著性差异 ( $p>0.05$ )。尿常规指标、检眼镜检查及大体解剖和组织病理检查未见明显与样品有关的异常改变。本次香露兜粉 90 d 经口毒性试验无可见有害作用水平 (NOAEL) 为雄鼠 8.89 g/kg BW, 雌鼠 9.76 g/kg BW。综上所述, 在本试验条件下, 香露兜粉样品对大鼠不具有亚慢性毒性作用。

**关键词:** 香露兜粉; 大鼠; 亚慢性毒性; 食用安全性

文章编号: 1673-9078(2021)09-263-270

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.9.0051

## Toxicology Evaluation of *Pandanus amaryllifolius* Roxb Powder

YU Huan<sup>1</sup>, ZHANG Ang<sup>1</sup>, MA Yong-zhong<sup>2</sup>, ZONG Ying<sup>1</sup>, FENG Ding-Shan<sup>2</sup>, JI Xun-zhi<sup>1</sup>, QIN Xiao-wei<sup>1\*</sup>

(1. Spice and Beverage Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Hainan Provincial Key Laboratory of Genetic Improvement and Quality Regulation for Tropical Spice and Beverage Crops, Key Laboratory of Genetic Resource Utilization of Spice and Beverage Crops, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Wanning 571533, China) (2. Hainan Provincial Centre for Disease Control and Prevention, Haikou 570203, China)

**Abstract:** The subchronic toxicity of *Pandanus amaryllifolius* Roxb. powder on rats was evaluated, which was expected to provide toxicological safety basis for the development of food additions. The rats were randomly divided into the control group and *Pandanus amaryllifolius* Roxb. powder samples of low dose group (2.00 g/kg BW), middle dose group (4.00 g/kg BW), high dose group (8.00 g/kg BW), using the oral toxicity test method according to GB 15193.13-2015 in this study. There were 20 rats in each group, half male and half female. Oral toxicity of *Pandanus amaryllifolius* Roxb. powder was assessed by general clinical observation, weight and feeding, eye examination, hematology and biochemistry, urine examination, gross anatomy and histopathology. During the experiment, the rats' growth was good. There were no significant differences in body weight, weight gain, food utilization rate, blood routine indexes, blood biochemical indexes, blood coagulation function indexes, organ weight and organ/body weight ratio among each *Pandanus amaryllifolius* Roxb. powder dose group and the control group ( $p>0.05$ ). No abnormal changes were observed in routine urine, ophthalmoscopies, gross anatomy and histopathology. The no observed adverse effect levels (NOAEL) of *Pandanus amaryllifolius* Roxb. powder dose were 8.89 g/kg BW in male and 9.76 g/kg BW in female. There was no subchronic toxicity of *Pandanus amaryllifolius* Roxb. powder sample to rats in this study.

引文格式:

鱼欢, 张昂, 马永忠, 等. 香露兜粉的毒理学评价[J]. 现代食品科技, 2021, 37(9): 263-270

YU Huan, ZHANG Ang, MA Yong-zhong, et al. Toxicology Evaluation of *Pandanus amaryllifolius* Roxb Powder [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(9): 263-270

收稿日期: 2021-01-13

基金项目: 中国热带农业科学院基本科研业务费 (1630142020014; 1630142018014)

作者简介: 鱼欢 (1982-), 女, 博士, 研究员, 研究方向: 作物高效栽培与生理, E-mail: wangyangyuhuan82@163.com

通讯作者: 秦晓威 (1982-), 男, 博士, 副研究员, 研究方向: 种质资源收集保存、鉴定评价与利用, E-mail: qin\_xiaowei@163.com

**Key words:** *Pandanus amaryllifolius* Roxb. powder; rat; subchronic toxicity; food safety

香露兜 (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.), 别名斑兰叶、斑斓叶、香兰叶、板兰香、碧血树, 属露兜树科 (Pandanaeae) 露兜树属 (*Pandanus*) 的多年生常绿草本植物<sup>[1]</sup>, 主产于斯里兰卡、马来西亚、泰国、印度和菲律宾等东南亚国家<sup>[2]</sup>, 我国于 20 世纪 50 年代, 在海南省引种试种成功<sup>[3,4]</sup>。香露兜叶片天然散发一种“粽子香味”香味清新淡雅, 被誉为“东方香草”, 鲜叶可直接作为食用材料, 主要用于制作菜肴和食物香料, 在东南亚国家居民中已有长期的食用历史<sup>[5-7]</sup>。目前市场销售的香露兜产品以鲜叶、酊剂等原料以及中间品为主, 但是普遍存在保质期短或价格高昂等问题<sup>[3,8]</sup>。时至今日, 使用真空冷冻干燥以及超微粉碎等方式, 以香露兜叶片为基源制作的香露兜粉, 具有耐储运、易加工、低成本等优势, 已成为制作糕点、冰淇淋、糖果等的纯天然食品原料之一, 具有重要的经济价值和开发前景<sup>[8,9]</sup>。

