

火麻仁油安全性的毒理学评价

Toxicological evaluation on safety of hemp seed oil

魏月媛 李 理

WEI Yue-yuan LI Li

(华南理工大学轻工与食品学院, 广东 广州 510640)

(College of Light Industry and Food Science, South China University of Technology,
Guangzhou, Guangdong 510640, China)

摘要:进行火麻仁油的急性毒性、遗传毒性和亚慢性毒性试验。结果表明:火麻仁油不具有急性毒性,对雌、雄小鼠经口 MTD 最大耐受量均大于 40 mL/kg·体重,属无毒级。Ames 试验显示火麻仁油不具有致突变性,且不影响小鼠红细胞的分化和成熟;对于小鼠精原细胞的分裂分化、精子生成和细胞学形态无明显影响,表明火麻仁油没有遗传毒性和致畸性。90 d 喂养试验中期和末期血液学检查、末期血液生化检验、脏器检查及组织病理切片观察,在各剂量组与对照组间无明显剂量—反应关系,表明火麻仁油不具有亚慢性毒性。

关键词:火麻仁油;毒理学评价;安全性

Abstract: The acute toxicity test, genotoxicity and subchronic oral toxicity of hemp seed oil were investigated. Results indicated that LD_{50} from the acute toxicity test of mouse was higher than 40 mL/kg. The negative results were showed in Ames test, micronucleus test of bone marrow and sperm abnormality test. No significant differences were found in body weight, food efficiency and blood endpoint values between testing groups and control group. Furthermore, the values of serum biochemical endpoints separately fell into the ranges of their normal specific concentrations. An absence of histological changes in rat organs was observed. It is concluded that no toxic effects of hemp seed oil were observed in this study.

Keywords: hemp seed oil; toxicological evaluation; safety

火麻仁为桑科植物大麻(*Cannabis sativa* L.)的种子,具有润燥、滑肠、通淋、活血的作用^[1],在中国被广泛用作中药材。现代科学研究^[1]已证明其具有较强的抗氧化、抗衰老和降脂降压等功效,应用前景十分广阔。近年来,火麻仁食品如火麻仁乳、火麻仁能量棒等在国外食品市场上广受欢迎,

但在中国火麻仁功能性食品的研发尚在摸索阶段^[1]。

由于种植地、品种、生产方式的影响,火麻仁提取物,尤其是火麻仁油可能会含有微量致幻成瘾活性物质 Δ^9 -四氢大麻酚(THC)的残存^[1]。故火麻仁油在开发成为食用油、保健油或其它功能性食品添加剂之前,必须进行安全性的毒理学评价试验^[1]。尽管目前已有报道^[2]肯定了火麻仁油的安全性,但考虑到火麻仁油提取方法和来源的不同以及动物试验可能存在的变化对火麻仁油安全性评价结果的影响,本研究拟根据食品安全性毒理学评价程序和方法(GB 15193.1—2003)进一步研究了火麻仁油的急性毒性试验、遗传毒性试验和 90 d 亚慢性毒性试验,以期之火麻仁油的食用安全性评价提供充分的支撑数据,为火麻仁油功能性食品的开发与产业化提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

受试物:火麻仁油,广州某企业提供。为淡黄色透明油状液体,其组分和纯度经高效液相色谱确认。试验时,以花生油为溶剂配制成各试验所需浓度;

试验动物:SPF 清洁级,选用健康昆明种小白鼠 KM 鼠(由昆明医学院试验动物中心提供),雌雄各半,体重(20±2)g,于温度(23±2)℃,湿度 40%~70%的 SPF 级动物房内适应性饲养 1 周后,进行试验;

花生油:市售;

环磷酰胺:批号 04131207,山西普特药业股份有限公司;

生理盐水:江西科伦药业有限公司;

小牛血清:浙江天杭生物科技股份有限公司;

甲醇:分析纯,天津市富起化工有限公司;

Giemsa 染液:北京雷根生物技术有限公司;

电子分析天平:BSA224S 型,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;

恒温水浴锅:290200-2 型,美国思博明科学器材公司;

高速冷冻离心机:日立 CR22G III 型,江苏无锡生物科技

作者简介:魏月媛,女,华南理工大学在读硕士研究生。

通讯作者:李理(1965—),女,华南理工大学教授,博士。

E-mail: lili@scut.edu.cn

收稿日期:2015-12-11

有限公司;

荧光倒置显微镜:尼康 TS100 型,北京瑞科中仪科技有限公司;

显微镜:SA3300 型,北京泰克仪器有限公司;

体重计:YP10001 型,上海佑科仪器仪表有限公司;

动物用全自动血细胞分析仪:MEK-6450K 型,上海光电医用电子仪器有限公司;

自动干式生化分析仪:SP 4430 型,爱科来医疗电子(上海)有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 急性毒性试验 根据文献[3]。试验动物:KM 小鼠 10 只,雌雄各半,体重(20±2) g,于温度(23±2) °C,湿度 40%~70%的 SPF 级动物房内适应性饲养 1 周后,进行试验。取火麻仁油原液进行灌胃,分组及给药:KM 小鼠 10 只,雌雄各半,分为 2 组,称重并标记动物。试验前禁食不禁水 16 h,以 0.4 mL/20 g 的体积灌胃。灌胃后观察 2 h 内动物的中毒表现,若无中毒表现,继续观察 7 d。7 d 后颈椎脱臼处死动物,解剖肉眼观察各脏器发育如常,并取心、肝、脾、肺、肾,其中心、肺、脾、右肾以及肝右叶置于 10%甲醛溶液中固定,余下肝叶及左肾于-80 °C 冻存。观察期间记录动物行为(包括神经系统反射和躯体运动)、中毒症状及死亡情况,评价其急性毒性强弱。

1.2.2 最大耐受量试验 试验动物:KM 小鼠 5 只,火麻仁原油按 0.8 mL/20 g 的体积灌胃,灌胃前禁食不禁水 16 h。动物称重并记录,所有动物灌胃前禁食不禁水 16 h。每只动物分别于上午 9 点及下午 15 点灌胃 1 次,连续观察 7 d,期间记录动物行为(包括神经系统反射和躯体运动)、中毒症状及死亡情况,评价其最大耐受量。

1.2.3 Amens 试验 按照 GB 15193.4—2003 所述方法进行试验,由广东出入境检验检疫局检验检疫技术中心测试。

1.2.4 小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验

(1) 动物分组和给药:SPF 级 KM 小鼠 50 只,雌雄各半,7~12 周。按体重随机分为 5 组:空白对照组(花生油)、阳性对照组(环磷酰胺 40 mg/kg)及火麻仁油高、中、低(火麻仁油、火麻仁油:花生油=1:1、火麻仁油:花生油=1:3)剂量组。各组动物均以 0.1 mL/10 g 的剂量灌胃相应的药物,采用 30 h 给受试药物法,两次给受试物间隔 24 h,第二次给受试物后 6 h,颈椎脱臼处死动物。

