

叶黄素微囊咀嚼片的制备及功效评价

王新艳¹ 程鑫颖¹ 李士敏² 黄燕巧² 徐建中¹ 薛强^{1*}

1. 晨光生物科技集团股份有限公司 河北邯郸 057250

2. 晨光生物科技集团邯郸有限公司 河北邯郸 056107

摘要: **目的:** 研究叶黄素微囊咀嚼片的制备, 探讨其稳定性, 并评价其缓解视疲劳人体功效。**方法:** 采用微囊制备、湿法制粒制备叶黄素微囊咀嚼片, 通过在37℃、相对湿度75%、避光条件下放置3个月, 对叶黄素、维生素A保存率、感官、理化指标、微生物指标评价, 并选择112名受试者易疲劳者进行缓解视疲劳功效评价。**结果:** 本研究制备的叶黄素微囊咀嚼片稳定性试验结束后, 叶黄素保存率为92.62%, 维生素A保存率97.89%, 感官、理化指标、微生物指标无显著变化, 叶黄素维生素A咀嚼片稳定性良好。通过对112名受试者观察, 发现试食后试食组受试者症状总积分明显改善, 总有效例31例, 总有效率59.6%, 明视持久度提高10.8%, 认为叶黄素咀嚼片有缓解视疲劳作用。**结论:** 叶黄素微囊咀嚼片稳定性良好, 并具有缓解视疲劳功效。

关键词: 叶黄素; 微囊; 视疲劳; 人体功效评价

随着互联网的普及率的提高, 网络促进了社会信息的发展, 越来越多的人在生活和工作中使用电脑、手机等电子产品, 据统计, 我国2020年底网民数量约十亿, 而电子产品带来的视疲劳问题越来越突出, 且向未成年人转化趋势越来越明显^[1-3]。研究显示, 每天使用电子设备3.0 h以上的视疲劳患病率为52.5%~58.0%, 在室内和交通工具上使用电子设备2.0 h以上的视疲劳患病率为54.2%~65.7%^[4]。长时间的视觉疲劳, 会引起人们视力受损程度加重、出现视线模糊、注意力不集中等症, 影响人们的生活、学习和工作, 严重时会引起全身的不适^[5]。

叶黄素, 素有“植物黄金”之称, 主要通过抗氧化和光保护起到护眼作用。眼部组织结构中均含有叶黄素, 包括虹膜、晶状体、视网膜等, 其中以视网膜中央凹内层所含浓度最高。黄斑区、晶状体大量存在的叶黄素可吸收430 nm~490 nm波长的光波, 刚好与蓝光的吸收光谱相对应。蓝光可引起眼部组织长时间紧张状态, 易引发眼疲劳症状的发生, 此外, 蓝光具有极高的能量, 可穿过晶状体到达视网膜, 会造成眼部细胞的死亡, 会诱导眼部疾病的发生。叶黄素会过滤掉攻击视网膜组织的蓝色光波, 进而通过抗氧化作用防止氧化应激和黄斑细胞被自由基损伤, 达到护眼的作^[6-7]。

叶黄素是一种高度不饱和的化合物, 性质不稳定性, 在功能食品应用过程中, 易收到光、氧的影响发生降解。叶黄素的降解会导致生物活性降低, 会导致产品外观和风味的变化^[8]。叶黄素, 属于脂溶性物质, 通常这种物

质水溶性差且生物利用度低。据报道, 叶黄素微囊化可以有效解决上述问题, 扩大叶黄素在食品中的应用^[9]。本文主要以辛烯基琥珀酸淀粉钠、阿拉伯胶等为壁材, 利用喷雾干燥法得到叶黄素微囊粉, 研究其在水溶解性及在片剂中应用。

