

儿茶素/壳聚糖复合膜的抗氧化性分析

郭梅英, 余 亮, 夏彩芬*

(湖北工程学院 化学与材料科学学院, 湖北 孝感 432000)

摘 要:以儿茶素和壳聚糖(CS)为主要原料,通过溶液共混法制备不同儿茶素含量的儿茶素/CS复合膜,并对其表面形貌、吸湿透湿性和抗氧化性的分析。结果表明,儿茶素在复合膜中分散均匀,随着儿茶素的加入复合膜的吸湿性逐渐提高,透湿性逐渐减弱。儿茶素/CS复合膜中加入质量分数为 0.8% 的儿茶素时对 DPPH· 的消除效果最好,为 77.78%;加入 0.4% 的儿茶素时对 ·OH 的消除效果最好,为 77.09%;加入 0.2% 的儿茶素时对 ·O₂⁻ 的消除效果最好,为 44.92%。

关键词:儿茶素;壳聚糖;复合膜;抗氧化性

中图分类号:O632.6 **文献标志码:**A **文章编号:**2095-4824(2020)06-0009-06

壳聚糖(CS)是一种具有聚阳离子弱碱性质的多糖,是由甲壳素在强碱条件下,脱去乙酰基制备而来^[1]。CS 主要来源于虾、蟹类动物外壳,是纯天然可再生、对生物体无害的生物物质资源,因其具有抗菌抑菌性、无毒性、生物相容性和成膜性等优良性能,在生物医药、食品保鲜和化妆品等领域得到广泛的应用^[2-3]。但 CS 的抗氧化性能一般,使得 CS 复合膜在面膜材料方面的发展受到一定的阻碍。在 CS 中加入聚乙烯醇(PVA)作交联剂可制得具有一定机械强度的 CS 复合膜,该复合膜是目前护肤面膜的主要材料之一。

儿茶素又称儿茶酸,主要来源于茶叶之中,其属于黄烷醇类化合物,是茶多酚类物质的主要成分。儿茶素类物质根据碳环的结构类型不同,可分为以下 4 种结构:表没食子儿茶素(EGC)、表儿茶素(EC)、表儿茶素没食子酸酯(ECG)和表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)^[4-5]。儿茶素的分子链上含有很多活性酚羟基,能与人体中因为新陈代谢而产生的自由基反应,使自由基失去氧化性而稳定下来,防止自由基氧化人体组织器官和细胞使其失去原有的功能,因此儿茶素的抗氧化

性很强,被广泛应用于生物医药领域中^[6]。儿茶素的提取方法主要有 4 种,分别是溶液浸提法、超声波提取法、微波提取法和酶提取法。实验室常用的方法是溶液浸提法,这种方法操作简单,成本低廉,但提取到的儿茶素纯度不高,易被氧化,后期还需多次除杂提纯。虽然儿茶素被广泛应用于医药保健和食品保鲜领域,但是它在护肤面膜方面的研究却较为少见。

在当今社会,随着人们生活水平和美容护肤意识的不断提高,人们对自身皮肤的护理和保养意识越来越强。面膜作为美容护肤营养物质的一种载体,通过直接覆盖到皮肤上将面膜中的营养物质作用于皮肤,起到补水保湿、美白的效果而深受人们的喜爱^[7]。近年来,受到环境恶化和电磁辐射的影响,皮肤老化速度加快,人们对面膜的要求不断提高,具备抗氧化性、抗衰老功能的面膜越来越具有市场竞争力。

本研究把不同质量的儿茶素添加到 CS 复合膜中,分析复合膜的吸湿透湿性和消除活性自由基的效果,探究儿茶素应用到面膜材料中的可行性,为儿茶素广泛应用于护肤面膜领域提供参考。

收稿日期:2020-09-21

基金项目:国家自然科学基金(21503075)

作者简介:郭梅英(2000-),女,河南洛阳人,湖北工程学院化学与材料科学学院学生。

夏彩芬(1979-),女,湖北武汉人,湖北工程学院化学与材料科学学院副教授,博士,本文通信作者。

1 实验步骤

1.1 材料与仪器

主要实验药品:壳聚糖(低粘度),分析纯,上海瑞水生物有限公司;聚乙烯醇(PVA),分析纯,国药集团化学试剂有限公司;儿茶素,纯度>98%,大连美仑生物技术有限公司;双氧水,纯度 $\geq 36\%$,国药集团化学试剂有限公司;结晶紫,分析纯;国药集团化学试剂有限公司;磷酸二氢钾,分析纯,天津市东丽区泰兰德化学试剂厂;DP-PH,纯度>97%,上海阿拉丁生化科技股份有限公司;焦性没食子酸,分析纯,天津博迪化工股份有限公司。

