

南瓜叶浓缩蛋白制品的食用安全性初步评价

黄 威

(重庆文理学院,重庆 402160)

摘要:采用我国《食品安全性毒理学评价程序》中所规定的标准方法和实验模型,对南瓜叶浓缩蛋白制品的食用安全性进行评价。结果显示,该产品小鼠经口LD₅₀值大于21.501g/kg·bw,属无毒级;小鼠30d喂养未显示任何毒副作用。因此,该产品对实验动物不具有急性毒性作用。

关键词:南瓜叶,浓缩蛋白,食用安全性,小鼠喂养实验

Preliminary dietary safety evaluation on protein concentrates from pumpkins (*Cucurbita moschata*) leaves

HUANG Wei

(Chongqing University of Arts and Sciences, Chongqing 402160, China)

Abstract: The dietary safety of pumpkin leaf protein products was evaluated in this experiment by using standard methods and experimental models described in the procedures for toxicological assessment on food safety. The result suggested that the LD₅₀ of pumpkin leaf protein concentrate would be higher than 21.501g/kg·bw, which indicated the non-acute toxicity of the experimental material according to the procedures for toxicological assessment on food safety. And, no abnormality was observed after feeding the experimental animals for 30d. Therefore, it was concluded that the pumpkin leaf protein concentrate experimented should not be acutely toxic to the experimental animals.

Key words: *Cucurbita moschata* leaves; protein concentrate; dietary safety evaluation; rat feeding test

中图分类号: TS201.6

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2013)08-0342-04

蛋白质是人类膳食结构中的重要组成部分,但是现在很多国家和地区都存在蛋白质相对缺乏的状况。大豆中富含蛋白质,根据中国海关总署统计资料,2008年大豆进口量达到3743.6万t,2009年上半年中国大豆进口量突破2000万t,达2209万t,与2008年同期相比增长28.2%,即使如此也不能弥补国内蛋白质资源的不足。因此,如何获得足够量的营养价值好而又相对廉价的食用蛋白质资源已经成为我国食品加工产业亟待解决的问题之一。南瓜[*Cucurbita moschata* (Duch.) Poiret],又名麦瓜、倭瓜、金冬瓜等,属葫芦科南瓜属一年生或多年生草本植物,是我国一种重要的经济作物,具有良好的栽培特性,年产量达410万t,茎、叶约200万t,我国南瓜产量约占世界总产量的30%^[1-2]。目前,南瓜茎、叶部分只有少量被食用和作为饲料,大部分资源没有得到利用,研究表明,南瓜叶中粗蛋白的质量分数约为30%^[3],如果能开发利用,其产生的经济效益将会非常可观。关于南瓜叶食用安全性问题,国内外的研究报道还并不是很多。

Akubue等^[4]的研究发现南瓜叶提取物具有很强的毒性。Ladeji^[5]的研究表明南瓜叶的抗营养因子如多酚、草酸盐、植酸盐等含量比较低。此外,刘清波等^[6]研究发现南瓜叶中黄酮类化合物质量分数为2.51%,这也可能成为潜在的抗营养物质。对南瓜叶蛋白进行系统的毒理学研究或安全性评价,并对其食用价值及开发利用具有重要的理论价值和实践指导意义,目前,针对这方面的研究尚待进行。本研究针对南瓜叶蛋白制品的食用安全性进行初步评价,以期对南瓜叶蛋白资源的开发利用提供一定的安全性依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

无水乙醇、冰醋酸 重庆川东化工有限公司,分析纯;酪蛋白 河南安之平食品添加剂有限公司;多维元素(善存) 惠氏制药有限公司;玉米淀粉 重庆市巫溪县农发集团淀粉厂;膳食纤维 广东河源邦利生物科技有限公司;色拉油 上海福临门食品有限公司;健康SPF级昆明种小鼠 重庆医科大学实验动物中心提供(合格证号:0003255)。

1.2 实验方法

1.2.1 南瓜叶浓缩蛋白制品及喂养实验材料的制备
南瓜叶浓缩蛋白制品 将新鲜采摘的南瓜叶(采摘

收稿日期:2012-10-10

作者简介:黄威(1984-),女,硕士研究生,研究方向:农产品加工及贮藏。

基金项目:重庆文理学院校级科研项目(Y2010SK42)。

时期为8月份)用清水洗净,然后将其放入恒温箱中烘干(80℃, 2h),用4%(V/V)的醋酸煮沸90s,捞出并用清水洗净,再用95%(V/V)的乙醇浸泡5h,捞出并烘干(80℃, 2h),用粉碎机粉碎成粉末状,过60目筛后置于容器中备用。

