

木薯蚕蛹的急性毒性与遗传毒性

The acute toxicity and genotoxicity of Cassava Silkworm Pupa

李玲¹ 龙悦² 丁晓雯² 黄先智³

LI Ling¹ LONG Yue² DING Xiao-wen² HUANG Xian-zhi³

(1. 西南大学生物技术学院, 重庆 400715; 2. 西南大学食品科学学院, 重庆 400715;

3. 西南大学蚕学与生物系统研究所, 重庆 400715)

(1. College of Biotechnology, Southwest University, Chongqing 400716, China;

2. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400716, China;

3. State Key Laboratory of Silk-worm Genomic Biology, Chongqing 400716, China)

摘要:对木薯蚕蛹的急性毒性和遗传毒性进行研究。采用急性毒性试验和遗传毒性试验,其中遗传毒性试验包括蚕豆根尖微核试验、小鼠骨髓微核试验和小鼠精子畸形试验。结果表明:在急性毒性试验中,木薯蚕蛹的最大耐受剂量 $>16\text{ g/kg}\cdot\text{bw}$,属无毒物质;遗传试验表明,与阴性对照相比,浓度在 250 mg/mL 以上的木薯蚕蛹溶液可以极显著增加蚕豆根尖微核率($P<0.01$);木薯蚕蛹溶液的剂量为 $5\text{ g/kg}\cdot\text{bw}$ 和 $2.5\text{ g/kg}\cdot\text{bw}$ 时,可以分别显著性增加雄性和雌性小鼠的骨髓微核率($P<0.05$);剂量为 $5\text{ g/kg}\cdot\text{bw}$ 时,可以极显著增加雄性小鼠的精子畸变率($P<0.01$)。木薯蚕蛹在试验条件下未观察到急性毒性,在高剂量时有遗传毒性。

关键词:木薯蚕蛹;急性毒性;遗传毒性

Abstract: Objective: To study the acute toxicity and genotoxicity of silkworm pupa. Methods: The study was carried out by acute toxicity test and genotoxicity test. The genetic toxicity test was divided into micronucleus test in *Vicia faba* root tip cells, mouse bone marrow micronucleus test and mouse sperm abnormality test. Results: The maximum tolerated dose of the mouse to the silkworm chrysalis was greater than $16\text{ g/kg}\cdot\text{bw}$ in acute toxicity test, which meant that this substance was non-toxic. In genetic test, compared with negative control, when the concentration of cassava silkworm chrysalis was above 250 mg/mL , the broad bean root tip micronucleus rate increased significantly ($P<0.01$); when the dose is $5\text{ g/kg}\cdot\text{bw}$ and $2.5\text{ g/kg}\cdot\text{bw}$, cassava silkworm chrysalis could significantly increase the male and female mice bone marrow micronucleus rate re-

spectively ($P<0.05$); in $5\text{ g/kg}\cdot\text{bw}$, cassava silkworm chrysalis could significantly increase the odds of male mice sperm aberration ($P<0.01$). Conclusion: Under experimental condition, the acute toxicity of cassava silkworm pupa was not observed, but the genetic toxicity could be observed in high doses.

Keywords: cassava silkworm pupa; acute toxicity; genetic toxicity

蓖麻蚕(*Philosamia Cynthia ricini* Boisduval)是一种无滞育期的多化性完全变态昆虫,是吐丝结茧的经济昆虫之一。蓖麻蚕,属鳞翅目大蚕蛾科,因主要以蓖麻叶为食,故称蓖麻蚕,但蓖麻蚕是一种多食性蚕,以木薯叶为饲料时,也称木薯蚕。木薯蚕蛹是木薯蚕茧抽丝的副产物,具有较高的营养价值。有研究^[1-4]证明,木薯蚕蛹含蛋白质 64.63% 、脂肪 22.73% 、糖类 7.37% 、17种氨基酸,人体必需的9种氨基酸占氨基酸总量的 45.92% ,符合理想蛋白模式。而且,木薯蚕蛹还含维生素A、维生素B₁、维生素B₂等多种维生素以及丰富的不饱和脂肪酸,其中 α -亚麻酸的含量高达 39.07% ^[5-6],具有促进脂肪代谢、保护肝脏、促进肝细胞再生、降血糖和抗癌等多种功效^[7]。