(2) 标本制备:颈椎脱臼处死小鼠,取胸骨,止血钳挤出骨髓液与玻片一端的小牛血清混匀,常规涂片,涂片自然干燥后放入甲醇中固定 5~10 min。当日固定后保存。将固定好的涂片放入 Giemsa 应用液中,染色 10~15 min。立即用蒸馏水冲洗、晾干。写好标签,阴凉干燥处保存^[4]。

(3) 镜检阅片:选择细胞完整、分散均匀,着色适当的区域在油镜下观察,以有核细胞形态完好作为判断切片优劣的标准。嗜多染红细胞(polychromatic erythrocyte,PCE)是未成熟的红细胞,具有嗜碱性。正染红细胞(normochromatic erythrocyte,NCE)是成熟的红细胞,具有嗜酸性。本法系观察嗜多染红细胞的微核,用 Giemsa 染色法,嗜多染红细胞

PCE 呈灰蓝色,成熟红细胞 NCE 呈浅橙色或橙—粉红色。典型的微核多为单个的、圆形、边缘光滑整齐,嗜色性与核质一致,呈紫红色或蓝紫色,直径通常为红细胞的 1/20~1/5。一般计数 200 个红细胞,观察嗜多染红细胞与成熟红细胞,以 PCE/NCE 的比值作为评价化合物细胞毒性的指标,代表未成熟红细胞与成熟红细胞的比值^[5]。

PCE/NCE 的正常范围在国内外均没有统一规定,本次试验参考孙明等^[6]给出的建议,不统一规定正常范围。

1.2.5 小鼠精子畸形试验 根据文献[7]修改如下:

(1) 动物分组和给药:SPF 昆明小鼠,雄性,34 只,按体重随机分为空白对照组(花生油)、阳性对照组(环磷酰胺 60 mg/kg)及火麻仁油高、中、低(火麻仁油、火麻仁油:花生油=1:1、火麻仁油:花生油=1:3)剂量组。各组动物均以 0.1 mL/10 g 的剂量灌胃相应的药物,每天 1 次,连续 5 d。并于首次灌胃后的第 35 天颈椎脱臼处死动物,取附睾制片,观察小鼠精子形态。

(2) 标本制备:各组动物于首次灌胃后的第 35 天颈椎脱臼处死,取出两侧副睾,用手术刀片将副睾纵向划 3~4 刀,放入 800 μL 生理盐水的 EP 管中,37 °C 水浴锅中水浴 5 min,让精子充分游离。取精子浑浊液,2 000 r/min 离心 5 min。弃上清液,加入 400 μL 生理盐水,加入 1%伊红染色液(醇溶)30 μL,混匀,染色 15~20 min。染色完毕后取 5 μL 滴于清洁载玻片,盖上盖玻片,于倒置显微镜下观察精子形态(200 倍)。

(3) 镜检阅片:将玻片置于倒置显微镜下观察精子形态。先于低倍镜下找到背景清晰、精子重叠较少的部位,然后于高倍镜下观察精子形态,计数结构完整的精子。精子畸形主要表现在头部,其次为尾部。畸形类型以无钩、胖头、香蕉形、尾折叠、无定形、双头、双尾为指标。检查每只小鼠结构完整无重叠的精子 1 000 条(重叠、折叠、剪碎的精子均不计数),计算精子畸形率。

1.2.6 大鼠 90 d 喂养试验 按照参考文献[8]所述方法进行试验。SPF 级 SD 大鼠 100 只,4~6 周,雌雄各半。将两种受试物掺入饲料中喂养,按每 100 g 体重的摄入量折算为饲料的量(mg/kg),90 d 喂养试验按体重的 8%折算。试验组按体重随机分为 5 组:正常对照组、花生油对照组及火麻仁油高、中、低(火麻仁油、火麻仁油:花生油=1:1、火麻仁油:花生油=1:3)剂量组,每组 20 只,雌雄各半。阴性对照组喂食基础饲料,自由饮食饮水。每天观察并记录动物的一般表现、行为、中毒表现和死亡情况。每周称一次体重和食物摄入量,试验结束后按式(1)计算总食物利用率。

$$\text{总食物利用率} = \frac{\text{体重总增加量}}{\text{饲料总摄入量}} \times 100\% \quad (1)$$

试验中期各组动物眼眶静脉丛采血 1 mL,检测血红蛋白、红细胞计数、白细胞总数及其分类必要时测定血小板数(PLT)和网织红细胞等血液学指标。90 d 喂养试验结束后,3%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉动物,腹主动脉采血,进行血常规、血红蛋白(HGB)、红细胞计数(RBC)、白细胞计数(WBC)及其分类等血液学指标和谷丙转氨酶(ALT 或 SG-

PT)、谷草转氨酶(ASG 或 SGOT)、尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)、总胆固醇(TCH)、甘油三酯(TG)、血糖(Glu)、血清白蛋白(Alb)、总蛋白(TP)等血液生化学指标的分析。同时对所有动物进行解剖,动物脏器进行大体检查,计算肝、肾、脾、睾丸的绝对重量和相对重量(脏/体比值)。肝、肾、脾、胃肠、卵巢及睾丸称重完成后,置于 10% 福尔马林中固定,留做病理学检查。在对各剂量组动物做大体检查未发现明显病变和生化指标未发现异常改变时,可以只进行最高剂量组及对照组动物主要脏器的组织病理学检查,发现病变后再对较低剂量组相应器官及组织进行检查。其中肝、肾、脾、胃及肠、睾丸或卵巢为必测项目。

1.2.7 数据处理和分析 所有数据均以平均值±标准偏差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 spss 19.0 统计软件处理,采用 *t* 检验法以及方差分析方法,置信水平为 95%。

2 结果与讨论

2.1 火麻仁油急性毒性及最大耐受量试验

小鼠急性毒性试验期间,各小鼠均活动正常,未出现异常症状、体征,也无死亡情况发生。试验时第一次给予最大灌胃容量 0.4 mL/20 g,连续观察 7 d,动物未出现死亡情况。为验证受试物是否有毒性,再进行第二次最大耐受量试验,即给予 0.8 mL/20 g 的灌胃容量,连续观察 7 d,动物仍未出现死亡情况。由结果可知火麻仁油对雌、雄小鼠经口急性毒性最大耐受剂量均大于 40 mL/kg·体重。在雇学俸等^[2]对火麻仁油安全性进行评价的研究中,其试验结果显示火麻仁油对小鼠经口 LD_{50} 大于 21.5 g/kg·体重。与这一结果相比,本试验将火麻仁油对小鼠经口急性毒性最大耐受剂量大大提升,再次确定了火麻仁油不具有急性毒性。

2.2 火麻仁油遗传毒性试验

2.2.1 火麻仁油 Ames 试验 结果显示,火麻仁油各剂量组对受试菌株 TA97、TA98、TA100、TA102,在加与不加 S9 的情况下,回变菌落数与阴性对照组比较差异均无统计学意义。

