

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

臺灣產鄉土蔬菜的生理代謝與毒性試驗之模式建立(2/2)

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC90-2320-B-038-038-

執行期間：90年08月01日至92年07月31日

執行單位：臺北醫學大學保健營養學系

計畫主持人：劉珍芳

計畫參與人員：陳雅妍,陳珮菁,陳巧明,鍾瑩,趙壁玉,張燦如

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫涉及專利或其他智慧財產權，1年後可公開查詢

中 華 民 國 92 年 10 月 31 日

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

台灣產鄉土蔬菜的生理代謝與毒性試驗之模式建立

The metabolism and toxicological effects of indigenous vegetables in Taiwan

計畫編號：NSC90-2320-B-038-038

計畫期限：90年08月01日至92年7月31日

主持人：劉珍芳 執行機構：臺北醫學大學保健營養學系

一、中文摘要

在過去兩年中，在本研究計劃中分別以台灣產的鄉土蔬菜—蕺菜、紫蘇及紅甘藷葉等作為試驗材料，建立其在動物體的生物利用率、代謝、毒性及生理效應等方面實驗模式。本成果報告將以蕺菜為試驗材料的結果為主。

本實驗目的在探討蕺菜的食用安全性，及其中所含的多酚類在動物體的生物利用率、代謝，並進一步利用炸油作為氧化壓力，探討當動物體處於氧化壓力下，蕺菜的添加對動物體生理狀態之影響及蕺菜的生理效應。蕺菜由桃園農改場台北分場栽種，取回經清洗、去除不良部分，再進行冷凍乾燥，之後磨成粉備用。黃豆油作為膳食油脂來源，將其於 200 ± 10 °C 下油炸薯條 24 小時，作為實驗用炸油 (Oxidized frying oil, OFO)。實驗以口服急性毒性試驗 (acute oral LD₅₀ test) 及 28 天餵食實驗進行安全性評估。經過連續 3 天以胃管餵予 ICR 小鼠 15、75、150 mg/kg body weight 之蕺菜粉末後，35 隻小鼠均無毒性及病理變化出現。再以 5~6 週大 Sprague-Dawley 品系雄鼠，分別餵食含 15% 油脂及不同蕺菜含量之下列六組飼料：F0、F200、F500 (新鮮油 + 0、2、5% 乾燥蕺菜粉)、O0、O200、O500 (炸油 + 0、2、5% 乾燥蕺菜粉)，實驗期為 28 天以作為慢性毒性試驗與生理代謝之評估。結果顯示，餵食新鮮油-蕺菜組的老鼠 (F200, F500)，在經 28 天的飼養後，生長正常且所有生化值均在正常範圍內並無慢性毒性發生的情形。而餵食炸油使大鼠血液中

GPT、GOT 之肝功能指數及三酸甘油酯值明顯上升，並使肝臟相對重量顯著增加。蕺菜添加則會顯著增加大鼠血漿中多酚類含量，但餵食炸油會顯著降低大鼠血漿中多酚類含量及增加糞便中多酚類含量，並降低多酚類之外表吸收率。綜合本實驗之結果，蕺菜的食用安全性高，且蕺菜中的多酚類易被大鼠吸收代謝，但油炸了 24 小時後的炸油會增加動物體肝腎器官之負擔，影響血脂值，降低多酚類在動物體內的外表吸收率，同時會改變蕺菜中多酚類對動物體所產生的效應。

關鍵詞：急性、慢性毒性，蕺菜，多酚類，生理代謝，炸油，健康促進

二、Abstract

The aim of this study was to evaluate the safety and the effect of *Houttuynia cordata* thunb on rodents under the oxidized frying oil-induced oxidative stress. The oral LD₅₀ test was used to evaluate the safety. Thirty-five ICR mice fed with 0, 15, 75, 150 mg/kg body weight of *Houttuynia cordata* thunb powder diet respectively for 3 days. No significant changes in biochemical index and histopathology were found in all groups. In the 28-day feeding study, 56 Sprague-Dawley rats fed with 0, 2, 5% *Houttuynia cordata* thunb powder diet and 15% fresh oil or oxidized frying oil. Also, it did not show any significant change on the biochemical parameters. The polyphenol content in plasma increased while feeding

Houttuynia cordata thunb. The apparent absorption of polyphenol of *Houttuynia cordata* thunb was about 92%. However, the apparent absorption of polyphenol decreased when fed with oxidized frying oil diet. In addition, the polyphenol content decreased in plasma and increased in feces while feeding oxidized frying oil. The present results show that administration of *Houttuynia cordata* thunb powder did not induce any toxic effect. The polyphenol in *Houttuynia cordata* thunb could be easily absorbed and metabolized. Oxidized frying oil feeding would decrease the apparent absorption of polyphenol.

