大鲵糖肽润肤霜的制备及性能评价*

王　睿[1],李　伟[1,2],孔　亮[3],曲　敏[4],佟长青[1],金　桥[1]

(1 辽宁省水产品加工及综合利用重点实验室,大连海洋大学食品工程学院,辽宁　大连　116023;
2 张家界(中国)金驰大鲵生物科技有限公司,湖南　张家界　427400; 3 大连海洋大学海洋环境工程学院,
辽宁　大连　116023; 4 沈阳农业大学食品学院,辽宁　沈阳　110161)

摘　要: 通过添加大鲵糖肽制备了润肤霜,探讨了大鲵糖肽的吸湿性与抗氧化性,大鲵糖肽润肤霜的抗紫外线性与豚鼠皮肤涂抹的变态反应。结果表明: 在低湿度条件下,大鲵糖肽的吸湿率达 3.8%,在高湿度条件下,大鲵糖肽的吸湿率达 15.6%; 羟基自由基清除率为 50.85%; 添加了大鲵糖肽在 260 ~ 315 nm 下具有较强紫外线吸收能力; 涂抹大鲵糖肽润肤霜和大鲵糖肽的豚鼠皮肤没有出现任何的红斑和水肿,与对照组的豚鼠的皮肤一致。

关键词: 大鲵糖肽; 吸湿性; 抗紫外线; 抗氧化

Preparation and Evaluation of Cream Containing the Glycopeptides from Andrias davidianus*

WANG Rui[1], *LI Wei*[1,2], *KONG Liang*[3], *QU Min*[4], *TONG Chang - qin*[1], *JIN Qiao*[1]

(1 Key Laboratory of Aquatic Products Processing and Utilization of Liaoning Province, Dalian Ocean University, Liaoning Dalian 116023; 2 Jinchi Giant Salamander Biological Technology Co., Ltd., Zhangjiajie (China), Hunan Zhangjiajie 427400; 3 College of Marine Environmental Engineering, Dalian Ocean University, Liaoning Dalian 116023; 4 Food Science College, Shenyang Agriculture University, Liaoning Shenyang 110161, China)

Abstract: The glycopeptides from Andrias davidianus were added to creams. The hygroscopicity and antioxidant activity of glycopeptides, the fuction to resist the ultraviolet (UV) rays of the cream and skin sensitisation test were discussed, respectively. The results showed that the hygroscopicity of the cream with glycopeptides from A. davidianus was 3.8% under the low humidity condition, and under the high humidity condition, the hygroscopicity rate was 15.6% and the hydroxyl radical scavenging activities of glycopeptides from A. davidianus was 50.85%. The function of the glycopeptides in resisting the ultraviolet (UV) rays was stronger under the wavelength from 260 to 315 nm, the erythema and edema didn't appeared on the skin of guinea pigs smeared by cream, and their skin was similar with the skin of the comparison group.

Key words: glycopeptides from Andrias davidianus; hygroscopicity; anti - ultraviolet; antioxidant activity

生物活性糖肽是指对生物机体的生命活动有益或具有生理作用的肽类化合物,是蛋白质中 20 个天然氨基酸以不同组成和排列方式构成的从二肽到复杂的线性、环形结构的不同肽类的总称,也是源于蛋白质的多功能化合物[1]。

糖肽的抗氧化活性与其氨基酸序列及糖链组成有着密切的关系。有研究表明,含有组氨酸的肽可能具有螯合金属。猝灭活性氧和清除羟自由基的能力。另有研究报道氨基酸残基的氧化是抗氧化肽能够清除自由基的原因之一,但是游离氨基酸并没有表现出抗氧化活性,因为肽的一级结构是构成其具有抗氧化作用的必要因素[2]。

以天然成分为化妆品功能性原料,大大提高了有效活性物的浓度。大多数的临床数据表明,天然成分化妆品的疗效明显,针对性强,丝毫不在合成药物之下。长期使用无副作用或副作用极小,特别适用于预防性的化妆品和美容品[3]。大鲵糖肽具有较好的抑菌活性、吸湿保湿性能、抗紫外和抗氧化等特性,它可以防止皮质层水分损失,保持皮肤的滋润和健康。肽类物质具有生理活性,营养价值高于游离氨基酸,易吸收、溶解度高、粘性低、有很强的吸湿性,可用作保湿型添加剂生产各种化妆品[4]。大鲵糖肽能有效地清除活性氧自由基,保护细胞和线粒体的正常结构和功能,防止脂质过氧化的发生,因此,它具有保

