

文章编号: 1004-4353(2023)04-0372-06

荸荠粗多糖抗氧化面霜的制备研究

赵梓琦, 朴敏艳, 刘轩岑, 王香草, 王财培, 施溯筠

(延边大学 药学院, 吉林 延吉 133002)

摘要: 以荸荠为主原料制备了一款具有抗氧化功效的中药面霜. 在制备面霜的过程中, 采用 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基清除法、苯酚-硫酸法、单因素试验方法等方法筛选和优化基质配方, 并对制备的面霜的感官和理化指标进行了评价. 研究表明: 当荸荠粗多糖提取液的质量浓度为 $0.06 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 其对 DPPH 自由基的清除能力达到饱和状态(85.70%). 面霜的最佳配方(质量分数)为 2.5% 的单硬脂酸甘油酯、4.0% 的椰子油、1.0% 的硬脂酸、3.0% 的荸荠粗多糖提取液. 该面霜的安全性、耐寒、耐热等指标均符合中华人民共和国轻工行业标准 QB/T 1857—2013《润肤膏霜》中的相关标准, 且具有良好的抗氧化能力, 因此该面霜具有很好的开发利用价值.

关键词: 荸荠; 面霜; 抗氧化; 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼

中图分类号: TQ658.21

文献标志码: A

The preparation of water chestnut crude polysaccharide antioxidant cream

ZHAO Ziqi, PIAO Minyan, LIU Xuancen, WANG Xiangcao, WANG Caipei, SHI Sujun

(College of Pharmacy, Yanbian University, Yanji 133002, China)

Abstract: Using water chestnuts as the main basic material, a traditional Chinese medicine cream with antioxidant effects was prepared. In the process of preparing the cream, the matrix formulations were screened and optimized by 1,1-diphenyl-2-trinitrophenylhydrazine (DPPH) radical scavenging method, phenol-sulfuric acid method, and single factor test method, and the sensory and physicochemical indexes of the prepared cream were evaluated. The results showed that when the mass concentration of water chestnut crude polysaccharide extract was $0.06 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$, its scavenging ability of DPPH radicals reached a saturated state (85.70%). The best formula for creams (mass fraction): glyceryl monostearate (2.5%), coconut oil (4.0%), stearic acid (1.0%), water chestnut crude polysaccharide extract (3.0%). The indicators of safety, cold resistance and heat resistance of the cream are in line with the light industry standard of the People's Republic of China QB/T 1857-2013 (Emollient cream), and has positive antioxidant capacity, so the cream exhibit great development and utilization value.

Keywords: water chestnut; face cream; antioxidant; 1,1-diphenyl-2-trinitrophenylhydrazine

荸荠(water chestnut)俗称马蹄果,是单子叶植物纲莎草科多年生草本植物的地下球茎. 荸荠

含有多种活性物质^[1-2],其中的多糖、黄酮、多酚、甾醇、皂苷等成分具有很好的抗氧化活性,能够延

收稿日期: 2023-03-30

基金项目: 吉林省大学生创新创业项目(YBDX2022XJ036YaX)

第一作者: 赵梓琦(2002—),女,本科生,研究方向为天然生物资源开发与活性成分研究.

通信作者: 施溯筠(1972—),女,博士,副教授,研究方向为天然生物资源开发与活性成分研究.

缓自由基给皮肤带来的衰老问题^[3-5]. 研究^[6]显示,多糖还具有抗炎、抑菌、增加免疫力等生物活性以及较强的亲水性和热稳定性,因此其被广泛应用于化妆品、医药和食品等领域. 由于天然化妆品具有较高的安全性,因此近年来人们对其认可度、需求度不断提高^[7],商业销售前景广阔. 目前为止还尚未发现将荸荠粗多糖作为天然抗氧化剂应用于化妆品中,因此本文以荸荠粗多糖为主要抗氧化成分制备了一款面霜,并对其感官指标、抗氧化效果以及耐寒耐热等理化性质进行了评价.

