

九华山麦饭石的毒理学和超微结构研究

余素贞 王家骥

安徽医科大学卫生毒理教研室, 合肥

摘要 本文通过急性, 蓄积, 致突变和致畸等试验, 认为九华山麦饭石浸煮液属基本无毒类, 基本无蓄积作用, 在试验条件下, 所用致突变试验和致畸试验结果均为阴性; 生物活性试验表明其具有促幼鼠生长发育和增加游泳耐力作用; 扫描电镜观察显示为多孔海绵状和藕断面多孔状结构, 认为是吸附作用的结构基础。九华山麦饭石浸煮液能释放多种微量元素, 有较强的吸附功能, 在水质净化, 污水处理等方面有广阔应用前途。同时认为对饮用浸煮液的人和饮用麦饭石分布区水源的居民应作进一步观察。

关键词 急性毒性; 蓄积作用; 致突变; 致畸; 超微结构。

内容提要: 对九华山麦饭石浸煮液进行急性, 蓄积, 致突变试验(包括 Ames 试验, 小鼠体内微核和精子畸形试验), 致畸试验, 生长发育和游泳耐力试验以观察毒理学和生物活性作用, 同时应用扫描电镜(SEM)观察其超微结构。结果表明九华山麦饭石浸煮液属基本无毒类物质, 基本无蓄积作用, 在试验系统中无致畸, 致突变作用, 能增进幼鼠生长发育和增强游泳耐力。SEM 见九华山麦饭石呈多孔海绵状和藕断面结构, 提示表面积增加与其物理吸附功能一致。并对开采和应用中问题进行讨论。

九华山麦饭石是一种古老的矿物药^[1], 此矿物隶属于风化的花岗岩, 系次火山岩形成斑状豆粒石, 现代研究发现它含有多种人体所需矿物质和微量元素, 有较强的吸附能力, 且具有一定的生物活性作用^[2]。在净化水质, 污水处理和提取贵金属方面有广阔前景, 而且目前我国和国外已用麦饭石的浸煮液制备饮料, 为了进一步开发利用, 对其进行了较系统的毒理学试验, 为安全性评价提供必要的依据。

材料和方法

1. 样品处理: 九华山麦饭石 $\phi 1-3\text{mm}$ 烘干取 15g 于蒸馏水中煮沸 15 分钟, 经过滤后定容到 100ml, 此溶液标记为 15% 麦饭石浸

煮液, 按此法配制所需浓度溶液供各试验用, 同时对 10% 浸煮液进行原子吸收光谱等分析, 测定其中 17 种元素含量。

2. 急性毒性实验: 分别使用 ICR 小鼠和 Wistar 大鼠经口一次灌服以及 Wistar 大鼠自由饮用 160% 浸煮液 14 天试验, 各试验组分别设对照组。

3. 蓄积试验: ICR 小鼠 46 只随机分二组, 试验组自由饮用 16% 浸煮液 35 天, 每天计饮水量。

4. 致突变试验: ① AMES 试验参照 Maron 1983 年改进方法^[3], 选用 TA₆₇, TA₆₈, TA₁₀₀ 和 TA₁₀₂ 菌株, 菌株经生物学鉴定合格, 采用预培养法^[4]进行平板掺入试验。肝 S₉ 由 PCB₈ 诱导 SD 大鼠制备, 加和不加 S₉ 试验同时进行, 结果为二次六皿平均值。②微核试验: ICR 小鼠 50 只, 随机分五组, 试验组分别饮用 320%, 160%, 80% 浸煮液, 同时设阳性和阴性对照组。常规制片, 镜下每只动物观察 1000 个多染红细胞, 计算微核出现率。

5. 小鼠精子畸形试验^[5]: ICR 小鼠分三组, 试验组以 150% 浸煮液自由饮用五周, 阳性对照以环磷酰胺 40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 连续五天经腹腔给予, 第五周末取付辜尾制备精子生理盐水混悬液。每只动物观察 1000 个完整精子,

