

基于紫苏中迷迭香酸的提取工艺和保湿性能研究

陈锦仪¹, 钟文², 罗栋文¹, 黄杰锋¹, 鲁澄宇¹, 刘建强¹, 潘莹^{1*}, 程帆^{1*}

¹广东省东莞市松山湖科技园广东医科大学药学院 广东东莞

²云南省大理州大理市大理镇平等路 111 号 75 集团军医院 云南大理

【摘要】本研究利用紫苏中大量含有的迷迭香酸活性成分制备了抗氧化面膜, 该抗氧化面膜在抗氧化性能测定中表现出良好的抗氧化能力, 且在不同人体皮肤测定中表现出良好的保湿能力。本实验成功制备的迷迭香酸抗氧化面膜为紫苏在化妆品行业拓宽了新的应用前景, 为紫苏资源的开发利用提供新的方向。

【关键词】紫苏; 迷迭香酸; 抗氧化精华

【基金项目】本论文获得广东省普通高校青年创新人才项目(2020KQNCX024), 广东省科技创新战略专项项目(pdjh2023a0028, pdjh2023b0232, pdjh2023b0234, pdjh2023b0237, pdjh2022a0216, pdjh2022b0225; pdjh2022b0224), 广东医科大学百项青年研究项目资助计划(GDMUD2022002)和全国大学生创新创业训练项目(202210571001; 202210571004; 202210571012; S202210571074; S202210571092; S202210571093; S202210571102; S202210571109)。

【收稿日期】2023 年 1 月 12 日 **【出刊日期】**2023 年 3 月 18 日 **【DOI】**10.12208/j.imrf.20230023

Study on the extraction process and moisturizing properties of rosmarinic acid based on perilla

Jinyi Chen¹, Wen Zhong², Dongwen Luo¹, Jiefeng Huang¹, Chengyu Lu¹, Jianqiang Liu¹, Ying Pan^{1*}, Fan Cheng^{1*}

¹Guangdong Medical University College of Pharmacy, Songshan Lake Science and Technology Park, Dongguan, Guangdong

²75 Group Military Hospital, No.111, Equality Road, Dali Town, Dali, Yunnan

【Abstract】In this study, an antioxidant mask was prepared using the active ingredient of rosmarinic acid, which is abundant in *Perilla frutescens*. The antioxidant mask showed good antioxidant capacity in antioxidant performance assay and good moisturizing capacity in different human skin assays. The successful preparation of rosmarinic acid antioxidant mask in this experiment broadens the prospect of new applications for perilla in the cosmetic industry and provides a new direction for the development and utilization of perilla resources.

【Keywords】*Perilla frutescens*; Rosmarinic acid; Antioxidant extract

引言

天然植物中往往含有多种活性成分, 例如糖类、蛋白质类、脂肪类, 黄酮、生物碱、矿物质等。从天然植物当中提取所需的活性成分制备抗氧化护肤产品是近些年新兴的研究方向。近些年出现了不少有关于利用植物中的天然成分制备抗氧化面膜的研究, 如红果参抗氧化面膜^[1]、番茄红素抗氧化面膜^[2]、山葡萄皮渣抗氧化面膜和铁皮石斛抗氧化面膜等^[3-4]。上述制备的抗氧化面膜存在着原材料价格昂贵、抗氧化活性成分含量少、抗氧化活性成分稳定

性差、提取工艺复杂和抗氧化活性成分含量低等缺点。本实验提取紫苏中的迷迭香酸, 并将其制成抗氧化面膜, 制成的面膜能完美的解决以上的问题。迷迭香酸是一种可以从植物中提取分离得到的一种水溶性的天然酚酸类化合物, 尤以唇型科和紫草科植物中含量最高。根据相关研究发现, 迷迭香酸的抗氧化性强于咖啡酸、绿原酸、叶酸等其他抗氧化剂^[5-7], 且稳定性高于维生素 C、茶多酚这类遇高温分解的抗氧化剂, 能够有效降低癌症病房以及动脉硬化化的风险。此外, 迷迭香酸还具有优良的抗炎活

*通讯作者: 潘莹, 程帆

性,在抗菌、抗病毒以及抗肿瘤领域也被广泛应用。值得注意的是,由于迷迭香酸的抗紫外线、抑制弹性蛋白降解、抗氧化等特性,其在化妆品领域已成为了重要的添加剂。紫苏是唇形科植物的一种,紫苏内富含着丰富的迷迭香酸,因此在本实验中我们以简便的步骤成功地从紫苏植物当中提取了迷迭香酸并对其进行了进一步的提纯处理,然后将其用于制备面膜。我们研究了从迷迭香酸不同浓度和不同加入量两个相关变量对其抗氧化性能进行测定。在制备功效性面膜如抗氧化面膜等时,通常会测试其功效性,但往往忽略了面膜的基础保湿性能的测定。因此,在此实验中,我们将所制备的面膜与其他成分的保湿材料进行了真人对照试验,成功测试了以迷迭香酸为原料所制成的面膜的保湿性能。

