

# AS 2. 1207 及 Y-17 石油蛋白对动物的安全性的初步试验

曾缙祥 刘季科 李俊荣 戴克华

(青海省生物研究所, 西宁)

我国石油资源丰富, 用石油作为碳源生产石油蛋白, 自无产阶级文化大革命以来, 在我国蓬勃地开展起来。用石油蛋白做家畜、家禽及鱼类的补充饲料是很有前途的。欲把石油蛋白用于蛋白质饲料, 并进一步补充人类蛋白质食品不足, 除大规模生产要解决工艺过程外, 特别要解决安全性(毒性)的问题, 即要选择适用的石油原料与食用菌种, 改进石油蛋白的加工工艺等, 以使之无毒。

利用动物对石油蛋白进行安全性试验, 国外曾以净化液体石蜡为原料生产的石油蛋白对实验动物、家畜、家禽及鱼类做过饲养试验, 来研究其安全性, 并已做为饲料应用<sup>[1-4]</sup>。国内, 关于石油蛋白的安全性试验, 尚未见到正式报道。

AS 2. 1207 (即 716 菌种) 和 Y-17 是我国目前生产石油蛋白较好的酵母菌种, 其工艺流程亦日趋完善。上海市卫生防疫站、北京市卫生药品检验所曾分别对

该二菌种和液体石蜡原料做过小白鼠急性中毒试验,均未发现中毒症状。在此基础上,我们于1972—1973年,对该二菌种以正构烷烃为碳源生产的石油蛋白做了一些动物的慢性安全性试验,现将所得结果提出初步报道,供有关方面参考。

一、材料与方法

本试验所使用的 AS 2. 1207 及 Y-17 石油蛋白分

别由中国科学院微生物研究所、北京发酵工业研究所和上海酵母厂提供。实验动物为健康的青紫蓝家兔和小白鼠。全部试验分二部分:

(一)家兔安全性试验

试验分组、各组石油蛋白含量及饲料组成见表 1。  
每组家兔 5—6 只,雌雄比例为 3:2 及 3:3,共饲养 120 天。试验结束时测定各项生理指标,并逐个进行病理剖检及组织学观察。其测定指标为

表 1 家兔饲料组成

饲料组成(%) 组别	对 照 组	10% 组	20% 组	30% 组	糖蜜酵母对照组
石 油 蛋 白	—	10	20	30	—
糖 蜜 酵 母	—	—	—	—	20
小 麦 麸	53	44	35	26	35
燕 麦	20	15	10	10	10
玉 米 粉	10	10	10	10	10
鱼 粉	17	10	5	—	5
氯 化 钠	3	3	3	3	3
骨 粉	3	3	3	3	3
青饲料(克/日)	500	500	500	500	500
粗 蛋 白 质 (%)	20.03	20.07	20.08	20.07	20.08

1. 体重生长变化,以试验结束体重与开始时体重之差做为生长的指标。

2. 红、白细胞数量的测定,以红、白细胞稀释液按规定标准稀释后,用改良牛鲍氏(Neubauem)计算板进行计算。

3. 血清酚四溴酞钠(BSP)排泄试验 以了解肝脏对这种染料的吸收、排泄和功能破坏的情况,从而判断肝细胞有无损伤,正常家兔的滞留率一般低于 10%。试验时,按每公斤体重 15 毫克酚四溴酞钠的剂量从家兔一侧耳静脉注入,45 分钟后,从对侧耳静脉抽血 3 毫升,用 581 型光电比色计进行比色,再从标准曲线上查得样品内酚四溴酞钠滞留量的百分率。

4. 非蛋白氮(N.P.N.)的测定 这是肾功能检查的重要项目之一,在动物中毒而发生慢性肾炎及其他肾脏病变都使血中非蛋白氮的含量增高,血液中非蛋白氮的变动范围介乎 20—40 毫克%。此试验以比色法测定已消化的血液滤液中的氮量,再按非蛋白氮毫克/100 毫升 =  $\frac{\text{标准读数}}{\text{测定读数}} \times 0.015 \times \frac{100}{0.5}$  的公式进行计算。