LD₅₀的实验材料:取适量浓缩蛋白制品,按照1g制品加入2mL色拉油进行稀释。

喂养实验材料:根据我国1994年制定的实验动物全价饲料营养标准,按照下述配方制成条状饲料。

1.2.1.1 粮食组饲料 购买于重庆医科大学动物实验中心,配方(g/100g m_r)为玉米35.142,生黄豆粉4.968,豆饼15.091,面粉15.416,酵母粉1.973,骨粉2.525,芝麻饼3.451,鱼粉4.005,奶粉2.109,食盐0.442,中华维多0.059,菜油1.175,麦麸15.006(饲料含蛋白质11.719g/100g m_d)。

1.2.1.2 空白组饲料配方(g/100g m_r)为玉米淀粉30.270,酪蛋白(含蛋白质85.241g/100g m_d)14.122,脂肪8.077,纤维素43.429,维生素矿物质4.102。

1.2.1.3 浓缩组饲料配方(g/100g m_r)为玉米淀粉30.352,南瓜叶浓缩蛋白(含蛋白质47.706g/100g m_d)25.148,脂肪8.102,纤维素35.215,维生素矿物质1.330。

1.2.2 急性毒性实验 采用寇氏法^[6]对南瓜叶浓缩蛋白粉的LD₅₀进行测定。将32只小鼠随机分为4组,雌雄各半。取1.2.1.1中的粮食组饲料放在给料处,饮用自来水,小鼠自由采食。分为4个对数等距的剂量组,给小白鼠空腹一次灌胃,连续观察2周,计算其LD₅₀。

1.2.3 食物利用率计算方法 食物利用率(%)=体重增重/进食量×100^[7]。

1.2.4 30d喂养实验及相关指标检测 用体重17.251~22.049g的SPF级小鼠(4~8周龄)42只,雌雄各半随机分为三组,即空白组、粮食组和浓缩蛋白组。按照每只老鼠每天投喂5.000g,每天一次性投喂,将定量饲

料放在给料处,小鼠自由取食,每周对小鼠进行一次体重称量,连续观察30d。实验结束时将小鼠空腹过夜,采眼球血进行血常规测定,取心、肝、脾、肺、肾称重,计算脏体比,并进行病理组织学检查^[8-10]。

2 结果与分析

2.1 急性毒性实验

如表1所示,在急性毒性实验中,分别以3.251、8.368、17.509、21.501g/kg·bw的剂量给予小鼠灌胃南瓜叶浓缩蛋白制品,实验期间内,四个剂量组均没有小鼠死亡,并且动物各系统未见异常。表明南瓜叶浓缩蛋白制品对小鼠经口LD₅₀>21.501g/kg·bw,根据LD₅₀剂量分级标准,判断南瓜叶浓缩蛋白制品属无毒级。

表1 浓缩南瓜叶蛋白LD₅₀测定结果

实验号	小鼠数量(只)	剂量(g/kg·bw)	24h内死亡情况	14d内死亡情况
1	8	3.251	0	0
2	8	8.368	0	0
3	8	17.509	0	0
4	8	21.501	0	0

2.2 30d喂养实验

2.2.1 对小鼠体重、食物利用率的影响 实验期间动物的活动、摄食、饮水、排便等未见明显异常,被毛浓密有光泽,生长情况良好。浓缩叶蛋白组动物体重增重、食物利用率与空白组及粮食组比较结果见表2和表3。由表2可知,小鼠食物利用率值大小为空白组>粮食组>浓缩组,其中,雌性小鼠的这种趋势更为明显。30d喂养期间内,小鼠体重增重(9.912±1.208)~(13.526±0.416)g,且各组之间的食物利用率和体重差异均不显著(p>0.05),说明南瓜浓缩叶蛋白的饲喂效果良好。Ladeji^[2]的研究表明南瓜叶含有一定量

表2 受试物对小鼠食物利用率的影响

Table 2 Effects on mouse food utilization rate of the tested compound

性别	组别	体重增重(g)	总进食量(g)	食物利用率(%)	p值
雌	空白组	13.526±0.416	150.003±5.004	9.012±1.964	>0.05
	浓缩组	9.912±1.208	149.996±5.003	6.601±1.432	
	粮食组	11.320±3.942	152.362±5.576	7.549±1.539	
雄	空白组	11.586±2.541	150.004±5.001	7.721±3.572	>0.05
	浓缩组	10.591±1.721	150.003±4.995	7.062±3.426	
	粮食组	11.331±1.517	150.747±5.428	7.557±3.603	