1 材料与方法

1.1 材料试剂

天然紫苏、D101 大孔吸附树脂、盐酸、氢氧化钠、二苯基苦基苯肼 (DPPH)、抗坏血酸、乙醇、聚乙烯吡咯烷酮 (PVP)、甘油、迷迭香酸标准品 (阿拉丁,纯度 97%)

1.2 方法

(1) 提取紫苏中的迷迭香酸

将紫苏洗净后放入烘箱,将其彻底烘干干燥后,用高速粉碎机对其进行粉碎,随后使用 80 目筛对所得的粉碎产物进行过滤,收集过筛所得产物,将其放在干燥阴凉处保存备用。称取上述制备所得的紫苏粉末置于 300m 锥形瓶中,然后按液料比 25:1 (即 25ml H₂O 倒入 1.00g 紫苏粉末中)加入相应比例的 H₂O,用封口膜封好锥形瓶瓶口后放入超声仪中,超声震荡 30min 后,迅速将其冷却降温,使用布氏漏斗对溶液进行抽滤,用烧杯收集所得的抽滤液。

(2) 对提取出的迷迭香酸进行提纯

首先,用分析天平称取 D101 大孔吸附树脂约 10g,接着对其进行预处理,即使用 95%乙醇溶液将其完全浸泡 24 小时,以溶解其造孔剂。浸泡 24 小时后再用 95%乙醇溶液进行洗脱,直至往洗脱液中加入 5 倍体积量超纯水不出现白色浑浊为限,停止洗脱,再用纯水将其洗至无醇味即可。接着使用相比于树脂体积约 3 倍的 5%盐酸溶液、超纯水以及 4%氢氧化钠溶液依次流过树脂柱。待上述溶液依次从树脂中流出后,再用大量纯水清洗树脂柱,实时对洗脱液进行 pH 值测定,直至测定到洗脱液近中

性即可停止洗脱,从而得到所需的湿树脂。用完成上述处理步骤的大孔吸附树脂柱对 (1) 中所得抽滤液进行吸附,用纯水冲洗树脂柱洗去其中掺有的杂质,最后再选用 40%乙醇溶液作为洗脱剂对抽滤液进行洗脱,用烧杯收集洗脱液。该吸附洗脱步骤共重复三次,然后将三次洗脱所收集的洗脱液装入同一容器中进行合并,最后对总洗脱液进行减压浓缩。经过探究所得,该吸附洗脱步骤的最佳工艺条件及设备参数是:吸附剂流速为 2BV/h,洗脱时的纯水量为 2BV,选用的洗脱液即 40%乙醇溶液用量为 12BV,洗脱剂流速为 1.0BV/h。

(3) 紫苏迷迭香酸含量的测定

①首先,先分别配制 30 μ L 0.2 mol/L 新配 FeSO₄ 溶液,0.2mL 含 RosA 50-300 μ g 标准品 (溶于 40%乙醇),以及 4.0mL pH=6.0 的 0.1mol/L NaAc 缓冲液,蒸馏水 0.77mL,然后将上述溶液混合成 5.0 mL 的溶液体系。在第 1 管加入 40%乙醇 0.2mL,以此为空白对照。混合充分后,在暗处室温下静置 5min,使其显色充分。②采用紫外分光光度法检测迷迭香酸含量。配制标准系列溶液及样品溶液。③用第 1 管做参比溶液,使用紫外可见光分光光度计对样品进行测定,并且观察其在 568nm 处的吸光度,然后通过计算机对数据进行处理,设定横轴为 RosA 标准品的含量,纵轴为吸光度,绘制出标准曲线。

(4) 使用所提取出的迷迭香酸制备面膜纯化后的抗氧化性能测定

为了探究所制备面膜的抗氧化性能,本实验采用二苯基苦基苯肼分光光度法 (即 DPPH 分光光度法) 对所制备的面膜的抗氧化性能进行研究。第一步,我们选取的参照溶液为抗氧化物质 Vit C;第二步,对已知不同标准浓度的 Vit C 的抗氧化性进行测定时,我们采取的测定方法是 DPPH 分光光度法;第三步,通过计算机处理建立标准曲线图,然后分别测定使用了不同量的紫苏提取物所制备的面膜的清除率,再将其转换成 Vit C 等效当量,比较其抗氧化性。