在广西等产地,随着木薯产业的发展,食用木薯蚕蛹的人越来越多。但是木薯蚕蛹的成分分析表明,木薯蚕蛹中含砷($1.99\pm0.84\text{ mg/kg}$),超出中国GB 2762—2012规定值近3倍,此外还含氰化物($0.33\pm0.07\text{ mg/kg}$)、铅($0.14\pm0.03\text{ mg/kg}$)、镉($0.54\pm0.14\text{ }\mu\text{g/kg}$)干样^[8-10]。这些物质导致食用木薯蚕蛹具有相当大的安全隐患,限制了其利用,造成了极大的资源浪费。目前对木薯蚕蛹的安全性评价还未见报道,为了解木薯蚕蛹的食用安全性,更好地利用这一宝贵资源,本试验根据中国食品安全性评价程序的要求^[11]对木薯蚕蛹进行安全性评价。通过小鼠急性毒性试验和对蚕豆根尖微核细胞、小鼠骨髓细胞以及小鼠精子细胞的遗传

基金项目:国家现代农业(桑蚕)产业技术体系建设专项(编号: CARS-22-ZJ0503)

作者简介:李玲,女,西南大学在读硕士研究生。

通信作者:黄先智(1965—),男,西南大学副研究员,博士。

E-mail: popo1166@126.com

收稿日期:2016—12—14

毒性试验^[12], 对其进行毒理学安全性评价, 旨在研究木薯蚕蛹的食用安全性, 为其进一步开发提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

木薯蚕蛹干: 西南大学家蚕基因组生物学重点实验室提供, 产地为广西南宁。使用前将其研磨制成木薯蚕蛹干粉备用;

蚕豆: 购于重庆市北碚区天生市场;
昆明种清洁级小白鼠: 许可证号 SCXK(渝)2007-0006, 重庆市中药研究院动物研究所;

小牛血清: 北京燕生政博生物科技有限责任公司;
Giemsa 染液: 上海馨晨试化工科技有限公司;
环磷酰胺: 山西普德药业有限公司;
偏重亚硫酸钠、硫代硫酸钠: 分析纯, 温州市东升化工试剂厂;

甘油: 分析纯, 成都化学试剂厂。

1.2 仪器与设备

显微镜: XSN-3G 型, 重庆光电仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 急性毒性试验 按照 GB 15193.3—2003 急性毒性试验中最大耐受剂量法进行。选用 18~22 g 的健康昆明种小鼠, 雌雄各半, 试验前禁食不禁水 16 h。将木薯蚕蛹干粉用水制备成匀浆, 采用 0.4 mL/20 g 的最大灌胃体积分两次灌胃, 间隔时间为 4 h。试验的总灌胃剂量为 16 g/kg·bw, 灌胃后使其自由进食饮水, 连续观察 14 d, 记录小鼠有无中毒表现及死亡情况。

1.3.2 遗传毒性试验 遗传毒性是指有机体受到某些外源性因素影响, 发生的遗传物质损伤造成的毒性作用, 包括染色体水平、分子水平和碱基水平的损伤。遗传毒性试验一般包括体外和体内两个级别^[13], 用来判定受试样品是否具有致突变作用。本阶段试验分为蚕豆根尖微核、小鼠骨髓微核、小鼠精子畸形 3 个试验, 以测试木薯蚕蛹对植物细胞、动物体细胞、动物生殖细胞是否具有致突变作用。

(1) 蚕豆根尖微核试验: 参考文献[14~16]。称取木薯蚕蛹粉 0.25, 1.25, 2.5, 6.25, 12.5 g, 研磨, 加水定容至 25 mL, 超声 30 min (常温, 160 W), 过滤, 滤液备用。