主要实验仪器:SQP 电子天平,赛多利斯科学仪器有限公司;DF-101S 磁力搅拌器,河南予华仪器设备有限公司;SHZ-D 循环水多用真空泵,巩义市科华仪器设备有限公司;DZF-6050 真空干燥器,上海索普仪器有限公司;JSM-6510 扫描电子显微镜,日本电子株式会社;TU-1901 双光束紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司;KQ-5013 型超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司。

1.2 PVA/CS 铸膜液的优化

将 PVA/CS 总质量控制在 2 g,分别按照不同质量分数的 PVA(5%、10%、15%、20%、25%)称取不同量的 PVA 和 CS,用 50 mL 的去离子水,在磁力搅拌器下的 85 ℃ 恒温油浴中,溶解 PVA。用 100 mL 的 1% 冰醋酸溶液,采用同种方法,在 55 ℃ 恒温油浴中磁力搅拌 2 h,溶解 CS,且冷却 CS 溶液后用 3 层纱布过滤,从而保证除去其中不溶性杂质。随后,将配置好的不同比例的 PVA、CS 溶液共混,再放入 55 ℃ 的恒温磁力搅拌器中油浴 1 h。

分别取上述不同质量比的混合液 25 mL 平铺到有机玻璃模具中,以流延法使其流至整个底部,放置在真空干燥箱中脱去铸膜液中的气泡,脱后再放置于 35 ℃ 烘箱中烘烤 8 h,待其成膜后从模具上将其揭下,放在干燥通风的环境晾干,之后再放入扫描电镜中,观察 PVA/CS 膜的表面形貌,判断二者的相容性,选择最合适的配比,进行下一步试验。

1.3 儿茶素/CS 复合膜的制备

根据上述步骤选出 PVA/CS 铸膜溶液的最佳配比,在 PVA/CS 最佳配比的铸膜溶液中添加

不同比例的儿茶素,其质量分数依次为 0、0.2%、0.4%、0.6%、0.8%,儿茶素/CS 混合溶液依次命名为 Q1、Q2、Q3、Q4、Q5,将所得不同比例的儿茶素/CS 混合溶液放入 35 ℃ 的磁力搅拌器中搅拌 0.5 h,量取 25 mL 的混合液,注入 10 cm×10 cm 有机玻璃模具中,将其铺平,涂抹均匀,真空脱泡后置于 35 ℃ 的真空干燥箱内烘 10 h。

1.4 复合膜表面结构分析

将复合膜剪成适合大小的条状,用导电胶固定在样品盘上,再将其置于喷金仪中喷金,喷金后置于扫描电镜中,观察样品的表面形貌特征,分析复合膜的分散效果。

1.5 吸湿性分析

将儿茶素/CS 复合膜裁成 20 mm×20 mm 的样条,称量样条的初始质量 M_1 ,在室内温度为 15 ℃ 的条件下,在两个干燥器底部放入无水氯化钙,再分别放入氯化镁和氯化钾饱和盐溶液,维持干燥器的相对湿度(RH)分别为 33% 和 85%,将样条置于两个相对湿度不同的干燥器中,放置 0.5 d、1 d、1.5 d、2 d、2.5 d,称量各个时间段样条的质量 M_2 ,用公式(1)计算复合膜吸湿率(%)^[8]。

$$\text{吸湿率}(\%) = \frac{M_2 - M_1}{M_1} \times 100\% \quad (1)$$

1.6 透湿性分析

水蒸气的透过率及透湿性也是面膜材料的一个重要指标,对复合膜进行透湿性测试,选择 5 个形状、大小和质量都相同的试剂瓶,在试剂瓶内放置三分之一厚度的无水氯化钙,再在试剂瓶口均匀涂抹凡士林,将复合膜(20 mm×20 mm)紧贴在试剂瓶上将其密封,称量试剂瓶的重量,然后置于相对湿度为 70%、温度为 25 ℃ 的环境中,使膜两侧的蒸气压保持稳定,每隔 1 h 测量 1 次试剂瓶的重量,共记录 8 组数据^[9],用公式(2)计算水蒸气透过率 WVP(%)^[10]。

$$\text{WVP}(\%) = \frac{24 \times \Delta m}{t \times A} \times 100\% \quad (2)$$

