

多功能苦丁茶面膜的开发及其性能研究

延永¹, 李玉萌², 张亦琳¹, 李倩¹

(1. 商洛学院 生物医药与食品工程学院, 陕西 商洛 726000;

2. 商洛学院 健康管理学院, 陕西 商洛 726000)

摘要:以苦丁茶中黄酮类化合物为有效成分, 开发具有抗氧化、保湿活性的多功能面膜。采用乙醇回流法提取苦丁茶中黄酮类化合物, 以甘油、羧甲基纤维素钠、丙二醇为影响因素, 用保湿率做指标, 根据正交实验优化最佳苦丁茶面膜配方, 得出苦丁茶面膜的最佳配方为: 50 g 面膜液中含有甘油 7.5 g, 羧甲基纤维素钠 0.5 g, 丙二醇 0.5 g, 汉生胶 0.05 g, 尼泊金甲酯 0.01 g, 苦丁茶总黄酮提取物水溶液 5.0 mL (总黄酮含量 13.32 mg · mL⁻¹), 香精 2~3 滴, 其余成分为去离子水。该面膜保湿率为 89 ± 1%, 对 DPPH 自由基的清除率为 74.8%, 对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌具有抑制作用。该苦丁茶面膜的配方科学, 制备工艺简单, 保湿性良好, 抗氧化作用较强, 外观、pH 值、稳定性等均合格。

关键词:苦丁茶; 黄酮类化合物; 面膜

面膜作为清洁、保养和营养面部肌肤的化妆品, 得到越来越多人的青睐^[1]。美容面膜在刚兴起的时候, 人们一般采用人工合成的化学制品作为主要添加成份, 但随着科学的发展, 人们逐步认识到长期使用化学药品所存在的安全问题^[2]。与化学药品类面膜相比, 天然药物面膜不仅具有自然无毒、副作用小和安全性高等特点, 而且还具备众多生理方面的功效^[3]。苦丁茶(*Ilex kudingcha* C. J. Tseng)是冬青科植物大叶冬青的叶, 主要分布在华南地区和西南地区等地, 在陕西陕南地区也有广泛的种植, 苦丁茶一直是中国一种传统的纯天然保健饮料佳品, 茶中含有苦丁皂甙^[4]、多酚类、黄酮类、咖啡碱^[5]、三萜类^[6]等多种功能成分, 具有清热消暑、降压减肥、抑癌防癌、抗衰老、活血脉等多种功效^[7]。若能将冬青苦丁茶进行深加工, 提取有效活性成分, 添加到面膜中, 不仅增加产品附加值, 还能丰富面膜类型, 具有重要的经济价值和现实意义。

本课题基于大量调研, 以苦丁茶中富含的活性物质黄酮类化合物^[8]的提取物为主要有效成分, 通过优化工艺, 希望开发出具有抗氧化、抗衰老、抑菌、保湿活性等功效的功能性面膜, 并对其性质进行研究。既能促进苦丁茶资源的开发, 又能促进地方经济的繁荣, 丰富了苦丁茶的深加工产品种类, 增加天然药物面膜市场的产品类别, 为广大消费者研制出更人性化, 绿色化, 大众化的保

养品面膜, 具有重要的社会经济价值和生态价值。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

芦丁标品(中国药品生物制品鉴定所), 试验中涉及到其他试剂均为市售 AR。

微型粉碎机(FW80 天津泰斯特仪器有限公司); 超声清洗仪(KH5200E 昆山禾创超声仪器有限公司); 紫外-可见分光光度计(UV1800 日本岛津); 高速离心机(TGL-16G 上海安亭科学仪器厂)。

1.2 实验方法

1.2.1 苦丁茶中黄酮的提取 称取粉碎过 60 目的苦丁茶粉末 2.0 g, 加入 60% 的乙醇 80 mL, 置于 90℃ 恒温水浴锅中回流提取 2.5 h。待体系冷却后, 过滤, 滤饼用 60% 的乙醇洗涤 (10 mL × 3 次), 合并滤液, 用旋转蒸发器除去溶液中的乙醇, 将剩余物用蒸馏水定容至 25 mL, 得到苦丁茶总黄酮提取液。

1.2.2 样品中总黄酮含量的测定 精确称取 200.0 mg 芦丁标准品, 用 30% 乙醇溶解并定容至 100 mL, 得到标准液。移取 0.0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mL 标准液于 7 支 25 mL 容量瓶中, 加入浓度为 5% NaNO₂ 溶液 0.7 mL, 静置 6 min。加入浓度为 10% Al(NO₃)₃ 溶液 0.7 mL, 静置 6 min。最后, 加入浓度为 4% NaOH 溶液