用蒸馏水在 25 ℃ 恒温水浴锅中泡发蚕豆种子, 每 8 h 换水 1 次, 待初生根长至 2~3 cm 时, 选择粗细、长短一致且发育良好的种子供试验用。分别用制备好的滤液、阳性对照 (10.0 μg/mL 环磷酰胺溶液) 和阴性对照 (蒸馏水) 浸泡蚕豆根尖 6 h, 每组取发芽的种子 6~8 粒, 切下根尖顶端长约 1 cm 的幼根经过处理后在显微镜下观察。每个处理组观察 5 个以上根尖, 每个根尖至少观察 1 000 个间期细胞, 统计细胞微核数, 按式(1)、(2)计算微核率和微核指数:

$$P=\frac{n_1}{n_2}\times 100\%, \tag{1}$$

$$V=\frac{P_1}{P_2}, \tag{2}$$

式中:
 P ——蚕豆根尖微核率, %;
 n_1 ——含微核的细胞总数, 个;
 n_2 ——观察的细胞总数, 个;
 V ——微核指数;
 P_1 ——样本的微核率, %;
 P_2 ——阴性对照的微核率, %。

结果判定: 将样品与阴性对照的微核率进行比较, 若差异显著, 而且微核指数大于 1.5, 即认定试验样品具有一定的致突变性。

(2) 小鼠骨髓微核试验: 按照 GB 15193.5—2003 骨髓细胞微核试验进行。分别称取木薯蚕蛹粉 0.625, 1.250, 2.500, 5.000 g, 研磨, 并加水定容至 10 mL。现用现制备。选用健康昆明种小鼠, 体重 25~30 g, 随机分成 6 组, 雌雄各半, 每组 10 只。木薯蚕蛹设 4 个剂量组 (1.25, 2.50, 5.00, 10.00 g/kg·bw)。另用蒸馏水设阴性对照组, 用环磷酰胺设阳性对照组 (40 mg/kg·bw)。给药方式均为直接经口灌胃, 灌胃体积根据小鼠最大灌胃体积 0.4 mL/20 g 进行, 灌胃 2 次, 间隔 24 h。第 2 次灌胃后 6 h 处死小鼠, 取胸骨, 按规定的方式挤出骨髓液, 常规处理后计数。每张片计数 1 000 个嗜多染红细胞并计数含微核的嗜多染红细胞数。微核率按式(3)计算:

$$P=\frac{n_1}{n_2}\times 100\%, \tag{3}$$

式中:
 P ——嗜多染红细胞微核率, %;
 n_1 ——含微核的嗜多染红细胞数, 个;
 n_2 ——嗜多染红细胞总数, 个。

结果判定: 将样品与阴性对照的微核率进行比较, 若有显著差异则认为试样具有一定的致突变性。

(3) 小鼠精子畸形试验: 按照 GB 15193.7—2003 小鼠精子畸形试验^[17]进行。分别称取木薯蚕蛹粉 1.25, 2.50, 5.00 g, 研磨, 并加水定容至 10 mL。现用现制备。选用健康昆明种的成年雄性小鼠, 体重 25~35 g, 随机分成 5 组, 每组 5 只。木薯蚕蛹设 3 个剂量组 (2.5, 5.0, 10.0 g/kg·bw), 另用蒸馏水设阴性对照组, 用环磷酰胺溶液设阳性对照组 (40 mg/kg·bw)。给药方式均为直接经口灌胃, 每次灌胃体积根据小鼠最大灌胃体积 0.4 mL/20 g 进行。每天灌胃 1 次, 灌胃 5 次后自由摄食饮水饲养 30 d。35 d 时将小鼠脱颈处死, 取两侧附睾制成精子悬液, 常规处理后镜检。每张片观察 1 000 个头、尾完整的精子, 按式(4)计算精子畸形率。