目前国内外关于香露兜粉等产品的研究主要集中于其化学成分及功效等方面<sup>[10-12]</sup>, 例如香露兜粉富含 2-乙酰-1-吡咯啉 (2AP)、角鲨烯、亚油酸、草蒿脑和甾醇等活性成分, 具有增强细胞活力、加快新陈代谢、提高人体免疫力, 抗病毒以及抑制癌细胞生长等作用<sup>[13-17]</sup>。但是, 针对香露兜粉的食用安全性, 仅有研究表明香露兜粉不具有母体毒性、胚胎毒性和致畸作用<sup>[18,19]</sup>, 但是仍缺乏包括亚慢性毒性、急性毒性和遗传毒性研究在内的安全性评估。因此, 本研究在前期毒理学安全性评价基础上依照 GB 15193.13-2015 《食品安全国家标准 90 天经口毒性试验》<sup>[20]</sup>的要求, 开展 90 d 经口毒性试验, 通过观测大鼠生长发育、生化指标以及组织病理性检查, 全面评价香露兜粉的亚慢性毒性, 为了解香露兜粉作为食品原料的食用安全性以及香露兜粉的进一步开发利用提供基础毒理学资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 原料

#### 1.1.1 受试物

香露兜粉为绿色粉末状固体, 由新鲜香露兜叶洗净、晾干、切段后采用真空冷冻或微波干燥, 经超微粉碎, 过 200 目筛后制成。

#### 1.1.2 主要仪器与试剂

主要仪器: 全自动血球计数仪 (SYSTEM XT-2000i), 日本希森美康公司; 全自动生化分析仪

(BECKMAN COULTER AU680), 美国贝克曼库尔特公司; 全自动凝血分析仪 (SYSMEX CS-2000), 日本希森美康公司; 尿液分析仪 (URIT-500B), 桂林优利特电子集团有限公司; 病理检测设备等。

主要试剂: 总蛋白 (TP)、白蛋白 (ALB)、尿素 (UREA)、血糖 (GLU)、谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST)、胆固醇 (CHOL)、甘油三酯 (TG)、谷氨酰转肽酶 (GGT)、碱性磷酸酶 (ALP)、胆碱酯酶 (CHE)、总胆汁酸 (TBA)、尿酸 (UA)、磷 (P)、钙 (Ca) 等试剂盒购自上海复星长征医学科学有限公司; 肌酐 (Cr) 等试剂盒购自德赛诊断系统 (上海) 有限公司; 氯 (Cl)、钾 (K)、钠 (Na) 等试剂盒购自美国贝克曼库尔特公司 (Beckman Coulter)。

#### 1.1.3 试验动物及饲养条件

试验动物: 选无特定病原体 (SPF 级) SD 大鼠 100 只, 雌雄各半, 雌鼠体重 80 g 左右、雄鼠体重 82 g 左右。大鼠和饲料由长沙市天勤生物技术有限公司提供, 试验动物生产许可证号为 SCXK(湘)2014-0011。试验动物使用单位为湖南省疾病预防控制中心, 许可证号为 SYXK(湘)2015-0012 号。试验环境为屏障环境, 试验期间环境温度 22 °C~25 °C, 湿度 46%~52%。

## 1.2 试验方法

### 1.2.1 剂量分组

根据前期调查, 在文献相关数据中估算东南亚民众平均每日食用香露兜粉剂量以 20 g 为参考 (平均体重以 60 kg 计算), 本研究根据香露兜粉的特性设计受试物低、中、高剂量组, 分别为 2.00 g/kg BW、4.00 g/kg BW、8.00 g/kg BW。采用将受试物掺入饲料给样方式, 大鼠每日摄食量按体重的 8% 折算, 低、中、高三个剂量组分别按 2.50%、5.00%、10.00% 的比例添加样品; 对照组按 10% 比例在饲料中掺入甲基纤维素, 使其与剂量组饲料营养水平保持一致; 空白对照组仅饲以基础饲料。大鼠连续饲养 90 d。

### 1.2.2 动物分组

取 SD 大鼠 100 只, 雌雄各半, 随机分为 5 组, 即空白对照组、对照组及低、中、高三个受试物组, 每组 20 只, 雌雄各半。

### 1.2.3 观察指标

一般临床观察: 试验期间每天观察动物的一般临床表现, 并记录动物出现中毒的体征、程度和持续时间及死亡情况。观察期为 90 d。

体重和摄食: 试验期间所有动物, 单笼饲养, 自

由摄食饮水。每周加食 3 次, 记录给食量和剩食量, 前 4 周每周称 2 次体重, 之后每周称体重 1 次, 计算进食量和食物利用率。禁食前和进食后(采血前)称量动物体重。

眼部检查: 在试验前和试验结束时, 用检眼镜对高剂量组和对照组大鼠进行眼部检查, 若发现高剂量组动物有眼部变化, 则对所有动物进行检查。

血液学及血生化学检查: 试验结束后禁食过夜 16 h 空腹采集抗凝血和非抗凝血, 凝血用 SYSMEX XT-2000i 全自动血球计数仪测定血红蛋白(Hb)、红细胞压积(HCT), 红细胞(RBC)、网织红细胞(Rtc)、白细胞(WBC)、血小板(PLT)计数、WBC 分类; 抗凝血分离血浆采用 SYSMEX CS-2000 全自动凝血分析仪测定凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶时间(TT)、纤维蛋白原(Fbg); 非抗凝血分离血清, 用 BECKMAN COULTER AU680 全自动生化分析仪测定 ALT、AST、TP、ALB、CHOL、TG、GGT、CHE、TBA、ALP、UREA、UA、和 GLU。

