

# 山藥冷凍乾燥粉對大鼠 28 天餵飼之安全性評估

廖俊旺<sup>1</sup> 王順成<sup>1</sup> 劉新裕<sup>2</sup> 黃振聲<sup>1\*</sup>

1. 台中縣 行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所
2. 台中縣 行政院農業委員會農業試驗所

(接受日期：中華民國 91 年 5 月 10 日)

## 摘 要

廖俊旺、王順成、劉新裕、黃振聲\* 2002 山藥冷凍乾燥粉對大鼠 28 天餵飼之安全性評估 植保會刊 44 : 75 - 88

本研究主要探討冷凍乾燥山藥粉單次劑量及 28 天連續餵飼大鼠之安全性。以單次最高限制劑量 5,000 mg/kg BW 山藥粉，經胃管強迫餵飼大鼠並連續觀察 14 天，結果顯示，經胃管強迫餵飼高劑量之山藥粉並未造成大鼠急性中毒或死亡。進一步選擇以 500, 1,000 及 2,000 mg/kg BW 山藥粉，每日胃管強迫餵飼大鼠連續 28 天，結果顯示，山藥粉經長期餵飼後並未引起大鼠慢性中毒或死亡。試驗期間檢查眼球底部，在 2,000 mg/kg BW 高劑量處理組與對照組之大鼠無明顯異常。除在高劑量組之雄鼠體重僅在第 4 週有增重外，其他各組雄鼠及雌鼠均不受影響。飼料消耗量方面，在處理組雌、雄鼠亦無明顯減少。另外，分析各處理組大鼠之血液相及血清生化檢查，雖然部份檢查項目與對照組比較有差異，但並無臨床病理學上顯著意義。唯實驗中發現，餵飼山藥粉大鼠之血清膽固醇、三酸甘油酯及總蛋白含量，均比對照組上升，推測山藥粉具有促進體內蛋白質生成，並改善營養狀態之效果，其中膽固醇與體內類固醇及其他荷爾蒙合成有關。試驗結束後，所有大鼠經大體解剖觀察，評估體內臟器之肉眼及組織病理變化，各處理組均無明顯毒性病理變化。綜合以上結果，餵飼山藥粉對大鼠不具口服急毒性及 28 天餵飼毒性，由此推估，山藥粉對大鼠餵飼 28 天之無毒害作用劑量 (NOAEL) 大於 2,000 mg/kg BW，山藥長期食用對哺乳動物安全性高。

(關鍵詞：山藥、28 天餵飼安全性、大鼠)

---

\* 通訊作者。E-mail: jshwang@tactri.gov.tw

## 緒 言

目前疾病之預防與治療大部份均仰賴合成藥物，而今大眾對自身健康意識覺醒，具有保健功效的食品，常作為疾病治療之輔助食品，各國衛生機關亦已逐漸重視，並且由政府主動開發藥用與保健食品的相關產業。目前市售具保健功效之藥用與健康食品，如：靈芝有滋補強壯及抗癌等功能<sup>(16)</sup>及降低膽固醇的生成<sup>(13)</sup>，人尿有抑制小鼠肝腫瘤發生<sup>(21)</sup>，人參會抑制細胞色素 P450 的活性，進而降低四氯化碳所誘導肝臟脂質過氧化的程度<sup>(12)</sup>，台灣多種青草藥亦被證實具有降低對初代肝細胞毒性，進而達到保肝的功效<sup>(15)</sup>。然而，一般人對醫學認知仍不足，藥用與健康食品的品質良莠不齊，不但功效無法獲得保證，甚有傷害人體的案例發生<sup>(17)</sup>。有鑑於此，我國衛生署已公告「健康食品安全及功效評估方法」等多種測試方法並加以規範<sup>(4)</sup>，藉以保障民眾選用藥用與農產保健食品之安全。農委會（86 農特字第 30713 號函）及衛生署（衛署食字第 85024204 號函）均明文規定藥用與農產保健食品之開發與利用，應先進行一系列之安全性評估，再作為日後推廣之依據，以確保對人體之食用安全性並提升附加價值。在台灣，長久以來被用來作為人體保健藥方之藥用與保健植物等約達 2,000 種，目前正研議 45 種可供藥膳食用之材料，可視為食品，唯其長期大量食用之安全性，大部份仍缺乏科學依據，值得重視。

山藥（Yam）為薯蕷科（Dioscoreaceae）薯蕷屬（*Dioscorea*）多年生蔓性之根莖類植物。山藥塊莖富含營養，可供食用、藥用或保健用，同時亦為高產量的作物之一，為目前農委會極力推廣農產保健食品之一。山藥種類很多且品系繁雜，形態變異頗大，生產力差異亦大。目前已可經由 Randomly Amplified Polymorphic DNA（RAPD）法鑑

定山藥藥材之基原<sup>(2)</sup>。在全球眾多山藥種原中，最具生產力的為 *D. alata* L.、*D. esculenta* (Lour.) Burk.、*D. rotundata* (L.) Poir.、*D. cayenensis* Lam. 及 *D. bulbifera* L. 等<sup>(3)</sup>。已知山藥大汕三品系及二刺品系具有很高之過氧化酵素（peroxidase）及多酚氧化酵素（polyphenol oxidase）等活性<sup>(1,3)</sup>；青森品系含有高量之  $P^{3-}$ 、 $K^{+}$ 、 $Ca^{2+}$ 、 $Mg^{2+}$ 、 $Fe^{2+}$ 、 $Mn^{2+}$ 、 $Cu^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$ ，且塊莖亦具頗高之過氧化酵素活性<sup>(3)</sup>，對人體生理功能需求相當重要。唯山藥塊莖因含有多酚氧化酵素，經去皮後易生褐變反應，影響商品價值<sup>(19)</sup>，故擬將山藥塊莖經冷凍乾燥方式，製成山藥冷凍乾燥粉，可易於保鮮與調理，但山藥冷凍乾燥粉經長期大量食用後，是否影響人體健康，目前仍未有動物試驗證實。因此，本研究擬探討山藥冷凍乾燥粉對大鼠 28 天餵飼之安全性評估，希冀藉此釐清山藥長期食用之安全性，並提供政府及民眾對農產保健食品開發之管理及選用安全性之參考。