$$P=\frac{n_1}{n_2}\times 100\%, \tag{4}$$

式中:
 P ——精子畸形率, %;
 n_1 ——畸形精子总数, 个;
 n_2 ——观察的精子总数, 个。

结果判定: 将样品与阴性对照的精子畸形率进行比较, 若有显著性差异即认为试样可能具有一定的致突变性。

1.4 数据分析

所得试验数据用 Excel 2013 版处理,并用 SPSS 19.0 进行差异显著性检验(t 检验)分析,显著水平为 0.05,极显著水平为 0.01。

2 结果与分析

2.1 木薯蚕蛹对小鼠的急性毒性

急性毒性(acute toxicity)是指生物机体一次(或 24 h 内多次)接触某种外源性物质后引起中毒的反应,严重时可引起机体死亡。急性毒性试验是研究受试毒性的第一步^[18]。通过急性毒性试验可以确定试验动物对受试物的毒性反应、中毒剂量或致死剂量。由于目前广西地区人们食用木薯蚕蛹而未出现中毒现象,因此在对木薯蚕蛹进行急性毒性评价时,采用最大耐受剂量法(test of maximum tolerated dose, MTD),即用最大使用浓度和最大灌胃容量给予受试动物后,连续观察 7~14 d,未见任何动物死亡,则 MTD 大于此剂量(g/kg·bw)^[19]。

试验鼠经过两次剂量为 16 g/kg·bw 的灌胃处理后,在 14 d 的观察期内未见死亡,且无异常表现。解剖结果显示:与空白对照相比,给予木薯蚕蛹的小鼠内脏无任何异常。根据急性毒性剂量分级表^[10]可知,木薯蚕蛹干粉最大耐受剂量>16 g/kg·bw,属无毒级别。

本试验中未观察到小鼠的急性毒性,分析可能的原因:在急性毒性试验中,小鼠的氰化物和砷的摄取量分别为(5.28±1.12),(31.84±13.44) μg/kg·bw,远低于致死量,且急性毒性试验只进行了两次灌胃处理,不足以导致小鼠死亡。

2.2 木薯蚕蛹的遗传毒性

尽管通过急性毒性试验证明木薯蚕蛹属无毒,但急性毒性试验的结果有其局限性,不能反映出试样潜在的危害,需要进一步进行遗传毒性试验。

2.2.1 蚕豆根尖微核试验 蚕豆根尖微核(micronucleus, MCN)是蚕豆根尖细胞在分裂时受到外界诱变因子的作用,所产生不能愈合的片段染色体^[12]。外界诱变因子越强,微核产生越多,因此微核率可以用来评价诱变因子对生物遗传物质的影响程度。蚕豆根尖微核试验不仅快速、简便、重复性好、灵敏度高,且检测结果与动物试验结果具有很高的一致性^[18]。1986 年国家环保局已将蚕豆根尖微核试验列入《环境检测技术规范》用于水环境检测^[19]。随着研究与应用的深入,目前该试验已作为一种方便快捷的体外测试方法,大范围应用于食品致突变性的检测中^[20-23]。

由表 1 可知,在试验设定的浓度范围内,木薯蚕蛹溶液浓度为 250,500 mg/mL 时的蚕豆根尖微核指数分别为 1.45 和 1.89,与阴性对照相比极显著增加(P<0.01),且 500 mg/mL 组的微核指数大于 1.5,而其他较低浓度的试样均未呈现显著性差异(P>0.05)。因此,500 mg/mL 以上浓度的木薯蚕蛹粉对蚕豆根尖细胞具有致突变作用。

2.2.2 小鼠骨髓微核试验 小鼠骨髓微核试验(Bone marrow cell micronucleus test)是通过测定小鼠骨髓中的嗜

表 1 蚕豆根尖微核试验[†]

Table 1 Micronucleus test in vicia faba root tip cells

组别	浓度	微核率/%	微核指数
阴性对照	蒸馏水	5.50±1.05	—
阳性对照	10 μg/mL	19.60±2.07**	3.56
	25 mg/mL	6.20±1.30	1.13
	50 mg/mL	6.00±1.00	1.09
木薯蚕蛹	100 mg/mL	6.40±1.52	1.16
	250 mg/mL	8.00±1.00**	1.45
	500 mg/mL	10.40±1.52**	1.89

† * 表示 P<0.05,即样本与阴性对照存在显著性差异;
** 为P<0.01,即样本与阴性对照存在极显著性差异。

多染红细胞(polychromatic erythrocytes,PCE)的微核发生率,对细胞的遗传损伤进行检测的一种常用的体内微核试验方法^[24]。骨髓嗜多染红细胞微核的形成是在成熟红细胞发展为红细胞的过程中受到某些诱变因子作用导致主核排出,将微核留在红细胞胞浆内形成的。