尿液检查: 试验结束时给大鼠上代谢笼, 收集尿液, 进行尿液常规检查, 包括外观、尿蛋白、密度、pH、葡萄糖和潜血等。

大体解剖与组织病理学检查: 试验结束颈椎脱臼处死所有动物作大体检查, 称脑、心脏、胸腺、肾上腺、肝、脾、肾、睾丸、附睾、子宫、卵巢重量, 计算脏/体比值。先对高剂量组及对照组动物进行以下脏器组织病理学检查, 发现病变后再对较低剂量组相应器官及组织进行检查。检测脏器包括: 脑、垂体、甲状腺、胸、肺、心脏、肝、脾、肾、肾上腺、胃、十二指肠、空肠、回肠、结肠、直肠、胰、肠系膜淋巴

结、卵巢、子宫、睾丸、附睾、前列腺、膀胱等。必要时可加测脊髓(颈、胸、腰)、食道、唾液腺、颈淋巴结、气管、动脉、精囊腺和凝固腺、子宫颈、阴道、乳腺、骨和骨髓、坐骨神经和肌肉、皮肤和眼球等组织器官。对肉眼可见的病变或可疑病变组织进行组织病理学检查。

### 1.3 统计学分析

全部数据用 Excel、SPSS 23.0 软件进行统计分析。采用单方差分析对比多个试验组与对照组之间的各个指标, 以  $p < 0.05$  为具有统计学差异。

## 2 结果与讨论

### 2.1 一般情况观察结果

试验期间, 各组动物生长发育、活动正常, 无异常行为和中毒症状, 无死亡。根据动物平均体重、摄食量和饲料中样品含量, 计算出各剂量组实际摄入样品剂量为: 雄鼠低、中、高剂量分别为 2.20 g/kg BW、4.46 g/kg BW、8.89 g/kg BW; 雌鼠低、中、高剂量分别为 2.42 g/kg BW、4.83 g/kg BW、9.76 g/kg BW。

试验期间, 最高剂量组雄鼠与雌鼠分别增重 430.90 g 和 266.60 g, 总进食量分别为 2505.20 g 和 2056.30 g, 各剂量受试组雄、雌大鼠体重增长以及总进食量与对照组相比无差异(表 1)。最高剂量组总食物利用率分别为 17.1%、12.9%, 各剂量受试组雌、雄大鼠总食物利用率与对照组比较无差异(表 1), 上述结果表明香露兜粉对不同性别大鼠的体重、进食量与食物利用率均无影响。

表 1 不同香露兜粉受试下大鼠的体重、摄食量及食物利用率

Table 1 Body weight, food intake and food utilization of rats in different doses of *Pandanus amaryllifolius* Roxb. powder (n=10)

性别	组别	增重/g	总进食量/g	总食物利用率/%
雄性	空白对照组	438.80±95.80	2509.00±76.60	17.49±3.52
	对照组	435.70±94.60	2503.10±71.40	17.41±3.45
	低剂量组	438.20±96.50	2501.20±71.80	17.52±3.49
	中剂量组	440.50±88.20	2537.30±66.50	17.36±3.11
	高剂量组	430.90±93.40	2505.20±84.00	17.20±3.27
雌性	空白对照组	273.80±79.90	2075.20±39.60	13.19±3.82
	对照组	268.90±80.60	2073.20±45.60	12.97±3.88
	低剂量组	264.40±81.30	2046.80±28.40	12.92±3.86
	中剂量组	265.40±83.10	2041.20±31.40	13.00±3.91
	高剂量组	266.60±76.00	2056.30±47.80	12.97±3.52

### 2.2 香露兜粉对大鼠血液学指标的影响

试验期间, 最高剂量组雄、雌大鼠的血红蛋白分

别为 145.00 和 147.00 g/L、红细胞总数为  $7.77 \times 10^{12}$  个/L 和  $7.85 \times 10^{12}$  个/L、红细胞压积均为 0.43 L/L、网织红细胞为 3.87% 和 3.72%, 各剂量组与对照处理相比

不存在差异(表2),表明香露兜粉对大鼠血红细胞没有影响。最高剂量组雄、雌大鼠的血小板数分别为  $7.48 \times 10^{12}$  个/L 和  $7.66 \times 10^{12}$  个/L,各剂量组与对照相比同样无差异(表2),表明香露兜粉不影响大鼠血小板数量。最高剂量组雄、雌大鼠的白细胞总数分别为  $7.35 \times 10^9$  个/L 和  $8.57 \times 10^9$  个/L,与对照组比较无显著性差异,并且各剂量组雌、雄、雌大鼠的白细胞分类(淋巴细胞、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞)与对照组比较无差异(表2),表明香露兜粉对大鼠的白细胞指标没有影响。上述结果证明香露兜粉不影响大鼠各项血液指标。

### 2.3 香露兜粉对喂饲 90 d 大鼠生化指标的影响

试验期间,最高剂量组雄、雌大鼠的总蛋白分别为 63.92 和 62.30 g/L、白蛋白分别为 33.30 和 32.11 g/L,并且各剂量组与对照组相比无差异(表3),表明香露兜粉对大鼠血液蛋白质含量没有影响。最高剂量组雄、雌大鼠的谷丙转氨酶分别为 47.11 和 48.45 U/L、谷草转氨酶分别为 158.99 和 159.65 U/L、谷氨酰转肽酶分