## 材料與方法

### 供試藥劑

山藥（大汕三品系）冷凍乾燥粉為農試所農藝系劉新裕博士所提供，其製作過程為山藥塊莖經洗淨、去皮及切片，於-70 冷凍，以真空冷凍乾燥機（EYELA, CA1500, Tokyo）冷凍乾燥 24 小時，再以磨粉機磨粉後冷凍保存。山藥冷凍乾燥粉外觀呈乳白色粉狀。試驗前，山藥粉以逆滲透去離水（Ultropure, reverse osmosis system, Iowa, USA）新鮮配製，呈膠質黏稠狀物質。

### 供試動物

5 週齡大鼠（Sprague-Dawley, SD 品系）購自國科會國家實驗動物繁殖及研究中心，在動物飼育室觀察一週後，取體重相近之健康成鼠進行試驗。試驗動物給予充

足之飼料 (Rodent Laboratory Chow 5001, Purina, MO, US) 及飲水。動物飼育室控制狀況為溫度  $22\pm 1$ 、相對濕度 50-70% 及 12 小時光/12 小時暗之光照週期, 每小時換氣量為 10-15 次。所有實驗動物之使用與操作均依據『實驗動物管理與使用指南』之規範進行<sup>(22)</sup>。

#### 試驗準則依據

山藥粉對大鼠之口服急毒性及 28 天餵飼安全性試驗<sup>(8, 20)</sup>, 主要依據衛生署公告之「健康食品安全及功效評估方法」<sup>(4)</sup> 相關測試規範及美國環保署 (USEPA) 藥物毒物試驗準則處理<sup>(9)</sup>。該規範並符合美國聯邦殺蟲、殺菌及殺鼠劑管理法 (40CFR Part 158, FIFRA) 及歐洲經濟合作開發組織 (Organization for Economic Cooperation and Development, OECD) 之規定<sup>(9, 18)</sup>。

#### 試驗步驟及觀察

##### 一、口服急毒性試驗

試驗組包括對照組及山藥粉處理組 2 組, 每組處理 10 隻 (5 雌、5 雄) 大鼠。山藥粉以逆滲透去離水稀釋配製, 處理劑量為口服急毒性最高測試劑量 5,000 mg/kg BW, 對照組則僅為逆滲透去離水。以塑膠針管套上胃管 (直徑 2.25 mm, 長度 95.0 mm), 將山藥粉強迫餵飼大鼠, 每隻餵飼量為 10 ml/kg。在處理後 1/2、1、2 及 4 小時記錄中毒症狀、發生時間及復原或死亡時間。大鼠自處理後第 2 天起, 每日觀察 1 次, 直至處理後第 14 天為止。若大鼠死亡立即解剖進行肉眼病理檢查。試驗結束後, 所有鼠隻均犧牲後, 進行大體解剖, 檢查體內臟器之肉眼病理變化。

##### 二、28 天餵飼安全性試驗

試驗組包括對照組及 3 個處理組等 4 組。山藥粉之處理劑量分別為 500, 1,000 及 2,000 mg/kg BW, 每組處理 20 隻大鼠 (10

雌、10 雄), 以胃管連續餵飼山藥粉 28 天, 對照組則僅為逆滲透去離水。每日觀察試驗鼠隻, 若有症狀發生或死亡之時間, 需加以記錄。每日餵飼山藥粉前先稱大鼠體重, 再依體重投與餵飼量, 每隻餵飼量為 10 ml/kg。每週稱體重及飼料消耗量。實驗結束次日, 以代謝籠收集尿液, 檢查項目包括尿量 (volume)、顏色 (color)、比重 (specific gravity)、膽紅素 (bilirubin)、尿膽紅素原 (urobilinogen)、酸鹼值 (pH)、蛋白質 (protein)、葡萄糖 (glucose)、酮體 (ketones)、硝基鹽 (nitrite)、潛血反應 (occult blood)、白血球 (leukocyte)、紅血球 (red blood cell)、上皮細胞 (epithelial cell)、圓柱體 (cast)、結晶體 (crystal) 及寄生蟲 (parasite) 等。於試驗前及試驗結束時, 分別以眼底鏡 (Genesis, Kowa, Tokyo, Japan) 檢查對照組及高劑量組大鼠之眼球眼底變化。以乙醚麻醉大鼠並自腹部大動脈放血, 以含 EDTA 抗凝血劑試管採集 2 ml 全血, 於血球計數儀 (Sysmec-450, Tokyo, Japan) 檢測血液相, 包括白血球計數 (white blood cell count, WBC count)、紅血球計數 (red blood cell count, RBC count)、血球容積比 (hematocrit, Hct)、平均紅血球體積 (mean corpuscular volume, MCV)、平均血紅素 (mean corpuscular hemoglobin, MCH)、平均血紅素濃度 (mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC)、血紅素 (hemoglobin, Hb) 及血小板 (platelet) 等項目。白血球分類 (differential leukocyte count) 以血球計數盤 (Digisystem Laboratory Instruments Inc. Taipei, ROC) 計算淋巴球 (lymphocyte)、嗜中性球 (neutrophil)、單核球 (monocyte)、嗜酸性球 (eosinophil) 及嗜鹼性球 (basophil) 等項目。另以血清分離管裝血液, 置於離心機 (Kubota 2010, Tokyo, Japan), 以 775 g 離心 15 分鐘。取血清以自動血清生化儀 (Chiron Diagnostics Corporation, Oberlin, OH, USA) 檢測血液生

化值，包括總蛋白 (total protein, TP)、鹼性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP)、麩氨酸氨基轉氨酶 (aspartate aminotransferase, AST)、麩氨酸丙酸轉氨酶 (alanine aminotransferase, ALT)、尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN)、葡萄糖 (glucose)、乳酸脫氫酶 (lactate dehydrogenase, LDH)、肌氨酸 (creatinine)、澱粉酶 (amylase)、肌酸激酶 (creatine kinase)、總膽紅素 (total bilirubin)、白蛋白 (albumin)、膽固醇 (cholesterol)、三酸甘油酯 (triglyceride)、無機磷 (inorganic phosphorus)、鉀離子 (potassium)、氯離子 (chloride)、鈣離子 (calcium) 及鎂 (magnesium) 等項目。

