

# 褐藻多酚的毒理学研究\*

姜清香 严小军

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

关键词 褐藻多酚, 食用安全性, 毒理

目前的研究普遍认为, 人体老化导致癌症、心脏病、脑中风等疾病主要是由于自由基未能得到有效清除造成的。因此, 如果食物中含有丰富的抗氧化物质, 就具有益寿延年的作用, 在某种程度上, 可以将现代抗氧化与抗自由基理论看作“药食同源”的分子水平解释。植物含有丰富的自由基清除物质, 大部分属于酚类化合物与类胡萝卜素。根据 Osawa 1995 年的看法, 抗氧化物质丰富的植物品种主要是油粮种子如芝麻、谷类及其幼芽如小麦与麦芽, 另外还有海藻也是主要的抗氧化物质来源。但相对于陆地植物来说, 海藻资源的筛选与研究还处于初步阶段。因此, 海藻抗氧化剂的研究不仅是为寻找用于食用油脂酸败的合成抗氧化剂天然替代品, 而且在保健、医药方面具有巨大的研究动力和市场背景。研究结果已经表明, 褐藻中的多酚化合物具有抗氧化活性, 是潜在的食用天然抗氧化剂<sup>21</sup>。因此, 为了确定褐藻多酚的食用安全性, 作者进行了褐藻多酚的毒理学研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 褐藻多酚 按照 Yan 等 1996 年的提取方法制备。

表 1 大白鼠 90 d 饲养试验中期血常规表

Tab.1 Blood counting on mouse at mid-term of 90 day's feeding experiment

性别	分组	RBC( $\times 10^{12}/L$ )	WBC( $\times 10^9/L$ )	PC( $\times 10^9/L$ )	网织红细胞(%)
♀	对照	7.05 ± 0.07	14.75 ± 3.04	350 ± 79.2	2.9 ± 0.28
	2% LD <sub>50</sub>	7.50 ± 0.99	14.52 ± 0.99	309 ± 24.0	2.4 ± 0.63
	6% LD <sub>50</sub>	8.60 ± 0.28	11.35 ± 1.06	311 ± 35.4	3.0 ± 0.57
	18% LD <sub>50</sub>	7.15 ± 0.07	15.81 ± 1.41	319 ± 66.5	3.2 ± 0.49
♂	对照	7.05 ± 0.21	15.42 ± 2.55	316 ± 25.5	2.0 ± 0.14
	2% LD <sub>50</sub>	7.43 ± 0.46	16.01 ± 0.57	350 ± 50.9	2.8 ± 0.64
	6% LD <sub>50</sub>	7.35 ± 0.21	13.62 ± 2.36	382 ± 14.1	3.1 ± 0.35
	18% LD <sub>50</sub>	8.08 ± 0.85	15.33 ± 1.27	386 ± 19.8	3.3 ± 0.49

♂, ♀动物数分别为 10 只(表 2, 3, 4, 5 同)。

表 2 大白鼠 90 d 饲养试验末期血常规表

Tab.2 Blood counting on mouse after the 90 day's feeding experiment

性别	分组	RBC( $\times 10^{12}/L$ )	WBC( $\times 10^9/L$ )	PC( $\times 10^9/L$ )	网织红细胞(%)
♀	对照	8.32 ± 0.51	9.93 ± 1.40	304 ± 83.57	2.57 ± 0.71
	2% LD <sub>50</sub>	8.17 ± 0.35	10.97 ± 1.07	311 ± 56.24	2.35 ± 1.10
	6% LD <sub>50</sub>	8.53 ± 0.25	9.53 ± 1.70	265 ± 64.31	2.95 ± 0.49
	18% LD <sub>50</sub>	8.15 ± 0.35	10.20 ± 0.85	260 ± 50.66	3.25 ± 0.71
♂	对照	8.25 ± 0.53	9.42 ± 0.46	289 ± 24.05	3.16 ± 0.44
	2% LD <sub>50</sub>	8.40 ± 0.42	10.25 ± 0.78	306 ± 61.36	2.85 ± 1.06
	6% LD <sub>50</sub>	8.65 ± 0.78	10.60 ± 1.13	322 ± 62.93	2.44 ± 0.71
	18% LD <sub>50</sub>	7.90 ± 0.28	11.00 ± 1.37	297 ± 81.22	2.73 ± 0.45

