

红茶菌致癌作用的实验研究

王玉芝 王鸿荫 刘永珍 高桂兰

在食品的加工、包装、保藏等环节中，有时会受到生物、化学物质等污染，使部分食品含有致癌物质，它对人体健康和生命威胁很大，因此癌症与食品的关系已经引起人们的足够重视和研究。红茶菌是否含有致癌物，是许多人关心的问题，我们采用美国加利福尼亚大学，生化教授 B.V.Ames 提出的鼠伤寒沙门氏菌回复突变试验（简称 Ames 试验），对红茶菌培养液，进行了致癌作用的实验研究，以便为安全饮用提供依据。

实验材料与方法

1. 实验用指示菌株 TA₁₀₀, TA₉₈, TA₁₅₃₅, TA₁₅₃₇, TA₁₅₃₈ 五种，是由美国加利福尼亚大学，生化系 Ames 实验室提供。

2. 实验用样品红茶菌原液，5 倍及 10 倍浓缩液均由北京食品研究所提供。

3. S-9 肝微粒体酶的制备，用多氯联苯诱导雄性大鼠，五天后取其肝脏制成肝匀浆，低温冰箱保存，使用前加入辅酶 II（NADP），6-磷酸葡萄糖等辅助因子，做成肝微粒体酶混合液，为活化酶源。

4. 实验前将红茶菌原液，5 倍及 10 倍浓缩液均用 G5 漏斗处理，以除掉酵母菌、乳酸菌、醋酸菌等。

5. 按 Ames 提出的方法，实验前对五种菌株，进行生物学特性的鉴定，符合标准方用于

畸变，这些细胞畸变率为 12.0% 但是阴性对照组则只占 1.1%。

红茶菌各实验组的染色体畸变率均在阴性对照组范围之内。

小 结

1. 红茶菌原液、5 倍浓缩液及 10 倍浓缩液

实验，实验用菌液为 37°C 静止培养 14~16 小时，浓度为 $1 \sim 2 \times 10^8$ 个/毫升，冰箱保存，可用一周。

6. 回复突变试验，实验分别进行加和不加肝微粒体酶混合液的纸片点试验和平皿渗入试验，试验用不同浓度的红茶菌液为每平皿 0.1 毫升，每次试验均以已知突变物亚硝基胍（MNNG），及 α -氨基苄（ α -AF）作阳性对照，每个试验进行两次，试验中各组均设平行样品，平皿在 37°C 培养 48 小时，观察结果，计算诱变菌落数，诱变菌落数与自变菌落数的比值大于、等于 2 者即为阳性。

实验结果与讨论

1. 纸片点试法实验结果：

实验用 TA₁₀₀ 及 TA₉₈ 两个菌株，不论加 S-9 混合液或不加 S-9 混合液均未见纸片周围密集回变菌落，仅见已知阳性物周围有密集回变菌落（如图一）表明结果为阴性。

