

# 银杏叶食用安全性的毒理学评价

张卫明, 顾龚平, 史劲松

( 南京野生植物综合利用研究院 210042 ,江苏 南京)

[ 摘要 ] 对银杏叶食品安全性毒理学进行了全面评价,试验动物经口  $LD_{50} > 21.5 \text{ g/kg}$ ,基本无毒,遗传毒性实验未见有致突变作用,30 d 喂养实验表明动物各项生理指标均未发生异常,表明银杏叶有较高的食用安全性。

[ 关键词 ] 银杏叶,安全性,毒理学

[ 中图分类号 ] R282.71 S567, [ 文献标识码 ] A, [ 文章编号 ] 1001-4616( 2005 )01-0080-04

## Toxicological Assessment on Food Reliability of *Ginkgo biloba* L. Leaves

Zhang Weiming, Gu Gongping, Shi Jinsong

( Nanjing Institute for Comprehensive Utilization of Wild Plants, 210042, Nanjing, China )

**Abstract** This paper is about on the toxicological assessment on food reliability of *Ginkgo biloba* L. Leaves. The  $LD_{50} ( > 21.5 \text{ g/kg} )$  is determined by feeding experiment. Toxicological genetic experiment shows no mutagenesis effect on mouse. All the physiological index of the treated mouse change little by 30d feeding experiment. The experiment shows that *Ginkgo biloba* L. Leaves food reliability is very safe.

**Key words** *Ginkgo biloba* L. Leaf, toxicological assessment, food reliability

银杏为银杏科植物( *Ginkgo biloba* L. ) ,其叶和果均具有重要药用价值. 国内外对银杏的化学成分、药理作用已进行了广泛的研究,现已报道银杏叶有抗氧化作用、促智功能、抗焦虑作用及镇静作用、调节血脂功能、抑制血小板的功能、扩张脑血管防止血栓形成、参与肾上腺皮质类固醇的调节,对脑缺血再灌注损伤保护作用,对糖尿病大鼠肾脏保护作用等<sup>[ 1—10 ]</sup>.

对银杏叶的研究和开发国内亦已做了大量的工作,以银杏叶为原料的药物和保健食品等已经上市. 但对银杏叶食用毒理学安全性未见有全面评价的报道,甚至还有一些负面的说法,认为其中的银杏酸等对人体可能有害,因而影响了其产品市场的销售. 本文结合银杏叶的产品开发,按国家有关保健食品规范,对其做了全面的安全毒理学评价,以期对相关产品提供食用科学的依据.

## 1 材料与方法

### 1.1 样品

南京野生植物综合利用研究院提供银杏叶样品,鉴定种为 *Ginkgo biloba* L.

银杏叶粉状样品 20 g,常压下,在温度 80 ~ 90℃ 的蒸馏水中浸泡 50 min,每次浸泡的蒸馏水量为 400 mL,浸泡 2 次,合并浸泡液并浓缩至所需浓度( 不同试验项目,浸泡液浓缩倍数不同 ),用于动物灌胃.

### 1.2 试验动物

昆明种小鼠、断乳 SD 大鼠,由南京江宁青龙动物繁殖场提供. 生产许可证号 SCXK( 苏 )2001—0010 ;使用许可证号 SYXK( 苏 )2001—0017.

### 1.3 检测方法

照国家卫生部颁布《食品安全 性毒理学评价程序和方法》GB15193 进行<sup>[ 11 ]</sup> :

收稿日期 :2004-09-20.

作者简介 :张卫明,1957—,研究员,南京师范大学生命科学学院兼职教授,长期从事植物资源保护与开发利用、农产品深加工等领域的研究和开发工作. E-mail :botanyzh@163.com

- (1) 急性毒性试验:GB15193.3—1994.
- (2) 遗传毒性试验.
- ① Ames 试验:GB15193.4—1994.
- ② 骨髓微核试验:GB15193.5—1994.
- ③ 小鼠精子畸形试验:GB15193.7—1994.
- (3) 30 d 喂养试验及相关指标检测:GB15193.13—1994.