别为 1.20 和 1.16 U/L、碱性磷酸酶分别为 140.90 和 149.50 U/L、胆碱酯酶分别为 203.69 和 316.93 U/L,各剂量组与对照组相比不存在差异(表3),表明香露兜粉对大鼠血液酶没有影响。最高剂量组雄、雌大鼠的胆固醇分别为 1.88 和 2.03 mmol/L、甘油三酯分别为 1.00 和 1.05 mmol/L、尿素分别为 5.02 和 5.26 mmol/L、血糖分别为 5.1 和 5.11 mmol/L、总胆汁酸分别为 11.5 和 10.1  $\mu\text{mol/L}$ 、肌酐分别为 52.25 和 50.79  $\mu\text{mol/L}$ 、尿酸分别为 62.80 和 62.97  $\mu\text{mol/L}$ ,各剂量组血液代谢指标含量与对照组比较无显著性差异(表3),表明香露兜粉对大鼠的生化指标没有影响。

### 2.4 香露兜粉喂饲 90 d 大鼠凝血指标的变化

试验期间,各剂量组雄、雌大鼠的凝血酶原时间分别为 9.30 和 7.80 s、活化部分凝血活酶时间分别为 15.20 和 13.20 s、纤维蛋白原均为 2.00 g/L、凝血酶时间分别为 37.10 和 34.80 s,各剂量组凝血指标与对照组比较无显著性差异(表4),表明香露兜粉对大鼠凝血指标没有影响。

表2 不同香露兜粉剂量下大鼠的血液学指标

Table 2 Hematological indexes of rats in different doses of *Pandanus amaryllifolius* Roxb. powder (n=10)

性别	组别	血红蛋白 (g/L)	红细胞总数 ( $10^{12}$ 个/L)	红细胞压积 (L/L)	网织红细胞/%	血小板数 ( $10^{10}$ 个/L)	白细胞计数 ( $10^9$ 个/L)
雄性	空白对照组	147.00±7.00	7.78±0.44	0.43±0.03	3.81±1.13	697.00±193.00	7.26±1.84
	对照组	148.00±7.00	7.89±0.52	0.42±0.02	3.77±0.75	758.00±126.00	7.90±1.62
	低剂量组	146.00±7.00	7.79±0.46	0.42±0.02	3.82±0.75	703.00±102.00	8.00±1.57
	中剂量组	145.00±3.00	7.86±0.29	0.42±0.02	3.50±0.32	712.00±123.00	8.09±2.09
	高剂量组	145.00±7.00	7.77±0.65	0.43±0.04	3.87±0.70	748.00±145.00	7.35±2.64
雌性	空白对照组	148.00±7.00	7.85±0.45	0.42±0.02	3.20±0.29	748.00±150.00	8.15±2.25
	对照组	147.00±8.00	7.79±0.44	0.42±0.02	3.73±0.91	731.00±92.00	8.05±1.57
	低剂量组	145.00±3.00	7.77±0.30	0.43±0.02	3.59±0.43	748.00±97.00	8.61±1.97
	中剂量组	148.00±9.00	7.71±0.81	0.44±0.03	3.94±1.41	682.00±174.00	8.06±2.43
	高剂量组	147.00±6.00	7.85±0.43	0.43±0.02	3.72±0.80	766.00±132.00	8.57±2.15
性别	组别	淋巴细胞/%	中性粒细胞/%	单核细胞/%	嗜酸性粒细胞/%	嗜碱性粒细胞/%	
雄性	空白对照组	73.04±5.05	19.24±4.88	5.98±1.92	1.66±0.53	0.08±0.06	
	对照组	73.70±5.05	19.15±4.88	5.65±1.45	1.42±0.62	0.08±0.04	
	低剂量组	74.52±3.88	18.26±3.82	5.38±1.45	1.79±0.74	0.05±0.07	
	中剂量组	74.45±4.30	18.49±4.50	5.44±1.37	1.54±0.64	0.08±0.09	
	高剂量组	74.10±3.80	18.41±4.47	5.91±1.81	1.51±0.58	0.07±0.08	
雌性	空白对照组	71.78±3.38	20.31±3.37	6.42±1.44	1.39±0.68	0.10±0.01	
	对照组	71.85±3.38	20.08±3.37	5.94±1.22	1.59±0.80	0.07±0.07	
	低剂量组	74.21±3.47	18.60±3.41	5.58±1.61	1.54±0.51	0.07±0.05	
	中剂量组	73.59±5.23	18.81±5.13	5.95±1.63	1.56±0.95	0.09±0.07	
	高剂量组	73.47±4.83	19.33±4.73	5.67±1.40	1.43±0.71	0.10±0.05	

表3 不同香露兜粉剂量下大鼠的生化指标

Table 3 Biochemical indexes of rats in different doses of *Pandanus amaryllifolius* Roxb. powder (n=10)

