

缓解视疲劳枸杞饮料的毒理学试验及安全性评价

陈玮琳¹, 黄蓉², 刘敦华¹

(宁夏大学农学院, 宁夏银川 750021)

摘要: 通过第一阶段的急性毒性试验及第二阶段遗传毒性试验、传统致畸试验和 30 天喂养试验, 结果表明该饮料属安全无毒类食品。最后通过人体试食试验对其功效进行初步评价, 有 66.67% 的受试者明显缓解了视疲劳症状, 双眼明视持久度平均提高了 (17.15±8.37)%, 双眼远视力提高(0.14±0.07)%, 且统计分析差异显著。

关键词: 缓解视疲劳; 叶黄素; 毒理学; 功效评价

文章编号: 1673-9078(2013)5-1112-1118

Safety and Toxicology Evaluation of an Alleviate Eyestrain Wolfberry Beverage

CHEN Wei-lin¹, HUANG Rong², LIU Dun-hua¹

(College of Agricultural, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021, China)

Abstract: Through acute toxicity test, genetic toxicity test, traditional teratogenic test and 30-day feeding test, the wolfberry beverage was confirmed as safe and non-toxic. Preliminary evaluation of its alleviate eyestrain effect on human showed that the visual fatigue symptoms of 66.67% of the subjects were obviously alleviated. The bright durability of their eyes was improved by an average of 17.15 ± 8.37% and the distant vision was improved by 0.14 ± 0.07%. Statistical analysis showed a significant difference in the results.

Key words: alleviate eyestrain; lutein; toxicology; efficacy evaluation

由于枸杞叶黄素具有缓解视疲劳的功效^[1-3], 开发一款基于枸杞鲜果的缓解视疲劳果汁饮料, 发挥枸杞中叶黄素的功效价值, 满足当前视疲劳群体的需求, 并且为枸杞深加工提供了有效途径, 带动宁夏枸杞产业的发展有重要意义。该饮料开发的指导思想为具有缓解视疲劳的保健饮品, 保健饮料除必须具备保健功效外, 还必须进行安全毒理学和功效评价, 确保对人体不产生任何急性、亚急性或慢性危害。缓解视疲劳枸杞保健饮料的主要功效成分为叶黄素, 根据保健饮料中叶黄素的人体日推荐服用剂量(0.5 mg/kg·bw)^[4], 2002 年被 FDA (Food and Drug Administration) 认定为 GRAS (generally regarded as safe) 物质^[5], 叶黄素虽然是从植物中提取获得的, 但是需要考虑有机溶剂残留的问题, 还需考虑人体食用该剂量的叶黄素对人体是否安全、引起任何病变或导致中毒, 需要进行动物试验验证。饮料前期毒理学验证结果显示无毒, 人体可放心食用, 但作为保健食品, 还必须对产品的功效进行评价, 以明确该饮料是否具有缓解视疲劳之功效, 或者其改善的程度如何。

1 材料与方法

收稿日期: 2013-01-04

1.1 试验材料与试剂

缓解视疲劳枸杞饮料, 宁夏大学农学院实验室自制; 昆明种大、小鼠 (清洁级), 宁夏医科大学医学动物实验中心提供; 试剂, 标准小牛血清、甲醇、甘油 (丙三醇)、磷酸二氢钾、伊红、磷酸二氢钠、环磷酰胺、Giemsa 染液 (均为分析纯)。

1.1.3 主要设备

SM2 16001600x 36XC 显微镜, 上海沪钰电子科技有限公司; AIRTECH 超净工作台, 苏净集团安泰公司制造; MOL-300 全自动生化分析仪, 上海艾诺电子有限公司; SYSmesXT-1800i 全自动血球计数仪, 日本希思曼公司。

1.2 方法

1.2.1 毒理学试验方法^[6-10]

1.2.1.1 急性毒性试验 (霍恩氏法)

取健康小鼠, 适应环境 5 d, 服用前禁食不禁水 16 h, 在正式试验前以 25 mg/kg·bw 的剂量对小鼠进行预试验, 小鼠无异常, 遂选用体重为 25 g 左右清洁级小鼠 40 只, 雌雄各半, 随机分成 5 组, 受试剂量分别为 5、25、50、75 及 100 mg/kg·bw 进行灌胃试验, 灌胃体积为 0.02 mL/g·bw。灌胃后连续观察 1 周左右, 记录中毒表现及死亡情况。