维生素A参与视网膜细胞视紫质合成, 对维持正常视觉功能起到重要作用^[10]。维生素A摄入水平与视疲劳发生率呈负相关性, 甚至缺乏维生素A可导致暗适应能力下降、夜盲、结膜干燥及干眼病, 同时使视疲劳^[11-13]。对具有眼疲劳症状的人群调查, 并检测其血清中维生素A的含量, 发现维生素A的含量与眼疲劳症状出现概率呈正相关作用。通过分析市场上的保健食品, 二者均是缓解视疲劳保健食品中常用营养素, 我们将其复配一起, 研究其制剂工艺并对其进行缓解视疲劳人体试验评价。

1 材料与方法

1.1 材料

叶黄素晶体(纯度98%, 晨光生物科技集团股份有限公司)、辛烯基琥珀酸淀粉钠、阿拉伯胶、麦芽糊精、白砂糖、维生素E、抗坏血酸、维生素A粉(帝斯曼维生素贸易(上海)有限公司)、麦芽糊精、草莓果粉、赤藓糖醇、柠檬酸、甜菊糖苷。

1.2 设备

高剪切乳化机L5T、SY-6000喷雾干燥器(上海世远生物设备工程有限公司); GYB40-10S高压均质机(上海东华高压均质机厂); LHSZ600B型整粒湿法混合制粒机(浙江迦南科技有限公司); GZPS-51型全自动

双出料高速压片机(浙江小伦制药机械有限公司);HX-1型热风循环干燥箱(杭州富阳康华制药机械有限公司)。

1.3 叶黄素微囊制备方法

将40%辛烯基琥珀酸淀粉钠,8%阿拉伯胶溶解于纯化水中,搅拌均匀,再加入25%麦芽糊精,15%白砂糖,1%维生素E,1%抗坏血酸,补纯化水至1000 mL,充分搅拌溶解,得到水相;叶黄素晶体与水相混合后依次进行高速剪切乳化、纳米研磨。最后进行喷雾干燥(喷雾干燥工艺参数:进风温度170℃,出风温度50℃),得到含叶黄素10%的叶黄素微囊粉。

1.4 咀嚼片制备方法

每片含叶黄素微囊粉100 mg、维生素A粉5 mg、草莓果粉622.5 mg、赤藓糖醇250 mg、柠檬酸10 mg、甜菊糖苷2.5 mg、硬脂酸镁10 mg,将维生素A粉、甜菊糖苷混合均匀后依次加入柠檬酸、叶黄素微囊粉、赤藓糖醇、草莓果粉进行混合,加入80%乙醇溶液进行制软材,24目筛制粒,55℃进行干燥后24目整粒,压片,片重规格为每片1.0 g,得叶黄素维生素A咀嚼片。

1.5 稳定性试验方法

参照《保健食品稳定性试验指导原则》对叶黄素维生素A咀嚼片进行稳定性考察,于37℃±2℃、相对湿度75%±5%、避光条件下,分别于0、1、2、3个月进行感官指标、理化指标、微生物指标、功效成分(叶黄素和维生素A)含量测定。

1.6 人体试食试验方法

挑选长期用眼,易出现视疲劳的18-65岁受试者112例。根据随机、双盲要求分为试食组和对照组,并依据症状及视力检查情况,使试食组和对照组的症状视力水平均衡。年龄、性别、视力等因素具有可比性,采用自身和组间两种对照设计。

1.6.1 食用方法与时间

试食组服用叶黄素维生素A咀嚼片,对照组服用安慰剂,每日1次,每次1片,咀嚼食用。受试物服用时间为连续60天,期间不改变原来的饮食习惯、正常饮食,停止使用其他具有缓解视疲劳作用的产品。

1.6.2 观察指标

1.6.2.1 问卷调查:症状询问、用眼情况(用电脑、电视、看书报等)

1.6.2.2 眼科检查:包括眼底检查、视力检查(近视、远视、散光等)