性别	组别	谷丙转氨酶 (U/L)	谷草转氨酶 (U/L)	总蛋白 (g/L)	白蛋白 (g/L)	胆固醇 (mmol/L)	甘油三酯 (mmol/L)	谷氨酰转肽酶 (U/L)
雄性	空白对照组	48.37±3.95	153.23±25.96	63.02±3.80	32.26±1.41	1.96±0.43	0.95±0.24	1.18±0.59
	对照组	48.15±3.95	152.51±22.23	63.04±3.48	32.47±1.41	1.86±0.31	0.99±0.18	1.16±0.21
	低剂量组	47.67±3.74	154.58±25.28	64.38±3.42	33.48±1.24	1.97±0.44	1.09±0.24	1.29±0.11
	中剂量组	48.87±6.79	151.48±27.33	62.67±4.61	32.45±1.59	1.86±0.38	1.03±0.26	1.18±0.22
	高剂量组	47.11±4.98	158.99±23.29	63.92±3.83	33.30±1.68	1.88±0.36	1.00±0.18	1.20±0.27
雌性	空白对照组	47.02±5.66	141.04±22.52	63.15±4.30	32.93±1.61	2.04±0.27	0.96±0.09	1.34±0.30
	对照组	48.01±5.66	142.76±22.40	63.75±4.30	32.98±1.61	2.00±0.36	0.95±0.17	1.17±0.36
	低剂量组	49.36±4.70	142.29±13.31	64.82±5.74	32.55±2.25	1.81±0.27	0.95±0.14	1.35±0.05
	中剂量组	46.29±3.16	144.84±28.01	63.55±4.15	31.39±1.49	1.90±0.34	0.98±0.34	1.26±0.19
	高剂量组	48.45±7.87	159.65±30.15	62.30±6.21	32.11±2.07	2.03±0.51	1.05±0.21	1.16±0.41

  

性别	组别	胆碱酯酶 (U/L)	总胆汁酸 (μmol/L)	碱性磷酸酶 (U/L)	尿素 (mmol/L)	肌酐 (μmol/L)	尿酸 (μmol/L)	血糖 (mmol/L)
雄性	空白对照组	196.54±60.09	10.88±4.75	147.90±31.46	5.19±0.81	52.02±2.13	62.92±7.18	4.99±0.52
	对照组	205.12±59.86	12.56±6.74	143.50±31.46	5.27±0.31	52.27±2.74	62.80±7.82	4.90±0.47
	低剂量组	212.42±60.85	12.57±3.40	149.10±41.19	5.16±0.85	52.23±5.62	62.12±5.07	4.80±0.41
	中剂量组	210.49±59.10	10.55±5.80	138.40±26.58	5.18±1.05	53.46±3.51	63.75±8.48	5.11±0.39
	高剂量组	203.69±50.21	11.50±5.74	140.90±37.29	5.02±0.93	52.25±5.14	62.80±6.29	5.10±0.35
雌性	空白对照组	313.15±57.16	13.53±3.35	143.90±21.57	5.47±0.47	51.88±3.66	62.08±7.88	5.39±0.55
	对照组	316.70±57.18	13.40±3.35	144.60±21.47	5.70±0.70	51.10±3.75	62.60±6.21	5.35±0.64
	低剂量组	317.42±60.75	12.00±5.21	141.40±26.58	5.07±0.97	50.94±3.18	62.44±6.31	5.32±0.72
	中剂量组	309.52±54.74	12.92±4.95	138.00±27.87	5.10±0.58	50.43±3.80	62.65±7.32	5.36±0.74
	高剂量组	316.93±37.75	10.10±4.18	149.50±30.57	5.26±0.67	50.79±3.97	62.97±6.30	5.11±0.86

表4 不同剂量香露兜粉下大鼠的凝血指标

Table 4 Blood coagulation indices of rats in different doses of *Pandanus amaryllifolius* Roxb. powder (n=10)

性别	组别	凝血酶原时间/s	活化部分凝血活酶时间/s	纤维蛋白原/(g/L)	凝血酶时间/s
雄性	空白对照组	9.40±1.20	13.90±4.90	2.00±0.40	36.30±6.40
	对照组	9.10±1.00	13.40±3.30	1.90±0.30	37.20±6.40
	低剂量组	8.80±0.70	13.70±4.50	2.00±0.30	34.70±6.30
	中剂量组	9.20±1.10	14.70±2.70	2.10±0.40	38.30±7.70
	高剂量组	9.30±1.20	15.20±3.10	2.00±0.40	37.10±6.10
雌性	空白对照组	7.60±0.70	11.80±3.30	1.90±0.30	33.90±4.30
	对照组	7.40±0.70	11.40±3.30	2.00±0.30	34.20±3.60
	低剂量组	7.30±0.50	13.10±1.20	1.90±0.30	34.10±6.20
	中剂量组	7.50±0.40	11.90±3.00	1.80±0.20	36.20±3.90
	高剂量组	7.80±0.60	13.20±2.30	2.00±0.30	34.80±5.80

### 2.5 香露兜粉喂饲 90 d 大鼠脏器重量、脏器/体重比值的变化

试验期间, 各剂量组雄、雌大鼠的脑重量分别为 2.49 和 1.98 g、心脏分别为 1.63 和 1.15 g、胸腺分别

为 0.50 和 0.36 g、肾上腺分别为 0.11 和 0.09 g、肝脏分别为 13.46 和 8.41 g、肾脏分别为 3.30 和 2.25 g、脾脏分别为 0.93 和 0.74 g、睾丸/子宫分别为 3.75 和 0.80 g、附睾/卵巢分别为 1.55 和 0.15 g, 各剂量组与对照组比较无显著性差异(表 5), 表明香露兜粉对大鼠脏器重量没有影响。

表5 不同剂量香露兜粉下大鼠的脏器重量 (g)

Table 5 Coagulation index organ weight and organ of rats in different doses of *Pandanus amaryllifolius* Roxb. powder (n=10)

