

# 羧甲基裂褶多糖的制备及其保湿活性研究

郑必胜<sup>1</sup>, 胡康<sup>1</sup>, 周立武<sup>2</sup>, 何海鸥<sup>2</sup>

(1. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)(2. 珠海伊斯佳科技股份有限公司, 广东珠海 519055)

**摘要:** 通过响应面试验研究氯乙酸与裂褶多糖质量比, 反应时间, 反应温度对裂褶多糖的羧甲基化取代度的影响。采用体外重量法和体表仪器法, 与常用化妆品保湿剂甘油和透明质酸比较, 研究羧甲基裂褶多糖的保湿功效。响应面实验结果表明, 氯乙酸与裂褶多糖质量比为 2.38, 反应温度为 61.58 °C, 反应时间为 2.82 h 时有最大取代度 0.54。体外保湿试验结果表明: 在相对湿度为 43% 和 81% 条件下, 吸湿性大小顺序为羧甲基裂褶多糖>甘油>透明质酸>裂褶多糖; 在干燥硅胶环境下, 保湿性大小为甘油>裂褶多糖>羧甲基裂褶多糖>透明质酸; 在相对湿度为 43% 条件下, 保湿性大小顺序为甘油>羧甲基裂褶多糖>透明质酸>裂褶多糖。体表保湿试验结果表明: 羧甲基裂褶多糖保湿效果显著优于透明质酸, 低于甘油, 但是其锁水保湿性强于甘油和透明质酸。

**关键词:** 裂褶多糖; 羧甲基化; 响应面; 保湿功效

文章编号: 1673-9078(2017)8-254-261

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.8.037

## Synthesis and Moisture Retention Activity of Carboxymethyl Schizophyllan

ZHENG Bi-sheng<sup>1</sup>, HU Kang<sup>1</sup>, ZHOU Li-wu<sup>2</sup>, HE Hai-ou<sup>2</sup>

(1. College of Food Science and Technology, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(2. Zhuhai Easycare Science and Technology Co., Ltd., Zhuhai 519055, China)

**Abstract:** The effects of the mass ratio of chloroacetic acid to schizophyllan, reaction time, and reaction temperature on the degree of substitution in carboxymethyl schizophyllan were studied using response surface experiments. The *in vitro* weight method and body surface instrument method were used to study the moisturizing effects of carboxymethyl schizophyllan, which were then compared with the commonly used cosmetic moisturizers glycerol (G) and hyaluronic acid (HA). The response surface experiments showed that, under the optimum conditions (the mass ratio of chloroacetic acid to schizophyllan of 2.38, reaction temperature of 61.58 °C, and reaction time of 2.82 h), the maximum degree of substitution (0.54) was obtained. *In vitro* test results showed that under relative humidity conditions of 43% and 81%, the moisture absorption rates of the samples were in the order of carboxymethyl schizophyllan > glycerol > hyaluronic acid > schizophyllan. Under dry environment conditions using silica gel, the moisture retention rates of the samples were in the order of glycerol > schizophyllan > carboxymethyl schizophyllan > hyaluronic acid. Under relative humidity of 43%, the moisture retention rates of the samples were in the order of glycerol > carboxymethyl schizophyllan > hyaluronic acid > schizophyllan. The skin moisturizing test showed that the moisturizing effect of carboxymethyl schizophyllan was significantly higher than that of hyaluronic acid and lower than that of glycerol, and the water-locking effect of carboxymethyl schizophyllan was stronger than those of glycerol and hyaluronic acid.

**Key words:** schizophyllan; carboxymethylation; response surface; moisturizing effect

裂褶多糖 (Schizophyllan) 是由裂褶菌 (*Schizophyllum commune*) 子实体经提取或液体深层发酵产生的一种中性多糖。裂褶多糖是以葡萄糖为单一组分的  $\beta$ -(1-3)-D 葡聚糖, 其中每三个葡萄糖分子上链有一个  $\beta$ -(1-6) 葡萄糖苷分支, 具有抗癌、抗肿瘤、免

收稿日期: 2016-01-12

基金项目: 广东省科技计划项目 (2013B090600129、2014A010107007、2013B090800033); 广州市科技计划资助项目 (201604016114)

作者简介: 郑必胜 (1966-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 功能碳水化合物、糖类物质及药物制备

疫调节、抗菌消炎和抗衰老等活性<sup>[1]</sup>。近年来, 裂褶多糖在化妆品中的应用越来越受到关注。Lee Seung Hwa 等人研究分子量为  $2 \times 10^6 \sim 5 \times 10^6$  u 的裂褶多糖和透明质酸联用应用于粉底霜、粉底液、化妆水、润肤霜、保湿霜和润肤露等<sup>[2]</sup>。Kim Moo Sung 等人研究发现裂褶多糖能帮助增加皮肤细胞的增殖、胶原合成和晒伤的恢复, 能有效减少皮肤刺激<sup>[3]</sup>。Lee Jun Bae 等人研究发现裂褶多糖和酵母多肽联用能增加皮肤表皮角质层的水分含量, 减少水分蒸发, 防止表皮透明度降低、皮肤粗糙, 防止皮肤光泽暗淡, 产生细小皱纹