计数畸形精子数和畸形类型。

6. 致畸试验^[6]: 使用北医大提供 Wistar 大鼠 55 只孕鼠随机分四组, 试验组于孕 6-15 天分别自由饮用 160, 80% 浸煮液, 阳性对照于孕 9-11 天经口给乙酰水杨酸 250μg/kg, 每日记饮水量, 每窝各取 1/2 胎鼠分别做内脏和骨骼检查。

7. 生物活性试验: ① 小鼠生长发育试验, ICR 小鼠 30 只, 随机分二组, 试验组给予 40% 浸煮液自由饮用 16 天, 对照组给予冷开水, 每二天称体重一次, 每日称饮水量。② 小鼠游泳耐力试验; C₅₇ 小鼠 33 只分二组, 试验组饮用 80%, 320% 浸煮液, 对照组给

予冷开水, 壹周后于 20℃ 恒温水中进行游泳耐力试验。

8. 扫描电镜观察: 先将样品烤烘, 取疏松易剥离, 易折断的和坚硬不易折断剥离的小粒麦饭石, 手工或以工具沿解离面剥离, 取剥离面或自然折断面为观察面, 在 S-430 扫描电镜下观察。

结果

1. 10% 浸煮液原子吸收光谱分析: 见表 1 检出人体内含有的多种常量和微量元素, 其中 Na/K 比值为 1.806, 对人有害的 Pb, Cr, Cd, As, Ni 和 Hg 未检出。

表 1 10% 九华山麦饭石浸煮液元素溶出含量

元素	Cu	Zn	Mn	Fe	Ca	Mg	K	Na	Li	Sr	Si	Cr	Pb	Cd	Ni	As	F	H
PPM	0.011	0.011	0.02	0.19	4.5	0.1	0.31	0.56	0.002	0.002	1.69	-	-	-	-	-	0.12	-

2. 急性毒性试验: 小鼠 LD₅₀ > 15g 浸煮液/Kg, 大鼠 LD₅₀ > 16g 浸煮液/Kg, 大鼠 14 天喂养日剂量达 150g 浸煮液/Kg 所有动物均未发现异常。

3. 蓄积试验: 所有动物无异常, 平均饮水量约 9.6ml/日·只, 两组差异无显著, 染毒日剂量达 768g 浸煮液/Kg。

4. 致突变试验: (1) AMES 试验: 见表 2, 所有试验液在加或不加 S₉ mix 条件下, 结果均无致突变性, 阳性对照有明显致突变性。(2) 微核试验: 见表 3, 阳性和阴性对照组微核率分别为 6.24% 和 1.50% 差异有非常显著性, 各试验组微核率分别为 1.9%, 1.2% 和 1.1% 与阴性对照组比较差异无显著性。

5. 小鼠精子畸形试验: 实验组, 阴性组和阳性组精子畸形率分别为 1.27%, 1.23% 和 6.27%, 阴性与阳性对照组比较差异有非常显著性, 试验组与阴性组比较差异无显著性。

6. 大鼠致畸试验: 二试验组对孕鼠体

重增长, 胚胎生长发育如活胎数, 死胎, 吸收胎和胎鼠皮下出血; 胎鼠生长发育如胎鼠身长, 体重, 尾长以及胎鼠骨化程度, 外观, 骨骼和内脏畸形等与阴性对照组比较差异均无显著性。阳性对照组与阴性对照组相比除孕鼠体重增长指标, 其他各指标差异均有显著性, 可见脊柱裂, 多肋 (87.71%), 肋融合 (14.29%), 还见肋骨分叉, 变形, 脊椎骨粉碎化, 颈椎骨增多等畸形。