1 材料和仪器

1.1 材料

荸荠切片干品,广东万顺大健康产业开发有限公司生产,并经延边大学郑明善教授鉴定;富士苹果,购于延吉市友进超市;沙棘果面霜,广东瀚润生物科技有限公司生产;卡波姆 940,青岛高科技工业园海博生物技术公司生产;单硬脂酸甘油酯和椰子油,山东优索化工科技有限公司生产;十八醇和硬脂酸,天津市科密欧化学试剂有限公司生产;甘油,山东临沂绿森公司生产;苯氧乙醇,浙江圣效有限公司生产;乙醇、苯酚和浓硫酸,茂名市雄大化工有限公司生产;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH),北京华越洋生物有限公司生产;葡萄糖标准品,上海源叶生物科技有限公司生产.

1.2 仪器

FA-2004 电子分析天平,上海良品仪器仪表有限公司生产;HH-6 型数显恒温水浴锅,金坛市科技仪器有限公司生产;UV-2201 型紫外-可见分光光度计,日本岛津公司生产;DHG-9023A 型电热恒温鼓风干箱,常州诺基仪器有限公司生产;电动粉碎机,上海世邦工业科技集团股份有限公司生产;Z-36HK 高速台式离心机,天津市医疗器械厂生产;BCD-551WPCX 电冰箱,合肥美菱股份有限公司生产;RODI 多功能超纯水系统,厦门锐思捷科学仪器有限公司生产;SHB-ⅢA 抽滤机,上海默威生物科技有限公司生产;0.25 mm 孔径筛子,安平县德祥瑞网业有限公司生产;试管和容量瓶,山东铭阳实验设备有限公司生产;比色皿(规格为 12.5 mm × 12.5 mm × 45 mm,光程为 10 mm,容量为 3.5 mL),日本岛津公司生产.

2 实验方法

2.1 药材提取

2.1.1 荸荠原料预处理

取荸荠切片干品,用电动粉碎机粉碎后过 0.25 mm 孔径筛子,得荸荠细粉.

2.1.2 荸荠粗多糖提取液的制备

参考文献^[8]中的水提法制备荸荠粗多糖提取液. 取荸荠细粉 50 g,加入体积分数为 80% 的乙醇,使料液比为 1:5 (体积比);室温下浸渍 32 min 后加入 250 mL 纯化水,然后在 80 °C 水浴中加热 20 min;减压抽滤,用 40 mL 纯化水清洗残渣 4 次;收集洗涤液,并将提取液和洗涤液合并后转至 500 mL 容量瓶中定容,所得溶液即为荸荠粗多糖提取液(质量浓度为 1.0 g · mL⁻¹).

2.2 荸荠粗多糖含量的测定

2.2.1 葡萄糖标准曲线的绘制

称取 5.0 mg 葡萄糖标准品置于 50 mL 容量瓶中,加适量纯化水使其溶解后定容. 使用移液枪分别移取 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mL 葡萄糖标准液,并将其置于 20 mL 试管中;在试管中加入纯化水至 2.0 mL 后再加入体积分数为 5% 的苯酚溶液 1.0 mL,摇匀后滴加浓硫酸 5.0 mL;在室温下显色 20 min 后在 490 nm 处测定吸光值,并以葡萄糖的质量浓度为横坐标、吸光度为纵坐标绘制标准曲线^[8].

2.2.2 粗多糖含量的测定

参考文献^[8]中的测定粗多糖的苯酚-硫酸法测定荸荠的粗多糖含量. 将 1.0 mL 荸荠粗多糖提取液稀释至 25 倍后,取 0.5 mL 该溶液置于 20 mL 试管中;加纯化水稀释至 2.0 mL 后再加入体积分数为 5% 的苯酚溶液 1.0 mL,摇匀后滴加浓硫酸 5.0 mL;在室温下显色 20 min 后在 490 nm 处测定吸光值,并根据得到的葡萄糖标准曲线计算样品的粗多糖含量.

