

透明质酸胶原蛋白冰糖燕窝饮品安全性及 有效性评价

查圣华, 张兴龙, 王俊亮, 张 宏*

(北京同仁堂健康药业股份有限公司, 北京 100085)

摘要: 目的 评价透明质酸胶原蛋白冰糖燕窝饮品的安全性及改善皮肤水分的功能。**方法** 采用小鼠急性经口毒性试验、小鼠精子畸形试验、小鼠骨髓细胞微核试验、Ames 试验、30 d 喂养试验对其进行安全性评价; 通过人体受试试验, 评价其对人体皮肤水分改善情况。**结果** 透明质酸胶原蛋白冰糖燕窝饮品经口最大耐受剂量(maximum tolerated dose, MTD)大于 20.00 g/kg-BW, 相当于人体推荐剂量的 200 倍, 属无毒级, 小鼠精子畸形试验、小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验、Ames 试验结果均为阴性, 30 d 喂养试验各剂量组血常规指标、血生化指标于空白和酪蛋白对照组比较, 无显著差异($P > 0.05$); 人体试验中试验组皮肤水分提高约 10.54%。**结论** 透明质酸胶原蛋白冰糖燕窝饮品具有改善皮肤水分的功能, 且安全无毒。

关键词: 透明质酸; 胶原蛋白; 燕窝; 人体试验; 皮肤水分

Safety and effectiveness evaluation of hyaluronic acid collagen rock candy bird's nest drink

ZHA Sheng-Hua, ZHANG Xing-Long, WANG Jun-Liang, ZHANG Hong*

(Beijing Tongrentang Health-Pharmaceutical Co., Ltd., Beijing 100085, China)

ABSTRACT: Objective To evaluate the safety of hyaluronic acid collagen rock candy bird's nest drink and its effectiveness on improvement of human skin moisture. **Methods** The safety of hyaluronic acid collagen rock candy bird's nest drink was evaluated by the acute toxicity in mice, the experiment of mouse sperm deformity, the mutation of salmonella test (Ames test) and the 30 d feeding test. Its effect on human skin moisture was evaluated by human test. **Results** The maximum tolerated dose (MTD) of hyaluronic acid collagen rock candy bird's nest drink was more than 20.00 g/kg-BW, equaled to 30 times of human recommendatory dosage, which indicated that it was nontoxic. The results of mice sperm abnormality test, mice bone marrow polychromatic erythrocyte micronucleus test, and Ames test results were negative and there was no significant difference in blood routine index and blood biochemical index between blank group and casein control group in 30 d feeding test ($P > 0.05$). The skin moisture of the text group increased by about 10.54%. **Conclusion** Hyaluronic acid collagen rock candy bird's nest drink is safe and can improve skin moisture, and is safe and non-toxic.

KEY WORDS: hyaluronic acid; collagen; bird's nest; human experiment; skin moisture

*通讯作者: 张宏, 博士, 主要研究方向为中药及天然产物研究开发。E-mail: hong_zhang@trtjk.com

*Corresponding author: ZHANG Hong, Ph.D, Beijing Tongrentang Health-Pharmaceutical Co., Ltd. 3/F Tower C international Science & Technology Park, No. 2 Shangdi Info Road, HaiDian District, Beijing 100085, China. E-mail: hong_zhang@trtjk.com

1 引言

燕窝为雨燕科动物金丝燕及同属多种燕的唾液与绒羽等混合凝结而成的巢窝^[1,2]。经加工后可供人食用, 为名贵滋补药, 又是昂贵的健康食品。具有调节人体生理平衡、增强免疫、促进细胞活力, 延缓衰老等重要功能^[3]。胶原蛋白是一种白色、不透明、无支链的纤维性蛋白质类高分子物质, 是动物体内分布最广、含量最多的一种蛋白质^[4-6], 其具有很强的生物活性及生物功能, 能参与细胞的迁移, 分化和繁殖, 并且能在真皮层中保留水分, 是为皮肤保湿、保持弹性的主要物质^[7-9]。透明质酸被称为迄今为止自然界中保湿最好的天然智能保湿因子, 是糖胺聚糖中的一种, 广泛分布于人体各部位, 其中皮肤也含有大量的透明质酸^[10]。

截止到目前, 燕窝相关功能的研究主要是增强免疫力和抗疲劳, 鲜见其改善皮肤水分功能的研究, 而且有研究发现, 部分燕窝在形成过程中会吸取部分岩浆形成部分或全部赤褐色的洞燕窝, 此类燕窝的有害成分能够通过胎盘进入胎儿体内, 对胎儿有致畸作用^[11]。因此本研究将优选白燕窝和透明质酸、胶原蛋白等主要原料按一定配比调配成透明质酸胶原蛋白冰糖燕窝饮品, 通过对其安全性评价以及改善皮肤水分功能评价, 研究其安全性及是否具有改善皮肤水分的功能^[12]。