组别	性别	末期体重	脑	心脏	胸腺	肾上腺
雄性	空白对照组	496.20±91.30	2.59±0.16	1.61±0.27	0.49±0.15	0.11±0.02
	对照组	496.30±91.80	2.50±0.19	1.72±0.25	0.50±0.14	0.10±0.02
	低剂量组	496.40±93.40	2.55±0.22	1.68±0.31	0.50±0.11	0.12±0.01
	中剂量组	499.90±90.20	2.46±0.14	1.73±0.20	0.51±0.17	0.11±0.02
	高剂量组	489.20±84.60	2.49±0.19	1.63±0.22	0.50±0.15	0.10±0.01
雌性	空白对照组	334.90±79.40	1.95±0.13	1.16±0.15	0.37±0.08	0.10±0.02
	对照组	330.00±79.20	1.88±0.12	1.10±0.13	0.37±0.09	0.10±0.02
	低剂量组	327.00±75.00	1.99±0.13	1.14±0.17	0.35±0.07	0.09±0.02
	中剂量组	326.10±78.10	1.88±0.15	1.07±0.12	0.34±0.08	0.10±0.02
	高剂量组	325.80±73.80	1.98±0.18	1.15±0.14	0.36±0.10	0.09±0.02
组别	性别	肝脏	肾脏	脾脏	睾丸/子宫	附睾/卵巢
雄性	空白对照组	13.18±1.84	3.30±0.47	1.03±0.17	3.71±0.34	1.55±0.34
	对照组	13.48±1.41	3.19±0.42	1.00±0.11	3.56±0.30	1.53±0.39
	低剂量组	13.16±1.40	3.42±0.36	0.91±0.19	3.69±0.30	1.55±0.13
	中剂量组	13.39±1.24	3.34±0.27	0.97±0.11	3.81±0.43	1.57±0.33
	高剂量组	13.46±1.63	3.30±0.34	0.93±0.11	3.75±0.36	1.55±0.31
雌性	空白对照组	8.57±0.65	2.30±0.17	0.68±0.07	0.82±0.16	0.20±0.02
	对照组	8.29±0.71	2.26±0.15	0.64±0.08	0.87±0.13	0.19±0.04
	低剂量组	8.30±0.90	2.30±0.20	0.67±0.10	0.81±0.24	0.18±0.02
	中剂量组	8.45±0.80	2.26±0.15	0.69±0.08	0.77±0.15	0.20±0.03
	高剂量组	8.41±0.77	2.25±0.18	0.74±0.09	0.80±0.23	0.19±0.04

表6 不同剂量香露兜粉下大鼠的脏器/体重比值 (%)

Table 6 Organ / body weight ratio of rats in different doses of *Pandanus amaryllifolius* Roxb. powder (n=10)

性别	组别	脑/体	新/体	胸腺/体	肾上腺/体	肝/体	肾/体	脾/体	睾丸(子宫)/体
雄性	空白对照组	0.54±0.11	0.33±0.08	0.10±0.03	0.02±0.01	2.70±0.42	0.67±0.07	0.21±0.04	0.77±0.16
	对照组	0.52±0.09	0.35±0.05	0.10±0.04	0.02±0.01	2.77±0.31	0.66±0.09	0.21±0.04	0.74±0.14
	低剂量组	0.53±0.10	0.34±0.07	0.10±0.03	0.02±0.00	2.71±0.39	0.70±0.07	0.19±0.07	0.77±0.17
	中剂量组	0.51±0.10	0.35±0.07	0.10±0.04	0.02±0.01	2.74±0.42	0.68±0.10	0.20±0.04	0.78±0.16
	高剂量组	0.53±0.12	0.34±0.08	0.10±0.03	0.02±0.01	2.80±0.44	0.70±0.15	0.20±0.04	0.79±0.15
雌性	空白对照组	0.61±0.15	0.36±0.08	0.12±0.03	0.03±0.01	2.68±0.60	0.72±0.16	0.21±0.06	0.26±0.19
	对照组	0.60±0.15	0.35±0.07	0.12±0.04	0.03±0.01	2.66±0.77	0.71±0.15	0.21±0.07	0.24±0.06
	低剂量组	0.63±0.13	0.36±0.07	0.11±0.03	0.03±0.01	2.65±0.64	0.73±0.14	0.26±0.06	0.26±0.13
	中剂量组	0.61±0.15	0.35±0.09	0.11±0.03	0.03±0.01	2.70±0.55	0.73±0.15	0.25±0.08	0.25±0.06
	高剂量组	0.63±0.12	0.37±0.07	0.11±0.04	0.03±0.01	2.68±0.55	0.72±0.15	0.26±0.06	0.26±0.09

各剂量组雄、雌大鼠的脏器/体重比值与对照组比较无显著性差异 (表6), 表明香露兜粉对大鼠脏器以及脏器/体重比值没有影响。

## 2.6 香露兜粉喂饲 90 d 大鼠尿常规指标及眼部的变化

试验末期对各组大鼠进行尿液常规检查, 各组动

物尿液外观、尿蛋白、密度、pH 值、葡萄糖和潜血各项指标, 均未发现异常。用检眼镜对上述高剂量组和对照组的大鼠进行眼部检查 (角膜、晶状体、球结膜、虹膜), 动物角膜、虹膜清晰, 晶状体无浑浊, 球结膜未见充血、水肿及其他异常表现。上述结果表明香露兜粉对大鼠代谢及眼部没有影响。

