李影, 王雅琦, 张彦龙, 等. 蓝靛果复合粉剂的配方优化及对 H_2O_2 损伤 ARPE-19 细胞的保护作用 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(8): 1−10. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025050052

LI Ying, WANG Yaqi, ZHANG Yanlong, et al. Formulation Optimization of *Lonicera edulis* Composite Powder and Its Protective Effect on H_2O_2-Damaged ARPE-19 Cells[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(8): 1−10. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025050052

·特邀主编专栏—果蔬基料制造: 基础理论、新型加工、质量控制与智能制造（客座主编: 徐贞贞、王永涛、李涛; 产业顾问: 李仁杰）·

蓝靛果复合粉剂的配方优化及对 H_2O_2 损伤 ARPE-19 细胞的保护作用

李　影, 王雅琦+, 张彦龙, 唐超然, 赵丹丹*, 贾向前*

（黑龙江大学生命科学学院, 农业微生物技术教育部工程研究中心, 黑龙江省寒地生态修复与资源利用重点实验室, 黑龙江省普通高校微生物重点实验室, 黑龙江哈尔滨 150080）

摘　要: 年龄相关性黄斑变性（Age-related macular degeneration，AMD）是一种随年龄增加发病风险逐渐上升的视网膜退行性疾病，视网膜氧化应激是 AMD 的重要诱因之一。基于蓝靛果良好的抗氧化活性，极具抗氧化应激潜力，本研究开发了一种护眼功能性蓝靛果复合粉剂（*Lonicera edulis* composite powder，LCP），通过响应面法优化配方，对其物理性质、抗氧化能力进行检测，并探究其对过氧化氢（Hydrogen peroxide，H_2O_2）诱导的 ARPE-19 细胞氧化应激损伤模型的保护作用。结果表明：经响应面优化，最佳 LCP 配方为：蓝靛果冻干粉（料液比 1∶4，麦芽糊精添加量 15%）∶枸杞多糖∶叶黄素酯∶玉米黄质=81∶15∶3.33∶0.67；LCP 水溶性好、抗氧化活性强、无毒性，且能显著降低（P<0.05）氧化损伤的 ARPE-19 细胞内活性氧水平，增强超氧化物歧化酶（Superoxide dismutase，SOD）、过氧化氢酶（Catalase，CAT）等抗氧化酶活力，促进细胞增殖，LCP 在 800 μg/mL 时细胞存活率为 125.10%，较模型组高 122.95%。本研究表明 LCP 可以有效保护视网膜色素上皮细胞，抵御氧化应激损伤，为蓝靛果功能性产品开发提供了理论依据，推动蓝靛果产业发展。

关键词: 蓝靛果, 枸杞多糖, 叶黄素酯, 玉米黄质, 氧化应激, ARPE-19 细胞

中图分类号: TS255.36　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)08−0001−10

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025050052

本文网刊:

Formulation Optimization of *Lonicera edulis* Composite Powder and Its Protective Effect on H_2O_2-Damaged ARPE-19 Cells

LI Ying, WANG Yaqi+, ZHANG Yanlong, TANG Chaoran, ZHAO Dandan*, JIA Xiangqian*

（School of Life Sciences, Heilongjiang University, Engineering Research Center of Agricultural Microbiology Technology, Ministry of Education, Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Ecological Restoration and Resource Utilization for Cold Region, Key Laboratory of Microbiology, College of Heilongjiang Province, Harbin 150080, China）

Abstract: Age-related macular degeneration (AMD) was a retinal degenerative disease with increasing risk of morbidity with age, and retinal oxidative stress was one of the important triggers of AMD. This study was conducted in light of the favorable antioxidant properties of *Lonicera edulis*, which has been shown to possess significant potential in combating oxidative stress. The study's objective was to develop a functional *Lonicera edulis* composite powder (LCP) for the purpose of eye protection. To this end, the formulation was optimized through the utilization of response surface methodology. The

收稿日期: 2025−05−08　　+并列第一作者

基金项目: 国家自然科学基金项目（82303743）; 黑龙江省优秀青年基金项目（YQ2024H030）。

作者简介: 李影（2001−）, 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品与药物活性挖掘及研发, E-mail: leeying0321@163.com。

王雅琦（2001−）, 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品与药物活性挖掘及研发, E-mail: wangyaqi20010611@163.com。

*** 通信作者:** 赵丹丹（1977−）, 女, 博士, 教授, 研究方向: 天然产物的研究, E-mail: zhaodandan@hlju.edu.cn。

贾向前（1989−）, 女, 博士, 副教授, 研究方向: 免疫学研究, E-mail: 2021108@hlju.edu.cn。

study encompassed a comprehensive examination of the powder's physical properties, antioxidant capacity, and its protective effect on hydrogen peroxide (H_2O_2)-induced oxidative stress injury in ARPE-19 cells. The findings demonstrated that, following response surface optimization, the most effective LCP formulation was as follows: *Lonicera edulis* lyophilized powder (material-liquid ratio 1∶4, maltodextrin addition 15%): *Lycium barbarum* polysaccharide∶lutein ester∶zeaxanthin=81∶15∶3.33∶0.67. The LCP exhibited favorable water solubility, robust antioxidant activity, and non-toxicity. In addition, it was observed to markedly diminish (P<0.05) the level of reactive oxygen species (ROS) in oxidatively damaged ARPE-19 cells and augment the activity of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and other antioxidant enzymes. Furthermore, the LCP was found to stimulate cell proliferation. The cell survival rate of LCP at 800 μg/mL was 125.10%, which was 122.95% higher than that of the model group. The study demonstrated the efficacy of LCP in protecting retinal pigment epithelial cells and resisting oxidative stress damage, thereby establishing a theoretical foundation for the development of functional *Lonicera edulis* fruit products and promoting the growth of the *Lonicera edulis* fruit industry.

Key words: *Lonicera edulis*; polysaccharide of *Lycium barbarum* L.; lutein ester; zeaxanthin; oxidative stress; ARPE-19 cells

年龄相关性黄斑变性(Age-related macular degeneration, AMD)是一种常见的视网膜退行性疾病,是全球老年人群失明的主要病因之一[1]。长时间使用电子产品、用眼距离近等不良习惯,会使眼部处于长期疲劳状态,造成视网膜损伤,提高了患 AMD 的风险[2]。视网膜色素上皮(Retinal pigment epimelial, RPE)细胞在 AMD 的发展过程中起着至关重要的作用,缓解视网膜氧化应激是当前降低 AMD 发病概率的重点研究方向之一[3−6]。研究表明,多酚类物质可以促进眼部血液循环,能够有效缓解视疲劳[7]。在小浆果中,蓝莓多酚因其较强的抗氧化能力已被广泛研究,然而,研究表明蓝靛果的抗氧化活性显著高于蓝莓,相较之下,蓝靛果研究较少,更具研究潜力[8]。

蓝靛果(*Lonicera caerulea* L. var. edulis)为忍冬科、忍冬属的落叶灌木,俗称黑瞎子果、山茄子等,是一种新兴小浆果。黑龙江省作为我国蓝靛果的主产区,凭借其优良的气候和土壤条件,培育出的蓝靛果富含多酚类物质,如花色苷、酚酸类、黄酮类等,具有抗氧化、抗肿瘤、抗炎抗菌、改善肝脏功能等多种生物功能活性[9−11]。此外,许多药食同源物质已被证明具有护眼作用,如枸杞子、决明子、茯苓、菊花等[12]。其中,枸杞和菊花是中药中的经典配方,具有清肝明目的作用,其中的生物活性物质具有良好的抗氧化应激作用。如枸杞多糖(*Lycium barbarum* polysaccharide, LBP)是枸杞子中的主要活性物质,具有调控氧化应激、降低眼压等作用[13]。工业生产叶黄素酯(Lutein ester)和玉米黄质(Zeaxanthin)的主要原料来源是万寿菊,叶黄素酯是叶黄素的酯化形式,相较于叶黄素具有吸收率高,稳定性强的优势,目前,在食品领域,已广泛用作着色剂、营养强化剂等[14]。玉米黄质是一种天然类胡萝卜素,不能被人体合成,与叶黄素同为视网膜黄斑区的主要色素成分,具有抗氧化、增加黄斑色素光密度的作用,是减轻视网膜损伤的有效成分[15]。研究表明,叶黄素酯和玉米黄质在视觉健康方面具有良好的协同作用[16]。