2 材料与方 法

2.1 材 料

2.1.1 实验动物及环境

SPF 级昆明种小鼠、SD 大鼠和饲料(长沙市天勤生物技术有限公司), 实验动物生产许可证号: SCXK(湘)2014-0011。在屏障环境下进行以下试验。其中环境湿度: 50%~60%, 温度: 22~26 °C。试验动物使用许可证号: SYXK(湘)2015-0012。

2.1.2 菌 株

鼠伤寒沙门氏菌组氨酸缺陷型试验菌株 TA97a、TA98、TA100、TA102。

2.1.3 样 品

透明质酸胶原蛋白冰糖燕窝饮品, 性状为液态, 人体口服推荐剂量为每日 70 g, 因推荐量大, 现去除部分辅料样品进行试验, 去部分辅料样品人口服推荐摄入量为 6 g/d, 成人体重按 60 kg 计算, 折合成去部分辅料样品剂量为 0.1 g/kg·BW。

2.1.4 仪 器

全自动生化分析仪(美国贝克曼库尔特有限公司); 全自动血球计数仪(日本 SYSMEX(希森美康)株式会社); 皮肤水分测试仪(德国 CK 公司)。

2.1.5 主要试剂

尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、谷丙转氨酶

(alanine aminotransferase, ALT)、甘油三酯(triglyceride, TG)、总蛋白(total protein, TP)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、白蛋白(albumin, ALB)、血糖(blood glucose, GLU)、胆固醇(cholesterol, CHOL)试剂盒(上海复星长征医学科学有限公司); 肌酐(creatinine, Cr)试剂盒(上海申能-德赛诊断技术有限公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 毒理学试验

(1) 小鼠急性毒性试验

取 20 只昆明种小鼠, 雌雄各半, 体重 18~22 g, 采用最大耐受剂量法。将 20 g 去部分辅料燕窝饮品加蒸馏水定容至 60 mL, 混匀。首次灌胃前禁食 16 h, 然后给小鼠经口灌胃一日 3 次, 间隔 4 h, 均为 0.2 mL/10 g·BW, 累计剂量至 20.00 g/kg·BW。灌胃后连续观察 2 周, 记录中毒表现及死亡情况。

(2) Ames 试验

采取 2.1.2 中 4 种菌株进行试验。称取去部分辅料样品 1.25 g 加蒸馏水定容至 25 mL。其浓度为 50 mg/mL, 再依次 5 倍稀释, 分别配成 10、2、0.4、0.08 mg/mL 浓度溶液。试验设 5 个剂量, 分别为 8、40、200、1000、5000 μg/皿, 同时建立阳性突变剂对照、溶剂对照和自发回变 3 组进行试验。按照保健食品检验与评价技术规范^[14]中规定的 Ames 试验方法进行试验研究。

(3) 小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验

采用经口灌胃法进行试验。阴性对照为蒸馏水, 阳性对照为 0.04 g/kg·BW 剂量的环磷酰胺。以样品的最大可灌胃浓度和动物的最大灌胃体积设置高剂量, 试验组高、中、低剂量分别为 6.67、3.33、1.67 g/kg·BW, 分别取去部分辅料样品 33.35、16.65 和 8.35 g 加蒸馏水至 100 mL, 阳性对照组 0.100 g 环磷酰胺加蒸馏水定容至 50 mL, 配成相应的受试液给小鼠灌胃(0.2 mL/10 g·BW)。按照小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验^[13]进行试验研究。

(4) 小鼠精子畸形试验

取体重 25~35 g 的雄性昆明种小鼠 25 只, 同 2.2.1(3) 项下的试验随机分成 5 组。每日灌胃 1 次, 连续 5 d, 按照小鼠精子畸形试验进行^[15]试验研究。

(5) 30 d 喂养试验

取 100 只 SD 大鼠, 雌雄各半。试验动物随机分为 5 组, 每组 20 只, 雌雄各半, 即 3 个受试物组、酪蛋白对照组及空白对照组。其中 3 个受试物组低、中、高剂量分别相当于人体推荐剂量的 25、50、100 倍, 即去部分辅料样品 2.50、5.00、10.00 g/kg·BW。给予基础饲料的为空白对照组, 给予添加 2%酪蛋白的饲料的为酪蛋白对照组。连续喂饲 30 d。按照保健食品检验与评价技术规范^[14]测定各项观察指标、血液学指标、血液生化学指标以及病理检查。

