DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20260129002
引用格式: 夏雨雨, 王赟, 冯瑀彤, 等. 裂殖壶菌产二十二碳六烯酸-二十碳五烯酸油脂的遗传毒性及降脂活性评价[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(15): 170–178.
Xia Yuyu, Wang Yun, Feng Yutong, et al. Evaluation of genotoxicity and hypolipidemic activity of docosahexaenoic acid-eicosapentaenoic acid-rich oil from *Schizochytrium* [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(15): 170–178. (in Chinese with English abstract).

裂殖壶菌产二十二碳六烯酸-二十碳五烯酸油脂的遗传毒性及降脂活性评价

夏雨雨[1,2], 王　赟[3], 冯瑀彤[2], 陈思思[2], 黄仕新[2], 陈晓露[2], 林河通[1], 何建林[2*], 洪碧红[2*]

(1. 福建农林大学食品科学学院, 福州　350002; 2. 自然资源部第三海洋研究所, 海洋生物资源开发利用工程技术创新中心, 厦门　361005; 3. 厦门市食品药品质量检验研究院, 厦门　361000)

摘　要: 目的　评价裂殖壶菌产二十二碳六烯酸-二十碳五烯酸油脂(docosahexaenoic acid-eicosapentaenoic acid-rich oil from *Schizochytrium*, DHA-EPA SO) (DHA 含量: 37.33%±0.15%; EPA 含量: 5.82%±0.03%)的遗传毒性与体外降脂活性, 明确其安全性与功能性。**方法**　采用细菌回复突变试验、哺乳动物红细胞微核试验、小鼠精母细胞染色体畸变试验系统评价 DHA-EPA SO 的遗传毒性; 以 3T3-L1 前脂肪细胞为模型, 通过油红 O 染色定性观察、吸光度定量分析及甘油三酯(triacylglycerol, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)含量检测, 探究 DHA-EPA SO 的体外降脂活性。**结果**　DHA-EPA SO 在试验剂量范围内, 3 项遗传毒性试验结果均为阴性, 其中细菌回复突变试验各菌株的回变菌落数均未超过阴性对照组 2 倍, 小鼠骨髓红细胞微核率、精母细胞染色体畸变率均与对照组无显著差异(P>0.05), 无致突变性及遗传损伤风险; 体外降脂试验显示, DHA-EPA SO 可有效抑制 3T3-L1 细胞脂质沉积, 降低细胞内 TG、TC 含量, 质量浓度为 12.50 μg/mL 时呈现出最佳降脂效应, 提高剂量时降脂活性有所减弱。**结论**　DHA-EPA SO 无遗传毒性, 同时具备显著的体外降脂活性, 在功能性食品、保健品领域具有广阔应用前景。

关键词: 裂殖壶菌; 二十二碳六烯酸; 二十碳五烯酸; 遗传毒性; 降脂活性; 3T3-L1 前脂肪细胞
中图分类号: TS201.6　　**文献识别码:** A　　**文章编号:** 2095–0381(2026)15–0170–09

Evaluation of genotoxicity and hypolipidemic activity of docosahexaenoic acid-eicosapentaenoic acid-rich oil from *Schizochytrium*

XIA Yu-Yu[1,2], WANG Yun[3], FENG Yu-Tong[2], CHEN Si-Si[2], HUANG Shi-Xin[2], CHEN Xiao-Lu[2], LIN He-Tong[1], HE Jian-Lin[2*], HONG Bi-Hong[2*]

收稿日期: 2026-01-29
基金项目: 福建省科技计划农业引导性(重点)项目(2024N0022); 福建省科技计划引导性项目(2024Y0077)
第一作者: 夏雨雨(2000—), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为海洋功能食品。E-mail: xiayuyu0608@163.com
***通信作者:** 何建林(1982—), 男, 博士, 副研究员, 主要研究方向为海洋功能食品研究与开发。E-mail: jlhe@tio.org.cn
洪碧红(1968—), 女, 博士, 正高级工程师, 主要研究方向为海洋药物与功能食品开发。E-mail: bhhong@tio.org.cn

(1. *College of Food Science*, *Fujian Agriculture and Forestry University*, *Fuzhou* 350002, *China*; 2. *Technology Innovation Center for Exploitation of Marine Biological Resources*, *Third Institute of Oceanography*, *Ministry of Natural Resources*, *Xiamen* 361005, *China;* 3. *Xiamen Institution for Food and Drug Quality Control*, *Xiamen* 361000, *China*)

ABSTRACT: Objective To evaluate the genotoxicity and *in vitro* hypolipidemic activity of docosahexaenoic acid-eicosapentaenoic acid-rich oil from *Schizochytrium* (DHA-EPA SO) (DHA content: 37.33%±0.15%; EPA content: 5.82%±0.03%), clarify its safety and functional properties. **Methods** Using the bacterial reverse mutation assay, mammalian erythrocyte micronucleus test and mouse spermatocyte chromosome aberration test, the genotoxicity of DHA-EPA SO was systematically evaluated. Using 3T3-L1 preadipocytes as the cell model, the *in vitro* hypolipidemic activity of DHA-EPA SO was investigated via qualitative observation by oil red O staining, quantitative analysis of optical density value, and determination of intracellular triacylglycerol (TG) and total cholesterol (TC) content. **Results** Within the test dose range, DHA-EPA SO presented negative results in 3 genotoxicity assays. In the bacterial reverse mutation assay, the number of revertant colonies of each strain did not exceed twice that of the negative control group; the micronucleus rate of mouse bone marrow erythrocytes and the chromosome aberration rate of mouse spermatocytes showed no significant differences compared with the control groups (P>0.05), indicating no mutagenicity or genetic damage risk of DHA-EPA SO. The *in vitro* hypolipidemic tests demonstrated that DHA-EPA SO could effectively inhibit lipid accumulation in 3T3-L1 cells and reduce intracellular TG and TC content, exerting the optimal hypolipidemic effect at a mass concentration of 12.50 μg/mL, while the hypolipidemic activity was attenuated with increased doses. **Conclusion** DHA-EPA SO has no genotoxicity and exhibits significant *in vitro* hypolipidemic activity, which endows it with broad application prospects in the field of functional foods and health products.

