

食品添加剂论文集

全国食品科技情报中心站
北京食品添加剂开发中心

目 录

- 食品安全性毒理学评价程序 (试行) (1)
- 每日容许摄入量的确定 北京医科大学付教授宋国菊 (5)
- 对毒理实验中短期筛选试验的评价 北京医科大学付教授宋国菊 (6)
- 生产和使用新的食品添加剂的审批手续
卫生部食品卫生监督检验所付研究员高鹤娟 (13)
- 国外食品添加剂情况 化工部规划局尤泳伟 (14)
- 天然色素的开发 北京市食品研究所高级工程师戴行钧 (33)
- 食用色素及其发展趋势 天津轻工业学院食品工程系讲师刘志象 (37)
- 乳化剂在食品中的应用 中国人民大学付教授姜汝涛、助教张万福 (48)
- 氨基酸及肽类甜味剂的发展状况 北京大学化学系付教授李崇熙、研究生李力红 (66)
- β -胡萝卜素的国外应用情况及国内发展前景
北京市制药工业研究所工程师吴蕙琦 (74)
- Ames试验的改进及其在食品添加剂毒性鉴定中的应用
北京市化工局职防所毒理室许小平等 (78)
- 对发展我国食品添加剂的建议 天津轻工业学院食品工程系教授薛春祺 (84)
- 香肠助色剂的试验研究 中国人民大学黄梅丽、王丹辉、肖红 (86)
- 食品添加剂- β -环糊精的毒性 军事医学科学院徐桂芬、石庭森 (92)
- 面包防腐剂-丙酸钙实际应用试验 总后勤部军需研究所李国斌 (100)
- 聚甘油脂肪酸酯在食品中的应用 清华大学讲师丛进阳 (104)
- 国外淀粉及变性淀粉在食品工业中的应用
北京市营养源研究所高级工程师陈佑才 (109)
- 吡嗪类化合物-食品增香剂 清华大学付教授方一梅、讲师李淑贞、讲师杨增家 (110)
- 加牛磺酸的牛乳 北京市食品工业研究所高级工程师吴兴如 (115)
- 面包添加剂的配方研究 北京市食品添加剂开发中心成文 (116)
- 甘油脂肪酸酯的合成研究及应用 北京市食品添加剂技术开发中心成漪文、周明霞 (122)

食品安全性毒理学评价程序(试行)

前 言

当前直接应用于食品的化学物质(如食品添加剂)以及间接与食品接触的化学物质(如农药残留以及生产、加工、运输、销售、保藏等过程中的污染物)日益增多。世界上市售的化学物质已达50,000种以上,每年估计有700~1000种新的化学物质进入市场。其中食品添加剂估计有2,500种。人类长期接触这些化学物质后可能引起的毒性以及致畸和致癌作用已引起广泛的重视。为了保障广大消费者的健康,对于直接和间接用于食品的化学物质进行安全性评价是极为重要的任务。

国外有不少关于毒理学评价程序的建议,也有少数国家在这方面作出了统一的规定。然而,也有人不同意死地规定试验程序,认为这样会限制新的试验方法的发展。考虑到在目前我国的具体情况下,技术力量和水平都有限,任务又很繁重,制定一个统一的安全性毒理学评价程序,将有利于推动此项工作的开展,也便于将彼此的结果进行比较。

目 的

为我国食品安全性毒理学评价工作提供一个统一的评价程序和各项实验方法,为制定食品添加剂的使用限量标准和食品中污染物以及其他有害物质的允许含量标准提供毒理学依据。

适 用 范 围

- 一、使用于食品的化学物质,包括食品添加剂和食品生产、加工中使用的物质。
- 二、食品生产、加工、运输、销售和保藏等过程中产生的有害物质和污染物,如农药残留、重金属和霉菌毒素等以及包装材料的溶出物。
- 三、新食物资源及其成份。
- 四、食品中其他有害物质。

总 则

在评价一种物质的安全性时,应全面考虑以下几方面的因素,以进行综合评价:

- 一、化学结构:往往可以根据化学结构预测其毒性。
- 二、理化性质和纯度:试验样品必须符合既定的生产工艺、配方和理化性质,其纯度应与实际应用的相同。需要鉴别其毒性作用系该物质本身的作用,还是杂质的作用,或进行其

他特殊试验时可用纯品。必要时应考虑杂质的毒性。

三、人的可能摄入量：除一般人群的摄入量外，还应考虑特殊和敏感人群（如儿童、孕妇）的摄入量。

四、人体资料：由于存在着动物和人之间的种属差异，在将动物试验结果推论及人时有很多困难；所以，应尽可能收集人体接触受试物后的反应资料，如职业性接触和意外事故接触等。志愿受试者体内的代谢资料对于将动物试验结果推论及人具有重要意义。

五、动物毒性试验和体外试验资料：即本程序（试行）所列的各项试验。虽然这些试验有不少缺陷，但是是目前技术水平下能得到的最重要的资料，也是进行评价的主要依据。

六、代谢试验的资料：

代谢研究是对化学物质进行毒理学评价的一个重要的方面。不同化学物质在代谢方面的差别，往往对毒性作用的影响很大。虽然在毒性试验中一般不可能要求与人具有相同代谢途径的动物种系来进行试验，但是研究受试物在实验动物和人体内的吸收、分布、排泄和转化方面的差别，对于将动物试验的结果比较正确地推论及人具有重要意义。虽然目前多数单位在开展代谢试验的技术和条件方面确有困难，还不能要求对所有受试物都进行全面的代谢研究；但应尽量创造条件，争取逐步开展这方面的工作，并使之完善化。

七、综合评价：在进行最后评价时，必须在受试物可能对人体健康造成的危害以及其可能的有益作用之间进行权衡。其结果往往不仅取决于科学试验的资料，而且与当时的科学水平以及社会、政治因素息息相关。因此，随着时间的推移，很可能结论也不同。

对于已经在食品中应用于相当长期的物质，对接触人群进行流行病学调查具有重大意义；但往往难以获得剂量和效应关系方面的可靠资料。对于新化学物质，则只能依靠动物试验和其他实验研究资料。但是，必须牢记根据动物试验的资料来推算可能危害人体健康的接触量是不十分可靠的。此外，必须了解即使有了完整和详尽的动物试验资料的一部分人类接触者的流行病学研究资料，由于人类的个体差异，也很难作出能保证每个人的安全的评价。所谓绝对的安全实际上是不存在的。在具有上述的材料，进行最终的评价时，应全面权衡其利弊和实际可能，从确保发挥该物质的最大益处以及对人体健康和环境造成最小的危害的前提出发作出结论。