5. 病理剖检 主要内脏器官相对重量以器官系数计算<sup>[2]</sup>。

$$\text{器官系数} = \frac{\text{内脏器官重(克)}}{\text{体重(克)}} \times 100\%$$

6. 病理组织学检查 取新鲜胃、肝脏、肾、脾组织固定于 10% 甲醛溶液中,以石蜡包埋、切片,用 E.H. 染色,进行病理组织学观察。

(二)小白鼠繁殖试验

用 60 日龄健康的成年小白鼠进行饲养,观察繁殖情况,其分组、各组石油蛋白含量及饲料组成见表 2。

表 2 小白鼠饲料组成

饲料组成(%) 组别	对照组	10% 组	20% 组	30% 组
石 油 蛋 白	—	10	20	30
鱼 粉	18	12	6	—
小 麦 麸	57	48	41	33
小 麦 粉	10	10	10	10
玉 米 粉	12	12	12	12
氯 化 钠	1.5	1.5	1.5	1.5
骨 粉	1.5	1.5	1.5	1.5
粗 蛋 白 质 (%)	21.35	21.65	21.55	21.55

每组动物 7—8 只,其雌雄比例为 4:3 和 4:4,共饲养 280—300 天,其繁殖按同组远亲交配进行,每组繁殖二代。

## 二、结 果

### (一) AS 2.1207 及 Y-17 石油蛋白对家兔生长的影响

#### 1. 对家兔体重生长的影响 试验结果列于表 3。

表 3 石油蛋白对家兔体重增长的影响

石油蛋白种类	组 别	开始动物数	结束动物数	开始时体重(克)	结束时体重(克)	每只增重(克)
Y-17	对 照	6	6	1733±107.13	2800±139.10	1067±642.60
	10%	6	5	1735± 32.21	2880±213.03	1145± 79.96
	20%	6	6	1832±117.26	3200±102.40	1368± 45.20
	30%	6	5	1704±103.09	3190±103.97	1486± 58.66
	糖蜜酵母对照	6	6	1745±121.51	2983± 45.76	1238±374.10
	F 测 验	F = 25.502		$F_{0.01} = 4.26$	F > $F_{0.01}$ 差异非常显著	
AS 2.1207	对 照	5	5	1455±108.88	2080±112.28	625± 68.79
	10%	5	5	1435± 83.75	2220± 68.04	785± 43.35
	20%	5	2*	1374±141.96	2425± 17.20	1051±315.94
	30%	5	4	1531±107.81	2225± 63.08	694± 29.08
	糖蜜酵母对照	5	5	1450± 38.66	2110± 63.88	660± 48.35
	F 测 验	F = 1.284		$F_{0.05} = 3.01$	F < $F_{0.05}$ 差异不显著	

\* 本组因患腹泻和寄生虫病死亡三只,参加统计只有二只,误差可能较大。表列数字为平均值±标准误,以下各表相同。

2. 病理解剖学特征 饲喂石油蛋白后,家兔的主要内脏器官的变化列于表 4。从表 4 看出,饲喂 Y-17 石油蛋白的家兔,以 30% 组病变最为显著。经常的病变器官是胃及肝脏。胃壁常有轻微的出血点,底部粘膜略有增厚,皱纹增加,且随着 Y-17 石油蛋白含量的增加,病变率亦有所增高,其中,以 30% 组为甚。肝脏表面经常地不光滑,有大小不等的弥散型的白色结节,严重时,肝脏表面有显著的充血性病灶,病变率以 30% 组为高。

而饲喂 AS 2.1207 石油蛋白的家兔,各组病变最多的内脏器官是肝脏及胃,其次为脾脏及肾脏。肝脏病变的程度随着 AS 2.1207 石油蛋白含量的增加而有所加重,以 20%、30% 组为甚,有的肝脏略呈土黄色,略肿大,质较软,并有充血性的病灶出现。胃壁有轻微的出血点,粘膜略增厚,皱纹增多,以 30% 组的病变率为高。脾脏的主要病变为表面颜色紫红,有时,略有增大,肾脏一般的正常,在 30% 组,少数个体的肾脏有轻微的出血点。