* **基金项目**: 辽宁省高等学校优秀人才支持计划(项目编号 2009R13); 海洋局公益性行业科研专项(项目编号 201005024 - 3); 湖南省科学计划厅科技计划项目(2010FJ6096); 张家界市科技局科技计划项目(2010ZD019)。

作者简介: 王睿(1988 -),女,硕士研究生,研究方向: 食品生物技术。

通讯作者: 李伟。E - mail: aisingioro@ hotmail. com

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

护皮肤的效果[5]。据此,本文研究了大鲵糖肽的吸湿性与抗氧化性,大鲵糖肽润肤霜的抗紫外线性与豚鼠皮肤涂抹的变态反应。

1 材料与方法

1.1 材料

大鲵糖肽,2009 年 12 月由张家界(中国)金驰大鲵生物科技有限公司制备;其他化学试剂均为国产分析纯试剂。

豚鼠,购买于大连医科大学动物实验中心。

1.2 方法

1.2.1 大鲵糖肽吸湿性能的测试

室温下,在干燥器中放置硫酸钠饱和溶液维持相对湿度(RH)43%,放置硫酸铵饱和溶液维持相对湿度(RH)为 81%。准确称取 0.5 g 干燥后大鲵黏液试样放入直径为 3 cm 的称量瓶中,再把称量瓶分别放入置有以硫酸钠饱和溶液维持相对湿度(RH)43% 和以硫酸铵饱和溶液维持相对湿度(RH)81% 的干燥器中,放置时间 6、12、24、36、48 h,分别称量样品放置前的质量(m_o)和放置后的质量(m_n),根据下式计算吸湿率:

$$吸湿率(\%) = \frac{m_n - m_o}{m_o} \times 100\%$$

式中:m_o 为试样吸湿前质量,m_n 为吸湿 48 h 后质量。

1.2.2 大鲵糖肽抗氧化性能的测试

大鲵糖肽羟基自由基清除活性的测定:H_2O_2 和铁离子混合发生 Fenton 反应,生成具有很高反应活动的·OH,其可被 2-脱氧核糖有效地捕捉,并生成有色物质;但若加入具有清除作用的物质,便会于 2-脱氧核糖竞争,从而使有色产物生成量减少[7]。在 10 mL 的试管中依次加入 6 mmol/L 的 $FeSO_4$ 溶液 0.4 mL,6 mmol/L的 2-脱氧核糖溶液 0.4 mL,摇匀,分别将试管置 37.5 ℃水浴锅中 1 h 后取出放入沸水浴中 10 min,后放入冰水中冷却 10 min。取适量倒入离心管中 3 000 r/min 离心 10 min 后在 532 nm 处测定吸光度,根据下式计算清除率[8]:

$$清除率(\%) = \{ [(C - C_B) - (S - S_B)] / (C - C_B) \} \times 100$$

式中:C——空白液的吸光度

C_B——空白本底液的吸光度

S——加入试样液后的吸光度

S_B——本底液吸光度

1.2.3 大鲵糖肽润肤霜的制备

润肤霜配方如表 1 所示。

表 1 润肤霜配方

原料	质量/g	原料	质量/g
单硬脂酸甘油酯	8	大鲵糖肽	0.5
硬脂酸	8	丙三醇	10
十六烷醇	1	三乙醇胺	1
对羟苯甲酸丙酯	0.1	蒸馏水	69.9
二甲基硅油	1	香精	0.5

将油相原料和油溶性乳化剂如表 1,在不断搅拌下混合加热至 80 ℃,维持 20 min 灭菌,将水相原料和水溶性乳化剂加入至蒸馏水中,搅拌下加热至 80 ℃,维持 20 min 灭菌,然后冷却,将大鲵糖肽缓慢加到水相中搅拌乳化,再将水相加入到油相中,当温度降至 45 ℃时加入香精,继续搅拌冷却成膏。

1.2.4 大鲵糖肽润肤霜抗紫外线性能表征

分别取大鲵糖肽 0.1 g、0.2 g,各加入 100 mL 蒸馏水,稀释至 0.1% 和 0.2%,搅拌至均匀。然后分别各取 3 mL 样液和 3 mL TCA 放置试管中。然后每个样液取 1.5 mL 放置离心管中在 -4 ℃以转速 10 000 r/min 离心 20 min。取上清液用紫外可见分光光度计测抗紫外线能力。