目前已有许多的蓝靛果食品被开发,如蓝靛果果汁、糖果、酸奶、泡腾片等[17−18],但蓝靛果果实的深层加工利用仍处在发展阶段,对于蓝靛果护眼功能产品的开发仍有待发掘[10]。本研究旨在开发一种以蓝靛果为基体的护眼功能复合粉剂,添加枸杞多糖、叶黄素酯和玉米黄质进行配方优化,探讨该复合粉剂的物理性质、抗氧化活性、细胞毒性、细胞增殖能力,以及对 H_2O_2 诱导氧化损伤的 ARPE-19 细胞内活性氧水平和氧化应激指标的影响。本研究为蓝靛果眼部保健功能性产品的研发提供了理论支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

蓝靛果 黑龙江省勃利县野生蓝靛果基地;80% 枸杞多糖 西安西海生物科技有限公司;10% 叶黄素酯微囊粉 西安昊宇康泽生物科技有限公司;10% 玉米黄质微囊粉 陕西泽朗生物科技有限公司;食品级麦芽糊精 山东西王糖业有限公司;ARPE-19 视网膜色素上皮细胞 上海中科院细胞中心;乳酸脱氢酶(Lactate dehydrogenase, LDH)测定试剂盒、SOD 测定试剂盒、CAT 测定试剂盒、谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione peroxidase, GSH-Px)测定试剂盒、谷胱甘肽(glutathione, GSH)测定试剂盒、丙二醛(Malondialdehyde, MDA)测定试剂盒 南京建成生物工程研究所;细胞计数试剂(Cell Counting Kit-8, CCK-8)测定试剂盒、Hoechst 33258 染色液 北京索莱宝科技有限公司;活性氧(Reactive oxygen specie, ROS)检测试剂盒 上海碧云天生物技术有限公司。

imark-1681130 酶标仪 美国 Biorad 公司;BCM-1000 型生物安全柜 上海玻璃仪器厂;NE610/NE610-FL 型生物显微镜 南京江南永新光学有限公司;DP10 型倒置显微镜 日本 Olympus 公司;Thermo-3111CO_2 培养箱 美国 Thermo 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 蓝靛果复合粉剂的制备 按照一定的料液比,

将水与蓝靛果鲜果放入榨汁机中，打成均匀的果浆，抽滤收集果汁，加入麦芽糊精作为填充剂与塑形剂，真空冷冻干燥后粉碎过 80 目筛，得到蓝靛果冻干粉。研究表明，视网膜黄斑区叶黄素和玉米黄质比例约为 5∶1，每日补充 10 mg 叶黄素和 2 mg 玉米黄质可有效提升黄斑色素光密度[16]，基于此，本研究固定叶黄素酯和玉米黄质的添加量（10% 叶黄素酯微囊粉 100 mg+10% 玉米黄质微囊粉 20 mg），此外规定蓝靛果复合粉剂规格为 3 g，将蓝靛果冻干粉、枸杞多糖、叶黄素酯和玉米黄质按比例混合均匀，制得蓝靛果复合粉剂（LCP）。

1.2.2　LCP 配方优化试验

1.2.2.1　单因素实验　制备蓝靛果冻干粉，固定蓝靛果冻干粉和枸杞多糖总质量分数为 96%，固定叶黄素酯和玉米黄质的添加量（5∶1，质量分数 4%），制备 LCP，固定以 800 μg/mL 浓度 LCP 对 H_2O_2 损伤 ARPE-19 细胞的存活率为指标，依次研究料液比（1∶1、1∶2、1∶3、1∶4、1∶5）g/mL，麦芽糊精添加量 15%，枸杞多糖添加量 15%；麦芽糊精添加量（质量浓度 10%、15%、20%、25%、30%），料液比 1∶4，枸杞多糖添加量 15%；枸杞多糖添加量（5%、10%、15%、20%、25%），料液比 1∶4，麦芽糊精添加量 15% 各因素的影响。

1.2.2.2　响应面优化设计试验　以 H_2O_2 损伤 ARPE-19 细胞的存活率为响应值，根据单因素实验结果对 LCP 配方进行响应面优化，试验因素及水平见表 1。将终浓度为 800 μg/mL 的 LCP 配方溶液预处理 ARPE-19 细胞 24 h 后，用 500 μmol/L 的 H_2O_2 培养 24 h，使用 CCK-8 试剂盒对细胞存活率进行测定。

表 1　Box-Behnkens 设计因素水平表

Table 1　Box-Behnkens design factor level table

因素	水平		
	−1	0	1
A料液比（g/mL）	1∶3	1∶4	1∶5
B麦芽糊精添加量（%）	10	15	20
C枸杞多糖添加量（%）	10	15	20

1.2.3　LCP 性能指标的测定

1.2.3.1　流动性检测　将 10 g 的 LCP 加入漏斗，漏斗口与桌面相距约 10 cm[19]，测定并根据公式（1）计算 LCP 休止角 θ。

$$\tan\theta = \frac{h}{r} \qquad \text{式（1）}$$

式中：h 表示 LCP 堆积高度，cm；r 表示 LCP 堆积半径，cm。

1.2.3.2　分散性、溶解性和稳定性检测　称取 1 g 的 LCP，倒入 200 mL 烧杯中，加入 100 mL 蒸馏水，记录溶解时间[20]。LCP 溶解后取 20 mL 溶液于烧杯中，使用烘箱 105 ℃ 烘干至恒重并计算干物质比例。LCP 溶解后取 10 mL 置于具塞试管中，静置 3 d 后观察分层情况。

1.2.3.3　水分含量和容重检测　LCP 水分含量的测定方法参考 GB 5009.3-2016《食品安全国家标准 食品中水分的测定》进行[21]，LCP 单位体积的质量即为容重。

1.2.4　LCP 抗氧化活性测定

1.2.4.1　DPPH 自由基清除能力测定　将不同浓度 LCP 及各单组分（蓝靛果冻干粉、枸杞多糖、叶黄素酯、玉米黄质）溶液与 DPPH 反应液等体积加入到 96 孔板中，反应完成后，于 517 nm 波长处测定吸光度[22]。

1.2.4.2　$ABTS^+$ 自由基清除能力测定　将不同浓度 LCP 及各单组分（蓝靛果冻干粉、枸杞多糖、叶黄素酯、玉米黄质）溶液与 ABTS 反应液等体积加入到 96 孔板中，在 734 nm 处测定吸光度[23]。

1.2.4.3　超氧阴离子自由基清除能力测定　使用邻苯三酚自氧化法，于 320 nm 波长处测定吸光度[24]。

1.2.4.4　抗脂质过氧化活性试验　使用硫代巴比妥酸（Thiobarbituric acid，TBA）法，取反应上清液在 532 nm 处测吸光度[25]。四种抗氧化活性测定方法均使用抗坏血酸作为阳性对照，清除率按式（2）计算：

$$\text{清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100 \qquad \text{式（2）}$$