上述这些病理变化,均无临床症状。

3. 主要内脏器官系数的测定 饲喂两种石油蛋白后,家兔主要内脏器官系数的测定结果列于表 5。从表 5 看出,饲喂两种石油蛋白后,家兔主要内脏器官系数无显著的差异,经 F 测验, F 值均小于  $F_{0.05}$ ,说明这两种石油蛋白对家兔内脏器官重量的改变没有明显

从表 3 看出,饲喂不同剂量两种石油蛋白的家兔在体重的增长上,与对照组相比, Y-17 增重非常明显,差异非常显著 ( $F > F_{0.01}$ ), 而 AS 2.1207 增重不明显,差异不显著 ( $F < F_{0.05}$ )。另外,在饲养过程中,家兔食欲良好,生长健康,发育正常,皮毛较对照组光泽,这说明两种石油蛋白对家兔的生长无不良的影响。

的作用。

### (二) 几项生理指标的测定

1. 红、白细胞数量的变化 红细胞,各试验组与对照组相比,均随石油蛋白剂量增加而有所增高,特别是 20% 组、30% 组,有的家兔红细胞数超过正常的高值,但其平均值未超过高值范围。白细胞,各试验组也比对照组略高,30% 组有的家兔白细胞数也超过正常的高值,但其平均值未超过正常的高值。其结果列于表 6。

2. 血清酚四溴酞钠排泄试验 各组测定的结果均在 10% 以下,未超过正常值的范围,说明这两种石油蛋白对肝脏功能无不良的影响。

3. 非蛋白氮的试验 其测定结果的平均值, AS 2.1207 各组依次为 34.22%、28.83%、29.96%、22.20%、23.54%。Y-17 各组依次为 20.70%、28.44%、27.60%、21.97%、23.73%。各组的平均值都在正常值的范围内,说明这两种石油蛋白对家兔的肾功能无不良的影响。

### (三) 病理组织学特征

饲喂两种石油蛋白后,各组家兔的胃底结构,除粘膜层略有增厚外,其他胃底结构均属正常。各组家兔的肾脏没有显著的病理改变,但偶而可见轻度的瘀血。

表 4 饲喂石油蛋白后家兔主要内脏器官的病理解剖

石油蛋白 种类	器官	病理特征	对 照 组			10% 组			20% 组			30% 组			糖蜜酵母 对 照 组		
			M	N	R(%)	M	N	R(%)	M	N	R(%)	M	N	R(%)	M	N	R(%)
Y-17	肺	肺叶有瘀血点	6			6	1	16.66	6			5			5		
		胃壁有轻微的出血点	6			6	1	16.66	6	2	33.33	5	4	80.00	5	2	40.00
		粘膜增厚	6			6	3	50.00	6	4	66.66	5	5	100.00	5	1	20.00
	肠	肠壁有轻微出血点	6			6	2	33.33	6			5			5		
		粘膜增厚	6			6			6			5	1	20.00	5		
	肝	肿大	6			6	1	16.66	6	2	66.66	5	3	66.66	5	1	20.00
		肝叶边缘圆钝	6	1	16.66	6	1	16.66	6	1	16.66	5	1	20.00	5	1	20.00
		表面有弥散性的结节	6	3	50.00	6	3	50.00	6	6	100.00	5	2	40.00	5	1	20.00
		表面有显著病灶	6			6			6			5	2	40.00	5		
	脾	肿大	6			6			6			5	1	20.00	5		
		紫色或紫红色	6			6			6			5	1	20.00	5		
	肾	皮质部与髓质部分界不清	6			6			6			5	2	40.00	5		
		皮质部有出血点	6			6			6			5	2	40.00	5		
AS 2.1207	胃	胃壁有轻微的出血	5			5	1	20.00	2	1	50.00	4	1	25.00	5	1	20.00
		粘膜略增厚	5			5	1	20.00	2	1	50.00	4	3	75.00	5	2	40.00
	肝	表面略呈土黄色	5			5			2	1	50.00	4	3	75.00	5	2	40.00
		质较软	5			5			2	1	50.00	4	3	75.00	5	2	40.00
		略肿大	5			5			2	1	50.00	4	3	75.00	5	1	20.00
		有充血性病灶	5			5			2			4	3	75.00	5	1	20.00
	脾	略肿大	5			5	1	20.00	2			4			5		
		紫红色	5			5	1	20.00	2	1	50.00	4	2	50.00	5		
	肾	皮质部有轻度充血	5			5			2			4	1	25.00	5		
		髓质部有轻度充血	5			5			2			4	1	25.00	5		