1.6.2.3 明视持久度:受试者看到“品”字图像视为

明视,倒“品”字时为不明视。测定3 min内明视时间和注视总时间的百分比。

1.6.2.4 安全性指标:血、尿、便常规,血生化指标,胸透、心电图、腹部B超检查,不良反应观察。

1.6.3 功效判断

1.6.3.1 视疲劳症状中有3种改善,且其他症状无恶化即判定症状改善。

1.6.3.2 参照表1.1视疲劳症状判定方法,计算试食前后试食者的症状积分,并进行统计学检验。

表1.1 视疲劳症状判定方法(半定量积分法)

症状/积分	0	1分	2分	3分
眼胀	无	偶感眼胀	时有眼胀,休息后好转	经常眼胀,休息后改善
眼酸痛	无	偶感隐痛	时有眼痛	经常眼痛
畏光	无	偶有畏光	时有畏光	经常畏光
视物模糊	无	偶有模糊	时有模糊,休息后缓解	经常模糊,休息后改善
眼干涩	无	偶有干涩	时有干涩	经常干涩
异物感	无	偶有异物感	时有异物感	经常异物感
流泪	无	偶有流泪	时有流泪	经常流泪
与视疲劳相关的全身不适	无	偶有全身不适	时有全身不适	经常全身不适

注:“偶感”是指1-2次/2天;“时有”是指1-3次/天;“经常”是指>3次/天

1.6.3.3 明视持久度:试食组自身比较或组间比较,明视持久度差异有显著性($P < 0.05$),且平均明视持久度提高 $\geq 10%$ 为有效。

1.6.4 数据统计分析

计量资料可用t检验分析,自身对照采用配对t检验,两组均数比较采用成组t检验。对非正态分布或方差不齐的数据进行适当的变量转换,待满足正态方差齐后,用转换的数据进行t检验;若转换数据仍不能满足正态方差齐要求,改用t'检验或秩和检验。在试食前组间比较差异无显著性的前提下,可进行试食后组间比较。计数资料可用 X^2 检验。四格表总例数小于40,或总例数等于或大于40但出现理论频数等于或小于1时,应改用确切概率法。

2 结果

2.1 叶黄素微囊粉水溶性

对比图2.1叶黄素晶体(图左)和叶黄素微囊粉(图右)溶于水中的状态可以发现:微囊后的叶黄素可在水中迅速分散均匀,在25℃条件下放置10d,观察到叶黄素并未发生沉降。



a b
图2.1 叶黄素微囊粉水溶解性

a 叶黄素微囊粉水溶解0d状态, b 叶黄素微囊粉水溶解10d状态。

2.2 加速稳定性试验结果

叶黄素维生素A咀嚼片在 37 °C、相对湿度 75 %、避光条件下放置3个月, 叶黄素保存率 92.62 %, 维生素A保存率 97.89 %, 感官、理化指标、微生物指标无显著变化, 检测结果见表2.1。

表2.1 叶黄素维生素A咀嚼片稳定性试验结果

检测项目	标准规定	检测结果			
		第0个月	第1个月	第2个月	第3个月
感官	橙黄色片剂, 具有草莓香味, 无异味, 甜酸适宜, 无异物	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定
叶黄素, g/100 g	≥ 1.0	1.22	1.19	1.14	1.13
维生素A, mg/100 g	36.0 ~ 54	45.02	45.46	44.51	44.07
铅 (Pb), mg/kg	≤ 2.0	< 0.02	< 0.02	< 0.02	< 0.02
总砷 (As), mg/kg	≤ 0.3	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01
总汞 (Hg), mg/kg	≤ 1.0	< 0.003	< 0.003	< 0.003	< 0.003
菌落总数, CFU/g	≤ 30000	< 10	< 10	< 10	< 10
霉菌和酵母, CFU/g	≤ 50	< 10	< 10	< 10	< 10
大肠菌群, MPN/g	≤ 0.92	< 0.3	< 0.3	< 0.3	< 0.3
金黄色葡萄球菌	≤ 0/25 g	未检出	未检出	未检出	未检出
沙门氏菌	≤ 0/25 g	未检出	未检出	未检出	未检出