式中：A_1 表示不同样品与各种检测液的吸光度；A_2 表示不同样品的吸光度；A_0 表示检测液的吸光度。

1.2.5　ARPE-19 细胞培养　人视网膜色素上皮细胞使用 DMEM/F12（含 HEPES）完全培养基，含有 10% 胎牛血清，保证 ARPE-19 细胞的营养与稳定的 pH 环境，置于 37 ℃、5% CO_2 的培养箱中稳定培养。

1.2.6　H_2O_2 诱导 ARPE-19 细胞损伤模型建立及分组　细胞正常培养，待长至适宜浓度时，消化后，1000 r/min 离心 5 min 收集细胞，按照每孔 100 μL 的体积，将密度为 1×10^5 个/mL 的 ARPE-19 细胞悬液使用排枪均匀接种至 96 孔板中。37 ℃、5% CO_2 的培养条件下培养 24 h，培养完成后，分别将终浓度为 100、250、500、750、1000 μmol/L 的 H_2O_2 作用于 ARPE-19 细胞 24 h，建立氧化应激损伤模型。本研究细胞水平试验共分四组：对照组、模型组、样品组及共孵育组。对照组：细胞用 DMEM/F12 完全培养基正常培养 48 h；模型组：先正常培养 24 h，再使用 500 μmol/L 的 H_2O_2 培养基培养 24 h；样品组：在细胞培养基中加入不同终浓度的样品溶液预处理 24 h 后再加 500 μmol/L 的 H_2O_2 培养 24 h；共孵育组：先正常培养 24 h，再在细胞培养基中加入终浓度 800 μg/mL 样品溶液和终浓度为 500 μmol/L 的 H_2O_2 共培养 24 h。

1.2.7　LCP 对 ARPE-19 细胞的毒性试验　培养方

法同 1.2.6, 加入不同浓度的样品溶液培养 24 h。按照 LDH 和 CCK-8 试剂盒测定, 细胞存活率按式(3)计算:

$$细胞存活率(\%)=\frac{A_1-A_0}{A_2-A_0}\times 100 \qquad 式（3）$$

式中: A_1 表示不同样品组吸光度; A_2 表示对照组的吸光度; A_0 表示培养基吸光度。

1.2.8 LCP 对 H_2O_2 诱导 ARPE-19 细胞氧化损伤模型的作用

1.2.8.1 细胞增殖试验 培养方法同 1.2.6, 按照对照组、模型组、样品组的培养方法, 加入相应的培养基, 使用 CCK-8 试剂盒进行测定。

1.2.8.2 ROS 水平检测 为测定 ROS 水平, 以 1×10^5 个/mL 的浓度将 ARPE-19 细胞接种至 12 孔板中, 用记号笔对其进行标记并培养, 细胞完全贴壁后, 分别按对照组、模型组、样品组和共孵育组的培养方法, 加入相应的培养基。培养结束后用 PBS 冲洗 3 次, 添加 10 μmol/L DCFH-DA 荧光探针在 37 ℃ 孵育 30 min, 随后使用 10 μg/mL 浓度 Hoechst 33258 染细胞核。通过 Image J 软件对图像进行处理并分析荧光强度[26]。

1.2.8.3 SOD、CAT、GSH-Px 酶活力及 GSH、MDA 含量测定 培养方法及分组同 1.2.8.2, 培养结束后弃掉培养基, 消化并离心收集细胞, 根据 SOD、CAT、GSH-Px、GSH、MDA 测定试剂盒说明书对 ARPE-19 细胞进行处理并测定。

1.3 数据处理

试验数据均基于 3 个独立的重复, 以 mean±SD 记录, 使用 Graphpad Prism 8.0.2 绘制图形。采用 SPSS 26.0 软件进行统计学分析, 采用 Duncan 多重显著性差异检验进行单因素方差分析(P<0.05)。

2 结果与分析

2.1 单因素实验结果

适合的料液比可以最有效完成对蓝靛果多酚的提取, 适量的麦芽糊精添加量对蓝靛果冻干粉的塑形及生物活性的发挥起着至关重要的作用。由图 1a 可知, 料液比 1∶4 时, LCP 处理的 ARPE-19 细胞存活率达到峰值, 高达 127.80%, 料液比过高会降低提取效率。由图 1b 可知, ARPE-19 细胞存活率呈现先升高后下降趋势, 麦芽糊精添加量 15% 时, ARPE-19 细胞存活率最高, 麦芽糊精添加量少, 塑形作用不完全, 保护作用减弱, 添加量多则会稀释蓝靛果冻干粉中的多酚含量。由图 1c 可知, ARPE-19 细胞存活率在枸杞多糖添加量小于 15% 的范围内逐渐升高, 在大于 15% 的范围内逐渐降低, 过高的枸杞多糖含量可能对蓝靛果多酚的稳定性和生物活性产生了干扰, 导致细胞存活率的降低。因此, 选取料液比 1∶3~1∶5、麦芽糊精添加量 10%~20%、枸杞多糖添加量 10%~20% 范围条件进行响应面优化试验。

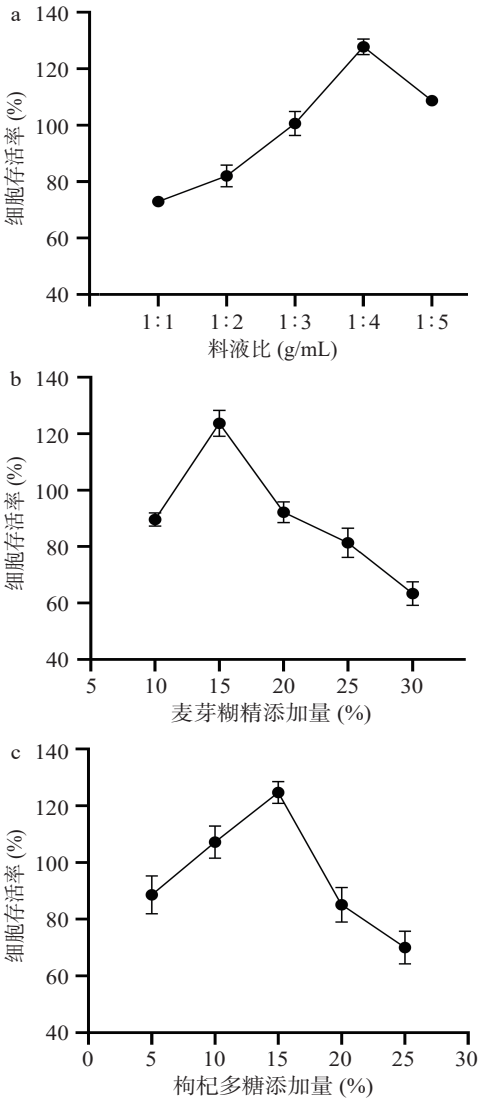


图 1 蓝靛果复合粉剂制备单因素试验

Fig.1 Single-factor experiment on the preparation of *Lonicera edulis* composite powder

注: a. 料液比; b. 麦芽糊精添加量; c. 枸杞多糖添加量。

2.2 响应面优化 LCP 配方

为确定 LCP 最优配方, 将 ARPE-19 细胞的存活率设定为响应指标, 通过 Design-Expert 8.0.6 设计响应面优化试验, 17 组试验结果见表 2。

2.2.1 回归模型的建立及方差分析 通过 Box-Behnken 设计, 构建响应面模型, 对 LCP 进行配方的优化。对试验结果进行回归拟合, 得到细胞存活率对料液比(A)、麦芽糊精添加量(B)、枸杞多糖添加量(C)的回归模型方程: 细胞存活率(%)=125.68+5.46A+5.06B+2.28C−1.52AB−11.17AC+8.30BC−30.97A^2−29.30B^2−28.97C^2。