由表 2 可知,在雄性小鼠和雌性小鼠中,阳性对照组较阴性对照组都存在极显著性差异(P<0.01),说明在此条件下试验结果是可靠的。

雄性小鼠组中,低剂量 1.25,2.5 g/kg·bw 的木薯蚕蛹粉组,其小鼠骨髓嗜多染红细胞的微核率分别为(3.00±0.762)%和(2.60±1.12)%₀,与阴性对照不存在显著性关系(P>0.05);而在 5 g/kg·bw 剂量处理下,雄性小鼠的骨髓微核率为(3.60±1.35)%₀,与阴性对照组存在显著性差异(P<0.05);在 10 g/kg·bw 剂量,小鼠的骨髓微核率为(5.33±1.40)%₀,与阴性对照组存在极显著性差异(P<0.01)。

雌性小鼠组中,在 2.5,5 g/kg·bw 剂量组,小鼠骨髓嗜多染红细胞的微核率分别为(2.80±1.08)%₀和(2.80±0.77)%₀,

表 2 小鼠骨髓微核率试验[†]

Table 2 Mouse bone marrow micronucleus

性别	组别	剂量	微核率/%
雄性	阴性对照	蒸馏水	2.53±0.99
	阳性对照	40 mg/kg·bw	22.13±2.42**
	木薯蚕蛹	1.25 g/kg·bw	3.00±0.76
		2.5 g/kg·bw	2.60±1.12
		5 g/kg·bw	3.60±1.35*
		10 g/kg·bw	5.33±1.40**
雌性	阴性对照	蒸馏水	2.00±0.85
	阳性对照	40 mg/kg·bw	20.47±3.36**
	木薯蚕蛹	1.25 g/kg·bw	2.67±0.62
		2.5 g/kg·bw	2.80±1.08*
		5 g/kg·bw	2.80±0.77*
		10 g/kg·bw	4.40±1.45**

† * 表示 P<0.05,即样本与阴性对照存在显著性差异;
** 为P<0.01,即样本与阴性对照存在极显著性差异。

均与阴性对照组存在显著性差异($P<0.05$);10 g/kg·bw 剂量组的小鼠骨髓微核率为 $(4.40\pm1.45)\%$,与阴性对照组存在极显著性差异($P<0.01$)。

根据以上试验结果,木薯蚕蛹粉在 5,10 g/kg·bw 剂量时,对雄小鼠的体细胞具有致突变作用,在 2.5,5.0,10.0 g/kg·bw 剂量时对雌小鼠的体细胞具有致突变作用。

2.2.3 小鼠精子畸形试验 精子畸形的发生是其基因发生突变的结果,故可通过精子形态改变提示基因发生改变。小鼠精子畸形试验(Mice sperm abnormality test)是通过观察精子形态的变化来判断受试物对实验动物精子形成与发育的影响,进而检测受试物对雄性生殖细胞的影响^[17]。

由表 3 可知,阳性对照组较阴性对照组差异极显著($P<0.01$),说明在此条件下试验结果是可靠的。

5,10 g/kg·bw 剂量的木薯蚕蛹组,其精子畸形率与阴性对照组均存在极显著性差异($P<0.01$),表明 5 g/kg·bw 以上剂量的木薯蚕蛹溶液可能对小鼠生殖细胞有致突变作用。

表 3 木薯蚕蛹对小鼠精子畸变发生率的影响[†]
Table 3 Effects of cassava silkworm pupa on mouse sperm shape abnormality rates

组别	剂量	畸变率/%
阴性对照	蒸馏水	2.29±0.42
阳性对照	40 mg/kg·bw	10.83±1.79**
	2.5 g/kg·bw	2.97±0.36
木薯蚕蛹	5 g/kg·bw	4.84±0.24**
	10 g/kg·bw	5.03±0.97**