用分析天平精确称取 20 mg Vit C,放置烧杯 50mL 烧杯中,随后少量纯水将其溶解,再转移至 20 mL 的容量瓶中进行定容,随即得到浓度为 1 mg/mL 的维生素 C 溶液。然后分别取 0.5、1.5、2.5、3.5、4.5 mL 的上述所配置的 Vit C 溶液,转移至 50mL 的容量瓶当中,加入纯水进行定容,最终得到浓度梯度依次为 0.01mg/mL, 0.03mg/mL, 0.05mg

/mL, 0.07mg/mL, 0.09mg/mL 的 Vit C 溶液。精确称取 20mg DPPH, 于烧杯中, 接着用少量的无水乙醇将其进行溶解, 然后转移至 100mL 的容量瓶中, 使用无水乙醇对其进行定容, 随即得到浓度为 0.5 mmol/L 的 DPPH 溶液。

①分别取 2.0mL 75%乙醇溶液和上述所配置的 DPPH 溶液加入到同一试管中, 对其充分混合均匀, 然后放置在阴凉昏暗处避光静置 30 min, 随后将其转移至比色管中。然后选取 75%乙醇溶液为参比对照, 测量混合液在波长 517nm 处的吸光度, 所得结果记作 A_0 。

②分别取 2.0 mL 待测液和 75%乙醇溶液加入到同一试管中, 充分均匀混合后, 放置阴凉昏暗处避光静置 30 min, 然后转移至比色管当中。本实验选取 75%乙醇溶液为参比对照, 测量混合液在波长为 517nm 处的吸光度, 所得结果记作 A_r 。

③分别取 2.0 mL 待测液和现配的 DPPH 溶液加入到同一试管中, 充分均匀混合后, 放到阴凉昏暗处避光静置 30 min, 然后转移至比色管中。本实验选取 75%乙醇溶液为参比对照, 测量混合液在波长 517nm 处的吸光度, 所得结果记作 A_s 。

(5) 使用分离提纯的迷迭香酸制备抗氧化面膜

用分子天平称取聚乙烯吡咯烷酮 (PVP) 6g, 加入甘油 2g, 再加入实验所需量的紫苏提取物溶液, 接着加入纯水 20 mL 和搅拌子, 置于磁力搅拌器上充分搅拌使 PVP 溶解, 再加入纯水 10 mL 搅拌均匀, 直至 PVP 完全溶解, 即为膜剂。接着量取 75%乙醇溶液 25mL, 加入至 5g 的膜剂中, 充分搅拌 15min。采用 DPPH 分光光度法, 以 Vit C 的含量为参照体系, 测定该膜剂中的维生素含量。

(6) 探究不同浓度、不同加入量的紫苏提取物 DPPH 清除率

设计紫苏提取物浓度梯度为 2mg/mL、4mg/mL、6mg/mL、8mg/mL、10mg/mL、12mg/mL, 在每个浓度条件下以 0mL、5mL、10mL、15mL、20mL、25mL、30mL 的条件加入紫苏提取物, 并按照上述步骤测定其对 DPPH 的清除率。

(7) 保湿性皮肤测试

实验人 1、2、3 号分别为 18、21、25 岁健康男性, 实验人 4、5、6 号分别为 18、20、24 岁健康女性, 实验时间 8 小时, 使用专业皮肤数据测试仪进行测试。设计空白组、5%甘油组、提取物精华组以及标准品精华组共四组平行实验^[8]。

2 结果

(1) 将 A_0 、 A_r 和 A_s 代入到公式中计算得出清除率 (Y), 然后用计算机对数据进行处理, 以工作液浓度为横坐标 x, 清除率为纵坐标 y 作图, 从而得到了 Vit C 对 DPPH 的清除率与其浓度的关系图, 见图 1。清除率的计算公式为:

$$Y(\%) = \left(1 - \frac{A_s - A_r}{A_0}\right) \times 100$$

(2) 我们探究不同浓度、不同加入量的紫苏提取物 DPPH 清除率得到的实验数据及数据图如下, 见表 1 及图 2。

(3) 我们使用探究出的最佳清除率条件确定了迷迭香酸标准品的 DPPH 清除率, 见表 2。

(4) 我们进行重复实验后, 得到的迷迭香酸标准品的 DPPH 清除率, 见表 3。

(5) 我们进行保湿性皮肤测试后得到实验数据及数据图, 见表 4。

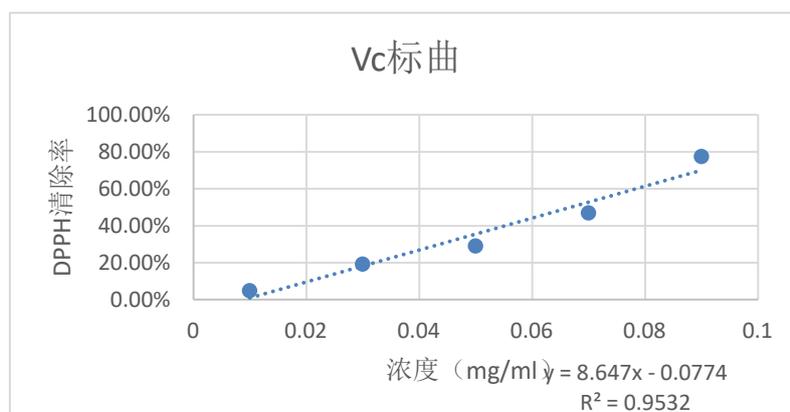


图 1 Vit C 溶液浓度对 DPPH 清除率的浓度标准曲线

Figure 1 Concentration standard curve of Vit C solution concentration on DPPH clearance

表 1 不同浓度及不同加入量的紫苏提取物对 DPPH 清除率的数据表

Table 1 Data table of DPPH scavenging by different concentrations and different additions of Perilla extract

加入量(ml) \ 浓度(mg/ml)	2	4	6	8	10	12
0	7.74%	3.45%	9.16%	5.89%	4.15%	5.56%
5	17.36%	23.08%	50.10%	45.44%	53.75%	54.01%
10	25.24%	37.01%	53.93%	72.90%	76.29%	76.44%
15	20.02%	44.81%	72.86%	85.84%	91.51%	90.25%
20	31.46%	48.26%	83.35%	91.69%	91.66%	91.72%
25	30.75%	62.99%	85.82%	92.06%	95.30%	95.33%
30	30.88%	61.72%	86.26%	92.01%	95.44%	95.17%