1.2.1.2 遗传毒性试验

(1) 骨髓细胞微核试验

取体重25 g左右的清洁级小鼠40只, 雌雄各半, 叶黄素摄入量分别为25、50及75 mg/kg·bw作为低、中及高剂量组进行试验, 另外还设置了阴性对照组(蒸馏水)和阳性对照组(环磷酰胺, 40 mg/kg·bw), 灌胃体积为0.02 mL/g·bw, 每天灌胃1次, 连续2 d, 末次灌胃6 h后取胸骨制作标本, 阅片。

(2) 小鼠精子畸形试验

取体重25 g左右清洁级雄性小鼠40只, 随机分为5组, 分别为阴性对照组(蒸馏水)、阳性对照组(环磷酰胺, 40 mg/kg·bw)、低剂量组(25 mg/kg·bw)、中剂量组(50 mg/kg·bw)和高剂量组(75 mg/kg·bw), 灌胃体积为0.02 mL/g·bw, 每天灌胃1次, 连续5 d, 于首次灌胃后第35 d取双侧副睾制片镜检。

1.2.1.3 大鼠 30 d 喂养试验

取体重75 g左右清洁级大鼠32只, 雌雄各半, 随机分为4组, 分别为低剂量组(25 mg/kg·bw)、中剂量组(50 mg/kg·bw)、高剂量组(75 mg/kg·bw)和对照组(蒸馏水), 每组给予10 mL/kg。单笼饲养, 每天1次, 自由摄食饮水, 试验期间, 每周称重1次并记录, 连续观察大鼠行为症状30 d。喂养结束后, 心脏采血进行血液学和血液生化学检查; 称量肝、肾、脾及睾丸的重量, 计算脏器比, 并进行组织病理学检查。

查。

1.2.2 功效评价方法

1.2.2.1 受试对象的选择

从自愿报名参加试验的人员中选择年龄为25±2岁, 长期用眼, 视力易疲劳者(如出现眼痛、眼胀、视物模糊、灼热目赤、干涩畏光、眼睛酸痛等)为受试者100例(男女各半)^[11]。

1.2.2.2 试验方法

试验前对受试者进行一系列的安全检测, 选用符合实验要求的大学生(男女各半)100名, 分成两组, 每组50人, 男女各半, 一组为试食组(试验组), 另外一组为对照组。试食组按推荐方法和推荐服用量服用受试物, 受试物为含叶黄素0.15 mg/mL的枸杞饮料一瓶服用时间为30 d, 对照组服用安慰剂, 安慰剂为等量水。试验后同样对受试者进行一系列的安全性检测, 并且与试验前所测结果进行对比。

1.2.2.3 安全性指标检测

试验前后对受试对象进行血常规、尿常规、肝、肾功能及心电图检查并与常规项目检测参考值进行比较^[12]。

1.2.2.4 功效性指标检测

(1) 眼科症状检查

试验前后对眼睛进行检查, 包括眼痛、眼胀、畏光、视物模糊、干涩等, 判定方法如表1所示^[13]。

表1 视疲劳症状判定方法(半定量积分法)

Table 1 Visual fatigue symptoms decision method (semi-quantitative integral method)

项目级别	0	I	II	III
眼胀	无, 0分	偶感眼胀, 1分	时有眼胀, 休息后好转, 2分	经常眼胀, 休息后改善, 3分
眼痛	无, 0分	偶感眼痛, 1分	时有眼痛, 2分	经常眼痛, 3分
畏光	无, 0分	偶有畏光, 1分	时有畏光, 2分	经常畏光, 3分
视物模糊	无, 0分	偶有模糊, 1分	时有模糊, 休息后缓解, 2分	经常模糊, 休息后改善, 3分
眼干涩	无, 0分	偶有干涩, 1分	时有干涩, 2分	经常干涩, 3分

注: “偶感”是指1~2次/d; “时有”是指1~3次/d; “经常”指大于3次/d; 一分及一分以上即为改善。

(2) 明视持久度测定

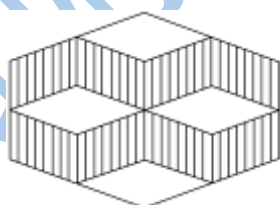


图1 明视持久度测定用“品”字图

Fig.1 “Product” word chart used for Bright durability test

明视持久度^[14]的测定方法: 测定之前, 首先于检查表上绘制如图1所示的边长为一厘米的“品”字形立体方块图, 检查表与受试者眼睛的距离应按照自己视物习惯保持在适当距离不动, 并规定受试者看到