KEY WORDS: *Schizochytrium*; docosahexaenoic acid; eicosapentaenoic acid; genotoxicity; hypolipidemic activity; 3T3-L1 preadipocytes

0　引　言

根据世界卫生组织的数据, 心血管疾病已成为全球范围内的首要致死病因, 且对中低收入国家的影响尤为显著[1], 而血脂异常是心血管疾病发生发展的一个重要风险因素[2]。n-3 多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids, PUFAs)是指含有一个以上双键, 并且第一个双键的甲基位置在 n-3 位的一类脂肪酸[3], 主要包括有二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid, EPA)、二十二碳五烯酸(docosapentaenoic acid, DPA)和二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)等[4]。大量研究认为, n-3 PUFAs 能够通过调节甘油三酯水平、血管炎症等危险因素, 改善心血管疾病[5]。例如, EPA 能够通过激活 AMPK/脂肪细胞因子信号通路, 从而抑制摄食行为与脂质合成, 改善高脂饮食诱导小鼠的非酒精性脂肪肝[6]; EPA、DHA 配合补充可改善胰岛素抵抗小鼠的血清脂质谱, 并减小肝脂肪变性面积[7]。n-3 PUFAs 的天然来源主要是深海鱼类[8]以及各种微藻[9]。然而, 深海鱼类正面临过度捕捞、生态环境污染及资源供应不稳定等多重挑战, 已不能满足人类日益增长的营养需求[10]。寻找更加稳定、可持续的 n-3 PUFAs 来源成为当下研究的重点。

裂殖壶菌属(*Schizochytrium* sp.)隶属于网粘菌纲(Labyrinthulomycetes)破囊壶菌科(Thraustochytridiaceae), 是一类单细胞真核海洋原生生物, 在各类海洋环境中广泛分布, 其含有丰富的胞内油脂, 是 n-3 PUFAs 生产的有效途径[11]。裂殖壶菌中 DHA 的含量可占到总脂肪酸的 25%~40%[12], 而 EPA 通常仅占到 1%左右[13]。通过发酵条件的改善及基因工程技术的运用, 其 EPA 产率能够得到显著提升[14]。近期, 本研究成功从裂殖壶菌中制备出一种 DHA、EPA 特异性富集的油脂, 称之为裂殖壶菌产 DHA-EPA 油脂(DHA-EPA-rich oil from *Schizochytrium*, DHA-EPA SO), 其 EPA 含量达到总脂肪酸组成的 5.82%, 实现了相较于常规裂殖壶菌产油的显著富集, 并含有 37.33%的 DHA 和 2.27%的 DPA。

遗传毒性试验考察受试物对细胞遗传物质的损伤能力, 是评估受试物潜在致癌、致突变风险的基础与关键, 而功能性评价则是验证其应用价值的核心依据, 在功能性食品的开发中, 二者缺一不可。DHA-EPA SO 实现了脂肪酸组成的显著变化, 这种改变是否会伴随潜在的遗传毒性风险, 需通过遗传毒性试验予以确认。此外, DHA-EPA SO 中 EPA 的高效富集, 暗示其可能具有降脂活性, 但鲜少被试验验证。因此, 本研究以《食品安全性毒理学评价程序》为依据, 通过细菌回复突变试验、哺乳动物红细胞微核试验及小鼠精母细胞染色体畸变试验对 DHA-EPA SO 进行系统的遗传毒性评价, 并利用 3T3-L1 前脂肪细胞成脂分化模型探究其体外降脂活性, 旨在从“安全”与“功能”两个维

度, 为推动 DHA-EPA SO 的产业化应用提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 受试物

DHA-EPA SO, 由厦门汇盛生物有限公司提供, 其总脂肪酸组成见表 1。

表 1 DHA-EPA SO 总脂肪酸组成
Table 1 Total fatty acid composition of DHA-EPA SO

脂肪酸		相对含量/%
肉豆蔻酸	C14:0	0.39±0
棕榈酸	C16:0	3.91±0.06
硬脂酸	C18:0	0.42±0
油酸	C18:1	3.26±0.01
花生酸	C20:0	0.27±0
二十碳烯酸	C20:1	0.76±0
花生四烯酸	C20:4	9.20±0.26
二十三碳酸	C23:0	9.90±0.49
二十碳五烯酸	C20:5 (EPA)	5.82±0.03
二十二碳五烯酸	C22:5n-3 (n-3 DPA)	2.27±0.01
二十二碳四烯酸	C22:4	16.27±0.06
二十二碳五烯酸	C22:5n-6 (n-6 DPA)	5.05±0.02
二十二碳六烯酸	C22:6 (DHA)	37.33±0.15
饱和脂肪酸	saturated fatty acids (SFA)	14.89±0.53
n-3 多不饱和脂肪酸	n-3 PUFA	45.42±0.18

1.1.2 试验动物

SPF 级 ICR 小鼠购自上海斯莱克实验动物有限责任公司, 许可证号为 SCXK(沪)2022-0004, 实验经自然资源部第三海洋研究所动物实验伦理委员会批准及监督(批准号: TIO-IACUC-01-2024-09-19)。饲养在屏蔽环境的动物房内, 保持温度在 22~24 ℃之间, 相对湿度在 40%~70%之间, 日光灯 12 h 照明, 饲喂由北京华阜康生物科技股份有限公司提供的大小鼠维持饲料, 自由饮水。

1.1.3 试验菌株

组氨酸缺陷型鼠伤寒沙门氏菌(TA97a、TA98、TA100、TA102、TA1535)和大鼠肝微粒体酶(S9)均购自美国 Molecular Toxicology 公司, 经鉴定符合要求。