式中:WVP 为水蒸气透过率(g/(d·m²)), Δm 为测试瓶质量的变化(g),A 为膜面积(m²),t 为时间(h)。

1.7 抗氧化性能分析

1.7.1 清除 DPPH· 的能力

配制 pH 7.3 的 PBS 缓冲溶液。准确称取一定量的 DPPH,加入 80 mL 无水乙醇,配成 0.1 mmol/L 的 DPPH 无水乙醇溶液。分别量取 4

mL 的 pH 7.3 的 PBS 和 4 mL 的 0.1 mmol/L 的 DPPH 无水乙醇溶液于 10 mL 的离心管中,将复合膜裁成 35 mm×15 mm 的样条置于离心管中,25 ℃ 恒温震荡摇匀,在日光灯下反应 0.5 h,在紫外-可见光区的最大吸收波长处测量溶液的吸光度^[11]。用公式(3)计算对 DPPH· 的清除率 k (%)^[12-13]:

$$k = \frac{A_0 - A_1}{A_1} \times 100\% \quad (3)$$

式中: A_0 为纯 DPPH 溶液的吸光度, A_1 为复合膜作用后的吸光度。

1.7.2 清除羟基自由基($\cdot\text{OH}$)的能力

吸取 1 mL 浓度为 0.4 mmol/L 的结晶紫溶液于 10 mL 的离心管中,先后分别加入 5 mL 的 pH 为 7.3 的 PBS 溶液、1 mL 的 1 mmol/L 的 FeSO_4 溶液和 1 mL 的 6% H_2O_2 及裁好的 35 mm×15 mm 复合膜样条,在 25 ℃ 环境下恒温震荡 30 min,使其充分反应,最后在紫外-可见光区的最大吸收波长处测定其溶液的吸光度,用蒸馏水做空白样品作为对照,根据公式(4)计算清除率 k (%)^[14-15]:

$$k = \left(1 - \frac{A - A_1}{A_2}\right) \times 100\% \quad (4)$$

式中: A 为复合膜和 $\cdot\text{OH}$ 作用后的吸光度, A_1 为复合膜的吸光度, A_2 为蒸馏水的吸光度

1.7.3 清除超氧阴离子($\cdot\text{O}_2^-$)的能力

量取 50 mL Tris 碱溶液和 22.9 mL 的 0.1 mol/L HCl 于 100 mL 容量瓶中,加入去离子水配制成 100 mL 的 pH 为 8.2 的 Tris-HCl 缓冲溶液,向 10 mL 的离心管中加入 8 mL pH 8.2 的 Tris-HCl 缓冲溶液和裁好的膜样条(35 mm×15 mm),在 25 ℃ 下恒温震荡 20 min,再加入 0.1 mL 45 mmol/L 的焦性没食子酸,迅速摇晃均匀溶液后倒入比色皿中,在最大吸收波长处测样品溶液的吸光度 A_1 ,用蒸馏水作为空白试样测吸光度 A_0 ,每隔 30 s 测 1 次,共测 8 组数据,分别做样品溶液和对照溶液的吸光度随时间变化的线性方程^[16],方程模式为 $A = kt + b$, A 为吸光度, k 为自氧化速率, t 为放置时间,对应的自氧化速率分别为 k_1 和 k_0 ,相关系数 R^2 ,根据公式(5)计算清除超氧阴离子的能力 k (%) :

$$k = \frac{k_0 - k_1}{k_0} \times 100\% \quad (5)$$

2 结果与分析

2.1 PVA/CS 铸膜液最佳配比的测定

将复合膜处理好后放入扫描电镜中,放大 1000 倍,观察其表面形貌,发现复合膜中 PVA 所占质量分数为 15% 时二者的相容性最好,因此选择这样配比的铸膜液作为下面实验的基底铸膜液(PVA/CS 复合膜 SEM 图像未给出)。