“品”字图像视为明视, 看到倒“品”字时视为不明视。测定总时间设定为3 min。

计算公式为: 明视持久度 = (明视时间 ÷ 注视总时间 3 min) × 100%

(3) 远视力

使用国标视力表检查远视力^[15]。

(4) 功效评价标准^[13]

功效评价表见表2。

2 结果与分析

2.1 急性毒性试验结果与分析

表 2 功效评价标准

Table 2 Efficacy evaluation standard

功效	测定结果
症状改善	试验后试验组与对照组间相比眼部主要症状眼痛、眼胀、畏光、视物模糊、眼干涩任一症状改善 1 分及 1 分以上即为改善, 5 种症状任一改善且其它症状无恶化也可认为症状改善。
有效	试验前后两组自身比较及试验后试验组与对照组间眼部主要症状改善明显; 明视持久度前后相差大于等于 0.1 (10%), 并经统计比较有显著性差异; 视力有明显提高 (裸眼视力提高 0.2) 认为有效-参考指标, 不作为功效判定标准
无效	未达到有效标准。

由表 3 可知, 在观察期内小鼠活动、进食、行为等均正常, 无明显的中毒症状或不良反应, 无小鼠死亡。解剖并肉眼检查心、肝、脾、肺、肾等主要脏器

表 4 小鼠骨髓微核发生率的影响结果

Table 4 Effects of the beverage on mouse bone marrow micronucleus rate

剂量组	动物数 /只	微核率			PCE/RBC		
		受检 PCE 数	含微 PCE 数核	微核率/%	受检 PCE 数	RBC	PCE/RBC
阳性对照组 (环磷酰胺)	8	1000×8	213	26.625	200×8	1698	0.942
阴性对照组 (蒸馏水)	8	1000×8	8	1.000	200×8	1498	1.068
低剂量组 (25mg/kg-bw)	8	1000×8	7	0.875	200×8	1534	1.043
中剂量组 (50mg/kg-bw)	8	1000×8	9	1.125	200×8	1520	1.052
高剂量组 (75mg/kg-bw)	8	1000×8	11	1.375	200×8	1565	1.022

2.2.2 小鼠精子畸形试验

表 5 小鼠精子畸形发生率的影响结果

Table 5 Effects of the beverage on mouse sperm malformation rate

剂量组	动物数/ 只	检测精 子数/个	畸形精 子数/个	精子畸 形率/%
阳性对照组 (环磷酰胺)	8	1000×8	657	8.21
阴性对照组 (蒸馏水)	8	1000×8	153	1.91
低剂量组 (25mg/kg-bw)	8	1000×8	167	2.09
中剂量组 (50mg/kg-bw)	8	1000×8	168	2.10
高剂量组 (75mg/kg-bw)	8	1000×8	184	2.30

由表 5 可知, 阳性对照组 (环磷酰胺组) 的精子畸形率显著高于阴性对照组, 三个剂量组的精子畸形率

未见明显异常改变。给予受试物最大剂量后无动物死亡, 表明该饮料无急性致毒性。

表 3 小鼠急性毒性试验结果

Table 3 Mouse acute toxicity test results

剂量组 (mg/kg-bw)	动物 数/只	动物出现中 毒症状	动物死 亡情况
5	8	无中毒	无死亡
25	8	无中毒	无死亡
50	8	无中毒	无死亡
75	8	无中毒	无死亡
100	8	无中毒	无死亡

2.2 遗传毒性试验结果与分析

2.2.1 骨髓细胞微核试验

由表 4 可知, 试验组动物在各试验剂量下, 嗜多染红细胞 (PCE) 微核出现率、PCE/RBC 与阴性对照组的差异均无显著性, 而阳性对照组显示强烈的致突变作用, 说明该饮料无致突变作用。

与阴性对照组相比无显著性差异, 因此说明该饮料在小鼠精子畸形试验中为阴性。

2.3 大鼠 30 d 喂养试验结果与分析

2.3.1 大鼠体征外观、行为及体重的变化

体征外观: 大鼠服用饮料 30 d 后, 背毛光泽、眼睛红亮、口周鼻及尾部粘膜无溃疡, 呼吸平稳, 生长发育情况一切正常。

行为: 服用饮料 30 d 后, 大鼠活动正常, 摄食、饮水、大小便均未见异常, 未观察到受试大鼠明显的行为和中毒症状。

体重: 大鼠服用饮料 30 d 后, 体重变化如表 6 所示。

由表 6 可知, 大鼠连续饮用该饮料 30 d, 各剂量组大鼠体重在不断变化, 每周体重较前一周均有所增长, 呈现正常增长趋势, 组内自身对照各时段的体重差异具有统计学意义; 组间对照, 即高、中、低三个剂量组与正常对照组相比各时段体重增长均无明显差异 (P>0.05), 表明该饮料对机体生长无不良影响。