2. 平皿渗入法实验结果：

每皿加入红茶菌原液，5 倍、10 倍浓缩液，各 0.1 毫升，五种试验菌株的回变菌落数见表。

不同浓度的红茶菌液及阳性对照物对试验菌株 TA₁₀₀ 的剂量——反应关系如图二。

上述资料表明，红茶菌对五种菌株，诱变菌落数均不超过自变菌落数的 2 倍，表明结果

对小鼠胸骨骨髓细胞微核的诱变反应均为阴性。但阳性多菌灵组则明显高于阴性对照组。

2. 红茶菌各剂量组与对照组比较，骨髓细胞染色体未见明显异常。但是敌枯双阳性组则畸变率明显高于对照组。

根据上述致突变的测定结果可以认为红茶菌不属于潜在性致突变物。

为阴性，阳性致突变物，亚硝基胍，2-氨基蒽，在一定浓度范围内，呈现明显的剂量反应关系，所得结果为阳性。

为确保人体健康，对食品的要求除要有合

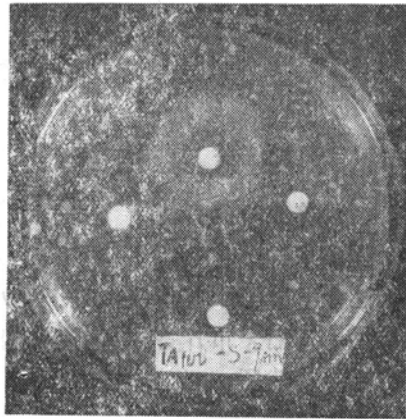


图 1A 亚硝基胍、红茶菌液Ames试验 (-S-9mix) 点试验结果

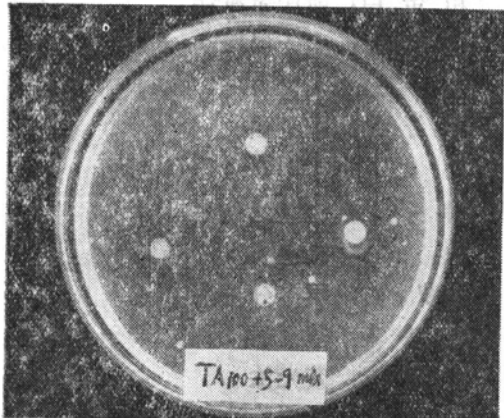


图 1B α-氨基蒽、红茶菌液Ames试验 (+S-9mix) 点试验结果

红茶菌的Ames的试验

菌 株	自发回变 (菌落/皿)	试验皿回变数(菌落/皿)							
		-S- 9 min				+ S- 9 min			
		原液	5 倍	10倍	阳	原液	5 倍	10倍	阳
TA1535	13	14	12	11	1100 ([NG 2 μg)	—	—	—	—
TA1537	8	13	6	7	—	—	—	—	—
TA1538	11	13	10	10	—	—	—	—	—
TA100	115	95	93	114	905 (NG 2 μg)	115	102	82	465 (2-AF10 μg)
TA98	20	19	13	17	1220 (正定5 μg)	19	21	21	645 (2-AF10 μg)

理的营养成分外,还要求无害,因此对食品进行全面的的安全性评价,是食品卫生的重要内容。

近年来国内外广泛采用Ames试验,对食品,食品添加剂,防腐剂,农药以及工业毒物进行致癌性的检测, Ames试验的基本原理是从体细胞突变是癌瘤形成的基础这样一种理论出发的,通过检测受试物的致突变性来判断其致癌性的,突变是指人体细胞内遗传物质的改变,而人体细胞内的遗传物质和细菌的遗传物质,在结构上几乎是相同的,因此Ames用沙门氏菌回复突变来判断受检物质的致癌性,又鉴于绝大多数的致癌物是要经过体内代谢,在肝微粒体酶的作用下,转变为有活性的致癌物,因此Ames试验中加入了肝微粒体酶,使这种平皿试验更接近于体内条件。Ames等人前不久,曾总结了世界各地用沙门氏菌回复突变实验检测的三百余种化学物质的结果,发现158种已知致癌物中,有135种呈现阳性反应,阳性率达85%以上, 106种非致癌物质中,阳性者少于10%, Ames试验是一个较好的、快速、灵敏有效的检测潜在致癌物的方法已被公认。

小 结

本实验,用Ames方法对不同浓度的红茶菌液,进行了加肝微粒体酶和不加肝微粒体酶的点试验及平皿渗入试验,结果均为阴性,依据实验结果可以认为红茶菌未表现出致癌性。

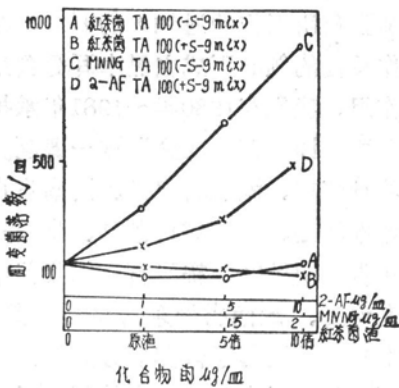


图 2 亚硝基胍, α-氨基蒽及红茶菌的沙门氏/Ames 试验 (剂量—反应曲线)