对二次回归方程的回归分析及显著性结果见表 3, 回归模型 P<0.01, 失拟项 P 值 0.0702>0.05, 前者具有极显著差异, 后者无显著差异。表明试验结果与数学模型有较好的拟合度, 可用该模型对 LCP 配方进行优化。

2.2.2 响应曲面分析及优化 响应面三维曲线图见

表 2　响应面分析试验方案及试验结果

Table 2　Response surface analysis test scheme and test results

实验号	A料液比	B麦芽糊精添加量	C枸杞多糖添加量	细胞存活率（%）
1	−1	−1	0	52.14
2	1	−1	0	69.32
3	−1	1	0	64.53
4	1	1	0	75.62
5	−1	0	−1	49.84
6	1	0	−1	79.90
7	−1	0	1	73.91
8	1	0	1	59.27
9	0	−1	−1	66.56
10	0	1	−1	60.86
11	0	−1	1	57.34
12	0	1	1	84.84
13	0	0	0	126.10
14	0	0	0	126.04
15	0	0	0	127.80
16	0	0	0	124.71
17	0	0	0	123.73

表 3　Box-Behnken 试验设计及回归分析结果

Table 3　Box-Behnken experiment design and regression analysis results

方差来源	平方和	自由度	均方	*F*值	*P*值	显著性
模型	13772.48	9	1530.28	225.86	<0.0001	**
A	238.69	1	238.69	35.23	0.0006	**
B	204.94	1	204.94	30.25	0.0009	**
C	41.41	1	41.41	6.11	0.0427	*
AB	9.28	1	9.28	1.37	0.2801	
AC	499.26	1	499.26	73.69	<0.0001	**
BC	275.55	1	275.55	40.67	0.0004	**
A^2	4039.11	1	4039.11	596.16	<0.0001	**
B^2	3614.68	1	3614.68	533.51	<0.0001	**
C^2	3534.86	1	3534.86	521.73	<0.0001	**
残差	47.43	7	6.78			
失拟项	37.91	3	12.64	5.31	0.0702	
纯误差	9.52	4	2.38			
总离差	13819.91	16				

注：*表示差异显著（*P*<0.05）；**表示差异极显著（*P*<0.01）。

图 2，三维曲线图可以看出因素之间的相互关系，并展示了每个因素的最优参数。其中料液比（A）与枸杞多糖添加量（C）、麦芽糊精添加量（B）与枸杞多糖添加量（C）两两因素之间交互作用显著（*P*<0.01），结合回归分析表可知，各因素间交互作用对细胞存活率的影响程度为：AC>BC>AB。料液比、麦芽糊精添加量、枸杞多糖添加量三个因素对细胞存活率的影响程度为：料液比（A）>麦芽糊精添加量（B）>枸杞多糖添加量（C）。

2.2.3　Box-Behnken 回归模型验证　根据回归模型的分析，得到了 LCP 的最佳配方工艺参数为：料液比 1∶4.08（g/mL），麦芽糊精添加量 15.44%，枸杞多糖添加量 15.19%，细胞存活率预测值为 126.16%。考虑到实际生产，将三个因素参数调整为：料液比 1∶4（g/mL），麦芽糊精添加量 15%，枸杞多糖添加量

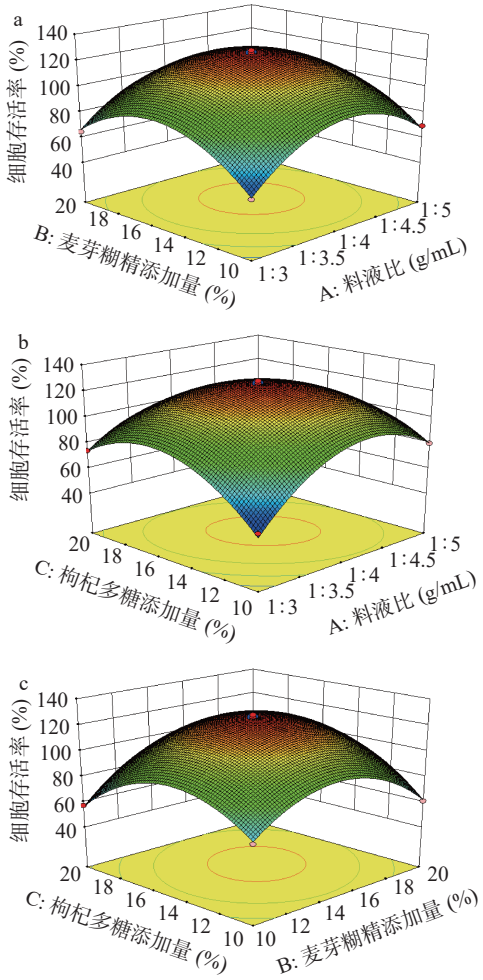


图 2　三因素响应面分析和等高线图

Fig.2　Three-factors response surface analysis and contour map

注：a.料液比-麦芽糊精添加量；b.料液比-枸杞多糖添加量；c.麦芽糊精添加量-枸杞多糖添加量。

15%，进行三次平行独立试验。在此条件下的细胞存活率为 126.65%±0.81%，接近预测值，响应面优化 LCP 配方具有可行性。

2.3　LCP 性能指标

粉剂性能指标是评估产品质量的重要参数，流动性会影响粉剂的均匀性，测定粉剂的休止角可评估流动性[27]。分散性和溶解性可以反映粉剂稳定性，一般休止角越小，流动性越好，同时分散性越好，溶解性越好[28]。水分含量影响了粉剂的储存稳定性，过高会导致粉剂的结块[29]。容重是粉剂在自然堆积状态下的单位体积的质量，可以反映粉剂的细度[30]。性能指标结果见表 4，LCP 的休止角为 35.57°，溶解时间为 31.04 s，溶液中干物质比例达到 97.49%，粉剂容重为 0.53 g/mL。休止角小于 40°，说明粉剂具有良好的流动性，LCP 颗粒细小、均匀，具有较好的分散性和溶解性，这与许文静等[31] 所研究的蓝莓冻干粉物理性能相近。此外，LCP 的水分含量为 2.98%，符合 GB/T 29602-2013《食品安全国家标准 饮料》中的规定标准，不高于 7.0%；LCP 溶解后静置 3 d 后无明显沉积现象，具有较好的稳定性。

表 4　蓝靛果复合粉剂性能指标结果

Table 4　Powder performance indicator results of *Lonicera edulis* composite powder

样品	休止角θ(°)	分散性(s)	溶解性(%)	水分含量(%)	容重(g/mL)
蓝靛果复合粉剂	35.57±1.01	31.04±1.51	97.49±0.09	2.98±0.01	0.53±0.03