1.1.4 试验试剂

二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)(纯度 99.5%, 广东西陇科学股份有限公司); 甲基磺酸甲酯(纯度 98%)、甲醇(纯度 99.9%)、吉姆萨染液(美国 Sigma-Aldrich 公司); 敌克松(纯度 92%, 德国 Dr. Ehrenstorfer 公司); 1,8-二羟蒽醌(对照品, 纯度 98%, 中国药品生物制品检定所); 2-氨基芴(纯度 97%, 上海安谱科学仪器有限公司); 2-氨基蒽(纯度 98%, 上海麦克林生化科技股份有限公司); 叠氮钠(纯度 99%)、顶层培养基、底层培养基、牛胰岛素(纯度 98%)、牛血清白蛋白(纯度 99%)、油红 O 染色试剂盒(北京索莱宝科技有限公司); 环磷酰胺(纯度 97%, 上海易恩化学技术有限公司); 秋水仙素(纯度 98%, 安徽泽升科技有限公司); 小牛血清(南京森贝伽生物科技有限公司); 杜氏改良伊格尔培养基(Dulbecco's modified eagle medium, DMEM)(美国赛默飞世尔科技公司); 磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)(武汉赛维尔生物科技有限公司); 细胞计数试剂盒-8 (cell counting kit-8, CCK-8)(上海碧云天生物技术有限公司); 3-异丁基-1-甲基黄嘌呤(纯度 99.99%, 美国 TargetMol 公司); 地塞米松(纯度 99.86%, 美国 MedChemexpress 生物科技公司); 胎牛血清(上海诺娃医药科技有限公司); 甘油三酯(triacylglycerol, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)测定试剂盒(南京建成生物工程研究所有限公司)。

1.2 仪器与设备

Axio imager 正置显微镜(德国 ZEISS 公司); Eclipse Ti 倒置显微镜(日本 Nikon 公司); XT5107 生化培养箱(宁波莱福科技有限公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 细菌回复突变试验

采用经鉴定符合要求的鼠伤寒沙门氏菌组氨酸缺陷型菌株 TA97、TA98、TA100、TA102、TA1535 进行试验。DHA-EPA SO 使用 DMSO 溶解, 共设置 5000、2500、1250、625、312.5 μg/皿 5 个剂量作为试验组, 另设空白对照组、溶剂对照组(蒸馏水、DMSO)和阳性对照组。各组均由代谢活化与非代谢活化两种系统组成(非活化系统中 TA97、TA98 使用敌克松 50.0 μg/皿, TA100、TA1535 使用叠氮钠 1.5 μg/皿, TA102 使用甲基磺酸甲酯 1.0 μL/皿; 活化系统中 TA97、TA98、TA100 使用 2-氨基芴 10.0 μg/皿, TA102 使用 1,8-二羟基蒽醌 60.0 μg/皿, TA1535 使用 2-氨基蒽 5.0 μg/皿), 体外代谢活化系统选择多氯联苯诱导的大鼠肝 S9。取 0.1 mL DHA-EPA SO 溶液、0.1 mL 试验菌株增菌液置于 45 ℃顶层培养基中, 代谢活化时额外加入 0.5 mL S9 混合液, 倒入底层培养基平板中, 凝固后倒置, 37 ℃培养 48 h, 各组平行完成 3 皿, 计数每皿回变菌落数。当结果为阴性时, 调整剂量间距为 5 倍, 重复进行一次试验进行验证。

1.3.2 哺乳动物红细胞微核试验

50 只 ICR 小鼠适应性喂养 5 d 后随机分为 5 组(每组 5 只雄性, 5 只雌性)。DHA-EPA SO 以玉米油溶解, 设 1.25、2.50、5.00 g/(kg • BW) 3 个剂量组, 另设溶剂对照组(玉米油)和阳性对照组[环磷酰胺, 40 mg/(kg • BW)], 小鼠灌胃体积为 10 mL/(kg • BW)。采用 2 次给予法, 即: 第一次灌胃给予受试物 24 h 后, 再次给予第二次受试物, 6 h 后脱颈椎处死小鼠,取股骨骨髓, 小牛血清分散骨髓细胞后涂片, 甲醇固定 10 min, 吉姆萨染液染色 15 min。每个样本在油镜下计数 2000 个嗜多染红细胞(polychromatic erythrocyte, PCE)中微核

细胞数，由此得出含微核细胞率(%)；并计数 200 个红细胞(red blood cell, RBC)中 PCE 的比例(PCE/RBC)。

1.3.3　小鼠精母细胞染色体畸变试验

25 只雄性 ICR 小鼠适应性喂养 5 d 后随机分为 5 组(每组 5 只)。DHA-EPA SO 以玉米油溶解，设 1.25、2.50、5.00 g/(kg • BW) 3 个剂量组，另设溶剂对照组(玉米油)和阳性对照组[环磷酰胺，40 mg/(kg • BW)。各剂量组和溶剂对照组连续灌胃 5 d，灌胃体积为 10 mL/(kg • BW)，阳性对照于给药第 1 d 时腹腔注射一次，注射体积为 10 mL/(kg • BW)。第 14 d 各组动物腹腔注射给予秋水仙素 5 mg/(kg • BW)，注射体积为 10 ml/(kg • BW)。注射 5 h 后处死动物，分离两侧睾丸，进行低渗、固定、离心、滴片和染色处理。在油镜下，每只小鼠的玻片标本计数 100 个含染色体数为 1n±1 的中期相细胞。分辨各种染色体畸变类型(断片、微小体、裂隙、常染色体单价体、相互易位、X-Y 单价体)。

1.3.4　3T3-L1 细胞 CCK-8 试验

3T3-L1 细胞于含有 10%小牛血清的 DMEM 培养基中进行培养，培养条件为 5% CO_2、37 ℃。取对数生长期的细胞，以每孔 1×10^4 个细胞接种于 96 孔板，每孔 100 μL，边缘孔用无菌 PBS 填充。培养 24 h 后，吸弃旧培养基，分别加入含不同质量浓度 DHA-EPA SO (0、6.25、12.50、25.00、50.00、100.00、200.00、400.00、800.00 μg/mL)的完全培养基。继续培养 24 h 后，每孔加入 10 μL CCK-8 溶液，轻轻振荡混匀，于培养箱内孵育 30 min，然后用酶标仪测定 450 nm 波长处的吸光度(A)值。细胞存活率计算如公式(1)：

$$细胞存活率/\%=(A_{给药组}-A_{空白孔})/(A_{对照组}-A_{空白孔})\times100\% \quad (1)$$

1.3.5　细胞诱导分化及给药

将 3T3-L1 细胞接种于 24 孔板中，待细胞铺满并接触抑制 24 h 后，将培养液更换为分化液[含 0.5 mmol/L 3-异丁基-1-甲基黄嘌呤、1 μmol/L 地塞米松、10 μg/mL 胰岛素和 10%胎牛血清的 DMEM 培养基]，培养 3 d。更换培养液为维持液(含 10 μg/mL 牛胰岛素和 10%胎牛血清的 DMEM 培养基)，培养 7 d。再次更换培养液为含 10%胎牛血清的 DMEM 培养基，继续培养 2 d，直至胞内出现明显脂滴。分别设置阴性组(不对细胞进行诱导分化)、模型组(诱导分化的细胞)的和 DHA-EPA SO 给药的各剂量组(在细胞接触抑制结束后，持续在培养液中添加浓度分别为 100.00、50.00、25.00、12.50、6.25 μg/mL 的 DHA-EPA SO 至试验结束，DHA-EPA SO 使用 1%牛血清白蛋白溶液进行溶解)。细胞培养结束后，去除培养液，用 PBS 洗涤两遍，根据试剂盒说明书要求检测 TC、TG，并进行油红 O 染色。