$M =$  剖检数,  $N =$  病变数,  $R(\%) = \text{病变率} \left( \frac{N}{M} \times 100 \right)$ 。

各组家兔肝脏的病理改变不一, Y-17 各组肝脏的病理改变为对照组、10% 组、糖蜜酵母对照组肝细胞正常, 肝窦间隙稍小。20% 组、30% 组肝细胞略疏松, 胞质正常, 胞核完整而清晰, 肝窦间隙明显变小, 个别的消失, 其次, 少数肝细胞十分疏松, 偶而可见胞核浓缩。有时中央静脉及肝窦呈轻度瘀血。AS 2.1207 各组, 肝细胞略疏松, 胞质及胞核正常, 肝窦间隙较小。但随着 AS 2.1207 石油蛋白含量的增加, 病理改变不一, 其中, 以 20% 组、30% 组及糖蜜酵母对照组的 变化显著, 肝细胞较为疏松, 体积略有扩大, 但细胞轮廓清晰可见, 胞质及胞核完整, 肝窦间隙明显地变小或消失。

严重的改变是少数肝细胞的胞质有轻微的变空, 胞核略有浓缩, 有极微的脂肪滴出现。胞核有极微的移动被压挤于一侧, 肝窦间隙已消失, 但细胞轮廓可见。中央静脉及肝窦间隙有少许的红细胞聚积, 呈轻微的慢性瘀血, 这种病理改变以 30% 组及糖蜜酵母组为多。其次 10% 组有极少数的肝细胞变空的现象。病理改变极微。