收稿日期: 2018-07-16 修回日期: 2018-08-20

基金项目: 陕西省自然科学基金基础研究计划项目(2018JQ2070), 商洛学院科学与技术研究基金(17SKY005), 2017 年陕西省大学生创新创业训练计划项目(20172715)。

第一作者简介: 延永(1988-), 男, 陕西绥德人, 硕士研究生, 研究方向: 药物合成。

10.0 mL,混匀,用 30%乙醇定容至刻度线,静置 15 min 后于波长 510 nm 处测定溶液吸光度值,以 0.0 mL 为空白对照,测得不同标准溶液浓度的吸光度,绘制标准曲线得到回归方程。

移取 1.2.1 中得到溶液 1.0 mL 于 100 mL 容量瓶中,加入 5% NaNO₂ 溶液 2.8 mL,静置 6 min,加入 10% Al(NO₃)₃ 溶液 2.8 mL,上下震荡混匀,静置 6 min,再加入 4% NaOH 溶液 40.0 mL,上下震荡混匀,用 30%乙醇定容至刻度线,15 min 后于 510 nm 波长处测定溶液吸光度。根据回归方程计算提取的黄酮浓度,再计算黄酮得率 Y(%)。计算公式如下:

$$Y(\%) = \frac{C \times N \times V}{W} \times 100\% \quad (\text{公式 1})$$

式中:Y 为黄酮的提取率(%);C 为总黄酮浓度(mg · mL⁻¹);N 为稀释倍数;V 为取样量(mL);W 为粉末质量(mg)。

1.2.3 面膜的制备工艺优化 准确称取适量汉生胶于少量水中,置于 80~85℃恒温水浴锅中使其充分溶解,待其溶解至澄清透明状,加入羧甲基纤维素钠,搅拌使其充分溶解,当混合液温度降至 40℃左右,依次加入甘油,丙二醇,并充分搅拌,最后加入黄酮提取物,尼泊金甲酯,以及少量香精,充分搅拌使其混合均匀,即得到苦丁茶面膜液。

甘油、羧甲基纤维素钠和丙二醇具有较好的保湿功能,常在面膜的制备工艺中加入这三种物质保证其保湿性能。笔者研究在保障面膜性状的前提下,以甘油、羧甲基纤维素钠和丙二醇的加入量为考虑因素,采用正交试验 L₉(4³),考查其在苦丁出面膜中的保湿作用,筛选出苦丁茶面膜最佳工艺配方(以所得面膜的保湿性为评价标准)。因素与水平表如下表 3 所示。

表 1 因素与水平

水平	因素 ^a		
	甘油/g	羧甲基纤维素钠/g	丙二醇/g
1	2.50	1.00	0.50
2	5.00	0.75	0.75
3	7.50	0.50	1.50

a:50g 面膜中的含量。

1.2.4 保湿性实验 采用医用透气胶布粘在小型玻璃板的装置模拟人体皮肤,其中胶带为 0.9 cm × 5.5 cm。称取适量面膜均匀涂布于装置表面,将该装置放在有 CaCl₂ 饱和溶液的干燥器中,温度保持在 25℃,24 h 后称量,计算保湿率 W(%)。

$$W(\%) = \frac{M_2}{M_1} \times 100\% \quad (\text{公式 2})$$

式中:M₁ 为放置前样品质量;M₂ 为放置后样品质量。

1.2.5 DPPH 自由基清除率的测定 DPPH^{*} 是一种稳定的自由基,在有机溶剂中呈紫色,并于 517 nm 处有强吸收。当有自由基清除剂存在时,DPPH^{*} 的单电子被分配而使其颜色变浅,在最大吸收波长处的吸光度变小,利用比色法可以检测自由基清除情况,从而评价样品的抗氧化能力^[9]。

表 2 抗氧化活性检测加样表

序号	反应试剂	吸光度(A)
1	样品溶液 4.0 mL+DPPH [*] 液 1.0 mL	A _i
2	样品溶液 4.0 mL+无水乙醇 1.0 mL	A _j
3	蒸馏水 4.0 mL+DPPH [*] 溶液 1.0 mL	A _o