1.4　数据处理

试验数据以均值±标准偏差表示。采用方差分析比较各给药组与对照组之间的差异。小鼠精母细胞染色体畸变采用 χ^2 检验进行统计分析。P>0.05 代表差异无统计学意义，P<0.05 代表差异有统计学意义。

2　结果与分析

2.1　细菌回复突变试验结果

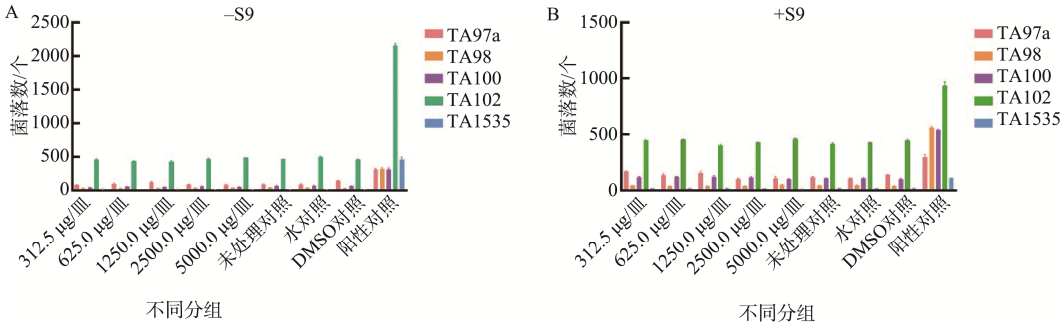
由图 1 可知，各阴性对照组的回复突变菌落数均处于本实验室历史对照值范围内，且阳性对照组的回复突变菌落数均超过未处理对照组菌落数的 2 倍以上。无论是否添加 S9，各剂量组的回复突变菌落数均未超过未处理对照菌落数的 2 倍。细菌背景菌苔生长状态良好，平板无沉淀形成以干扰菌落计数。第一次试验结果为阴性，调整剂量间距为 5 倍，重复进行第二次试验，由图 2 可知，结果为阴性。

2.2　哺乳动物红细胞微核试验结果

由表 2 可知，阳性对照组的雄鼠和雌鼠的微核细胞率分别为 14.40‰±1.43‰和 18.60‰±2.50‰，显著高于溶剂对照组(P<0.01)。DHA-EPA SO 各剂量组的微核细胞率均≤1.80‰，均在正常动物自发微核率范围内，与对照组相比无统计学差异。各组 PCE/RBC 比值大于溶剂对照组的 20%。说明 DHA-EPA SO 未诱发 ICR 小鼠 PCE 微核率的明显增加。

2.3　小鼠精母细胞染色体畸变试验结果

由表 3~5 可知，阳性对照组的染色体畸变率和畸变细胞率明显高于溶剂对照组(P<0.001)。各剂量组的染色体畸变率和畸变细胞率与溶剂对照组的相比均无明显差异(P>0.05)。试验结果表明，DHA-EPA SO 对小鼠精母细胞无致染色体畸变作用。



注：A. 非活化系统下 5 种细菌回变菌落数；B. 活化系统下 5 种细菌回变菌落数(n=3)。图 2 同。

图 1　DHA-EPA SO 细菌回复突变试验结果(第一次)

Fig.1　Results of DHA-EPA SO bacterial reverse mutation assay (first test)

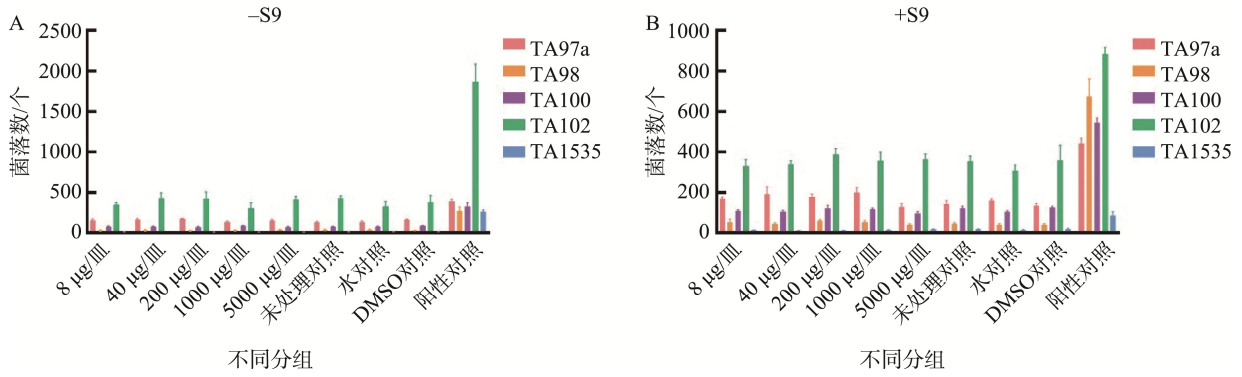


图 2 DHA-EPA SO 细菌回复突变试验结果(第二次)

Fig.2 Results of DHA-EPA SO bacterial reverse mutation assay (second test)