† * 表示 $P<0.05$,即样本与阴性对照存在显著性差异;
* * 为 $P<0.01$,即样本与阴性对照存在极显著性差异。

由图 1 可知,木薯蚕蛹对小鼠精子畸变的发生类型主要为尾部折叠,其次是不规则头、无钩、小头及香蕉形,双尾、双头、尾部卷曲发生率较低。

遗传毒性试验表明,一定剂量下的木薯蚕蛹对蚕豆根尖细胞、小鼠骨髓细胞和雄性小鼠生殖细胞均存在致突变作用。分析该突变作用可能与木薯蚕蛹中含有的有毒有害成分相关。木薯蚕蛹中含砷 (1.99 ± 0.84) mg/kg^[8],超过国家

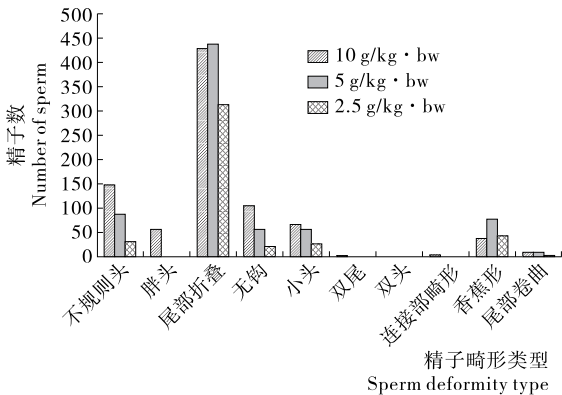


图 1 小鼠精子畸形类型
Figure 1 The types of mouse sperm deformity

标准规定近 3 倍^[25]。砷的化合物具有致癌、致畸、致突变等性质^[26-28],人的三氧化二神经口致死量为 0.76~1.95 mg/kg。而且,木薯蚕蛹干样含氰化物 (0.33 ± 0.07) mg/kg^[8]。氰化物也是剧毒物质之一,口服氢氰酸致死量为 0.7~3.5 mg/kg·bw,口服氰化钠、氰化钾致死量为 1~2 mg/kg·bw。氰化物可以阻断细胞呼吸链造成内窒息,严重时可导致中枢性呼吸衰竭而死亡。此外,木薯蚕蛹中还含有铅、铬等重金属^[8],虽然含量没有超标,但是不能排除其影响,需要进一步的研究。

此外,木薯蚕以木薯叶为食料,木薯蚕蛹的遗传毒性还可能与木薯叶有关。对木薯叶的分析表明,木薯叶中含有生氰糖苷、氢氰酸等有害成分,生氰糖苷可以水解产生氢氰酸,氢氰酸作为氰化物可以引起中毒反应^[29]。杨娟等^[30]发现,木薯叶在超过 7.5 mg/mL 浓度时,对蚕豆根尖细胞、小鼠骨髓细胞和雄性小鼠生殖细胞均存在致突变作用,这与木薯蚕蛹的试验结果相似。推测木薯蚕食用木薯叶后,木薯叶中的有毒物质在蚕体内有一程度的积累作用,并最终导致木薯蚕蛹具有遗传毒性,但还需进一步的试验证明。

3 结论

木薯蚕蛹在 16 g/kg·bw 剂量下未观察到小鼠的急性毒性,在一定剂量下对蚕豆根尖细胞、小鼠骨髓细胞以及小鼠精子细胞均有遗传毒性,因此食用木薯蚕蛹具有一定的风险。但是木薯蚕蛹作为木薯蚕养殖的附产物,是一种营养丰富的新型功能食品,弃之不用是对资源的巨大浪费,若要规模化开发相关食品,需先进行脱毒并对其产品进行系统的安全性评价。