2 结果与分析

2.1 急性毒性试验

银杏叶急性毒性试验小鼠存活情况见表 1. 得小鼠经口 LD<sub>50</sub> >21.5 g/(kg·d). 且在观察期内动物各系统未见异常. 根据 LD<sub>50</sub> 剂量分级标准,该样品属无毒级.

表 1 银杏叶急性毒性试验小鼠存活情况

剂量/ (mg/kg)	动物数		存活动物数	
	♀	♂	♀	♂
2 150	5	5	5	5
4 640	5	5	5	5
10 000	5	5	5	5
21 500	5	5	5	5

2.2 遗传毒性试验

2.2.1 Ames 试验

银杏叶提取液 Ames 试验结果见表 2. 在本试验的各浓度下, 无论是否加入 S<sub>9</sub> 混合液,各皿回变菌落数均未大于自发回变数的 2 倍,并且未见剂量反应关系,而各阳性对照组均显示强烈的诱变作用. 根据 Ames 试验结果判断标准,本次试验测试的银杏叶无致突变作用.

表 2 银杏叶 Ames 试验结果(3 皿均值±标准差)

剂量/(μg/皿)	TA <sub>97a</sub> (-S <sub>9</sub> )	TA <sub>97a</sub> (+S <sub>9</sub> )	TA <sub>98</sub> (-S <sub>9</sub> )	TA <sub>98</sub> (+S <sub>9</sub> )	TA <sub>100</sub> (-S <sub>9</sub> )	TA <sub>100</sub> (+S <sub>9</sub> )	TA <sub>102</sub> (-S <sub>9</sub> )	TA <sub>102</sub> (+S <sub>9</sub> )
5	142±11	231±7	40±6	57±6	146±9	161±6	286±13	305±5
50	144±7	248±4	60±4	59±6	156±5	152±2	305±5	319±5
500	153±7	232±11	52±5	63±7	127±4	151±4	315±8	311±4
1 000	144±7	241±4	46±5	63±7	134±4	156±7	322±3	375±6
5 000	151±6	218±4	52±5	62±11	144±4	153±8	324±2	367±3
阴性对照	145±12	225±9	53±6	64±9	151±5	149±7	319±3	368±8
阳性对照*	877±35	945±48	458±42	731±12	1 256±55	1 515±49	1 510±47	2 093±49

\* 阳性对照物为:TA<sub>97a</sub>(-S<sub>9</sub>) 阿的平(500 μg/皿);TA<sub>98</sub>(-S<sub>9</sub>) 正定霉素(6.0 μg/皿);TA<sub>100</sub>(-S<sub>9</sub>),TA<sub>102</sub>(-S<sub>9</sub>);甲基甲烷磺酸酯(1.0 μL/皿);TA<sub>97a</sub>(+S<sub>9</sub>),TA<sub>98</sub>(+S<sub>9</sub>),TA<sub>100</sub>(+S<sub>9</sub>);2-氨基苄(10.0 μg/皿);TA<sub>102</sub>(-S<sub>9</sub>);β-二羟基蒽醌(10.0 μg/皿).

2.2.2 骨髓微核试验

银杏叶对小鼠骨髓微核发生率的影响见表 3. 试验组动物在各试验剂量下,嗜多染红细胞(PCE)微核出现率、PCE/成熟红细胞(RBC)与阴性对照组均无显著性差异,而阳性对照组显示强烈的致突变作用. 根据该试验结果,本次试验测试的银杏叶在 400 mg/kg、2 000 mg/kg 和 10 000 mg/kg 剂量下均未见致突变作用.