称取 2,2-二苯代苦味酰基(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl,DPPH)标准品 20.00 mg,无水乙醇定容至 500.0 mL,得质量浓度 0.04 mg · mL⁻¹溶液。按表 2 在 10 mL 比色管中加入试剂,混匀,在室温下避光反应 30 min,于分光光度计 517 nm 处测定各自吸光度(分别以 4.0 mL 蒸馏水+1.0 mL 无水乙醇为空白)。DPPH 自由基在波长 517 nm 处有强吸收峰,当有抗氧化活性物质存在时,DPPH 自由基的电子与之配对致使吸收消退,消退程度与活性物质接受的电子数量相对应,据此依下式计算 DPPH 自由基清除率:

$$T(\%) = \left[1 - \frac{A_i - A_j}{A_o} \right] \times 100\% \quad (\text{公式 3})$$

式中:A_i 为加入样品的 DPPH 的吸光度,A_j 为样品本身的吸光度,A_o 为 DPPH 的吸光度。

1.2.6 抑菌测试 培养基的配制:将 10.0 g 蛋白胨,5.0 g NaCl 放入烧杯中,加水 1 000 mL 煮沸,加入 5.0 g 牛肉膏,融化后,分装于锥形瓶包装好之后,高压灭菌(121℃)20 min,取出后,置于 80℃水浴,备用。

采用最小抑菌浓度法(MIC)^[10],取 96 孔板,每一孔添加稀释后的培养基 100 μL,然后向第一孔添加 100 μL 面膜原液,混均后吸取 100 μL 至第二孔中,同法依次稀释至第十一孔,第十二孔为不加抗菌皂液的对照。将稀释好的菌液在每孔中加入 100 μL,此时每孔中菌液终浓度为 5 × 10⁵ CFU · mL⁻¹。将 96 孔板盖上盖子,置于 37℃恒温培养箱中孵育 16~20 h。在酶标仪中设置程序,将 96 板放入酶标仪中,扫描各孔 600 nm 处的比浊度,得出无细菌生长的孔,换算浓度,即为 MIC 值^[11]。

1.2.7 苦丁茶面膜的性能检测 主要有:

(1)性状与细腻度。取苦丁茶面膜 10.0 g,置于试管中,观察有无明显颗粒析出。取苦丁茶面膜 1.0 g 均匀涂抹于手背,用眼睛、手等感官指标评价其细腻度。

(2)酸碱度。取苦丁茶面膜 2.5 g,加入 50 mL 去离子水,搅拌,使其混合均匀,置于 85~90℃ 恒温水浴锅中,使其微沸,冷却至室温,用 pH 计测定混悬液酸碱度。

(3)耐热实验。称取六份 5.0 g 苦丁茶面膜液分别置于 10 mL 试管中,编号为 1~6,用保鲜膜密封,分别置于温度梯度为 25,30,35,40,45,50℃ 的恒温水浴锅中,放置 10 h,观察面膜性状有无明显变化。

(4)耐寒实验。称取六份 5.0 g 苦丁茶面膜液分别置于 10 mL 试管中,编号为 1~6,用保鲜膜密封,分别置于温度梯度为 0,-5,-10,-15,-20,-25℃ 的恒定温度的冰箱中。放置 10 h,观察其外观性状的变化。

(5)离心实验。在室温下,取苦丁茶面膜置于 4 mL 离心管中,5 组于离心机中,分别以 2 000,3 000,4 000,5 000,6 000 rpm 离心 15 min,观察是否有分层现象。

(6)刺激性实验。邀请 24 名皮肤健康的在校大学生,男生、女生各半,分别将 0.5 g 面膜均

匀涂抹于左前臂柔软的皮肤表面,右臂同一部位不涂做空白对照,24 h 后观察两处的皮肤现象,连续测试一周。

2 结果与讨论

2.1 苦丁茶中黄酮含量的测定

以吸光度为纵坐标,芦丁浓度为横坐标,建立芦丁标准曲线,如图 1 得出回归方程; $y = 6.5887x + 0.0656$, $R^2 = 0.9949$ 。式中 y 为吸光度, x 为芦丁浓度($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$);

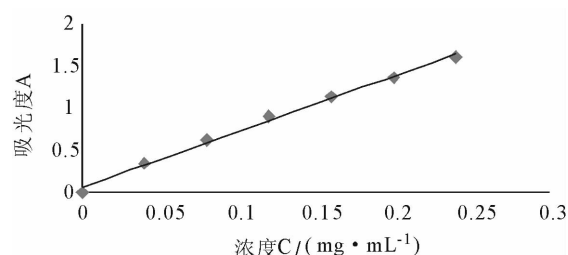


图 1 芦丁标准曲线

由 1.1.2 知在 510 nm 处苦丁茶中黄酮提取物吸光度为 0.9435,代入回归方程中得提取物浓度为 $0.1332 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。苦丁茶总黄酮提取液的浓度为 $13.32 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,由公式 1 可得黄酮得率为 16.65%。