#### (四) 小白鼠繁殖力的试验

饲喂两种石油蛋白对小白鼠繁殖力的影响, 结果列于表 7。从表 7 看出, 各组平均产仔数, 均无显著差

表5 饲喂石油蛋白后家兔主要内脏器官系数的测定

石油蛋白种类	组别	例数(只)	心(%)	肺(%)	肝(%)	脾(%)	肾(左)(%)
Y-17	对照	6 ( $\sigma^7_3$ $\varphi_3$ )	0.25±0.10 (0.22—0.30)	0.40±0.14 (0.37—0.48)	3.19±0.42 (2.60—3.71)	0.05±0.02 (0.04—0.06)	0.27±0.41 (0.23—0.35)
	10%	5 ( $\sigma^7_3$ $\varphi_2$ )	0.25±0.04 (0.20—0.27)	0.37±0.25 (0.33—0.45)	3.41±0.74 (2.19—4.60)	0.04±0.10 (0.04—0.05)	0.26±0.04 (0.23—0.32)
	20%	6 ( $\sigma^7_3$ $\varphi_3$ )	0.25±0.02 (0.23—0.29)	0.36±0.03 (0.32—0.41)	3.38±0.54 (2.60—4.15)	0.05±0.01 (0.03—0.06)	0.25±0.11 (0.23—0.33)
	30%	5 ( $\sigma^7_2$ $\varphi_3$ )	0.27±0.04 (0.23—0.28)	0.38±0.03 (0.84—0.43)	3.51±0.51 (2.79—4.16)	0.08±0.04 (0.03—0.12)	0.29±0.06 (0.26—0.32)
	糖蜜酵母对照	5 ( $\sigma^7_3$ $\varphi_2$ )	0.25±0.01 (0.23—0.26)	0.37±0.03 (0.31—0.41)	3.50±0.41 (2.94—4.47)	0.05±0.05 (0.03—0.07)	0.29±0.31 (0.26—0.34)
	F 测验		2.40 < F <sub>0.05</sub>	1.94 < F <sub>0.05</sub>	1.16 < F <sub>0.05</sub>	1.21 < F <sub>0.05</sub>	1.07 < F <sub>0.05</sub>
AS 2.1207	组别	例数(只)	心(%)	肺(%)	肝(%)	脾(%)	肾(左)(%)
	对照	5 ( $\sigma^7_2$ $\varphi_3$ )	0.25±0.03 (0.24—0.27)	0.42±0.14 (0.32—0.68)	3.00±0.58 (2.24—3.64)	0.06±0.02 (0.04—0.08)	0.28±0.05 (0.26—0.30)
	10%	5 ( $\sigma^7_3$ $\varphi_2$ )	0.26±0.03 (0.21—0.29)	0.37±0.04 (0.29—0.45)	3.14±0.43 (2.41—3.54)	0.06±0.02 (0.04—0.08)	0.26±0.03 (0.21—0.29)
	20%	2 (♀)	0.23±0.02 (0.22—0.27)	0.43±0.31 (0.36—0.50)	2.69±0.02 (2.64—2.73)	0.05±0.01 (0.04—0.06)	0.23±0.02 (0.21—0.25)
	30%	4 ( $\sigma^7_1$ $\varphi_3$ )	0.25±0.02 (0.22—0.27)	0.35±0.01 (0.33—0.36)	2.33±0.27 (1.98—2.61)	0.05±0.01 (0.04—0.07)	0.26±0.51 (0.23—0.30)
	糖蜜酵母对照	5 ( $\sigma^7_2$ $\varphi_3$ )	0.25±0.02 (0.22—0.28)	0.39±0.03 (0.35—0.43)	3.43±0.45 (2.92—3.93)	0.06±0.03 (0.04—0.07)	0.27±0.02 (0.25—0.30)
F 测验			1.33 < F <sub>0.05</sub>	1.67 < F <sub>0.05</sub>	3.79 < F <sub>0.05</sub>	1.90 < F <sub>0.05</sub>	5.13 < F <sub>0.05</sub>

表内第一行数字为平均值±标准误。第二行括号内数字为变异范围。

表6 石油蛋白对家兔血细胞的变化影响

石油蛋白种类	组别	动物数	红 细 胞 (万/立方毫米)			白 细 胞 (个/立方毫米)		
			平均值±标准误	标准差	变异范围	平均值±标准误	标准差	变异范围
Y-17	对照	6	529.6±15.76	38.63	483.0—572.0	7333.3±705.6	1728.8	6200—9100
	10%	5	568.5±19.25	38.58	528.0—613.0	7800.0±946.2	1892.5	5600—10000
	20%	6	599.0±39.27	96.22	502.0—718.0	8141.6±420.0	1030.1	6750—9800
	30%	5	629.0±29.08	64.85	549.0—695.0	7720.0±312.5	696.9	6850—8700
	糖蜜酵母对照	5	593.0±32.83	73.23	534.0—691.0	7310.0±300.1	669.3	6450—8450
AS 2.1207	对照	5	595.8±14.70	32.80	545.0—624.0	7010.0±1132.6	2525.8	6100—8300
	10%	5	579.8±26.80	59.98	490.0—640.0	7600.0±1823.7	4066.9	6550—9000
	20%	2	645.5±61.68	86.97	584.0—707.0	9350.0±100.2	141.4	9250—9450
	30%	4	618.5±75.54	130.70	483.0—809.0	9976.0±734.8	1469.6	8850—12100
	糖蜜酵母对照	5	583.0±16.61	37.06	522.0—627.0	7960.0±386.0	860.9	7100—9050