[4]。Lee Geun Soo 等人将裂褶多糖与其他草本植物提取物联合使用,研究一种含有混合粗提物的化妆品组合物,以增强抗氧化、胶原合成、抗皱纹和美白效果[5]。现如今市场上已有相关产品,如韩国护肤品牌雪花秀生产的一款保湿霜产品 Sulwhasoo Hydroaid,主要功效是保湿,抗辐射;如西班牙品牌 Alqvimia 生产的 Eternal Youth Cream,主要功效是抗衰老和提升肌肤活力[6]。

本文通过对裂褶多糖的羧甲基化,提高了其水溶性,采用体外称重法和体表仪器法,并与常用化妆品保湿剂甘油和透明质酸作比较,研究改性多糖的保湿活性,为进一步探讨裂褶多糖在化妆品方面的应用提供技术条件和理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

原料:裂褶菌 GIM 5.43,广东省微生物研究所。试剂:异丙醇、氯乙酸、羟基乙酸、铬变酸和丙三醇等都为国产分析纯,透明质酸,珠海伊斯佳科技股份有限公司提供。

### 1.2 仪器与设备

CPA 2245 型分析天平、Vivaflow 50 超滤膜包,德国 Sartorius 公司;Alpha 1-2 LD plus 冷冻干燥机,德国 Christ 公司;DU730 型 Nucleic Acid/Protein Analyzer,美国 Beckman Coulter 公司;FE 20 型 pH 计,瑞士 Mettler Toledo 公司;MoistureMeter SC Compact 紧凑型皮肤水合测量仪、VaporMeter 经皮水分流失测量仪,芬兰 Delfin Technologies 公司。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 裂褶多糖的制备

裂褶菌在固体培养基中活化 7 d 后接种到摇瓶培养 2 d,以 10% (V/V) 接种量接到发酵罐中培养 4 d,结束发酵过程[7]。发酵液离心去除菌体,上清液滤纸过滤,Sevag 法除蛋白,80%乙醇沉淀,复溶后冷冻干燥,得裂褶多糖 (SPG)。

#### 1.3.2 裂褶多糖的羧甲基化

裂褶多糖的羧甲基化方法参照文献[8]稍作修改,称取 500 mg 经冷冻干燥的裂褶多糖于 150 mL 锥形瓶中,加入 50 mL 异丙醇,磁力搅拌 1 h,用移液枪分 3 次加入一定量 30% 氢氧化钠,每隔 15 min 一次,室温搅拌 1 h,氢氧化钠质量与后续氯乙酸量相同[9]。再分 3 次加入一定量 4 mol/L 的氯乙酸,每隔 15 min 一次。

一定温度下搅拌一定时间。反应液 3000 r/min 离心 20 min,沉淀用去离子水溶解,用 0.1 mol/L 乙酸滴定至 pH 6.5~7 并转移至超滤系统处理后,经冷冻干燥得羧甲基裂褶多糖 (CM-SPG)。

#### 1.3.2.1 响应面试验

采用 Box-Behnken 实验方法进行三因素三水平实验,以羧甲基取代度为响应值进行响应面分析。三个因素分别为氯乙酸与裂褶多糖质量比、反应温度和反应时间,分别编号为 A、B 和 C。综合课题组前期实验结果[9],对各因素的设计水平如表 1 所示。

表 1 各因素及其水平  
Table 1 Factors and levels

编码	因素	水平		
		-1	0	1
A	氯乙酸与裂褶多糖质量比	1	2	3
B	反应温度/°C	50	60	70
C	反应时间/h	2	3	4

#### 1.3.2.2 羧甲基取代度测定

羧甲基裂褶多糖的羧甲基取代度 (DS) 分析采用分光光度比色法[10],参考文献稍作修改。准确称取样品,用 0.25 mol/L NaOH 溶液配置成 1 mg/mL,取 1 mL 样品于 25 mL 具塞试管中,加 1% 铬变酸 0.5 mL 及浓硫酸 5 mL,摇匀后沸水浴 0.5 h。冷却至室温,用 30% 乙酸铵定容到刻度,显色后溶液呈紫红色,在波长 570 nm 处测定吸光度。根据羟基乙酸标准曲线  $y=0.00178x-0.00133$ ,  $R^2=0.9985$ ,取代度按下式计算:

$$DS=162A/(76-80A)$$

式中:A 表示每克 CM-SPG 样品相当羟基乙酸的量, g。

按多糖羧甲基取代度,取 3 个代表性组分进行实验,分别记为 CM-SPG1、CM-SPG2 和 CM-SPG3。

#### 1.3.3 多糖溶解性的测试

参考药典方法[11],具体操作是将 1 mg 样品用镊子尽量分散后,置于(25±1) °C 的装有 10 mL 相应溶剂的具塞试管中,每隔 5 min 强力振摇 30 s,30 min 内观察样品溶解情况。如看不见溶质颗粒或液滴时,视为完全溶解。随后室温放置一周,继续观察样品溶解情况。