表 3 银杏叶对小鼠骨髓嗜多染红细胞微核发生率的影响

性别	剂量组/ (mg/kg)	微核			PCE/RBC		
		观察 PCE 个数	有微核的 PCE 个数	微核率/%	观察 PCE 数	见到 PBC 数	PCE/RBC
♂	400	5×1 000	6	1.2	5×200	1 088	0.92
	2 000	5×1 000	7	1.4	5×200	1 058	0.94
	10 000	5×1 000	6	1.2	5×200	1 085	0.92
	阴性对照(蒸馏水)	5×1 000	5	1.0	5×200	1 080	0.92
	阳性对照(环磷酰胺)	5×1 000	154	30.8	5×200	1 317	0.76
♀	400	5×1 000	5	1.0	5×200	1 107	0.90
	2 000	5×1 000	5	1.0	5×200	1 098	0.91
	10 000	5×1 000	5	1.0	5×200	1 073	0.93
	阴性对照(蒸馏水)	5×1 000	5	1.0	5×200	1 070	0.93
	阳性对照(环磷酰胺)	5×1 000	160	32.0	5×200	1 323	0.76

2.2.3 小鼠精子畸变试验

银杏叶对小鼠精子畸形率的影响见表 4. 阴性对照组的精子畸变率为 2.44%,属于小鼠正常畸变范围内(正常畸变率为 0.8%~3.4%),阳性对照组(环磷酰胺组)的精子畸变率为 7.86%,显示强烈的致突变作用.

作用.

表 4 银杏叶对小鼠精子畸形率的影响

组别	剂量/( mg/kg/d )	动物数/只	受检精子数	畸形数	畸形率/%
银杏叶	2 500	5	5 000	128	2.56
	5 000	5	5 000	122	2.44
	10 000	5	5 000	126	2.52
阴性对照( 蒸馏水 )		5	5 000	122	2.44
阳性对照( 环磷酰胺 )	40	5	5 000	393	7.86

3 剂量样品组的精子畸变率分别为 2.56%、2.44% 和 2.52% . 与阴性对照组无显著性差异. 说明本次检测的银杏叶对小鼠精子无致突变作用.

2.3 30 d 喂养试验

2.3.1 喂养实验体重和食物利用率

整个试验期间 ,动物毛色正常 ,未见行为异常 ,无死亡发生. 30 d 喂养动物体重情况见表 5. 各剂量组动物增重与正常对照组无显著性差异. 食物利用率以增重 g/100 g 饲料计 ,结果见表 6.

表 5 银杏叶 30 d 喂养试验对大鼠体重的影响/g

组别	0 周	1 周	2 周	3 周	4 周
对照组	83.0 ± 6.9	132.6 ± 15.0	170.1 ± 13.8	209.2 ± 16.2	252.6 ± 14.7
低剂量	81.2 ± 9.5	133.4 ± 17.5	171.3 ± 17.8	210.8 ± 17.8	251.5 ± 17.8
中剂量	82.2 ± 8.6	133.5 ± 18.9	172.6 ± 17.9	209.0 ± 16.1	250.5 ± 15.8
高剂量	82.1 ± 9.2	133.9 ± 15.5	170.4 ± 13.1	209.9 ± 18.3	251.4 ± 17.9
F 值	0.07	0.01	0.05	0.02	0.03
P 值	0.974 0	0.998 6	0.985 0	0.995 3	0.993 5

表 6 银杏叶对大鼠 30 d 喂养食物利用率的影响

组别	体重增重/g	进食量/g	食物利用率/%
对照组	169.6 ± 13.7	557.7 ± 34.5	30.4 ± 2.2
低剂量	170.3 ± 10.5	545.3 ± 51.5	31.4 ± 2.1
中剂量	168.3 ± 10.6	553.5 ± 51.1	30.7 ± 4.2
高剂量	169.3 ± 14.2	566.6 ± 132.5	31.6 ± 9.2
F 值	0.05	0.13	0.11
P 值	0.9871	0.9413	0.9527

2.3.2 血液学检查

试验结束时血红蛋白、红细胞、白细胞、血小板、网织红细胞测定结果及白细胞分类分别见表 7、8. 各试验组与对照组比较 ,均未见异常.

