

茶多酚急性毒性试验研究

袁根良*, 蒋 丽, 殷光玲

(汤臣倍健股份有限公司, 广州 510663)

摘 要: **目的** 对茶多酚的急性毒性进行研究, 为其在保健食品中的应用提供理论依据。 **方法** 将大鼠分为 6 个组, 大鼠灌胃剂量分别为 1.00、2.15、4.64、10.0、21.5 g/kg 和空白对照组。按大鼠体重 20 mL/kg 给予各浓度的受试液灌胃, 每天灌胃 2 次, 连续灌胃 14 d。 **结果** 高剂量茶多酚灌胃大鼠后相继出现死亡, 低剂量组 (1.00 g/kg、2.15 g/kg) 大鼠于 14 d 后解剖观察, 未发现明显异常; 与空白对照组比较, 大鼠脏器重和脏体比, 无显著差异 ($P>0.05$)。各剂量组大鼠体重与对照组比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。 **结论** 茶多酚属低毒级, 在以后的生产应用中应该注意其用量。

关键词: 茶多酚; 毒理学; 急性毒性

Experimental study on acute toxicity of tea polyphenols

YUAN Gen-Liang*, JIANG Li, YIN Guang-Ling

(By-Health Co., Ltd., Guangzhou 510663, China)

ABSTRACT: Objective To study the acute toxicity of tea polyphenols in order to provide a theoretical basis for the application in health food. **Methods** The rats were divided into 6 groups, i.e., the five groups fed with the intragastric dose of 1.00, 2.15, 4.64, 10.0, 21.5 g/kg respectively and the blank control group. The rats were given test solutions of different concentrations by the weight capacity of 20 mL/kg, twice a day for consecutive 14 days. **Results** Successional death occurred in rats fed with high doses of polyphenols. No obvious abnormalities were observed in rats of low dose groups (1.00 g/kg, 2.15 g/kg) after dissection at 14 d. There were no significant differences in the organ weight and the ratio of organ to body weight compared with the control group ($P>0.05$). There was no statistical significance in the body weight in comparison of the rats in each dose group and the control group ($P>0.05$). **Conclusion** Tea polyphenols are at low toxicity level, and attentions should be paid to their dosage during the production and application of tea polyphenols in the future.

KEY WORDS: tea polyphenols; toxicology; acute toxicity

1 引 言

茶是一种养生的保健饮料,《本草拾遗》中有“诸药为各病之药,茶为万病之药”的论述。联合国联合国粮食及农业组织(FAO)以现代医学进行茶与人体健康的研究认为“茶叶几乎可以证明是一种广谱的,

对多种人体常见病有预防效果的保健食品,而其有效成分是茶多酚(tea polyphenols, TP),茶多酚以儿茶素、表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)为主”^[1]。茶多酚又名茶鞣质、茶单宁,是茶叶中类多羟基酚类化合物的总称,占茶叶总重量的 20%左右。纯茶多酚为白色晶体,易溶于水和有机溶剂,主要包括儿茶素

*通讯作者: 袁根良, 硕士, 工程师, 主要研究方向为功能食品。E-mail: yuangenliang405@163.com

*Corresponding author: YUAN Gen-Liang, Master, Engineer, Product Development Specialist of By-health Co., Ltd., No.3 Kehui 3rd Street, No.99 Kexue Avenue Central, Science City, Luogang District, Guangzhou 510663, China. E-mail: yuangenliang405@163.com

类、黄烷醇类、花色苷类、黄酮类、黄酮醇类和酚酸类等^[2],具有减肥、抗氧化、预防心脑血管疾病、预防癌症和抗辐射等多种功效^[3-8]。近年来,茶多酚作为保鲜剂和抗氧化剂应用于食品工业,如动植物油、肉制品、乳制品、水产品、糕点、饮料等^[9,10]。有关茶多酚急性毒性安全性评价也有相关的报道^[11-14],但是不同研究评价的结果存在差异。为了更全面地了解茶多酚的安全性,为今后茶多酚在食品和保健食品中的应用提供一定的理论基础。本研究按原卫生部发布的《食品安全性毒理学评价程序和方法》^[15]和《保健食品检验与评价技术规范》^[16]的相关要求,对其急性毒性进行评价。

2 材料和方法

2.1 实验材料

2.1.1 样品及处理方法

茶多酚:宁波某制药公司提供,茶多酚含量:98.16%(《QB2154 食品添加剂茶多酚》方法检测)。

受试液制备:准确称取受试物 125 g,加入去离子水配制成 0.3583 g/mL 的受试物溶液;根据此溶液分别配制成 0.25、0.116、0.0538、0.025 g/mL 的受试物溶液。