2.2 儿茶素/CS 复合膜表面形貌分析

将复合膜放入扫描电镜中,在 1000 倍的状态下,可以清楚地看到复合膜 Q1、Q2、Q3、Q4、Q5 的表面形貌,如图 1 所示(不含截面图)。

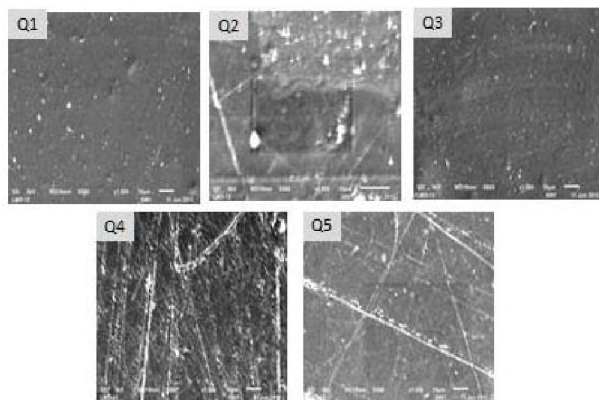


图 1 复合膜的 SEM 图

由 SEM 图像发现,空白试样 Q1 表面比较平整,表面空隙较少,说明 PVA 和 CS 相容性较好,当分别加入质量分数为 0.2%、0.4%、0.6%、0.8% 的儿茶素后,复合膜 Q2、Q3、Q4、Q5 表面依旧非常平整,这说明儿茶素在复合膜中分散效果很好,且儿茶素的加入几乎不影响复合膜的表面形貌。

2.3 吸湿性分析

儿茶素加入到 CS 溶液中,可以让壳聚糖的亲水基团和水分子形成氢键,大大提高了壳聚糖的吸湿性。图 2 和图 3 为儿茶素/CS 复合膜在低湿度和高湿度下,吸湿性随时间和儿茶素含量的变化图,儿茶素的加入,有利于提高壳聚糖中亲水基团的能力。由图 2 可知,在相对湿度为 33% 时,样品吸湿率大小为 $Q3 > Q5 > Q4 > Q1 > Q2$,随着样品放置时间逐渐变长,复合膜总体的吸湿率是先提高后降低,由于加入的儿茶素含量较少,不同儿茶素比例的复合膜吸湿率变化幅度不是特别明显,在 60 h 时,各样品的吸湿率都逐渐靠近。其中的 Q3 在放置 36 h 时,吸湿率达到最高 7.8%。即儿茶素质量分数为 0.4% 时,儿茶素/CS 复合膜在低湿度下的吸湿性最好。

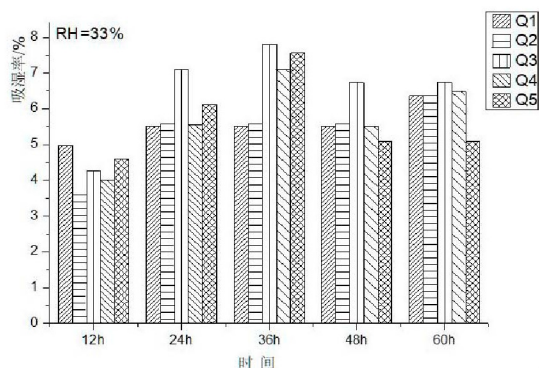


图2 复合膜吸湿率随时间的变化(RH 33%)

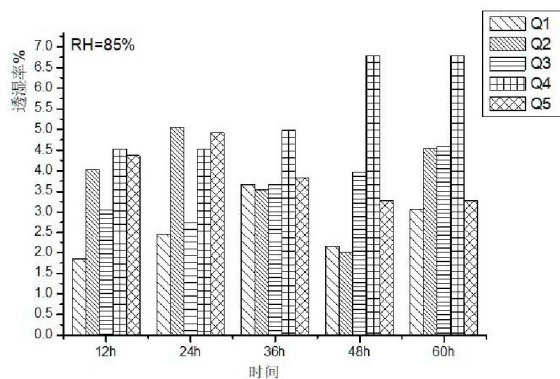


图3 复合膜的吸湿率随时间的变化(RH 85%)

由图3可知,在相对湿度为85%,样品吸湿率大小为 $Q4 > Q5 > Q2 > Q3 > Q1$,在高湿度下复合膜的吸湿率逐渐增加,放置48 h时,Q4的吸湿率达到最大6.79%,且放置60 h后吸湿率变化不大。因此儿茶素质量分数为0.6%时,儿茶素/CS复合膜的吸湿率最佳。