在试验得到阳性结果，而且结果的判定涉及受试物能否应用于食品时，为了慎重起见，往往需要考虑结果的重复性和剂量与效应关系。在结果有争议或本程序规定的第三或四阶段试验中出现阳性结果时，需由有关专家进行评议，以决定是否需要重复试验。

八、对任何化学物质的评价都是在一定时间条件下进行的，随着情况的不断改变和研究工作的不断进展而需要修改。对已通过评价的化学物质，至少每隔五年需要组织有关专家进行重新评定。

毒理学评价程序

本程序包括四个阶段，即急性毒性试验，蓄积性毒性、致突变和代谢试验，亚慢性毒性（包括繁殖、致畸）试验，慢性毒性（包括致癌）试验。

凡属我国创制的新化学物质，一般要求进行四个阶段的试验。特别是对其中化学结构提示有慢性毒性和/或致癌作用可能者，或产量大、使用面广、摄入机会多者，必需进行第四阶

段试验。同时，在进行急性毒性、90天喂养试验和慢性毒性（包括致癌）试验时，要求用两种动物。

凡属与已知物质（指经过安全性评价并允许使用者）的化学结构基本相同的衍生物，则可根据第一、二、三阶段试验的结果，由有关专家进行评议，决定是否需要进行第四阶段试验。

凡属我国仿制的而又具有一定毒性的化学物质，如多数国家已允许使用于食品，并有安全性的证据，或世界卫生组织已公布日许量（每人每日允许摄入量、ADI）者，同时我国的生产单位又能证明我国产品的理化性质、纯度和杂质成份及含量均与国外产品一致，则可先进行第一、二阶段试验。如试验结果与国外相同的产品一致，一般不再继续进行试验，可进行评价。如评价结果允许用于食品，则制定日许量。凡在产品质量或试验结果方面与国外资料或产品不一致，应进行第三阶段试验。

第一阶段：急性毒性试验

目的：一、了解受试物的毒性强度和性质；二、为蓄积性和亚慢性毒性试验的剂量选择提供依据。

试验项目：一、用霍恩氏（HORN）法机率单位法或寇氏法，测定经口半数致死量（LD50）；二、七天喂养试验。以上两个项目均分别用两种性别的小鼠和/或大鼠。

结果判定：一、如LD50或七天喂养试验的最小有作用剂量小于人的可能摄入量的10倍者，放弃，不再继续试验；

二、如大于10倍者，可进入下一阶段试验。为慎重起见，凡LD50在10倍左右时，应进行重复试验，或用另一种方法进行验证。

第二阶段：蓄积毒性、致突变和代谢试验蓄积毒性试验：

目的：了解受试物在体内的蓄积情况。

试验项目：一、蓄积系数法。用两种性别的大鼠或小鼠，各20只；二、二十天试验法。用两种性别的大鼠或小鼠，每个剂量组雌雄各10只，以上两种方法任选一种。

结果判定：一、蓄积系数（K）小于3，则放弃，不再继续试验；K大于或等于3，则可进入以下的试验；

二、如1/20LD50组有死亡，且有剂量——效应关系，则认为有较强的蓄积作用，予以放弃；如1/20LD50组无死亡，则可进入以下的试验。

致突变试验：

目的：对受试物是否具有致癌作用的可能性进行筛选。

试验项目：

一、体外试验：AMES试验为必做项目。

二、整体试验：

（1）微核试验和骨髓细胞染色体畸变分析试验中任选一项；

（2）显性致死试验和睾丸生殖细胞染色体畸变分析试验中任选一项。

结果判定：一、如三项试验均为阳性，则表示受试物很可能具有致癌作用，除非受试物具有十分重要的价值，一般应予以放弃；

二、如其中两项试验为阳性，则由有关专家进行评议，根据受试物的重要性和可能摄入量等，综合权衡利弊再作出决定；

三、如其中一项试验为阳性，则再选择两项其他致突变试验（包括体外培养淋巴细胞染色体畸变分析、DNA修复合成、DNA合成抑制、姐妹染色单体互换试验等）。如此两项均为阳性，则应予以放弃；如有一项为阳性，则可进入亚慢性毒性试验；

四、如三项试验均为阴性，则可进入亚慢性试验。

代谢试验：

对于我国创制的化学物质，在进行最终评价时，至少应进行以下几项代谢方面的试验：一、胃肠道吸收；二、测定血浓度，计算生物半衰期和其他动力学指标；三、主要器官和组织中分布；四、排泄（尿、粪、胆汁）。有条件时，可进一步进行代谢产物的分离、鉴定。对于国际上多数国家已批准使用和毒性评价资料比较齐全的化学物质，可暂不要求进行代谢试验。对于属于人体正常成份的物质可不进行代谢研究。

第三阶段：亚慢性毒性试验

目的：一、观察受试物以不同剂量水平较长期喂养，对动物的毒性作用性质和靶器官，并确定最大无作用剂量；二、了解受试物对动物繁殖及对子代的致畸作用；三、为慢性毒性和致癌试验的剂量选择提供依据；四、为评价受试物能否应用于食品提供依据。

试验项目：一、90天喂养试验；二、喂养繁殖试验；三、喂养致畸试验；四、传统致畸试验。用两种性别的大鼠和/或小鼠。前三项试验可用同一批动物进行。关于喂养致畸和传统致畸试验的选择，可根据受试物的性质而定。任何一种致畸试验的结果已能作出明确评价时，不要求作另一种致畸试验。但在结果不足以作出评价时，或有关专家共同评议后认为需要时，再进行另一种致畸试验。

结果判定：如以上试验中任何一项的最敏感指标的最大无作用剂量（以毫克/公斤体重计）：一、小于或等于人的可能摄入量的100倍者，表示毒性较强，应予以放弃；二、大于100倍而小于300倍者，可进行慢性毒性试验；三、小于或等于300倍者，则不必进行慢性试验，可进行评价。