表3 受试物对小鼠体重的影响

Table 3 Effects on rat weight of the tested compound

性别	组别	初始体重(g)	第一周体重(g)	第二周体重(g)	第三周体重(g)	第四周体重(g)
雌	空白组	18.030±2.632	22.048±2.471	26.123±2.958	28.750±3.457	31.109±4.033
	浓缩组	19.388±3.017	22.071±2.561	24.280±2.411	26.471±2.336	28.769±2.571
	粮食组	21.707±3.379	24.838±2.278	28.429±0.972	30.733±2.219	31.867±1.920
雄	空白组	17.351±0.509	21.332±0.550	25.462±1.590	26.622±2.083	28.850±3.457
	浓缩组	16.219±1.734	19.634±2.984	23.318±2.237	25.128±2.738	26.721±3.112
	粮食组	17.192±1.711	20.373±1.026	23.801±1.883	26.033±2.554	28.493±3.418

表4 30天喂养实验末期小鼠血液学检查结果

Table 4 Hematology determined results of 30d mouse feeding experiments

性别	组别	白细胞WBC($10^9/L$)	红细胞RBC($10^{12}/L$)	血红蛋白HGB(g/L)	中性粒细胞(%)	淋巴细胞(%)
雌	空白组	6.203±1.329	9.493±0.943	148.003±3.333	10.801±2.051	72.803±4.732
	浓缩组	5.253±1.046	9.663±1.452	142.998±3.082	10.996±1.867	76.750±5.332
	粮食组	4.150±0.748	10.057±2.081	154.001±4.497	16.502±2.542	70.449±5.074
雄	空白组	5.752±1.121	9.239±1.321	131.001±4.552	18.604±2.783	67.298±3.090
	浓缩组	5.303±0.892	9.912±1.727	147.004±3.743	14.104±2.559	72.247±3.819
	粮食组	4.897±1.036	10.709±1.883	150.001±4.308	14.504±2.074	73.055±3.463

表5 受试物对小鼠脏器比的影响

Table 5 Effects on mouse viscera body ratios of the tested compound

性别	组别	心体比(%)	肝体比(%)	脾体比(%)	肺体比(%)	肾体比(%)
雌	空白组	0.419±0.087	5.587±1.137	0.236±0.059	0.648±0.158	1.032±0.376
	浓缩组	0.405±0.081	4.492±0.742	0.153±0.010	0.722±0.180	1.058±0.283
	粮食组	0.446±0.118	4.304±0.951	0.320±0.072	0.819±0.191	1.207±0.430
雄	空白组	0.591±0.180	5.691±1.085	0.232±0.062	0.842±0.231	1.690±0.572
	浓缩组	0.452±0.082	4.512±0.650	0.233±0.052	0.847±0.229	1.427±0.462
	粮食组	0.554±0.153	4.892±0.972	0.191±0.033	0.810±0.212	1.572±0.510

的多酚等抗营养因子,本实验采用的方法制备出的蛋白质制品,蛋白质含量得到了一定的提高,但是其中的生物碱类和多酚类等普遍存在于植物当中的物质含量尚不明确,有研究报道其可能具有抗营养的作用;此外,浓缩叶蛋白中的植物纤维的含量也相对较高,相比于空白组和粮食组,小鼠(特别是实验初期的幼鼠)对其消化利用情况欠佳,食物利用率偏低有可能是受到了以上几方面的影响^[11-13]。

2.2.2 血液常规检查 由表4可见,以受试物连续饲喂小鼠30d,浓缩蛋白组的白细胞计数及分类、红细胞计数、血红蛋白、中性粒细胞、淋巴细胞等与空白组及粮食组的相应指标比较差异不显著($p>0.05$)。血红蛋白与红细胞数量的减少,常见于偏食及吃素等不良饮食习惯所致的营养不良性贫血,因此表明本实验小鼠营养较为全面,没有出现贫血的症状。中性粒细胞增高见于急性化脓性感染、大出血、严重组织损伤、慢性粒细胞膜性白血病等;其减少多见于某些传染病、再生障碍性贫血、粒细胞缺乏症等,本实验小鼠均无此症状。淋巴细胞计数值正常,表明小鼠在生长发育过程中免疫系统比较健全,没有免疫缺陷病等^[14]。