7. 生物活性试验: 见表 4, 表 5; 麦饭石浸煮液可促进雄性幼鼠生长发育和增强游泳耐力。

8. 扫描电镜观察: 呈表面凹凸不平多孔海绵状结构和藕断面样结构, 后者出现在沿解理面剥离的晶面上, 多见大小不一的孔, 孔径约 40μ, 最小孔径刚能分辨, 大于 3.5μ 的各种孔内壁上均见有较密的凸出于内壁的圆拱形突起及小孔, 电镜下这种丰富多样, 奇突不平的形貌为解释九华山麦饭石的物理吸附和化学吸附作用提供结构基础。

表 2 九华山麦饭石浸煮液Ames试验结果

	TA ₉₇		TA ₉₈		TA ₁₀₀		TA ₁₀₂	
	Rt/RC	诱变性	Rt/RC	诱变性	Rt/RC	诱变性	Rt/RC	诱变性
S ₉ -								
40%	0.99	-	1.02	-	0.95	-	0.92	-
80%	0.98	-	1.13	-	1.00	-	1.20	-
160%	0.92	-	1.38	-	1.01	-	0.93	-
320%	0.97	-	1.11	-	0.93	-	1.11	-
敌克松 50μg/ml	9.80	+	39.50	+	14.56	+	5.54	+
S ₉ +								
40%	0.93	-	1.17	-	0.93	-	0.92	-
80%	0.93	-	1.45	-	1.10	-	0.85	-
160%	0.93	-	1.25	-	1.06	-	0.94	-
320%	0.77	-	0.97	-	0.93	-	0.87	-
2AF 20μg/ml	4.39	+	12.57	+	3.47	+	-	-
MMC 5μg/ml	-	-	-	-	-	-	3.72	+

表 3 九华山麦饭石对小鼠骨髓细胞微核试验结果

组 别	动物数	嗜多染红细胞数	微核细胞数	微核出现率% X ± SD	P
空白对照组	10	10 000	624	62.4 ± 4.24	-
环磷酰胺组 100mg/kg	10	10 000	15	1.5 ± 0.48	<0.001
80%浸煮液	10	10 000	19	1.9 ± 0.43	>0.05
160%浸煮液	10	10 000	12	1.2 ± 0.33	>0.05
320%浸煮液	10	10 000	11	1.1 ± 0.31	>0.05

表 4 麦饭石对小鼠游泳耐力的影响

组 别	动物数 只	体重 X ± SDg	持续游泳时间 均数 中位数	P
80%浸液组	11	22.4 ± 1.10	41'52" 37'15"	P < 0.01
320%浸液组	11	22.9 ± 1.50	44'39" 19'55"	P < 0.01
空白对照组	11	22.6 ± 1.62	29'27" 15'05"	

表 5 麦饭石浸煮液对雄性幼鼠生长发育的影响

组 别	动物数 (只)	平均体重 g		净增重	增长率%
		实验前 X ± SD	实验后 X ± SD		
空白对照组	15	11.03 ± 1.34	17.97 ± 2.20	6.63 ± 1.50	61.0
40%浸煮液	15	11.03 ± 1.33	19.58 ± 3.32	8.55 ± 2.27	78.0*

* P < 0.05

(下转第26页)

用以及更加深入的研究

参考文献

1. Matter B. and Schmid W. Treminon-induced chromosomal damage in bone marrow cells of six mammalian species evaluated in the micronucleus test. *Mutat Res* 1971; 12: 417-425
2. Heddle JA. A rapid in vivo test for chromosomal damage. *Mutat Res* 1973; 18: 187-190
3. 汪晶, 等. 利用培养的人发毛囊观察多环芳烃人体代谢差异的研究进展. *癌变畸变突变* 1990; 2(2): 44-50
4. Heddle JA and Countryman PI. The Production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human

lymphocytes. *Mutat Res* 1976; 41: 321

5. 洪贤康, 等. 人体毛囊培养技术的发展和应. *遗传与疾病* 1987; 3(4): 155-157
6. Vermorken AJM, et al. Hydroxylation of dehydroepiandrosterone in human scalp hair follicles. *Br J Dermatol* 1979; 100: 693
7. Kuroki T, et al. Metabolism of benzo(a)pyrene in epidermal keratinocytes and dermal fibroblasts of human and mice with reference to variation among species, individuals, and cell types. *Cancer Res* 1982; 42: 1859.
8. 李百祥, 等. 冷烫精的致突变效应. *卫生毒理学杂志* 1988; 3(2): 172-149
9. 宋春华, 等. 巯基乙酸的经皮毒性及诱变性研究. *工业卫生与职业病* 1990, 3(10): 145-148

