

文章编号: 1004-4353(2018)01-0058-05

响应面法优化林蛙皮-人参美白保湿膏的基质配方

衣铭慧, 孙志双, 施溯筠*
(延边大学 药学院, 吉林 延吉 133002)

摘要: 以林蛙皮和人参为主要原料设计了一种林蛙皮-人参美白保湿膏剂,以膏剂的外观、耐寒性、耐热性、乳化性和离心稳定性为评价指标,利用单因素实验、Box-Benhkn 中心组合设计原理和响应面分析法研究硬脂酸、单硬脂酸甘油酯、甘油的添加量对膏剂的影响. 研究结果显示,膏剂的最佳基质配比为:硬脂酸 8%、单硬脂酸甘油酯 1.5%、甘油 12%,最佳基质组成配方的综合评分为 9.34. 该结果说明响应面法优化可有效提高林蛙皮-人参美白保湿膏剂的综合评分,且方法准确可行.

关键词: 响应面法; 基质配方; 林蛙皮; 人参

中图分类号: R944.2 **文献标识码:** A

Optimization of the matrix formula of *Rana chensinensis* skin-*Panax ginseng* whitening and moisturizing cream by response surface method

YI Minghui, SUN Zhishuang, SHI Suyun*
(College of Pharmacy, Yanbian University, Yanji 133002, China)

Abstract: *Rana chensinensis* skin and *Panax ginseng* was used as the main raw material to design *Rana chensinensis* skin-*Panax ginseng* whitening moisturizing cream, the addition quantity effect of stearic acid, glyceryl monostearate and glycerine was analyzed using single factor experiment, Box-behnken design and response surface method, to take the appearance, cold resistance, heat resistance, emulsification and centrifugal stability as index. The optimal formula was stearic acid(8%), glyceryl monostearate(1.5%), glycerin(12%), the comprehensive score of the optimal matrix composition was 9.34. This imply the response surface methods were proved to enhance the comprehensive score of *Rana chensinensis* skin-*Panax ginseng* whitening and moisturizing cream, and the method is accurate and feasible.

Keywords: response surface method; matrix formula; *Rana chensinensis* skin; *Panax ginseng*

林蛙(*Rana chensinensis*)在水、陆环境中能够生存的主要原因是因为其机体表面具有完善的保湿系统. 林蛙皮中天然保湿因子含量较高,如透明质酸^[1]、胶原蛋白^[2]等. 透明质酸和胶原蛋白协同作用能更好地渗透皮肤,对修复微创面、恢复皮肤屏障具有很好的效果^[3]. 人参(*Panax ginseng*)中的美白活性物质人参皂苷不仅对皮肤具有收缩作用,调节真皮水分平衡,还有抑制黑色素的原性能,使皮肤变得光滑、柔嫩、洁白的功效^[4]. 在目前的美容产品中,未发现有将林蛙皮和人参作为主要原料而开发的美容产品. 基于此,本文将林蛙皮和人参为主要原料,设计一种林蛙皮-人参美白保

湿膏剂,并以膏剂的外观、耐寒性、耐热性、乳化性和离心稳定性为评价指标,利用单因素实验、Box-Behnken 中心组合设计原理和响应面分析法研究硬脂酸、单硬脂酸甘油酯、甘油的添加量对膏剂的影响,以期得到膏剂的最佳配方。

1 实验材料与仪器

新鲜林蛙皮由安图长白山辉煌生物科技有限公司提供,在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的冰箱中冷冻备用。人参购于延吉市西市场。硬脂酸、单硬脂酸甘油酯、甘油十八醇、氢氧化钾均为分析纯,天津市科密欧试剂有限公司生产。UV-2201 型紫外-可见分光光度计,岛津公司生产。

2 实验方法

2.1 林蛙皮与人参的前处理

剪切新鲜林蛙皮,进行脱色^[6]和脱腥处理^[7]后真空干燥,粉碎过 200 目筛,备用。采用 Bitter-Muir 卞啉法^[8]测得林蛙皮中透明质酸含量为 15.6 mg/g 。采用 Worssner 比色法测得其胶原蛋白含量为 243.5 mg/g 。

水煎煮法^[9]提取人参粗提物,测得其人参总皂苷含量为 41.22 mg/g 。

2.2 膏剂的制备

膏剂的制备参考文献^[10]中的方法进行。

水相制备:在蒸馏水中加入适量氢氧化钾,搅拌, $85\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴 20 min。