2.2.3 大体解剖及组织学检查 大体解剖观察未发现异常情况,由表5可知,浓缩叶蛋白组小鼠的脏器比与空白组比较,差异不显著($p>0.05$)。对心、肝、肾、胃、十二指肠进行病理组织学镜下检查,各组受检脏器均未见有意义的病理变化,各脏器器官颜色,形状都比较正常,肠系膜未见粘连,肝叶分明^[15]。

3 结论

研究结果表明,南瓜浓缩叶蛋白制品小鼠经口 $LD_{50}>21.501g/kg\cdot bw$,属无毒级;小鼠30d喂养实验的结果显示:实验期间动物未出现拒食现象,动物生长活动正常,被毛浓密有光泽。浓缩叶蛋白组动物体重、食物利用率、主要脏器比与空白组比较无显著性

差异($p>0.05$)。空白组、粮食组及浓缩叶蛋白组的白细胞计数、红细胞计数、血红蛋白等各项指标均在正常值范围内。大体解剖及组织学检查未发现该受试物对各剂量组被检动物的受检脏器产生有意义的病理变化。

因此,南瓜叶蛋白制品在本实验时间范围内服用是安全的。但其慢性毒性还需要更长期的实验来研究。

参考文献

- [1] 赵一鹏,李新峥,周俊国. 世界南瓜生产现状及其种群多样性特征[J]. 内蒙古农业大学学报,2004,25(3):112-115.
- [2] 廖华俊. 优质南瓜亩创3000元关键技术[M]. 北京:中国三峡出版社,2006:1-8.
- [3] Ladeji O, Okoye Z S C, Ojebe T. Chemical evaluation of the nutritive value of leaf of fluted pumpkin (*Telfaria occidentalis*) [J]. Food Chemistry, 1995, 53:353-355.
- [4] Akubue PI, Kar A, Nnachetta FN. Toxicity of extracts of roots and leaves of *Telfairia occidentalis* [J]. Planta Medica, 1980, 38(4):339-343.
- [5] 刘清波,李文芳,李加莲,等. 南瓜茎、叶、花中黄酮类化合物含量的初步研究[J]. 安徽农业科学,2006,34(13):3182-3183.
- [6] 中华人民共和国卫生部. GB15193-2003中华人民共和国国家标准食品安全性毒理学评价程序和方法[S]. 北京:中国标准出版社,2003:1-94
- [7] 赵金山,周景祥,延岩. 大豆异黄酮复方胶囊食用安全性的评价[J]. 食品与药品,2008,10(11):55-57.
- [8] 张卫明,顾冀平,史劲松. 银杏叶食用安全性的毒理学评价[J]. 南京师大学报:自然科学版,2005,28(1):80-83.
- [9] Nworgu FC, Onabakin AM, Obadina T A. Performance and haematological indices of weaned rabbits served fluted pumpkin (*Telfaria occidentalis*) leaves extract supplement[J]. Journal of

Food Agriculture and Environment, 2008, 6(1):128-133.

[10] 曹树稳, 余燕影, 王衫, 等. 一种蔬果胶囊食用安全性评价[J]. 食品科学, 2005, 26(7):215-218.

[11] 李星全, 于晓光, 文海方. 黄酮类化合物抗小鼠血液过氧化氢作用的实验研究[J]. 中国地方病防治杂志, 2003, 18(3):143-144.

[12] 唐茂芝, 黄昆仑, 周可, 等. 转基因棉籽的食用安全性及对大鼠抗氧化系统影响的研究[J]. 食品科学, 2006, 27(6):216-219.

[13] Chappel J, Hahlbrock K. Transcription of plant defense genes in response to UV light or fungal elicitor[J]. Nature, 1984, 3(11):76-79.

[14] 赵旒梅, 郑定仙, 黄业宇, 等. SD大鼠血常规、血液生化指标、脏器比正常参考值范围研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2002, 12(2):165-167.

[15] 陈建国, 龚幼菊, 王茵, 等. SD大鼠血象、脏器比正常值及相关性分析的探讨[J]. 卫生毒理学杂志, 1999, 13(4):262-265.