#### 臟器重量及病理評估

所有大鼠經剖檢觀察肉眼病理變化，並稱取腦、胸腺、心、肝、腎、脾、睪丸或卵巢等臟器重量 (g)，取臟器浸泡於 10% 中性福馬林溶液中固定一週，經組織粗修與石臘包埋，以石臘組織切片機 (Leica RM 2145, Nussloch, Germany) 製成 4~6  $\mu\text{m}$  厚度之組織切片，經 Hematoxylin & Eosin

(H&E) 染色後，於光學顯微鏡下觀察組織病理變化。

#### 結果分析

各組數據以 MS-Excels 法，求出平均值及標準機差值 (mean $\pm$ SD)，各處理組與對照組以 Student's *t*-test 進行組間差異之比較，*p*-值小於 0.05 者即視為具顯著性差異。

## 結 果

### 一、山藥粉對大鼠之口服急毒性

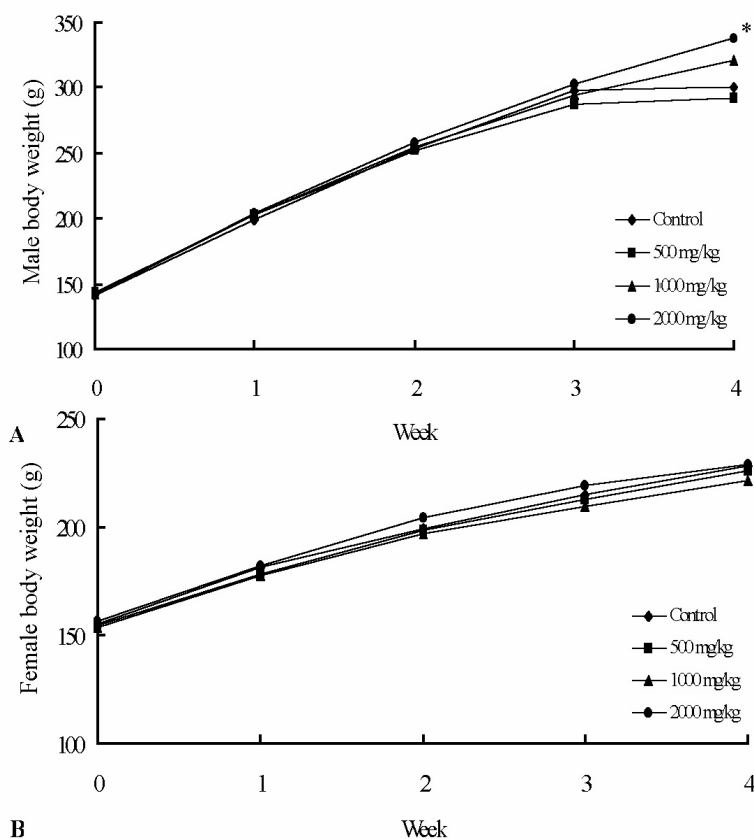
大鼠以山藥粉單次胃管強迫口服餵飼最高劑量 5,000 mg/kg BW 並連續觀察 14 天。結果顯示，經單次胃管強迫口服餵飼高劑量之山藥粉，並未引起大鼠急性中毒或死亡，同時處理組大鼠之體重與對照組亦無明顯差異。推估山藥粉對大鼠之口服急毒性 LD<sub>50</sub> 值大於 5,000 mg/kg BW。依據世界衛生組織 (WHO) 對物質之毒性等級分類<sup>(7)</sup>，山藥粉之口服急毒性等級可歸類為『正常使用時無毒性 (unlikely to present hazard in normal use)』。

表一、大鼠經胃管餵飼山藥粉連續 28 天之每日飼料消耗量之變化

Table 1. Feed consumption change of rats treated with yam powder by gastric gavage consecutively for 28 days

Dose (mg/kg)	Mean of feed consumption per day in different week (g)			
	1	2	3	4
<b>Male</b>				
Control	20.8 $\pm$ 1.5 <sup>1)</sup>	24.7 $\pm$ 1.9	27.0 $\pm$ 2.2	24.4 $\pm$ 2.5
500	21.2 $\pm$ 1.7	25.2 $\pm$ 2.6	24.5 $\pm$ 3.7	22.1 $\pm$ 3.2
1,000	21.9 $\pm$ 0.9	25.2 $\pm$ 1.4	26.0 $\pm$ 2.6	21.9 $\pm$ 4.4
2,000	22.2 $\pm$ 1.8	25.4 $\pm$ 1.4	27.6 $\pm$ 2.8	26.4 $\pm$ 3.8
<b>Female</b>				
Control	17.5 $\pm$ 2.8	19.4 $\pm$ 3.4	20.5 $\pm$ 2.8	17.8 $\pm$ 3.4
500	16.5 $\pm$ 2.1	18.4 $\pm$ 1.5	19.2 $\pm$ 2.2	17.1 $\pm$ 1.9
1,000	17.2 $\pm$ 2.3	20.6 $\pm$ 2.6	19.4 $\pm$ 3.8	19.3 $\pm$ 6.3
2,000	19.1 $\pm$ 2.4	19.8 $\pm$ 2.3	18.7 $\pm$ 2.6	17.9 $\pm$ 2.5

<sup>1)</sup> Data were expressed as mean $\pm$ SD.



圖一、大鼠經胃管餵飼山藥粉連續 28 天之體重變化。雄鼠在第四週之體重比對照組顯著性增加(A)；所有試驗組雌鼠則無明顯變化(B)。\*：與對照組相比其顯著性差異 ( $p < 0.05$ )。

Fig. 1. The body weight change of rats treated with yam powder by gastric gavage consecutively for 28 days. The body weight significant increased on the 4<sup>th</sup> week observation in the 2000 mg/kg treated male rats (A). No significant change was found in all female rats (B). \*: Significant difference between control and treated group at  $p < 0.05$ .