2.3 DPPH 自由基的清除实验

DPPH 自由基的清除实验按照 Yoshida 等的方法^[9]进行测定. 将荸荠粗多糖提取液配制成质量浓度为 0.01、0.02、0.04、0.06、0.08、0.10 g · mL⁻¹ 的样品溶液,并分别将 2.0 mL 不同质量浓度的样品溶液加入到 2.0 mL 的 0.10 mmol · L⁻¹ DPPH 乙醇溶液中;混匀溶液后,将溶液放置于室温下避

光保存 30 min, 在 517 nm 波长处测定溶液吸光度, 记为 A . 取 2.0 mL 不同质量浓度的样品溶液, 加入 2.0 mL 无水乙醇后在波长 517 nm 处测定溶液吸光度, 记为 A_1 ; 取 2.0 mL 的 $0.10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ DPPH 乙醇溶液加入 2.0 mL 无水乙醇(混匀后避光反应 30 min)后在 517 nm 波长处测定溶液吸光度, 记为 A_2 . DPPH 自由基清除率的计算公式为 $D_{\text{DPPH}} = [1 - (A - A_1)/A_2] \times 100\%$.

2.4 面霜的配制

根据本文的预实验并参考文献[10]中的方法制定面霜的配方, 如表 1 所示.

表 1 面霜配方的配比

相别	组分	质量分数/%
A 相	卡波姆 940	1.8
	甘油	2.0~10.0
	纯化水	适量
B 相	单硬脂酸甘油酯	1.5~3.5
	十八醇	0.2
	椰子油	2.0~6.0
	硬脂酸	0.5~2.5
C 相	苯氧乙醇	0.1
D 相	荸荠粗多糖提取液	1.0~3.0

参考陈海燕等的方法^[11]配制面霜. A 相的制作方法为: 首先在质量分数为 1.8% 的卡波姆 940 中加入适量的纯化水, 使其溶解后再加入甘油; 然后在水浴锅中搅拌加热(80 ℃), 直至卡波姆完全溶解(所得即 A 相). 将 B 相恒温加热(80 ℃), 溶解后将其加入到 A 相, 再搅拌 40 min; 待 A、B 混合相自然冷却至室温后加入 C 相, 并在 45 ℃ 水浴中搅拌加热 20~25 min; 加入 D 相并搅拌, 当混合相降至室温后密封、备用.

2.5 单因素实验

2.5.1 单硬脂酸甘油酯用量的选择

在椰子油的用量为 4.0% (质量分数)、硬脂

酸的用量为 1.0% (质量分数)、甘油的用量为 8.0% (质量分数)、乳化时间为 40 min 的情况下, 选取不同质量分数的单硬脂酸甘油酯(1.5%、2.0%、2.5%、3.0%、3.5%)进行实验, 以此确定单硬脂酸甘油酯的最佳用量.

2.5.2 椰子油用量的选择

在单硬脂酸甘油酯的用量为 2.5% (质量分数)、硬脂酸的用量为 1.0% (质量分数)、甘油的用量为 8.0% (质量分数)、乳化时间为 40 min 的情况下, 选取不同质量分数的椰子油(2.0%、3.0%、4.0%、5.0%、6.0%)进行实验, 以此确定椰子油的最佳用量.

2.5.3 硬脂酸用量的选择

在椰子油的用量为 4.0% (质量分数)、单硬脂酸甘油酯的用量为 2.5% (质量分数)、甘油的用量为 8.0% (质量分数)、乳化时间为 40 min 的情况下, 选取不同质量分数的硬脂酸(0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5%)进行实验, 以此确定硬脂酸的最佳用量.

2.5.4 荸荠粗多糖提取液用量的选择

在椰子油的用量为 4.0% (质量分数)、单硬脂酸甘油酯的用量为 2.5% (质量分数)、甘油的用量为 8.0% (质量分数)、硬脂酸的用量为 1.0% (质量分数)、乳化时间为 40 min 的情况下, 选取不同质量分数的荸荠粗多糖提取液(1.0%、1.5%、2.0%、2.5%、3.0%)进行实验, 以此确定荸荠粗多糖提取液的最佳用量.

2.6 感官和理化性质的评价

2.6.1 涂抹分散性实验

取少量面霜置于手背上并轻轻涂抹, 然后参照表 2 对面霜的质地进行评分.