2.1.2 试验动物

SD 大鼠,SPF 级,由广东省医学实验动物中心提供(实验动物质量合格证明编号:44007200011373),60 只,雌雄各半。

实验开始时大鼠体重:157.2~219.1 g;试验环境温度:22.4~23.5℃,相对湿度:58.5%~66.0%。实验大鼠试验前在动物房环境中适应 3 d。

2.2 实验方法

2.2.1 SD 大鼠急性毒性试验

60 只大鼠随机分为 6 个组,10 只/组,雌雄各半,剂量组分设为 1.00、2.15、4.64、10.0、21.5 g/kg 5 个剂量组和空白对照组(给予同容量的生理盐水)。大鼠禁食不禁水约 16 h,按大鼠体重 20 mL/kg 给予各浓度的受试液灌胃,每天进行灌胃 2 次,间隔 2 h,灌胃完成后继续禁食 3 h。

2.2.2 SD 大鼠急性毒性试验观察方法与指标

初试,详细观察并记录灌胃后 4 h 内大鼠的身体各机体反应情况,以后则每天仅需观察 1 次并记录相关数据,连续观察 14 d。记录各组大鼠的死亡情况、中毒症状及中毒反应的起始时间、严重程度、持续时

间及是否可逆等。连续观察 14 d,在灌胃当天(d 0)、第 1 天(d 1)、第 3 天(d 3)、第 7 天(d 7)及第 14 天(d 14)称量大鼠体重 1 次。记录体重和进食量并计算食物利用率。实验期末摘眼球取血进行血液学和血生化检查,将大鼠用断头法处死,对每只大鼠进行脏器大体观察,同时取肝、肾、脾脏和睾丸(卵巢)称重并计算脏体比,进行病理组织学检查。

2.3 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计软件进行分析,计量资料采用均数($\bar{x} \pm s$)表示,用重复测量数据的方差分析和 *t* 检验统计, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果与讨论

3.1 一般临床观察结果

21.5 g/kg 剂量组大鼠在首次灌胃 46 min 后,出现精神萎靡不振、匍匐症状,于第 2 次灌胃 39 min 后相继全部死亡;10.0 g/kg 剂量组大鼠在首次灌胃 50 min 后出现精神萎靡不振、匍匐等症状,9 只大鼠(4 雄 5 雌)于末次灌胃 38 min 后相继全部死亡,最后一只大鼠于 d 1 死亡;4.64 g/kg 剂量组 4 只大鼠(1 雄 3 雌)在首次灌胃 75 min 后出现精神萎靡不振、匍匐行走症状,末次灌胃 45 min 后相继死亡,其余 6 只大鼠于 d 2~d 4 相继死亡;2.15 g/kg 剂量组大鼠在灌胃当天未见异常,2 只大鼠(1 雄 1 雌)于 d3 出现明显消瘦,雌性大鼠同时出现精神萎靡于 d4 死亡;1.00 g/kg 剂量组大鼠在灌胃当天及试验期间均未见异常反应。

3.2 大鼠体重的变化

对大鼠体重的影响:给药前,受试药各剂量组大鼠体重与对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。在试验期间,受试药各剂量组大鼠体重增长正常,与对照组比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。大鼠外观、行为和表现无异常。说明该茶多酚对大鼠体重增长、食物利用率无明显影响。茶多酚对大鼠急性经口毒性体重的影响见表 1。

3.3 解剖观察

死亡大鼠脏器肉眼观察均未发现组织脏器出现体积、颜色、质地等异常改变;存活的大鼠于 14 d 后解剖,肉眼观察均未发现组织脏器出现体积、颜色、质地等异常改变。因此本文未对大鼠血液生化、脏器、病理学组织进一步的研究。

表 1 茶多酚对大鼠急性经口毒性试验期间体重的影响(g)
Table 1 Effects of tea polyphenols on body weight during acute oral toxicity test in rats (g)