表 7 银杏叶 30 d 喂养末期血液学检查结果

组别	血红蛋白/( g/L )	红细胞/( 10 <sup>12</sup> 个/L )	白细胞/( 10 <sup>9</sup> 个/L )	血小板/( 10 <sup>9</sup> 个/L )	网织红细胞/( 10 <sup>9</sup> 个/L )
对照组	139.3 ± 17.7	7.18 ± 1.01	22.4 ± 4.7	702.8 ± 102.7	225.7 ± 52.5
低剂量	127.7 ± 25.2	7.23 ± 0.94	19.7 ± 6.9	701.7 ± 187.5	197.1 ± 45.2
中剂量	139.4 ± 14.1	7.62 ± 0.75	18.9 ± 5.0	730.5 ± 149.1	207.3 ± 46.4
高剂量	143.3 ± 13.4	8.02 ± 0.82	23.9 ± 12.9	731.3 ± 268.6	235.9 ± 57.7

表 8 银杏叶 30 d 喂养末期白细胞分类

组别	中性粒细胞/%	碱性粒细胞/%	酸性粒细胞/%	淋巴细胞/%	单核细胞/%
对照组	16.0	0	0.9	82.5	0.6
低剂量	17.0	0	0.7	81.6	0.7
中剂量	15.0	0.1	0.4	83.9	0.6
高剂量	14.0	0.2	1.0	84.2	0.6

2.3.3 血液生化检查

所测各组动物的血清总蛋白( TP )、白蛋白( ALB )、谷丙转氨酶( ALT )、谷草转氨酶( AST )、葡萄糖( GLU )、肌酐( CR )、尿素氮( BUN )、尿酸( UA )、胆固醇( T-Cho )及甘油三酯( TG )均在正常值范围. 见表 9、表 10.

表 9 银杏叶 30 d 喂养试验大鼠血清生化测定结果( I )

组别	TP/( g/L )	ALB/( g/L )	ALT/( U/L )	AST/( U/L )	GLU/( mmol/L )
对照组	72.0 ± 3.5	30.6 ± 1.7	67.2 ± 7.9	135.1 ± 16.5	7.27 ± 0.74
低剂量	73.6 ± 4.2	30.2 ± 2.1	64.5 ± 12.0	140.3 ± 21.7	6.47 ± 0.78
中剂量	76.6 ± 5.6	30.1 ± 3.0	58.8 ± 13.1	132.6 ± 21.5	6.21 ± 0.65
高剂量	73.6 ± 6.7	27.3 ± 5.0	59.1 ± 14.0	136.9 ± 25.1	7.16 ± 1.24

表 10 银杏叶 30 d 喂养试验大鼠血清生化测定结果( II )

组别	CU/( μmol/L )	BUN/( mmol/L )	UA/( μmol/L )	T-Che/( mmol/L )	TG/( mmol/L )
对照组	77.3 ± 2.7	8.19 ± 1.14	76.0 ± 38.8	1.55 ± 0.23	1.50 ± 0.71
低剂量	76.4 ± 3.3	7.04 ± 1.02	69.2 ± 25.8	1.77 ± 0.27	1.29 ± 0.52
中剂量	77.2 ± 7.1	7.02 ± 1.42	68.2 ± 18.0	1.56 ± 0.12	1.11 ± 0.47
高剂量	78.7 ± 7.6	8.05 ± 3.37	66.7 ± 21.5	1.60 ± 0.29	0.92 ± 0.37

2.3.4 脏体比

银杏叶对大鼠脏体比的影响见表 11 ,各组的肝重/体重、肾重/体重均属正常 组间无显著差异.

2.3.5 组织病理学检查

解剖时 对照组及银杏叶低、中、高三个剂量组动物肝、脾、肾、十二指肠在体观察未见异常 ,所检肝、肾、十二指肠组织切片均未见病理学改变 ,镜下可见肝细胞排列呈索状 ,核居中 ,中央静脉无扩张 ,脾小体分布均匀 ,髓质无淤血 ,肾小球分布均匀 ,大小一致 ,近曲小管上皮细胞无坏死、脱落 ,腔内未见管型 ,间质无异常 ,十二指肠粘膜上皮大多完好 ,腔内无异物 ,间质可见少量炎细胞浸润 ,肌层及浆膜层正常.