2.6.2 耐寒耐热性实验

取等质量的面霜置于密封容器中, 并分别在

表 2 面霜的评价指标

指标	1	2	3	4	5
涂抹分散性 (10 分)	易涂抹, 涂抹均匀, 无颗粒感 (9~10 分)	易涂抹, 涂抹均匀, 无明显颗粒感 (7~8 分)	较难涂抹, 涂抹较均匀, 有颗粒感 (5~6 分)	较难涂抹, 涂抹不均匀, 有颗粒感 (3~4 分)	难涂抹, 涂抹不均匀, 有明显颗粒感 (1~2 分)
耐寒耐热性 (10 分)	无分层, 无析出, 无异味 (9~10 分)	无分层, 无析出, 无明显异味 (7~8 分)	无分层, 有小颗粒析出, 无明显异味 (5~6 分)	无明显分层, 有小颗粒析出, 无明显异味 (3~4 分)	有分层, 有大颗粒析出, 有明显酸味 (1~2 分)

-10℃的冰箱和 40℃的恒温箱中放置 24 h. 温度恢复至室温后,观察面霜是否出现分层、颗粒、异味等现象,并参照表 2 对面霜进行评分.

2.7 面霜的稳定性实验

2.7.1 面霜乳化的稳定性实验

参考韩雪等的实验方法^[12]测定面霜的乳化稳定性.取 0.1 g 面霜加入 50 mL 纯化水,50℃下搅拌均匀后得面霜稀释液.取 1.0 mL 面霜稀释液置于离心管中,离心 3 min (3 000 r·min⁻¹)后观察离心管内的稀释液有无浑浊现象.

2.7.2 面霜的长期稳定性实验

参考张立秋等的方法^[13]测定面霜的长期稳定性.取等质量的面霜两份,一份置于冰箱(-10℃)内保存 3 个月,一份置于恒温箱(25℃)内保存 3 个月.3 个月后观察面霜是否有分层、颗粒、异味等现象.

2.8 斑贴测试

按照《化妆品安全技术规范(2022 年版)》^[14]中的相关规范对人体进行皮肤刺激性测试.受试者共计 60 人(无皮肤病源史,男女比例为 1:1),年龄为 18~25 岁.将斑贴器贴在受试者的前臂内侧,24 h 后观察皮肤状态,并按照表 3 进行评定^[15].

表 3 皮肤斑贴试验的评价标准

反应程度	评分等级	皮肤反应
—	0	阴性反应
±	1	假阳性反应:可疑红斑、皮肤湿润
+	2	弱阳性反应:红斑、丘疹、水肿
++	3	强阳性反应:红斑、丘疹、水肿、疱疹
+++	4	极强阳性反应:重度红斑、丘疹、水肿、疱疹、反应范围超出受试区

注:—代表阴性;±代表假阳性;+代表弱阳性;++代表强阳性;+++代表极强阳性.

2.9 面霜样品的抗氧化测试

面霜的抗氧化测试参考文献^[16-17]中的方法,并对其稍加改良.试验共设置 4 组.测试方法为:取 4 块新切割的苹果(每块为 1 cm×1 cm×1 cm),在其中 3 块的表面分别涂抹 0.1 g 样品面霜、0.1 g 市售面霜和 0.1 g 未添加荸荠粗多糖提取液的面霜基质,并将剩余的 1 块用于空白对照实验.10 h(室温条件下)后观察各块苹果切割表面的颜色变化.实验平行 3 次.

3 结果与分析

3.1 最佳荸荠粗多糖提取液添加量的选取

由图 1 可以看出:在 0.01~0.06 g·mL⁻¹ 范围内,荸荠粗多糖提取液对 DPPH 自由基的清除能力随浓度的升高而增加(质量浓度为 0.06 g·mL⁻¹ 时,荸荠粗多糖提取液对 DPPH 自由基的清除率为 85.70%).当荸荠粗多糖提取液的质量浓度大于 0.06 g·mL⁻¹ 时,荸荠粗多糖提取液对 DPPH 自由基的清除能力趋于平稳,说明此时荸荠粗多糖提取液对自由基的清除率处于饱和状态.基于上述结果和制备成本因素,本文在面霜基质中添加质量浓度为 0.06 g·mL⁻¹ 的荸荠粗多糖提取液.