Key words : oral LD₅₀ test, *Houttuynia cordata* thunb, polyphenol metabolism, oxidized frying oil, health promotion

三、緣由與目的

根據流行病學的調查，蔬果的攝取量與一些慢性疾病的罹患率呈負相關性。蔬果中除了含有纖維質及一些抗氧化營養素之外，亦含有相當量具有生理效應的 phytochemicals，例如胡蘿蔔素、皂素、植物性固醇及多酚類等。尤其是多酚類是近年來討論最多的一種。多酚類廣存於蔬果、茶及紅酒之中，是其味道、顏色的主要來源。最近的一些研究亦發現其有著特殊的生理效應。但其在動物體的生物利用率、代謝或是否具有毒性等方面並未有相關研究報導。故本研究以鼠作為實驗模式並以 LD₅₀ 口服急性及 28 天慢性毒性試驗作為評估之方法以了解蕺菜食用安全性，及當以油炸油作為動物氧化壓力來源時，探討蕺菜中多酚類的生理代謝及效應。

四、材料與方法

(一) 實驗材料與製備

蕺菜由桃園農業改良場種植，採收後在冷凍乾燥機中進行乾燥，並將之儲存於 -20 備用。1 kg 新鮮蕺菜約可得到 150 g 之乾燥蕺菜。進行實驗前，以磨粉機將之研磨成蕺菜粉末以備用。將 9 公斤黃豆油（統一公司，台南）置於鐵鍋中，以瓦斯爐直接加熱，油溫維持在 200 ±5 。馬鈴薯經削皮後，每次取 100 g，油炸 2~3 分鐘，待馬鈴薯轉變為金黃色後立即撈起。每 30 分鐘炸一批，每天油炸 6 小時，連續油炸 4 天。4 天油炸完畢後，收集炸油且放置於 -20 中保存，以作為日後之實驗用油（Oxidized frying oil, OFO），並進行酸價、共軛雙烯值、總極性物質及過氧化物含量之測定。

(二) 實驗動物、實驗設計與方法

自國科會動物中心購買 5 週大的雄性 ICR 小鼠 35 隻及 5 - 6 週齡之雄性 Sprague - Dawley (SD) 大鼠 56 隻，分別進行急性毒性試驗(LD₅₀)及 28 天的慢性毒性試驗及蕺菜中多酚類的代謝試驗。35 隻小鼠分別以胃管方式餵與 0、15、75、150 mg/kg BWt/day 之蕺菜粉末，連續餵與 3 天並觀察 14 天其生長的情形之後犧牲，進行血液相關生化值及肝、腎組織的病理切片檢驗。初體重為 150 ~ 200 g 的 Sprague - Dawley (SD) 大鼠，在餵予 chow diet 7 天適應期後，先犧牲 8 隻做為 baseline，之後再依體重將鼠隨機分為 6 組，每組 8 隻，分別餵予炸油 (O)、新鮮油 (F)，並分別添加 0 %、2 %、5 % 之蕺菜乾燥粉末，為 O0、O200、O500、F0、F200、F500 等 6 組。在飼養的第 25 天起，收集 3 天糞便，並於實驗期第 28 天將大鼠全數犧牲，取下血液及肝、腎組織，除了測量血液之常規及生化值外，同時依照 Taga 等人的方法，測量

蕺菜飼料、大鼠糞便、血漿及組織中之多酚類含量。全部實驗結果均以平均值 ± 標準偏差 (Mean ± SD) 來表示。以 SAS 套裝軟體，進行數據分析，所有結果變方分析均先以雙因子變異分析 (Two - way ANOVA) 檢定組間差異之顯著性；再以鄧肯式多變異測驗 (Duncan's multiple range test) 檢定組間差異性，以 $p < 0.05$ 表示有統計上差異。