2.2.2 火麻仁油小鼠骨髓细胞微核试验 微核试验的观察终点是微核细胞率,以 PCE/NCE 比值为参考指标,PCE/

NCE 比值代表未成熟红细胞与成熟红细胞的比,为评价化合物细胞毒性的指标之一。因 PCE/NCE 比值变化范围较大,故国际上一直存在争议,没有统计规定的所谓“正常范围”^[6]。

Krishna 等^[9]总结了其实验室 11 年间的小鼠骨髓细胞微核试验的历史对照数据,换算成 PCE/NCE 比值,雄性约为 0.72~2.02,雌性约为 0.93~3.10,两性合计约为 0.85~2.30。这一数据被国际环境诱变剂学会(IAEMS)列入网络培训教材。Aaron 等^[10]利用骨髓微核试验评价了 21 种药物,其溶剂对照组(蒸馏水等)的 PCE/NCE 比值范围在 0.96~2.64。夏武等^[11]试验中报道的 PCE/NCE 比值约为 2.64~4.66 和 4.73~8.27;罗方妮^[12]报道的 PCE/NCE 比值为 2.58;Gebel 等^[13]试验结果是溶剂对照组雄性 PCE/NCE 比值为雌性小鼠 0.68~1.81,雌性小鼠 1.44~1.61;吴礼字等^[14]的研究中对照组 PCE/NCE 比值为 0.77;考庆君等^[15]的试验结果报道 PCE/NCE 为 0.87;McClain 等^[16]所做小鼠微核试验二者比值为 1.03。上述研究表明,PCE/NCE 数据比值变异性较大,国内外各实验室范围不一,有高低,这与受试物种类、试验动物品种、试验环境都有很大关系。本试验中小鼠骨髓嗜多染红细胞微核结果见表 1。由表 1 可知,PCE/NCE 的比值较历史数据的低,但处于大部分历史数据的正常范围内,与雇学俸等^[2]试验结果近似。空白对照组与高、中、低 3 个剂量组的 PCE/NCE 比值在 1.0~1.2,阳性对照组为 2.0。各剂量组间在统计学上无显著性差异($P > 0.05$),与阳性药物对照组存在显著性差异($P < 0.05$)。表明火麻仁油不具有诱发小鼠骨髓嗜多染红细胞微核生成的能力,并且不影响小鼠红细胞的分化和成熟。

2.2.3 火麻仁油小鼠精子畸形试验 生殖细胞和生殖系统对化学毒物非常敏感,一些外来化学物质以一定的剂量和在一定的时间给药都可能呈现毒副作用。在哺乳动物体内,雄性生殖细胞即精子,具有细胞更新快,生长连续性好,对内外环境因子敏感性高等特点,这是精子畸形诱变试验可以作为预测受试物毒性的基础^[17]。

小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验结果均为阴性(见表 2)。

表 1 火麻仁油小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验结果[†]

Table 1 Results of mouse bone marrow micronucleus test of hemp seed oil

性别	剂量	动物数/只	检查细胞数/个	PCE/NCE	微核数/个	微核率/%
雌	空白对照	5	1 000	1.0	1	0.13±0.25
	低剂量	5	1 000	1.2	3	0.30±0.45*
	中剂量	5	1 000	1.1	5	0.50±0.35*
	高剂量	5	1 000	1.0	1	0.10±0.22*
	阳性对照	5	1 000	2.0	66	6.60±1.08
雄	空白对照	5	1 000	1.2	0	0.00±0.00
	低剂量	5	1 000	1.1	2	0.20±0.27*
	中剂量	5	1 000	1.3	5	0.50±0.61*
	高剂量	5	1 000	1.1	2	0.20±0.27*
	阳性对照	5	1 000	2.0	66	6.60±1.85

† * 表示与阳性药物对照组比较有显著性差异($P < 0.05$)。

由表2可知,火麻仁油各试验剂量组精子畸形率与阴性对照组比较无显著性差异($P>0.05$),畸变率在2.2%~2.6%,且无剂量—反应关系。高、中、低3个剂量组均与阳性药物对照组有显著性差异($P<0.05$)。这一结果与宦学俸等^[2]研究报道的阴性对照组与各剂量组的火麻仁油小鼠精子畸变率约为17%~20%相比,均明显下降。试验结果表明受试物火麻仁油对于小鼠精原细胞的分裂分化、精子生成和细胞学

形态无明显影响。

2.3 大鼠90 d喂养试验

大鼠90 d喂养试验采用饲料掺入法而非传统灌胃法。据报道^[18-22],大鼠饲料中油脂添加量多在5%~20%,大鼠饲料粗脂肪含量一般在6%左右,本试验符合要求且结果证明以替换粗脂肪方式添加试验油脂对饲料组分和能量密度影响较小,可避免灌胃强饲法所造成的消化道损伤和负面情绪影响。

2.3.1 生长发育 火麻仁油对大鼠体重的影响情况详见表3,对大鼠食物利用率的影响情况详见表4。结果显示,所有动物都是随着周龄的增加,体重也相应增加,周龄和体重呈线性关系。除第1周雄性大鼠的中剂量和高剂量组与对照组间存在显著性差异($P<0.05$),其它时间里雌、雄大鼠的体重与对照组均无显著性差异($P>0.05$)。同时,各组间的食物利用率无显著性差异($P>0.05$)。从第1周开始,雄鼠体重明显大于雌鼠,雄性大鼠的食物利用率也比雌鼠高(见表4),表明雄性大鼠的生长发育速度比雌鼠快。这与宦学俸等^[2]、

表2 火麻仁油小鼠精子畸形试验结果[†]

Table 2 Results of mouse sperm shape abnormality test of hemp seed oil

剂量	动物数/只	观察精子/个	畸变数	畸变率/%
空白对照	6	6 000	136	2.26±0.50
低剂量	6	6 000	148	2.47±0.31*
中剂量	6	6 000	151	2.52±0.76*
高剂量	6	6 000	157	2.62±0.69*
阳性对照	8	8 000	565	7.06±1.45

† *表示与阳性药物对照组比较有显著性差异($P<0.05$)。

表3 火麻仁油对大鼠体重的影响[†]

Table 3 Effect of hemp seed oil on the body weight of rats

性别	剂量	动物数/ 只	大鼠体重/g				
			第1周	第2周	第3周	第4周	第5周
雌	正常	10	272.0±27.8	282.8±31.4	298.6±35.4	294.9±34.2	305.6±34.5
	低剂量	10	251.7±29.8	269.3±28.5	287.8±30.8	294.9±29.9	299.2±31.1
	中剂量	10	259.8±20.8	279.2±21.3	289.1±24.5	298.3±26.9	304.1±30.5
	高剂量	10	271.0±19.6	279.8±20.7	290.4±27.5	297.8±27.9	299.3±30.9
	油对照	10	266.2±23.0	281.1±21.9	290.3±20.1	296.0±21.8	300.7±22.3
雄	正常	10	299.7±30.4	312.7±31.9	371.9±34.7	341.0±33.0	389.4±39.5
	低剂量	10	310.9±23.6	351.2±23.2	404.0±21.0	417.8±25.8	441.3±32.4
	中剂量	10	324.1±16.5*	365.5±20.9	427.3±28.6	431.6±23.9	459.8±32.1
	高剂量	10	323.6±21.9*	362.8±21.6	410.8±25.8	429.9±30.1	448.5±31.7
	油对照	10	312.7±24.8	353.2±22.7	416.5±30.8	425.5±27.5	450.4±27.7