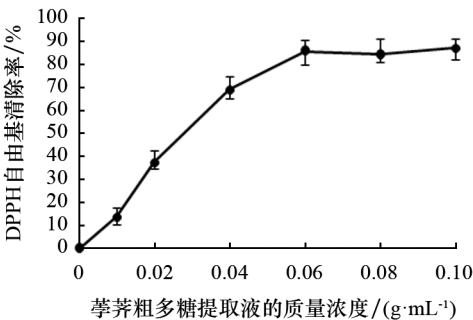


图 1 荸荠粗多糖提取液对 DPPH 自由基的清除率

3.2 荸荠粗多糖含量的测定结果

图 2 为葡萄糖的标准曲线.以葡萄糖质量浓度为横坐标、吸光度值 A 为纵坐标绘制标准曲线后得到的线性回归方程为: $y = 0.0775x - 0.0005$, $R^2 = 0.9992$.依据该回归方程计算得到的粗多糖质量浓度为 $0.642 \times 10^{-3} \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,含量为 16.1%(质量分数).该结果与张方艳等^[8]的测试结果(17.9%)相近.

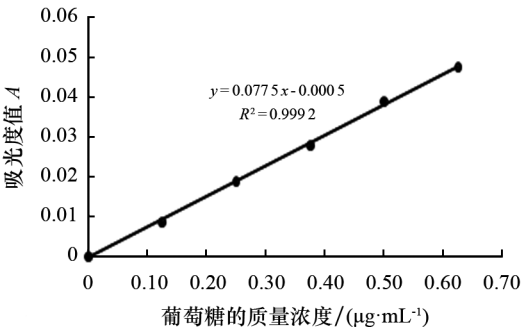


图 2 葡萄糖的标准曲线

3.3 单因素实验的结果

3.3.1 单硬脂酸甘油酯的用量筛选

由图 3 可以看出,当单硬脂酸甘油酯的质量分数为 2.5% 时,面霜的综合涂抹效果和耐寒耐热的的评价分数最高,因此本文将单硬脂酸甘油酯的用量定为 2.5%。

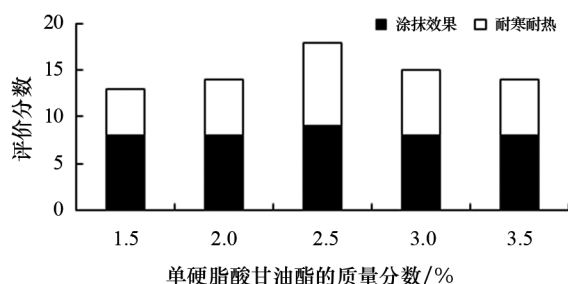


图 3 加入不同质量分数的单硬脂酸甘油酯时得到的评价分数

3.3.2 椰子油的用量筛选

由图 4 可以看出,当椰子油的质量分数为 4.0% 时,面霜的综合涂抹效果和耐寒耐热的的评价分数最高,因此本文将椰子油的用量定为 4.0%。

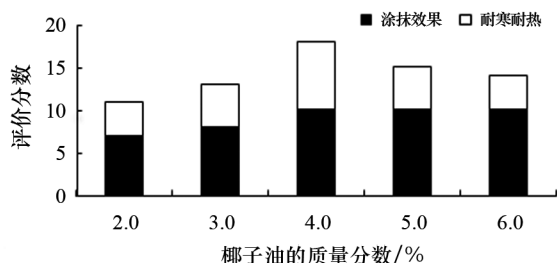


图 4 加入不同质量分数的椰子油时得到的评价分数

3.3.3 硬脂酸的用量筛选

由图 5 可以看出,当硬脂酸的质量分数为 1.0% 时,面霜的综合涂抹效果和耐寒耐热的的评价分数最高,因此本文将硬脂酸的用量定为 1.0%。

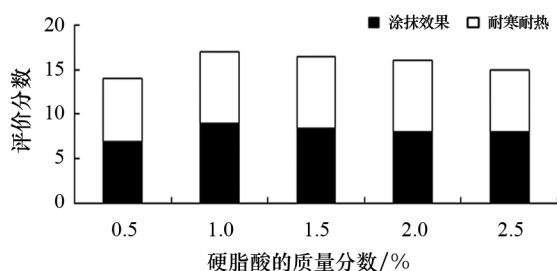


图 5 加入不同质量分数的硬脂酸时得到的评价分数