表 2 DHA-EPA SO 哺乳动物红细胞微核试验结果

Table 2 Results of DHA-EPA SO mammalian erythrocyte micronucleus test

性别	组别	剂量/(g/kg)	RBC 数/个	PCE 数/个	PCE/RBC/%	PCE 数/个	含微核 PCE 数/个	微核细胞率/‰
雄性	溶剂对照组	0	1000	647	64.70±1.83	10000	13	1.30±0.44
	阳性对照组	0.04	1000	642	64.20±2.96	10000	144	14.40±1.43**
	低剂量组	2.50	1000	650	65.00±3.23	10000	18	1.80±0.25
	中剂量组	5.00	1000	644	64.40±1.46	10000	13	1.30±0.64
	高剂量组	10.00	1000	701	70.10±3.96	10000	8	0.80±0.30
雌性	溶剂对照组	0	1000	626	62.60±3.08	10000	15	1.50±0.27
	阳性对照组	0.04	1000	636	63.60±1.91	10000	186	18.60±2.50**
	低剂量组	2.50	1000	662	66.20±3.14	10000	15	1.50±0.22
	中剂量组	5.00	1000	645	64.50±2.32	10000	16	1.60±0.58
	高剂量组	10.00	1000	615	61.50±2.71	10000	17	1.70±0.41

注：与溶剂对照组比较，**表示具有极显著差异，$P<0.01$。

表 3 DHA-EPA SO 对小鼠睾丸精母细胞染色体畸变的影响(性染色体单价体)

Table 3 Effects of DHA-EPA SO on chromosome aberrations in mouse testicular spermatocytes (sex chromosome univalents)

组别	剂量/(g/kg・BW)	动物数/只	观察细胞/个	性染色体单价体/个	单价体率/%
溶剂对照	0.00	5	500	15	3.0
阳性对照	0.04	5	500	31	6.2*
低剂量	1.25	5	500	13	2.6
中剂量	2.50	5	500	14	2.8
高剂量	5.00	5	500	12	2.4

注：与溶剂对照组比较，*表示具有显著差异，$P<0.05$。

表 4 DHA-EPA SO 对小鼠睾丸精母细胞染色体畸变的影响(常染色体单价体)

Table 4 Effects of DHA-EPA SO on chromosome aberrations in mouse testicular spermatocytes (autosomal univalents)

组别	剂量/(g/kg・BW)	动物数/只	观察细胞/个	常染色体单价体/个	单价体率/%
溶剂对照	0.00	5	500	28	5.6
阳性对照	0.04	5	500	56	11.2***
低剂量	1.25	5	500	21	4.2
中剂量	2.50	5	500	18	3.6
高剂量	5.00	5	500	24	4.8

注：与溶剂对照组比较，***表示具有强极显著差异，$P<0.001$。表 5 同。

表 5　DHA-EPA SO 对小鼠睾丸精母细胞染色体畸变的影响

Table 5　Effects of DHA-EPA SO on chromosome aberrations in mouse testicular spermatocytes

组别	剂量/(g/kg·BW)	动物数/只	观察细胞/个	染色体畸变/个			染色体畸变个数/个	染色体畸变率/%	畸变细胞数/个	畸变细胞率/%
				断片	微小体	易位				
溶剂对照	0.00	5	500	5	0	7	12	2.4	12	2.4
阳性对照	0.04	5	500	20	1	29	50	10.0***	42	8.4***
低剂量	1.25	5	500	8	0	8	16	3.2	16	3.2
中剂量	2.50	5	500	7	0	9	16	3.2	16	3.2
高剂量	5.00	5	500	5	0	10	15	3.0	15	3.0

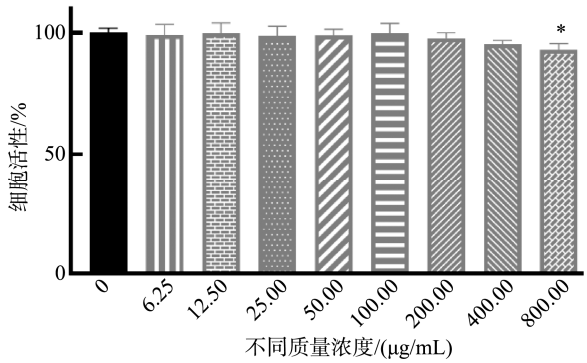
2.4　DHA-EPA SO 对 3T3-L1 前脂肪细胞脂质沉积的影响

2.4.1　CCK-8 试验结果

CCK-8 细胞活力试验结果如图 3 所示, DHA-EPA SO 在 6.25~800.00 μg/mL 的质量浓度梯度下处理 3T3-L1 细胞后, 各组细胞活力均维持在接近对照组(0 μg/mL)的水平, 仅在最高质量浓度 800 μg/mL 时出现轻微但显著的下降(P<0.05), 但仍保持在 90%以上。这表明在试验浓度范围内, DHA-EPA SO 对 3T3-L1 细胞无明显细胞毒性, 具有良好的生物安全性, 后续试验选择 DHA-EPA SO 100.00、50.00、25.00、12.50、6.25 μg/mL 作为 3T3-L1 细胞给药剂量。

2.4.2　油红 O 染色观察与定量分析

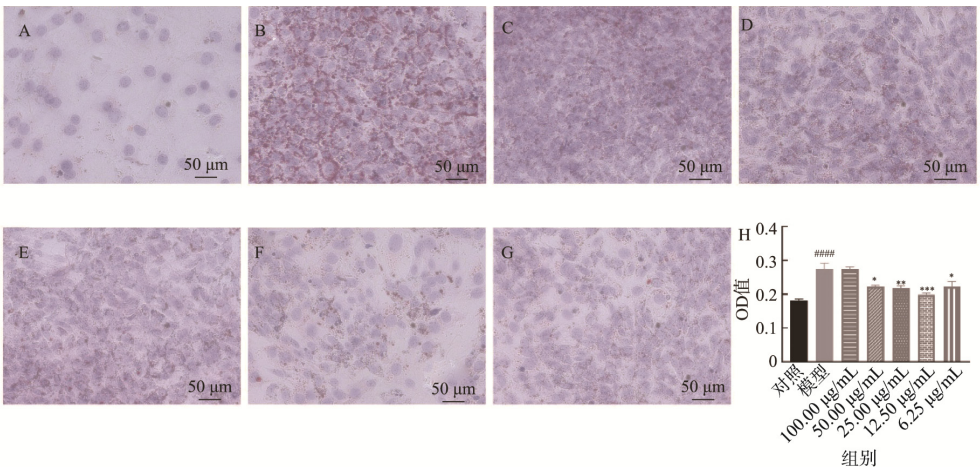
为直观评价 DHA-EPA SO 对脂质沉积的影响, 采用油红 O 染色法观察 3T3-L1 细胞内的脂滴形成情况。如图 4A、4B 所示, 与对照组相比, 模型组细胞内积累大量被染为鲜红色的脂滴, 脂滴分布密集并出现明显融合, 表明细胞分化模型建立成功。经 DHA-EPA SO 处理后, 各剂量组细胞内的红色脂滴数量与体积均呈现不同程度的减少(图 4C~G)。进一步通过异丙醇提取细胞内染料并进行定量分析, 结果如图 4H 所示: 与模型组比较, 除 DHA-EPA SO 100 μg/mL 组无显著差异(P>0.05)外, 其余各剂量组吸光度值(optical density, OD)均显著降低(P<0.05)。其中, DHA-EPA SO 12.5 μg/mL 组的 OD 值最低, 表明该剂量对抑制 3T3-L1 细胞脂质沉积的作用最为明显。