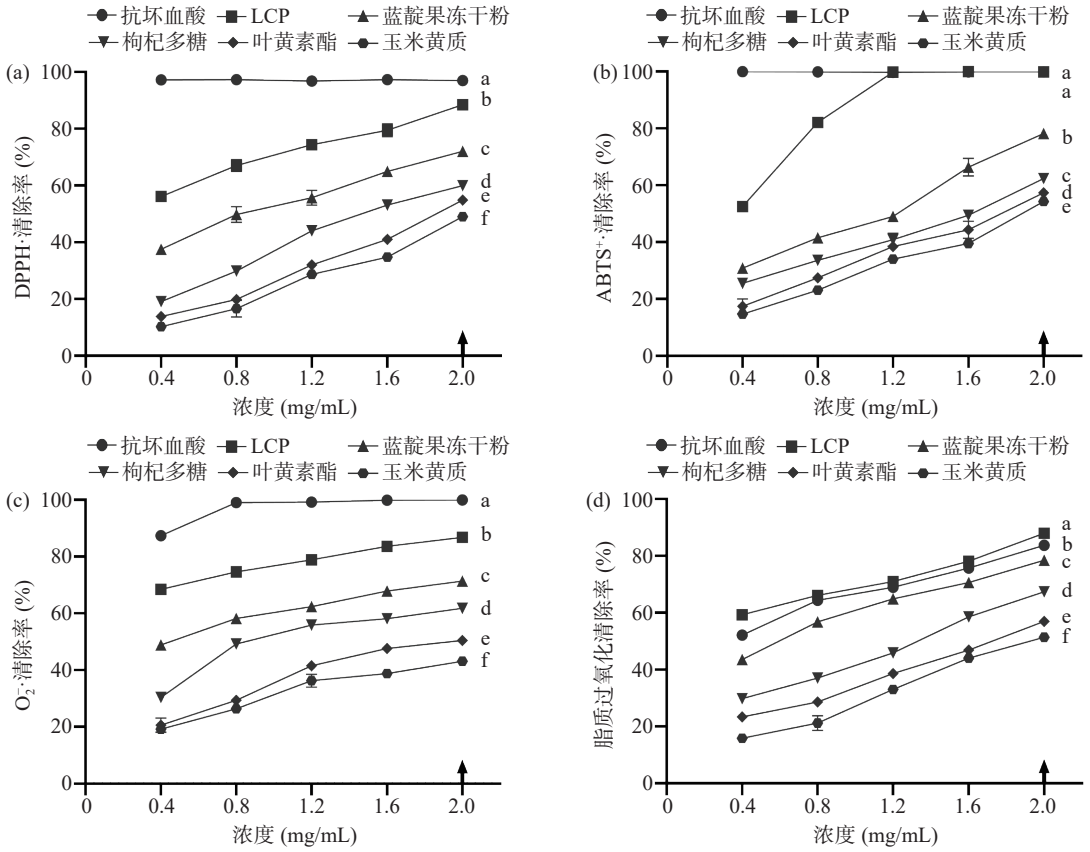


图 3　蓝靛果复合粉剂(LCP)及单组分的抗氧化活性

Fig.3　Antioxidant activity of *Lonicera edulis* composite powder and single components

注: (a)DPPH 自由基清除率; (b)$ABTS^+$自由基清除率; (c)超氧阴离子自由基清除率; (d)脂质过氧化清除率; 仅对 2.0 mg/mL 浓度各组间进行单因素方差分析, 图中不同小写字母表示显著差异(P<0.05)。

2.4　LCP 抗氧化活性

DPPH 和 ABTS 是两种常用的衡量抗氧化活性的方法, 超氧阴离子自由基($O_2^-\cdot$)是一种常见的活性氧, 过量的 $O_2^-\cdot$会造成视网膜细胞脂质过氧化, 脂质过氧化是氧化应激的重要标志[32]。抗氧化活性试验结果见图 3, 结果表明, LCP 在 0.4~2.0 mg/mL 浓度范围内具有良好 DPPH、$ABTS^+$、O_2^-自由基清除能力及抗脂质过氧化作用, 且随着浓度升高, 抗氧化能力越强。LCP 在 2 mg/mL 时, 对 DPPH、$ABTS^+$、O_2^-、脂质过氧化自由基清除率分别达 88.46%、99.90%、86.78% 和 87.96%, 显著高于(P<0.05)任一单独组分, 其中, LCP 的 $ABTS^+$自由基清除能力与抗坏血酸无显著差异, 抗脂质过氧化能力高于抗坏血酸。

2.5　细胞实验

2.5.1　H_2O_2 诱导 ARPE-19 细胞损伤模型建立　为进一步研究 LCP 的护眼功能, 选用人视网膜色素上皮细胞(ARPE-19)进行细胞水平试验, 利用 H_2O_2 建立氧化损伤模型。细胞建模结果见图 4, H_2O_2 在 500 μmol/L 时的细胞存活率为 51.87%, 达到 IC_{50}, 此时细胞处于氧化损伤状态又不过度损伤, 是理想诱导浓度, 符合氧化应激模型 50%~70% 的细胞活力范围。因此, 确定使用 500 μmol/L 浓度 H_2O_2, 处理 24 h, 进行后续细胞实验的建模条件。

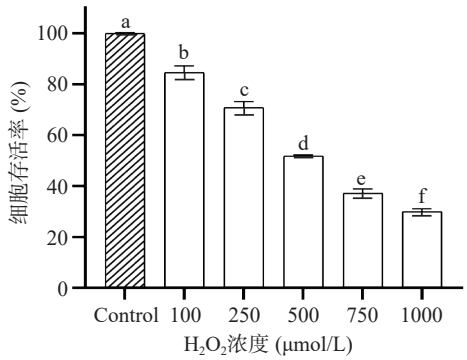


图 4　H_2O_2 诱导 ARPE-19 细胞氧化损伤模型

Fig.4　Model of H_2O_2-induced oxidative damage in ARPE-19 cells

注: 图中不同小写字母表示显著差异(P<0.05)。

2.5.2　LCP 对 ARPE-19 细胞的毒性实验　为检验 LCP 的细胞毒性，使用 CCK-8 法测定 ARPE-19 细胞的存活率，培养液中的 LDH 含量可以评估细胞膜损伤程度，释放量越大，毒性越强，结果见图 5。实验结果表明，LCP 在 50 μg/mL 时细胞存活率为 105.85%，在 200~800 μg/mL 浓度范围内，细胞存活率随浓度增高而显著提高（P<0.05），在 1000 μg/mL 时细胞存活率达到 126.92%。LCP 在 50~1000 μg/mL 浓度范围内的 LDH 释放量与对照组相比无显著差异，说明细胞膜完整性良好。综合细胞存活率和 LDH 释放量试验结果，说明 LCP 在 50~1000 μg/mL 浓度范围内无细胞毒性。

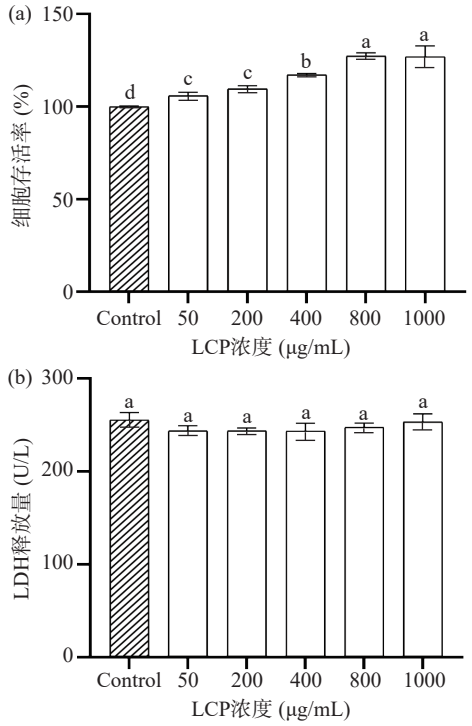


图 5　蓝靛果复合粉剂（LCP）的 ARPE-19 细胞毒性实验及 LDH 释放量实验

Fig.5　Cytotoxicity assay and LDH release assay of *Lonicera edulis* composite powder on ARPE-19 cells