剂量 (g/kg·bw)	性别	测定时间/d									
		0		1		3		7		14	
		<i>n</i>	$\bar{x} \pm s$	<i>n</i>	$\bar{x} \pm s$	<i>n</i>	$\bar{x} \pm s$	<i>n</i>	$\bar{x} \pm s$	<i>n</i>	$\bar{x} \pm s$
1.00	♂	5	192.5±19.0	5	214.4±18.9	5	234.8±21.9	5	237.8±21.6	5	314.2±20.7
	♀	5	175.4±7.5	5	195.9±11.3	5	208.9±10.6	5	213.6±10.5	5	250.1±19.2
2.15	♂	5	198.4±15.3	5	215.3±14.3	5	226.2±7.3	5	256.9±10.6	5	328.0±18.4
	♀	5	175.7±9.3	5	190.8±12.0	5	196.2±21.0	4	222.2±20.8	4	242.1±21.5
4.64	♂	5	197.4±13.4	4	207.5±10.5	1	183.6	0	0	0	0
	♀	5	175.6±12.3	2	186.3±4.5	0	0	0	0	0	0
10.0	♂	5	197.2±13.4	0	0	0	0	0	0	0	0
	♀	5	171.7±10.9	0	0	0	0	0	0	0	0
21.5	♂	5	191.9±14.3	0	0	0	0	0	0	0	0
	♀	5	174.5±9.5	0	0	0	0	0	0	0	0
空白对照	♂	5	186.4±15.0	5	206.4±15.6	5	232.8±17.7	5	234.5±19.1	5	294.2±21.5
	♀	5	169.4±8.3	5	197.6±10.5	5	206.5±11.4	5	215.4±11.3	5	260.1±18.3

3.4 病理组织学检查

低剂量组大鼠于 14 d 后解剖观察, 未发现明显异常, 肝、脾、肾、睾丸、卵巢脏器结构完整, 表观外形正常, 细胞形态未见异常, 大鼠脏器重和脏体比, 与阴性对照组比较, 无显著差异($P>0.05$)。检查结果表明, 低剂量茶多酚对大鼠没有明显毒性。

3.5 LD₅₀、95%置信区间及毒性分级

受试大鼠在 d 1~d 14 内陆续出现死亡现象, 在 14 d 的观察期间, 1.00、2.15、4.64、10.0、21.5 g/kg 剂量组死亡动物数雄性大鼠分别为 0 只、0 只、5 只、5 只、5 只, 雌性大鼠分别为 0 只、1 只、5 只、5 只、5 只。依据《保健食品检验与评价技术规范》附录 A、附录 D 查出该受试物的 LD₅₀ 值、95%可信限范围及毒性分级, 剂量分级表见表 2。

表 2 急性毒性(LD₅₀)剂量分级表
Table 2 Dosage grading table of acute toxicity (LD₅₀)

级别	大鼠口服 LD ₅₀ (mg/kg)
极毒	< 1
剧毒	1~50
中等毒	51~500
低毒	501~5000
实际无毒	5001~15000
无毒	> 15000

由此得出茶多酚对雄性 SD 大鼠急性经口毒性 LD₅₀ 为 3.16 g/kg, 属低毒级; 对雌性 SD 大鼠急性经口毒性 LD₅₀ 为 2.71 g/kg, 95%可信限为 2.00~3.69 g/kg, 属低毒级。

4 讨 论

本实验观察到的现象, 高剂量组茶多酚灌胃大鼠后相继出现死亡, 低剂量组大鼠未见异常, 这与吉宁^[13]观察的急性毒性反应相同。基于本实验条件, 茶多酚雄性 SD 大鼠急性经口毒性 LD₅₀ 为 3.16g/kg, 低毒; 对雌性 SD 大鼠急性经口毒性 LD₅₀ 为 2.71g/kg, 95%可信限为 2.00~3.69 g/kg, 低毒。综上所述, 根据 LD₅₀ 剂量分级标准, 茶多酚属低毒级, 未来在应用茶多酚的时候, 需要注意每日的食用量。

参考文献

- [1] 邬新荣, 王岳飞, 张士康, 等. 茶多酚保健功能研究进展与保健食品开发[J]. 茶叶科学, 2010, 30(增刊 1): 501-505.
Wu XR, Wang YF, Zhang SK, et al. Research progress on the health functions of tea polyphenols and development of healthy foods [J]. J Tea Sci, 2010, 30(Suppl.1): 501-505.
- [2] 杨晓萍, 覃筱燕. 茶多酚药理活性的研究进展[J]. 中央民族大学学报(自然科学版), 2013, 22(3): 24-28.
Yang XP, Qin YY. Research progress on pharmacological activity of tea polyphenols [J]. J MUC(Nat Sci Ed), 2013, 22(3): 24-28.