注: 与 0 μg/mL 相比, *表示具有显著差异, P<0.05。

图 3　CCK-8 试验结果(n=6)

Fig.3　Results of CCK-8 assay (n=6)



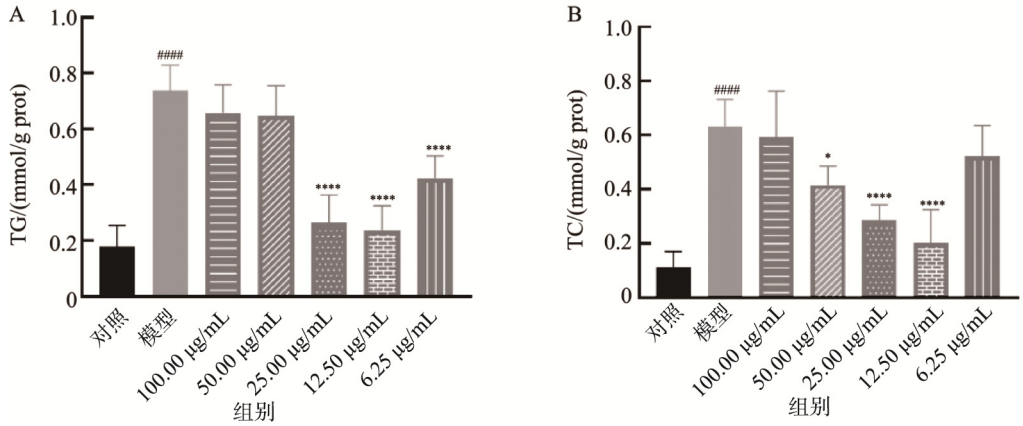
注: A~G 为油红 O 染色后 3T3-L1 细胞(200×); A 为对照组; B 为模型组; C 为 DHA-EPA SO 100 μg/mL 组; D 为 DHA-EPA SO 50 μg/mL 组; E 为 DHA-EPA SO 25 μg/mL 组; F 为 DHA-EPA SO 12.5 μg/mL 组; G 为 DHA-EPA SO 6.25 μg/mL 组; H 为油红 O 染色定量分析结果; 与对照组相比, ####表示有极高显著差异, P<0.0001; 与模型组相比, *表示有显著差异, P<0.05, **表示有极显著差异, P<0.01, ***表示有强极显著差异, P<0.001。下同。

图 4　油红 O 染色观察与定量分析结果(n=6)

Fig.4　Observation and quantitative analysis results of oil red O staining (n=6)

2.4.3 细胞内 TG、TC 含量变化

为进一步量化 DHA-EPA SO 的体外降脂活性，本研究检测了各组 3T3-L1 细胞内 TG、TC 的含量变化，结果如图 5 所示。与油红 O 染色结果一致，模型组 TG、TC 含量分别为(0.74±0.04) mmol/g prot、(0.63±0.04) mmol/g prot，与对照组相比显著升高(P<0.0001)，再次验证脂质分化模型构建成功，细胞内脂质发生大量堆积。与模型组相比，经 25.00、12.50、6.25 μg/mL DHA-EPA SO 处理后，细胞内 TG 显著下降(P<0.0001)，分别为(0.26±0.04)、(0.23±0.04)、(0.42±0.03) mmol/gprot，其中 12.5 μg/mL 组降幅最为显著。DHA-EPA SO 50.00、25.00、12.50 μg/mL 组的细胞内 TC 含量分别降至(0.42±0.03)、(0.29±0.02)、(0.20±0.05) mmol/gprot，与 TG 数据相同，12.50 μg/mL 组表现出最佳的改善效果。上述结果表明，DHA-EPA SO 可有效降低 3T3-L1 成熟脂肪细胞内的 TG 与 TC 含量，具有显著的体外降脂活性。