2.2.2 人体功能试验

试食组口服 2.1.3 样品, 每日 1 次, 每次 1 瓶, 对照组服用安慰剂。

(1) 观察指标、安全性指标以及功效指标

按照保健食品检验与评价技术规范^[14]测定各项观察指标、安全性指标以及功效指标, 其中安全性指标包括一般体格检查、血常规、尿常规、粪便常规、生化指标检测、心电图、腹部 B 超、胸透等; 功效指标测试前额眉间皮肤水分。

(2) 统计学处理

用 Excel、SPSS 软件进行统计分析。研究结果用均数±标准差表示, 在实验组和对照组之间存在方差齐性的前提下, 均数比较采用成组 *t* 检验, 否则进行变量转化后满足方差齐性后采用 *t* 检验, 如果方差仍然不齐, 采用秩和检验。

3 结果与分析

3.1 毒理学试验

3.1.1 急性经口毒性试验

由表 1 可见, 给 2 种性别的昆明种小鼠灌胃 20.00 g/kg-BW 剂量的透明质酸胶原蛋白冰糖燕窝饮品去

部分辅料样品未见明显中毒症状, 14 d 后无死亡。观察期末将受试动物处死进行解剖检查, 肝、脾、肾、胃、肠、心、肺等主要脏器未见明显异常改变。透明质酸胶原蛋白燕窝饮品去部分辅料样品对昆明种小鼠的最大耐受剂量 (maximum tolerated dose, MTD) 大于 20.00 g/kg-BW, 相当于人体推荐剂量的 200 倍, 属无毒级。

3.1.2 Ames 试验

由表 2 可见, 对 TA97a、TA98、TA100、TA102 4 株试验菌株, 加与不加 S-9, 样品各剂量组回变菌落数均未超过自发回变菌落数的 2 倍, 亦无剂量-反应关系。

3.1.3 小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验

由表 3 可见, 样品各剂量组微核率与阴性对照组比较差异无显著性 ($P > 0.05$), 而环磷酰胺组与阴性对照组比较差异有显著性 ($P < 0.01$)。样品各剂量组 PCE/NCE 比值 (嗜多染红细胞 (polychromatic erythrocyte, PCE), 正染红细胞 (normochromatic erythrocyte, NCE)) 未少于阴性对照组的 20%, 表明该样品对小鼠骨髓细胞未见明显毒性。

3.1.4 小鼠精子畸形试验

由表 4 可见, 样品各剂量组小鼠精子畸形发生率与阴性对照组比较差异无显著性 ($P > 0.05$), 而环磷酰胺阳性对照组与阴性对照组比较差异有显著性 ($P < 0.01$)。

表 1 小鼠急性经口毒性试验结果 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Results of acute oral toxicity test in mice ($\bar{x} \pm s$)

| 性别 | 剂量/(g/kg-BW) | 动物数/只 | 初始体重/g | 一周末体重/g | 二周末体重/g | 死亡数/只 | MTD/(g/kg-BW) |
|----|--------------|-------|------------|------------|------------|-------|---------------|
| 雄 | 20.00 | 10 | 20.23±1.22 | 28.28±1.52 | 32.31±1.72 | 0 | > 20.00 |
| 雌 | 20.00 | 10 | 20.09±1.23 | 25.38±1.37 | 28.07±1.85 | 0 | > 20.00 |

表 2 Ames 试验结果 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Results of Ames ($\bar{x} \pm s$)

| 受试物 | 剂量/($\mu\text{g}/\text{mL}$) | TA97a | | TA98 | | TA100 | | TA102 | |
|------|--------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | | +S9 | -S9 | +S9 | -S9 | +S9 | -S9 | +S9 | -S9 |
| | 5000 | 142.0±15.0 | 132.3±13.4 | 35.0±5.0 | 37.7±6.1 | 156.3±10.0 | 160.7±19.0 | 276.7±23.2 | 280.3±13.7 |
| | 1000 | 145.0±18.5 | 135.7±22.9 | 42.3±3.1 | 34.0±5.3 | 161.3±20.3 | 157.3±25.1 | 283.3±16.8 | 281.0±21.0 |
| 受试物 | 200 | 137.3±10.2 | 149.0±13.5 | 36.3±8.5 | 35.3±3.2 | 168.0±12.1 | 162.0±22.6 | 267.0±12.8 | 272.0±21.4 |
| | 40 | 149.3±14.3 | 141.0±14.9 | 39.3±4.0 | 40.0±6.2 | 164.3±19.2 | 164.0±11.5 | 283.7±12.7 | 286.3±15.0 |
| | 8 | 144.0±14.5 | 142.3±16.8 | 40.3±7.4 | 37.3±6.8 | 169.3±13.3 | 160.3±17.6 | 284.0±15.4 | 266.0±27.7 |
| 自发回变 | | 140.0±21.7 | 148.7±13.8 | 36.7±4.5 | 39.7±6.4 | 157.7±15.2 | 168.3±16.6 | 275.3±17.9 | 286.0±10.5 |
| 溶剂对照 | | 134.7±19.1 | 147.3±15.3 | 42.0±4.6 | 35.7±5.7 | 176.3±11.6 | 165.3±11.0 | 271.0±13.5 | 276.3±13.6 |
| 阳性对照 | | 1351.0±119.0 | 1274.7±114.5 | 2627.3±213.4 | 2245.0±219.2 | 2641.0±126.8 | 2475.3±111.2 | 1060.0±130.4 | 2290.7±172.4 |