表 3 大白鼠 90 d 饲养试验体重变化

Tab.3 Weight changes during 90 day's feeding experiment

性别	分组	体重(g)		
		试验前	40 d	90 d
♀	对照	95.60 ± 5.44	243.26 ± 9.23	350.00 ± 79.2
	2% LD <sub>50</sub>	93.20 ± 7.32	238.14 ± 7.71	328.80 ± 24.41
	6% LD <sub>50</sub>	94.32 ± 8.96	240.65 ± 6.23	334.00 ± 16.60
	18% LD <sub>50</sub>	96.44 ± 6.23	250.53 ± 7.06	355.50 ± 18.89
♂	对照	85.45 ± 6.21	195.16 ± 5.31	221.60 ± 7.69
	2% LD <sub>50</sub>	88.96 ± 7.31	210.86 ± 6.75	233.76 ± 13.61
	6% LD <sub>50</sub>	86.66 ± 5.23	204.75 ± 7.73	223.30 ± 6.72
	18% LD <sub>50</sub>	87.74 ± 2.12	206.56 ± 9.22	227.28 ± 12.65

\* 国家九五攻关项目 96-916-04-01 号; 中国科学院海洋研究所调查报告第 3834 号。

收稿日期: 1999-12-14; 修回日期: 2000-04-12

1.1.2 多酚的食用安全性毒理学评价程序与方法按照 GB15193-94 进行,由青岛市卫生防疫站负责实验测试。

## 1.2 方法

1.2.1 小鼠急性毒性试验采用寇氏(Korbor)法测定半数致死量(LD<sub>50</sub>),实验动物为昆明种健康成年小白鼠,雌雄各40只,给药途径为口服。

1.2.2 大鼠90 d 喂养试验方法如下:动物及分组:由青岛市动物中心提供健康 Wistar 大鼠80只,体重90 g左右,随机分为4组,每组20只,雌雄各半,设1对照组,其余为试验组,剂量为该样品 LD<sub>50</sub>的2%,6%和18%。

## 2 实验结果

### 2.1 小鼠急性毒性试验

褐藻多酚的半数致死量为(LD<sub>50</sub>)为1230×10<sup>-6</sup>,95%可信限为791.4~1912.4×10<sup>-6</sup>。根据世界卫生组织1997年的化学物质急性毒性分级标准,小鼠口服实验 LD<sub>50</sub>在500×10<sup>-6</sup>~5000×10<sup>-6</sup>的为低毒物质,因此认为海藻多酚抗氧化剂为低毒物质。

### 2.2 大鼠90 d 喂养试验

急性毒性只能反映一次给药的毒性症状或致死量,但是大多数药物均需连续用药一个疗程,连续用药时药物毒性是否有蓄积性,必须连续多次给药才能反映出来。因此,设计了90 d 大白鼠喂养实验。除了观察实验动物的体重、行为、饮食以及粪便情况外,同时测定各项血液指标和生化指标。血液常规检查除常

表5 大白鼠90 d 喂养试验末期血生化分析

Tab.5 Blood biochemical analysis on mouse after 90 day's feeding experiment

组别	对照组	2% LD <sub>50</sub>	6% LD <sub>50</sub>	18% LD <sub>50</sub>
血糖 (mmol/L)	5.28 ± 0.56	6.08 ± 0.59	5.39 ± 1.25	6.53 ± 0.23
ALT (U/L)	5.59 ± 0.40	4.17 ± 0.77	7.29 ± 0.30	6.55 ± 0.15
AST (U/L)	48.3 ± 4.72	35.3 ± 2.15	29.7 ± 4.93	34.5 ± 4.24
TP (g/L)	41.5 ± 2.17	30.6 ± 5.66	29.5 ± 2.12	30.6 ± 1.56
ALB (g/L)	121.7 ± 41.8	138.6 ± 20.6	147.3 ± 15.0	109.5 ± 23.3
球蛋白 (%)	101.5 ± 12.1	128.5 ± 16.9	128.6 ± 28.3	114.4 ± 34.2
BUN (mmol/L)	68.3 ± 2.35	57.5 ± 1.36	65.9 ± 4.08	62.8 ± 1.92
肌酐 (μmol/L)	64.8 ± 6.62	63.3 ± 7.12	62.9 ± 2.15	65.8 ± 2.34
胆固醇 (μmol/L)	22.8 ± 0.96	21.6 ± 0.66	21.6 ± 1.76	20.9 ± 1.34
	22.4 ± 0.64	18.8 ± 1.20	18.5 ± 0.14	21.2 ± 2.90
	45.9 ± 0.95	36.5 ± 1.72	44.3 ± 2.85	41.4 ± 2.66
	42.4 ± 6.22	44.5 ± 5.93	43.4 ± 3.68	44.9 ± 2.45
	8.75 ± 1.47	9.86 ± 1.62	7.82 ± 1.94	7.84 ± 0.38
	6.48 ± 0.56	10.04 ± 2.42	6.74 ± 0.46	9.19 ± 0.85
	41.4 ± 4.92	35.4 ± 8.82	38.7 ± 7.83	41.5 ± 2.17
	44.6 ± 6.15	37.5 ± 1.64	35.8 ± 7.60	40.8 ± 3.75
	2.17 ± 0.22	2.53 ± 0.13	1.95 ± 0.24	1.69 ± 0.15
	2.25 ± 0.12	2.12 ± 0.15	1.93 ± 0.18	2.39 ± 0.17