油相制备:称取硬脂酸、单硬脂酸甘油酯、十八醇、甘油后置于干燥烧杯中混合均匀,水浴加热至 $85\text{ }^{\circ}\text{C}$,搅拌至全部溶解成澄清液体,保持 20 min 灭菌。

皂化:在 $80\sim 90\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的水浴中边搅拌边慢慢将水相加入到油相中,搅拌 45 min 以上。

成膏:皂化反应完成后,加入适量尼泊金酯类防腐剂,搅拌 20~25 min,稍冷($45\text{ }^{\circ}\text{C}$)后加入适量林蛙皮粉末和人参粗提物,继续搅拌至室温,成膏状后装瓶密封保存。

2.3 各项指标检测

以外观、耐寒性、耐热性、乳化性、离心稳定性为指标,对样品进行综合评价^[11]。每个指标设 1~

10 分,共 50 分。1~2 分表示极差,3~4 分表示较差,5~6 分表示一般,7~8 分表示较好,9~10 分表示极好。将各指标评分乘以系数 0.19,其综合评分作为考察指标。

2.3.1 外观性状 观察样品色泽是否均匀,有无明显的麻点,是否细腻易涂布。

2.3.2 耐寒实验 将样品 20 g 置于样品瓶中,放入 $(-8\pm 1)\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的冰箱中,24 h 后取出,待升至室温后,与常温放置的样品比较,观察其是否有变稀、分层、变色等现象。

2.3.3 耐热实验 将样品 20 g 置于样品瓶中,放入 $(40\pm 1)\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的恒温箱中,24 h 后取出,待降至室温后,与常温放置的样品进行比较,观察其是否有变稀、分层、变色等现象。

2.3.4 乳化稳定性实验 取样品 0.1 g 加入 50 mL 去离子水, $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下搅拌均匀,冷却至室温;以水作参比,测定其在 $380\sim 800\text{ nm}$ 范围内的最低透光率。透光率越低,乳化体越稳定^[7]。透光率为 $0.8\sim 1$,给 0~2 分;透光率为 $0.6\sim 0.8$,给 2~4 分;透光率为 $0.4\sim 0.6$,给 4~6 分;透光率为 $0.2\sim 0.4$,给 6~8 分;透光率为 $0\sim 0.2$,给 8~10 分。

2.3.5 离心实验 称取样品 1 g,置于离心管中离心 30 min($3\ 000\text{ r/min}$),观察有无油水分层破乳现象。

2.4 单因素实验

2.4.1 硬脂酸对膏剂(样品)制备的影响 硬脂酸是膏剂的主要辅助原料,主要起乳化剂的作用。图 1 为硬脂酸添加量对膏剂的影响。由图 1 可以看出,硬脂酸添加量低于 8%(质量分数)时,样品的总体效果随硬脂酸添加量的增加而增高;当硬脂酸的质量分数为 8%时,综合评分最高,为 8.87;之后,随着添加量的升高,总体效果呈下降趋势。因此本文选择硬脂酸的添加量为 8%。

2.4.2 单硬脂酸甘油酯对膏剂制备的影响 图 2 为单硬脂酸甘油酯添加量对膏剂的影响。由图 2 可以看出,当单硬脂酸甘油酯用量低于 1.5%(质量分数)时,样品的总体效果呈缓慢上升的趋势;当单硬脂酸甘油酯的质量分数为 1.5%时,样品的总体效果最好,综合评分为 8.93;之后,随着用量的增加,总体效果呈下降趋势。因此本文选择单

硬脂酸甘油酯的添加量为 1.5%.