## 二、山藥粉對大鼠 28 天餵飼安全性劑量之選擇

衛生署所公佈之『28 天餵飼毒性試驗』方法中<sup>(4)</sup>，試驗物質之最高投予劑量為每天 1,000 mg/kg BW。本實驗依據口服急性毒性試驗結果得知，山藥粉對大鼠急性毒性作用低，其口服  $LD_{50}$  值大於 5,000 mg/kg BW。因此，山藥粉對大鼠 28 天餵飼安全性之劑量選擇，以衛生署公佈之最高處理劑量增加 1 倍，即 2,000 mg/kg BW，作為本次試驗之最高劑量組，其次 1,000 及 500 mg/kg BW 分別為中及低劑量組，連續餵飼

大鼠 28 天。

對大鼠症狀、眼睛底部、飼料攝取量及體重之影響

試驗期間，山藥粉不同劑量處理組之大鼠均無任何慢性中毒症狀或死亡，同時在高劑量處理組大鼠之眼睛底部檢查，與對照組無明顯異常。各處理組大鼠之平均每日飼料消耗量亦無明顯差異(表一)。體重變化，則僅在 2,000 mg/kg BW 處理組雄鼠之第 4 週體重比對照組有明顯增加，雌鼠則無影響(圖一)。

表二、大鼠經胃管餵飼山藥粉連續 28 天之血液學變化

Table 2. The changes of hematological parameter in rats treated with yam powder by gastric gavage consecutively for 28 days<sup>1)</sup>

Dose (mg/kg)	RBC (10 <sup>6</sup> /μl)	HGB (g/dl)	HCT (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (g/dl)	PLT (10 <sup>3</sup> /μl)
<b>Male</b>							
Control	7.2±0.1 <sup>2)</sup>	15.9±0.2	47.1±0.4	65.2±0.4	22.1±0.3	33.8±0.2	1077.3±46.9
500	7.4±0.1	16.6±0.2 <sup>3)</sup>	47.4±0.7	64.2±0.5	22.4±0.3	34.9±0.3*	1178.5±36.7
1,000	7.6±0.2	16.8±0.5	47.9±1.3*	63.0±0.3*	22.1±0.2	35.0±0.2*	1271.8±46.7*
2,000	7.3±0.2	16.2±0.2	46.2±0.6	63.0±0.5*	22.1±0.2	35.0±0.2*	1232.4±44.0*
<b>Female</b>							
Control	7.0±0.1	15.9±0.2	44.2±0.7	63.1±0.4	22.8±0.2	36.1±0.2	1126.7±19.5
500	7.5±0.1*	17.0±0.2*	46.4±0.5*	62.3±0.5	22.8±0.2	36.7±0.3	1179.6±42.7
1,000	7.4±0.1*	16.3±0.2	44.8±0.7	60.6±0.4*	22.1±0.2*	36.4±0.1	1175.5±27.2
2,000	7.3±0.1	16.1±0.2	44.5±0.8	60.7±0.4*	21.9±0.2*	36.2±0.3	1170.5±39.2

Dose (mg/kg)	WBC (10 <sup>3</sup> /μl)	Lymph (%)	Neutrophil (%)		Monocyte (%)	Eosinophil (%)	Basophil (%)
			Band	Segment			
<b>Male</b>							
Control	9.9±1.0	83.5±1.8	2.0±0.8	10.3±1.4	4.2±0.8	0	0
500	14.5±1.2*	86.3±0.6	0.4±0.6*	10.3±0.6	3.0±0.6	0	0
1,000	13.4±1.2*	85.3±1.3	1.1±0.5	9.8±0.8	3.5±0.7	0	0
2,000	14.1±1.1*	84.8±1.5	0.7±0.3*	12.1±1.3	2.3±0.4	0.1±0.01	0
<b>Female</b>							
Control	9.6±0.9	83.5±2.0	1.1±0.2	12.8±1.8	2.2±0.4	0	0
500	15.2±1.8*	89.3±1.4	0.4±0.2*	8.4±1.1*	2.1±0.6	0	0
1,000	13.0±0.9*	84.6±1.9	0.8±0.2	10.3±1.7	3.6±0.7	0	0
2,000	11.6±1.5	81.3±1.5	0.7±0.3	15.2±1.6	2.7±0.7	0.1±0.01	0

<sup>1)</sup> RBC: Red blood cell; Hb: hemoglobin; Hct: Hematocrit; MCV: Mean corpuscular volume; MCH: Mean corpuscular hemoglobin; MCHC: Mean corpuscular hemoglobin concentration; PLT: Platelet. WBC: White blood count; Lymph: Lymphocyte.

<sup>2)</sup> Data were expressed as mean±SD.

<sup>3)</sup> \*: Significant difference between control and treated group at  $p < 0.05$ .

#### 對大鼠之血液學變化

血液學檢查項目中，在 500 及 1,000 mg/kg BW 處理組雌鼠之 RBC 值、500 mg/kg BW 處理組雌雄鼠之 HGB 值、1,000 mg/kg BW 處理組雌鼠之 HCT 值及各處理組雄鼠之 MCHC 值、1,000 及 2,000 mg/kg

BW 處理組雄鼠之血小板值均比對照組顯著性上升。雖然各處理組之 WBC 值比對照組高，但白血球分類結果則無明顯差異。另外，在 1,000 及 2,000 mg/kg BW 處理組雌、雄鼠之 MCV 值及雌鼠 MCH 值則反而比對照組低。綜觀以上結果，各處理組雌、

雄鼠之血液學檢查，部份雖有統計學上差異 ( $p < 0.05$ )，但均仍在正常大鼠生理參考值範圍內，並不具劑量與毒性反應之正相關性 (表二)。

#### 對大鼠之血清生化活性變化

血清中各種酵素活性分析結果，不論雌、雄鼠經山藥粉處理後大鼠之血清膽固醇、三酸甘油酯及總蛋白含量，均比對照組有上升 ( $p < 0.05$ )。其他如 ALP、LDH、CK、BUN、Creatinine、ALT、AST、ALP、Glucose、Amylase 及血清離子  $P^{3-}$ 、 $Ca^{2+}$ 、 $Mg^{2+}$  及  $Cl$  等結果，雖然部份處理組雖與對照組有上升或下降現象，但仍在正常大鼠生理參考值範圍內，並不具劑量與毒性反應之正相關性 (表三及四)。

#### 對大鼠尿液學之影響

尿液學檢查包括尿液生化及尿沉渣，

在雌、雄鼠之尿量、顏色、比重、膽紅素、尿膽紅素原、酸鹼值、蛋白質、葡萄糖、酮體、硝基鹽、潛血反應、白血球、紅血球、上皮細胞、圓柱體、結晶體及寄生蟲等檢查項目中，除部份鼠隻有個體差異外，綜觀各處理組之結果，均不具劑量與毒性反應之正相關性 (表五及六)。