(上接第33页)

讨论

麦饭石矿属风化的花岗岩, 分布于地壳表面的局部地理环境中, 不同开采点, 虽然麦饭石的主要成份相似, 都是硅铝酸盐, 但微量成份有差别, 这些差别来自各方面如开采点成岩的地理条件不同, 会出现高氟, 低硒, 低碘等地质环境; 岩石风化程度不同所致的未风化或风化过度, 过度风化会吸附大量环境污染物; 工业三废和农药对该开采点造成的污染程度不同, 以及颗粒大小, 溶液酸硷度等。这些差异使麦饭石浸煮液的成分改变与开采点的上述因素密切相关, 王广仪^[7]等曾比较九华山麦饭石与内蒙中华牌和天津蓟县麦饭石的水和醋酸浸出液成份, 发现九华山麦饭石浸出液Pb低于中华石, Na/K比值较后者低而可溶性硅较后者高。所以在开发, 使用麦饭石资源时, 要重视以上各影响因素, 制定质量检测指标, 严格把关。

研究发现麦饭石不但能释放多种微量元素而且具良好吸附功能。九华山麦饭石对

水, 醇中重金属, 对水中氰化物, 余氯, 有机氯农药有显著吸附作用, 对重金属的吸附似于离子半径有关, 离子半径大的Pb, Cd, Ag, Au等吸附率高, 对人体必需元素Zn, Mn, Co, Sr等吸附率低。本试验在扫描电镜下发现九华山麦饭石呈多孔海绵状结构和藕状断面, 表面积被大大增加, 为解释结构和吸附功能的统一提供物质结构基础。

参考文献

1. 李时珍. 《本草纲目》石部, 卷十. 1590; 569
2. 刘振业, 等. 麦饭石与微量元素及其生物效应的实验研究. 第三届全国微量元素与健康学术讨论会. 1980; 10, 杭州
3. Maron DM, Ames BN. *Mut Res* 1983; 113: 173
4. 矢作多贵江. 旦白质, 核酸, 酵素1975; 20-1178
5. Wyrobek Aj, et al. *Mut Res* 1983; 115: 1-148
6. 工业毒理学实验方法编写组, 工业毒理学实验方法. 上海科技出版社, 1979; 245-248
7. 王广仪等. 安徽化工 1989; 增刊: 241.

DETECTION OF RETINOID ACID INDUCED DIFFERENTIATION OF HUMAN PROMYELOCYTE CELL HL-60 WITH BrdU PROBE

Li Chi-yuan, Hu You-chiu,
Cancer Research Institute, Hunan Medical University

This experiment was designed to obtain direct evidence of human promyelocyte cell line HL-60 differentiation induced by retinoid acid (RA). Exponential growing cells were exposed to BrdU for 6 hours and then were treated with RA for 5 days. As a thymidine analogue, BrdU was incorporated into S-phase cells, the distribution and percentage of BrdU in various kinds of cell nucleus were detected by immunohistochemistry with anti-BrdU monoclonal antibody.

The results showed that all the BrdU-labeled cells were promyelocyte in the RA-untreated cells. After treated with RA for 5 days, more than 21% BrdU-labeled cells were differentiated into bandshaped and polymorphonuclear cells. Since these cells were at terminal differentiation and were not able to synthesize DNA, the detected BrdU in their nuclei was derived from unmaturing labeled S-phase cells. Moreover, the nitroblue tetrazolium (NBT) reducing ability of the RA treated cells was increased when compared to that of the untreated cells.