表 3 正交试验结果

实验号	因素				结果
	甘油	羧甲基纤维素钠	丙二醇	空白	保湿率/%
1	1	1	1	1	66.67
2	1	2	2	2	67.86
3	1	3	3	3	73.33
4	2	1	2	3	75.86
5	2	2	3	1	77.42
6	2	3	1	2	79.31
7	3	1	3	2	76.47
8	3	2	1	3	85.71
9	3	3	2	1	79.31
K1	69.287	73.000	77.230	74.467	
K2	77.530	76.997	74.343	74.547	
K3	80.497	77.317	75.740	78.300	
R	11.210	4.317	2.887	3.833	

2.2 苦丁茶面膜工艺优化

2.2.1 苦丁茶总黄酮提取物加入量的确定 通过前期研究,苦丁茶总黄酮提取物具有良好的抗氧化活性,但由于提取物是混合物,而且在面膜中的溶解度有限,当加入的提取物过多时,面膜中有

明显不溶物悬浮,根据面膜的外观需要,选择加入面膜的苦丁茶总黄酮提取液为 5 mL(苦丁茶总黄酮提取液的密度近似等于 $1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$)适宜,换算成苦丁茶总黄酮含量为 66.6 mg,配制面膜液体积为 48.0 mL,面膜液中苦丁茶总黄酮含量为

1.39 mg · mL⁻¹。

2.2.2 配方优化 通过正交实验对面膜的处方进行优化,结果如表 3,最佳组合为 A₃B₃C₁,因此,苦丁茶面膜理论最佳配方如下:甘油 7.5 g,羧甲基纤维素钠 0.5 g,丙二醇 0.5 g,汉生胶 0.05 g,尼泊金甲酯 0.01 g,苦丁茶黄酮提取物水溶液

5.0 mL (总黄酮含量 13.32 mg · mL⁻¹),香精 2~3 滴,加去离子水至 50 g。方差分析可知:对面膜保湿性影响最显著的是甘油,其次是羧甲基纤维素钠,影响最小的是丙二醇。经验证,在最佳配方下苦丁茶面膜的保湿性达到 89±1%。

表 4 方差分析

因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值
1	202.418	2	1.000	19.000
2	34.709	2	0.171	19.000
3	12.504	2	0.062	19.000
4	28.788	2	0.142	19.000
误差	202.42	2		

表 5 DPPH 自由基清除作用

浓度/(mg · mL ⁻¹)	Ai	Aj	A0	清除率/%
0.1	0.292 6	0.107 3		55.5
0.2	0.351 8	0.188 5		60.8
0.3	0.612 5	0.472 3	0.4167	66.3
0.4	0.751 8	0.632 5		71.4
0.5	1.068 5	0.964 3		74.8

2.3 DPPH 自由基的清除作用

由图 2 可知,面膜浓度为 0.1 mg · mL⁻¹时,对 DPPH 自由基的清除率达到 51.66%,当浓度提高为 0.5 mg · mL⁻¹时,DPPH 自由基的清除率为达到 74.8%,结果表明面膜对 DPPH 自由基有良好的清除作用。

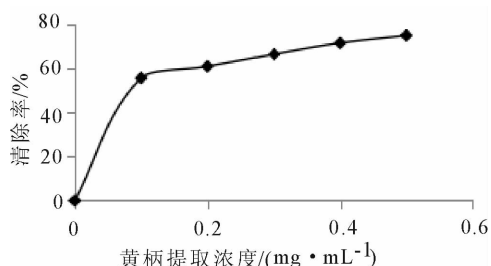


图 2 面膜对 DPPH 自由基的清除作用

2.4 苦丁茶黄酮面膜抑菌测试

表 6 苦丁茶面膜对供试菌种测定结果

细菌名称	面膜稀释倍数 ^a										苦丁茶总黄酮 MIC /(mg · mL ⁻¹) ^b
	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	
金黄色葡萄球菌	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	5.02
大肠杆菌	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	10.55
肺炎克雷伯菌	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	20.09
伤寒杆菌	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	20.09
黑曲霉	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	40.18

注:a:“+”代表有抑菌现象;“-”代表无抑菌现象。b:采用同样方法测得。

如表 7 所示,苦丁茶面膜原液对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌有抑菌效果,相当于苦丁茶总黄

酮的 MIC 均为 1.39 mg · mL⁻¹,低于苦丁茶总黄酮提取物的 MIC(5.02~10.55 mg · mL⁻¹),

造成这种结果的原因可能是面膜液中其他添加成分对这两种测试菌有抑制效果。由于面膜液中,苦丁茶总黄酮的含量有限,仅为 $1.39 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,面膜并没有对肺炎克雷伯菌、伤寒杆菌和黑曲霉表现出抑菌活性。