2.3.2 血液学指标

采集血清时, 将一部分血液盛于加抗凝剂的玻璃管中, 另一部分置于无抗凝剂玻璃管中待用。取抗凝

血于血液分析仪中测定试验末期的常规血液学指标: 血红蛋白、红细胞、白细胞, 结果如7所示。

表6 大鼠体重变化 (g)

Table 6 Rats weight change

组别	罐喂前	第一周	第二周	第三周	第四周	第五周
1	76.42±1.71 ^a	106.00±4.61 ^a	135.90±4.79 ^a	168.65±7.23 ^a	196.45±10.23 ^a	197.65±9.77 ^a
2	76.50±0.50 ^a	107.02±2.62 ^a	137.85±4.49 ^a	169.30±8.30 ^a	193.60±11.93 ^a	194.42±9.85 ^a
3	76.57±0.71 ^a	106.12±3.28 ^a	138.55±5.01 ^a	168.17±8.94 ^a	194.95±11.75 ^a	195.67±11.63 ^a
4	76.30±0.87 ^a	104.85±3.28 ^a	137.37±4.56 ^a	169.57±8.88 ^a	195.38±10.71 ^a	196.07±10.10 ^a
F	0.0490	0.2460	0.2260	0.0230	0.0440	0.0660
P	0.9848	0.8629	0.8767	0.9951	0.9869	0.9770

注: ①“1、2、3、4”分别表示对照组(蒸馏水)、低剂量组(25 mg/kg-bw)、中剂量组(50 mg/kg-bw)和高剂量组(75 mg/kg-bw); ②“X±S”指平均值加减标准差; ③“a, b”表示组间差异显著性, 组间字母相同表示差异不显著, 字母不同表示差异显著。

表7 大鼠血液学指标测定结果

Table 7 Measurement results of rats hematology index

组别	动物数/只	红细胞($\times 10^{12}$ cells/L)	血红蛋白/(g/L)	白细胞($\times 10^9$ cells/L)
对照组(蒸馏水)	8	9.24±0.14 ^a	165.84±8.49 ^a	3.33±1.01 ^a
低剂量组(25mg/kg-bw)	8	9.28±0.10 ^a	166.33±8.68 ^a	3.34±1.02 ^a
中剂量组(50mg/kg-bw)	8	9.27±0.12 ^a	166.49±8.29 ^a	3.31±1.10 ^a
高剂量组(75mg/kg-bw)	8	9.30±0.10 ^a	169.27±9.28 ^a	3.40±1.11 ^a
F		0.1350	0.1270	0.0050
P		0.9374	0.9425	0.9994

注: ①“X±S”指平均值加减标准差; ②“a, b”表示组间差异显著性, 组间字母相同表示差异不显著, 字母不同表示差异显著。

由表7可知, 该饮料中的高、中、低三组小鼠血液学指标与对照组相比均无显著性差异 ($P>0.05$), 表明各剂量组对小鼠的血液学指标无异常改变, 说明该饮料未引起大鼠组织性或器官性的变化。

2.3.3 血液生化学指标

将非抗凝血在离心机中3000 r/min离心10 min, 分离获得血清, 于全自动生化分析仪中检测谷丙转氨酶、谷草转氨酶、白蛋白、总蛋白、肌酐、尿素氮、总胆固醇、甘油三酯、血糖等生化指标, 结果见表8、9。

由表8和表9可以看出, 大鼠末期生化指标所测各组动物的谷丙转氨酶、谷草转氨酶、白蛋白、总蛋白、

肌酐、尿素氮、总胆固醇、甘油三酯、血糖等指标与对照组均无显著性差异 ($P>0.05$), 表明各剂量组对小鼠的血液生化学指标均无异常改变。

2.3.4 大鼠脏器重量及脏器比

大鼠解剖取血后, 迅速取出肝、肾、脾、睾丸, 剔除表面脂肪膜, 称重后置洁净塑料袋中密封, 低温保存待测。称重后并记录各组织器官重量如表10所示, 计算肝重/体重、肾重/体重、脾重/体重及睾丸重/体重的脏器系数如表11所示。

