

文章编号: 1004-4353 (2024) 02-0087-08

小米草乳液抗氧化保湿功效的评价

朴敏艳, 龚洹会, 周莹, 侯冰冰, 陈煜, 施溯筠

(延边大学 药学院, 吉林 延吉 133002)

摘要: 以小米草为主料制备了一款抗氧化保湿乳液. 以硬脂酸、卡波姆-940 和丙三醇 3 个因素为自变量, 以乳液的综合评分为响应值对乳液的基质配方进行了响应面优化. 优化结果显示, 小米草乳液基质的最佳配方为: 5.00% 硬脂酸、0.15% 卡波姆和 4.00% 丙三醇 (分数均为质量分数). 对制备的样品进行测定显示: 该乳液具有良好的保湿性、抗氧化性和安全性, 并且乳液的耐寒、耐热性以及 pH 值等理化指标均符合 GB/T 29665—2013《护肤乳液》中的相关标准. 因此, 该乳液可为小米草在中药化妆品中的应用提供参考.

关键词: 小米草; 1, 1-二苯基-2-三硝基苯肼; 乳液; 保湿功效; 抗氧化

中图分类号: TQ658

文献标志码: A

Evaluation of antioxidant and moisturizing effect of *Euphrasia pectinata* Tenore emulsion

PIAO Minyan, GONG Huanhui, ZHOU Ying, HOU Bingbing, CHEN Yu, SHI Suyun

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

Abstract: A emulsion with antioxidant and moisturizing properties was prepared using *Euphrasia pectinata* Tenore as the main ingredient. Response surface optimization of the base formulation of the emulsion using three factors, stearic acid, carbomer-940, and glycerol, as independent variables, and the overall score of the emulsion as the response value showed that the optimal formulation of the *Euphrasia pectinata* Tenore emulsion base was 5.00% stearic acid, 0.15% carbomer, and 4.00% glycerol (Fraction is mass fraction). Measurement of the prepared emulsion showed the emulsion exhibit good moisturizing, antioxidant and safety, and the physicochemical indexes of the emulsion, such as cold resistance, heat resistance, pH value, etc., complies with Chinese national standard (GB/T 29665—2013, Skin Care Emulsion). Therefore, the emulsion can provide a reference for the application of *Euphrasia pectinata* Tenore in traditional Chinese medicine cosmetics.

Key words: *Euphrasia pectinata* Tenore; 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl; emulsion; moisturizing effect; antioxidant

0 引言

小米草 (*Euphrasia pectinata* Tenore) 为列当科小米草属植物, 具有清热解毒、利尿等功效^[1]. 研究显示, 小米草中含有如环烯醚萜类、苯乙醇苷类、黄酮类、酚酸类等^[2-4] 活性化合物. 其中黄酮类是一种天然的有机化合物, 具有抗氧化、抑菌、消炎、保肝护肝、抗癌等作用^[5]. 王刚等^[6] 研究显示, 小米草中的黄酮类化合

投稿日期: 2023-5-29

第一作者: 朴敏艳 (1999—), 女, 硕士研究生, 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.

物具有良好的清除体内自由基的功效. 近年来, 中药乳液因具有绿色、安全等优点而受到人们的青睐. 目前为止, 未发现有将小米草制备成中药乳液的相关报道. 为此, 本文通过提取小米草提取液制备了小米草中药乳液, 并对其理化性质、抗氧化性、保湿性等进行了评价, 以为小米草的开发和利用提供参考.