- [3] 张宝红,唐言利,萧凤仪,等.茶多酚对奥氮平诱导肥胖大鼠的减肥及调脂作用[J].海峡药学,2010,22(8):38-39.
Zhang BH, Tang YL, Xiao FY, *et al.* Reducing obesity and regulating serum lipid of tea polyphenols on obesity rats induced by olanzapine [J]. Strait Pharm J, 2010, 22(8): 38-39.
- [4] 吴亮宇,林金科.茶多酚抗辐射研究进展[J].茶叶,2011,37(4):213-217.
Wu LY, Lin JK. Mechanisms of tea polyphenol attenuating radiation-induced damage in vitro or in vivo [J]. J Tea, 2011, 37(4): 213-217.
- [5] 郭绍来,胡园,刘屏,等.茶多酚及其主要成分EGCG在辐射损伤小鼠模型中的保护作用[J].中国中药杂志,2010,35(10):1328-1331.
Guo SL, Hu Y, Liu P, *et al.* Protective activity of different concentration of tea polyphenols and its major compound EGCG against whole body irradiation-induced injury in mice [J]. China J Chin Materia Med, 2010, 35(10): 1328-1331.
- [6] 王安琴,郜蕊,吕俊华.茶多酚对高脂-高盐-果糖致大鼠左心室肥厚的抑制作用及其抗氧化机制[J].中药材,2012,35(5):769-772.
Wang AQ, Gao R, Lv JH. Inhibitory effect of tea polyphenols on left ventricular hypertrophy in rats with high fat and high salt fructose and its anti-oxidative mechanism [J]. J Chin Med Mater, 2012, 35(5): 769-772.
- [7] 赵立春,岳桂华.茶多酚在心血管疾病方面药效学研究[J].亚太传统医药,2009,10(5):144-146.
Zhao LC, Yue GH. Research on pharmacodynamics of tea polyphenols with cardiovascular disease [J]. Asia-Pacific Tradit Med, 2009, 10(5): 144-146.
- [8] Yang CS. Cancer prevention by vitamin E and tea polyphenols: lessons learned from studies in animal models and humans [J]. Prog Chem, 2013, 25(9): 1492-1500.
- [9] 于春霞,王宇,王爱青.茶多酚的应用研究进展[J].辽宁化工,2012,08:809-812.
Yu CX, Wang Y, Wang AQ. Research progress of application of tea polyphenols [J]. Liaoning Chem Ind, 2012, 08: 809-812.
- [10] 李鹏鹏,关志强,李敏,等.茶多酚对冻藏罗非鱼片品质的影响[J].食品与发酵工业,2015,41(3):112-117.
LI PP, Guan ZQ, Li M, *et al.* Effects of tea polyphenols on the quality of frozen tilapia fillet [J]. Food Ferment Ind, 2015, 41(3): 112-117.
- [11] 刘冬英,傅颖,梅松,等.茶多酚的毒理学安全性评价[J].毒理学杂志,2009,23(1):88-89.
Liu DY, Fu Y, Mei S, *et al.* Toxicological safety evaluation of tea polyphenols [J]. J Toxicol, 2009, 23(1): 88-89.
- [12] 宋小鸽,袁静,唐照亮,等.茶多酚急性、慢性毒性实验研究[J].安徽中医学院学报,1999,18(2):37-39.
Song XG, Yuan J, Tang ZL, *et al.* Acute and chronic toxicity test of tea polyphenols [J]. J Anhui Tradit Chin Med Coll, 1999, 18(2): 37-39.
- [13] 吉宁.茶多酚毒理学安全性及抗氧化作用评价[D].北京:中国疾病预防控制中心,2008.
Ji N. Evaluation on the toxicological safety and anti-oxidative effects of tea polyphenols [D]. Beijing: Chinese Center for Disease Control and Prevention, 2008.
- [14] 林梁鹏,何普明,朱跃进.酰化茶多酚的安全性毒理学评价[D].杭州:浙江大学,2015.
Lin LP, He PM, Zhu YJ. Toxicological assessment of liposoluble tea polyphenols [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2015.
- [15] GB 15193.1-2003 食品安全性毒理学评价程序和方法[S].
GB 15193.1-2003 Food safety toxicology evaluation program [S].
- [16] 中华人民共和国卫生部.保健食品检验与评价技术规范[Z].2003:177-223.
Ministry of Health, PRC. Technical specification for inspection and evaluation of health food [Z]. 2003: 177-223.

(责任编辑:杨翠娜)

作者简介



袁根良,硕士,工程师,主要研究方向为功能食品。

E-mail: yuangenliang405@163.com