注：（a）细胞毒性实验；（b）LDH 释放量实验，图中不同小写字母表示显著差异（P<0.05）。

2.5.3　LCP 对 H_2O_2 诱导 ARPE-19 细胞损伤的保护作用

2.5.3.1　细胞增殖实验　为研究 LCP 对 H_2O_2 氧化损伤 ARPE-19 细胞增殖能力的影响，使用 CCK-8 法进行了细胞增殖实验，实验结果见图 6。图 6（a）显示，相较于同浓度的单组分蓝靛果冻干粉、枸杞多糖、叶黄素酯和玉米黄质，LCP 提高了 ARPE-19 细胞的增殖能力。由图 6（b）可知，随着 LCP 浓度的增加，可以抑制 H_2O_2 对 ARPE-19 造成的氧化损伤，在 200 μg/mL 浓度时，细胞存活率达到 100.25%，200~800 μg/mL 浓度范围内呈现出显著（P<0.05）的细胞增殖促进趋势，说明 LCP 具有良好的促进细胞增殖能力。因此，选择 200、400、800 μg/mL 三个浓度继续探究 LCP 对 H_2O_2 诱导 ARPE-19 细胞损伤的保护作用。

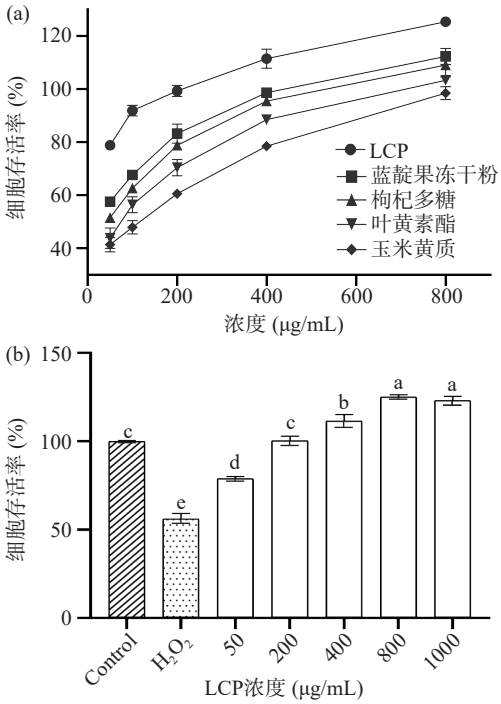


图 6　蓝靛果复合粉剂（LCP）对 H_2O_2 氧化损伤 ARPE-19 细胞增殖影响

Fig.6　Effect of *Lonicera edulis* composite powder on H_2O_2 oxidative damage to ARPE-19 cell proliferation

注：（a）LCP 与单组分（蓝靛果冻干粉、枸杞多糖、叶黄素酯、玉米黄质）对 H_2O_2 氧化损伤 ARPE-19 细胞增殖作用对比；（b）不同浓度 LCP 对 H_2O_2 氧化损伤 ARPE-19 细胞增殖影响，图中不同小写字母表示显著差异（P<0.05）。

2.5.3.2　ROS 水平检测　ROS 作为信号分子在生物体内参与多种生理过程，过量的 ROS 则会导致氧化应激，对细胞造成损伤，从而诱发疾病[33]。ROS 水平荧光检测结果见图 7、图 8。结果表明，H_2O_2 处理后 ARPE-19 细胞内 ROS 水平较对照组显著提高（P<0.05），不同浓度 LCP 预处理组的细胞内 ROS 水

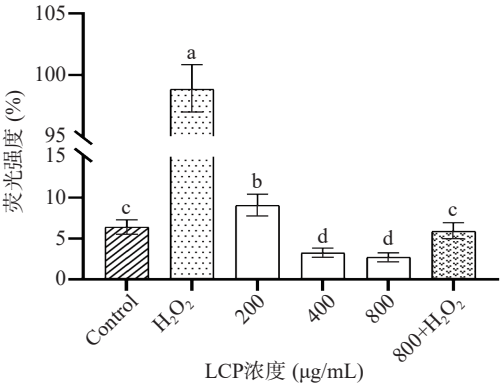


图 7　蓝靛果复合粉剂（LCP）对 H_2O_2 氧化损伤 ARPE-19 细胞 ROS 荧光强度

Fig.7　ROS integrated density of H_2O_2 oxidative damage to ARPE-19 cells by *Lonicera edulis* powder

注：图中不同小写字母表示显著差异（P<0.05）。

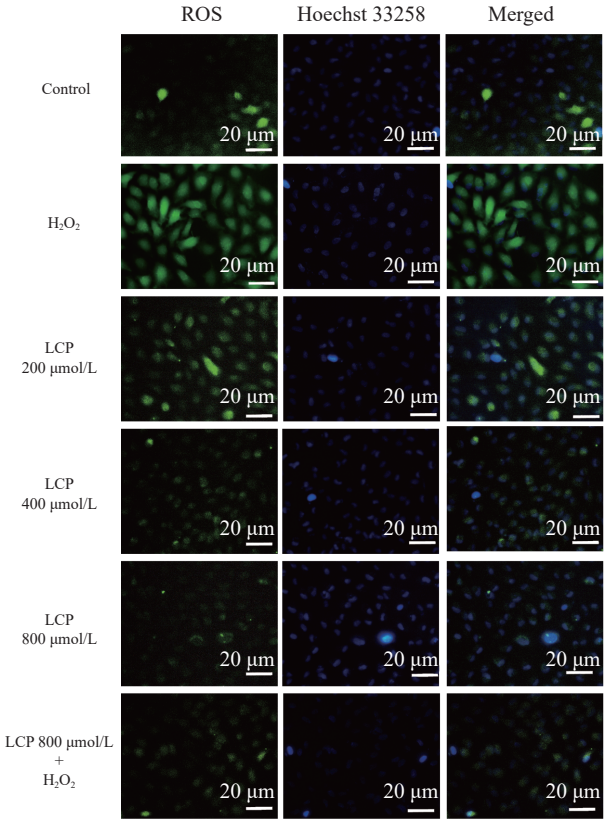


图 8　蓝靛果复合粉剂(LCP)对 H_2O_2 氧化损伤 ARPE-19 细胞内 ROS 水平荧光染色

Fig.8　Fluorescence staining of ROS levels in ARPE-19 cells oxidatively damaged by H_2O_2 with *Lonicera edulis* composite powder

平显著下降(P<0.05)，且随着浓度升高，ROS 水平逐渐下降。400 μg/mL 和 800 μg/mL 浓度的 LCP 处理组的细胞内 ROS 荧光强度与对照组相比显著降低(P<0.05)，说明 LCP 预处理可以有效抑制 H_2O_2 诱导的氧化应激反应，清除活性氧，起到对 ARPE-19 细胞的保护作用。此外，LCP 800 μg/mL＋H_2O_2 共孵育组的 ROS 水平也显著(P<0.05)低于 H_2O_2 模型组，说明 LCP 能够有效保护处于氧化应激作用中的细胞。

2.5.3.3　抗氧化酶活力及 GSH、MDA 含量　CAT、SOD、GSH-Px、GSH 和 MDA 是评估细胞抗氧化能力及氧化应激损伤程度的关键指标，与 ARPE-19 细胞内的 ROS 水平密切相关[34]。实验结果见图 9，与对照组相比，模型组的 ARPE-19 细胞内抗氧化酶活力及 GSH 含量显著下降(P<0.05)，MDA 含量显著增高(P<0.05)。LCP 处理组 CAT、SOD、GSH-Px 酶活力及 GSH 含量较模型组显著增加(P<0.05)，MDA 含量显著降低(P<0.05)，且呈现出显著(P<0.05)的 LCP 浓度依赖性。800 μg/mL 共孵育组效果同样显著(P<0.05)，但与 800 μg/mL 预处理组相比，除了 MDA 含量，其他指标有显著差异(P<0.05)。LCP 的 800 μg/mL 预处理组具有最为显著(P<0.05)的抗 H_2O_2 氧化应激损伤效果，且最有效增强了 ARPE-19 细胞的抗氧化能力，与对照组相比，CAT、SOD 和 GSH-Px 酶活力分别提高了 53.53%、