(上接第316页)

3 结论

鱼鳞冻水法制备工艺经优化研究得出: 提胶温度对胶原蛋白和灰分提取率影响最大, 而料水比只对冻力有显著影响且影响最大, 提胶时间和提胶用水pH对三个指标都有显著影响, 最佳工艺条件为: 提胶料水比1:4, 提胶用水pH为6, 在100℃水浴中提胶2h。在该条件下制备鱼鳞冻, 胶原蛋白提取率为 $54.06\% \pm 2.38\%$, 灰分提取率为 $0.76\% \pm 0.05\%$, 冻力为 $(48.98 \pm 2.45)g$, 黏度为 $(1.87 \pm 0.05)mPa \cdot s$, 胶凝温度为 $(14.73 \pm 0.31)^\circ C$, 熔化温度为 $(23.33 \pm 0.30)^\circ C$, 质构特性表明鱼鳞冻比普通果冻要软, 弹性更好。

水法制备工艺简单经济, 本实验为研发鱼鳞冻产品的可行性提供了理论依据, 但鱼鳞的利用率较低, 因此还需要对鱼鳞冻工艺进一步优化, 考察指标和评判标准也需要进一步探讨。

参考文献

[1] 郭庆, 艾春香. 鱼鳞资源的开发利用[J]. 福建畜牧兽, 2005, 27(5):32-33.

[2] Holá M, Kalvoda J, Nováková H, et al. Possibilities of LA-ICP-MS technique for the spatial elemental analysis of the recent fish scales: Line scan vs. depth profiling[J]. Applied Surface Science, 2011, 257(6):1932-1940.

[3] Ogawa M, Portier R J, Moody M W, et al. Biochemical properties of bone and scale collagens isolated from the subtropical fish black drum (*Pogonia cromis*) and sheepshead seabream (*Archosargus probatocephalus*) [J]. Food Chemistry, 2004, 88(4):495-501.

[4] Pati F, Adhikari B, Dhara S. Isolation and characterization of fish scale collagen of higher thermal stability[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(10):3737-3742.

[5] 蒋挺大. 胶原与胶原蛋白[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006: 256-271.

[6] Duan R, Zhang J, Du X, et al. Properties of collagen from skin, scale and bone of carp (*Cyprinus carpio*) [J]. Food Chemistry, 2009, 112(3):702-706.

[7] Wang L, An X, Yang F, et al. Isolation and characterisation of collagens from the skin, scale and bone of deep-sea redfish

(*Sebastes mentella*) [J]. Food Chemistry, 2008, 108(2):616-623.

[8] Li C M, Zhong Z H, Wan Q H, et al. Preparation and thermal stability of collagen from scales of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. European Food Research and Technology, 2008, 227(5):1467-1473.

[9] Wangtueai S, Noomhorm A. Processing optimization and characterization of gelatin from lizardfish (*Saurida spp.*) scales [J]. LWT - Food Science and Technology, 2009, 42(4):825-834.

[10] Zhang F, Xu S, Wang Z. Pre-treatment optimization and properties of gelatin from freshwater fish scales [J]. Food and Bioprocess Technology, 2011, 89(3):185-193.

[11] 位绍红, 许永安, 吴靖娜. 罗非鱼鱼鳞提取明胶的工艺研究[J]. 渔业科学进展, 2010(3):66-76.

[12] 李闻欣, 杨明来, 王润辰, 等. 鱼鳞水法制胶的研究[J]. 食品科学, 2006(11):346-348.

[13] 刘庆慧, 刘从力, 王采理. 鱼鳞营养成分的分析及对高脂饲料大鼠血脂水平的影响[J]. 中国水产科学, 2000(4):56-59.

[14] Harris P. Food Gel [M]. London: Elsevier Applied Science, 2001: 250.

[15] 徐光域, 颜军, 郭晓强, 等. 硫酸-苯酚定糖法的改进与初步应用[J]. 食品科学, 2005(8):342-346.

[16] Woessner J F. The determination of hydroxyproline in tissue and protein samples containing small properties of this imino acid [J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1961(93):440-447.

[17] A G 沃德, A 考茨著. 明胶的科学工艺学 [M]. 李文渊等译. 北京: 中国轻工业出版社, 1982: 80.

[18] Ikoma T, Kobayashi H, Tanaka J, et al. Physical properties of type I collagen extracted from fish scales of *Pagrus major* and *Oreochromis niloticus* [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2003, 32(3/5):199-204.

[19] 黄碧霞, 梁桦, 宫竹芳, 等. 食用明胶与人体某些矿物成分关系的初步探讨[J]. 明胶科学与技术, 1985(4):178-184.

[20] Russell A E. Effect of pH on thermal stability of collagen in the dispersed and aggregated states [J]. The Biochemical journal, 1974, 139(1):277-80.

[21] 张丰香, 王璋, 许时婴. 鱼鳞明胶的提胶工艺[J]. 食品与发酵工业, 2008(9):96-100.