1 实验仪器与材料

1.1 实验试剂与药材

小米草, 购于北京同仁堂延边药店, 并经延边大学药学院朴光春教授鉴定为列当科小米草属植物小米草的干燥全草; 丙三醇、三乙胺醇、单硬脂酸甘油酯、琼脂酸钠、二甲基硅油、1, 2- 丙二醇、吐温 -80、月桂氮草酮 (以上均为医药级), 山东优索化工科技有限公司生产; 硬脂酸 (医药级), 天津市科密欧化学试剂有限公司生产; 卡波姆 -940 (医药级), 青岛高科技工业园海博生物技术有限公司生产; 1, 1- 二苯基 -2- 三硝基苯肼 (DPPH) (分析纯), 北京华越洋生物科技有限公司生产; 无水乙醇 (分析纯), 天津市科密欧化学试剂有限公司生产; 亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠 (以上均为分析纯), 北京化工厂生产; 芦丁标准品 (质量分数为 98%, 批号为 A05GB144263), 上海源叶生物科技有限公司生产.

1.2 实验仪器

FA-2004 电子分析天平, 上海良平仪器仪表有限公司生产; HH-6 数显恒温水浴锅, 金坛市科析仪器有限公司生产; pH SJ-4F 雷磁型 pH 计, 上海仪电科学仪器股份有限公司生产; DHG-9145A 电热鼓风干燥箱, 常州诺基仪器有限公司生产; Z-36HK 高速台式离心机, 天津市医疗器械厂生产; UV-2201 紫外—可见分光光度计, Shimadzu 公司生产; BCD-551WPCX 电冰箱, 合肥美菱股份有限公司生产; ZF-SK01 本草精华萃取仪, 颖上卓越电子商务有限公司生产; JB-4 定时双向数显恒温磁力搅拌器, 常州恒隆仪器有限公司生产; CM825 皮肤水分测试探头, 德国 CK 公司生产.

2 实验方法

2.1 小米草提取液的制备

取干燥小米草 20 g, 将其切成段后加入 1 : 5 料液比的纯化水. 使用 ZF-SK01 本草精华萃取仪提取 30 min, 重复提取 3 次. 得到 17 mg/mL 的小米草提取液, 冷冻备用^[7].

2.2 乳液基质的筛选

根据文献 [8] 的基质配方, 并结合本文的预实验, 得到如表 1 所示的乳液基质配方.

表 1 乳液基质的配方

相别	配方	质量分数 / %
A 相	单硬脂酸甘油酯	1.5
	硬脂酸	3.0~7.0
	琼脂酸钠	4.0
	二甲基硅油	3.0
	卡波姆	0.1~0.3

续表 1

相别	配方	质量分数 / %
B 相	丙三醇	3.0~5.0
	1, 2- 丙二醇	3.0
	吐温 -80	2.0
	三乙醇胺	0.3
	纯化水	加至 100.0
	月桂氮草酮	1.5
C 相	小米草提取液	10.0

由于硬脂酸（A）、卡波姆 -940（B）、丙三醇（C）对基质的影响较为明显，因此本文将这 3 个因素作为自变量用以测定其对基质的影响程度。根据响应面 Box-Benhknen 模型的中心组合设计原理，本文利用 Design Expert 12 分析软件得到了三因素三水平的随机实验方案（共 17 个方案）。各因素水平见表 2。

表 2 实验因素和水平

水平	A（硬脂酸） / %	B（卡波姆 -940） / %	C（丙三醇） / %
-1	3	0.1	3
0	5	0.2	4
1	7	0.3	5

2.3 提取液用量的筛选

参考文献 [9] 中清除 DPPH 自由基的方法筛选出小米草提取液的最佳抗氧化浓度。

2.4 小米草总黄酮含量的测定

称取芦丁标准品 2.5 mg 置于 25 mL 定量瓶中，加入无水乙醇溶液溶解后摇匀，由此即得芦丁标准溶液（0.10 mg/mL）。

将小米草粉碎后过 0.25 mm 筛网，取 20.0 mg 粉末置于 25 mL 定量瓶中，再加入无水乙醇将其溶解，由此即得小米草供试品溶液（0.80 mg/mL）。