2.4 透湿性分析

面膜中含有大量水分,但在在使用过程中水分会被蒸发掉一部分,因此面膜材料应具有较低透湿率,才能使面膜能有效地锁住水分,降低营养物质的流失,从而提高敷面效果。不同比例的儿茶素对复合膜的水蒸气透过率如图4所示。

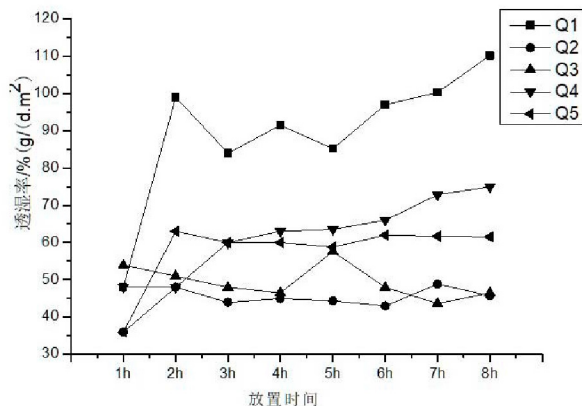


图4 复合膜随时间变化的透湿率

从图4中可以看出,空白试样Q1的水蒸气透过率最大,加入儿茶素之后,水蒸气透过率显著下降,Q2对水蒸气阻隔效果最好,由此可知儿茶素加入到复合膜后能使复合膜的水蒸气透过率显著减小。水蒸气透过率的大小为 $Q1 > Q4 > Q5 > Q3 > Q2$,但是当儿茶素含量进一步增加时,水蒸气透过率有微弱的上升趋势,主要原因是随着儿茶素量不断增加,复合膜的紧密结构被破坏,分子间开始变得疏松,对水蒸气的屏蔽作用变弱。因此儿茶素质量分数为0.2%时,儿茶素/CS复合膜的保湿效果最好。

2.5 抗氧化性能测定

自由基来源于人体各个部位正常新陈代谢,适量的自由基对人体不会有太大的危害,但当自由基过多时,就会加速细胞凋亡,诱导细胞癌变,引发一系列的疾病,因此人体需要摄入抗氧化剂来消除多余的自由基。自由基的种类主要有羟基自由基、含氮自由基和超氧自由基,用儿茶素/CS复合膜分别对这3种自由基进行抗氧化分析,分析不同质量分数的儿茶素/CS复合膜对自由基的清除效果。

2.5.1 清除DPPH·的能力

DPPH·是很稳定的一种经典含氮自由基,分析对DPPH·的消除能力可判断儿茶素的抗氧化性强弱。不同质量分数的儿茶素对DPPH·的清除率见图5。

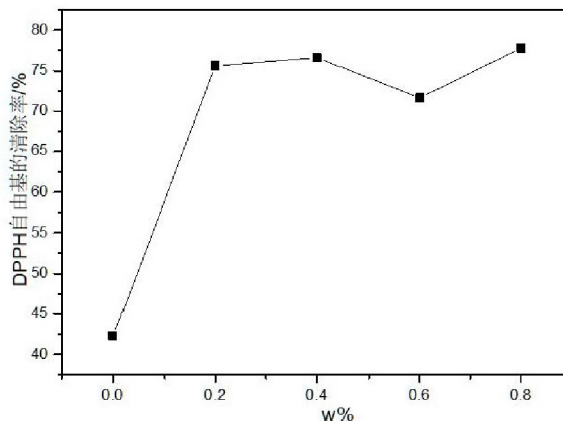


图5 不同质量分数的儿茶素对DPPH·的清除率

由图5可知,加入儿茶素后复合膜对DPPH·的清除率显著提高,其中Q5对DPPH·的清除率最大为77.78%,空白试样Q1的清除率只有42.26%,当加入0.2%的儿茶素后,复合膜对DPPH·的清除率提高到75.6%。在被测浓度范围内,当儿茶素的含量进一步增加时,复合膜的清除

效果较为稳定。儿茶素/CS 复合膜对 DPPH· 清除能力的强弱为 $Q5 > Q3 > Q4 > Q2 > Q1$ 。这表明儿茶素的加入能有助于复合膜抵抗自由基引起的氧化作用,加入的儿茶素质量分数为 0.8% 时,儿茶素/CS 复合膜对 DPPH· 的清除效果最好。