#### 1.3.4 多糖分子量测定

色谱柱:TSK-GEL G-4000PW<sub>XL</sub> column(7.8 mm×300 mm);柱温为 40 °C,流动相为超纯水,流速为 0.6 mL/min;进样量为 10 μL;检测器为蒸发光散射检测器,漂移管温度为 70 °C,喷雾器为 50%,增益 200,氮气压力为 45 psi。

#### 1.3.5 多糖红外光谱分析

干燥的多糖 2 mg 与 100 mg 的 KBr 混合研磨均匀

后压片,放入傅里叶变换红外光谱仪(FT-IR)内,在4000~400  $\text{cm}^{-1}$  区间进行扫描。

### 1.3.6 多糖保湿活性试验

#### 1.3.6.1 体外吸湿试验

体外吸湿试验方法参照文献<sup>[12]</sup>稍作修改,称取100 mg 的干燥试样于称量瓶中,将称量瓶分别敞口置于相对湿度(RH)为43%和81%的干燥器内,分别于0 h、12 h、24 h、36 h、48 h和60 h取出称量多糖质量。用甘油(GI)和透明质酸(HA)作对照,每个样品做3组平行。吸湿率(Ra)计算:

$$Ra(\%) = (W_t - W_0) / W_0 \times 100$$

式中:  $W_0$  为干燥样品质量,  $W_t$  为吸湿  $t$  时间的样品质量。

#### 1.3.6.2 体外保湿试验

体外保湿试验方法参照文献<sup>[12]</sup>稍作修改,称取100 mg 的干燥试样于称量瓶中,加入30%的蒸馏水。将称量瓶分别置于相对湿度为43%和硅胶环境的干燥器内使其脱水。分别于0 h、6 h、12 h、24 h、36 h、48 h和60 h取出称量多糖质量。用甘油和透明质酸作对照,每个样品做3组平行。保湿率(Rr)计算:

$$Rr(\%) = (W_t - W_0) / H_0 \times 100$$

式中:  $W_0$  为干燥样品质量,  $W_t$  为脱水  $t$  时间后样品质量,  $H_0$  为加水质量。

#### 1.3.6.3 体表保湿试验

体表保湿试验采用芬兰 Delfin 公司的紧凑型 MoistureMeter SC 测量角质层中皮肤水合度, VapoMeter 水分蒸发测试仪测量水分经皮肤散失(trans epidermal water loss, TEWL)的速度。紧凑型 MoistureMeter SC 测量原理是基于皮肤的层状电容性结构,在探头和高导电性的表皮层之间形成电容器极板,测量值是任意的单位,是电介质常数和角质层干燥层厚度变化的和。VapoMeter 水分蒸发测量仪的核心部位是一个灵敏的湿度感应器,它位于一个圆柱形的测量腔里,在测量过程中感应器监控测量腔内相对湿度的增加。

测试条件与准备:测试环境温度( $25 \pm 1$ )  $^{\circ}\text{C}$ ,相对湿度( $55 \pm 5$ )%。受试者无活动性过敏性疾病、无体质高度敏感,受试部位没接受过皮肤治疗、美容及其他可能影响结果的测试。受试者双手前臂内侧做好测量区域标记,试验区域面积  $3 \text{ cm} \times 3 \text{ cm}$ ,每个测试区域之间间隔至少  $1 \text{ cm}$ ,受试部位测试前  $2 \sim 3 \text{ d}$  不能使用任何产品。正式测试前用清水清洗测试区域在测试环境静坐至少  $20 \text{ min}$ ,前臂暴露呈测试状态放置,保持放松。

测试:测试样品(1% CM-SPG)按( $2.0 \pm 0.1$ )  $\text{mg}/\text{cm}^2$  的用量进行单次涂布,使用乳胶指套将测试样均匀涂

布在试验区。用1% HA、1% GI作对照,纯水作空白组,分别测量涂抹前及涂抹后1 h、2 h、3 h和4 h受试区域的皮肤水合度和经皮水分流失量,每个区域平行测定5次,同一受试者的测试由同一个测量人员完成。

## 2 结果与讨论

### 2.1 响应面试验分析

#### 2.1.1 响应面实验分析及模型拟合

根据 Design-Expert 8.0.6 软件设计的实验方案及实验结果。

表2 Box-Behnken 响应面实验设计方案及结果

Table 2 Design and results of Box-Behnken response surface experiments

编号	A	B	C	Y 取代度
1	-1	1	0	0.37
2	1	-1	0	0.44
3	-1	0	-1	0.37
4	1	1	0	0.48
5	1	0	1	0.49
6	0	0	0	0.52
7	-1	0	1	0.38
8	0	-1	-1	0.48
9	0	0	0	0.54
10	0	1	-1	0.48
11	0	0	0	0.52
12	0	0	0	0.51
13	0	1	1	0.47
14	0	0	0	0.53
15	0	-1	1	0.42
16	-1	-1	0	0.34
17	1	0	-1	0.48

#### 2.1.2 取代度模型方差分析

根据实验结果建立的二次回归数学模型为:

$Y = 0.52 + 0.055A + 0.015B - 0.0075C + 0.0025AB - 0.0025AC + 0.012BC - 0.073A^2 - 0.043B^2 - 0.018C^2$ 。Y表示羧甲基取代度,A、B和C分别是氯乙酸与裂褶多糖质量比、反应温度和反应时间的编码。通过回归方差分析确定模型的拟合度,如表3所示。从表中分析结果来看,模型  $p < 0.0001$  (极显著),失拟项  $p = 0.2183$  (不显著),表明模型是适合的。模型的相关系数  $R^2 = 0.9775$  和调整系数  $R^2_{Adj} = 0.9570$ ,表明模型拟合程度较好。总变异系数  $C.V. \% = 3.09$  表明实验数据具有较好的可靠性。从各因素显著水平可知,对多糖羧甲基

取代度影响大小为：氯乙酸与裂褶多糖质量比（极显著）>反应温度（显著）>反应时间（不显著）。

表 3 回归模型方差分析

**Table 3 Variance analysis of the regression model**

项目	平方和	df	均方	F 值	p	显著性
模型	0.062	9	6.85E-03	33.78	< 0.0001	**
A	0.024	1	0.024	119.30	< 0.0001	**
B	1.8E-03	1	1.8E-03	8.87	0.0205	*
C	4.5E-04	1	4.5E-04	2.22	0.18	
AB	2.5E-05	1	2.5E-05	0.12	0.7359	
AC	2.5E-05	1	2.5E-05	0.12	0.7359	
BC	6.25E-04	1	6.25E-04	3.08	0.1226	
A <sup>2</sup>	0.023	1	0.023	111.37	< 0.0001	**
B <sup>2</sup>	7.88E-03	1	7.88E-03	38.83	0.0004	**
C <sup>2</sup>	1.40E-03	1	1.40E-03	6.91	0.0339	*
残差	1.42E-03	7	2.03E-04			
失拟项	9.00E-04	3	3.00E-04	2.31	0.2183	不显著
净误差	5.2E-04	4	1.30E-04			
总离差	0.063	16				

R<sup>2</sup>=0.9775 R<sup>2</sup><sub>Adj</sub>=0.9486 C.V.%=3.09

注：\*差异显著，p<0.05；\*\*差异极显著，p<0.01。

### 2.1.3 响应面分析

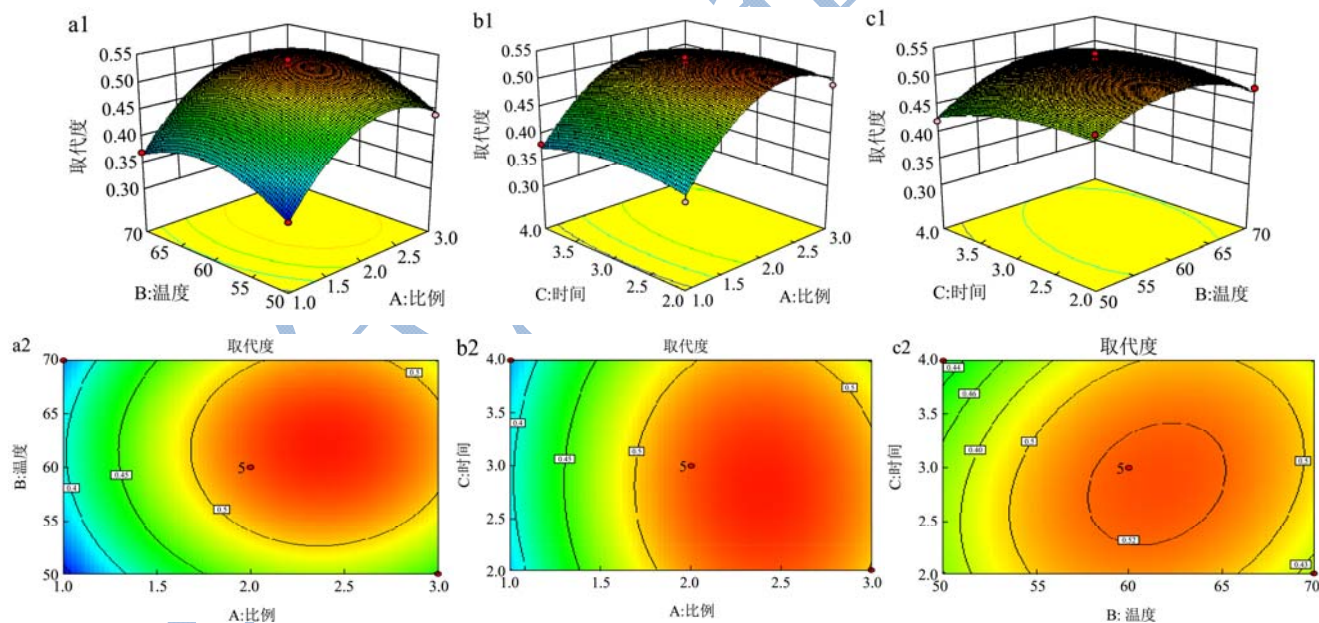


图 1 各两因素交互作用对羧甲基取代度影响的响应面及等高线图

Fig.1 Response surface and contour plots of the effects of three factors on the degree of carboxymethyl substitution