#### 對大鼠之臟器重量、肉眼及組織病理學檢查

山藥粉處理組雌、雄鼠之腦、心、胸腺、肝臟、腎臟、脾臟、睪丸及卵巢之重量均與對照組無明顯差異 (表七)。解剖所有大鼠之臟器，經肉眼檢查各臟器均無明顯的肉眼病理變化。另外，在各處理組之腦、胸腺、心、肝、腎、脾、睪丸或卵巢等器官，經組織切片病理檢查結果，亦無因山藥粉處理所引起之明顯組織病理學變化。

表三、大鼠經胃管餵飼山藥粉連續 28 天之血清肝臟功能指數變化

Table 3. Serum biochemistry change of liver function in rats treated with yam powder by gastric gavage consecutively for 28 days<sup>1)</sup>

Dose (mg/kg)	ALT (U/l)	AST (U/l)	LDH (U/l)	Cholesterol (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	T. protein (g/dl)
<b>Male</b>						
Control	38.9±1.8 <sup>2)</sup>	117.5±6.3	1205.3±141.7	60.9±1.5	43.6±2.3	5.3±0.1
500	36.1±1.8	115.4±6.5	1052.8±144.7	61.3±1.6	43.8±2.5	5.5±0.2
1,000	31.5±3.0	110.2±8.5	880.8±143.7	75.4±4.0 <sup>3)</sup>	52.3±2.6*	5.6±0.1*
2,000	35.1±2.1	97.3±4.9*	752.1±87.5*	62.6±2.5	52.0±3.1*	5.4±0.1
<b>Female</b>						
Control	34.3±2.9	90.5±4.9	676.5±95.8	61.6±4.4	39.6±2.0	5.6±0.1
500	40.2±6.3	110.3±8.3*	885.7±211.5	73.5±3.7*	41.0±3.0	6.2±0.1*
1,000	30.3±0.8	92.7±3.6	576.0±73.7	70.9±3.1*	52.1±1.6*	5.7±0.1
2,000	34.9±1.9	91.3±7.3	617.7±151.4	68.3±4.1*	45.9±2.3*	5.9±0.1*

<sup>1)</sup> ALT: Alanine aminotransferase; AST: Aspartate aminotransferase; LDH: Lactate dehydrogenase; T. protein: Total protein.

<sup>2)</sup> Data were expressed as mean±SD.

<sup>3)</sup> \*: Significant difference between control and treated group at  $p < 0.05$ .

表四、大鼠經胃管餵飼山藥粉連續 28 天之血清生化指數變化

Table 4. Serum biochemistry change of rats treated with yam powder by gastric gavage consecutively for 28 days<sup>1)</sup>

Dose (mg/kg)	BUN (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)	CK (U/l)	T. bilirubin (mg/dl)	Albumin (g/dl)	ALP (g/dl)
<b>Male</b>						
Control	15.4±0.7 <sup>2)</sup>	594.5±80.1	0.20±0.03	0.24±0.01	3.91±0.03	287.6±14.5
500	15.8±0.4	420.5±43.1	0.18±0.03	0.23±0.02	3.92±0.05	456.7±185.3
1,000	15.6±0.9	412.8±79.8	0.26±0.02	0.21±0.02	3.84±0.05	246.1±16.1
2,000	16.3±1.3	361.2±46.1 <sup>*3)</sup>	0.11±0.05	0.88±0.14	3.82±0.07	292.1±23.1
<b>Female</b>						
Control	17.6±0.8	252.0±38.1	0.24±0.03	0.20±0.02	3.96±0.04	173.6±21.8
500	16.7±1.1	277.5±49.8	0.20±0.02	0.20±0.02	4.16±0.06*	150.7±29.3
1,000	17.5±0.5	257.3±29.2	0.17±0.03	0.20±0.01	3.82±0.04	173.9±17.8
2,000	14.4±0.7*	184.1±32.6	0.31±0.04	1.14±0.02*	3.96±0.07	135.4±22.2

Dose (mg/kg)	Glucose (mg/dl)	Amylase (U/l)	P <sup>3-</sup> (mg/dl)	Ca <sup>2+</sup> (mg/dl)	Mg <sup>2+</sup> (mEq/dl)	Cl <sup>-</sup> (mEq/dl)
<b>Male</b>						
Control	135.8±7.9	727.2± 2.1	8.3±0.2	10.0±0.4	1.5±0.1	104.8±0.8
500	135.3±10.1	661.2±20.1	8.7±0.1	10.4±0.2	1.5±0.2	105.3±0.6
1,000	112.9±10.4	622.7±23.2	8.6±0.4	10.1±0.1	2.5±0.2*	107.1±1.1
2,000	145.4±5.4	786.8±26.9	8.7±0.2	9.6±0.2	1.9±0.3	103.1±0.9
<b>Female</b>						
Control	130.2±3.2	422.2±52.3	7.3±0.4	10.0±0.2	2.0±0.3	106.3±0.6
500	124.3±9.5	592.8±50.4	7.9±0.3	9.6±0.4	1.3±0.2	108.7±0.6
1,000	110.2±4.1	554.8±34.4	8.0±0.3	9.9±0.2	3.2±0.1	106.0±0.6
2,000	130.9±4.2	592.2±37.5	7.4±0.3	10.1±0.2	1.7±0.2	107.4±0.9

<sup>1)</sup> BUN: Blood urea nitrogen; CK: Creatine kinase; T. bilirubin: Total bilirubin; ALP: Alkaline phosphatase

<sup>2)</sup> Data were expressed as mean±SD.

<sup>3)</sup> \*: Significant difference between control and treated group at  $p < 0.05$ .