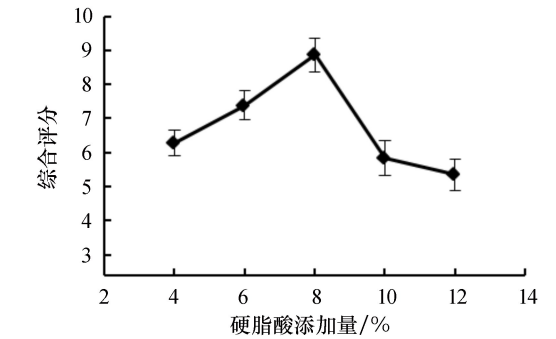


图 1 硬脂酸添加量对膏剂的影响

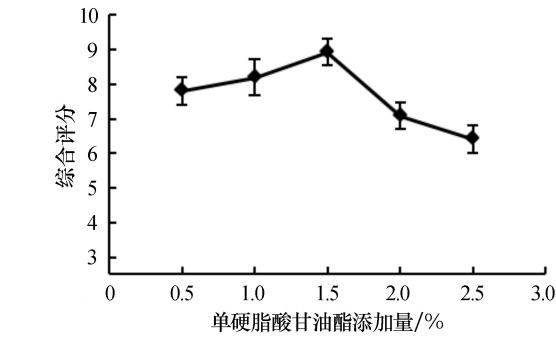


图 2 单硬脂酸甘油酯添加量对膏剂的影响

2.4.3 甘油对膏剂制备的影响 甘油在膏剂中主要起防冻的作用. 图 3 为甘油添加量对膏剂的影响. 由图 3 可以看出, 当甘油的添加量小于 12% (质量分数) 时, 样品的综合评分与甘油添加量呈正相关关系; 当甘油的质量分数为 12% 时, 样品的乳化效果最好, 综合评分为 9.02; 当甘油的添加量大于 12% 时, 样品的效果呈现下降的趋势. 因此, 本文选择甘油的添加量为 12%.

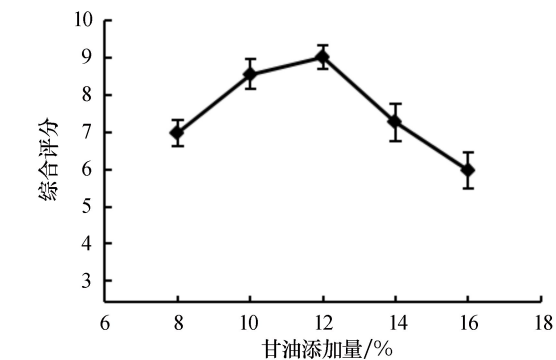


图 3 甘油添加量对膏剂的影响

3 响应面实验

3.1 响应面分析

依次改变硬脂酸(A)、单硬脂酸甘油酯(B)和

甘油(C)的用量,通过确定 3 因素 3 水平的最佳参数进行响应面分析,试验中的编码及水平见表 1.

表 1 响应面分析因素及水平

因素	水平		
	-1	0	1
A/%	6.0	8.0	10.0
B/%	0.5	1.5	2.5
C/%	9.0	12.0	15.0

3.2 响应面实验设计及结果

选取 A、B、C 3 个因素作为自变量,以样品的综合评分作为响应值,采用响应面分析方法对工艺参数进行优化,实验设计及结果见表 2.

表 2 响应面实验设计及结果

实验号	A	B	C	综合评分
1	0	0	0	8.89
2	1	0	-1	6.23
3	1	0	1	6.02
4	0	-1	-1	7.39
5	1	1	0	5.91
6	-1	0	-1	8.53
7	0	0	0	8.95
8	0	0	0	9.02
9	0	-1	1	6.96
10	-1	0	1	8.61
11	-1	-1	0	8.72
12	0	1	1	7.67
13	0	0	0	9.04
14	-1	1	0	8.37
15	0	1	-1	7.83
16	0	0	0	9.24
17	1	-1	0	5.72

3.3 拟合模型与显著性检验

由表 2 的数据得到如表 3 所示的回归方程方差分析表,利用 Design-Expert 8.0.6 软件对表 3 进行非线性回归的二次多项式拟合,得到如下预测模型:

$$Y=9.03-1.29A+0.12B-0.090C+0.14AB-0.073AC+0.067BC-0.98A^2-0.87B^2-0.70C^2.$$

回归方差分析表明,所得模型回归显著($P<0.000\ 1$),说明该模型有意义. 失拟项 $P=0.069\ 6$ 大于 0.05 (不显著),说明模型模拟数据与试验值

的差异较小. 模型的总决定系数 $R^2=0.985\ 6$, 调整决定系数 $R^2_{\text{Adj}}=0.967\ 0$, 说明该模型能解释 92.57% 的响应值变化. 以上说明该回归模型拟合性较好, 可用于本实验的预测和分析^[3].

表 3 为回归方程模型的方差分析表. 由表 3 可以看出, A 达到极显著水平, B 和 C 均达到显著性水平; 3 个因素对综合评分影响的顺序是: $A>B>C$. 回归方程二次项中 AB、AC、BC 3 项的 P 值均大于 0.05, 说明因素之间的交互作用不显著, 各实验因素对响应值的影响不是简单的线性关系. 二次项中 A^2 、 B^2 、 C^2 的 P 值均小于 0.001, 达到极显著水平. 依上述配方进行 3 次实验, 实验所得的综合评分为 9.34.