3.3.4 荸荠粗多糖提取液的用量筛选

由图 6 可以看出,当荸荠粗多糖提取液的质量分数为 3.0% 时,面霜的综合涂抹效果和耐寒耐热的的评价分数最高,因此本文将荸荠粗多糖提取液的用量定为 3.0%。

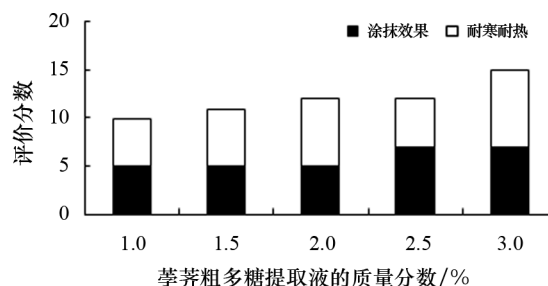


图 6 加入不同质量分数的荸荠粗多糖提取液时得到的评价分数

3.4 面霜的稳定性试验结果

1) 乳化稳定性. 由图 7(a) 可以看出,面霜稀释液离心后仍保持澄清状态(管中未出现白色浑浊物质),同时未有分层出现,由此说明该面霜具有良好的乳化稳定性。

2) 长期稳定性. 由图 7(b) 和 (c) 可以看出,面霜在 25 °C 恒温箱和 -10 °C 冰箱中保存 3 个月后,均未出现分层、颗粒、异味等现象,由此说明该面霜具有长期稳定性。

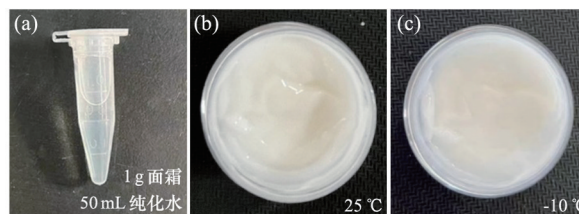


图 7 面霜乳化稳定性和面霜长期稳定性的试验结果

3.5 斑贴试验结果

由表 4 可以看出,60 名受试者的斑贴区域均未出现红斑、丘疹、水肿等阳性反应,即斑贴实验未出现不良刺激性反应,由此说明该面霜对人体无刺激性和致敏性,安全性良好。

表 4 斑贴试验结果

组别	受试人数	观察时间/h	阴性人数	假阳性人数	阳性人数
空白对照	60	24	60	0	0
样品面霜	60	24	60	0	0
市售面霜	60	24	60	0	0

3.6 面霜成品的抗氧化试验结果

由图8可以看出:在实验前,空白对照的苹果切面表面水分充足,颜色为浅绿.实验10 h后,空白对照组的苹果切面其水分流失明显,颜色呈黄色,同时伴有大量的棕色丝状体;涂抹市售面霜的苹果切面其水分流失低于空白对照组,颜色虽呈深黄色,但无明显的棕色丝状体;涂抹面霜基质的苹果切面其水分流失低于空白对照组,但颜色浅于市售面霜组的颜色,同时也无明显的棕色丝状体;涂抹样品面霜的苹果切面其水分流失、发黄程度以及棕色丝状体数量明显低于上述3个试验组.以上结果说明,本文制备的荸荠面霜具有良好的抗氧化活性.