注:♀,♂动物数分别为10只。

见的红细胞、白细胞、血小板指标外,网织红细胞是一项重要指标。网织红细胞由晚幼红细胞演变而来,为未成熟的红细胞,因此,网织红细胞指标是骨髓造血细胞能力的指征。表1与表2分别为大白鼠90 d 喂养试验中期与末期的血常规检查结果。结果表明,对照组和3个样品组(2%,6%,18%LD<sub>50</sub>)的各项血常规指标,包括红细胞数量、白细胞数量、网织红数量及血小板数量均无明显差异,说明血液及其骨髓造血机能均正常。另外,动物的体重变化和脏体比也是重要的病理学指标,表3为大白鼠90 d 喂养试验体重变化结果,表4为大白鼠90 d 喂养脏体系数。结果表明,对照组和样品组也无明显差异。

表4 大白鼠90 d 喂养脏体系数

Tab.4 Ratio of liver and kidney to weight of mouse after 90 day's feed experiment

性别	分组	脏体系数	
		肝/体	肾/体
♀	对照	3.81 ± 0.24	0.73 ± 0.25
	2% LD <sub>50</sub>	3.67 ± 0.42	0.71 ± 0.08
	6% LD <sub>50</sub>	3.95 ± 0.21	0.74 ± 0.02
	18% LD <sub>50</sub>	3.96 ± 0.31	0.75 ± 0.05
♂	对照	3.74 ± 0.13	0.88 ± 0.05
	2% LD <sub>50</sub>	3.68 ± 0.14	0.83 ± 0.03
	6% LD <sub>50</sub>	3.63 ± 0.14	0.82 ± 0.06
	18% LD <sub>50</sub>	3.67 ± 0.12	0.82 ± 0.06

实验还对完成90 d 喂养试验的大白鼠进行了各项血液生化指标进行了测定,这些指标可以更加详细地反映实验动物的生存状态。例如:BUN(血浆尿素氮)、血浆中的非蛋白氮指体内蛋白质代谢产物尿素、尿酸、肌酐、氨基酸、氨等所含氮,其主要成分是尿素氮,次要成分是肌酐。血浆中非蛋白氮增高称为氮质血症,常见于肾脏疾病或急性感染,本研究结果未见异常。其他指标,包括血糖、ALT(谷丙转氨酶)、AS T(谷草转氨酶)、TP(血小板)、ALB(白蛋白)、球蛋白、胆固醇等也未见异常(表5)。

## 3 结论

上述试验结果表明,褐藻多酚在小鼠急性毒性试验中属于低毒化学物质;在大鼠的90 d 喂养试验中,实验

期间内未发生动物异常反应及死亡。试验过程中的血象常规检查、体重变化、脏器系数、血液生化检查结果均与对照组无显著性差异,病理检查也未见异常。因此,可以肯定,褐藻多酚是食用安全的天然抗氧化活性物质,可以进行进一步的产业化开发。🌿

#### 参考文献

- 1 Yan X., Li X. . *J. Appl. Phycol.*, 1996, 8, 201 ~ 203
- 2 Yan X., Li X. . *et al.* . *Chin. J. Oceanol. Limnol.*, 1996, 15(1) :42 ~ 45

## TOXICOLOGICAL STUDY ON BROWN ALGAL POLYPHENOLS

LOU Qing-xiang    YAN Xiao-jun

(*Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071*)

Received: Dec., 14, 1999

**Key Words:** Brown algal polyphenol, Diet security, Toxicology

### Abstract

To determine the diet security of brown algal polyphenols, we studied the acute toxicity and 90 day's feed toxicity on brown algal polyphenols isolated from *Sargassum kjellmanianum*. The lethal dose 50 for rat is  $1\ 230 \times 10^{-6}$ , with 95% confidence ranged from  $791.4 \times 10^{-6}$  to  $1\ 912.4 \times 10^{-6}$ . The 90 day's feeding experiment showed that the mice administered brown algal polyphenols maintain regular conditions, with no difference to the control group on blood biochemical index, weight, and pathology analysis. The results indicated that brown algal polyphenols is safe as food additive.

(本文编辑:张培新)