采用亚硝酸钠—硝酸铝—氢氧化钠法测定总黄酮含量^[10]。分别取芦丁标准溶液 0.2、0.6、1.0、1.4、1.8 mL 加入到 10.0 mL 的定量瓶中；再分别加入 0.3 mL 亚硝酸钠（体积分数为 5%）、0.3 mL 硝酸铝溶液（体积分数为 10%），4.0 mL 氢氧化钠（体积分数为 4%），用无水乙醇定容至刻度后静置 15 min，显色，最后在 510 nm 波长处测量芦丁溶液的吸光度，并绘制芦丁溶液的标准曲线。

取小米草供试品溶液置于比色皿中，在 510 nm 处显色测量吸光度。利用公式 $x = C \times V/m \times 100\%$ （ x 为小米草中总黄酮的质量浓度， C 为样品黄酮浓度， V 为测量体积， m 为小米草粉末体积）计算小米草中总黄酮的含量。

2.5 角质层水分测定

随机选取 10 名无皮肤病的受试者（年龄为 19~30 岁）进行角质层水分测定。测定方法为：以受试者左右前臂内侧 4 cm × 4 cm 的对称区域为实验区域，并进行编号。用小米草乳液样品涂抹的左前臂内侧区域作为样品组，以对称的右前臂内侧区域作为对照组。涂抹乳液后，使用 CM825 皮肤水分测试探头测定左右前臂对称区域在 0、4、8、12、16 h 后的角质层水分含量变化；平行测定 3 次，结果取平均值^[11]。

2.6 人体斑贴试验

参考国家标准 GB/T 17149.1—1997《化妆品皮肤病诊断标准及处理原则 总则》^[12] 斑贴实验方法进行人体斑贴实验. 实验选取 15 名符合受试条件的受试者, 并将其分为空白组、基质组和小米草乳液组. 取适量样品涂抹于斑试胶带上后, 将其敷于受试者的前臂内侧 (左侧为对照区, 右侧为实验区), 然后在 24 h 和 48 h 后分别观察皮肤反应现象. 表 3 为皮肤反应分级标准.

表 3 皮肤反应分级标准

反应程度	评级	皮肤反应
—	0	阴性反应
±	1	微弱红斑、皮肤干燥、褶皱
+	2	红斑、水肿、丘疹、风团、脱屑、裂隙
++	3	明显红斑、水肿、水疱
+++	4	重度红斑、水肿、大疱、糜烂、色素沉着或色素减退、痤疮样改变

2.7 乳液感官及理化性质评价

2.7.1 乳液的感官评价

根据 GB/T 29665—2013《护肤乳液》^[13] 的评价标准对乳液的色泽、气味以及涂抹效果进行感官评价.

2.7.2 乳液耐寒、耐热实验

取 2 份 10.0 g 小米草乳液样品, 一份置于 40 ℃ 恒温烘箱中, 另一份置于 -10 ℃ 冰箱. 保存 24 h 后取出, 待两份样品都恢复至室温后, 观察其有无油水分层现象.

2.7.3 pH 值测定

取小米草乳液样品 1.0 g 置于烧杯中, 加入料液比 1 : 10 的纯化水; 在水浴锅中加热至 40 ℃, 搅拌均匀后取出; 待样品冷却至室温时使用 pH 计测定其 pH 值.

2.8 稳定性实验

2.8.1 离心稳定性实验

取 3 批样品 (各 5.0 mL) 装入离心试管后离心 30 min (2 000 r/min)^[14], 离心后观察乳液是否出现油、水分层现象.

2.8.2 长期稳定性实验

将 3 份不同批次的样品 (每份均为 30.0 g) 包装后置于阴暗干燥处避光保存 (温度为 (25℃ ± 5℃), 相对湿度为 (50% ± 10%)), 并在保存后的第 30 d、第 60 d、第 90 d 观察其性状有无明显变化^[15].