注：A. 3T3-L1 细胞内 TG 含量变化；B. 3T3-L1 细胞内 TC 含量变化；与模型组相比，****表示有极高显著差异，P<0.0001。

图 5 细胞内 TG、TC 含量变化

Fig.5 Content changes of TG and TC in intracellular

3 讨论与结论

根据《全球化学品统一分类和标签制度》，遗传毒性指会改变 DNA 结构、信息含量或分离过程的药剂或过程[15]。遗传毒性测试结果在消费者化学风险评估与管理中具有特殊地位，这主要是因为遗传毒性事件可能引发的不良健康效应具有不可逆性和特殊严重性[16]。细菌回复突变试验、哺乳动物红细胞微核试验、小鼠精母细胞染色体畸变试验联合应用，可分别覆盖沙门氏菌/哺乳动物微粒体介导的致突变性[17]、哺乳动物体细胞遗传损伤[18]、生殖细胞染色体结构与数目畸变风险[19]3 个评价维度，是国际公认的标准化遗传毒性系统评价方案，显著提升了评价结果的可靠性[20]。细菌回复突变试验选用 TA97a、TA98、TA100、TA102、TA1535 5 种鼠伤寒沙门氏菌组氨酸缺陷型菌株，覆盖移码突变、碱基替换突变等多种突变类型[21]，同时设置加与不加 S9 代谢活化系统的两组处理，模拟哺乳动物体内肝脏代谢过程[22]。结果显示，DHA-EPA SO 各剂量组的回变菌落数均未超过阴性对照组 2 倍，说明其不会引起沙门氏菌的突变[23]，这一结果与 Matulka 等[24]对奇链脂肪酸藻油的细菌回复突变试验结果一致，后者同样未观察到致突变性。哺乳动物红细胞微核试验通过检测 PCE 中微核的形成，评价受试物是否诱导染色体断裂或有丝分裂装置损伤[25]。本研究未观察到 DHA-EPA SO 各剂量组小鼠 PCE 微核率的明显增加，说明细胞未出现染色体损伤或有丝分裂装置损伤，这一结果与 Schmitt 等[26]在微核试验中的发现相吻合，后者也报告 DHA 藻油不诱导微核率增加，说明 DHA-EPA SO 不属于染色体断裂剂[27]。此外，精母细胞染色体畸变试验针对生殖细胞，直接关联遗传安全性，研究 DHA-EPA SO 各剂量组染色体畸变畸变率及畸变细胞率与对照组均无显著差异，未诱发断裂、缺失、易位等结构性畸变，表明该油脂对生殖细胞亦无遗传损伤作用[28]。综合 3 项试验结果可知，DHA-EPA SO 在所设剂量范围内无致突变性、无染色体损伤、无生殖细胞遗传毒性，整体遗传毒性评价结果为阴性。

3T3-L1 细胞是一种小鼠的成纤维细胞亚系，其特异性分化是研究脂肪细胞的一种稳定、便捷的方法，因此成为脂肪代谢疾病研究中应用最为广泛的体外模型之一[29]，本研究利用 3T3-L1 细胞成脂分化模型证实了 DHA-EPA SO 具有明确的体外降脂活性。值得注意的是，在 6.25~25.00 μg/mL 的中低浓度范围内，DHA-EPA SO 能显著地抑制脂质沉积，降低细胞内 TG、TC 含量，其中以 12.50 μg/mL 的效应最为突出。然而，当 DHA-EPA SO 浓度上升至 100 μg/mL 时，其降脂作用反而减弱。DHA-EPA SO 降脂活性的原因可能在于其独特的脂肪酸组成所介导的多重协同作用，本研究通过发酵优化和基因工程技术，将 EPA 含量由常规的 1%左右提升至 5.82%，实现了对 EPA 的显著富集。已有研究证实，EPA 具有显著降脂活性，在 3T3-L1 细胞模型中可通过抑制成脂分化、阻断脂

质合成, 以及调控多条关键信号通路, 协同实现降脂效应。EPA 在 3T3-L1 细胞分化阶段可激活 PKA 信号、上调 COX-2 表达, 拮抗 PPARγ 激动剂的促分化作用, 下调 Leptin、Glut4 等成脂基因[30]。此外, EPA 与 DHA 可联合抑制 PPARγ-Cidec 通路, 减少 SREBP-1c、C/ebpα 等成脂与脂合成关键基因表达, 从而降低甘油三酯积累[31]。我们推测, 在中低浓度下, DHA-EPA SO 中占主导的 n-3 PUFAs(尤其是 EPA)能够通过上述机制充分发挥其降脂作用。然而, 当 DHA-EPA SO 给药浓度显著提高时, 同步增多的 SFA 可能会激活内质网应激, 上调甘油-3-磷酸酰基转移酶和 E3 泛素连接酶等核心调控因子, 增加细胞脂毒性[32]。此外, SFA 还可能通过增强 MAPKs 的磷酸化、促进 NF-κB 等转录因子的活化, 使 TNF-α、IL-6 等炎症因子表达增加[33]。这些负面效应进一步干扰了正常的脂质代谢调控网络, 从而部分抵消 n-3 PUFAs 的降脂作用, 导致整体活性减弱。

本研究对 DHA-EPA SO 进行了系统的遗传毒性评价和体外降脂活性研究。在遗传毒性方面, 细菌回复突变试验、哺乳动物红细胞微核试验和小鼠精母细胞染色体畸变试验结果均为阴性, 证实 DHA-EPA SO 在试验剂量范围内无基因突变、染色体损伤及生殖细胞遗传毒性风险, 食用安全性良好。在 3T3-L1 前脂肪细胞模型中, DHA-EPA SO 能显著抑制细胞分化过程中的脂质沉积。油红 O 染色显示, 12.50 μg/mL 浓度下降脂效果最为明显, 通过定量分析表明, 该浓度下细胞内 TG、TC 下降幅度优于其他浓度组。证实其具有明确的体外降脂活性。综上, 该油脂兼具安全性与功能性, 是优质的鱼油替代来源, 在功能性食品领域具有广阔产业化应用前景, 后续我们将通过长期毒性试验、体内降脂试验及分子机制研究等进一步完善对该油脂的评价, 推动其产业化转化。

参考文献

[1] Sherratt S C R, Libby P, Budoff M J, et al. Role of omega-3 fatty acids in cardiovascular disease: the debate continues [J]. Current Atherosclerosis Reports, 2023, 25(1): 1–17.

[2] Bishehkolaei M, Pathak Y. Influence of omega *n*-6/*n*-3 ratio on cardiovascular disease and nutritional interventions [J]. Human Nutrition & Metabolism, 2024, 37: 200275.

[3] Kaur N, Chugh V, Gupta A K. Essential fatty acids as functional components of foods-A review [J]. Journal of Food Science and Technology 2014, 51(10): 2289–303.

[4] Parolini C. The role of marine n-3 polyunsaturated fatty acids in inflammatory-based disease: the case of rheumatoid arthritis [J]. Marine Drugs, 2024, 22(1): 1–17.

[5] Michaeloudes C, Christodoulides S, Christodoulou P, et al. Variability in the clinical effects of the omega-3 polyunsaturated fatty acids DHA and EPA in cardiovascular disease—possible causes and future considerations [J]. Nutrients, 2023, 15(22): 4830.

[6] Feng Junli, Wang Shitong, Chen Feifei, et al. Effects of triglyceride and ethyl ester forms of EPA on hepatic lipid metabolism in mice with non-alcoholic fatty liver disease [J]. Journal of Functional Foods, 2024, 116: 106179.