注：a，氯乙酸与裂褶多糖质量比和反应温度；b，氯乙酸与裂褶多糖质量比和反应时间；c，反应温度和反应时间。

根据回归方程得出各因素的响应面和等高线（如图 1），响应面曲线越陡峭，影响越显著；同时等高线是椭圆形，说明交互作用也非常显著。由图 1a 可以看出，响应面曲面比较陡峭，说明氯乙酸与裂褶多糖质量比和反应温度对取代度影响都显著，且氯乙酸与裂褶多糖质量比对取代度影响大于反应温度；等高线呈

圆形，说明两因素交互作用不强。图 1b 可知，沿氯乙酸与裂褶多糖质量比轴向上曲面较陡峭，说明氯乙酸与裂褶多糖质量比对取代度影响大于反应时间。等高线呈椭圆形，表明两因素有明显的交互作用。图 1c 可知，沿反应温度轴向上曲面较陡峭，说明反应温度对取代度的影响大于反应时间；等高线呈椭圆形，表

明两因素有明显的交互作用。

### 2.1.4 验证试验结果

通过 Design-Expert 8.0.6 软件进行的数值优化分析, 反应条件为: 氯乙酸与裂褶多糖质量比 2.38、反应温度 61.58 °C、反应时间 2.82 h, 得到最大取代度 0.54。考虑到实际操作, 反应条件修正为氯乙酸与裂褶多糖质量比 2、反应温度 60 °C、反应时间 3 h。采用修正后的条件进行 3 次平行验证试验, 结果测得取代度为 0.52, 与理论值比较吻合。

## 2.2 多糖溶解性分析

冷冻干燥后的裂褶多糖在水中或加热后只能缓慢部分溶解, 放置一周后仍然无法完全溶解, 而在实验条件下制备的不同取代度的羧甲基裂褶多糖加热均易溶于水。多糖结构完整紧密, 引入羧甲基基团, 其带负电荷相互排斥作用, 使得更易与水分子形成氢键, 因而溶解度提高<sup>[13]</sup>。Ren 等人研究发现羧甲基化能增大禾本科植物 (*graminaceous plants*) 纤维素的水溶性<sup>[14]</sup>。Chen 等人研究发现羧甲基壳聚糖的水溶的临界取代度在 0.4~0.45 间, 取代度大于 0.45 溶解性较好<sup>[15]</sup>。

## 2.3 多糖分子量与取代度分析

表 4 多糖分子量与取代度分析

Table 4 Molecular weight and DS of CM-SPG

样品	得率/%	取代度	分子量/u
SPG	-	-	$2.27 \times 10^7$
CM-SPG1	85.72	$0.52 \pm 0.03$	$1.19 \times 10^7$
CM-SPG2	67.46	$0.45 \pm 0.01$	$1.21 \times 10^7$
CM-SPG3	58.00	$0.37 \pm 0.01$	$1.05 \times 10^7$
HA	-	-	$4.25 \times 10^6$

多糖在羧甲基化过程中, 如果没有链的降解断裂, 由于羧甲基的引入, 理论上多糖的分子量会增加。但是由表 4 可知, 改性后多糖的分子量反而有所降低, 表明多糖在羧甲基化过程中发生了一定程度的降解。焦中高等人发现红枣多糖羧甲基化过程中, 随着 NaOH 用量的增加, 多糖的降解程度相对增加<sup>[16]</sup>。同时, 不同羧甲基条件得到的多糖得率相差较大, 可能是部分多糖羧甲基未取代成功或取代度太低, 在醚化反应后溶解调节 pH 过程中部分多糖仍然不能溶于水而被舍弃。

## 2.4 多糖红外光谱分析

羧甲基裂褶多糖的红外光谱图如图 2 所示。在 3400  $\text{cm}^{-1}$  附近 (O-H) 的伸缩振动, 2925  $\text{cm}^{-1}$  附近 (C-H) 的伸缩振动, 1400~1200  $\text{cm}^{-1}$  区域 (C-H) 的

弯曲振动、1070  $\text{cm}^{-1}$  附近 (C-O-H) 吸收峰是糖类的特征吸收峰。和 SPG 相比较, CM-SPG 在 1600  $\text{cm}^{-1}$  附近羧基 (-COOH) 的 (C=O) 非对称振动吸收、1420  $\text{cm}^{-1}$  附近与羧基相连的甲基 (-CH<sub>3</sub>) 的 (C-H) 变角振动吸收、1320  $\text{cm}^{-1}$  附近的 (C=O) 对称伸缩吸收增强, 表明羧甲基裂褶多糖中羧甲基 (-OCH<sub>2</sub>-COOH) 的存在<sup>[16]</sup>。