3 结果与分析

3.1 乳液基质的筛选

为确定小米草乳液的最优配方, 以 A (硬脂酸)、B (卡波姆 -940)、C (丙三醇) 3 个因素为自变量, 以小米草乳液的综合评分为响应值进行优化, 表 4 为响应面实验设计及结果. 利用 Design-Expert 12 软件对表 4 中数据结果进行分析, 得到 A、B、C 与综合评分 (Y) 之间的回归方程: $Y=94.22-4.60A-0.20B+0.40C+1.35AB+1.00AC-1.20BC-2.54A^2-6.64B^2-6.33C^2$. 对回归方程进行方差分析所得的结果见表 5.

表 4 响应面实验的结果				
实验序号	A	B	C	综合评分
1	0	0	0	93.6
2	1	0	1	82.2
3	-1	-1	0	91.5
4	-1	1	0	88.0
5	0	1	-1	82.0
6	0	-1	-1	79.6
7	0	0	0	94.1
8	-1	0	-1	90.5
9	0	0	0	93.2
10	0	-1	1	82.9
11	1	1	0	81.3
12	0	0	0	94.6
13	-1	0	1	89.2
14	1	-1	0	79.4
15	0	1	1	80.5
16	1	0	-1	79.5
17	0	0	0	95.6

表 5 响应面回归模型及方差分析						
方差来源	平方和	自由度	均方	<i>F</i> 值	<i>p</i> 值	显著性
模型	606.82	9	67.42	120.77	<0.0001	**
A	169.28	1	169.28	303.21	<0.0001	**
B	0.32	1	0.32	0.57	0.4737	
C	1.28	1	1.28	2.29	0.1738	
AB	7.29	1	7.29	13.06	0.0086	
AC	4.00	1	4.00	7.16	0.0317	
BC	5.76	1	5.76	10.32	0.0148	
A ²	27.06	1	27.06	48.47	0.0002	
B ²	185.36	1	185.36	332.02	<0.0001	**
C ²	168.98	1	168.98	302.67	<0.0001	**
残差	3.91	7	0.56			
失拟项	0.42	3	0.14	0.16	0.9176	不显著
净误差	3.49	4	0.87			
总离差	610.73	16				
<i>R</i> ² =0.980 1 <i>R</i> ² Adj=0.985 4						

注：* 表示差异显著，即 $p<0.05$ ；** 表示差异极显著，即 $p<0.001$ ；A 为硬脂酸，B 为卡波姆-940，C 为丙三醇。

由表 5 可知：该模型 $p<0.0001$ ，这说明该回归模型有意义，可用于实验结果分析。失拟项 $p=0.9176$ ($p>0.05$)，说明该模型模拟所得的数据与试验值的差异较小，可以利用此回归方程对乳液的综合得分进

行分析并筛选出最优配方.模型的总决定系数 $R^2=0.9801$, 调整决定系数 $R^2Adj=0.9854$, 说明该模型中的 3 个因素及其二次项能解释 98.54% 的响应值变化.由表 5 还可知, 此模型中各因素对小米草乳液综合评分影响程度大小的次序为硬脂酸 (A) > 丙三醇 (C) > 卡波姆 -940 (B), 其中 AB、AC、BC、 A^2 、 B^2 、 C^2 等项对小米草乳液综合评分的影响显著 ($p < 0.05$). 以上表明, 该模型有较高的精密度, 可用于对实验结果进行预测和分析.

图 1 为各因素之间交互作用的响应面分析图和等高线分析图.由图 1 可得: AB 的等高线形状为椭圆形, 其响应面图最为陡, 说明二者之间交互作用最为显著, 即硬脂酸添加量与卡波姆 -940 添加量对小米草乳液的综合评分影响最大; AC、BC 的等高线形状接近圆形和椭圆形, 响应面图较平缓, 说明各因素之间作用较为显著, 该结果与表 5 方差分析结果一致.根据响应面分析得到的小米草基质最优配方为: 5.00% 硬脂酸、0.15% 卡波姆和 4.00% 丙三醇, 综合评分值为 95.6.