## 2.7 香露兜粉对大鼠病理解剖检查结果

共检查对照组和各剂量组共 100 只大鼠。剖检后肉眼观察,被毛整齐均匀、有光泽,无脱毛及污染现象。皮肤及黏膜无肉眼可见的色素、角化、贫血、黄疸、水肿、结节、出血、淤血、创伤、糜烂、溃疡及疤痕等异常改变。乳腺、四肢及尾巴无缺损。眼、耳、鼻、口腔、肛门和外生殖器无异常分泌物、出血、损伤和其他改变。腹腔、胸腔无积液、无异物,腔壁组织未见异常。各组织器官(肝、脾、胰、心脏、肺、胸腺、肾、肾上腺、胃、十二指肠、空肠、回肠、结肠、直肠、膀胱、卵巢、子宫等)位置正常、外观、形态、大小、色泽、质地无肉眼可见的异常变化。肠袢之间无粘连,胃、大肠、小肠及盲肠无扭转、出血、穿孔和坏死,淋巴结无肿大。胸膜无出血点、炎症及粘连,心包液颜色、量、性质正常,心外膜光滑无出血点。蛛网膜下腔无渗出物,脑表面无充血、淤血、出血和肿块,脑、垂体、脊髓、甲状腺、气管、食管、颈部淋巴结、血管的形态、大小、色泽、质地等无肉眼可见的异常改变。各剂量组雌雄大鼠的脑、心、肝、脾、肺、胃、肠、睾丸(卵巢)等所检器官组织均未见明显与试验因素有关的病理组织学变化。上述结果表明香露兜粉对大鼠器官组织没有影响。

## 2.8 香露兜粉亚慢性毒性评价

香露兜粉 90 d 经口毒性试验是香露兜新食品原料安全风险评估中的重要一环,主要用于确定外来化合物的食用安全剂量,即健康指导值,为进行该化合物的食用安全性评价与制定人食用的安全限量标准提供科学依据,对食品原料的安全性评价具有重要意义。作者依据前期的毒理试验结果,按 GB 15193.13-2015 进行设计和试验。在本实验室条件下,以 2.50%、5.00%、10.00% 的比例将香露兜粉掺入饲料喂饲大鼠 90 d,根据饲料消耗量,计算出各剂量组实际摄入样品剂量为:雄鼠低、中、高剂量分别为 2.20 g/kg BW、4.46 g/kg BW、8.89 g/kg BW;雌鼠低、中、高剂量分别为 2.42 g/kg BW、4.83 g/kg BW、9.76 g/kg BW。研究结果表明,香露兜粉各剂量组未发现明显中毒现象,无死亡。各剂量组动物生长发育良好,体重、增重、食物利用率、血常规指标、血生化指标、凝血功能指标、脏器重量及脏器/体重比值与对照相比均无差异。尿常规指标、检眼镜检查、大体解剖和组织病理检查未见明显与样品有关的异常改变。上述结果表明香露兜粉本次 90 d 经口毒性试验的无可见有害作用剂量(NOAE)值为雄鼠 8.89 g/kg BW,雌鼠 9.76 g/kg BW。

本研究为香露兜粉的食用安全评估提供了毒理

学依据,为香露兜进一步作为普通食品、保健食品以及新资源食品原料开发利用奠定基础。

## 2.9 香露兜粉的应用展望

近年来,国内香露兜产业蓬勃发展,相关单位与企业围绕香露兜产业发展需求,开展全产业链技术研发,已具备一定的技术储备。在种植环节,由于香露兜不仅具有粗生易种,耐荫蔽,耐高湿等特性,还能够单作亩产鲜叶可达 4000 kg 以上,具有好育苗、好种植、好管理、好采收、好加工和好前景等“六个好”特点,技术门槛低,经济价值高。单次种植多年受益,适宜于发展成为中国南方热区特色乡村振兴产业,助力相关农户脱贫致富。

在加工环节,传统上,东南亚人民以及海南等地华侨常将香露兜新鲜叶片磨碎榨汁,加入米中蒸食,制作特色糕点、甜品和冷饮等特色小吃。但香露兜鲜叶不耐储运,且不易加工,无法满足人民群众对香露兜产品日益增长的多样化需求。因此,采用真空冷冻或微波干燥,经超微粉碎而制作的香露兜粉能够克服上述产业困境,广泛应用于烘焙、餐饮、香精香料等行业,拓展香露兜的应用场景,为消费者提供更加丰富多彩的特色产品,满足人们对个性化绿色农产品的需求。

## 3 结论

在本研究中未见香露兜粉样品具有亚慢性毒性作用,基于香露兜粉 90 d 经口毒性试验 NOAE 为雄鼠 8.89 g/kg BW,雌鼠 9.76 g/kg BW。

## 参考文献

- [1] 鱼欢,殷诚美,秦晓威,等.吡啶丁酸对斑兰叶根系生长的影响[J].中国热带农业,2019,86: 50-53  
YU Huan, YIN Cheng-mei, QIN Xiao-wei, et al. Different concentrations of indolebutyric acid on root growth of pandan [J]. China Tropical Agriculture, 2019, 86: 50-53
- [2] 郭培培,吉训志,秦晓威,等.不同基因型斑兰叶光合日变化及环境因子的相关性分析[J].海南大学学报(自然科学版),2020, 38(1):52-58  
GUO Pei-pei, JI Xun-zhi, QIN Xiao-wei. Correlation among diurnal changes of photosynthetic rate and environmental factors of different *Pandanus amaryllifolius* Roxb [J]. Natural Science Journal Of Hainan University, 2020, 38(1): 52-58
- [3] 郝朝运.神奇的东方香草-斑兰叶[J].生命世界,2020,8:50-51  
HAO Chao-yun. The magic oriental vanilla of *Pandanus amaryllifolius* Roxb [J]. Life World, 2020, 8: 50-51