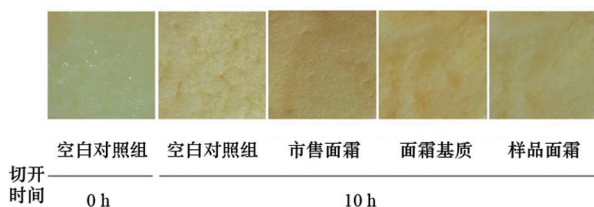


图8 面霜抗氧化的试验结果

4 结论

本文利用水提法制备了荸荠粗多糖提取液,得率为16.1%(质量分数).利用荸荠粗多糖提取液制备的抗氧化护肤面霜,其理化指标符合中华人民共和国轻工行业标准QB/T 1857—2013《润肤膏霜》,并具有良好的抗氧化功效.该面霜的最佳配方(质量分数)为:2.5%单硬脂酸甘油酯、0.2%十八醇、4.0%椰子油、1.0%硬脂酸、0.1%苯氧乙醇、1.8%卡波姆940、8.0%甘油、3.0%荸荠粗多糖提取液.本文研究结果可为荸荠在护肤类化妆品中的开发和利用提供良好参考.

参考文献:

[1] 伍淑婕,黄双全,聂辉,等.荸荠皮活性成分提取分离研究进展[J].食品科技,2018,43(10):289-293.
[2] 李悦悦,刘洋洋,彭川宁,等.荸荠的保健功能及产品研究进展[J].粮食与食品工业,2022,29(6):41-44.

[3] GU Y P, YANG X M, SHANG C J, et al. Inhibition and interactions of α -amylase by daucosterol from the peel of Chinese water chestnut (*Eleocharis dulcis*) [J]. Food & Function, 2021, 12(19): 8411-8424.
[4] YUAN Y, LI J, HE S, et al. Composition of phenolic and antioxidant activity of water chestnut peel during digestion in vitro as affected by blanching time [J]. International Journal of Food Properties, 2019, 22(1): 71-83.
[5] 刘悠云,仲辉.皮肤时序性衰老与光老化[J].中国化妆品,2022,444(12):82-85.
[6] 曹燕,柯长洪.多糖在化妆品新原料应用中的构效关系及其质量标准检测[J].日用化学品科学,2021,44(1):45-49.
[7] 刘诚.护肤伪概念!天然化妆品陷阱要警惕[J].中国化妆品,2022,440(7):80-81.
[8] 张方艳,张雯雯,朱桂兰,等.水提法提取荸荠多糖及其体外抗氧化活性研究[J].食品与发酵工业,2022,48(1):104-110.
[9] YOSHIDA T, MORI K, HATANNO T, et al. Studies on inhibition mechanism of autoxidation by tannins and flavonoids radical-scavenging effects of tannins and related polyphenols on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical [J]. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 1989, 37(7): 1919-1921.
[10] 陈腊梅,李静.润肤霜的制备工艺及其性能研究[J].中小企业管理与科技,2020(1):162-163.
[11] 陈海燕,孙志双,刘美含,等.林蛙皮银耳保湿霜的制备[J].延边大学学报(自然科学版),2019,45(1):84-89.
[12] 韩雪,杨菁,薛延毅.乳化剂对脱模油乳化稳定性的影响[J].中国食品添加剂,2013,116(1):145-148.
[13] 张立秋,朴鑫森,韩美子,等.白菜蕨纳米乳的制备及功效评价[J].延边大学学报(自然科学版),2021,47(3):268.
[14] 中华人民共和国食品药品监督管理总局.化妆品安全技术规范(2022年版)[S].北京:中国标准出版社,2022:668-671.
[15] 潘筱婕,申琳靖,张立秋,等.一种复合型抗光老化面霜的制备[J].延边大学学报(自然科学版),2022,48(1):76-81.
[16] 张海生,刘霞,张娇娇,等.复合涂膜保鲜剂对鲜切苹果保鲜品质的影响[J].保鲜与加工,2018,18(5):21-25.
[17] 李家琪,张东红,韩爱云.鲜切苹果保鲜技术研究进展[J].保鲜与加工,2023,23(3):75-80.