第四阶段：慢性毒性（包括致癌试验）试验

目的：一、发现只有长期接触受试物后才出现的毒性作用，尤其是进行性或不可逆的毒性作用以及致癌作用；二、确定最大无作用剂量，对最终评价受试物能否应用于食品提供依据。

试验项目：将两年慢性毒性试验和致癌试验结合在一个动物试验中进行。用两种性别的大鼠和/或小鼠。

结果判定：如慢性毒性试验所得的最大无作用剂量（以毫克/公斤体重计）：一、小于或等于人的可能摄入量的50倍者，表示毒性较强，应予以放弃；二、大于50倍而小于100倍者，需由有关专家共同评议；三、大于或等于100倍者，则可考虑允许使用于食品，并制定日许量。如在任何一个剂量发现有致癌作用，且有剂量与效应关系，则需由有关专家共同评议，以作出评价。

本程序由中华人民共和国卫生部公布，并委托中国医学科学院食品卫生检验所负责解释和说明。

附件：

- （1）实验动物和饲料
- （2）急性毒性试验方法

- (3) 蓄积毒性试验方法
- (4) 致突变试验方法
- (5) 亚慢性毒性试验方法
- (6) 致畸试验方法
- (7) 慢性毒性(包括致癌试验)试验方法
- (8) 制定食品中化学物质日许量(ADI)的方法
- (9) 各项毒性试验所需费用的参考标准

每日容许摄入量的确定

北京医科大学 付教授 宋圃菊

一、每日容许摄入量(简称日许量, ADI), 即人类每日摄入该受试物直到终生, 对健康无任何毒性作用或不良影响的剂量, 一般以人体每公斤体重的摄入量(毫克)来表示, 是制定食品添加剂和食品中有毒物质的卫生标准的重要资料和依据。

日许量是根据动物毒性试验得出该受试物的最大无作用剂量来制定的。所谓最大无作用剂量就是通过最敏感的动物品种, 在亚慢性(包括繁殖试验)或慢性毒性试验中所得到的以最敏感指标来衡量也不可能产生任何有害影响的最大剂量。由于受试物对不同种动物的毒性作用存在着种间差异, 为安全起见, 在制定日许量时设想人可能比最敏感的动物更为敏感。此外, 在人类中亦存在着个体差异。同时在广大人群中还有特别敏感的人群如孕妇、儿童。另外就动物毒性试验本身而言, 任何阶段的试验无论在试验期限上或反应毒性的指标上都有一定的局限性, 故所谓无作用剂量, 只是在一定的试验条件下的结果。鉴于以上种种原因, 将动物试验所得的受试物的最大无作用剂量换算成为人体日许量时, 必须考虑将最大无作用剂量缩小若干倍, 即所谓安全系数。根据经验估计一般将安全系数定为100。

二、人体日许量的计算方法:

人体日许量(毫克/公斤体重) = 动物的最大无作用剂量(毫克/公斤体重) × 1/100

例: 某受试物通过慢性毒性试验的最大无作用剂量为5毫克/公斤体重, 以安全系数为100计, 则该受试物的人体日许量为:

$$5 \text{ (毫克/公斤体重)} \times \frac{1}{100} = 0.05 \text{ (毫克/公斤体重)}$$

三、制定日许量的注意点:

1. 在动物毒性试验中所测得最大无作用剂量或无作用剂量, 其可靠性依赖于试验方法的灵敏度, 因而受试物的最大无作用剂量会随科学的发展、试验方法灵敏度的提高而改变的。日许量也应随之而得到修订。

2. 安全系数一般定为100, 是根据种间差异约10倍、个体差异约10倍定出来的(10 × 10 = 100)。这个值是以毒理工作者经验为依据估计出来的, 所以应用时应根据具体情况而适当调整。如毒性试验的资料比较完善, 代谢试验证明该受试物参予人体正常代谢过程, 其安全系数可小一些; 反之, 若动物试验资料不足, 并怀疑有毒性, 又一时找不到代用品, 安

全系数可大于100。

3. 如将所得最大无作用剂量(为ppm)换算成毫克/公斤体重时,须根据试验动物在试验期间的进食量来计算。大鼠在断乳后到成本期间,每鼠每日进食量约为其体重的10%;成年以后一般为5%。为安全起见100天试验应以5%来计算。

对毒理实验中短期筛选试验的评价

北京医科大学 付教授 宋圃菊

现在世界上使用着大量化学物质,每年又有许多新化学物质进入市场。这些物质存在环境中,与人体接触。这些物质是否对人体有害?可否致畸、致突变或致癌?如果对所有的这些物质做传统的致癌动物实验是不可能的。因为每个物质即使进行最常用的大白鼠致癌试验,需时二至三年,花费的人力和物力都很多。而已使用的化学物质就有几十万种。所以近年来世界上都在应用及发展短期试验用以筛选化学物质,以检测致突变性及致癌性。

一、短期筛选实验的用途及优点

1. 主要用来筛选大量人群接触的新化学物质

近年来由于应用短期筛选,所以有些物质是先发现致突变性然后做诱癌实验证实。如食品添加剂AF-2,氨基酸高热产物Trp-p-1、Trp-p-2,染发剂,二氯乙烷,二溴乙烷等。

2. 提供动物实验不能提供的毒理资料

如农药克菌丹在不活化时Amel实验为阳性,活化后为阴性,槲皮黄酮亦如此。提供经口进入人体被灭活,对人体危害性考虑更有实际意义。

3. 快速检查混合物,如废水、废气、天然食品中致突变原或致癌原。阳性结果则优先考虑分离、鉴定等。阴性则在有可能和必要时再进一步试验。

4. 用于大量人群监测 如人尿、外周血淋巴细胞、精子的检查等。

5. 主要优点:省时间、省人力、省物力、省资金、省样品。

许多管理机构已把短期实验列为必须的或推荐的毒理实验方法。职业安全与健康局(Occupational Safety & Health Administration, OSHA)已用来做为工作场所的致癌物的分类的依据,做政策决定的一部分。环境保护局(Environmental Protection Agency, EPA)做为管理化学致突变物和废弃物的部分依据。一些专家委员会(Scientific Committee of the Food Safety Council, 1979; Consumer Protect Safety Commission, 1977; Subcommittee on Environmental Mutagenesis, 1977)及国防委员会如International Commission for Protection Against Environmental Mutagens and Carcinogens (ICPEMC), WHO及Commission of European Communities等都在把短期实验做为评价致癌或致突变的化学物质的方法,并对方法使用做了规定。