五、結果與討論

(一) 口服急性試驗及 28 天餵食毒性試驗

以胃管餵食四組小鼠平均每公斤體重 0、15、75、150 毫克蕺菜粉末，餵食前體重分別為 30、29.7、30 及 29.6 公克，在餵食 14 天後平均體重分別為 31.4、31.6、32.6 及 32.3 公克，餵食前後體重無顯著差異，各組間亦無顯著差異，當以胃管餵食蕺菜 3 天後小鼠血液生化值，四組間皆無顯著差異。肝臟及腎臟組織病理切片檢查各組間亦無顯著差異。此外，當餵食蕺菜飼料 28 天後，大鼠之血液常規值大鼠之血液常規值均落在正常範圍內，且亦無病理上的改變。顯示在此實驗模式下，蕺菜食用安全性很高。

(二) 蕺菜中多酚類的生理代謝與效應

為了探討多酚類的代謝與生理效應，本實驗選擇以 24-小時油炸油作為氧化壓力的來源。所使用的實驗用油，其酸價、共軛雙烯值、過氧化物及總極性物質含量，均隨著加熱時間的增加而增加。尤其是其總極性物質含量高達 40.14%，已達到可丟棄的標準— 28%，故認為本實驗所用的 24 小時炸油對動物體而言是很強的氧化壓力，適合作為本研究的實驗模式。至於蕺菜含量飼料中之多酚類含量。於 0% 蕺菜飼料中含有少量多酚類化合物，而隨蕺菜添加量之增加，飼料中多酚類含量亦

隨之增加。大鼠餵食蕺菜後，多酚類的外表吸收率約為 92%，於炸油組糞便中多酚類含量顯著較新鮮油組為高。炸油組多酚類之外表吸收率亦顯著較新鮮油組為低。在大鼠之體重增加量方面，餵食 0.5% 的蕺菜飼料組中，於炸油組的體重增加量顯著低於新鮮油組，在飼料攝取及餵食效率方面，各組間無顯著差異。而大鼠之組織重量及相對組織重方面，炸油組的肝臟重及相對肝臟重顯著高於新鮮油組。炸油中成份，可能藉由促進 DNA transcription、穩定 mRNA 或穩定蛋白質的作用，而使得肝臟微粒體中蛋白質含量增加，除此之外，也可能造成內質網增生、CYP 之含量增加，而導致動物體的肝腫大現象。隨著餵食蕺菜量的增加，大鼠血漿及組織中多酚類含量亦會隨之增加。餵食炸油會顯著降低血漿中的多酚類，在肝臟及腎臟多酚類含量方面，則皆不受食用油脂種類及蕺菜含量的影響。此外研究結果顯示，炸油的攝取會降低多酚類在大鼠體內的外表吸收率。而根據 Hackett 的研究指出，油脂在油炸過程中所產生的二級產物，如醛、酮、醇、碳氫化合物等，會抑制哺乳動物腸道菌叢分泌 β -glycosidase，藉由促進多酚類的排泄，進而降低多酚類的外表吸收率。而蕺菜中之多酚類在大鼠體內之外表吸收率會隨蕺菜餵食劑量增加而有升高的趨勢。而隨著餵食時間的增加，肝臟中的多酚類含量並無顯著改變，因此推測肝臟可能參與部分多酚類的代謝，而非多酚類的儲存器官。餵食炸油或蕺菜飼料 28 天後，結果顯示，大鼠之血液常規值，在各組間皆無統計上之差異。在肝功能指數 GOT、GPT 方面，皆以 2% 蕺菜組顯著高於其他組，血脂質方面則發現 2%、5% 蕺菜組的 TG 值，顯著高於對照組。若以餵食油脂種類不同而言，在 GPT、GOT、TG、