阳性对照: TA97a+S9、TA98+S9、TA100+S9 采用 2-AF(剂量: 10.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$); TA97a-S9、TA98-S9 采用 9-苄酮(剂量: 0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$); TA100-S9 采用 NaN₃(剂量: 1.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$); TA102 + S9 采用 1,8-二羟基酞(剂量: 50.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$); TA102-S9 采用 MMC(剂量: 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$)。

表 3 样品对小鼠骨髓微核发生率的影响
Table 3 Effects of samples on bone marrow cell micronucleus in mice

| 性别 | 组别 | 动物数 / 只 | 受检 PCE 数 / 个 | 含微核 PCE 数 / 个 | 微核率 ($\bar{x} \pm s$) / ‰ | 受检 PCE 数 / 个 | NCE 数 / 个 | PCE/NCE ($\bar{x} \pm s$) |
|----|-------|---------|--------------|---------------|-----------------------------|--------------|-----------|-----------------------------|
| 雄 | 高剂量组 | 5 | 5000 | 6 | 1.2±1.1 | 1000 | 904 | 1.11±0.04 |
| | 中剂量组 | 5 | 5000 | 3 | 0.6±0.5 | 1000 | 887 | 1.13±0.09 |
| | 低剂量组 | 5 | 5000 | 4 | 0.8±0.4 | 1000 | 893 | 1.13±0.10 |
| | 阴性对照组 | 5 | 5000 | 5 | 1.0±0.7 | 1000 | 882 | 1.14±0.08 |
| | 阳性对照组 | 5 | 5000 | 102 | 20.4±3.6* | 1000 | 949 | 1.06±0.06 |
| 雌 | 高剂量组 | 5 | 5000 | 7 | 1.4±0.5 | 1000 | 896 | 1.12±0.06 |
| | 中剂量组 | 5 | 5000 | 5 | 1.0±1.2 | 1000 | 875 | 1.15±0.07 |
| | 低剂量组 | 5 | 5000 | 6 | 1.2±0.4 | 1000 | 884 | 1.14±0.09 |
| | 阴性对照组 | 5 | 5000 | 4 | 0.8±0.8 | 1000 | 902 | 1.12±0.10 |
| | 阳性对照组 | 5 | 5000 | 106 | 21.2±1.9* | 1000 | 958 | 1.05±0.05 |

*与阴性对照组比较, $P < 0.01$ 。

表 4 样品对小鼠精子畸形率的影响
Table 4 Effects of samples on teratospermia ratio in mice

| 组别 | 动物数 / 只 | 受检精子数 (个) | 畸形总数 / 个 | 畸形率 / % | 各类精子畸形的构成比 / % | | | | | | |
|-------|---------|-----------|----------|------------|----------------|------|------|------|-----|-----|-----|
| | | | | | 无钩 | 香蕉形 | 胖头 | 无定形 | 尾折叠 | 双头 | 双尾 |
| 高剂量组 | 5 | 5000 | 105 | 2.10±0.46 | 30.5 | 12.4 | 15.2 | 41.9 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| 中剂量组 | 5 | 5000 | 110 | 2.20±0.45 | 28.2 | 11.8 | 20.9 | 39.1 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| 低剂量组 | 5 | 5000 | 108 | 2.16±0.42 | 28.7 | 14.8 | 15.7 | 40.7 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| 阴性对照组 | 5 | 5000 | 127 | 2.54±0.21 | 29.9 | 12.6 | 18.1 | 39.4 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| 阳性对照组 | 5 | 5000 | 405 | 8.10±0.16* | 30.4 | 19.3 | 15.8 | 32.6 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |

*与阴性对照组比较, $P < 0.01$ 。

3.1.5 30 d 喂养试验

30 d 喂养期间, 各组动物生长发育良好, 无异常行为和中毒症状, 无死亡。

(1) 样品对大鼠血常规指标的影响

表 5 可以看出, 各剂量组雌雄大鼠的血红蛋白、红细胞总数、红细胞压积、网织红细胞、血小板数、白细胞总数及分类与空白和酪蛋白对照组比较, 差异无显著性 ($P > 0.05$)。