这方面的工作进展很快,实验方法甚多。必须对近来应用的或正在发展的方法作系统评价,以帮助决定在肿瘤和遗传有害物政策中哪些短期实验在什么程度已可做为慢性实验的附加的标准方法,也可决定哪些实验方法组的设计是完整的,以及将资料加入到常用的动物实验中去。

二、短期试验分类

1. 用原核 (Prokaryotic) 微生物、噬菌体的实验

①用细菌；②用噬菌体和DNA转化。

2. 用真核 (Eukaryotic) 微生物实验

①用酵母；②用曲霉；③链孢霉 (Neurospora)。

3. 用哺乳动物细胞培养

①用哺乳动物细胞的致突变实验

②DNA修复和阻止DNA复制

③体外转化

4. 用昆虫实验

①果蝇：性连锁致死突变方法 (SLRL test)

②其他昆虫实验

5. 整体动物实验

6. 细胞遗传实验

①体内染色体畸变研究

②体外染色体畸变研究

③体内姊妹染色单体交换

④体外姊妹染色单体交换

⑤微核实验

还应包括：用植物实验，促癌实验、宿主间介生化实验。

也有按测试系统本身分类，如分为三类：1. 微生物；噬菌体——真菌，多数资料由细菌得来；2. 哺乳细胞体外实验；3. 多细胞；动物或植物（如果蝇、家蚕）。

三、用短期致突变试验检测致癌性的根据

1. 致突变物多数有致癌性，有的物质先发现致突变性，后又做动物实验证明了致癌性。如N-甲基-N-硝基-N-亚硝基胍于1960年发现为强致突变物，1966年又报告为致癌物，食品防腐剂AF-2也是如此，1965年日本允许使用，1972年发现致突变性，1974年经动物实验证明有致癌性。在这以前曾报告对大鼠无致癌性。

2. x线、紫外线、 γ 射线虽不是化学物质，但同时也有致癌和致突变作用。

3. 致癌物中多数有致突变作用。如4-硝基喹啉-1-氧化物类物质原来认为只是致癌物，现在多数已证明有致突变性。Ames实验结果证明除少数致癌物外，大多数同时又是致突变物。

4. 多数致癌物及其代谢产物可使DNA发生变化。如NDMA经酶作用脱甲基可使鸟嘌呤7位碳上甲基化。

5. DNA损伤或修复障碍的细胞易于癌变，如前所述致癌物可使DNA发生各种损伤，先天性DNA损伤、修复障碍者都易发生癌变。

6. 多数致癌物能引起染色体畸变，如AFTB₁，亚硝基胍、亚硝基胍等致癌物都可引起染色体畸变（突变的一种表现）。

四、必需进行一套（或一组）短期筛选试验

多数作者主张作一套实验或一组实验。没有任何一个测试系统能测出所有的致突变物质

或致癌物质。其理由主要是因为：

1. 化学物质种类、结构多种多样，致癌和致突变机理不同，有的通过损伤DNA而致癌，但对细菌不诱变，如农药杀虫脒；有的引起染色单体交换，但不损伤DNA，如氯仿。因此某一种测试系统不可能测试所有物质。

2. 有的化学物质在某种测试系统中为弱阳性，易于漏检。如DMNA在Ames常规实验即为弱阳性，实际为强致癌物。如改进Ames实验加前保温则提高阳性程度。

3. 前致癌原或前致突变原须活化才出现活性，各种测试系统活化条件不同，也可影响出现阳性结果。S₉制取时如诱导剂不同也影响活性。

选择一套（一组）实验的原则：

1. 接触人群的面大小，危害程度；接触人群的面大、广泛的，如食品添加剂、农药接触所有人群，应选择项目全一些。还特别要考虑对后代的遗传作用。

2. 体内外实验尽量互为补充；不能只做体外实验；体细胞和生殖细胞互为补充（如骨髓和外周血染色体及肝血微核试验为体细胞试验，精子畸形试验、显性致死试验、睾丸染色体试验为生殖细胞试验）；低等微生物和人类细胞互为补充。

3. 短期实验尽量选用不同损伤即不同作用终点（如点突变、染色体畸变、DNA损伤修复、细胞转化等），不要选择同种损伤的几个实验。

4. 试验结果假阳性率要低，以免因此而需要做一系列的实验，此点很重要。但试验假阴性率也要低，以免因此而漏检。

5. 阳性结果的物质应放弃不用如食品添加剂等。工农业生产必须使用的或自然的成分和长期动物（诱癌）实验结合起来考虑。

现在鉴定化合物的致癌性或致突变性一般采取的程序是：化合物结构分析（与已知的具毒性、致突变性和致癌性的物质比较，如杂色曲霉毒素与AFB₁相似，多环芳烃、环氧化物、烷化剂都有致癌性。氯甲基甲醚衍生物根据其结构从使用的400余种化学物质中抽出，后鉴定为致癌物）→一组（一套）短期筛选实验→整体动物实验→人群流行病学调查（如糖精、有机氯农药，职业病），再考虑如何制定标准。

五、常用致突变实验方法

1. 微生物检测法：

最常用、最完善的是Ames提出的用鼠伤寒沙门氏菌检测的方法，此类方法快速、经济，预测效果满意，是目前快速筛选化学致癌物的首选方法。国外已有100多个实验室用它检测了近千种各类化学物质。它的使用价值和可靠性已有肯定的评价。

其他用于筛选化学致癌物的微生物方法还有大肠杆菌修复试验，用有修复酶和缺乏修复酶的菌株。如受试的化学物质损伤DNA，则缺乏修复酶的菌株不能生长，比较两菌株的相对生存率可得出结果。Zimmerman用啤酒酵母筛选化学物质，此法是利用啤酒酵母有丝分裂的重组现象。

微生物诱变方法是很好的筛选方法。具有快速、经济的优点。并已证明约有85%的致癌物为诱变物，其中包括亚硝基化合物、烷化剂、多环芳烃、真菌毒素、芳香胺、氯乙烯等。Ames还检查了106种非致癌物（动物实验阴性），测定结果有10%以下也有诱变作用。这些也可能对人类有危害，或是潜在的致癌物。由这些结果可以看出致癌和致突变有一定的相关性。

微生物诱变试验也有一定局限性。对一些金属致癌物和物理因素是否能检出是个问题。其次它不能代替动物实验，因为体外实验不能准确地代表体内代谢、激活、解毒、分布及排出的过程；此外细菌的突变并不能完全等于癌变。所以不能把这种方法看成是哺乳动物的致癌试验。当然微生物试验还是目前国外应用很广泛的一种快速筛选化学物质的方法，值得我们推广和应用。

2. 显性致死实验

本法是观察受试物质使雄性动物的精子在受试物作用下发生致死性突变引起胚胎死亡的情况，以计算物质的致突变系数。

雄性大鼠或小鼠自断奶后开始给受试物，剂量一般为受试物的最大无作用剂量，必要时可增加最高和最低剂量组。至少给三个月使动物达性成熟期。用一雄鼠与不给受试物质的三只雌鼠交配一周，一周后另换一批雌鼠，共交配四周（小鼠）或五周（大鼠）。每批动物分别代表精子发生的不同阶段。在精子发生过程中这五周最易出现突变作用。

交配后的雌鼠在受孕第十三天（由交配中期即该周的第三或第四天算起）剖腹，记录其总着床数、早期胚胎死亡数、晚期胚胎死亡数。大鼠可延迟1至2天解剖。按公式计算及评价。

3. 染色体畸变分析法

已知大多数诱变剂同时也有诱发染色体畸变的能力，而且染色体畸变的检测比较简单，因此，染色体畸变用作突变检测方法之一。本法又可分为体内法和离体法二种。二种方法的观察指标都是这样一些染色体畸变：分裂中期象的染色体数、染色单体的裂隙、断裂和互换、染色体的互换、着丝粒的移动和消失等；分裂后期象的消失着丝粒的断片、架桥、多极细胞等。

实验原理为外周血白细胞几乎全部处于细胞周期的G₀期，在体外用植物血球凝集素（PHA）刺激，并在适当的温度下培养53—72小时，淋巴细胞可进入细胞增殖周期，用适量秋水仙素终止细胞分裂，即可获得大量有丝分裂中期细胞。再经低渗、固定、制片、染色，显微镜下可观察到良好的淋巴细胞染色体中期分裂相。若受试物有细胞遗传学毒性，则可见染色体有各种畸变效应。除外周血外尚可做睾丸染色体、骨髓染色体畸变分析。

本实验可独立进行，也可结合动物急性、亚急性、慢性实验进行。

4. 哺乳类动物及人类培养细胞检测法

哺乳类动物和人类培养细胞接近于人类，所以其结果可能更有意义。其实验原理与上述微生物检测方法相似。现已应用的细胞株有中国地鼠卵巢细胞、小鼠白血病细胞、人类成淋巴细胞等。

5. 精子畸形实验

精子畸形是指精子形状改变和畸形精子数量增多。

一般采用小鼠，连续给毒5天。第一次给毒后35天从附睾采样。每只小鼠检查完整精子500只。同时做阳性及阴性对照。

精子畸形可有头部无钩、香蕉形、无定形、胖头、双头；尾部可有尾折迭及双尾等。

本实验需时较短、简单、经济。整体动物体内给毒，可测出化学物质对精子的损伤。精子发生过程对致畸形较敏感。精子畸形试验阳性的都是致癌物。非致癌物都为阴性。

6. 微核试验

微核是由染色体断裂遗留下来的断片。由于物理、化学和生物因素损伤，无着丝点的染

色单体或染色体断片在细胞分裂后期，仍然遗留在细胞质中，末期之后，单独形成一个或几个次核，包含在子细胞质中，比主核小得多，故称微核。

为了易于鉴别，多在无核的嗜多染红细胞中观察。因它的主核已排出，容易辨认微核。微核自发率低，在骨髓中数量多。

多用小白鼠，也用大白鼠等哺乳动物。一次或二次给毒后适宜时间采样。每只动物观察2000个嗜多染红细胞。同时做阳性和阴性对照。

本实验需时短、简便、不需特殊试剂及设备，易于辨认，不需高深的遗传学知识。微核自发率低，种间差异小。

上面简单介绍了食品安全性毒理学评价程序中短期筛选试验的首选的几个试验。首选的试验尚有DNA修复合成试验（或称程序外DNA合成），也是个很有前途、国外应用较广的方法。由于需液体闪烁计数器，故未介绍，本文的介绍只给大家提供简单概念。详细方法参阅有关书籍或评价程序的附件。

六、食品添加剂的问题

食品添加剂是在食品生产加工、储存过程中，为改善食品的感官性质，增加食品的颜色、味而添加的色素、香精、味精、食用酸、糖精；为防止食品腐败变质而加入的防腐剂、抗氧化剂；为提高某些食品质量而添加的疏松剂、乳化剂、漂白剂、增稠剂等。

我国允许使用的食品添加剂共14类，199种。其中包括配制各种香精的香精单体140种。最近品种又有增加。此外，尚有为增加食品营养价值而添加的各种易缺乏或不足的营养素，称为强化剂，如制钙奶饼干的钙盐、强化饮料的维生素C以及维生素A、铁以及某些氨基酸等。这些虽未列入食品标准内，但也应属于添加剂。添加剂和污染物不同，添加剂是有意识有目的添加到食品中的。

由于使用添加剂，发生过许多危害群众健康的事例。如日本曾允许使用AF-2（呋喃糖酰胺）作为食品防腐剂，后发现该物质可致突变和致癌，因此禁用。国外曾用来做为人造奶油着色剂的奶油黄，因以后发现可诱发动物肝癌而不用。硝酸盐、亚硝酸盐做为肉类制品的发色剂使用，但可在肉制品中形成致癌性亚硝基化合物。所以食品添加剂对人体健康影响以及和人体肿瘤关系尚需进行一些工作。现仅将几个较为重要的添加剂讨论如下。

（一）糖精：糖精是我国允许使用的唯一的人工甜味剂。糖精也是使用历史最长的人工甜味剂，是世界上使用最广泛的人工甜味剂。美国一个国家1977年生产及进口糖精350万公斤，其中约83%，即290万公斤用于食品，其他的用于药品及化妆品等。糖尿病人需要无糖饮食及体重过重病人减体重时都需应用。其甜度相当蔗糖的300至500倍。由于糖精在水中溶解度低，故使用在水中溶解度高的糖精钠盐，即糖精钠。六十年代以前认为糖精是安全的。在体内不代谢，不改变酶活性，由肾脏原形排出。也曾有人做动物实验，当时认为无明显不良影响。

但近年来对糖精的毒性，尤其致癌性问题引起很大争论。现简单将近期做的一些工作做些介绍。

动物实验：许多实验用几个谱系的大鼠或小鼠进行一代的各种剂量的研究，都未能证明糖精或其盐类有致癌性。用地鼠及猴也进行过实验，结果也无致癌性。如1973年有人给小白鼠0.02、1.0或5%糖精，每组雌雄各50只，喂21个月，肿瘤发生率无明显差别。有人用0.1或5%糖精钠喂小鼠两年，糖精钠中含有杂质邻甲苯磺酰胺为每公斤345毫克，但其肿瘤发

病率亦无明显差别。

但1979年有人用75只雄性大鼠，50只雌性大鼠，将糖精钠置饮水中喂给动物，其剂量为每公斤体重每天2克，糖精钠含邻甲苯磺酰胺为每公斤698毫克。另一组实验为雌雄各75只，糖精钠加到饲料中，但剂量加一倍。另有不加糖精钠的对照组。两年实验时，在存活鼠中未吃糖精的对照组52只雄鼠中有1只患肿瘤，46只雌鼠中9只有肿瘤。饮水中有糖精的实验组（每天每公斤体重2克），71只雄鼠中11只有肿瘤，44只雌鼠中10只有肿瘤。饲料中有糖精（每天每公斤体重4克），70只雄鼠10只有肿瘤，68只雌鼠7只有肿瘤。实验组都比对照组的动物患肿瘤多，但统计上雌性动物无显著性差别。有人曾给大鼠终生含5%糖精饲料，结果膀胱良性及恶性肿瘤都比未吃糖精的动物发生率高。

除此之外，还有三个观察两代的动物实验，即第一代大鼠从离乳期吃含糖精饲料，第二代动物在母体内即已接触糖精，出生后终生再吃糖精。在这三个实验中第二代的雄性大鼠的膀胱肿瘤发病率都明显高于没有吃糖精的对照组动物。

有的实验还证明糖精能促进已知致癌物如甲基亚硝基胍的肿瘤发生率和缩短肿瘤发生的潜伏期。

因为人类已多年把糖精做为甜味剂食用，尤其是糖尿病人广泛使用，所以也进行了不少人群调查，希望了解食用糖精是否和人肿瘤有关。但直到目前为止，尚不能得出肯定而明确的结论。

多数调查报告认为食用糖精与人类肿瘤发病无关。其中包括从使用糖精以来的肿瘤发病情况；食用糖精的糖尿病人；患膀胱癌的病人和健康人食用糖精情况的对比的调查。这些调查结果都未能说明食用糖精和肿瘤发病有关系。但也有少数调查结果认为糖精可能与膀胱肿瘤发生有关。如1977年加拿大有人做病例对照研究，膀胱癌男性480人，女性152人，对照为相同性别、年龄相近、住在同一地区的健康人，结果认为男性吃糖精增加了患膀胱癌的危险性，对女性则无明显关系。还曾有人考虑食用糖精和胰腺癌发病可能有关。

总之，糖精的致癌性问题可能是研究工作做得最多的，但目前仍未得出统一的最后结论。一些国家禁用糖精，有许多国家仍允许使用。世界卫生组织规定的每人每日允许摄入量为每公斤体重0~2.5毫克。我国规定允许使用糖精，可用于冷饮、果汁、蜜饯类、配制酒、酱菜、糕点、饼干和面包。最大使用量为每公斤0.15克。糖精对人毫无营养价值，应该尽量不用或少用。婴幼儿食品中不应使用。

(二) 环己氨基磺酸盐：这也是一种人工甜味剂，国外曾与糖精混合使用。1970年以来，因有的大小鼠实验结果引起膀胱癌增高而被禁用。但在恒河猴及地鼠实验中并未得出增加肿瘤发生的结论。

(三) 人工合成色素：对一二甲基氨基偶氮苯（DAB），由于可溶于油、呈黄色，所以曾称为奶油黄，用于人工奶油的着色。但早已有许多实验证明可引起大鼠肝癌，并有很明显的剂量反应关系。狗口服可引起膀胱肿瘤。如给小鼠注射，则注射部位能引起纤维肉瘤，有的还发生肝肿瘤。由于有这些情况，所以已经禁止用于食品着色。

人工合成色素多数为用煤焦油为原料制成，故称为煤焦色素或苯胺色素。这类色素对人有有害作用之一，即可能有致癌问题。如我国及许多国家允许使用苋菜红，原来曾认为是很安全的色素，但后来经口给大鼠苋菜红的实验，曾能引起大鼠肠系膜淋巴肉瘤、腹膜和肠道肉瘤、乳腺癌、肝肿瘤、表皮瘤及皮脂腺瘤等，但这些实验中有的每组动物数太少，如有的只

是雌雄各 5 只；有的所用的苋菜红纯度很差，只含纯苋菜红 65~75%。有的动物实验也未能证实苋菜红能诱发肿瘤。所以目前尚不能肯定认为苋菜红就是致癌的。不过 1972 年世界卫生组织及粮农组织的食品添加剂委员会已将每人每日允许摄入量由每公斤 0~1.5 毫克降为 0~0.75 毫克，降低了一半。

油橙 SS 也是某些国家允许使用的食品色素，我国未曾使用。油橙 SS 经口或皮下注射给小鼠，则可发生肠道良性或恶性肿瘤。如膀胱内植入此色素，则能诱发良性和恶性膀胱肿瘤。美国原来允许做为食品、药品及化妆品的色素，1956 年不允许在食品中应用，1963 年药品及化妆品中亦不得使用。

从减少对人类危害的原则出发，人工合成色素应尽量减少用量，能不用就尽量不用。有的国家如意大利许多食品和饮料的色泽都是天然的，用加入果料、菜料等调色，而不靠加入人工色素。

(四) 二丁基羟基甲苯 (BHT) 和丁基羟基茴香醚 (BHA)：这两种都是我国允许使用的抗氧化剂。油脂或含油脂多的食品在储存过程中由于氧化而使油脂或食品的气味和味道变坏，即所谓油脂酸败，俗称变“酸”或“哈喇”。加入抗氧化剂则可防止油脂酸败。BHT 和 BHA 曾经被认为是安全的抗氧剂而使用。还曾报告过二者都有抑癌作用。但最近有用小鼠做的动物实验认为 BHT 使肺肿瘤发病高，但是无剂量反应关系，就是肿瘤发生率没有随着剂量加大而增高。后又发现 BHT 能促进其他致癌物的诱癌作用，因此认为 BHT 有促癌作用。

最近也有人怀疑 BHA 也有致癌作用，但目前证据尚不足。曾有一些实验认为 BHA 能阻断几种化学致癌物的诱癌作用。因此尚应继续深入做这方面的研究工作。

食品添加剂不是营养物质，除动植物来源的或强化剂外，多数不是食品的自然成分，除了上述有关肿瘤的问题外，有些添加剂还能引起毒性反应、过敏反应、蓄积毒性等问题。有人还怀疑人工合成食品色素和儿童多动症有关。有的食品添加剂，如亚硝酸盐在体内能合成致癌性的亚硝基化合物。根据这些情况，我们主张食品中能不用人工合成添加剂的尽量不用，能少用的尽量少用。在必须使用时必须严格按照食品卫生标准的规定去做。

七、实验过程安全问题

1. 由于有些致癌及致突变物质是挥发性的故这些实验操作都应在通风柜中进行。致癌及致突变物的标准液放在冰箱中低温保存，减少挥发引起的空气污染。

2. 操作过程中应戴胶皮手套。如果手套沾上致癌及致突变物液体时，必须立即更换，因有的致癌及致突变物能透过胶皮手套。

3. 抽取致癌及致突变物标准液时，应在磁盘内进行，减少污染面积，万一有溅出时，便于处理。

4. 所有原液或固体的包装应有明显标记，如标明“致癌物”、“无适当措施勿动”等。应封好，并放入密闭容器，再放入冰箱。

5. 所有致癌物、致突变物应用减重法称量。

6. 使用高浓度的致癌物和致突变物时，其用量、使用人及日期应有记录。操作人员要熟悉致癌物及致突变物的性质及处理措施。

7. 所有操作人员应知道如何预防污染及去除污染的安全知识。操作时要小心谨慎，不谈笑。

8. 使用及拿取沙门氏菌及其他微生物:

如果摄入鼠伤寒沙门氏菌,可引起腹泻和食物中毒。鼠伤寒沙门氏菌LT2是各试验菌株的母株,其致病力不太强,世界各地遗传学家都使用。标准试验菌株相对无害,因深粗糙型(rfa)突变降低了致病力。gal菌株也相对无害,因缺乏毒力所需的形成脂多糖复盖层的半乳糖操纵子。TA98、TA100、TA97和TA102菌株中的PKM101质粒带着抗氨基青霉素标记应属危险性最小。质粒在自然肠群内极其普遍,而且从医院的沙门氏菌中分离出的大多抗药性转移因子(RTF)质粒含有许多对抗生素的基因。然而,为了常规预防沙门氏菌,应使用塞棉花的吸管,凡污染沙门氏菌的任何用品应先高压消毒,然后再洗擦或抛弃。实验室的凳子应常规用强清洁剂擦拭,再用70%酒精擦拭。存放致病菌和沙门氏菌的冰箱内不应保存食品。还要注意沙门氏菌须远离小白鼠喂养处。

9. 禁止在实验室内存放任何生活用品,更不能放食品或饮料,不能在实验室进食或饮水或吸烟。

10. 发生偶然事故应及时报告,并按照规定去除污染,事后要写书面记录。

生产和使用新的食品添加剂的审批手续

卫生部食品卫生监督检验所 付研究员 高鹤娟

根据食品添加剂卫生管理办法第二条规定“食品添加剂系指在食品生产、加工、保藏等过程中所加入和使用的化学合成或天然物质。这些物质在产品中必须不影响食品营养价值,并具有防止食品腐败变质,增强食品感官性状或提高食品质量的作用。鉴于有些食品添加剂具有毒性,应尽可能不用和少用,必须使用时应当严格控制使用范围和使用量。”这里所说的作用,就是我们下面所说的使用效果。

研制一种新的食品添加剂,必须考虑使用效果与安全性,两者缺一不可。如果没有使用效果,最安全也不能成为食品添加剂;如果不安全,即使效果最好也不能使用。那么要研制一种新的食品添加剂,要经过怎样的审批手续呢。

根据食品添加剂卫生管理办法第五条规定“生产和使用新的食品添加剂时,应由生产和使用单位及其主管部门提出生产工艺、理化性质、质量标准、毒性试验结果、使用效果、食品使用范围和使用量等有关资料。省、市、自治区的主管和卫生部门提出意见,由全国食品添加剂标准化技术委员会审查,报国家标准总局审核批准。”根据食品卫生法规定,批准权限改为卫生部。

第一步,根据上述规定,提出下述三方面资料,报请省、直辖市、自治区主管和卫生部门审查。

(一) 生产单位提出生产工艺、理化性质、质量标准(小试产品能达到的标准,以后批量产品也能达到),同时列出国外同类产品标准以资比较,其质量应不低于国外规定或接近于国外规定,并应列出最近期的参考文献。

(二) 使用部门提出使用效果报告：使用在什么食品上，使用最低量是多少，效果是什么。

(三) 毒性试验报告：包括LD50，致突变试验，致畸试验，亚慢性试验，必要时包括慢性试验。如该产品为FAO/WHO联合专家委员（JECFA）已制订ADI值或ADI值不需制订的品种，质量又能达到国际标准，要求做LD50及一项致突变试验即可。要列出近期的ADI值及参考文献。如JECFA未建立ADI值，要根据毒性试验结果提出ADI值。

对于食品用香料，凡属世界卫生组织已建议批准使用或制定ADI值以及美国香料生产者协会（FEMA）、欧洲理事会（CDE）和国际香料工业组织（IOFI）中的两个或两个以上组织允许使用的香料，国内可以使用，如需验证时，一般只要求进行急性毒性试验，然后参照国外资料或规定进行评价。

第二步：生产单位或使用单位的主管部门将上述三方面资料综合说明打一份报告，并附上上述三方面资料作为附件，请当地省、直辖市、自治区卫生主管部门根据收到的报告及附件进行审查。审查毒性试验报告是否完整，是否符合要求，如仿制品其质量标准是否符合国际（指FAO/WHO）或国外先进国家的水平；然后审查使用范围和使用量是否超过ADI值；如超过ADI值不能同意使用。审查结果如毒性试验报告完整，使用效果良好，使用量各种食品总计也不超过ADI值，质量标准也比较先进，把上述三方面资料作一扼要说明，提出本单位审查意见，连同原有的三方面资料附件，报卫生部及全国食品添加剂标准化技术委员会审查，由卫生部批准后方可作为食品添加剂使用。

第三步：生产厂如能保证产品质量稳定，符合资料（一）的质量标准，可提出申请生产该种食品添加剂的临时生产许可证。经省、直辖市、自治区主管机关会同卫生主管部门、商业部门、工商行政部门共同审查，认为该厂的生产设备、技术力量、环境卫生情况，符合生产食品添加剂的条件，可发给临时生产许可证，先制订地方标准或企业标准进行生产。待颁布国家标准后才能发给正式生产许可证。生产厂必须保证所生产的食品添加剂逐批检验，合格后方可出厂。未经批准的工厂，不得生产食品添加剂，食品加工厂不得使用未经批准的工厂生产的产品作为食品添加剂，即使该产品符合国家标准也是非法的。

国外食品添加剂情况

化工部规划局 尤泳伟

随着食品工业的发展，食品添加剂的应用范围越来越广，食品添加剂的种类也越来越多。在这方面，美国和日本目前处于世界领先地位。我国的食品添加剂在使用范围和品种数量上远不及美国和日本等一些发达国家。随着我国国民经济的发展，人民生活水平的日益提高，必将对传统的食品结构提出新的要求，这种要求必将促使食品添加剂迅速发展。为了尽量多了解一些国外这方面的情况，以适应新形势的到来。本文收集了一些美国食品添加剂使用方面的情况，主要有酸味剂、甜味剂、磷酸盐及其它一些添加剂。

一、酸味剂

酸味剂是食品添加剂的一个重要组成部分，在美国广泛地用于各种食品和饮料。酸味剂除了能为食品提供酸味以外，还可作为防腐剂、抗氧化剂、 pH 值的调节剂、金属离子螯合剂、胶凝剂及用作食品面粉改良剂。

美国酸味剂主要用于碳酸饮料、固体饮料、非碳酸饮料（如果汁饮料）、果酱、糖果、水果罐头及葡萄酒等方面。在上述这些食品和饮料中，消耗酸味剂最多的是液体饮料和固体饮料。它们是酸味剂的主要市场。

酸味剂的品种很多，但目前在美国经济上可行的酸味剂主要是柠檬酸、磷酸、苹果酸、富马酸、乳酸和酒石酸（见表1）。现分别介绍于下。

1. 柠檬酸

柠檬酸是功能最多、用途最广的酸味剂，它有较强的溶解度，对金属离子的螯合能力强、具有令人愉快的气味及极低的毒性。所以它广泛地被用来作为食品和饮料的调味剂、防腐剂、 pH 值的调节剂及抗氧化剂的增效剂。美国食品管理局将柠檬酸及其它的铜、钾、钙盐类列为符合“GRAS”（Generally recognized as safe）标准的食品添加剂。

饮料（包括固体饮料）是柠檬酸的主要消耗市场。其量占作为酸味剂的柠檬酸总量的75~80%。柠檬酸和它的钠盐广泛地用于碳酸饮料。在这些用途中，柠檬酸主要作为调味剂和防腐剂，它能为饮料调节酸味，螯合饮料中有害的微量金属离子，还能使饮料发出清凉的气味，并能延长二氧化碳对饮料的碳化作用。柠檬酸也用于非碳化的水果饮料，作为 pH 的调节剂以控制非碳化饮料的酸度在允许范围内变化。所有这些用途中，在液体饮料中，柠檬酸的使用浓度一般在0.25~0.4%的范围内。而在固体饮料中，由于不同饮料的速溶性和固有的酸味不一，所以柠檬酸的使用浓度在1.5~5%的范围内变化。另外，罐头水果饮料也是柠檬酸的很大市场。

柠檬酸也用于糖果，其作用首先是提高糖的水果味，提供适度的酸度，同时也能防止糖份结晶，防止各种成分的氧化。

柠檬酸用于葡萄酒中以控制酒中的酸含量。将柠檬酸作为铁离子的螯合剂用于葡萄酒的量在美国已随着不锈钢在酿酒设备中大量应用而逐步减少。估计在美国用于葡萄酒的柠檬酸的量不会再有大的变化。

柠檬酸也用于冷冻食品，通过它的螯合作用和对 pH 值的调节功能来提高抗氧化剂的活性，降低酶的活性以使冷冻食品的稳定性达到最佳状态。在冷冻水果的处理过程中，用1~2%的柠檬酸溶液来中和用碱液去果皮的过程中剩下的碱（这些碱液会破坏维生素C）。柠檬酸可使有害的微量金属离子失活以保护水果中的维生素C，可使水果的 pH 值下降，致使氧化酶失活。柠檬酸和D-erythorbic acid或它的钠盐的混合物可以用于许多种水果，以防止水果由于氧化而引起的变色、变味。柠檬酸单独使用或与erythorbic acid一起使用，可以防止鱼类腐败。海味在进入冷库前，一般要浸入0.25%的柠檬酸和25%的erythorbic acid或它的钠盐的混合溶液中进行处理。

柠檬酸用于罐头蔬菜和水果以降低其 pH 值，这样可以降低热处理的温度，使罐头尽可能地保持原味；通过对微量金属元素的螯合作用（这些金属元素可能促进酶的氧化反应的进行）来提高抗氧化剂防止罐头蔬菜和水果变色变味的能力。在美国，罐头蔬菜中的西红柿，