参考文献

[1] 潘文娟,方婷婷,廖爱美,等.不同蚕蛹油中脂肪酸的性状及组分分析[J].食品科学,2011(4):148-151.
[2] 龙悦,黄先智,丁晓雯,等.木薯蚕蛹氨基酸构成分析[J].食品科学,2013(4):161-164.
[3] YANG Yu-nan, TANG Li-man, TONG Ling, et al. Silkworms culture as a source of protein for humans in space [J]. Advances in Space Research, 2009, 43(8): 1 236-1 242.
[4] 屈达才,刘健辉,钱惠田,等.蓖麻蚕蛹营养成分的分析测定[J].广西蚕业,1992(1):32-36.
[5] 莫现会,罗群,杨其保,等.广西木薯蚕(蓖麻蚕)产业发展回顾与展望[J].广西蚕业,2016,53(1):56-60.
[6] 龙悦,黄先智,丁晓雯.蓖麻蚕蛹油中脂肪酸成分分析[C]//管产学研助推食品安全重庆高峰论坛:2011年中国农业工程学会农产品加工及贮藏工程分会学术年会暨全国食品科学与工程博士学术论坛论文集.徐州:国务院学位委员会办公室教育部学位管理与研究生教育司,中国农业工程学会农产品加工及贮藏工程分会,西南大学研究生部,2011:104-110.
[7] 王洪欣.蚕蛹生物活性成分现代研究进展[J].齐鲁药事,2007,26(6):355-358
[8]梁茵峪,龙悦,黄先智,等.影响木薯蚕蛹食用安全性的成分分析[J].食品科学,2014,35(11):215-218.
[9] BRADBURY J H, DENTON I C. Mild methods of processing

cassava leaves to remove cyanogens and conserve key nutrients [J]. Food Chemistry, 2011, 127(4): 1 755-1 759.

[10] LONGVAH T, MANGTHYA K, RAMULU P. Nutrient composition and protein quality evaluation of eri silkworm (*Samia ricinii*) prepupae and pupae[J]. Food Chemistry, 2011, 128(2): 400-403.

[11] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. GB 15193.1—2014 食品安全国家标准 食品安全性毒理学评价程序[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014: 2-4.

[12] BALA N. Strategies for elimination of cyanogens from cassava for reducing toxicity and improving food safety[J]. Food and Chemical Toxicology, 2011, 49(3): 690-693.

[13] 中华人民共和国卫生部. GB 16886.3—2003 医疗器械生物学评价 第三部分: 遗传毒性、致癌性和生殖毒性试验[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008: 3-7.

[14] 孔志明. 环境毒理学[M]. 2 版. 南京: 南京大学出版社, 2004: 196-198.

[15] CARVALHO P L P F D, SILVA R L D, BOTELHO R D M, et al. Nutritional value of root and leaves of cassava for Nile tilapia[J]. Boletim Do Instituto De Pesca Sao Paulo, 2012, 38 (1): 61-69.

[16] 丁晓雯, 李红, 王海燕. 环磷酰胺对蚕豆根尖细胞微核率的影响[J]. 食品科学, 2010, 31(1): 194-197.

[17] 中华人民共和国卫生部. GB 15193.7—2003 小鼠精子畸形试验 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2003: 57-58.

[18] 刘宁, 沈明浩. 食品毒理学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2007: 95, 325.

[19] 国家环保总局. 水和废水监测分析方法: 第四册[M]. 4 版. 北 京: 中国环境科学出版社, 2002: 769-772.

[20] MARCATO-ROMAIN C E, PINELLI E, POURRUT B, et al. Assessment of the genotoxicity of Cu and Zn in raw and anaero- bically digested slurry with the *Vicia faba* micronucleus test[J]. Mut. Res. -Genetic Toxicology and Environmental Mutage- nesis, 2009, 67(2): 113-118.

[21] 陈宏伟, 朱蕴兰, 洪国锦. 虫草多糖对环磷酰胺诱导微核的抑 制作用[J]. 食品与发酵工业, 2005, 31(6): 9-11.

[22] 范雪涛, 马丹炜, 刘爽, 等. 蚕豆根尖微核试验在辣子草化感作 用研究中的应用[J]. 生态环境, 2008, 17(1): 323-326.

[23] 桂明英, 郭永红, 朱萍, 等. 美味牛肝菌致突变作用研究[J]. 食 用菌学报, 2008, 15(2): 42-46.

[24] 王海燕, 丁晓雯, 黄先智. 桑蚕蛹品质及其安全性评价研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2011: 63-65.

[25] 中华人民共和国卫生部. GB 2762—2012 食品安全国家标准 食 品中污染物限量[S]. 北京: 中国标准出版社, 2012: 6.

[26] 王夔. 生命科学中的微量元素[M]. 2 版. 北京: 中国计量出版 社, 1996: 815-849.