(2) 样品对大鼠生化指标的影响

由表 6 可见, 各剂量组雌雄大鼠的总蛋白、白蛋白、谷丙转氨酶、谷草转氨酶、胆固醇、甘油三酯、尿素氮、肌酐、血糖与空白和酪蛋白对照组比较均无显著性差异 ($P > 0.05$)。

3.2 人体试验结果

双盲法观察: 服食 2 号者为透明质酸胶原蛋白冰糖燕窝饮品, 服食 1 号者为安慰剂。

3.2.1 一般情况

初始试验人群对照组 51 例, 男/女为 32/19, 试食组 51

例, 男/女为 32/19。对照组年龄: (33.98±2.72) 岁; 试食组年龄: (34.10±2.90) 岁。

3.2.2 安全性观察

(1) 一般情况:

试食期间受试者未观察到明显过敏及其他不良反应, 精神、睡眠、饮食、大小便状况良好。

体重、血压、心率、尿常规、大便常规、血常规及生化指标

表 7、8 看出, 食用受试物 30 d 后, 试食组和对照组体重、血压、心率未见明显异常改变, 尿常规、大便常规、血常规及生化指标均在正常范围内, 提示透明质酸胶原蛋白冰糖燕窝饮品对机体健康无明显损害。

(2) 心电图、腹部 B 超、胸透检查, 均在正常范围内。

功效观察

皮肤检测结果见表 9, 试食组的皮肤水分在试食后明显提高, 与试食前比较提高约 10.54%, 差异显著 ($P < 0.05$), 与对照组比较差异也有显著性差异 ($P < 0.05$)。

表5 样品对大鼠血液常规指标的影响($\bar{x} \pm s$)
Table 5 Effects of samples on blood routine in rates ($\bar{x} \pm s$)

| 性别 | 组别 | 血红蛋白 (g/L) | 红细胞总数 ($10^{12}/L$) | 红细胞压积 (L/L) | 网织红细胞/% | 血小板数 ($10^9/L$) | 白细胞计数 ($10^9/L$) | 淋巴细胞/% | 中性粒细胞/% | 单核细胞/% | 嗜酸性粒细胞/% | 嗜碱性粒细胞/% |
|----|--------|---------------|--------------------------|----------------|-----------|----------------------|-----------------------|------------|------------|-----------|-----------|-----------|
| 雄 | 空白对照组 | 139±8 | 7.04±0.38 | 0.41±0.02 | 3.95±1.24 | 749±187 | 7.62±1.66 | 70.76±5.08 | 22.29±4.72 | 5.79±1.45 | 0.96±0.23 | 0.2±0.09 |
| | 酪蛋白对照组 | 140±6 | 7.07±0.43 | 0.41±0.02 | 3.79±1.09 | 765±107 | 7.78±1.58 | 71.4±5 | 22.07±3.63 | 5.52±1.6 | 0.83±0.54 | 0.18±0.08 |
| | 低剂量 | 141±5 | 7.06±0.33 | 0.41±0.01 | 3.76±1.04 | 733±99 | 7.3±1.42 | 70.12±5.26 | 23.67±4.85 | 5.13±0.58 | 0.86±0.26 | 0.22±0.08 |
| | 中剂量 | 138±7 | 7.05±0.32 | 0.40±0.02 | 4.02±1.02 | 774±132 | 7.7±1.72 | 69.3±6.71 | 23.58±6.2 | 5.98±1.49 | 0.91±0.32 | 0.23±0.08 |
| | 高剂量 | 140±4 | 7.02±0.26 | 0.41±0.01 | 4.01±1.34 | 762±142 | 7.52±1.45 | 69.91±4.74 | 23.16±4.29 | 5.84±1.28 | 0.89±0.36 | 0.2±0.12 |
| 雌 | 空白对照组 | 139±4 | 6.98±0.27 | 0.41±0.01 | 3.7±0.96 | 710±80 | 7.56±1.35 | 71.18±5.2 | 22.45±5.14 | 5.2±0.62 | 0.96±0.41 | 0.21±0.11 |
| | 酪蛋白对照组 | 140±7 | 7.08±0.5 | 0.41±0.02 | 3.83±1.15 | 784±104 | 7.44±1.55 | 71.24±4.75 | 22.42±3.54 | 5.2±1.44 | 0.95±0.29 | 0.19±0.1 |
| | 低剂量 | 138±7 | 7.08±0.33 | 0.41±0.02 | 3.91±1.14 | 797±156 | 7.78±1.79 | 69.32±6.43 | 23.54±5.33 | 5.93±1.37 | 0.97±0.43 | 0.24±0.14 |
| | 中剂量 | 142±6 | 7.16±0.47 | 0.42±0.02 | 3.95±1.63 | 803±147 | 7.94±1.33 | 68.27±4.92 | 24.78±3.58 | 5.53±1.26 | 1.21±0.53 | 0.21±0.13 |
| | 高剂量 | 139±4 | 6.97±0.34 | 0.40±0.01 | 3.74±1.04 | 789±155 | 7.74±1.74 | 69.64±5.01 | 23.31±4.17 | 5.75±1.01 | 1.1±0.56 | 0.2±0.12 |