由表10可知, 对照组及低、中、高三个剂量组的大鼠肝、肾、脾、睾丸均未发生异常。

表8 大鼠血液生化学指标测定结果-1

Table 8 Measurement results of ats blood biochemistry index-1

	动物数/只	谷丙转氨酶/(U/L)	谷草转氨酶/(U/L)	白蛋白/(g/L)	总蛋白/(g/L)
对照组(蒸馏水)	8	83.16±1.86 ^a	329.00±14.30 ^a	33.00±2.00 ^a	66.13±3.82 ^a
低剂量(25 mg/kg-bw)	8	83.60±1.47 ^a	326.66±12.23 ^a	32.66±1.15 ^a	65.36±5.06 ^a
中剂量组(50 mg/kg-bw)	8	82.51±2.21 ^a	331.13±10.20 ^a	31.66±1.15 ^a	65.20±3.96 ^a
高剂量组(75 mg/kg-bw)	8	83.90±2.09 ^a	333.33±10.46 ^a	34.33±1.52 ^a	66.86±3.11 ^a
F		0.2920	0.1730	1.6170	0.1070
P		0.8300	0.9119	0.2605	0.9534

表9 大鼠血液生化指标测定结果-2

Table 9 Measurement results of rats blood biochemistry index-2

	动物数/只	肌酐/($\mu\text{mol/L}$)	尿素氮/(mmol/L)	总胆固醇/(mmol/L)	甘油三酯/(mmol/L)	血糖/(mmol/L)
对照组(蒸馏水)	8	64.20 \pm 9.72 ^a	6.63 \pm 0.15 ^a	2.08 \pm 0.23 ^a	0.42 \pm 0.01 ^a	6.17 \pm 0.53 ^a
低剂量组(25mg/kg·bw)	8	63.70 \pm 8.43 ^a	6.60 \pm 0.65 ^a	2.11 \pm 0.25 ^a	0.41 \pm 0.02 ^a	6.18 \pm 0.52 ^a
中剂量组(50mg/kg·bw)	8	63.80 \pm 8.06 ^a	6.53 \pm 0.32 ^a	2.12 \pm 0.20 ^a	0.38 \pm 0.03 ^a	6.17 \pm 0.49 ^a
高剂量组(75mg/kg·bw)	8	65.76 \pm 6.18 ^a	6.50 \pm 0.36 ^a	2.10 \pm 0.27 ^a	0.41 \pm 0.02 ^a	6.20 \pm 0.51 ^a
F		0.0410	0.0650	0.0130	0.7940	0.0020
P		0.9881	0.9771	0.9977	0.5308	0.9999

表10 大鼠主要脏器重量测定结果

Table 10 Measurement results of rat main viscera weight

	动物数/只	体重/g	肝脏重量/g	肾脏重量/g	脾脏重量/g	睾丸重量/g
对照组(蒸馏水)	8	220.60 \pm 19.28 ^a	8.35 \pm 1.60 ^a	1.79 \pm 0.38 ^a	0.33 \pm 0.08 ^a	2.95 \pm 0.36 ^a
低剂量组(25mg/kg·bw)	8	218.36 \pm 18.52 ^a	8.31 \pm 1.41 ^a	1.75 \pm 0.30 ^a	0.34 \pm 0.09 ^a	2.77 \pm 0.47 ^a
中剂量组(50mg/kg·bw)	8	211.83 \pm 20.99 ^a	8.17 \pm 1.61 ^a	1.80 \pm 0.35 ^a	0.29 \pm 0.07 ^a	2.98 \pm 0.38 ^a
高剂量组(75mg/kg·bw)	8	222.70 \pm 23.39 ^a	8.05 \pm 2.09 ^a	1.92 \pm 0.46 ^a	0.39 \pm 0.10 ^a	2.94 \pm 0.43 ^a
F		0.1560	0.0200	0.1090	0.6730	0.1470
P		0.9229	0.9959	0.9526	0.5924	0.9286

注：“睾丸重量”为4只雄性小鼠的平均值。

表 11 大鼠主要脏器系数测定结果

Table 11 Measurement results of rat main viscera coefficient

	动物数/只	肝重/体重/%	肾重/体重/%	脾重/体重/%	睾丸/体重/%
对照组(蒸馏水)	8	3.76 \pm 0.41 ^a	0.81 \pm 0.17 ^a	0.15 \pm 0.03 ^a	1.33 \pm 0.10 ^a
低剂量组(25mg/kg·bw)	8	3.78 \pm 0.33 ^a	0.80 \pm 0.12 ^a	0.15 \pm 0.03 ^a	1.26 \pm 0.11 ^a
中剂量组(50mg/kg·bw)	8	3.83 \pm 0.40 ^a	0.85 \pm 0.16 ^a	0.14 \pm 0.05 ^a	1.40 \pm 0.08 ^a
高剂量组(75mg/kg·bw)	8	3.57 \pm 0.59 ^a	0.86 \pm 0.19 ^a	0.17 \pm 0.04 ^a	1.32 \pm 0.13 ^a
F		0.1930	0.0880	0.4140	0.8370
P		0.8982	0.9645	0.7476	0.5103