性别	剂量	动物数/ 只	大鼠体重/g				
			第6周	第7周	第8周	第9周	第10周
雌	正常	10	313.5±37.6	313.1±39.2	311.8±38.2	314.5±38.9	317.9±41.5
	低剂量	10	301.1±30.7	304.4±28.2	304.6±29.3	308.7±33.7	309.8±32.8
	中剂量	10	311.3±32.6	310.7±30.4	309.0±30.2	314.5±31.9	321.2±32.3
	高剂量	10	303.8±34.3	304.7±36.8	299.2±36.8	307.8±42.9	309.6±38.9
	油对照	10	300.8±24.9	297.9±24.6	293.9±25.0	304.1±27.4	307.6±26.5
雄	正常	10	374.7±36.9	393.7±41.4	397.2±42.2	408.9±42.7	418.7±44.5
	低剂量	10	453.1±30.1	473.0±38.2	482.9±37.7	498.7±39.3	514.0±40.9
	中剂量	10	479.4±34.9	494.6±32.4	491.3±37.7	506.9±41.0	522.6±43.3
	高剂量	10	464.1±31.9	477.3±30.6	497.3±27.5	509.8±28.3	527.3±29.4
	油对照	10	468.5±27.7	477.2±28.4	486.9±28.4	500.2±29.8	518.9±33.8

性别	剂量	动物数/ 只	大鼠体重/g				总增重
			第11周	第12周	第13周	第14周	
雌	正常	10	322.9±38.9	335.5±41.3	338.9±41.6	320.2±40.2	260.0±18.8
	低剂量	10	318.8±34.9	323.5±36.7	328.7±37.6	311.6±35.5	251.0±22.6
	中剂量	10	329.4±34.6	335.5±36.2	339.8±37.2	324.2±36.3	264.0±15.4
	高剂量	10	320.2±37.4	321.1±39.1	325.8±40.7	310.2±39.6	250.0±21.6
	油对照	10	314.9±25.9	321.2±24.0	327.1±25.0	313.4±23.9	253.0±25.2
雄	正常	10	449.2±46.0	429.8±48.4	435.3±50.9	423.1±51.0	363.0±19.9
	低剂量	10	529.5±43.5	545.6±46.2	551.8±45.7	536.9±45.2	476.0±27.1
	中剂量	10	538.8±47.7	553.4±47.7	563.2±49.6	546.3±47.3	486.0±18.9
	高剂量	10	540.9±28.6	556.5±28.6	564.4±27.9	548.5±29.3	488.0±22.5
	油对照	10	533.1±37.6	548.4±40.6	557.8±43.4	542.2±42.2	482.0±17.8

† *表示与花生油对照组比较有显著性差异($P<0.05$)。

表 4 火麻仁油对大鼠食物利用率的影响

Table 4 Effect of hemp seed oil on the food utilization rate of rats

性别	剂量	动物数/只	总增重/g	总进食量/g	总食物利用率/%
雌	正常	10	260.0±18.8	1 580.3±142.2	16.1±3.4
	低剂量	10	251.0±22.6	1 574.1±103.8	15.9±2.8
	中剂量	10	264.0±15.4	1 591.6±121.4	16.6±3.0
	高剂量	10	250.0±21.6	1 573.2±84.9	15.8±1.8
	油对照	10	253.0±25.2	1 592.5±135.7	15.9±4.5
雄	正常	10	363.0±19.9	1 842.6±262.3	20.7±4.0
	低剂量	10	476.0±27.1	2 140.5±158.9	22.2±5.6
	中剂量	10	486.0±18.9	2 237.6±107.4	21.7±4.4
	高剂量	10	488.0±22.5	2 240.8±142.6	21.8±2.9
	油对照	10	482.0±17.8	2 235.1±178.1	21.6±1.6

孟令仪等^[23]、郭建强等^[24]、王亚东等^[25]的研究结果一致。试验期间动物未出现拒食现象,火麻仁油对体重增长无不良影响。各组大鼠生长发育良好,一般状况如行为、活动、毛色光泽、精神状况、饮水及粪便均未见明显异常。该试验结果说明火麻仁油并不会影响动物的正常生长发育。

2.3.2 血液学指标 大鼠 90 d 喂养试验中期及末期血液学指标检测结果见表 5、6。由表 5、6 可知,中期血液学检查结果雌、雄大鼠高、中、低各剂量组与对照组在白细胞计数、红

细胞计数、血红蛋白、血小板上均无显著性差异($P>0.05$)。末期血液学检查结果显示,雌性大鼠高剂量组的血小板计数与花生油对照组和正常对照组均存在显著性差异($P<0.05$),但并不存在明显的剂量一效应关系;雌、雄大鼠其它血液学检查指标均与花生油对照组无显著性差异($P>0.05$)。根据胡建武等^[26]和孙劲等^[27]的报道,8 周龄的 SD 大鼠正常的血小板值在 $4.15\sim 8.38\times 10^{12} L^{-1}$,由此判断本试验的结果处于正常的波动范围内。

表 5 火麻仁油 90 d 喂养试验中期血液学检查结果

Table 5 Hematology test results on 90-day rats feeding test of hemp seed oil at mid-term

性别	剂量	动物数/只	白细胞计数/ ($\times 10^3 \mu L^{-1}$)	红细胞计数/ ($\times 10^6 \mu L^{-1}$)	血红蛋白/ ($g \cdot dL^{-1}$)	血小板/ ($\times 10^3 \mu L^{-1}$)
雌	正常	10	4.97±1.07	6.69±0.94	13.52±1.98	985.50±157.78
	低剂量	10	5.90±1.41	7.63±1.00	15.25±2.09	753.60±398.25
	中剂量	10	5.25±2.22	6.40±2.37	12.76±4.69	795.00±473.82
	高剂量	10	5.78±2.52	7.68±1.98	15.25±3.83	763.70±324.31
	油对照	10	5.19±1.31	7.20±0.35	14.50±0.65	1 017.60±127.34
雄	正常	10	6.55±2.69	7.03±1.88	14.05±3.55	982.80±239.85
	低剂量	10	7.96±1.73	7.92±1.34	15.19±2.61	964.00±306.76
	中剂量	10	8.38±0.82	8.31±0.53	15.64±0.86	995.00±110.11
	高剂量	10	7.31±1.45	8.34±0.49	15.78±0.85	987.22±187.61
	油对照	10	8.43±1.56	7.93±0.26	15.44±0.60	1 038.11±179.71

表 6 火麻仁油 90 d 喂养试验末期血液学检查结果[†]