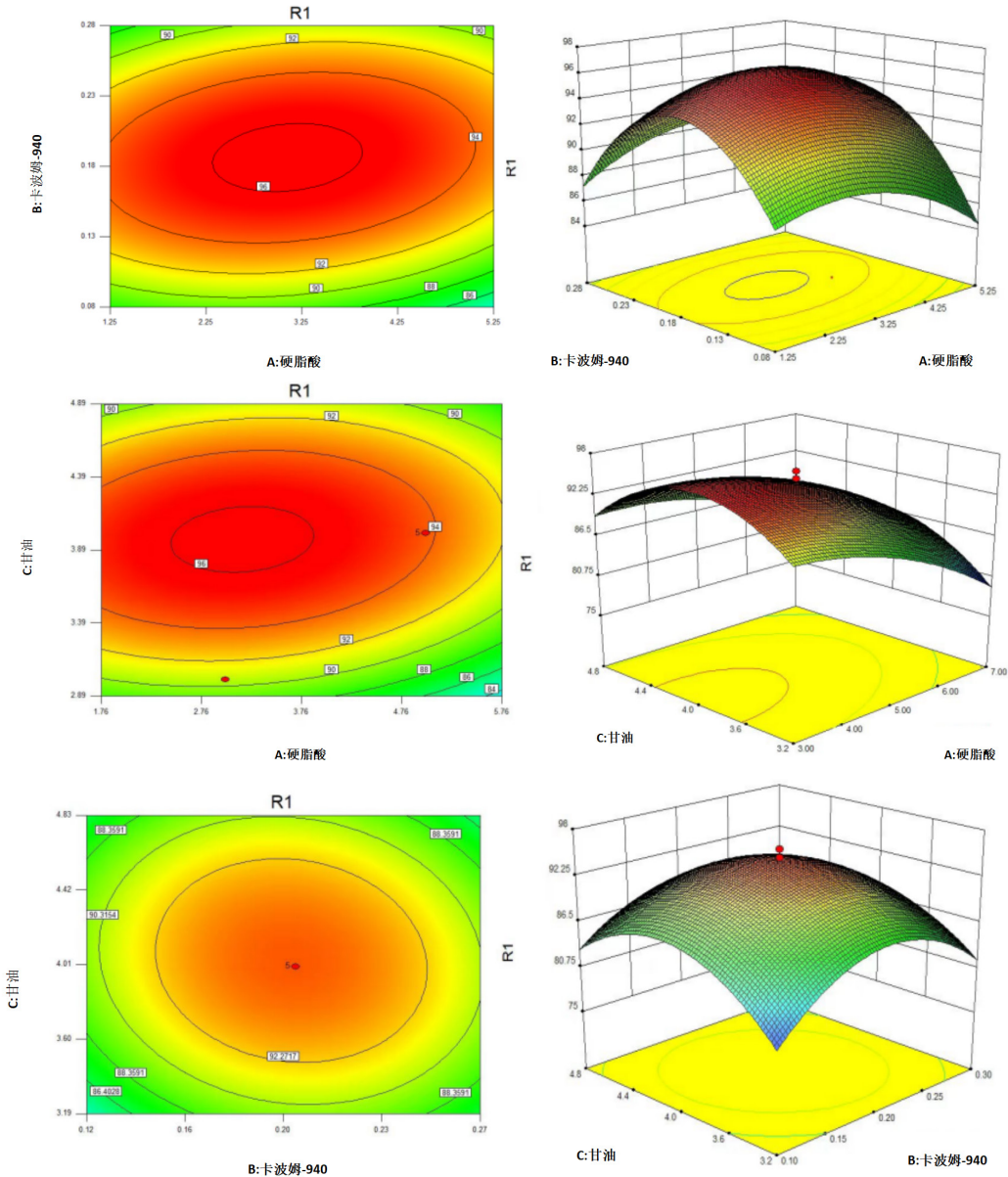


图 1 两两因素交互作用的响应面图和等高线图

3.2 提取液浓度的筛选结果

图 2 为不同质量浓度的小米草提取液对 DPPH 自由基的清除率.由图 2 可以看出, 当小米草提取液的

质量浓度为 2.80 mg/mL 时，其对 DPPH 自由基的清除率（87.9%）基本达到最高值，抗氧化活性最强。考虑到成本因素，因此本文选取质量浓度为 2.80 mg/mL 的小米草提取液制备小米草乳液。