2.5.2 清除·OH 的能力

·OH 是含氧自由基中氧化活性最强的一种,因此检测儿茶素/CS 复合膜对清除·OH 的能力是评价复合膜抗氧化性强弱的重要指标。不同质量分数的儿茶素对·OH 的清除率见图 6。

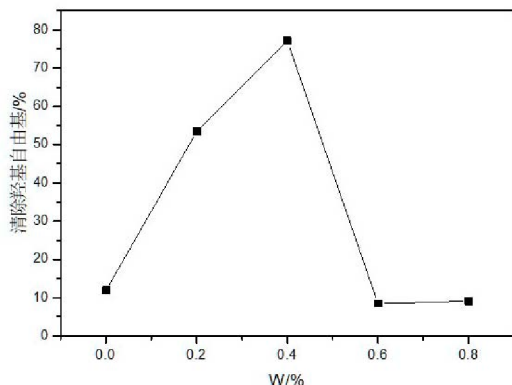


图 6 不同质量分数的儿茶素对·OH 的清除率

由图6可知,随着儿茶素的加入,复合膜对·OH 的清除率先增加然后减小,复合膜对·OH 清除率的大小顺序为 $Q3 > Q2 > Q1 > Q5 > Q4$,样品 Q3 清除效果最好,为 77.09%,即儿茶素的质量分数为 0.4% 时,对·OH 的清除效果最好。在 Q3 之后,但随着儿茶素的量进一步增加,清除率迅速下降。这表明低浓度的儿茶素对·OH 有显著的清除作用,一旦儿茶素的量过多,其对·OH 的清除效果就会显著下降。

2.5.3 清除·O₂⁻ 的能力

焦性没食子酸可发生自氧化反应生成·O₂⁻,·O₂⁻ 跟某些物质反应产生有色物质,从而改变溶液的吸光度,利用溶液吸光度的不同,可知不同比例的儿茶素/PVA/CS/复合膜对·O₂⁻ 产生清除作用。吸光度与样品放置时间呈正相关,对其进行线性拟合,拟合结果如表 1 所示,由表 1 中数据可间接判断复合膜的抗氧化能力。

不同浓度的儿茶素对·O₂⁻ 的清除率见图 7。由图 7 可知,Q2 对·O₂⁻ 具有清除效果,最好的为 44.92%,即儿茶素的质量分数为 0.2% 时,儿茶素/CS 复合膜对·O₂⁻ 清除效果最好。复合膜对·O₂⁻ 的清除率先增大后变小,从整体上看,复合膜对·O₂⁻ 清除率较低,且微量的儿茶素对·O₂⁻

的清除效果较好。

表 3 样品清除率线性拟合关系

样品编号	k_1	k_0	R^2
空白样	—	0.3226	0.9916
Q1	0.1806	0.3226	0.9889
Q2	0.1777	0.3226	0.9992
Q3	0.1973	0.3226	0.9978
Q4	0.2138	0.3226	0.9964
Q5	0.2025	0.3226	0.9951

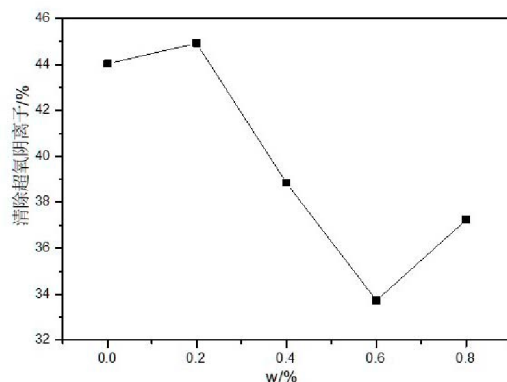


图 7 不同浓度的儿茶素对·O₂⁻ 的清除率

3 结论

本文对不同质量分数的儿茶素加入到复合膜后的表面形貌、吸湿透湿性、抗氧化性进行了分析,发现加入儿茶素后不会破坏复合膜光滑平整的表面形貌,且在复合膜中的分散效果较好,增加加入的儿茶素的质量分数后复合膜的吸湿性逐渐增大,透湿性逐渐减小,表明儿茶素的加入增强了复合膜吸水 and 保湿的能力。

本文还通过测定复合膜对各类自由基的清除率来综合评定儿茶素/CS 复合膜的抗氧化能力,结果表明,当添加 0.8% 的儿茶素时,对 DPPH· 的清除率最高,为 77.78%;添加 0.6% 的儿茶素时,对·OH 的最大清除率为 77.09%;添加 0.2% 的儿茶素时,对·O₂⁻ 清除效果最好,最大值为 44.92%。从总体上看,儿茶素加入到壳聚糖复合膜中能有效消除各类自由基。