Table 6 Hematology test results on 90-day rats feeding test of hemp seed oil in the end

性别	剂量	动物数/只	白细胞计数/ ($\times 10^3 \mu L^{-1}$)	红细胞计数/ ($\times 10^6 \mu L^{-1}$)	血红蛋白/ ($g \cdot dL^{-1}$)	血小板/ ($\times 10^3 \mu L^{-1}$)
雌	正常	10	2.90±0.90	7.52±0.36	14.26±0.90	1 062.40±109.65
	低剂量	10	2.99±1.44	6.90±0.68	13.62±1.28	1 069.40±94.24
	中剂量	10	2.30±0.39	7.40±0.26	14.17±0.51	1 043.00±73.70
	高剂量	10	2.18±0.79	6.87±1.14	13.50±2.44	764.20±456.26*
	油对照	10	2.45±1.65	7.16±0.34	14.11±0.60	1 069.30±142.62
雄	正常	10	3.05±0.73	7.70±0.89	14.75±1.23	1 048.56±130.32
	低剂量	10	4.36±1.65	7.98±0.45	14.42±0.93	1 052.50±187.50
	中剂量	10	3.92±1.17	8.13±0.40	14.50±0.63	1 065.20±139.29
	高剂量	10	3.93±1.22	7.97±0.94	14.31±1.79	1 088.50±378.39
	油对照	10	4.06±1.45	8.07±0.25	14.91±0.48	1 154.30±140.58

† * 表示与花生油对照组比较有显著性差异($P<0.05$)。

2.3.3 血液生化学指标 大鼠90 d 喂养试验末期血液生化学指标检查结果见表7。由表7可知,雌性大鼠低剂量组在白蛋白、胆固醇和总蛋白指标上与花生油对照组存在显著性差异($P < 0.05$),但与正常对照组无显著性差异($P > 0.05$),属于正常范围;中高剂量组血糖升高,其中中剂量组与花生油对照组和正常对照组都存在显著性差异($P < 0.05$),高剂量组与花生油对照组无显著性差异($P > 0.05$)。项华等^[28]的研究发现喂养4周(8~9周龄)的SD大鼠的血糖正常参

考值在5.19~5.54,邓雯等^[29]的研究发现喂养24周(31周龄)的SD大鼠的血糖正常参考值在5.90~11.3 mmol/L,由此可见,正常的血糖值随着喂养时间的增加而升高,因此,本研究中18~20周龄大鼠的血糖值仍应在正常范围内。此外,雄性大鼠中高剂量组谷草转氨酶与花生油对照组相比均明显下降,存在显著性差异($P < 0.05$),提示大麻仁油可能对肝脏有一定的保护作用,这与Neijat等^[30]的研究结果一致。

表7 大麻仁油90 d 喂养试验末期血液生化检验结果[†]

Table 7 Blood biochemical test results on 90-day rats feeding test of hemp seed oil in the end

性别	剂量	动物数/只	白蛋白/ (g · L ⁻¹)	胆固醇/ (mmol · L ⁻¹)	甘油三酯/ (mmol · L ⁻¹)	谷丙转氨酶/ (U · L ⁻¹)	谷草转氨酶/ (U · L ⁻¹)
雌	空白	10	48.99 ± 2.67	1.97 ± 0.33	0.63 ± 0.42	35.60 ± 9.70	194.50 ± 45.02
	低剂量	10	49.97 ± 2.98*	2.03 ± 0.34*	0.41 ± 0.09	39.40 ± 13.94	172.50 ± 42.00
	中剂量	10	46.27 ± 2.29	1.59 ± 0.31	0.34 ± 0.09	32.20 ± 6.20	155.70 ± 34.35
	高剂量	10	46.74 ± 2.48	1.67 ± 0.34	0.35 ± 0.07	36.80 ± 3.99	147.60 ± 24.25
	油对照	10	45.46 ± 2.15	1.68 ± 0.42	0.38 ± 0.08	35.50 ± 5.64	177.10 ± 27.49
雄	空白	10	37.91 ± 2.83	1.57 ± 0.35	0.53 ± 0.57	45.00 ± 15.18	211.30 ± 48.74
	低剂量	10	38.87 ± 1.99	1.45 ± 0.31	0.38 ± 0.15	47.20 ± 16.43	199.10 ± 23.68
	中剂量	10	37.24 ± 1.66	1.42 ± 0.26	0.28 ± 0.06	44.50 ± 10.99	170.40 ± 24.33*
	高剂量	10	38.49 ± 1.89	1.57 ± 0.32	0.26 ± 0.10	47.20 ± 9.07	186.00 ± 29.53*
	油对照	10	38.66 ± 1.65	1.36 ± 0.26	0.26 ± 0.09	50.90 ± 19.49	221.80 ± 31.66

性别	剂量	动物数/只	肌酐/ (μmol · L ⁻¹)	尿素/ (mmol · L ⁻¹)	血糖/ (mmol · L ⁻¹)	总蛋白/ (g · L ⁻¹)
雌	空白	10	38.70 ± 8.87	7.15 ± 1.07	5.36 ± 0.76*	65.29 ± 2.90
	低剂量	10	36.40 ± 5.70	5.59 ± 0.83	5.69 ± 0.75	64.62 ± 3.48*
	中剂量	10	37.00 ± 4.03	6.20 ± 0.90	6.60 ± 0.87*	59.94 ± 2.32
	高剂量	10	38.40 ± 4.95	5.72 ± 0.61	6.24 ± 1.07	60.50 ± 3.54
	油对照	10	37.20 ± 2.74	6.16 ± 0.77	5.75 ± 0.44	59.56 ± 2.64
雄	空白	10	30.30 ± 2.63	6.14 ± 0.85	3.90 ± 0.66	55.13 ± 1.09
	低剂量	10	37.40 ± 16.6	5.86 ± 0.51	5.87 ± 0.54	56.68 ± 2.91
	中剂量	10	33.10 ± 6.31	5.39 ± 0.71	5.76 ± 0.85	54.76 ± 2.84
	高剂量	10	29.40 ± 3.27	6.06 ± 0.34	5.95 ± 0.99	57.00 ± 2.24
	油对照	10	31.30 ± 3.89	5.61 ± 0.73	5.73 ± 0.57	57.18 ± 3.08

† *表示与花生油对照组比较有显著性差异($P < 0.05$)。

鹿学俸等^[2]也曾用大麻仁油做过SD大鼠的90 d 喂养试验,结果也是有个别血液学和血液生化学指标与对照组有差别,但数值均在正常范围内,且无明显剂量—反应关系,出现波动仍属正常现象^[31-35]。

2.3.4 病理组织学检查 大鼠90 d 喂养试验末期大麻仁油对大鼠脏器和脏体比的影响见表8、9。由表8、9可知,雌性大鼠低剂量组的脾脏重量显著性小于花生油对照组($P < 0.05$),也与正常对照组有显著性差异($P < 0.05$);雌性大鼠低剂量组的脾脏/体比与花生油对照组有显著性差异($P < 0.05$),但与正常对照组无显著性差异($P > 0.05$)。总体来说,各剂量组动物大体检查未见异常,极个别脏器重量和脏体比指标与对照组有显著性差异,但数值相差不大,且无明显剂量—反应关系,出现波动仍属正常现象。所有数据范围