[27] LONGFELLOW D. Arsenic: health effects, mechanisms of ac- tions, and research issues.[J]. Environmental Health Perspec- tives, 1999, 107(7): 593-597.

[28] 张波, 孟紫强. 砷的致癌、致畸及致突变作用研究进展[J]. 癌 变·畸变·突变, 1997, 9(2): 2, 66-67.

[29] 冀凤杰, 侯冠斌, 张振文, 等. 木薯叶的营养价值、抗营养因子 及其在生猪生产中的应用[J]. 热带作物学报, 2015(7): 1 355- 1 360.

[30] 杨娟, 丁晓雯, 龙悦, 等. 木薯叶致突变作用研究[J]. 食品工业 科技, 2014, 35(13): 351-354.

(上接第 48 页)

[11] ZHAO Cindy J, KINNER M, WISMER W, et al. Effect of Glutamate Accumulation During Sourdough Fermentation with *Lactobacillus reuteri* on the Taste of Bread and Sodium-Reduced Bread[J]. Cereal Chemistry, 2015, 92(2): 224-230.

[12] SU Yang, YUAN Zhong-hu; QI Xiao-xuan. A Feature Extrac- tion Method of Rolling Bearings Faults based on PCA and Power Spectrum Analysis[J]. International Journal of Advance- ments in Computing Technology, 2013, 5(4): 681.

[13] 公丽艳, 孟宪军, 刘乃侨, 等. 基于主成分与聚类分析的苹果加 工品质评价[J]. 农业工程学报, 2014, 30(13): 276-285.

[14] 武俊瑞, 岳喜庆, 张苗, 等. 东北传统发酵豆酱中游离氨基酸分 析及综合评价[J]. 食品与生物技术学报, 2015(2): 158-164.

[15] LACAZE G, WICK M, CAPPELLE S. Emerging fermentation technologies: development of novel sourdoughs[J]. Food Mi- crobiology, 2007, 24(2): 155-160.

[16] NOVOTNI D, CURIC D, BITUH M, et al. Glycemic index and phenolics of partially-baked frozen bread with sourdough [J]. International journal of food sciences and nutrition, 2011, 62(1): 26-33.

[17] 郑少杰, 任旺, 张小利, 等. 绿豆芽萌发过程中氨基酸动态变化 及营养评价[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(10): 81-86.

[18] VAN Acker B A, VON Meyenfeldt M F, SOETERS P B. Glu- tamine as a key ingredient in protein metabolism [J]. Nederlands Tijdschrift Voor Geneeskunde, 1999, 143 (38): 1 904-1 908.

[19] KARAM L R, SIMIC M G. Formation of ortho-tyrosine by ra- diation and organic solvents in chicken tissue[J]. Journal of Bio- logical Chemistry, 1990, 265(20): 11 581.

[20] PELLETT P L, YOUNG V R. Nutritional evaluation of protein foods[J]. Food & Nutrition Bulletin, 1980, 4: 26-29.

[21] 王道君, 谷大海, 王雪峰, 等. 五种云南野生食用菌中非挥发性的主要呈味物质比较研究[J]. 现代食品科技, 2016(3): 306-312.

[22] CINDY J Zhao, SCHIEBER A, GÄNZLE M G. Formation of taste-active amino acids, amino acid derivatives and peptides in food fermentations-A review[J]. Food Research International, 2016, 89: 39-47.

[23] 马磊, 唐柯, 韩业慧, 等. 贵人香葡萄酒氨基酸含量对产地特征 性贡献的分析[J]. 食品工业科技, 2012, 33(19): 128-133.

[24] 陈蓉, 吴启南, 沈蓓. 不同产地芡实氨基酸组成分析与营养价 值评价[J]. 食品科学, 2011, 32(15): 239-244.

[25] 张国华, 何国庆. 我国不同地区发酵酸面团的菌群组成及差异 研究[C]// 中国食品科学技术学会. 中国食品科学技术学会第 八届年会暨第六届东西方食品业高层论坛论文摘要集. 北京: 中国食品科学技术学会, 2011: 94-95.