[参 考 文 献]

- [1] 田园,许树军,刘磊,等. 两亲性壳聚糖的研究进展[J]. 化学与黏合,2019,41(3):217-219.
- [2] 甘莉,张钟,李春海,等. 溶液插层法制备 CS/MMT 复合保鲜膜及其性能表征[J]. 广东石油化工学院学报,2019,29(3):65-70.
- [3] DWIVEDI M, TEWARI A K, KUMAR J. Enzy-

- matic activity and secondary metabolite profile of *Trichoderma asperellum* in presence of chitosan [J]. *Indian Phytopathology*, 2019, 72(3): 437 – 444.
- [4] 陆昌琪, 毛世红, 童华荣, 等. 儿茶素及其衍生物合成研究进展[J]. *食品科学*, 2018, 39(11): 316 – 326.
- [5] NID J, AI Z Y, MUNOZ-SANDOVAL D, et al. Inhibition of the facilitative sugar transporters (GLUTs) by tea extracts and catechins [J]. *The FASEB Journal*, 2020, 34(8): 9995 – 10010.
- [6] 丁莎莎, 丁阳平, 罗赛, 等. 儿茶素衍生物合成及药理作用研究进展[J]. *食品科学*, 2012, 33(17): 318 – 326.
- [7] 付思娅, 李娟. 面膜研究进展探析[J]. *化工管理*, 2017 (22): 117 – 121.
- [8] STASI E, GIURI A, FERRARI F, et al. Biodegradable Carbon-based Ashes/Maize Starch Composite Films for Agricultural Applications[J]. *Polymers*, 2020, 12(3): 524.
- [9] 徐彬飞, 孙佳明, 赵海霞, 等. 纳米纤维素-壳聚糖复合膜的制备及性能[J]. *广州化工*, 2017, 45(1): 31 – 33.
- [10] 李妍, 黄明菊, 曹珂珂, 等. 壳聚糖纳米粒对羟丙甲纤维素可食用膜的改性工艺研究[J]. *蚌埠学院学报*, 2020, 9(5): 6 – 9.
- [11] 秦修远, 曹珂璐, 王雨辰, 等. 玉米低聚肽螯合物的体外抗氧化作用[J]. *食品科技*, 2019, 44(1): 297 – 301.
- [12] 聂文林, 唐荣平, 李华泽. 茶叶提取浸膏的抗氧化性研究[J]. *黑龙江农业科学*, 2020(10): 89 – 92.
- [13] SUN M Y, LIU N, NIS Z, et al. Poplar Hot Water Extract Enhances Barrier and Antioxidant Properties of Chitosan/Bentonite Composite Film for Packaging Applications [J]. *Polymers*, 2019, 11(10): 1614.
- [14] 王国良. 水麻叶多酚提取纯化及其抗氧化、抗癌活性研究[D]. 西安: 陕西师范大学, 2018.
- [15] 汤慧敏, 周丽菊. 超声波辅助纤维素酶提取核桃壳多糖及其抗氧化活性研究[J]. *中国油脂*, 2020, 45(2): 101 – 105.
- [16] 韩少华, 朱靖博, 王妍妍. 邻苯三酚自氧化法测定抗氧化活性的方法研究[J]. *中国酿酒*, 2009, 207(6): 155 – 157.

Study on Oxidation Resistance of Catechin/Chitosan Composite Film

Guo Meiyang, She Liang, Xia Caifen*

(School of Chemistry and Materials Science, Hubei Engineering University, Xiaogan, Hubei 432000, China)

Abstract: In this paper, catechin and chitosan (CS) were used as the main raw materials to prepare catechin /CS composite films with different catechin quality fraction by solution blending method. The results showed that catechin dispersed evenly in the composite film and did not destroy the surface morphology of the composite film. The best elimination effect of DPPH · was 77.78% when the mass fraction of 0.8% catechin was added to the catechin /CS composite film. The best elimination effect of ·OH was 77.09% when 0.4% catechin was added. When 0.2% catechin was added, the best elimination effect of $\cdot O_2^-$ was 44.92%.

Key Words: catechin; chitosan; composite film; oxidation resistance

(责任编辑: 邹礼平)