与其它试验报道^[24, 31-35]的结果总体接近,但也有一些差异,这些差异的出现可能与大鼠的品系、来源、试验条件、饲养环境等因素有关。

依据GB 15193.13—2003,高剂量组脏器无病变时,可以只进行最高剂量组及对照组动物主要脏器的组织病理学检查,发现病变后再对较低剂量组相应器官及组织进行检查。本试验中高剂量组受试物脏器无病变,故没有做中剂量及低剂量的组织病理学检查,高剂量组和花生油对照组的病理组织切片见图1。由图1可知,对照组大鼠的心脏组织轻度水肿,间质血管扩张充血;心肌细胞排列整齐,胞浆致密,横纹清晰,细胞核清晰可见;偶见轻微心肌纤维节段性变性坏死。高剂量大鼠心肌细胞排列整齐,胞浆致密,横纹清晰,细胞核居中清晰可见;间质中血管及结缔组织结构正常,未

表 8 火麻仁油对大鼠脏器的影响[†]

Table 8 Effect of organ weight on 90-day rats feeding test of hemp seed oil

性别	剂量	动物数/只	检测脏器重量/g			
			肝脏	脾脏	肾脏	睾丸
雌	正常	10	7.35±0.89	0.56±0.05	0.93±0.08	—
	低剂量	10	7.29±0.36	0.50±0.04*	0.90±0.07	—
	中剂量	10	7.20±0.92	0.54±0.06	0.91±0.08	—
	高剂量	10	7.10±0.74	0.57±0.08	0.91±0.08	—
	油对照	10	6.89±0.73	0.56±0.07	0.90±0.08	—
雄	正常	10	9.32±1.09	0.82±0.21	1.31±0.18	3.42±0.35
	低剂量	10	11.79±1.28	0.80±0.12	1.45±0.14	3.44±0.50
	中剂量	10	12.27±1.11	0.79±0.14	1.44±0.12	3.81±0.29
	高剂量	10	12.09±0.78	0.81±0.23	1.44±0.29	3.70±0.31
	油对照	10	11.86±1.14	0.73±0.10	1.51±0.14	3.63±0.20

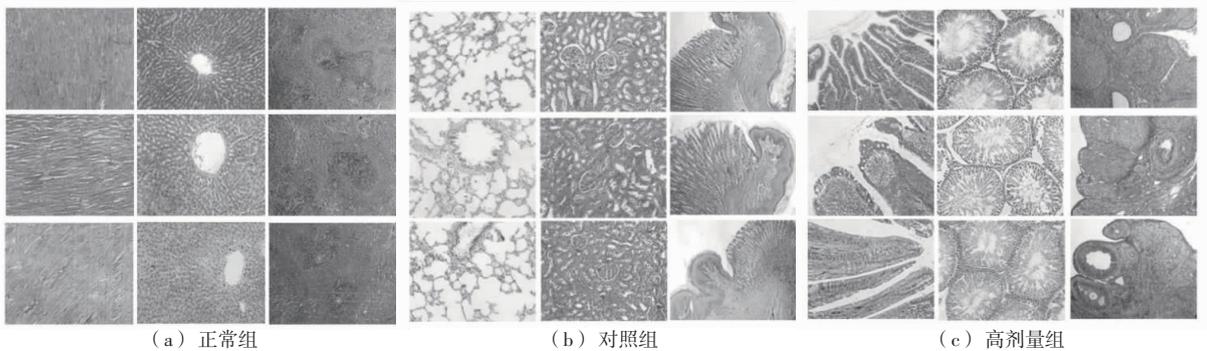
† * 表示与花生油对照组比较有显著性差异(P<0.05)。

表 9 火麻仁油对大鼠脏体比的影响[†]

Table 9 Effect of viscera body rate on 90-day rats feeding test of hemp seed oil

性别	剂量	动物数/只	检测脏体比/%			
			肝脏	脾脏	肾脏	睾丸
雌	正常	10	2.29±0.17	0.17±0.01	0.29±0.02	—
	低剂量	10	2.36±0.21	0.16±0.01*	0.29±0.02	—
	中剂量	10	2.22±0.26	0.16±0.02	0.28±0.03	—
	高剂量	10	2.30±0.15	0.18±0.03	0.29±0.03	—
	油对照	10	2.19±0.13	0.18±0.02	0.28±0.02	—
雄	正常	10	2.21±0.19	0.20±0.07	0.31±0.03	0.81±0.10
	低剂量	10	2.20±0.19	0.15±0.03	0.27±0.03	0.64±0.11
	中剂量	10	2.24±0.11	0.14±0.02	0.26±0.02	0.70±0.09
	高剂量	10	2.20±0.13	0.14±0.04	0.26±0.05	0.67±0.06
	油对照	10	2.18±0.08	0.13±0.02	0.28±0.02	0.67±0.06

† * 表示与花生油对照组比较有显著性差异(P<0.05)。



组合图为顺序依次为:心脏(20×10)、肝脏(20×10)、脾脏(10×10)、脾脏(20×10)、肾脏(20×10)、胃(10×10)、十二指肠(20×10)、睾丸(20×10)、卵巢(10×10)HE染色,括号内为放大倍数

图 1 火麻仁油 90 d 喂养试验末期组织切片图

Figure 1 Pictures of pathological tissues slices on 90-day rats feeding test of hemp seed oil

见明显的心内膜炎、心肌炎、心外膜炎及瓣膜炎等病变。对照组大鼠肝脏中央静脉周围肝细胞轻度水肿,狄氏隙显现;肝索结构清晰,肝细胞排列整齐,胞浆致密,细胞核清晰可见。高剂量组大鼠中央静脉周围肝细胞轻度水肿,肝细胞结构完整

呈条索状排列。对照和高剂量组大鼠的脾脏结构完整,红髓白髓结构清晰,脾小体可见中间动脉,边缘区明显。对照和高剂量组大鼠的支气管和肺泡结构完整,未见明显异常。脏结构完整,皮质髓质清晰可见内,肾小球结构完整,肾小管上皮

轻度变性,管腔内可见少量蛋白样絮状沉淀物(明显的背景病变)。皮胃结构完整,粘膜表面被覆复层鳞状上皮,表面角化现象明显,可见角化的复层扁平上皮,粘膜上皮细胞排列紧密。腺胃结构清晰可见,细胞排列紧密,粘膜上皮未见不典型增生,溃疡出血,肠上皮化生及肿瘤等病变。皮胃和腺胃交界处腺胃粘膜浅层上皮变性坏死甚至脱落。十二指肠肠绒毛结构完整,未见明显脱落或断裂。粘膜上皮细胞排列整齐,杯状细胞清晰可见。粘膜下层及固有层未见水肿充血,固有层内可见数量不等的浆细胞、粒细胞及淋巴细胞。睾丸轻度水肿(展片原因),曲细精管结构完整,各级生精细胞排列整齐,管内精子细胞结构正常,未见明显病变(曲细小管内结构疏松与固定液有关)。卵巢结构完整,皮质部有数个处于不同发育阶段的卵泡及黄体组织。髓质部血管丰富,未见明显异常。总体而言,正常组、花生油对照组、高剂量组3组之间病理变化没有差异性,与雇学俸等^[2]的试验结果一致。