3.3 小米草总黄酮含量

图 3 为芦丁标准曲线图。取 0.80 mg/mL 的小米草供试品，根据 2.4 的实验方法测量其在 510nm 处的吸光度。由此计算得出的小米草总黄酮含量为 11.22 mg/mL。该结果表明，小米草的黄酮含量与其抗氧化能力存在着显著的剂量—效应关系。

3.4 保湿性实验结果

选取未涂抹乳液的右前臂内侧为对照组，涂抹本实验制备的小米草中药乳液的左前臂内侧为样品组，进行保湿性实验的结果如表 6 所示。由表 6 可以看出：样品组含水量始终高于对照组，由此说明该乳液具有良好的保湿效果。

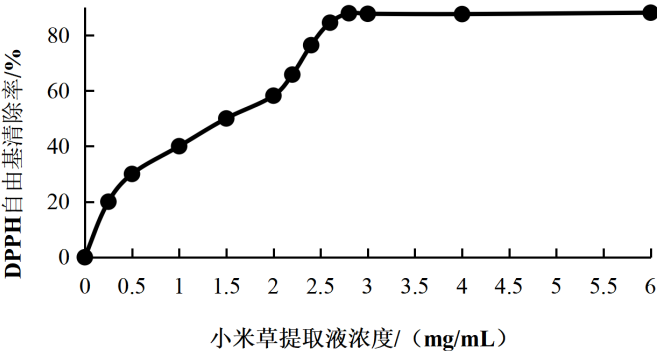


图 2 不同质量浓度的小米草提取液对 DPPH 自由基的清除率

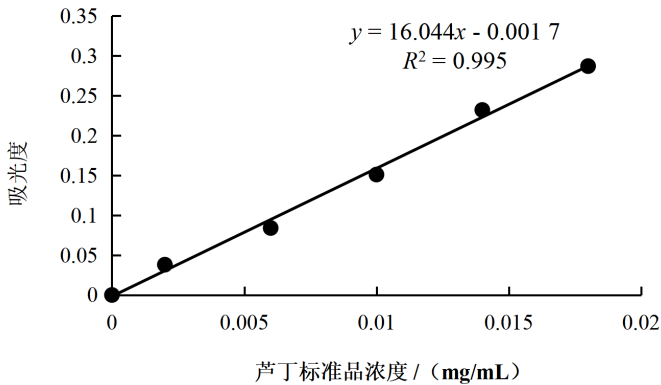


图 3 芦丁标准曲线

表 6 皮肤角质层含水量变化

涂抹时间 /h	对照组的角质层水分含量 / %	样品组的角质层水分含量 / %
0	22.03 ± 0.24	25.98 ± 1.06
4	21.01 ± 1.03	24.76 ± 0.97 ^{##}
8	19.97 ± 0.99	23.87 ± 1.88 [#]
12	18.99 ± 1.16	23.12 ± 0.91 [#]
16	18.89 ± 1.13	22.46 ± 1.76

注：# 表示 0.01 < *p* < 0.05 具有显著性差异；## 表示 *p* < 0.01 具有极显著性差异。

3.5 人体斑贴试验结果

表 7 为人体斑贴实验结果。由表 7 可以看出，15 名受试者均无阳性反应，由此表明该小米草乳液具有较好的安全性。

表 7 人体斑贴实验结果

反应程度	空白组		基质组		小米草乳液组	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
—	15	15	15	15	15	15
±	0	0	0	0	0	0
+	0	0	0	0	0	0
++	0	0	0	0	0	0
+++	0	0	0	0	0	0