LDL-C 方面則在炸油組顯著較高。餵食大鼠蕺菜後，雖然其中蕺菜組之 GOT、GPT 及 TG 比對照組高，但各組均於參考值範圍內。而餵食蕺菜造成大鼠 TG 值上升的原因，除了可能是因為蕺菜中豐富的單醣類造成大鼠體內內生性 TG 的含量上升之外，研究指出，植物中以銅離子為中心的葉綠素-- chlorophyllin，會抑制動物體內 lipase 酵素的活性，而降低 TG 轉變為脂肪酸的機會。蕺菜也可能因為此種因素，而使得大鼠體內 TG 無法轉變為脂肪酸，而導致 TG 值的上升。

由本研究結果可以發現，經口服急性試驗及 28 天的慢性試驗，均沒有發現毒性出現，故推測蕺菜的食用安全性高。蕺菜中的多酚類易被大鼠吸收代謝，其外表吸收率約為 92%。但當餵予油炸 24 小時後的油炸油後會增加動物體肝腎器官之負擔，影響血脂值，同時會改變蕺菜中多酚類對動物體所產生的效應，並降低多酚類在動物體內的外表吸收率。

六、計畫成果與自評

在過去幾年中，本研究團隊主要是擬對台灣產的鄉土蔬菜—蕺菜、紫蘇及紅甘藷葉等作為試驗材料，建立其在動物體(鼠)的生物利用率、生理代謝、生理效應包括抗氧化性、抗致突變性、對肝解毒酵素之影響等方面之實驗模式與探討。這些鄉土蔬菜同為多酚類含量高的蔬菜，所以除了討論多酚類的生理代謝之外，並以餵食炸油作為氧化壓力的來源探討重其生理的效應。目前“蕺菜與紫蘇”方面的研究大多完成，正在進行的是有關紅甘藷葉部分的試驗。已完成兩篇碩士論文的相關試驗的結果已發表於 *J. Nutritional Science & Vitaminology* 2003, 46(5):323-333，另有一篇 in submit，正在審查中，期望 2004

年能刊出，以利相關研究者參考之用。在慢性病罹患率漸增的現在，除了消極的藥物醫療之外，利用飲食與自然新鮮食物達到預防疾病的發生，越來越受到大家的重視，增加蔬菜和水果的攝取對癌症及心血管疾病的預防具相當強之相關性，是有益於健康的食物。而蔬果中這些 phytochemicals 的健康效應更值得去探討。期望本系列的研究結果與所建立的實驗模式，能讓大家對台灣產的鄉土蔬菜之食用安全性及生理效應有全面的了解，如此不但能為臺灣本土蔬果農業打開一條有前途的路，也能將對人體具有生理效應的台灣鄉土蔬菜運用在健康促進及疾病的預防上，為全人類健康謀福祉。

七、參考文獻

- Billek G, Tolliver TJ and Catignani GL (1979) Simultaneous determination of -tocopherol and retinal in plasma or red cells by pressure liquid chromatography. *Am J Clin Nutr* 32: 2143-2149.
- Hackett AM (1986) The metabolism of flavonoid compounds in mammals. *Progr in Clin Biol Res* 213: 177-194.
- Hayase F and Kato H (1984) Antioxidative components of sweet potatoes. *J Nutr Sci Vitaminol* 30:37-46.
- Makino T, Ono T, Muso E and Honda G (1998) Inhibitory effect of *Perilla frutescens* and its phenolic constituents on cultured marine mesangial cell proliferation. *Planta Medica* 64:541-545.
- Nolen GA (1973) A feeding study of a used, partially hydrogenated soybean oil, frying fat in dogs. *J Nutr* 103: 1248-1255.
- Taga MS, Miller EE and Pratt DE (1984) Chia seeds as a source of natural antioxidants. *J Am Oil Chem Soc* 61: 928-931.
- 行政院衛生署 (1998) 台灣地區食品成分資料庫
- 劉珍芳 (1992) 炸油餵食對老鼠體內維生素 E 代謝之影響。國立台灣大學農業化學研究所博士論文。
- 陳珮菁 (2001) 台灣鄉土蔬菜-蕺菜之安全性試驗及生理代謝。台北醫學大學保健營養學研究所碩士論文。
- 陳雅妍 (2002) 蕺菜對餵食炸油之大鼠肝解毒酵素系統之影響及其抗氧化與抗致突變力之效應。台北醫學大學保健營養學研究所碩士論文。