3 结论

(1) 急性毒性试验及最大耐受量试验中,各小鼠均活动正常,未出现异常症状、体征,也无死亡情况发生。火麻仁油对雌、雄小鼠经口最大耐受量均大于 40 mL/kg·体重,属于无毒级。

(2) 遗传毒性试验采用 Ames 试验、小鼠骨髓细胞微核试验和小鼠精子畸形试验。Ames 试验结果显示,火麻仁油不具有突变性。小鼠高、中、低 3 个剂量组结果均呈现阴性。火麻仁油不影响小鼠红细胞的分化和成熟,对于小鼠精原细胞的分裂分化、精子生成和细胞学形态无明显影响。不具有遗传毒性和致畸性。

(3) 亚慢性毒性试验采用 90 d 大鼠喂养试验,试验期间动物未出现拒食现象,对体重增长无不良影响。各组大鼠生长发育良好,一般状况如行为、活动、毛色光泽、精神状况、饮水及粪便均未见明显异常。在试验期间大鼠体重增长与周龄基本上呈线性关系,中期血液学检测无显著性差异($P > 0.05$),末期血液学检测、血液生化检验、大鼠主要器官重量级脏体比中个别指标与对照组存在显著性差异,但数值差异不大,且无明显剂量-反应关系,属于正常波动,是可以接受的。组织病理切片观察无明显差异。故总体而言火麻仁油不具有亚慢性毒性。

参考文献

- [1] 魏月媛,李理. 火麻仁的功效及食用安全性的研究进展[J]. 食品工业, 2015, 36(7): 256-260.
- [2] 雇学俸,李永进,王军波,等. 火麻仁油安全性评价及血清抗氧化功能初步研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2008, 20(5): 388-392.
- [3] 中华人民共和国卫生部,中国国家标准化管理委员会. GB 15193.3—2003 急性毒性试验[S]. 北京:中国标准出版社, 2004.
- [4] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. GB 15193.5—2003 骨髓细胞微核试验[S]. 北京:中国标准出版社, 2003.
- [5] 赵淑杰,祝寿芬,韩光,等. 小鼠骨髓细胞微核试验最适条件的探讨[J]. 毒理学杂志, 1993, 7(3): 178-179.
- [6] 孙明,蔡铁全. 骨髓细胞微核试验 PCE/NCE 比值的历史对照范围及建议[J]. 实用预防医学, 2011, 18(4): 768-769.
- [7] 中华人民共和国卫生部,中国国家标准化管理委员会. GB 15193.7—2003 小鼠精子畸形试验[S]. 北京:中国标准出版社, 2004.
- [8] 中华人民共和国卫生部,中国国家标准化管理委员会. GB 15193.13—2003 30天和90天喂养试验[S]. 北京:中国标准出版社, 2003.
- [9] Krishna G, Urda G, Paulissen J. Hist orical vehicle and positive control micronucleus data in mice and rats[J]. Mutation Research/fundamental & Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 2000, 453(1): 45-50.
- [10] Aaron C S, Sorg R, Zimmer D. The mouse bone marrow micronucleus test: evaluation of 21 drug candidates[J]. Mutation Research, 1989, 223(2): 129-140.
- [11] 夏义武,程仁璋,黄芒莉. 正交设计法研究环磷酸腺苷诱导小鼠骨髓细胞微核的影响因素[J]. 中国现代应用药学杂志, 2003, 20(2): 89-91.
- [12] 罗方妮. 芝江霉素对小鼠骨髓嗜多染细胞(PCE)微核的影响[J]. 癌变畸变突变, 1996, 8(3): 183-184.
- [13] Gebel T, Kevekordes S, Pav K, et al. In vivo genotoxicity of selected herbicides in the mouse bone-marrow micronucleus test[J]. Archives of Toxicology, 1997, 71(3): 193-197.
- [14] 吴礼字,吴岳文,施纯青. 台湾金线连和阔叶大豆(金门产一条根)之初步基因毒性试验[J]. 实用预防医学, 2001, 12(3): 173-178.
- [15] 考庆君,吴坤,李红卫. 三价铬和六价铬对小鼠骨髓细胞微核率和精子畸变的影响的比较[J]. 癌变畸变突变, 2004, 16(3): 151-154.
- [16] McClain R, Wolz E, Davidovich A, et al. Genetic toxicity studies with genistein[J]. Food & Chemical Toxicology, 2006, 44(1): 42-55.
- [17] 黄勤,黄幸纤. 小鼠精子畸形试验在毒理学上的应用(综述)[J]. 浙江大学学报:医学版, 1986, 15(4): 182-186.
- [18] Iio K, Okada Y, Ishikura M. Single and 13-week oral toxicity study of fucoxanthin oil from microalgae in rats[J]. Journal of the Food Hygienic Society of Japan, 2011, 52(3): 183-189.
- [19] Jeena K, Liju V, Kuttan R. A preliminary 13-week oral toxicity study of ginger oil in male and female Wistar rats[J]. International Journal of Toxicology, 2011, 30(6): 662-670.
- [20] Kawashima H, Toyoda-Ono Y, Suwa Y, et al. Subchronic (13-week) oral toxicity study of dihomo-gamma-linolenic acid (DGLA) oil in rats[J]. Food & Chemical Toxicology An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association, 2009, 47(6): 1 280-1 286.
- [21] Arterburn L M, Boswell K D, Koskelo E, et al. A combined subchronic (90-day) toxicity and neurotoxicity study of a single-cell source of docosahexaenoic acid triglyceride (DHASCO oil)[J]. Food & Chemical Toxicology, 2000, 38(1): 35-49.
- [22] Hempenius R A, Lina B A, Haggitt R C. Evaluation of a subchronic (13-week) oral toxicity study, preceded by an in utero exposure phase, with arachidonic acid oil derived from *Mortierella alpina* in rats[J]. Food and Chemical Toxicology, 2000, 38(2): 127-139.