2.3 人体试食试验结果

2.3.1 一般状况

共观察112名受试者, 随机分为试食组和对照组。脱失受试者试食组4例、对照组5例, 有效受试者103例, 试食组52例, 对照组51例, 受试者前血、尿、便常

规、肝肾功能、胸透、心电图、B超检查等均基本在正常范围, 分组情况见表2.2, 试食前两组受试者年龄、性别、明视持久度、视力、症状总积分和用眼时间均无明显差异 ($P > 0.05$), 具有可比性。

表2.2 试食前均衡性比较 ($\bar{x} \pm SD$)

	试食前	试食后
例数	52	51
男/女	10/42	10/41
年龄 (岁)	58.13 ± 7.80	57.55 ± 7.26
明视持久度 (%)	59.2 ± 8.2	58.7 ± 7.2
左眼视力	5.00 ± 0.15	5.01 ± 0.15
右眼视力	4.99 ± 0.14	4.98 ± 0.15
症状总积分	6.06 ± 1.75	5.43 ± 1.72
用眼时间 (h)	4.48 ± 1.13	4.47 ± 1.12

试食组和对照组间比较 $P > 0.05$

2.3.2 症状总积分变化

比较试食组自身, 试食后症状总积分得到改善, 试

食前后总积分具有显著差异, 试食后总积分降至3.50; 试食组与对照组组间比较, 症状总积分均有显著性差异 ($P < 0.001$)。结果见表2.3。

表 2.3 试食前后症状总积分变化 ($\bar{x} \pm SD$)

组别	例数	试食前	试食后
试食组	52	6.06 ± 1.75	3.50 ± 1.84 ***###
对照组	51	5.43 ± 1.72	5.25 ± 2.00

*** 自身比较 $P < 0.001$, ### 组间比较 $P < 0.001$

2.3.3 主要症状改善情况

在各主要症状改善方面, 试食组与对照组比较具有显著性差异 ($P < 0.05$), 见表 2.4。试食组使用叶黄素维生素 A 咀嚼片后各种视疲劳症状均得到改善。

表 2.4 试食前后主要症状改善情况

主要症状	例数		有效例数		无效例数		有效率 (%)	
	试食组	对比组	试食组	对比组	试食组	对比组	试食组	对比组
眼胀	28	25	18	1	10	24	64.3	4.0
眼痛	31	26	19	4	12	22	61.3	15.4
畏光	30	30	17	3	13	27	56.7	10.0
视物模糊	23	26	12	4	11	22	52.2	15.4
眼干涩	28	25	19	4	9	21	97.9	16.0
异物感	30	22	16	2	14	20	53.3	9.1
流泪	21	21	16	3	5	18	76.2	14.3
全身不适	31	34	17	2	14	32	54.8	5.9

2.3.4 明视持久度变化

试食组与对照组组间比较, 明视持久度有显著性变化 ($P < 0.001$)。比较试食组自身, 试食者使用叶黄素维生素 A 咀嚼片 60 天后明视持久度提高了 10% 以上, 具有显著性差异 ($P < 0.001$), 结果见表 2.5。

表 2.5 试食前后症状总积分变化 ($\bar{x} \pm SD$)

组别	例数	试食前 (%)	试食后 (%)	提高值 (%)
试食组	52	59.2 ± 8.2	69.9 ± 7.3 ***###	10.8 ± 3.4 ###
对照组	51	58.7 ± 7.2	58.9 ± 6.2	0.3 ± 2.2

*** 自身比较 $P < 0.001$, ### 组间比较 $P < 0.001$

2.3.5 症状改善有效率

试食后试食组症状总有效 31 例, 总有效率 59.6%, 与对照组比较有显著差异 ($P < 0.001$), 结果见表 2.6。

表 2.6 试食前后症状改善总有效率结果

组别	例数	有效	无效	总有效率 (%)
试食组	52	31	21	59.6
对照组	51	0	51	0

2.3.6 用眼时间

试食组与对照组组间比较, 用眼时间均没有显著变化 ($P > 0.05$), 结果见表 2.7。

表 2.7 试食前后症状总积分变化 ($\bar{x} \pm SD$)