1.2.5 大鲵糖肽润肤霜稳定性测试

根据 QB/T1684-93 标准对试稳定性耐热、耐寒、离心稳定性实验。

1.2.6 变豚鼠皮肤变态反应试验

试验前动物要在实验动物房环境中至少适应 3~5 d。将动物随机分为受试物组和对照组,按所选用的试验方法,选择适当部位给动物备毛(去毛),避免损伤皮肤。动物数:试验组为 12 只,对照组为 2 只。试验前约 24 h,将豚鼠背部左侧去毛,去毛范围为 4~6 cm。诱导接触:将受试物约 0.2 mL(g)涂在实验动物去毛区皮肤上,以二层纱布覆盖,再以无刺激胶布封闭固定 6 h。第 7d 和第 14 d 以同样方法重复一次。激发接触:末次诱导后 14~28 d,将约 0.2 mL 的受试物涂于豚鼠背部右侧 2 cm × 2 cm去毛区(接触前 24 h 脱毛),然后用二层纱布覆盖,再以无刺激胶布固定 6 h。激发接触后 24 h 和 48 h 观察皮肤反应[9]。

1.2.7 大鲵糖肽润肤霜中重金属含量的测定

根据食品中重金属含量的检测依据,检测大鲵糖肽中重金属的含量。

1.2.8 人体试用安全性评价

按受试者入选标准选择正常男性受试者 15 例,正常女性受试者 15 例,按照化妆品产品使用特点和方法让受试者直接使用受试产品。每周 1 次观察或电话随访受试者有无全身性不良反应如恶心、乏力、月经紊乱及其它不适等,观察涂抹样品部位皮肤反应,按表 2 皮肤不良反应分级标准记录结果。

表 2 人体试用试验皮肤不良反应分级标准

皮肤不良反应	分级
无反应	0
微弱红斑	1
红斑、浸润、丘疹	2
红斑、水肿、丘疹、水疱	3
红斑、水肿、大疱	4

2 结果与讨论

2.1 大鲵糖肽吸湿率

分别考察了大鲵糖肽样品在两种湿度下随时间的变化而导致的吸湿率的变化。在低湿度条件下,大鲵糖肽的吸湿率达 3.8%,在高湿度条件下,大鲵糖肽的吸湿率达 15.6%(图 1)。大鲵糖肽具有一定的吸湿特性。因此,在气候干燥地区,大鲵糖肽润肤霜可起到良好的保湿效果。

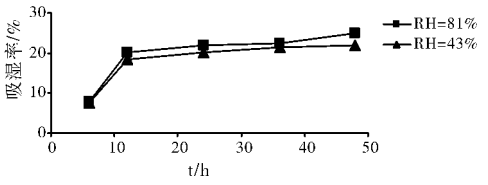

图 1 在高、低湿度条件下大鲵糖肽的吸湿率

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.2　大鲵糖肽抗氧化性能

大鲵糖肽羟基自由基清除率为 50.85%。自由基是具有高度化学活性的物质,人体内自由基过多或清除过慢,即会引发所谓的自由基链式反应,导致细胞膜的过氧化,它是引起机体衰老的根本原因。研究所得大鲵糖肽羟基自由基清除率为 50.85%,可作为抗衰老化妆品的重要功效成分[10]。

2.3　大鲵糖肽抗紫外线的性能

在紫外分光光度计上分别于 200 ~ 400 nm 之间测定大鲵糖肽的吸光度值。因为 200 ~ 250 nm 属于长波紫外线,对人体皮肤不会造成很大的伤害,315 nm 以上的波长不会穿透大气层,对人体皮肤也不会造成伤害,所以只有在 260 ~ 315 nm 处会对人体皮肤造成伤害,从上述表格数据和数据线中可以看出,在 260 ~ 315 nm 的高能区域内,吸收曲线出现低谷,说明此波长范围的紫外吸收率较大,说明大鲵糖肽具有一定的抗紫外能力。同时也可以看出,浓度为 0.1% 的大鲵糖肽水溶液抗紫外线能力最强(图 2)。