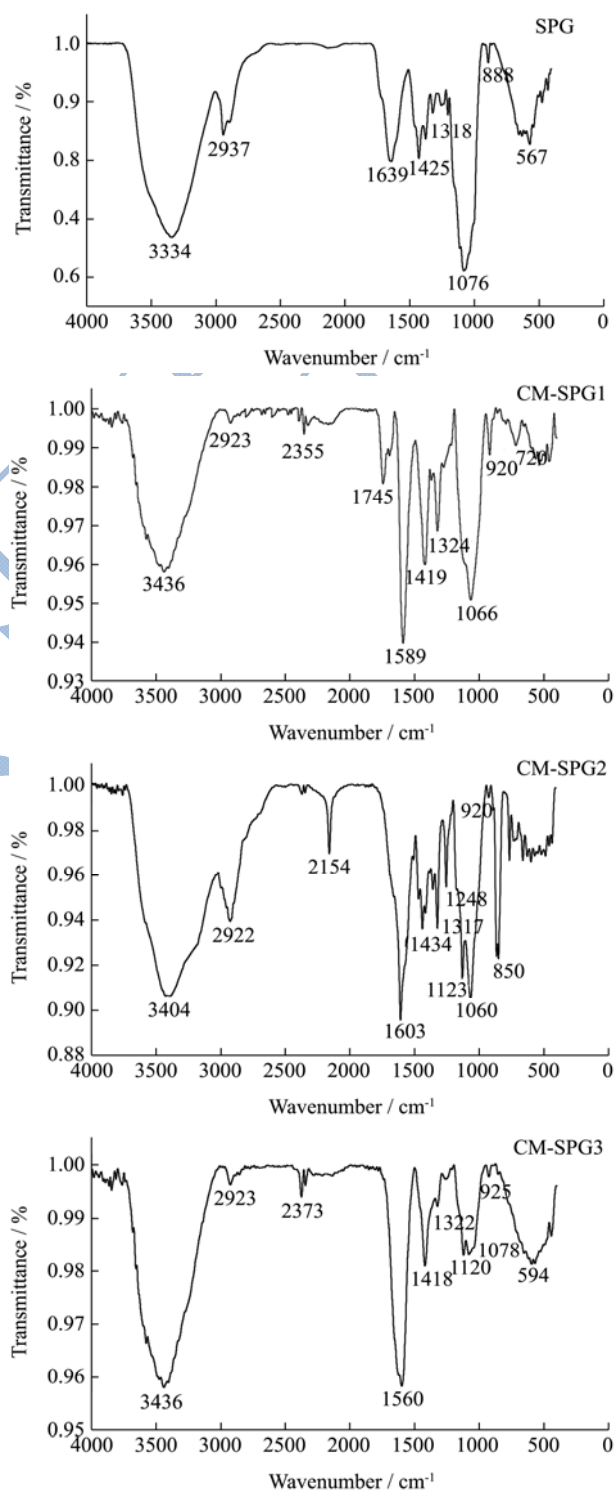


图 2 羧甲基裂褶多糖的红外色谱图

Fig.2 FT-IR spectra of carboxymethyl schizophyllan

## 2.5 多糖保湿活性分析

### 2.5.1 多糖体外吸湿试验

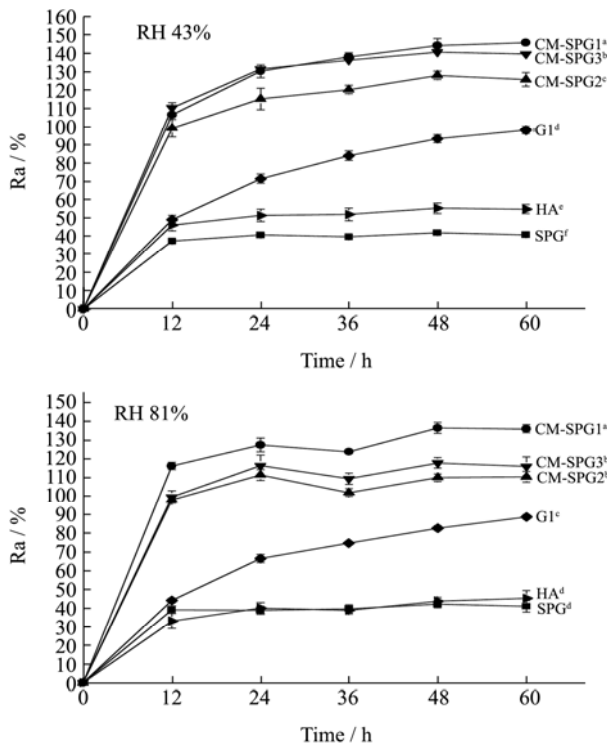


图3 相对湿度RH为43%和81%的环境中多糖的吸湿性

Fig.3 Moisture absorption rate of samples under 43% and 81% RH

注: a-f 不同字母表示显著性差异,  $p < 0.05$ ,  $n = 3$ 。

相对湿度为43%和81%的环境中多糖的吸湿性结果如图3所示,吸湿性大小均为CM-SPG1>CM-SPG3>CM-SPG2>G1>HA>SPG。在RH=43%时,各多糖样品、甘油、透明质酸间吸湿性都有显著性差异。所有样品在前12h吸湿较为迅速,在12h之后,HA和SPG吸湿性增长较小,趋于平衡,分别为54.7%和40.5%。改性后样品,吸湿性明显增强,是改性前的3~4倍,其中CM-SPG1吸湿性最大值达到了145.9%;甘油吸湿性较大,吸湿60h时为98.1%,大约为HA的2倍,SPG的2.5倍。在RH=81%时,CM-SPG2和CM-SPG3,HA和SPG之间吸湿性没有显著性差异,其他样品组间均有显著性差异。改性后多糖吸湿性是改性前的3倍左右,其中CM-SPG1吸湿性最大值达到了136.3%;甘油吸湿60h后为88.5%,吸湿性为SPG的2倍左右。在RH=43%和RH=81%的环境中,SPG的吸湿性均只比传统化妆品保湿剂HA略小;而改性后的多糖CM-SPG吸湿性显著增加,吸湿性达到改性前的3~4倍,比液体状态的甘油吸湿性都要高0.5倍左右。