组别	例数	试食前 (h)	试食后 (h)
试食组	52	4.48 ± 1.13	4.37 ± 0.77
对照组	51	4.47 ± 1.12	4.49 ± 0.70

2.3.8 安全性观察结果

试验前后血、尿、便常规、血生化、腹部 B 超, 心电图及胸透等指标均在正常范围, 试食前后两组受试者精神、睡眠、饮食、大小便均无明显变化。试食过程中未收到受试者有不良反应和过敏反应的反馈。

3 结论

微囊结构是在有效成分外包裹一层囊壁, 保护囊芯中有效成分受到光、氧、温度等因素的影响, 可提高叶黄素的稳定性。微囊化的叶黄素可在水中迅速分散, 并保持均匀的溶解状态, 溶液粒径能够达到 1 μm 以下, 增加叶黄素与肠道接触面积。同时, 利用囊壁在水中溶解速度, 控制叶黄素释放速度, 达到提高生物利用度的效果。本研究通过辛烯基琥珀酸淀粉钠、阿拉伯胶等辅料为壁材, 对叶黄素进行微囊化, 使其在水中分散, 在 25 °C 条件下放置 10 d, 叶黄素微囊粉未发生沉降, 证明微囊可使叶黄素在水中可保持粒径的稳定性。本研究制备的叶黄素维生素 A 咀嚼片在 37 °C、相对湿度 75%、避光条件下放置 3 个月, 叶黄素保存率 92.62%, 维生素 A 保存率 97.89%, 感官、理化指标、微生物指标无显著变化, 叶黄素维生素 A 咀嚼片稳定性良好。片剂中使用叶黄素微囊粉可防止有效成分的降解。

叶黄素进入人体后, 主要分布在视网膜, 与玉米黄素共同构成黄斑色素。视网膜周围血管分布较多, 局部氧浓度高易被氧化, 且含有较多光敏物质。在高能量光的作用下, 产生过多氧自由基, 使视网膜细胞脂质过氧化、蛋白结构发生改变、损伤 DNA, 最终导致细胞凋亡, 叶黄素可通过猝灭活性氧和滤过蓝光作用保护视网膜。人体不能自身合成叶黄素, 有研究显示每日摄入 10

mg-20 mg叶黄素, 可以达到缓解视疲劳和保护视力的效果^[14-20]。维生素A是人体必需营养元素, 参与眼底视紫红质的合成, 对维持正常视觉能力具有重要作用。人体缺少视紫红质时, 容易出现眼干涩、暗光下视物不清、眼胀等眼部疲劳症状^[21]。实验证明, 膳食中补充维生素A, 可有效改善眼干、暗视觉等眼疲劳症状^[22]。通过对112名受试者观察, 发现试食后试食组受试者症状总积分明显改善, 总有效例31例, 总有效率59.6%, 明视持久度提高10.8%。与对照组相比, 试食组症状总积分、总有效率、明视持久度均具有显著改善。根据国家食品药品监督管理局国食药监保化[2012]107号附件4中缓解视疲劳判定标准, 认为叶黄素咀嚼片有缓解视疲劳作用。试食叶黄素维生素A咀嚼片60天内, 无试食者反馈不良反应, 对受试者身体健康状况无影响, 本研究证明每日补充10mg的叶黄素是安全的。

参考文献:

- [1]冯月兰,董竟,唐静晓,刘志英.视疲劳患者3502例的病因分析[J].国际眼科杂志,2016;16(2):375-377.
- [2]杨凯莉,李玉,刘玲.视疲劳的研究进展[J].世界最新医学信息文摘,2017,17(45):60-62.
- [3]袁野,何书喜.视频终端对视觉质量的影响及机制[J].国际眼科杂志,2012,12(5):891-895.
- [4]王家琦,翟玥,刘泽豫,等.大学生电子产品使用与视疲劳发生的相关性分析[J].眼科新进展,2018,38(1):65-68.
- [5]陈燕达,屠彦,王莉莉,沈莉,贺亚光.视觉疲劳状态下的生理指标研究[J].电子器件,2015,38(06):1245-1248.
- [6]吴洋,李书国.天然食用叶黄素的性质、功能及在食品加工中的应用[J].粮食科技与经济,2015,40(1):59-62.
- [7]王海,赵海娇.视觉相关营养素对视觉功能保护作用的研究进展[J].山东医药,2017,57(24):109-112.
- [8]Su, J., Guo, Q., Chen, Y., Mao, L., Gao, Y., & Yuan, F. Utilization of β -lactoglobulin (-) - Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) composite colloidal nanoparticles as stabilizers for lutein pickering emulsion[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 98, 105293.
- [9]王闯,宋江峰,李大婧,等.叶黄素微胶囊化研究[J].食品科学,2011,32(2):43-47.
- [10]林思恒,尹艳茹.视网膜维生素A循环的研究进展[J].眼视光学杂志,2009,11(3):238-240.
- [12]杨家驹,蒋宝泉,石元刚,等.正常青年口服大剂量维生素A对暗适应功能的影响[J].生理科学,1989,9(6):42-43.
- [13]张惠雯,胡迎芬,马玉萍,张源洁,姜晓阳,马爱国.青岛市大学生维生素A摄入情况及与视疲劳的相关性[J].中国食物与营养,2019,25(06),83-86.
- [14]陶懂谊,马文领.维生素A的生物学作用及其缺乏的防治[J].中国医药导报,2013,10(1):25-26、29.
- [15]石晓晴,黄月英,沈一唯,鄢寒,卞俊,等.叶黄素的生物学作用及制剂研究进展[J].中国药房,2017,28(4):561-565.
- [16]Granado- Lorencio F, López- López I, Herrero- Barbudo C, et al. Lutein-enriched frankfurter-type products: physicochemical characteristics and lutein in vitro bioaccessibility[J]. Food Chem, 2010, 120(3):741-748.
- [17]BAHRAMI H, MELIA M, DAGNELIE G. Lutein supplementation in retinitis pigmentosa: PC-based vision assessment in a randomized double-masked placebo-controlled clinical trial [NCT00029289][J]. BMC Ophthalmology, 2006, 6(1): 23. doi:10.1186/1471-2415-6-23.
- [18]BER SON E L, ROSNER B, SANDBERG M A, et al. Clinical trial of lutein in patients with retinitis pigmentosa receiving vitamin A[J]. Archives of Ophthalmology, 2010, 128(4):403-411.
- [19]KVANSAKUL J, RODRIGUEZ-CARMONA M, EDGAR D F, et al. Supplementation with the carotenoids lutein or zeaxanthin improves human visual performance[J]. Ophthalmic and Physiological Optics, 2006, 26(4):362-371.
- [20]NAKAGAWA K, KIKO T, HATADE K, et al. Antioxidant effect of lutein towards phospholipid hydroperoxidation in human erythrocytes[J]. The British Journal of Nutrition, 2009, 102(9):1280-1284.
- [21]马乐.电脑荧屏暴露对高校学生眼相关症状调查及叶黄素干预对视功能的影响和血清叶黄素变化研究[D].北京:北京大学,2008
- [22]高兴华,刘小杰,欧凯.视疲劳与营养干预[J].饮料工业,2010,13(06):15-18.
- [23]许雅文.探讨缓解视疲劳功能食品及其功效成分研究进展[J].中国继续医学教育,2016,8(16):70-71.

科技项目: 叶黄素微囊制剂及功能性食品制备关键技术研发(19227117D)

第一作者: 王新艳,女,1987年,工程师,硕士,主要从事保健食品和中药新药研究工作。

通讯作者: 薛强,男,1982年,高级工程师,硕士,主要从事保健食品和中药新药研究工作。