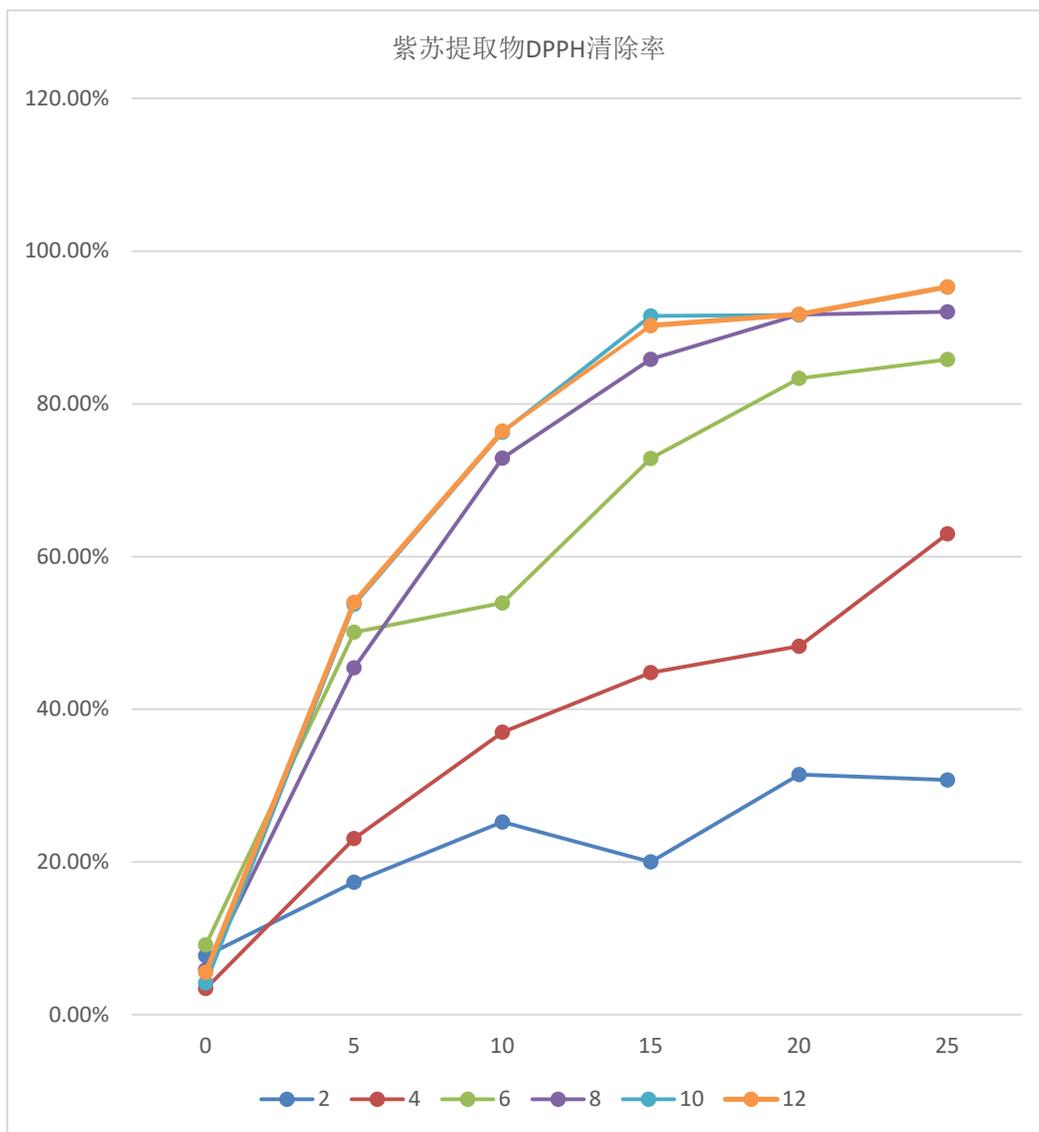


图 2 不同浓度及不同加入量的紫苏提取物对 DPPH 清除率的数据图

Figure 2 Plot of data on DPPH scavenging by different concentrations and different additions of Perilla extract

表 2 最佳条件下迷迭香酸标准品的 DPPH 清除率

Table 2 DPPH clearance of rosemary acid standards under optimal conditions

类型	DPPH清除率
紫苏提取物	95.30%
RosA标准品	93.97%

表 3 重复实验后最佳条件下迷迭香酸标准品的 DPPH 清除率

Table 3 DPPH clearance of rosemary acid standards under optimal conditions after repeated experiments

类型	DPPH清除率
紫苏提取物	94.60%
RosA标准品	94.16%

表 4 不同实验人的保湿性皮肤试验数据表

Table 4 Data table of the moisturising skin test for different experimental subjects