表 11 银杏叶对大鼠 30 d 喂养脏体比的影响

组别	( 肝/体 )/%	( 肾/体 )/%
对照组	3.78 ± 0.58	0.60 ± 0.09
低剂量	3.74 ± 0.56	0.58 ± 0.10
中剂量	3.67 ± 0.58	0.58 ± 0.08
高剂量	3.79 ± 0.55	0.55 ± 0.06

3 讨论

银杏叶小鼠经口 LD<sub>50</sub> > 21.5 g/kg ,根据急性毒性( LD<sub>50</sub> )剂量分级标准 ,该样品属无毒级. 遗传毒性试验( Ames 试验、骨髓微核试验、小鼠精子畸形试验 )的阴性结果表明 ,未见银杏叶有致突变作用. 大鼠 30d 喂养试验结果表明 ,银杏叶三个剂量组动物的一般情况、体重、食物利用率、血液学、血液生化学、脏器重量及病理组织学检查均未见异常 ,其高剂量组大鼠灌胃剂量为 20 g/( kg · d )叶的浸泡浓缩液 ,相当于人体推荐饮用量 66.7 mg/( kg · d )的 300 倍.

实验结果表明 ,开发银杏叶类食品安全性高 ,基本无毒副作用 ,银杏叶中如银杏酸等在原料及普通提取物中表现的毒副作用表现不明显. 因此 ,银杏叶在食品、医药等领域的应用开发前景十分广阔.

[ 参考文献 ]

[ 1 ] 邓永强 ,郝慧 ,王宏 ,等. 银杏叶及其提取物药理作用研究进展[ J ]. Chin J Pharmacoepidemiol ,2004 ,13( 1 ) :10—12.

[ 2 ] Chen X ,Chen W Z. Recent phremacoligical progress of Ginkgobiloba extract for cardiovascular and neuronal disease[ J ]. Chin J Integ Trad West Med ,1996( 2 ) 300—302.

[ 3 ] Barkats M ,Venault P ,Christen Y ,et al. Effect of Longterm treatment with EGB761 on aeg-dependent structural changes in the hippocampi of three inbred mouse strains[ J ]. Life Sci ,1994 ,56( 4 ) 213—215.

[ 4 ] Satyan K S ,Jaiswal A K ,Ghosal S ,et al. Anxiolytic activity of ginkgolic acid conjugates from Indina Ginkgo biloba[ J ]. Psychopharmacology ,1998 ,136( 2 ) :148—152.

[ 5 ] 周月蝉 ,胡怡秀 ,藏雪冰 ,等. 银杏茶调节血脂和抗氧化作用实验研究[ J ]. 实用预防医学 ,2000 ,7( 2 ) :135—136.

[ 6 ] 沈连忠 ,崔燕英 ,王淑仙 ,等. 银杏叶提取物血液流变学研究[ J ]. 中国中药杂志 ,1998 ,23( 10 ) :622—623.

[ 7 ] 谢人明 ,汤臣康 ,马树德 ,等. 银杏叶注射液对动物循环作用的研究[ J ]. 中草药 ,1986 ,17( 8 ) 23—24.

[ 8 ] 丁勤学. 银杏叶对中枢神经系统的作用及其分子机理[ J ]. 国外医学( 中医中药分册 ) ,1998 ,21( 1 ) :6—7.

[ 9 ] 周兰兰 ,明亮 ,江勤 ,等. 银杏叶提取物对反复脑缺血再灌注损伤的保护作用[ J ]. 中国中西医结合杂志 ,2000 ,20( 5 ) 356—357.

[ 10 ] 廖璞 ,王淑琴 ,廖血松 ,等. 银杏叶提取物对糖尿病大鼠肾脏保护作用的实验研究[ J ]. 中国药房 ,2000 ,11( 3 ) :114—115.

[ 11 ] 国家卫生部. GB15193—1994. 食品安全性毒理学评价程序和方法[ S ].

[ 责任编辑 孙德泉 ]