家兔红细胞正常值为 4.5—6.5 百万/立方毫米。白细胞正常值为 4—10 千/立方毫米<sup>[1]</sup>。

表7 石油蛋白对小白鼠繁殖的影响

组别	族谱	雌鼠例数		产仔数		空怀数	
		Y-17	AS 2.1207	Y-17	AS 2.1207	Y-17	AS 2.1207
对照	亲代	3	3	7.0±0.73 (4—9)	8.6±0.93 (5—12)	0	0
	第一代	3	3	8.0±1.43 (7—10)	8.3±1.62 (7—10)	0	0
	第二代	3	4	6.6±1.16 (5—8)	6.7±0.59 (5—8)	0	0
10%	亲代	4	2	10.0±0.52 (8—11)	10.5±1.83 (10—11)	0	0
	第一代	4	2	5.0±2.94 (3—8)	9.0±0.23 (9—9)	1	0
	第二代	3	3	8.0±3.51 (6—10)	9.0±— (0—9)	1	1
20%	亲代	4	3	6.7±0.90 (5—8)	11.1±1.76 (11—12)	0	0
	第一代	3	3	8.0±4.72 (0—8)	6.6±0.13 (4—8)	2	0
	第二代	3	3	9.0±0.34 (8—10)	6.5±0.98 (5—8)	0	1
30%	亲代	3	3	2.6±— (0—8)	7.0±1.37 (7—7)	2	1
	第一代	3	3	5.0±1.34 (4—6)	7.5±0.56 (7—8)	0	1
	第二代	3	3	4.5±1.19 (4—5)	7.0±2.09 (4—10)	1	1
F 测验		亲代 {AS 2.1207 Y-17	F = 6.24 F = 1.41	F <sub>0.05</sub> = 9.01 F <sub>0.05</sub> = 8.84	F < F <sub>0.05</sub> F < F <sub>0.05</sub>	差异均不显著	
		第一代 {AS 2.1207 Y-17	F = 6.71 F = 1.79	F <sub>0.05</sub> = 9.01 F <sub>0.05</sub> = 8.94	F < F <sub>0.05</sub> F < F <sub>0.05</sub>		
		第二代 {AS 2.1207 Y-17	F = 1.94 F = 1.06	F <sub>0.05</sub> = 9.01 F <sub>0.05</sub> = 9.01	F < F <sub>0.05</sub> F < F <sub>0.05</sub>		

异 ( $F < F_{0.05}$ )。但从空怀数来看却有明显相差, 特别 30% 组, 空怀较多。各组在繁殖过程中无畸胎, 幼鼠发育均正常, 无畸形。

在繁殖试验结束时, 全部进行剖检, 各代小白鼠主要内脏器官没有异常的病理改变。

### 三、结 论

1. 糖蜜酵母组与对照组的试验结果基本相同, 且与急性试验结果一致, 故认为 AS 2.1207 及 Y-17 菌种本身是比较安全的。

2. AS 2.1207 和 Y-17 石油蛋白对家兔饲养试验表明, 对体重的生长无不良影响, 并能促进其皮毛的光泽度; 对家兔的红、白细胞、肝功能及肾功能均无不良影响; 对家兔的主要脏器重量亦无明显作用, 但从病理解剖和病理组织检查结果来看, 有随着石油蛋白剂量的增加而病变有所加重的倾向, 特别 30% 组, 故认为 AS 2.1207 及 Y-17 石油蛋白在将来应用作饲料时, 以

不超过 20% 为宜。

3. 本试验结果只限家兔和小白鼠, 应该注意, 在用作饲料之前, 应对家畜和灵长类进行重复验证, 方能正式作为饲料应用。

### 参 考 文 献

- [1] 上海卫生防疫站编: 卫生防疫检验。上海科学技术出版社。1964。
- [2] 吴云龙: 黑斑蛙自然冬眠时肥满度与某些内脏器官的变化。动物学杂志, 7(3): 116—119。1965
- [3] Hoshiai, K.: Protein from petroleum. Chemical Economy & Engineering Review, 4(3): 7—15。1972。
- [4] Shachlady, A.: Production and utilization of Bp protein concentrate. 1969。  
II. The use of hydrocarbon grown yeasts in commercial type rotations for pigs and poultry. Biotech. and Bioeng. Symposium Sup. No. 1. 77—79。
- [5] Чепиго, С. В., И. Д. Бойко, Голобов. 1967. Получение кормовых Дрожжей из углеводов нефти: Приклад. биохимия и микробиология, 3(5): 577—588。
- [6] 西川哲三: 石油酵母の饲料化とその問題点, 日本兽医会杂志, 23(2): 51—57。1970。