表6 样品大鼠血清生化指标的影响($\bar{x} \pm s$)
Table 6 Effects of samples on serum biochemical indices in rates ($\bar{x} \pm s$)

| 性别 | 组别 | 谷丙转氨酶/(U/L) | 谷草转氨酶/(U/L) | 总蛋白/(g/L) | 白蛋白/(g/L) | 胆固醇/(mmol/L) | 甘油三酯/(mmol/L) | 尿素氮/(mmol/L) | 肌酐($\mu\text{mol/L}$) | 血糖(mmol/L) |
|----|--------|-------------|--------------|------------|------------|--------------|---------------|--------------|-------------------------|------------|
| 雄 | 空白对照组 | 53.1±4.44 | 167.85±29.36 | 67.93±4.97 | 33.65±2.14 | 1.74±0.24 | 0.72±0.14 | 6.28±1.09 | 46.47±4.24 | 4.96±0.52 |
| | 酪蛋白对照组 | 51.07±4.17 | 164.26±30.18 | 66.26±4.35 | 32.77±2.99 | 1.79±0.26 | 0.77±0.31 | 6.33±0.95 | 46.37±3.08 | 5.08±0.68 |
| | 低剂量 | 53.18±2.63 | 159.6±25.75 | 67.09±4.27 | 33.18±1.84 | 1.75±0.27 | 0.7±0.25 | 6.39±0.64 | 47.33±4.25 | 4.93±0.42 |
| | 中剂量 | 53.04±3.81 | 168.27±22.66 | 67.47±3.72 | 33.26±1.85 | 1.8±0.31 | 0.87±0.27 | 6.22±0.96 | 46.8±3.53 | 5.17±0.5 |
| | 高剂量 | 52.72±3.67 | 166.92±26.05 | 66.59±3.05 | 32.86±1.9 | 1.81±0.3 | 0.78±0.19 | 6.15±0.76 | 47.4±3.22 | 5.12±0.52 |
| 雌 | 空白对照组 | 52.23±4.47 | 164.37±31.98 | 68.12±4.01 | 33.29±2.21 | 1.72±0.35 | 0.8±0.28 | 6.18±0.93 | 46.91±2.56 | 5.15±0.49 |
| | 酪蛋白对照组 | 53.05±3.91 | 168.74±23.32 | 67.66±3.61 | 33.72±2.19 | 1.86±0.6 | 0.88±0.34 | 6.07±0.61 | 48.63±3.65 | 5.06±0.56 |
| | 低剂量 | 51.99±7.05 | 167.47±29.85 | 68.03±3.11 | 34.1±1.31 | 1.78±0.17 | 0.71±0.17 | 6.28±0.83 | 48.92±5.22 | 5.27±0.47 |
| | 中剂量 | 51.43±3.71 | 169.61±27.87 | 66.47±2.61 | 32.72±1.96 | 1.71±0.34 | 0.7±0.19 | 6.67±0.83 | 49.84±3.3 | 5.39±0.43 |
| | 高剂量 | 52.29±3.64 | 167.32±27.92 | 66.93±3.14 | 33.39±1.91 | 1.77±0.33 | 0.78±0.25 | 6.2±0.95 | 48.51±1.56 | 5.01±0.65 |

表 7 试食前后体重、血压、心率、尿、大便、血常规变化情况($\bar{n}=51$)Table 7 Changes of avoirdupois, blood pressure, heart rate, urine routine, stool and blood routine before and after the test ($\bar{n}=51$)

| 指标 | 对照组 | | 试食组 | |
|---------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | 试食前 | 试食后 | 试食前 | 试食后 |
| 体重/kg | 61.75±11.89 | 61.85±11.95 | 60.04±11.97 | 59.99±11.71 |
| 收缩压/mmHg | 111.41±9.05 | 110.35±8.88 | 111.39±10.66 | 109.82±9.18 |
| 舒张压/mmHg | 68.59±5.42 | 69.51±6.35 | 69.65±6.85 | 69.04±5.85 |
| 心率/(次/分) | 77.80±8.81 | 75.94±9.14 | 77.84±6.37 | 77.73±7.66 |
| 白细胞/($10^9/L$) | 6.65±1.35 | 6.65±1.22 | 6.59±1.42 | 6.42±1.31 |
| 红细胞/($10^{12}/L$) | 4.87±0.46 | 4.77±0.44 | 4.83±0.48 | 4.81±0.44 |
| 血红蛋白/(g/L) | 146.33±14.08 | 140.49±13.66 | 145.84±26.79 | 139.71±11.95 |
| 尿常规 | 正常 | 正常 | 正常 | 正常 |
| 大便常规 | 正常 | 正常 | 正常 | 正常 |