### 2.5.2 多糖体外保湿试验

相对湿度为43%、干燥变色硅胶的环境中多糖的保湿性结果如图4所示。在硅胶环境下,样品水分流失较快,保湿性大小为G1>SPG>CM-SPG1>CM-SPG3>CM-SPG2>HA,其中空白组纯水样品在5h后保湿率只有5.2%,7h后保湿率接近零。在7h后,样品SPG和CM-SPG1保湿率仍有35%左右,比甘油略差,是HA保湿性的3倍左右。在相对湿度为43%的环境中,保湿性大小为G1>CM-SPG1>CM-SPG3>CM-SPG2>HA>SPG,其中甘油保湿性特别明显,60h后保湿性仍有83.6%。60h后,CM-SPG1和CM-SPG3保湿性为49.3%和47.2%,显著高于HA(35.5%);SPG保湿性为17.9%,均显著低于其他样品。羧甲基的引入有利于提高多糖的保湿性,Chen等人研究发现壳聚糖上(OH-3)位点的羧甲基取代有利于保湿性增加,同时,多糖分子量越大,易形成网状结构,阻止水分流失,保湿性就越好<sup>[17]</sup>。另外,保湿性也随羧甲基取代度的增加而增加,但是当取代度进一步增加,大于0.6时,多糖的保湿性增加趋势反而会降低<sup>[15]</sup>。

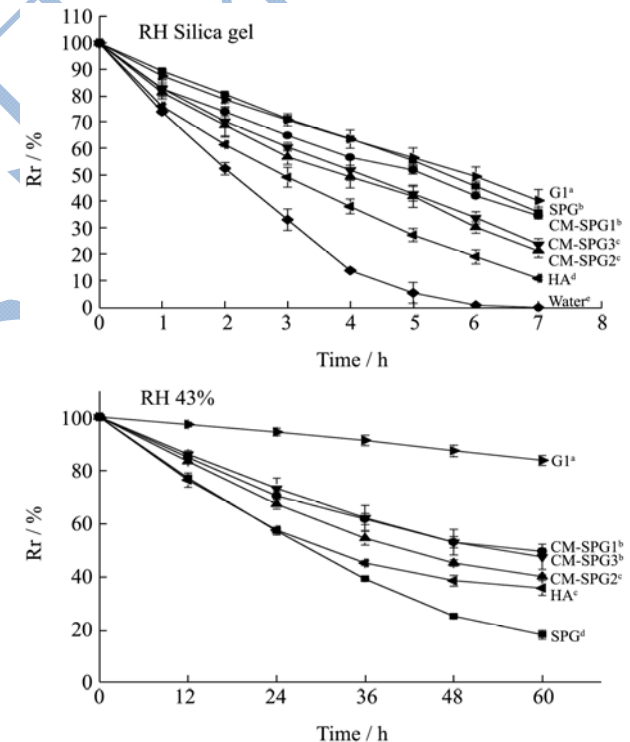


图4 相对湿度RH为43%、干燥硅胶的环境中多糖的保湿性  
Fig.4 Moisture retention rates of samples in a dry environment using silica gel and 43% RH

注: a-e 不同字母表示显著性差异,  $p < 0.05$ ,  $n = 3$ 。

### 2.5.3 多糖体表保湿试验

皮肤角质层水合度试验结果如图5a所示。涂抹样品1h后,皮肤水合率增加明显,随后略有增加后逐渐降低,3h后,皮肤水合率趋于稳定。使用1%甘油、羧甲基裂褶多糖、透明质酸4h后,皮肤水合度分别

提高了 50.5%、27~34%、13.5%，和空白组比较均有显著保湿性，保湿性大小为甘油>羧甲基裂褶多糖>透明质酸。经皮水分流失率试验结果如图 5b 所示。测试值越小，水分流失越少，表明皮肤屏障功能越好，样品锁水保湿越强。涂抹样品 1 h 后，经皮水分流失率大大降低，使用羧甲基裂褶多糖、透明质酸、甘油 4 h 后，经皮水分流失率分别下降了 29.1~34.4%、21.2% 和 17.5%，使用羧甲基裂褶多糖后经皮水分流失率显著低于透明质酸和甘油，表明羧甲基裂褶多糖的锁水保湿性能优于透明质酸和甘油。张琪等人研究了固体发酵的裂褶多糖的体表保湿性能，结果表明裂褶多糖保湿性优于燕麦  $\beta$ -葡聚糖，低于甘油，但裂褶多糖的锁水能力优于甘油和燕麦  $\beta$ -葡聚糖<sup>[18]</sup>。