由表11各试验组重要脏器系数(脏器湿重/体重 \times 100)结果可知,各剂量组脏器系数与对照组比较无差异显著性($P>0.05$)。

2.3.5 病理组织学检查

大鼠解剖时,观察脏器肝、肾、胃、十二指肠、脾、睾丸、卵巢的色泽、形态、位置均无异常,脏器间无粘连、脏器表面及消化管内膜无瘀血、充血、水肿、溃疡现象,其胸腔、腹腔、与对照组相比未见肉眼可见的病理改变。

解剖后取出各脏器进一步观察,各剂量组的大鼠肝、肾、脾脏、睾丸与对照组基本一致,外观淡紫红色,表面光泽油润,各脏器组织较正常结构均无明显异常改变。因此无需做进一步的组织切片观察。

综上所述,各剂量组动物脏器均未见由受试物引起的损害性改变。

2.4 安全性指标测定结果与分析

受试者试验前后的血常规、尿常规、肝、肾功能及心电图检查结果如表12所示。

由表12可知,受试者试验前后的常规检测项目结果与各指标生物参考范围进行对照,均在正常值范围之内,试验前后受试者的血常规、尿常规肝、肾功能及心电图检查均未发现异常。经统计分析,试验组及对照组人员试验前后各项指标值均无显著性差异($P>0.05$),说明服用该饮料对试食者的健康无不良影响。

2.5 功效性指标测定结果与分析

2.5.1 眼科症状检查结果与分析

试验前进行检测发现一部分人具有一种症状,另一部分人是两种以上症状,甚至是所有症状都有。试食结束后将每个人的每个症状改善情况记录下来,根据1.2.2.4眼科症状检查中的表1及其判定方法进行判定,统计改善情况,如表13所示。

表12 常规项目检测结果

Table 12 Regular project test results

项目	中文名称	英文缩写	生物参考值	对照组/50人		试验组/50人	
				试验前	试验后	试验前	试验后
血常规	白细胞计数	WBC($\times 10^9$)/L	3.69~9.16	6.56 \pm 0.30	6.49 \pm 0.38	6.46 \pm 0.33	6.52 \pm 0.23
	中性粒细胞相对值	NEUT/%	50.0~70.0	61.62 \pm 5.41	59.90 \pm 5.68	62.55 \pm 4.50	59.93 \pm 7.64
	淋巴细胞相对值	LYM/%	20.0~40.0	30.82 \pm 7.70	31.47 \pm 7.71	32.07 \pm 3.07	28.32 \pm 4.46
	单核细胞相对值	MXD/%	3.0~10.0	6.15 \pm 1.71	5.35 \pm 2.14	5.92 \pm 1.40	6.00 \pm 1.47
	嗜酸细胞相对值	EOS/%	0.5~5.0	2.35 \pm 2.07	2.16 \pm 1.68	1.92 \pm 1.59	2.19 \pm 1.62
	红细胞计数	RBC($\times 10^{12}$)/L	3.68~5.13	4.37 \pm 0.51	4.41 \pm 0.40	4.39 \pm 0.46	4.35 \pm 0.36
	红细胞蛋白	HGB/(g/L)	113.0~151.0	137.37 \pm 14.12	133.72 \pm 16.15	135.65 \pm 12.88	140.97 \pm 14.47
	血红蛋白	MCV/fL	82.6~99.1	93.02 \pm 6.97	92.80 \pm 5.29	95.7 \pm 2.05	92.77 \pm 6.30
	平均红细胞血红蛋白含量	MCH/pg	26.9~33.3	30.50 \pm 2.74	31.30 \pm 2.56	31.12 \pm 2.82	29.42 \pm 2.42
	血小板计数	PLT($\times 10^9$)/L	101.0~320.0	289.35 \pm 28.14	301.32 \pm 24.46	295.12 \pm 19.36	288.42 \pm 35.47
血小板平均体积	MPV/fL	7.6~13.2	10.52 \pm 2.18	10.47 \pm 2.01	10.35 \pm 2.04	11.27 \pm 2.29	
尿常规	颜色	COLOR	-	淡黄色	淡黄色	淡黄色	淡黄色
	浊度	TURB	-	清亮	清亮	清亮	清亮
	葡萄糖	GLU	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性
	蛋白质	PRO	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性
	胆红素	BIL	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性
	尿胆原	URO	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性
	pH值	pH	4.5~8.0	7.8 \pm 0.8	7.4 \pm 0.2	6.9 \pm 0.7	6.6 \pm 0.5
	隐血	BLD	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性
	酮体	KET	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性
	亚硝酸盐	NIT	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性
白细胞	LEU	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	
比重	S/G	1.003~1.030	1.01 \pm 0.03	1.02 \pm 0.05	1.00 \pm 0.06	1.00 \pm 0.02	
肝、肾功能	-	-	正常	正常	正常	正常	
心电图	-	-	未见异常	未见异常	未见异常	未见异常	