## 討 論

我國加入 WTO 後,在經濟與貿易國際化、自由化下,國內農業栽培作物已受到明顯衝擊,必需朝向高價值、精緻化、地域性及多元化方向發展。山藥屬高產量作物之一,其單株薯塊重可達 1.6-2.3 kg,每

公頃產量最高可達 45.6 公噸。山藥塊莖營養豐富,富含澱粉,佔 98.3 %<sup>(5)</sup>;另外,山藥亦被證實具有很高的過氧化酵素(peroxidase)及多酚氧化酵素(polyphenol oxidase)等抗氧化活性<sup>(1, 3, 10)</sup>,同時含有高量之 P<sup>3-</sup>、K<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Fe<sup>2+</sup>、Mn<sup>2+</sup>、Cu<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>等礦物質,對人體生理功能需求

相當重要<sup>(1, 3)</sup>。山藥除可供作食用外，另具有藥用及保健用途，為目前農委會極力開發的農產保健食品之一。唯山藥塊莖因含有多酚氧化酵素，經去皮後易生褐變反應。酵素性褐變與植物之防禦系統、傷口癒合及老化具有密切關係<sup>(19)</sup>，該酵素性褐變，為多酚氧化酵素與植物體內天然基質，如蘋果及甘薯之鞣酸(chlorogenic acid)

作用，氧化形成 DOPA quinone，經由非酵素催化之重組作用及聚合作用生成黑色素(melanin)，形成酵素性褐變反應<sup>(19)</sup>。在山藥或其他食品經褐變後，會影響外觀及營養價值。一般在去皮 6 小時後，肉質暗度明顯增加，因此需要在 6 小時內殺菁<sup>(1)</sup>，或使用冷凍乾燥方式保鮮<sup>(5)</sup>，才不致於影響商品外觀及營養價值。

表五、大鼠經胃管餵飼山藥粉連續 28 天之尿液學變化

Table 5. Alteration of urinary analyses in rats treated with yam powder by gastric gavage consecutively for 28 days<sup>1)</sup>

Dose (mg/kg)	Volume (ml)	Appearance	S. Gravity	pH	Protein (mg/dl)	Urobilinogen (EU/dl)										
<b>Male</b>																
Control	7.66±0.90 <sup>2)</sup>	Y-YB	1.025±0.001	7.00±0.12	79.0±10.6	0.28±0.08										
500	6.70±0.47	Y-YB	1.025±0.001	7.25±0.24	44.0±9.3 <sup>*3)</sup>	0.28±0.08										
1,000	6.70±0.81	Y-YB	1.025±0.001	6.95±0.15	87.5±26.9	0.20±0.01										
2,000	6.40±0.62	Y-YB	1.027±0.001	6.80±0.11	97.5±25.1	0.20±0.01										
<b>Female</b>																
Control	5.60±0.47	P-Y	1.023±0.002	7.00±0.23	35.0±11.0	0.20±0.01										
500	4.80±0.82	Y	1.027±0.001	6.72±0.14	18.3±2.1	0.20±0.01										
1,000	6.90±0.64	Y	1.021±0.002	7.10±0.29	15.0±3.2	0.20±0.01										
2,000	5.00±0.49	Y	1.026±0.001	6.80±0.18	24.0±3.3	0.20±0.01										
Dose (mg/kg)	Glucose <sup>4)</sup>		Bilirubin <sup>4)</sup>		Ketone <sup>4)</sup>		Nitrite <sup>4)</sup>		Oc. Blood <sup>4)</sup>		Leukocyte <sup>4)</sup>					
	-	+	-	±	-	±	+	-	+	-	+++	-	±	+	++	
<b>Male</b>																
Control	10 <sup>5)</sup>	0	7	3	0	6	4	7	3	10	0	2	7	1	0	
500	10	0	5	5	0	3	7	9	1	10	0	6	4	0	0	
1,000	9	1	7	3	1	5	4	10	0	10	0	6	3	0	1	
2,000	10	0	8	2	0	4	6	10	0	9	1	3	7	0	0	
<b>Female</b>																
Control	10	0	9	1	6	4	0	9	1	10	0	10	0	0	0	
500	9	1	8	2	8	2	0	10	0	10	0	9	1	0	0	
1,000	10	0	9	1	8	2	0	8	2	10	0	9	1	0	0	
2,000	9	1	9	1	6	4	0	8	2	10	0	7	2	0	1	

<sup>1)</sup> S. Gravity: Specific Gravity; Oc. blood.: Occult blood; P: Pale yellow; Y: Yellow; YB: Yellow brown; B: Brown.

<sup>2)</sup> Data were expressed as mean±SD.

<sup>3)</sup> \*: Significant difference between control and treated group at  $p < 0.05$ .

<sup>4)</sup> Grades for glucose, ketone, Protein, Nitrite, occult blood and urobilinogen: Glucose (mg/dl): -, Nil; +, 25; Ketone (mg/dl): Nil, -, 5, ±, 15, +; Nitrite: normal, -; Positive, +; Oc. Blood: -, Positive, +++; Leukocyte: -, Negative; ±, Trace; +, Mild; ++, Moderate; +++, Remarkable.

<sup>5)</sup> Examined rat number.

表六、大鼠經胃管餵飼山藥粉連續 28 天之尿液沉渣檢查

Table 6. Urinary sediment change of rats treated with yam powder by gastric gavage consecutively for 28 days<sup>1)</sup>

Dose (mg/kg)	Urinary sediments (10 <sup>3</sup> )				Parasite		Crystal				
	RBC	WBC	Epithelia	Cast	-	+	-	±	+	++	+++
<b>Male</b>											
Control	1.2±0.4 <sup>2)</sup>	0.8±0.4	1.0±1.7	12.5±1.5	10 <sup>3)</sup>	0	0	0	2	2	6
500	1.1±0.2	1.1±0.4	7.2±1.9	1.0±2.1	10	0	0	2	3	4	1
1,000	1.8±0.3	0.2±0.1	1.1±1.8	8.0±0.8 <sup>4)</sup>	10	0	0	1	2	4	3
2,000	1.6±0.3	1.1±0.4	8.5±1.8	9.3±1.3	10	0	0	0	2	5	3
<b>Female</b>											
Control	2.7±0.8	13.7±0.6	6.3±1.4	5.4±1.0	10	0	0	0	7	1	2
500	1.2±0.3	4.7±0.3	11.2±1.9	11.7±2.5*	10	0	0	3	7	0	0
1,000	0.8±0.2	4.1±1.6	5.0±0.8	4.8±1.0	10	0	0	5	3	1	1
2,000	2.1±1.5	2.4±0.7	8.4±1.1	8.5±1.2	10	0	0	3	5	2	0

<sup>1)</sup> Urinary sediments: RBC: Red blood cells; WBC: White blood cells. Grades for observation: Parasite: non, -; Positive, +; Crystal: -: Nil; ±: a few in a few fields examined; +: a few in some fields examined; ++: a few in all fields examined; +++: many in all fields examined.

<sup>2)</sup> Data were expressed as mean±SD.