The growth curves of the RA treated cells further suggest that RA inhibits HL-60 cell growth.

In summary, this experiment provides evidence in vitro of differentiation of BrdU labeled cells into mature granulocytes. RA not only induces differentiation, but also exerts inhibitory effect to the growth of HL-60 cells.

TOXICOLOGICAL AND ULTRASTRUCTURE RESEARCH REPORT OF JIU HUA-SHAN MEDICAL STONE

She Su-Zhen, Wang Jia-ji

Dept. of Health Toxicology, Anhui Medical University, Hefei, 230032

Acute, cumulative, toxicity, teratogenic test, mutagenicity test (including Ames test in TA97, TA98, TA100, TA102 strains of *Salmonella Typhimurium*, micronucleus, sperm morphology assay) and swimming endurance test in mice were used to study the toxicities and biological activity of the extract of Jiu Hua-Shan medical stone. We also observed its ultrastructure by SEM. The result showed that the extract of Jiu Hua-Shan medical stone was a generally non-toxic material with weakly cumulation. It did not

induce mutagenicity and teratogenesis in the experimental systems. Biological activity test showed this extract may improve growth and swimming endurance of mice. By ultrastructurally there were porous spongiform and lotus roots' cross-sectional structures to make areas large increased and it could explain its strong physical adsorption.

PLACENTAL TRANSFER OF INORGANIC MERCURY IN RAT

Yang Wen-xiu, et al.

Senyang Medical College

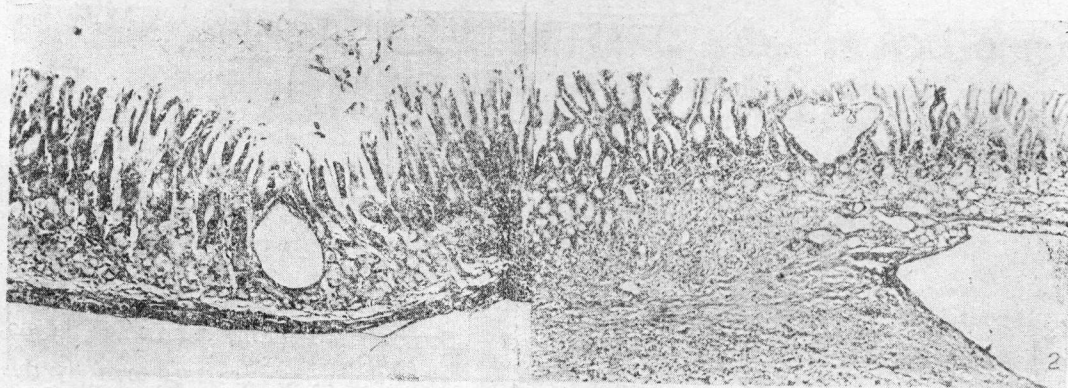
To clarify the maternal-fetal transfer of inorganic mercury across the placenta, concentration of mercury in maternal blood of rat, placental blood and fetal blood as well as pathological changes of placental tissue were determined.

The pregnant rats were divided into 4 experimental groups randomly. Mercuric chloride (0.15, 0.30, 0.60mg/Kg) and distilled water were injected into the pregnant rats daily within 7-16d.

the results showed that there were positive correlation between the concentration of mercuric chloride in maternal and placental (or maternal and fetal, placental and fetal) blood in every dose group. A clear dose-response relationship was indicated in every samples. The pathological changes showed the structure of trophoblast and blood sinus were destructed.

It may be concluded that mercuric chloride reaches the transplacental route.

中国胃癌高发县鱼露的致突变/致癌性研究(正文见第13页)



1. 实验第四周, 亚硝化鱼露组大鼠胃粘膜出现不典型增生, H.E染色, $\times 90$;

2. 实验第16周, 亚硝化鱼露组大鼠胃出现腺瘤, H.E染色, $\times 55$