- [4] 谭明欣,秦晓威,李倩松,等.IBA 不同处理时间对斑兰叶根系生长的影响[J].中国热带农业,2019,89:60-63  
TAN Ming-xin, QIN Xiao-wei, LI Qian-song, et al. Different soaking time of indoleacetic acid on root growth of pandan [J]. China Tropical Agriculture, 2019, 89: 60-63
- [5] Winny R, Kalpana R. Chemical constituents and post-harvest prospects of *pandanus amaryllifolius* leaves: a review [J]. Food Reviews International, 2010, 26(3): 230-245
- [6] Djenar N S, Mulyono E W S, Saputra T R. The effect of microwave power variations on phytochemical characteristic of pandan leaves (*Pandanus amaryllifolius*) using the microwave-assisted extraction (MAE) [J]. Journal of Physics: Conference Series, 2020, 1450(1)
- [7] Tsai Y C, Yu M L, Mohamed E S, et al. Alkaloids from *Pandanus amaryllifolius*: isolation and their plausible biosynthetic formation [J]. Journal of Natural Products, 2015, 78(10): 2346-2354
- [8] 宗迎,吉训志,秦晓威,等.斑兰叶在海南种植的发展前景[J].中国热带农业,2019,91:15-19,17  
ZONG Ying, JI Xun-zhi, QIN Xiao-wei, et al. The development prospect of *Pandanus amaryllifolius* Roxb in Hainan [J]. China Tropical Agriculture, 2019, 91: 15-19, 17
- [9] 陈新蕾,阮萍.香露兜叶提取物抗氧化与辐射效应影响[J].基因组学与应用生物学,2018,37(10):4533-4539  
CHEN Xin-lei, RUAN Ping. Effects of antioxidative activity and influence radiation in extracts of *Pandanus amaryllifolius* [J]. Genomics and Applied Biology, 2018, 37(10): 4533-4539
- [10] 陈小凯,葛发欢.香露兜叶挥发油化学成分研究[J].中药材,2014,37(4):616-620  
CHEN Xiao-kai, GE Fa-huan. Chemical components from essential oil of *Pandanus amaryllifolius* leaves [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2014, 37(4): 616-620
- [11] 黄艳丽,陈思平,郭培培,等.7 种不同提取方式对香露兜挥发性成分的影响[J].天然产物研究与开发,2020,32(9):1582-1591  
HUANG Yan-li, CHEN Si-ping, GUO Pei-pei, et al. Effect of seven different extraction methods on volatile composition of *Pandanus amaryllifolius* Roxb [J]. Natural Product Research and Development, 2020, 32(9): 1582-1591
- [12] Jimtaisong A, Krisdaphong P J. Antioxidant activity of *Pandanus amaryllifolius* leaf and root extract and its application in topical emulsion [J]. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 2013, 12(3): 425-431
- [13] Martínez-Beamonte R, Sanclemente T, Surra J C, et al. Could squalene be an added value to use olive by-products? [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2020, 100(3): 915-925
- [14] Beltrán G, Bucheli M E, Aguilera M P, et al. Squalene in virgin olive oil: an olive varietal screening [J]. European Journal of Lipid Science and Technology, 2015, 118(8): 1-11
- [15] Luo H, Liu J, Xing P, et al. Application of saline to seeds enhances the biosynthesis of 2-acetyl-1-pyrroline in aromatic rice seedlings (*Oryza sativa* L.) [J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2020, 42(6): 1-9
- [16] Sansenya S, Hua Y, Chumanee S J. The correlation between 2-acetyl-1-pyrroline content, biological compounds and molecular characterization to the aroma intensities of thai local rice [J]. Journal of Oleo Science, 2018, 67(7): 893-904
- [17] Tobias J, Thomas H, Marcus G J. Efficient analysis of 2-acetyl-1-pyrroline in foods using a novel derivatization strategy and LC-MS/MS [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2019, 67(10): 3046-3054
- [18] 冯丁山,黄业宇,苏林梁,等.香露兜粉对大鼠致畸性研究[J].中国食品卫生杂志,2020,32(2):130-133  
FENG Ding-shan, HUANG Ye-yu, SU Lin-liang, et al. Study on teratogenicity of *Pandanus amaryllifolius* Roxb. powder in rats [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2020, 32(2): 130-133
- [19] Reshidan N H, Abd M S, Mamikutty N. The effects of *Pandanus amaryllifolius* (Roxb.) leaf water extracts on fructose-induced metabolic syndrome rat model [J]. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2019, 19(1): 232-240
- [20] GB 15193.14 -2015,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[S]  
GB 15193.14-2015, National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China. National Food Safety Standard 90 Days Oral Toxicity Test [S]