实验人1号													
时间(min)	0	5	10	15	30	60	120	180	240	300	360	420	480
组别													
空白组	78	75	72	75	74	70	66	61	57	54	51	49	49
5%甘油		92	90	91	87	87	82	78	75	71	67	66	64
提取物精华		88	89	86	82	80	77	77	74	71	70	69	65
标准品精华		83	85	80	77	72	70	68	65	61	60	56	54

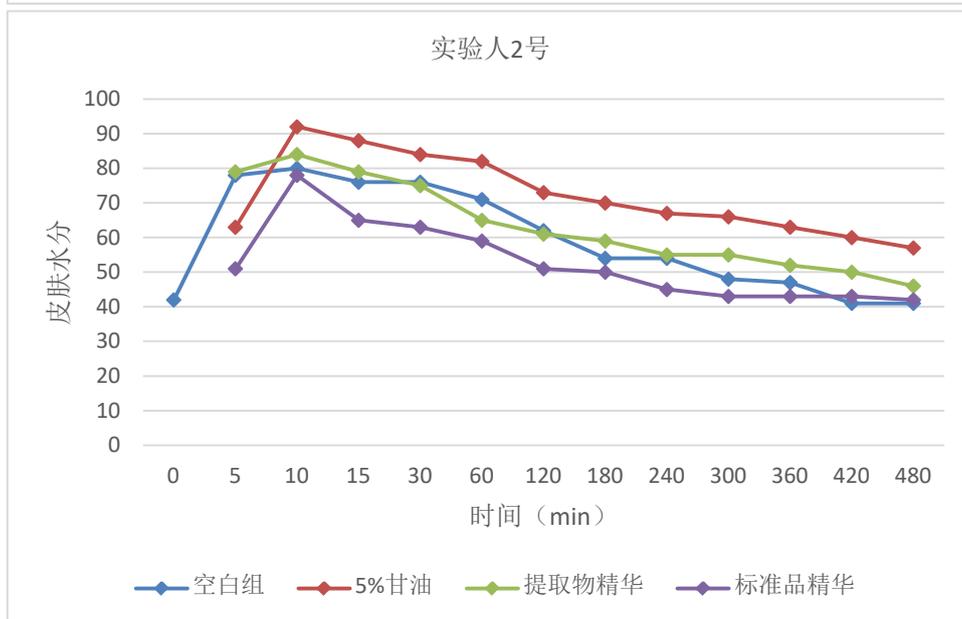
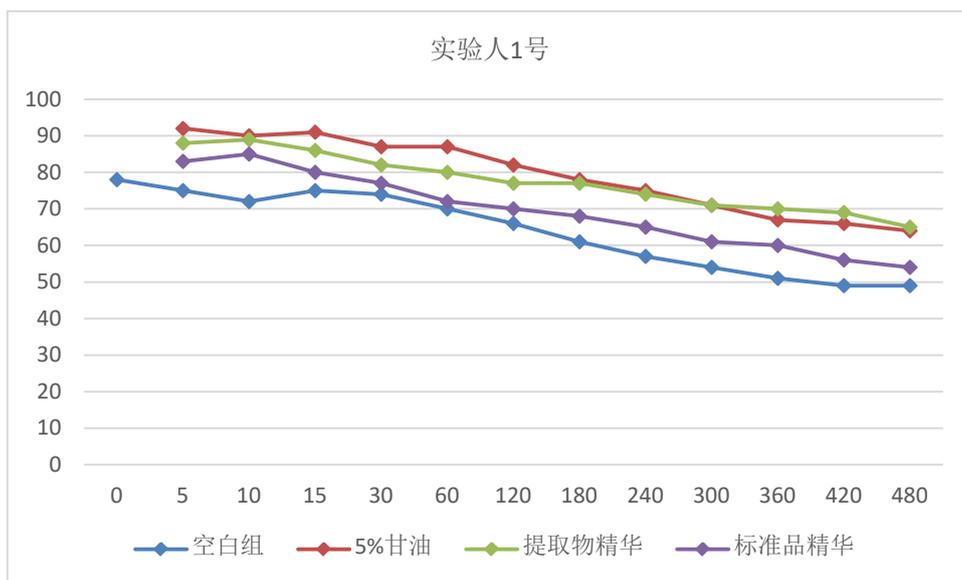
实验人2号													
时间(min)	0	5	10	15	30	60	120	180	240	300	360	420	480
组别													
空白组	42	78	80	76	76	71	62	54	54	48	47	41	41
5%甘油		63	92	88	84	82	73	70	67	66	63	60	57
提取物精华		79	84	79	75	65	61	59	55	55	52	50	46
标准品精华		51	78	65	63	59	51	50	45	43	43	43	42