2.5 苦丁茶面膜得性能评价

所制得的苦丁茶面膜为淡黄色粘稠透亮液体,气味清香,分布均匀,涂抹于手上无颗粒感,细腻柔滑,无刺激性,性状稳定。具体如表 7。

表 7 苦丁茶面膜理化性质

指标	结果	备注
外观	淡黄色粘稠透亮液体	适宜
气味	芳香	—
pH 值	6~7	符合面膜中 pH 规定
耐热实验	实验前后面膜无明显差异,未发生分层现象	耐热性质稳定
耐寒实验	实验前后面膜无明显差异,未发生分层现象	耐寒性质稳定
离心试验	实验前后面膜无明显差异,未发生分层现象	性质稳定
刺激性实验	实验后皮肤均保持润泽,无发红、起疹、起水泡等现象,也无发痒、疼痛、过敏等现象	无刺激性

3 结论

笔者以苦丁茶为原料,研究其总黄酮提取物为主要有效成分的多功能面膜工艺。

(1)乙醇体积分数为 60%,苦丁茶与乙醇的添加比为 1:40,90℃ 回流 2.5 h,苦丁茶总黄酮的提取率为 16.65%。

(2)正交试验表明,苦丁茶面膜的最佳工艺配方:甘油 7.5 g,羧甲基纤维素钠 0.5 g,丙二醇 0.5 g,汉生胶 0.05 g,尼泊金甲酯 0.01 g,苦丁茶总黄酮提取物水溶液 5.0 mL (总黄酮含量 $13.32 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$),香精 2~3 滴,加去离子水至 50 g。

(3)经验证该面膜保湿率达到 $89 \pm 1\%$;面膜液浓度为 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,对 DPPH 自由基的清除率达到 74.8%。对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌具有良好的抑制作用。

(4)成品苦丁茶面膜为淡黄色粘稠透亮液体,气味芳香、质地均匀、pH=7.1,无刺激性、性质稳定,符合 QB/T 2872—2017 面膜行业的标准。

参 考 文 献:

- [1] 吴旭君. 生物纤维素面膜的制备及其功能化产品开发[D]. 上海:东华大学, 2014.
- [2] 徐晶, 商硕, 王庆松. 中药面膜的研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2012, 27(06): 1 617-1 621.
- [3] 王杨, 张莲姬, 金玉子. 伊利石美容面膜的研究[J]. 日用化学工业, 2015, 45(11): 632-634, 638.
- [4] 杨新河, 吕帮玉, 毛清黎. 盐酸水解法提取苦丁茶皂苷元的工艺[J]. 贵阳中医学院学报, 2013, 35

(01): 264-268.

- [4] Yang Xinhe, Lu Bangyu, MAO Qingli. Extraction process of Ilex kudingcha C. J. Tseng saponins by hydrochloric acid hydrolysis [J]. Journal of Guiyang college of traditional Chinese medicine, 2013, 35(01): 264-268.
- [5] 杨玲, 张高, 陶于菊, 等. 茶多酚与咖啡碱相互作用对苦丁茶饮料质量的影响[J]. 贵州科学, 2014, 32(05): 66-70.
- [6] 王存琴, 王宏婷, 陈娟, 等. 苦丁茶三萜类成分及药理作用研究进展[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2016, 21(06): 703-709.
- [7] 胡婷. 苦丁茶有效成分的分离纯化、结构鉴定及生物活性评价[D]. 广州:华南理工大学, 2016.
- [8] 许文清. 苦丁茶冬青苦丁茶多酚类物质的生物活性及分离纯化研究[D]. 南京:南京农业大学, 2010.
- [9] 金亮, 李小白, 丁华侨, 等. 不同种类茶叶抗氧化活性及茶汤颜色参数比较[J]. 中国食品学报, 2016, 16(02): 242-250.
- [10] Ruizramos J, Vidalcortés P, Diazlamas A, et al. Ventilator-associated pneumonia by methicillin-susceptible Staphylococcus aureus: do minimum inhibitory concentrations to vancomycin and daptomycin matter[J]. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 2017; 36(09): 1 569-1 575.
- [11] Liu, F., Wang, D., Liu, W., Wang, X., Bai, A., & Huang, L. Ionic liquid-based ultrahigh pressure extraction of five tanshinones from salvia miltiorrhiza, bunge. Separation & Purification Technology, 110(23), 86-92.