表13 试验前后眼部主要症状改善情况

Table 13 Effect of the beverage on improvement of eye main symptoms

症状	例数	无效	有效	改善率/%	总改善率/%	
眼胀	对照组	25	22	3	12.00	14.41
	试验组	28	8	20	71.43	
眼痛	对照组	9	8	1	11.11	(对照组)
	试验组	11	6	5	45.45	
畏光	对照组	19	19	0	0.00	66.67
	试验组	18	8	10	55.56	
视物模糊	对照组	16	14	2	12.50	(试验组)
	试验组	14	7	7	50.00	
眼干涩	对照组	49	38	11	22.45	79.07
	试验组	43	9	34	79.07	

注：“例数”指试验前有此症状的人数，“无效”指症状未改

变或者有所加重的人数，“有效”指每组中此症状消失或改善的人数。

由表13可知,试验后受试者眼部主要症状(眼胀、眼痛、畏光、视物模糊、眼干涩)均有不同程度的改善,试验组中的各个症状改善情况有所不同。改善效果较好的是眼干涩症状,其次是眼胀症状,眼痛症状改善效果不是很明显,说明该饮料对轻微症状有明显的改善效果,而对较重的症状改善效果较小。至于对照组为何也有一定的症状改善作用,可能是因为受试者的饮食所致,也可能是个别受试者在测试过程中描述症状时所呈现的主观因素,但与试验组相比其改善程度微乎其微,试验组与试验前及对照组相比,视疲劳感人数明显减少。通过试验组66.7%的总改善率可以判定该饮料具有改善眼部症状的作用的,而且与对照组相比改善效果较明显。

2.5.2 明视持久度测定结果与分析

表 14 试验前后明视持久度变化比较 (%)

Table 14 Effect of the beverage on improvement of bright durability

	人数	试验前	试验后	改善率
对照组	50	55.79±8.26 ^a	57.74±8.03 ^a	1.95±2.18 ^a
试验组	50	53.30±5.51 ^a	70.45±4.15 ^b	17.15±8.37 ^b

注：①“X±S”指平均值加减标准差，下同。②“改善率”指试验后与试验前明视持久度之差。

由表14可知，试验组与对照组组间比较：试验前两组间明视持久度无显著性差异（ $P=0.6323>0.05$ ），说明试验具有可比性，因此具有继续测试的意义；试验后两组间明视持久度有显著性差异（ $P=0.0479<0.05$ ），组间比较。试验组与对照组的组内自身对照：对照组试验前后的明视持久度差异不显著（ $P=0.7657>0.05$ ）；而试验组差异显著（ $P=0.0025<0.05$ ）。

试验后试验组与对照组间总改善率差异显著（ $P=0.0126<0.05$ ），试验组明视持久度提高了17.15±8.37%。由此可以得出该饮料对受试者的明视持久度具有一定的改善作用。

2.5.3 远视力检测结果与分析

表 15 试验前后远视力变化比较

Table 15 Effect of the beverage on improvement of distant vision

		试验前	试验后	改善情况(差值)
对照组	左眼	0.96±0.12 ^a	0.94±0.13 ^a	0.02±0.16 ^a
	右眼	0.94±0.05 ^a	0.92±0.08 ^a	0.02±0.09 ^a
试验组	左眼	0.92±0.19 ^a	0.77±0.04 ^b	0.15±0.08 ^b
	右眼	0.93±0.14 ^a	0.80±0.07 ^b	0.13±0.06 ^b