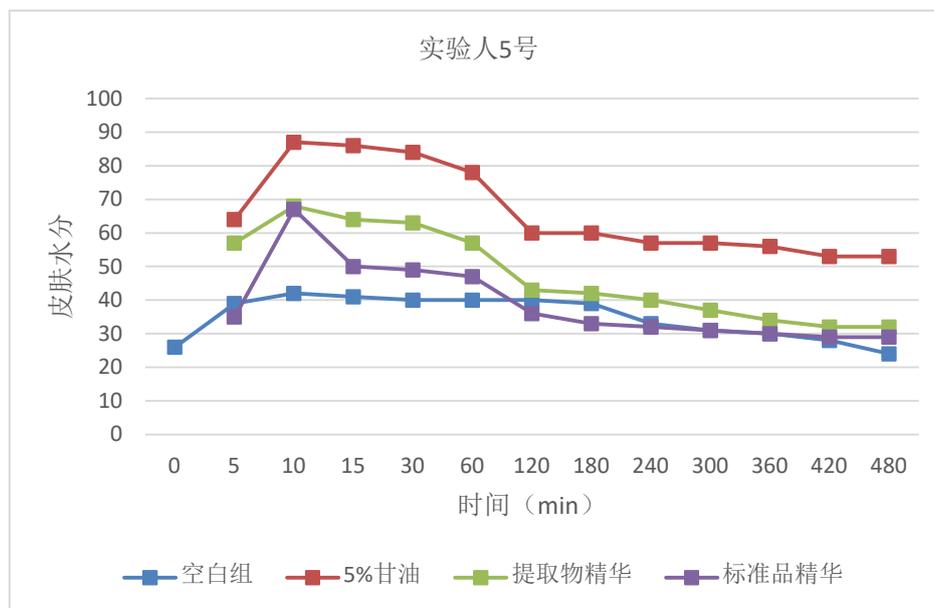
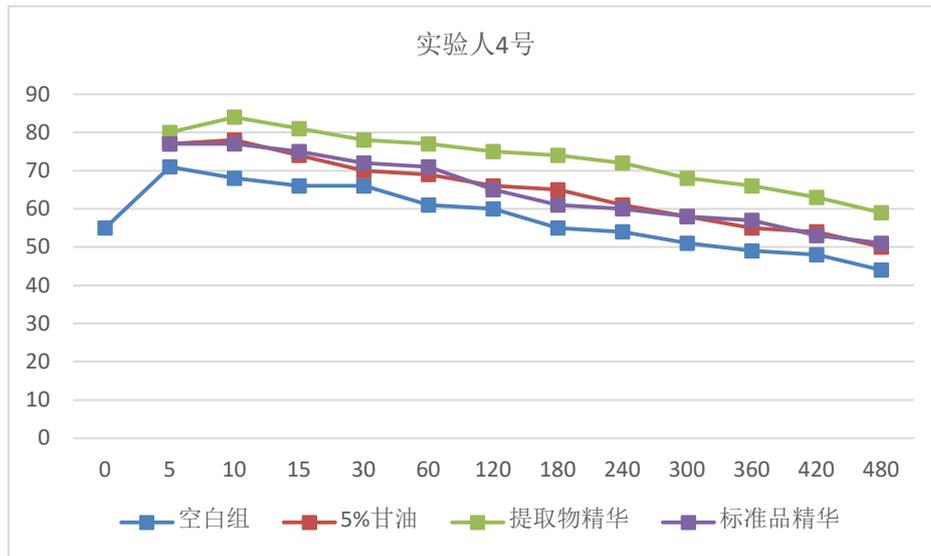
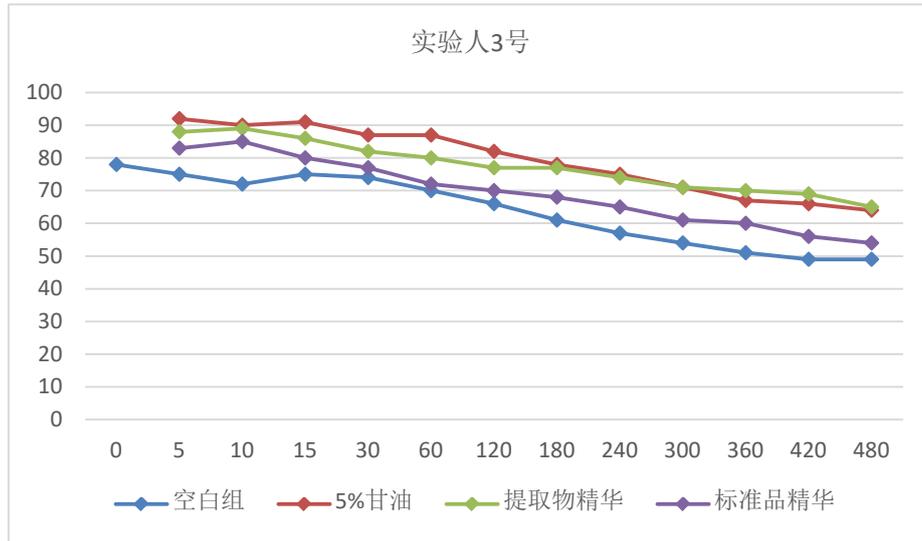
实验人3号													
时间(min)	0	5	10	15	30	60	120	180	240	300	360	420	480
组别													
空白组	71	60	72	85	88	74	74	61	55	54	54	52	47
5%甘油		94	93	90	87	86	86	77	75	74	66	65	59
提取物精华		86	81	79	78	76	69	68	66	65	65	63	63
标准品精华		78	75	70	68	66	66	61	54	46	44	43	41