表 8 试食前后生化指标变化情况($\bar{n}=51$)Table 8 Changes of blood biochemical criterion before and after the test ($\bar{n}=51$)

| 指标 | 对照组 | | 试食组 | |
|--------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | 试食前 | 试食后 | 试食前 | 试食后 |
| 血糖/(mmol/L) | 4.62±0.55 | 4.59±0.49 | 4.45±0.39 | 4.58±0.45 |
| 甘油三酯/(mmol/L) | 1.08±0.57 | 1.38±0.82 | 1.25±1.08 | 1.22±0.57 |
| 胆固醇/(mmol/L) | 4.00±0.72 | 4.52±0.87 | 4.02±0.69 | 4.23±0.76 |
| 尿素氮/(mmol/L) | 5.00±1.14 | 4.54±1.23 | 4.68±1.09 | 4.42±1.15 |
| 肌酐/($\mu\text{mol}/L$) | 71.75±14.77 | 68.30±13.71 | 67.13±13.47 | 69.64±14.97 |
| 尿酸/($\mu\text{mol}/L$) | 316.51±62.09 | 313.24±67.12 | 318.25±50.17 | 316.07±66.59 |
| 谷丙转氨酶/(U/L) | 22.99±13.54 | 20.46±10.57 | 23.19±15.75 | 19.23±12.75 |
| 谷草转氨酶/(U/L) | 23.57±7.70 | 21.33±7.79 | 23.90±9.28 | 19.77±7.00 |
| 总蛋白/(g/L) | 70.31±3.02 | 70.46±3.95 | 69.33±2.62 | 69.81±3.01 |
| 白蛋白/(g/L) | 44.87±2.25 | 44.96±2.60 | 44.76±2.05 | 44.31±2.58 |

表 9 皮肤检测结果($\bar{n}=51$)Table 9 The results of skin moisture ($\bar{n}=51$)

| 组别 | 水分 | |
|-----|-----------|-------------|
| | 试食前/% | 试食后/% |
| 对照组 | 8.72±1.00 | 8.76±1.00 |
| 试食组 | 8.73±1.10 | 9.65±1.11*# |

*: 自身对照组 $P < 0.05$; #: 组间对照组 $P < 0.05$ 。

4 结 论

近年来越来越多的研究发现, 皮肤肤质受内部因素和环境因素的影响造成营养素的缺失, 这对皮肤的影响

极大^[14,15]。燕窝中含有表皮生长因子 EGF 活性成分, Kong 等^[16]用柱层析法, 从燕窝水提取物中纯化得到了一种具有促表皮生长的活性因子(EGF-2), 极微量的表皮生长因子能刺激细胞外一些大分子(如透明质酸和胶原蛋白等)的合成与分泌, 滋润皮肤, 是决定皮肤活力与健康的关键因素^[17]。在此基础上, 透明质酸胶原蛋白冰糖燕窝饮品将燕窝与透明质酸、胶原蛋白结合, 并对其进行安全性评价以及改善皮肤水分功能人体试验研究。

在本实验室条件下, 对透明质酸胶原蛋白冰糖燕窝饮品去部分辅料样品进行上述毒理学试验。在急性经口毒性试验中, 对昆明种雌雄小鼠的 MTD 大于 20.00 g/kg·BW, 相当于人体推荐剂量的 20 倍, 属无毒级; 小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验、小鼠精子畸形试验、Ames 试验结果均

为阴性; 30 d 喂养试验期间, 动物生产发育良好, 各剂量组中生化指标和血常规指标与空白和酪蛋白对照组比较, 无显著性差异($P > 0.05$)。大体解剖和组织病理检查未见明显与冰糖燕窝饮品有关的异常改变, 提示透明质酸胶原蛋白冰糖燕窝 30 d 喂养对大鼠未见明显毒副作用。

按皮肤水分情况将自愿受试者随机分为 2 组, 分别食用安慰剂和透明质酸胶原蛋白冰糖燕窝饮品, 结果表明: 食用透明质酸胶原蛋白冰糖燕窝饮品的试食组, 皮肤水分在试食后明显提高, 与试食前比较差异有显著性($P < 0.05$), 与对照组比较差异也有显著性($P < 0.05$), 表明透明质酸胶原蛋白冰糖燕窝饮品具有改善皮肤水分功能作用。试食透明质酸胶原蛋白冰糖燕窝饮品前后, 血生化、血常规等各项检测指标均在正常范围内, 也未观察到过敏及其他不良反应。