由表 15 可知，远视力的组间对照：试验前试验组与对照组组间远视力无显著性差异（ $P=0.9665>0.05$ ），说明两组间有可比性，是具有试验意义的；试验后试验组与对照组组间差异显著（ $P=0.0154<0.05$ ），试验后的试验组与对照组间总改善率差异显著（ $P=0.0015<0.05$ ）。试验前后组内自身对照：对照组试验前后差异不显著（左眼 $P=0.8432$ ，右眼 $P=0.5877$ ，均大于 >0.05 ），即对照组试验后左右眼远视力与试验前比较无明显的改善；试验组差异显著（左眼 $P=0.0492$ ，右眼 $P=0.0421$ ），具有有统计学意义，试验后左右眼远视力均比试验前有所改善。

虽然从远视力改善的情况来看，左眼提高0.15±0.08、右眼提高0.13±0.06（双眼平均提高0.14±0.07），没有达到0.2的参考标准，但功效标准明确说明该远视力0.2的指标只作为参考指标，并非功效标准的评价指标。从结果中受试者双眼远视力平均提

高0.14±0.07，具有统计学意义，该饮料对受试者的远视力起到了一定的改善作用。

3 结论

3.1 由小鼠急性经口毒性试验可知，本保健饮料对小鼠急性经口最大耐受剂量大于高剂量组75mg/kg·bw。

3.2 由遗传毒性试验可知，小鼠骨髓细胞微核试验和小鼠精子畸形试验两项试验结果均为阴性，表明该饮料无致突变作用。

3.3 由大鼠30d喂养试验可知，大鼠体征行为正常、体态健康、血液及血液生化指标也无异常变化，因此75 mg/kg·bw的剂量（人体推荐量的150倍）属于安全剂量。

3.4 遗传毒性试验和大鼠30d喂养试验结果均为阴性，因此确定本保健饮料属无毒类食品，人可以安全放心食用。

3.5 由安全性指标测定结果得出：试验后受试者的血常规、尿常规、肝肾功能及心电图检查与试验前比较无显著性差异，均未发现异常，因此，本饮料不会引起人体出现任何异常现象，属于安全食品。

3.6 由功效性指标测定得出：视疲劳受试者服用缓解视疲劳枸杞饮料后，眼胀、眼痛、畏光、视物模糊、眼干涩改善率显著高于对照组（ $P<0.05$ ），试验组眼部症状总改善率达66.67%；双眼明视持久度平均提高17.15±8.37%，且经统计学处理差异有显著性；试验后试验组双眼远视力比试验前提高0.14±0.07%，经统计学处理差异有显著性（ $P<0.05$ ）。由上述三个功效指标结果可知，该饮料具有有效的缓解视疲劳作用。

参考文献

- [1] 齐宗韶.枸杞子和枸杞叶化学成分的研究[J].中药通报, 1986,11(3):41
- [2] 王彦博,石燕,唐慧安.叶黄素的提取、功效和应用研究进展[J].中国酿造,2011,7:1-4
- [3] 胡博杰,胡雅楠,林松,等.叶黄素和玉米黄质在糖尿病视网膜病变中的临床应用[J].眼科新进展,2010,9(30):866
- [4] 郑樱,杨月欣,马爱国.叶黄素摄入量与慢性疾病关系的研究进展[J].卫生研究,2012,1(41):144
- [5] 食品和药物管理局.食品添加剂修正案[M].美国:中国轻工业出版社,2006
- [6] 中华人民共和国卫生部.保健食品安全性毒理学评价程序和检验方法规范[M].北京:中国轻工业出版社,2003
- [7] 王彦波,韩剑众.食品毒理学的教学改革与实践[J].现代食品科技,2007,12:75
- [8] 朱金林,徐新德,孙晓霞,等.叶黄素咀嚼片毒理学安全性评

- 价[J].中国食品添加剂,2012,4:158-159
- [9] 李立,王亚东,张焱,等.大豆异黄酮复合胶囊毒理学安全性评价[J].河南预防医学杂志,2010,1(21):38-39
- [10] 冯家望,余以刚,欧阳颖瑜,等.食品中三聚氰胺的检测技术现状与展望[J].现代食品科技,2008,24(10):1048
- [11] 中华人民共和国卫生部.保健食品检验与评价技术规范[M].北京:中国轻工业出版社,2003
- [12] 刘新光.临床检验生物化学实验指导[M].北京:高等教育出版社,2006
- [13] 国家食品药品监督管理局视疲劳功能评价方法[S].2012, 4:1-5
- [14] 浙江医药股份有限公司新昌制药厂.有益于眼睛明视持久度的配方食品及其应用:中国,CN101595977[P].2009-19-09
- [15] 中华人民共和国卫生部.标准对数远视力表(2011 国家标准)[M].北京:人民卫生出版社,2012

现代食品科技