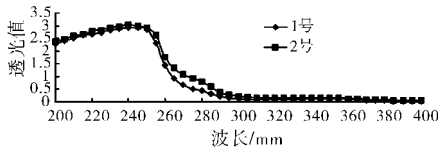

图 2　抗紫外能力的检测

1 号:0.1% 的大鲵糖肽溶液;2 号:0.2% 的大鲵糖肽溶液

2.4　大鲵糖肽润肤霜产品稳定性能评价

依据中华人民共和国行业标准 QB/T1684 - 93,对样品进行耐热、耐寒、离心稳定性测试,结果如表 3 所示。

表 3 结果表明大鲵糖肽润肤霜具有良好的耐热、耐寒性能,离心测试未出现分层。此配方使用的多为熔点较低的油质原料,因此膏体软、流动性好,涂抹保湿霜受感觉膏体润湿感好。

表 3　润肤霜性能测试

指标名称		评测结果		
感官指标	色泽	乳白色		
	香气	无气味		
	结构	细腻		
理化标准	耐寒	-15 ℃	-10 ℃	-5 ℃
		保持 24 h,恢复室温无油水分离现象		
	耐高温	45 ℃		50 ℃
		保持 24 h,恢复室温无油水分离现象		
	离心实验	4 000 r/min		
		旋转 15 min 不分层		

2.5　豚鼠皮肤变态试验结果

在涂抹化妆品的试验组中,涂抹化妆品的背部皮肤没有出现任何的红斑和水肿,在涂抹大鲵糖肽试验组中,涂抹大鲵糖肽的背部皮肤同样也没有出现任何的红斑和水肿,与对照组背部去毛区域基本一致。说明化妆品和大鲵糖肽对动物皮肤没有发生皮肤变态反应,对动物皮肤是无毒的,可以放心使用。

2.6　结果安全性评价

在 15 例男性例受试者和 15 例女性受试者中没有出现皮肤不良反应,判定受试物对人体没有不良反应。

3　结　论

(1) 在低湿度条件(RH = 43%) 下,大鲵糖肽的吸湿率达 3.8%,在高湿度条件下(RH = 81%) 大鲵糖肽吸湿率达 15.6%;

(2) 大鲵糖肽羟基自由基清除率为 50.85%;

(3) 在 260 ~ 315 nm 的高能区域内,吸收曲线出现低谷,说明此波长范围的紫外吸收率较大,说明大鲵糖肽具有一定的抗紫外线吸收能力,但是作用不是很大;

(4) 以大鲵糖肽制备的润肤霜稳定性符合中华人民共和国行业标准 QB/T1684 - 93 的要求;

(5) 涂抹大鲵糖肽化妆品的豚鼠皮肤没有发生任何的变态反应;

(6) 涂抹大鲵糖肽化妆品的人体受试者没有发生任何不良反应。

参考文献

[1] 叶青,关屹,张宾红. 未来护肤品的概念[J]. 日用化学品科学,2000(2):37 - 38.

[2] 张昊,任发政. 天然抗氧化肽的研究进展[J]. 食品科学,2008,29(1):443 - 447.

[3] 符移才,魏少敏,金锡鹏. 延缓皮肤衰老化妆品中的中草药应用研究探讨[J]. 日用化学品科学,1999(1): 27 - 29.

[4] 钟进义,王建华,刘岩,等. 葡多酚对人体抗氧化能力的影响[J]. 中国公共卫生,2002,18(4):404 - 405.

[5] Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry[J]. Journal of Gerontology,1956,11(3): 298 - 300.

[6] 胡佩红,张淑平. 合照糖胶吸湿、保湿性能的研究[J]. 精细与专用化学品,2006,2(21):23 - 25.

[7] 李庆,姚开,谭敏. 新型天然抗氧化剂[J]. 四川食品与发酵,2001,b37(4):10 - 14.

[8] Bingsan W,Benjakul S,Visessanguan W,et al. Antioxidative activity of Mungoong,an extract paste,from the cephalothorax of white shrimp (Litopenaeus vannamei) [J]. Food Chemistry,2008,106(1):185 - 193.

[9] Wang M,Wang Y,Wang A,et al. Five novel antimicrobial peptides from skin secretions of the frog,Amolops loloensis[J]. Comparative Biochemistry and Physiology,2010,B155(1):72 - 76.

[10] 张红雨,陈展德. 酚类抗氧化剂清除自由基活性的理论表征与应用[J]. 生物物理学报,2005,3(16):1 - 9.

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net