3.6 感官评价和理化性能结果

制备的乳液为奶白色的液态乳,无明显气味,易涂抹和吸收,无黏腻感,所评价的指标均符合 GB/T 29665—2013《护肤乳液》中的相关规定。

耐寒、耐热性实验显示,乳液恢复至室温后无油水分层现象,且颜色、气味、形状均无差异。说明所制备的乳液具有较好的耐寒、耐热性。经测定,乳液的 pH 值为 6.45,符合 GB/T 29665—2013《护肤乳液》中的指标(pH 值范围为 4.00~8.50)。

3.7 稳定性实验结果

离心稳定性实验 离心实验后,乳液未出现油、水分层现象,由此表明该乳液具有良好的理化稳定性。长期稳定性实验 3 批乳液样品放置 30、60、90 d 后,均未出现明显变化,由此表明乳液具有长期的稳定性。

4 结论

对本文制备的小米草乳液进行实验表明,该乳液样品均匀细腻、稠度适中、无颗粒感、无刺激性、无不良气味,符合 GB/T 29665—2013《护肤乳液》中的相关指标,且该乳液具有较好的抗氧化性能和保湿性能。因此,该乳液可为小米草在中药化妆品中的应用提供参考。

参考文献:

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草: 第 20 卷 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 336-337.
- [2] D'AMBROSIO M, CIOCARLAN A, ARICU A. Minor acetylated metabolites from *Euphrasia rostkoviana*[J]. Natural Product Research, 2018, 34(2): 290-295.
- [3] PETRICHENKO V, SUKHININA T, BABIYAN L, et al. Chemical composition and antioxidant properties of biologically active compounds from *Euphrasia brevipila*[J]. Pharmaceutical Chemistry Journal, 2006, 40(6): 312-316.
- [4] SINGH H, DU J, SINGH P, et al. Ecofriendly synthesis of silver and gold nanoparticles by *Euphrasia officinalis* leaf extract and its biomedical applications[J]. Artificial Cells Nanomedicine and Biotechnology, 2018, 46(6): 1163-1170.
- [5] 杨金凤, 陈伟玲, 吕锦萍. 红苋菜总黄酮超声波辅助提取工艺优化及其抗氧化、抑菌活性 [J]. 食品研究与开发, 2023, 44(14): 175-179.
- [6] 王刚, 周生芸. 甘肃玄参科药用植物资源研究 [J]. 中兽医医药杂志, 2008, 27(6): 71-73.
- [7] 倪友洪. 含小米草的药物制品及其制备方法: CN200610020935.1[P]. CN1872211, 2006-04-29.
- [8] 张立秋, 黎西雅, 韩美子, 等. 西洋参-枸杞子抗氧化护肤乳液的制备 [J]. 延边大学学报(自然科学版), 2022, 48(2): 164-168.
- [9] 韩美子, 姜小天, 夏婷, 等. 白术白芍祛斑霜的制备 [J]. 延边大学学报(自然科学版), 2021, 47(2): 170-174.
- [10] 李铁纯, 侯冬岩, 回瑞华, 等. 芹菜不同部位黄酮含量与抗氧化性量效关系的分析 [J]. 鞍山师范学院学报, 2017, 19(6): 47-50.
- [11] ŠIMEK M. How the molecular weight affects the in vivo fate of exogenous hyaluronan delivered intravenously: A stable-isotope labelling strategy[J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 10(4): 263-265.
- [12] 中华人民共和国卫生部. 化妆品皮肤病诊断标准及处理原则总则: GB/T 17149. 1—1997[S]. 北京: 中国标准出版社, 1997: 1-2.
- [13] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB/T 29665—2013 护肤乳液 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2013.
- [14] 梁红冬. 苹果皮提取物润肤乳液的配方设计 [J]. 精细与专用化学品, 2020, 28(8): 35-37.
- [15] 杨智超, 李强, 高明. 复方儿茶止泻霜剂稳定性研究 [J]. 中华中医药学刊, 2013, 31(8): 1613-1615.