[7] Yu Siyan, Xie Qunying, Tan Weifeng, et al. Different ratios of DHA/EPA reverses insulin resistance by improving adipocyte dysfunction and lipid disorders in HFD-induced IR mice [J]. Food & Function, 2023, 14(2): 1179–1197.

[8] Arsecularatne A, Kapini R, Liu Yang, et al. Combination therapy for sustainable fish oil products: improving cognitive function with n-3 PUFA and natural ingredients [J]. Biomedicines, 2024, 12(6): 1237.

[9] Ren Xiang, Liu Yanjun, Fan Chao, et al. Production, processing, and protection of microalgal n-3 PUFA-rich oil [J]. Foods, 2022, 11(9): 1215.

[10] Shu Liwen, Zheng Xin, Qi Shuhua, et al. Transesterification of phosphatidylcholine with DHA-rich algal oil using immobilized *Candida antarctica* lipase B to produce DHA-phosphatidylcholine [J]. Enzyme and Microbial Technology, 2023, 169: 110266.

[11] Puri M, Gupta A, Sahni S. *Schizochytrium* sp. [J]. Trends in Microbiology, 2023, 31(8): 872–873.

[12] Han Xiao, Liu Yana, Yuan Yining, et al. Metabolic engineering of *Schizochytrium* sp. for superior docosahexaenoic acid production [J]. Algal Research, 2024, 77: 103355.

[13] Ma Wang, Liu Mengzhen, Zhang Zixu, et al. Efficient co-production of EPA and DHA by *Schizochytrium* sp. via regulation of the polyketide synthase pathway [J]. Communications Biology, 2022, 5(1): 1356.

[14] Zhang Zixu, Wu Hongxuan, Lin Yancheng, et al. Polyketide synthase acyltransferase domain swapping for enhanced EPA recognition and efficient coproduction of EPA and DHA in *Schizochytrium* sp. [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2025, 73(4): 2461–2470.

[15] United Nations. Globally harmonized system of classification and labelling of chemicals (GHS): ninth revised edition [R]. New York and Geneva, 2021.

[16] Menz J, Götz ME, Gündel U, et al. Genotoxicity assessment: opportunities, challenges and perspectives for quantitative evaluations of dose-response data [J]. Archives of Toxicology, 2023, 97(9): 2303–2328.

[17] Zeiger E. The test that changed the world: The Ames test and the regulation of chemicals [J]. Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 2019, 841: 43–48.

[18] Eastmond D A, Hartwig A, Anderson D, et al. Mutagenicity testing for chemical risk assessment: update of the WHO/IPCS harmonized scheme [J]. Mutagenesis, 2009, 24(4): 341–9.

[19] Liu Yinlu, Zhao Jian, Guo Yu, et al. Mutagenic and teratogenic toxicity evaluation of *Forsythia suspensa* leaves aqueous extract [J]. Drug and Chemical Toxicology, 2022, 45(4): 1825–1832.

[20] Turkez H, Arslan M E, Ozdemir O. Genotoxicity testing: progress and prospects for the next decade [J]. Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology, 2017, 13(10): 1089–1098.

[21] Sharma D, Mishra S, Jha G, et al. Bacterial reverse mutation test: Ames test [J]. Methods in Molecular Biology, 2026, 2986: 3–15.

[22] Bak S M, Back S M, Kim D Y, et al. Differential genotoxicity of *Polygoni multiflori* in rat and human: Insights from Ames test and S9 metabolic activation system [J]. Scientific Reports, 2024, 14(1): 21433.

[23] Levy D D, Zeiger E, Escobar P A, et al. Recommended criteria for the evaluation of bacterial mutagenicity data (Ames test) [J]. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 2019, 848:

403074.

[24] Matulka R A, Howell L A, Pratyusha-Chennupati B, et al. Safety evaluation of odd-chain fatty acid algal oil [J]. Food and Chemical Toxicology, 2021, 156: 112444.

[25] Jain A K, Pandey A K. *In vivo* micronucleus assay in mouse bone marrow [J]. Methods in Molecular Biology, 2019, 2031: 135–146.

[26] Schmitt D, Tran N, Peach J, et al. Toxicologic evaluation of DHA-rich algal oil: genotoxicity, acute and subchronic toxicity in rats [J]. Food and Chemical Toxicology, 2012, 50(10): 3567–3576.

[27] Igl B W, Bitsch A, Bringezu F, et al. The rat bone marrow micronucleus test: Statistical considerations on historical negative control data [J]. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2019, 102: 13–22.

[28] Abdel-moneim A M, Essawy A E, Hamed S S, et al. Protective effect of *Nigella sativa* seeds against spermatocyte chromosomal aberrations and genotoxicity induced by carbon tetrachloride in mice [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2017, 24(12): 11677–11682.

[29] 代楠, 李斌, 闵建新, 等. 中药调控 3T3-L1 前脂肪细胞脂质代谢的作用机制研究进展[J]. 中药材, 2025, 48(10): 2656-2665.
Dai Nan, Li Bin, Min Jianxin, et al. Research progress on the mechanism of traditional Chinese medicine regulating lipid metabolism in 3T3-L1 preadipocytes [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2025, 48(10): 2656-2665.

[30] Nartey M N N, Shimizu H, Sugiyama H, et al. Eicosapentaenoic acid induces the inhibition of adipogenesis by reducing the effect of PPARγ activator and mediating PKA activation and increased COX-2 expression in 3T3-L1 cells at the differentiation stage [J]. Life, 2023, 13(8): 1704.

[31] Martins F F, Aguila M B, Mandarim-de-lacerda C A. Eicosapentaenoic and docosapentaenoic acids lessen the expression of PPARγ/Cidec affecting adipogenesis in cultured 3T3-L1 adipocytes [J]. Acta Histochemica, 2020, 122(6): 151504.

[32] Piccolis M, Bond L M, Kampmann M, et al. Probing the global cellular responses to lipotoxicity caused by saturated fatty acids [J]. Molecular Cell, 2019, 74(1): 32–44.

[33] Zhou Heping, Urso C J, Jadeja V. Saturated fatty acids in obesity-associated inflammation [J]. Journal of Inflammation Research, 2020, 13: 1–14.

(责任编辑: 韩晓红 蔡世佳)