从仿真结果可以看出,当喷孔轴线与喷孔上游圆管轴线的夹角 A 在 $30^\circ \sim 90^\circ$ 时,随着夹角 A 的增大,射流流量也随之增大,但相对变化量很小。从式(3)可知,夹角 A 变化导致通过喷孔的射流流量修正系数 C_d 发生变化,其变化规律见图 10。

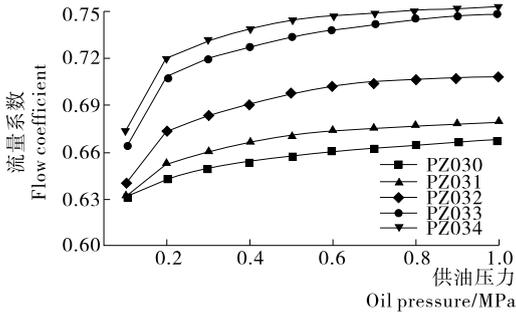


图 10 喷孔轴线与喷孔上游圆管轴线的夹角不同的喷嘴流量系数变化曲线

Figure 10 Variation of flow correction coefficient with five different angles between the axis of nozzle orifice and the axis of upstream flow channel

从计算结果可以看出,当喷孔轴线与喷孔上游圆管轴线的夹角 A 增大时,流量系数 C_d 逐渐增大,而且当夹角 A 在 $45^\circ \sim 75^\circ$ 时, C_d 的相对变化量更大。由于夹角 A 变化导致局部损失 h_j 发生变化,因此参照式(5)可知当夹角 A 从 30° 逐渐增大至 90° 时,局部阻力系数 ζ 逐渐减小,进而 h_j 逐渐减小,而且当夹角 A 在 $45^\circ \sim 75^\circ$ 时, ζ 更易受影响。

5 结论

随着喷孔直径、喷孔轴线与喷孔上游圆管轴线的夹角的增大,或者喷孔轴向长度的减小,喷孔出口射流流量逐渐增大,通过喷孔的射流流量修正系数也逐渐增大。比较喷嘴射流流量的试验数据,基于有限体积法的大涡模拟(LES)能精确地预测喷嘴圆射流内部流场。

参考文献

[1] 贾月梅. 流体力学[M]. 北京: 国防工业出版社, 2006: 51-226.

[2] 刘沛清. 自由紊动射流理论[M]. 北京: 北京航空航天大学出版社, 2008: 14-98.

[3] Cai Jin-sheng, Tsai Her Mann, Liu Feng. Numerical simulation of vortical flows in the near field of jets from notched circular nozzles[J]. Computers & Fluids, 2010, 39(3): 539-552.

[4] Sun Zuo-yu, Li Guo-xiu, Chen Chuan, et al. Numerical investigation on effects of nozzle's geometric parameters on the flow and the aviation characteristics within injector's nozzle for a high-pressure common-rail DI diesel engine[J]. Energy Conversion and Management, 2015, 89(1): 843-861.

[5] Xiao F, Dianat M, McGuirk J J. LES of turbulent liquid jet primary breakup in turbulent coaxial air flow[J]. International Journal of Multiphase Flow, 2014(60): 103-118.

[6] 王延忠, 牛文韬, 唐文, 等. 喷油方位参数对航空直齿轮喷油润滑过程的影响分析[J]. 航空动力学报, 2015, 30(7): 1 605-1 610.

[7] 王延忠, 牛文韬, 唐文, 等. 喷油嘴喷射方向偏离的影响因素[J]. 航空动力学报, 2012, 27(7): 1 665-1 670.

[8] 汤毅, 谢晶, 王金峰, 等. CFD 预测风机摆设形式对冷库的影响[J]. 食品与机械, 2012, 28(1): 124-128.

[9] 柴宏生. 亚音速射流试验台的设计与流场模拟[D]. 武汉: 华中科技大学, 2012: 8-33.

[10] 陈海涛, 张裕中. 叶轮角度与流体黏度对高剪切罐内流体影响的模拟研究[J]. 食品与机械, 2012, 28(5): 131-134.

[11] 王延忠, 牛文韬, 唐文, 等. 航空直齿轮喷油润滑油气两相流分析[J]. 航空动力学报, 2013, 28(2): 439-444.

[12] 周建钊, 徐肖攀, 朱自成, 等. 基于 ICEM CFD 与 ANSYS FLUENT 的热力射流喷嘴流场分析[J]. 机床与液压, 2014, 42(17): 157-160, 122.

[13] Wang Fu-jun, Fang Tie-gang. Liquid jet breakup for non-circular orifices under low pressures[J]. International Journal of Multiphase Flow, 2015(72): 248-262.

[14] 张兆顺, 崔桂香, 许春晓. 湍流大涡数值模拟的理论和应用[M]. 北京: 清华大学出版社, 2008: 54-129.

[15] 唐家鹏. FLUENT14.0 超级学习手册[M]. 北京: 人民邮电出版社, 2013: 39-66.

(上接第 11 页)

[23] 孟令仪, 宋忻恬, 张晶莹, 等. Wistar 大鼠 30 天喂养试验体重及食物利用率参考值的研究[J]. 中国医学创新, 2014, 11(6): 84-86.

[24] 郭建强, 齐娜, 苏忆兰, 等. SPF 级大鼠体重和主要脏器正常参考值的探讨[J]. 毒理学杂志, 2002, 16(4): 255-257.

[25] 王亚东, 杨海燕, 王海玉, 等. SD 大鼠 30 d 喂养试验正常参考值的探讨[J]. 现代预防医学, 2007, 34(1): 1 265-1 267.

[26] 胡建武, 卢胜明, 车路平. 10 种常见 SPF 级实验大、小鼠血液学及生化指标正常参考值的探讨[J]. 实验动物科学, 2007, 24(2): 5-10.

[27] 孙劲, 徐元宏. SD 大鼠常见血液学检测指标参考范围的建立[J]. 临床输血与检验, 2008, 10(3): 253-255

[28] 项华, 查捷, 孙建荣, 等. 清洁级 SD 大鼠血液学和血液生化学指标正常参考值的观察[J]. 中国卫生检验杂志, 2009, 19(4): 772-774.

[29] 邓雯, 陈莉莉, 刘晶, 等. SPF 级 SD 大鼠血液学及血清生化指

标正常值探讨[J]. 毒理学杂志, 2010, 24(2): 174-175.

[30] Neijat M, Gakhar N, Neufeld J, et al. Performance, egg quality, and blood plasma chemistry of laying hens fed hempseed and hempseed oil[J]. Poultry Science, 2014, 93(11): 2 827-2 840.

[31] 王亚东, 王海玉, 张聪恪, 等. SD 大鼠 30 d 喂养试验血液学生化和脏器系数指标参考值探讨[J]. 实用预防医学, 2007, 14(4): 1 037-1 038.

[32] 夏介英, 雷培琪, 曾晓兰, 等. SPF 级 KM 小鼠主要脏器重量和血液生化值的测定[J]. 四川生理科学杂志, 2009, 31(3): 104-107.

[33] 李慕, 王冬平, 尚士臣. 不同日龄 SPF 级 KM 小鼠血液生理生化正常指标的探讨[J]. 中国比较医学杂志, 2006, 16(9): 561.

[34] 席晓霞, 席栋宾, 吴润, 等. 3 种 SPF 小鼠血液生理生化正常参考值的研究[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2011, 23(12): 134-138.

[35] 李雯雯, 黄颖, 黄敏慧, 等. SPF 级昆明小鼠血液生化值的测定[J]. 广东畜牧兽医科技, 2013, 38(5): 15-18.