图 4—图 6 为各因子交互作用的响应面分析图和等高线分析图. 考察所拟合的响应曲面的形状, 可分析出 A、B、C 的添加量对样品综合评价的影响. 等高线的形状趋于圆形表示 2 个因素之间的交互作用不显著, 趋于椭圆则相反. 由图中响应面的最高点和等高线可以看出, 在所选的范

围内存在极值, 该极值点既是响应面的最高点, 同时也是等高线最小椭圆的中心点, 这说明实验因素所选择的水平区间是合理的.

表 3 回归方程模型的方差分析

因素	平方和	自由度	均方和	F 值	P 值
回归模型	24.03	9	2.67	53.11	<0.000 1
A	13.39	1	13.39	266.39	<0.000 1
B	0.12	1	0.12	2.44	0.162 4
C	0.065	1	0.065	1.29	0.293 6
AB	0.073	1	0.073	1.45	0.267 6
AC	0.021	1	0.021	0.42	0.538 4
BC	0.018	1	0.018	0.36	0.566 1
A^2	4.06	1	4.06	80.70	<0.000 1
B^2	3.16	1	3.16	62.89	<0.000 1
C^2	2.06	1	2.06	40.93	0.000 4
残差	0.35	7	0.050		
失拟项	0.28	3	0.094	5.34	0.069 6
纯误差	0.070	4	0.018		
总变异	24.38	16			
$R^2=0.985\ 6$					$R^2_{\text{Adj}}=0.967\ 0$

注: * 表示差异显著, $P<0.05$; ** 表示差异极显著, $P<0.001$

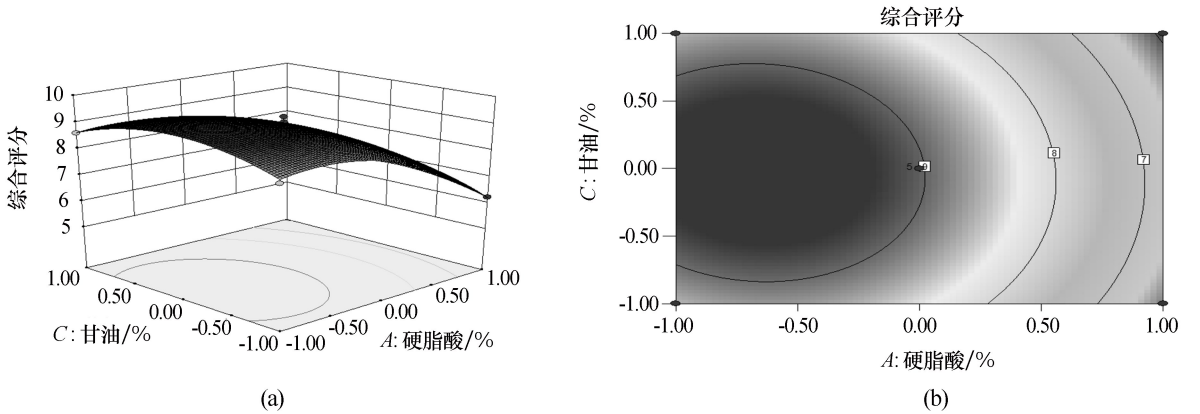


图 4 硬脂酸和甘油相互影响的响应面分析图(a)及等高线分析图(b)

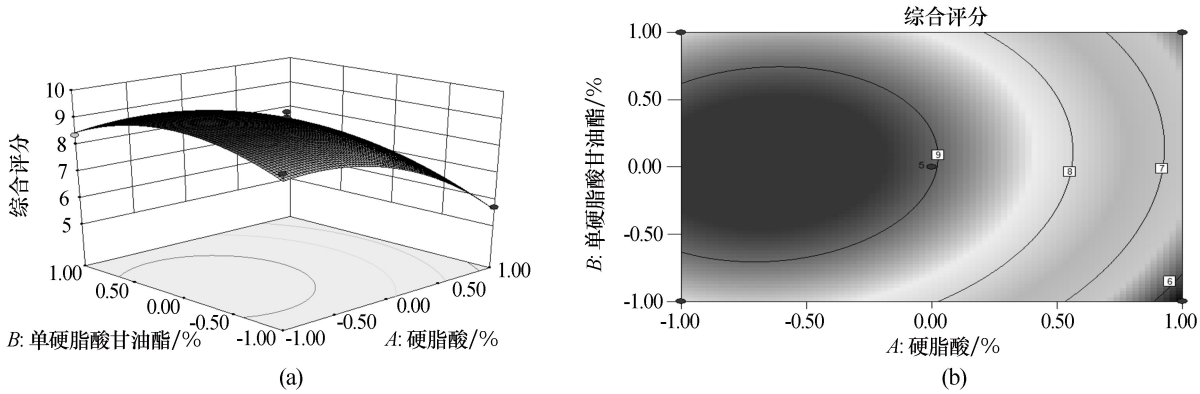


图 5 硬脂酸和单硬脂酸甘油酯相互影响的响应面分析图(a)及等高线分析图(b)