通过本实验表明, 将燕窝应用在食品开发中安全可靠, 且开发成透明质酸冰糖燕窝饮品后, 具有改善皮肤水分的功能, 效果显著。

参考文献

- [1] 王羚娜, 黄松, 蒋东旭, 等. 燕窝的鉴别和药理研究进展[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2013, (1): 146-150.
Wang LL, Huang S, Jiang DX, *et al.* Identification and pharmacological progress on cubilose [J]. World Sci Technol, 2013, (1): 146-150.
- [2] Kong YC, Keung WM, Yip TT, *et al.* Evidence that epidermal growth factor is present in swiftlet's (*Collocalia*) nest [J]. Compar Biochem Physiol Part B: Comparative Biochem, 1987, 87(2): 221-226.
- [3] 于海花, 徐敦明, 周昱, 等. 燕窝的研究现状[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, (1): 197-206.
Yu HH, Xu DM, Zhou Y, *et al.* Research status of the edible bird's nest [J]. J Food Saf Qual, 2015, (1): 197-206.
- [4] 李继城, 孔松芝, 李东东, 等. 罗非鱼皮胶原蛋白肽在润肤霜中的应用及性能评价[J]. 食品工业科技, 2018, 39(5): 23-29.
Li JC, Kong SZ, Li DD, *et al.* Application and properties of collagen peptide from tilapia skin in moisturizing cream [J]. Sci Technol Food Ind, 2018, 39(5): 23-29.
- [5] Liang J, Pei X, Zhang Z, *et al.* The protective effects of long - term oral administration of marine collagen hydrolysate from chum salmon on collagen matrix homeostasis in the chronological aged skin of sprague-Dawley male rats [J]. J Food Sci, 2010, 75(8): 9.
- [6] Veeruraj A, Arumugam M, Ajithkumar T, *et al.* Isolation and characterization of collagen from the outer skin of squid (*Doryteuthis singhalensis*) [J]. Food Hydrocolloid, 2015, (43): 708-716.
- [7] 米顺利, 易湘茜, 高程海, 等. 深海鳕鱼皮胶原蛋白粉酶解工艺研究[J]. 食品科技, 2018, 48(3): 117-121.
Mi SL, Yi XX, Gao CH, *et al.* Research on enzymatic hydrolysis of

collagen powder from deep-sea cod [J]. Food Sci Technol, 2018, 48(3): 117-121.

- [8] Hi-Jin Y, Seung-Kyu H. Cell therapy for wound healing [J]. J Korean Med Sci, 2014, 29(3): 311-319.
- [9] Kumar S, Sugihara F, Suzuki K, *et al.* A double-blind, placebo-controlled, randomised, clinical study on the effectiveness of collagen peptide on osteoarthritis [J]. J Sci Food Agric, 2015, 95(4): 702-707.
- [10] Park JY, Duong CT, Sharma AR, *et al.* Effects of hyaluronic acid and γ -globulin concentrations on the frictional response of human osteoarthritic articular cartilage [J]. PLoS One, 2014, 9(11): e112684.
- [11] 简育莹. 燕窝的质量控制研究[D]. 福州: 福建医科大学, 2014.
Jan YY. The study on the quality control of the edible bird's nest [D]. Fuzhou: Fujian Medical University, 2014.
- [12] 保健食品检验与评价技术规范[S].
Technical standards for functional testing and assessment of health food [S].
- [13] 查圣华, 姜水红, 赵庆生, 等. 玛咖洋羊藿配伍毒理安全性实验研究[J]. 山东化工, 2015, 44(8): 28-31.
Zha SH, Jiang SH, Zhao QS, *et al.* Study on the toxicity-security of maca and epimedium compound [J]. Shandong Chem Ind, 2015, 44(8): 28-31.
- [14] Pavida P, Jitlada M, Ornicha P, *et al.* Role of matrix metalloproteinases in photoaging and photocarcinogenesis [J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(6): 868.
- [15] Young AR, Claveau J, Rossi AB. Ultraviolet radiation and the skin: Photobiology and sunscreen photoprotection [J]. J Am Acad Dermatol, 2017, 76(3): 100-109.
- [16] Kong YC, Tsao SW, Song ME, *et al.* Potentiation of mitogenic response by extracts of the swiftlet's (*Apus*) nest collected from Huai-ji [J]. Acta Zool Sin, 1989, 35(4): 429-435.
- [17] 邹天雨. 燕窝的古今系统评述[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2015.
Wu TY. Ancient and modern review of bird's nest [D]. Harbin: Heilongjiang University of Chinese Medicine, 2015.

(责任编辑: 陈雨薇)

作者简介

查圣华, 博士, 主要研究方向为中药及天然产物研究开发。

E-mail: shenghua_zha@trtjk.com

张宏, 博士, 主要研究方向为中药及天然产物研究开发。

E-mail: hong_zhang@trtjk.com