实验人4号													
时间(min)	0	5	10	15	30	60	120	180	240	300	360	420	480
组别													
空白组	55	71	68	66	66	61	60	55	54	51	49	48	44
5%甘油		77	78	74	70	69	66	65	61	58	55	54	50
提取物精华		80	84	81	78	77	75	74	72	68	66	63	59
标准品精华		77	77	75	72	71	65	61	60	58	57	53	51

时间(min) \ 组别	0	5	10	15	30	60	120	180	240	300	360	420	480
空白组	26	39	42	41	40	40	40	39	33	31	30	28	24
5%甘油		64	87	86	84	78	60	60	57	57	56	53	53
提取物精华		57	68	64	63	57	43	42	40	37	34	32	32
标准品精华		35	67	50	49	47	36	33	32	31	30	29	29

时间(min) \ 组别	0	5	10	15	30	60	120	180	240	300	360	420	480
空白组	60	74	62	52	48	43	43	41	40	40	34	32	32
5%甘油		72	78	73	69	59	58	57	54	53	51	51	48
提取物精华		71	66	63	63	60	56	54	53	52	48	48	46
标准品精华		67	59	57	49	47	46	43	38	36	31	30	29





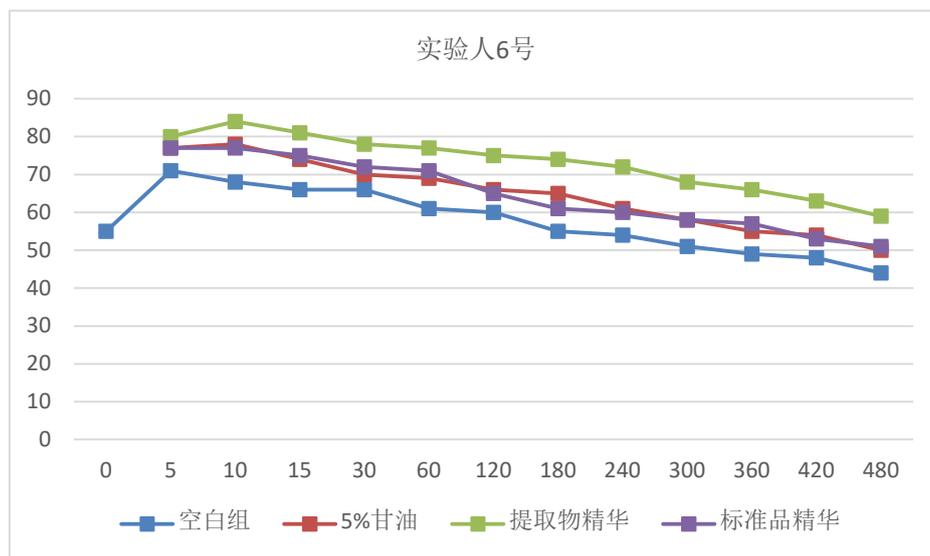


图3 不同实验人的保湿性皮肤试验数据图

Figure 3 Plot of skin test data for moisturising properties in different experimental subjects

3 讨论

通过对比分析本实验的数据可得出, 所得的紫苏提取物对 DPPH 最佳的清除率条件是浓度为 10mg/mL, 加入量为 25mL。通过重复实验, 我们可确定紫苏提取物相对于 RosA 标准品来说具有更良好的抗氧化能力。在保湿性皮肤测试中, 提取物精华对皮肤的保湿能力比 RosA 标准品精华更强, 虽然 5%甘油的保湿能力在部分数据上显得更为优异, 但通过查阅相关文献我们得知使用纯甘油作为保湿性化妆品往往会在一定时间后倒吸皮肤中的水分, 对人体皮肤产生不良的影响。因而, 通过综合考虑, 在本实验的四组样品中, 提取物精华组具有最佳的性能。与此同时, 在所有实验中未见提取物性质改变及不良反应的发生。

4 结论

本探究了如何从天然紫苏中提取迷迭香酸 (RosA) 的工艺, 并且通过对所提取出的迷迭香酸 (RosA) 进行纯化处理, 制备出了以 RosA 为主要活性物质的抗氧化面膜。通过对所制备的面膜进行抗氧化性能以及保湿性能的探究, 得出了该面膜的最佳配方是: 6g 聚乙烯吡咯烷酮 (PVP)、2g 甘油、30 mL 纯水、浓度为 10mg/mL, 加入量为 25mL 的紫苏提取物, 以该配方制备的精华液制成面膜具有极高的抗氧化能力及持续保湿能力, 同时也有着可

观的维生素 C 当量, 这表明了该面膜可能具有一定美白功效。在 DPPH 清除率实验和保湿性实验中, 紫苏提取物所显示出的抗氧化性和保湿性均优于标准品, 我们推断通过该提取方法从天然紫苏中提取迷迭香酸 (RosA) 时, 除了迷迭香酸 (RosA) 以外还有其他有效活性成分存在, 这一方面可进行进一步探索。综上所述, 本实验所探究的从紫苏中对于迷迭香酸的提取工艺及其性能的研究有着光明的应用前景, 值得进一步探索。此研究已通过伦理委员会审批。

参考文献

- [1] 张富东, 乔石, 易辉, 赵静, 刘粤, 张婷, 王美容, 李懿, 敏凤, 袁茂华, 余敏灵, 杨璐, 陈丽, 欧阳志珏, 何德强. 果参抗氧化面膜的研制. 香料香精化妆品. 2023.1.74-106.
- [2] 李童, 董艳辉, 叶志诚. 番茄红素抗衰老面膜的制备. 广州化工. 2020.48(21).63-65.
- [3] 许香琳, 姜小天, 韩美子, 孙志双, 施溯筠. 山葡萄皮渣抗氧化面膜的制备. 香料香精化妆品. 2020.04.57-60.
- [4] 李晓娇, 刘忆明, 段琴. 铁皮石斛抗氧化面膜的研制. 保山学院学报. 2019.38(02).36-39.
- [5] 薛皎. 紫苏迷迭香酸提取工艺及其应用研究. 中北大学. 2016.1-72.

- [6] 朱惠丽.紫苏中迷迭香酸的提取及紫苏提取物抗氧化性的研究. 天津科技大学.2004.1-57. 47(9).15-16.
- [7] 朱元龙.紫苏叶抗氧化物的提取分离及其在油脂中抗氧化应用研究.福建农林大学.2010.1-73.
- [8] 徐鸿嘉,潘宇,刘翼微,关裕诚,黄高翔,陈湛,刘建强.从紫苏中提取迷迭香酸与抗氧化面膜的制备.广东化工.2020.

版权声明: ©2023 作者与开放获取期刊研究中心(OAJRC)所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS