

# 嗜硷性芽孢杆菌硷性蛋白酶的研究

## III. 产品的急性毒性及微核试验

葛曼丽 虞秀珍\* 李纯德\*

(南京铁道医学院医学科学研究所, 南京 210009)

邱 秀 宝

(中国科学院微生物研究所, 北京 100080)

**摘要** 为了解嗜硷性芽孢杆菌 (*Bacillus basophilus*) 硷性蛋白酶用于洗涤剂中的安全性, 对该酶进行了急性毒性及微核试验的研究。结果表明, 嗜硷性芽孢杆菌硷性蛋白酶由小鼠经口剂量达 10g/kg 时, 未见动物死亡; 小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验, 未见微核率有异常增加。所以, 认为嗜硷性芽孢杆菌硷性蛋白酶可广泛应用于洗涤剂中。

**关键词** 嗜多染红细胞; 微核率; 嗜硷性芽孢杆菌 (*Bacillus basophilus*); 硷性蛋白酶

硷性蛋白酶主要应用于加酶洗衣粉, 但其品种单一<sup>[1]</sup>, 不能满足目前酶制剂厂及洗涤工业的需要; 也不能满足常温洗涤用酶的需要。中国科学院微生物研究所研制了嗜硷性芽孢杆菌硷性蛋白酶, 该酶为土黄色粉状物, 其活性不受 EDTA 和 SDS 的影响<sup>[2]</sup>, 溶于水, pH 在 10.5—11 时稳定。此酶用于加酶洗衣粉, 去污力比一般洗衣粉高 10—13 倍, 适合常温洗涤, 常温染色<sup>[3]</sup>, 它还具有较好的脱毛作用, 现已广泛用作皮革脱毛剂。

本文报道用急性毒性及微核试验方法, 对嗜硷性芽孢杆菌硷性蛋白酶使用的安全性所作的初步探讨。

## 材 料 与 方 法

### (一) 材料

样品: 嗜硷性芽孢杆菌 (*Bacillus basophilus*) 硷性蛋白酶, 由中国科学院微生物研究所

\* 本院卫生系卫生毒理学教研室

提供。

实验动物: 体重为 18—22g 的健康昆明种小鼠, 由本院动物房提供。

## (二) 方法

1. 急性毒性试验: 20 只小鼠, 雌雄各半, 随机分成两组, 以双蒸水为溶剂, 将嗜硷性芽孢杆菌硷性蛋白酶配成浓度为 200mg/ml 的溶液。空腹灌胃, 经口分两次给予嗜硷性芽孢杆菌硷性蛋白酶溶液, 间隔时间为 3 小时, 剂量达 10g/kg, 观察一周。

2. 骨髓嗜多染红细胞微核试验: 将小鼠分为五组, 每组 8 只, 雌雄各半。设 2000mg/kg、1000mg/kg 和 500mg/kg 三个剂量组, 双蒸水为阴性对照, 80gm/kg 的环磷酰胺 (CP) 为阳性对照。经口染毒两次, 间隔 24 小时, 第二次染毒后 6 小时颈椎脱臼处死小鼠, 取胸骨骨髓制片、固定、吉姆萨染色。在油镜下每只小鼠观察 1000 个嗜多染红细胞 (PCE), 并记录其中含微核的嗜多染红细胞数 (MNPCES)。

## 结果与讨论

1. 急性毒性试验: 嗜硷性芽孢杆菌硷性蛋白酶由小鼠经口灌胃后, 观察 7 天, 未见动物死亡。试验结果表明, 嗜硷性芽孢杆菌硷性蛋白酶由小鼠经口灌胃  $LD_{50} > 10g/kg$ , 参照外来化合物急性毒性分级标准, 本品属基本无毒。

表 1 嗜硷性芽孢杆菌硷性蛋白酶微核试验结果

组别	剂量 (mg/kg)	动物数 (只)	PCE (个)	MNPCEs (个)	微核率 (%)
蒸馏水		8	8000	12	1.50
嗜硷性芽孢杆菌硷性蛋白酶	2000	8	8000	19	2.38
	1000	8	8000	11	1.38
	500	8	8000	12	1.50
环磷酰胺	80	8	8000	508	63.50

2. 骨髓嗜多染红细胞微核试验: 选择细胞分散、形态完整、染色良好的部分, 按一定顺序进行嗜多染红细胞及微核计算, 求出有微核的 PCE 数, 以千分率表示。由表 1 可见, 三个试验组的微核率分别是: 2.38‰、1.38‰、1.5‰, 经方差分析,  $q$  检验结果提示三个试验组分别与阴性对照组相比均无显著性差异 ( $P > 0.05$ ); CP 组与阴性组微核率之间有非常显著性差异 ( $P < 0.01$ ), 说明对照组符合试验要求。此试验结果阐明嗜硷性芽孢杆菌硷性蛋白酶未引起细胞染色体或纺锤体的损伤。

综上所述, 我们认为嗜硷性芽孢杆菌硷性蛋白酶作为洗衣粉的添加剂或脱毛剂是可以被广泛应用的。

## 参考文献

1. 邱秀宝等: 微生物学报, 30(2): 129, 1990.
2. 陈淑润, 关连爽: 微生物学报, 18(3): 166, 1991.
3. 页© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>