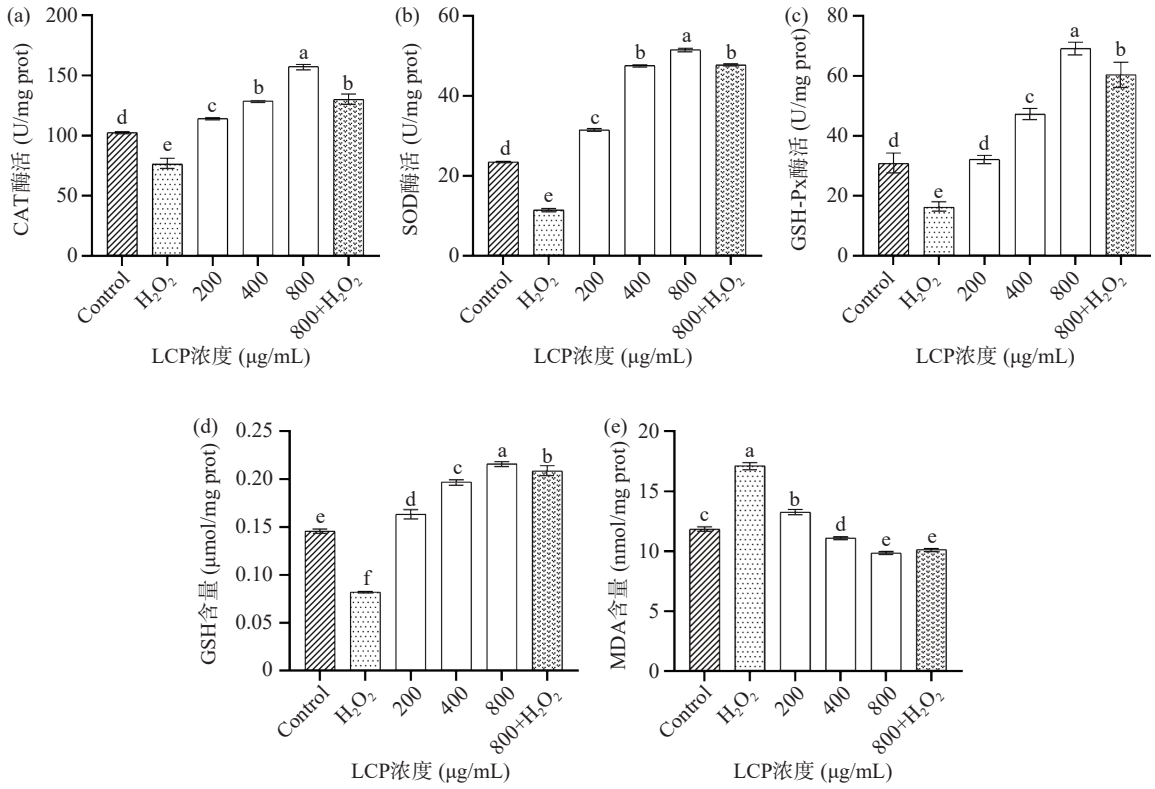


图 9　蓝靛果复合粉剂(LCP)对 H_2O_2 氧化损伤 ARPE-19 细胞内 CAT、SOD、GSH-Px 酶活力以及 GSH 和 MDA 含量的影响

Fig.9　Effects of *Lonicera edulis* composite powder on H_2O_2 oxidative damage to intracellular CAT, SOD, GSH-Px enzyme activities and GSH and MDA contents in ARPE-19 cells

注：(a)CAT 酶活力；(b)SOD 酶活力；(c)GSH-Px 酶活力；(d)GSH 含量；(e)MDA 含量；图中不同小写字母表示显著差异(P<0.05)。

119.23% 和 124.53%，GSH 含量提高了 46.67%，MDA 含量降低了 20.06%。试验结果说明，LCP 预处理可以通过增强 ARPE-19 细胞的抗氧化活性，有效减少 H_2O_2 所诱导的氧化应激损伤，具有良好的抗氧化保护能力。

3　结论

本研究以对 H_2O_2 诱导 ARPE-19 细胞氧化应激损伤的细胞存活率为指标，对 LCP 进行了响应面优化，确定最佳配方工艺参数为：蓝靛果冻干粉添加量 81%（料液比 1∶4，麦芽糊精 15%）；枸杞多糖添加量 15%；叶黄素酯添加量 3.33%；玉米黄质添加量 0.67%。性能指标及抗氧化活性测定结果表明，LCP 具有良好的流动性、溶解性、稳定性及抗氧化活性，且其抗氧化能力显著（P<0.05）高于各单组分（蓝靛果冻干粉、枸杞多糖、叶黄素酯、玉米黄质）。细胞实验结果表明，LCP 无明显细胞毒性，能显著（P<0.05）促进 ARPE-19 细胞增殖。此外，LCP 不仅可以有效抑制 H_2O_2 诱导的视网膜氧化应激损伤，降低 ARPE-19 细胞内的 ROS 水平，还能够显著（P<0.05）提高 ARPE-19 细胞的 CAT、SOD、GSH-Px 酶活力，增加 GSH 含量，降低 MDA 含量，增强 ARPE-19 细胞的抗氧化能力。试验结果表明，LCP 可以通过抗氧化应激作用保护视网膜免受损伤，降低 AMD 患病风险。尽管 LCP 的研究在细胞水平取得了积极结果，但仍需要进一步评估其体内效应，深入探究其护眼作用机制。本研究为蓝靛果护眼功能性产品的开发提供了参考依据，为蓝靛果资源的充分利用提供理论支持。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

［1］ SINGH M K, SINGH L, ATILANO S, et al. Retinal pigment epithelium and monocytes' mitochondrial control of ferroptosis and its relevance to age-related macular degeneration[J]. Molecular neurobiology, 2025(prepublish): 1−18.

［2］ SALMAN A. Possibility of allele-specific targeting of AMD-risk SNPs with CRISPR: current limitations, challenges and future applications[J]. Investigative Ophthalmology & Visual Science, 2024, 65(7): 6514.

［3］ 肖英梁, 刘翼翔. 膳食营养组分改善视网膜光损伤作用及机理研究进展[J]. 食品科学, 2023, 44(13): 378−389. ［XIAO Y L, LIU Y X. Research progress on the effects and mechanisms of dietary nutrients on retinal light damage[J]. Food Science, 2023, 44(13): 378−389.］

［4］ LIU G M, LIU Y. Exosomes derived from human umbilical cord blood mesenchymal stem cells protect against blue light-induced damage to retinal pigment epithelial cells by inhibiting FGF2 expression[J]. Cytotechnology, 2025, 77(3): 88−88.

［5］ CHEN X, LI Z, YANG X, et al. Steroids and terpenoids from *Aglaia edulis* and their anti-inflammatory activities[J]. Journal of Molecular Structure, 2025, 1328: 141195.

［6］ PÉREZ D M, SÁNCHEZ C F V, CAMPOS E L P, et al. Dietary sources of antioxidants and oxidative stress in age-related macular degeneration[J]. Frontiers in Pharmacology, 2024, 15: 1442548.

［7］ SESSO H D, RAUTIAINEN S, PARK S J, et al. Intake of blueberries, anthocyanins, and risk of eye disease in women[J]. The Journal of Nutrition, 2024, 154(4): 1404−1413.