<sup>3)</sup> Examined rat number.

<sup>4)</sup> \*: Significant difference between control and treated group at  $p < 0.05$ .

表七、大鼠經胃管餵飼山藥粉連續 28 天之臟器重量變化

Table 7. The body weight change of rats treated with yam powder by gastric gavage consecutively for 28 days

Dose (mg/kg)	Brain (g)	Heart (g)	Thymus (g)	Spleen (g)	Kidney (g)	Liver (g)	Testis/Ovary (g)
<b>Male</b>							
Control	2.01±0.04 <sup>1)</sup>	1.06±0.02	0.55±0.03	0.61±0.02	2.15±0.05	8.60±0.42	2.92±0.08
500	2.02±0.04	0.98±0.03	0.54±0.03	0.59±0.02	2.21±0.05	8.54±0.32	2.87±0.13
1,000	2.04±0.03	0.99±0.04	0.52±0.04	0.54±0.03	2.22±0.07	8.09±0.23	2.98±0.05
2,000	2.04±0.02	1.07±0.03	0.49±0.01 <sup>2)</sup>	0.60±0.02	2.33±0.05	9.48±0.21*	2.96±0.08
<b>Female</b>							
Control	1.87±0.03	0.76±0.01	0.41±0.03	0.44±0.01	1.57±0.05	6.22±0.32	0.090±0.004
500	1.85±0.03	0.76±0.05	0.38±0.02	0.42±0.03	1.67±0.10	6.99±0.86	0.085±0.005
1,000	1.88±0.03	0.77±0.03	0.43±0.02	0.47±0.02	1.54±0.07	5.98±0.23	0.087±0.003
2,000	1.91±0.03	0.75±0.03	0.40±0.03	0.50±0.02*	1.58±0.06	6.70±0.31	0.099±0.005

<sup>1)</sup> Data were expressed as mean±SD.

<sup>2)</sup> \*: Significant difference between control and treated group at  $p < 0.05$ .

另外，市售藥用與健康食品的品質不一，不但效果無法獲得保證，甚有傷害人體的案例發生<sup>(11, 17)</sup>。因此，衛生署公告「健康食品安全及功效評估方法」等多種測試方法並加以規範<sup>(4)</sup>。本試驗評估山藥經大量食用後，對試驗動物健康是否有影響，結果顯示山藥粉對大鼠不具口服急毒性及 28 天餵飼毒性。大鼠經以 500、1000 及 2000 mg/kg BW 劑量之山藥連續餵飼 28 天後，均無慢性臨床毒性症狀產生。雌、雄鼠之體重、飼料攝取量及眼睛底部檢查並無明顯變化。血液學方面，各處理組之 RBC、HGB、HCT 及 MCHC 值雖有上升，或 MCV 及 MCH 值有下降，但無劑量與毒性反應之相關性。不論雌、雄鼠之血液相數值變化，均仍在大鼠正常生理參考值範圍內<sup>(14)</sup>，因此，山藥對血液系統不具血液毒性。分析餵飼山藥的大鼠血清肝功能指標 ALT 與 AST 值及腎功能指標 BUN 與 Creatinine 值，均與對照組無明顯變化，顯示高劑量之山藥粉對大鼠不具肝及腎功能毒性。處理組雌、雄鼠之腦、心、胸腺、肝臟、腎臟、脾臟、睪丸及卵巢之重量均與對照組無明顯差異；且由組織病理切片檢查證實，所有臟器並無明顯組織病理變化。

Araghiniknam 等人<sup>(6)</sup>曾調查老年人食用山藥萃取物後之影響，結果顯示山藥萃取物中含有合成性荷爾蒙之前驅物 sapogenins，可降低血清中脂質及促進體內類固醇之合成。本實驗亦發現餵飼山藥粉之雌、雄鼠，其血清膽固醇與三酸甘油酯及總蛋白含量有明顯上升，推測連續長期食用山藥，應可促進體內蛋白質合成而有改善營養狀況之效果，同時與體內類固醇及性荷爾蒙合成有關，唯其功能性仍有待進一步釐清。綜合以上結果，餵飼山藥粉對大鼠不具口服急毒性及 28 天餵飼毒性，推估山藥粉對大鼠餵飼 28 天之無毒害作用劑量 (NOAEL) 大於 2,000 mg/kg BW，山藥長期食用對哺乳動物安全性高。

## 謝 辭

本試驗由行政院農業委員會 90 農科-3.1.3-藥-P1(2)計畫經費補助，試驗期間蒙劉清標先生、彭明霞小姐、湯秀枝小姐、邱秀英小姐、高鳳凰小姐及陳怡慈小姐等人協助，謹此誌謝。

## 引用文獻

1. 王俐婷、宋賢一、張珍田。1999。基隆山藥塊莖多酚氧化酶之純化及性質研究。中農化誌 37：141-151。
2. 賴宏亮、劉宏仁、廖明輝、陳建志、劉新裕、許博文。2001。以 RAPD 法鑑定山藥藥材之基原。藥物食品分析 9：132-138。
3. 劉新裕、張同吳、林義恭、陳淑芬、王昭月、朱戩良、王順成。1999。山藥之品種特性、生產潛力、物化性質與抗氧化研究。中農研 48：1-22。
4. 衛生署。1999。28 天餵食毒性試驗。「健康食品安全及功效評估方法」。衛署食字第 8803780 號。台北。網址：<http://www.doh.gov.tw/90-law/law-3.htm>。
5. Alves, R. M., Grossmann, M. V. E., and Silva, R. S. S. F. 1999. Gelling properties of extruded yam (*Dioscorea alata*) starch. Food. Chem. 67: 123-127.
6. Araghniknam, M., Chung, S., Nelson-White, T., Eskelson, C., and Watson, R. R. 1996. Antioxidant activity of dioscorea and dehydroepiandrosterone (DHEA) in older humans. Pharma. Letters. 59: 147-157.
7. Copplesstone, J. F. 1988. The development of the WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard. Bull. WHO 66: 545-551.
8. Eaton, D. L., and Klaassen, C. D. 2001. Principle of toxicology, p. 11-34. In:

- Klaassen C. D., ed. Casarett & Doull's Toxicology. The Basic Science of Poisons, 6<sup>th</sup> ed., International Edition, McGraw-Hill, New York.
9. Environmental Protection Agency (EPA) Office of Pesticides & Toxic Substances. 1982. Subchronic oral toxicity (Rodent and non-rodent): 90-day study, 82-1, p. 66-75. *In: Pesticide Assessment Guidelines, Subdivision F, Hazard Evaluation: Human and Domestic Animals. Serious 82, Subchronic Testing, Washington, DC.*
  10. Farombi, E. O., Britton, G., and Emerole, G. O. 2000. Evaluation of the antioxidant activity and partial characterization of extracts from browned yam flour diet. *Food Res. Inter.* 33: 493-499.
  11. Fishelson, L., Bresler, V., Manelis, R., Zuk-Rimon, Z., Dotan, A., Hornung, H., and Yawetz, A. 1999. Toxicological aspects associated with the ecology of *Donax trunculus* (Bivalvia, Mollusca) in a polluted environment. *Sci. Total Environ.* 226: 121-131.
  12. Jeong, T. C., Kim, H. J., Park, J. I., Ha, C. S., Park, J. D., Kim, S.I., and Roh, J. K. 1997. Protective effects of red ginseng saponins against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in Sprague Dawley rats. *Planta Med.* 63: 136-140.
  13. Komoda, Y., Shimizu, M., Sonoda, Y., and Sato, Y. 1989. Ganoderic acid and its derivatives as cholesterol synthesis inhibitors. *Chem. Pharm. Bull.* 37: 531-533.
  14. Liang, C. T., Chang, M. H., Hong, C. C., and Huang, K. J. 1999. Establishing the blood chemistry reference values for SPF rats and mice. *J. Chin. Soc. Sci.* 25: 55-68.
  15. Lin, F. L., Lin, J. L., Liu, H. J., and Lu, C. F. 1999. Study on the antihepatotoxic activity of Taiwanese Folk Medicine. *Taiwan J. Vet. Med. Ani. Husb.* 69 (Suppl. 1): 49.
  16. Maruyam, H., Yamazaki, K., Murofushi, S., Konda, C., and Ikekawa, T. 1989. Antitumor activity of *Sarcodon aspratus* (Berk.) S. Ito and *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst. *J. Pharmacobio-Dynamics* 12: 118-123.
  17. Noguchi, M. Kubo, M., and Naka, Y. 1978. Studies on the pharmaceutical quality evaluation of crude drug preparations used in orient medicine "Kampoo". IV. Behavior of alkaloids in ephedra herb mixed with other crude drugs under decoction processes. *Yakugaku Zasshi* 98: 923-928.
  18. Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). 1978. Guidelines for Testing of Chemicals. Section 4: Health Effects, TG No. 405.
  19. Tremplieres, M., and Breth, J. G. 1984. Isolation and characterized of polyphenol oxidase from senescent leaf of black poplar. *Phytochem.* 1: 2815-2820.
  20. Wilson, N. H., and Hayes, A. W. 1994. Short-term repeated dosing and subchronic toxicity studies. p. 649-672. *In: A. W. Hayes, ed. Principles and Methods of Toxicology.* 3rd ed. Raven Press. New York.
  21. Wu, M. F., Han, G. H., Su, Y. G., Lee, P. J., and Lai, G. M. 1999. Establishment of a human hepatoma model in SCID mice. *Taiwan. J. Vet. Med. Ani. Husb.* 69 (Suppl.1): 56.
  22. Yu, J. Y. L., Cheng, C. K., Chen, B. J., Chang, W. J., Chen, H. H.C., Hong, C.

C., Lee, P. J., Liang, S. C., Sheu, K. S., Sung, Y. Y., Tang, S. H., Tsai, C. W., Wang, C. S., Wang, M. H., Yen, L. S., and Yu, C. K. 2001. A guideline for the

care and use of laboratory animals (in Chinese). Published by the Chinese Society for the Laboratory Animal Science, Taipei, Taiwan, ROC. 171 pp.

## ABSTRACT

**Liao, J. W.<sup>1</sup>, Wang, S. C.<sup>1</sup>, Liu, S. Y.<sup>2</sup>, and Hwang, J. S.<sup>1\*</sup> 2002. Safety evaluation of feeding yam tuber powder to rats by gavage for 28 days.** *Plant Prot. Bull.* 44: 75 - 88. (<sup>1</sup>Department of Applied Toxicology, Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC; <sup>2</sup>Department of Agronomy, Taiwan Agricultural Research Institute, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC)

The objective of this study is to evaluate the single high dose and the 28-day consecutively feeding toxicity of yam tuber powder in Sprague Dawley (SD) rats. For the acute single dose oral toxicity, SD rats were gavaged by gastric tube with the maximum test threshold dose of 5,000 mg/kg body weight (BW) of yam tuber powder. Results showed that the dose of 5,000 mg/kg BW of yam tuber powder caused no death or toxic effect in rats. It appeared the acute oral LD<sub>50</sub> of this compound was greater than 5,000 mg/kg BW in rats. In addition, the yam tuber powder was administrated daily by gavage to each treated group consisting of 10 male and 10 female rats with different doses of 0, 500, 1,000, and 2,000 mg/kg BW for 28 days. Rats were observed daily for clinical sign, and body weight and food consumption measured weekly. Before and the end of experiment, ophthalmology was performed on the control and high dose groups. At termination of treatment, all rats were subjected to hematology, blood biochemistry, organ weighing, urinary analyses, autopsy, and pathological examination. No dose-related toxic effect was found in clinical sign, body and organ weight, food consumption, hematology, urinary analyses, and autopsy after yam tuber powder consecutive supplement for 28 days. However, rats treated with yam tuber powder showed the increase in serum cholesterol, triglyceride and total protein levels in both sexes. This finding suggested that yam tuber powder intake might relate to increase in protein and hormones related synthesis, and improve the nutrition status. Evaluation of clinical observation, mortality, body and organ weight, food consumption, ophthalmology, hematology, biochemistry and pathology data revealed no significant change related to the yam tuber powder consecutive supplement for 28 days. According to the result, the no observed adverse effect level (NOAEL) of yam tuber powder in the 28-day feeding toxicity (by gavage) is greater 2,000 mg/kg BW in rats, as well as the long-term supplement of yam tuber powder is safe in mammalian.

(Key words: yam tuber, 28-day feeding toxicity, rats)

\*Corresponding author. E-mail: jshwang@tactri.gov.tw