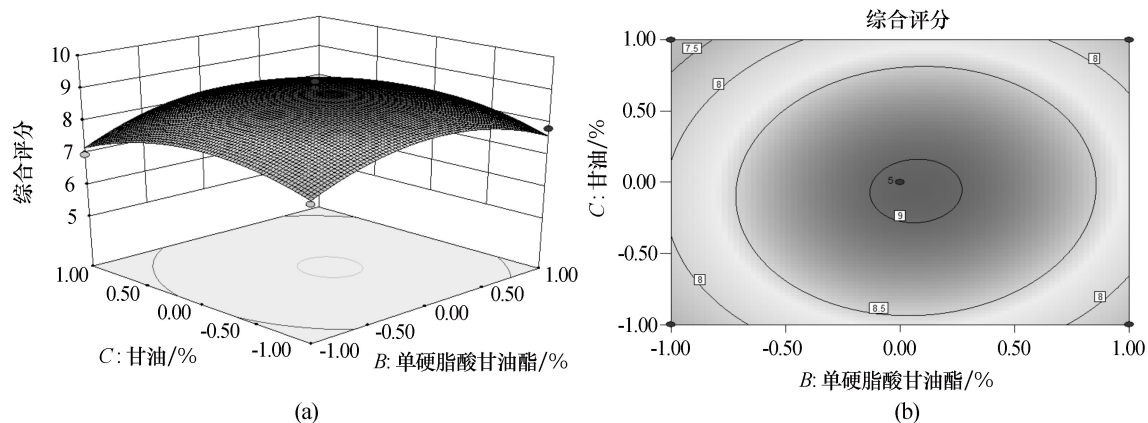


图 6 单硬脂酸甘油酯和甘油相互影响的响应面分析图(a)及等高线分析图(b)

4 结论

本文研究了硬脂酸、单硬脂酸甘油酯、甘油 3 种物质的添加量对林蛙皮-人参美白保湿膏剂综合评分的影响,通过 Box-Behnken 中心组合设计原理以及响应面分析法确定了膏剂的最佳基质组成,因素的主效应关系和最佳工艺条件. 经检验,拟合模型合理可靠,能很好地预测膏剂的综合评分,本文结果可为提高基质配方和开发更多新型医学护肤品提供参考.

参考文献:

[1] 袁海恋,施溯筠. 响应面法优化林蛙皮中透明质酸的提取工艺[J]. 食品工业科技,2016,37(8):196-200.

[2] 朱瑞霞,施溯筠. 冰乙酸和胃蛋白酶依次提取新鲜林蛙皮胶原蛋白[J]. 延边大学学报(自然科学版),2013,39(3):202-205.

[3] 马骁. 透明质酸钠和胶原蛋白在激光术皮肤护理品中的应用研究[D]. 上海:复旦大学,2013:29-40.

[4] 贾越光,丁志英,肖嘉婧,等. 人参皂苷纳米乳的美白抗衰作用及其安全性评价[J]. 中国生化药物杂志,2015,35(9):19-22.

[5] 衣铭慧,袁海恋,施溯筠. 响应面法优化榆黄蘑中多糖的提取工艺[J]. 延边大学学报(自然科学版),2016,42(2):143-146.

[6] 石硕,孙丽娜,仙靓,等. 神仙草叶多糖提取及过氧化氢脱色工艺研究[J]. 现代中药研究与实践,2017,31(3):50-54.

[7] 王振华. 泥鳅脱腥方法及脱腥对泥鳅品质的影响[D]. 重庆:西南大学,2016:58-70.

[8] Bitter T, Muir H M. A modified uronic acid carbazole reaction[J]. Analytical Biochemistry, 1962, 4(4):330-334.

[9] 齐晋楠. 人参、西洋参和高丽参水提物成分比较及体外抗氧化活性分析[D]. 长春:长春中医药大学,2011:16-20.

[10] 郑嘉雯,黄嘉琪,陈结莹,等. 薰衣草精油雪花膏的研制[J]. 广州化工,2015,43(14):59-61.

[11] 宛骏,杨全,庞玉新,等. Box-Behnken 设计-响应面法优化艾纳香祛斑霜的配方[J]. 香料香精化妆品,2016,2(1):37-41.