［8］ 李晨, 张秀玲, 李凤凤, 等. 五种小浆果抗氧化活性和相关营养物质的测定及主成分分析[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(14): 226−234. ［LI C, ZHANG X L, LI F F, et al. Determination of antioxidant activity, nutrients and quality evaluation using principal component analysis of five kinds of small berries[J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(14): 226−234.］

［9］ 李山, 张彦龙, 曾伟民, 等. 蓝靛果果渣花色苷胶束的制备及其稳定性研究[J]. 食品工业科技, 2024, 45(2): 21−29. ［LI S, ZHANG Y L, ZENG W M, et al. Study on preparation and stability of anthocyanin micelles from *Lonicera edulis* pomace[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(2): 21−29.］

［10］ 谭卓然, 覃崇源, 张靖楠, 等. 蓝靛果活性成分及应用的研究进展[J]. 现代食品科技, 2024, 40(7): 324−333. ［TAN Z R, QIN C Y, ZHANG J N, et al. Research progress on the active ingredients in and applications of *Lonicera caerulea* L[J]. Modern Food Science & Technology, 2024, 40(7): 324−333.］

［11］ ZIMA K, KHAIDAKOV B, SOCHOCKA M, et al. Exploring the potency of polyphenol-rich blend from *Lonicera caerulea var.* Kamtschatica sevast., *Aronia melanocarpa*, and *Echinacea purpurea*: promising anti-inflammatory, antioxidant, and antiviral properties[J]. Heliyon, 2024, 10(15): e35630.

［12］ 潘海珍, 洒玉萍. 基于肝脏论治干眼[J]. 中医临床研究, 2024, 16(31): 87−91. ［PAN H J, SA Y P. The treatment of dry eyes based on liver[J]. Clinical Journal of Chinese Medicine, 2024, 16(31): 87−91.］

［13］ JING Y Y, YING W, YING D, et al. *Lycium barbarum* polysaccharides regulating miR-181/Bcl-2 decreased autophagy of retinal pigment epithelium with oxidative stress[J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2023, 2023: 9554457.

［14］ ALONSO B O, LORENCIO F G, FEITO J C, et al. Bioavailability of lutein from marigold flowers (Free vs. Ester forms): A randomised cross-over study to assess serum response and visual contrast threshold in adults[J]. Nutrients, 2024, 16(10): 1415.

［15］ LOPRESTI A L, SMITH S J. The effects of lutein/ zeaxanthin (Lute-gen®) on eye health, eye strain, sleep quality, and attention in high electronic screen users: A randomized, double-blind, placebo-controlled study[J]. Frontiers in Nutrition, 2025, 12: 1522302.

［16］ RANGANATHAN A, GORUSUPUDI A, LI B, et al. Lutein and zeaxanthin reduce A2E and iso-A2E levels and improve visual performance in Abca4$^{-/-}$/Bco2$^{-/-}$ double KO Mice[J]. Investigative Ophthalmology & Visual Science, 2021, 62(8): 2974.

［17］ 王鑫, 修伟业, 毕海鑫, 等. 发酵蓝靛果果汁澄清工艺及贮藏稳定性研究[J]. 包装工程, 2023, 44(11): 87−98. ［WANG X, XIU W Y, BI H X, et al. Clarification process and storage stability of fermented *Lonicerna caerulea* juice[J]. Packaging Engineering, 2023, 44(11): 87−98.］

［18］ 魏韶尉, 李元敬, 周俊杰, 等. 蓝靛果酸奶配方优化及其抗氧化活性研究[J]. 黑龙江大学自然科学学报, 2023, 40(5): 555−564. ［WEI S W, LI Y J, ZHOU J J, et al. Study on formulation optimization and antioxidant activity of *Lonicera caerulea* yoghurt[J].

Journal of Natural Science of Heilongjiang University, 2023, 40(5): 555−564.]
[19] LIANCHENG W, HONGDI J, JIANYANG Y, et al. Impact of particle shape, size, and size distribution on gravity flow behaviour of broken ore in sublevel caving[J]. Minerals, 2022, 12(10): 1183.
[20] K K A, A A U, H S M N, et al. Dissolution time and shelf life quality of *Ficus deltoidea* powder and granule[J]. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, 2021, 1051(1): 0120926.
[21] 吴耀刚, 何雨珂, 赵洲, 等. 南海黄鳍金枪鱼不同副产物营养成分及脂肪酸组成分析[J]. 食品工业科技, 2024, 45(22): 254−262. [WU Y G, HE Y K, ZHAO Z, et al. Analysis of nutrient and fatty acid composition of different by-products of yellowfin tuna in south china sea[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(22): 254−262.]
[22] GAFFOROV Y, BEKIĆ S, YARASHEVA M, et al. Bioactivity profiling of *Sanghuangporus lonicerinus*: antioxidant, hypoglycaemic, and anticancer potential via *in-vitro* and *in-silico* approaches[J]. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 2025, 40(1): 2461185.
[23] CHAUHAN M, NEGI P S. Protective effect of phytochemicals-rich *Syzygium malaccense* seed extract against H_2O_2 stimulated inflammatory response in RAW 264.7 macrophages[J]. Food Bioscience, 2025, 66: 106230.
[24] 王兴华, 念波, 段双梅, 等. 数控与传统发酵普洱茶抗氧化活性与化学成分的比较[J]. 食品与发酵工业, 2017, 43(5): 138−143. [WANG X H, NIAN B, DUAN S M, et al. Comparison on chemical compounds and antioxidant activity of Pu-erh Tea fermented by numerical control and traditional methods[J]. Food and Fermentation Industries, 2017, 43(5): 138−143.]
[25] 宰清勇. 枸杞多糖提取、结构表征及生物活性研究[D]. 贵阳: 贵州师范大学, 2023. [ZAI Q Y. Study on extraction, structure characterization and biological activity of *Lycium barbarum* polysaccharides[D]. Guiyang: Guizhou Normal University, 2023.]
[26] YU L, ZHENG X, WU Y, et al. USP14-dependent IGF1R aggravates high glucose-induced diabetic retinopathy by upregulating BAP1[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2025(prepublish): 1−16.
[27] TRISOPON K, KITTIPONGPATANA N, DOUNGSAARD P, et al. A novel directly compressible co-processed excipient, based-on rice starch for extended-release of tablets[J]. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2025, 208: 114623.
[28] EMELIKE N J T. Functional and physicochemical properties of turmeric powder as affected by processing methods[J]. Asian Food Science Journal, 2020: 1-10.
[29] TAHIYA Q, RASHID N H, ZAMEER H S, et al. Impact of spray drying conditions on the reconstitution, efficiency and flow properties of spray dried apple powder-optimization, sensorial and rheological assessment[J]. Heliyon, 2023, 9(8): e18527.
[30] KUDRIK B T, TIKHONOV A I, SHPYCHAK O S. The development of composition and technology for the capsulated drug based on bee pollen and honey powder. Announcement 3[J]. Aktual′nì Pitannâ Farmacevtičnoï ì Medičnoï Nauki ta Praktiki, 2016(3): 28−36.
[31] 许文静, 陈昌琳, 邓莎, 等. 不同前处理方式对冻干蓝莓粉品质特性的影响[J]. 食品工业科技, 2023, 44(6): 89−95. [XU W J, CHEN C L, DENG S, et al. Effects of different pretreatment methods on quality characteristics of freeze-dried blueberry powder[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(6): 89−95.]
[32] VALENTINA P, VITTORIA L, CHIARA F, et al. Comparison between *in vitro* chemical and *ex vivo* biological assays to evaluate antioxidant capacity of botanical extracts[J]. Antioxidants, 2021, 10(7): 1136.
[33] SATYANARAYANA G, DATTA S. Dietary serine supplementation reveals a protective effect against ROS in dry AMD[J]. Investigative Ophthalmology & Visual Science, 2023, 64(8): 2958.
[34] LIN L, SHENGYU W, SHUHUA D, et al. *Cordyceps militaris* carotenoids protect human retinal endothelial cells against the oxidative Injury and apoptosis resulting from H_2O_2[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2022, 2022: 1259093.