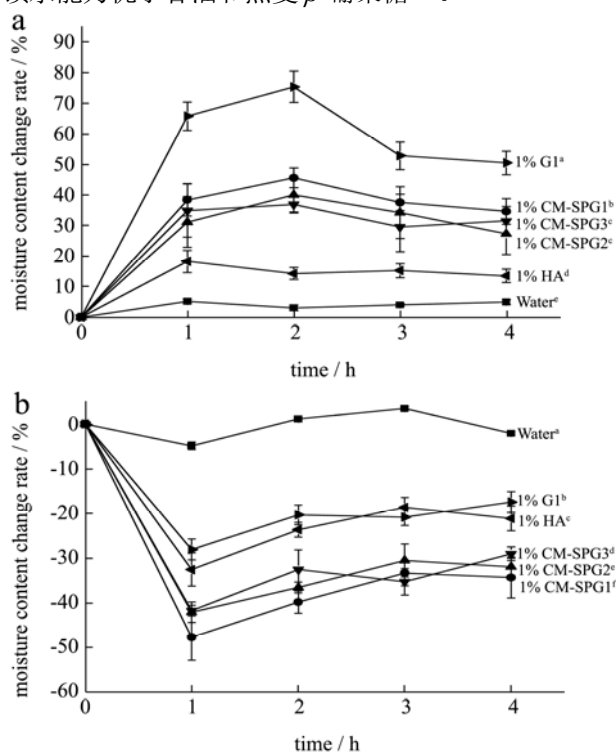


图5 皮肤角质层水合度和经皮水分流失变化率

Fig.5 Changes in skin hydration and TEWL

注：a-f 不同字母表示显著性差异， $p < 0.05$ ， $n = 5$ 。

### 3 结论

本研究采用响应面法研究裂褶多糖羧甲基化反应，结果表明，氯乙酸与裂褶多糖质量比对响应值有极显著影响，反应温度对响应值有显著影响，反应时间对响应值影响不显著。当氯乙酸与裂褶多糖质量比为 2.38，反应温度为 61.58 °C，反应时间为 2.82 h 时有最大取代度 0.54。羧甲基裂褶多糖的水溶解性有明显的提高，同时也提高了多糖的吸湿、保湿性。在相对湿度为 43% 和 81% 环境下羧甲基裂褶多糖吸湿性显著大于改性前多糖，并且优于常用保湿剂甘油和透明

质酸；在相对湿度为 43% 环境下其保湿性优于透明质酸和改性前多糖，低于甘油；在干燥硅胶环境下，其保湿性仍优于透明质酸。体表法测试表明，皮肤角质层水合度增加大小顺序为甘油>羧甲基裂褶多糖>透明质酸，经皮水分流失率减少大小顺序为羧甲基裂褶多糖>透明质酸>甘油，表明羧甲基裂褶多糖的吸湿补水性优于透明质酸低于甘油，但其锁水性均优于透明质酸和甘油。

### 参考文献

- [1] Yi-feng Zhang, Hui-ling Kong, Ya-peng Fang, et al. Schizophyllan: A review on its structure, properties, bioactivities and recent developments [J]. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 2013, 1: 53-71
- [2] Lee Seung Hwa, Park Kyung Mok, Lee Sung Ho, et al. Moisturizing cosmetics composition containing beta-1,6-branched-beta-1,3-glucan: Korea, Kr19990004497 [P]. 1999
- [3] Kim Moo Sung, Park Kyung Mok, Chang Ih Seop, et al.  $\beta$ -(1,6)-branched  $\beta$ -(1,3)-glucan in skin care [J]. *Cosmetics & toiletries*, 2000, 115: 79-86
- [4] Lee Jun Bae, Cho Joon Chul, Nam Gae Won, et al. Cosmetic composition containing sacchromyces polypeptides and beta-1,3-glucane for moisturizing effect on the skin: Korea, Kr20060020433 [P]. 2006
- [5] Lee Geun Soo, Bae Jun Tae, Song Sung Ki, et al. Cosmetic composition containing fermented herb extracts: Korea, Kr20110002578 [P]. 2011
- [6] K D Hyde, A H Bahkali, M A Moslem. Fungi-an unusual source for cosmetics [J]. *Fungal Diversity*, 2010, 43(1): 1-9
- [7] 黄皓, 贾士儒, 郝利民, 等. 裂褶菌放大培养条件的研究 [J]. *食品工业科技*, 2008, 29(3): 79-82
- [8] HUANG Hao, JIA Shi-ru, HAO Li-min, et al. Study on the scale-up culture of schizophyllum commune [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2008, 29(3): 79-82
- [9] Shigeyuki Usui, Kohei Murasmma, Miho Sakai, et al. Preparation and antitumor activities of mitomycin C beta-(1,6)-branched (1,3)-beta-D-glucan conjugate [J]. *Biol. Pharm. Bull.*, 1994, 17(9): 1165-1170
- [10] 周林, 郑必胜, 郭祀远, 等. 裂褶多糖的羧甲基化 [J]. *天然产物研究与开发*, 2006, 18(4): 555-557
- [11] ZHOU Lin, ZHENG Bi-sheng, GUO Si-yuan, et al. Carboxymethylation of schizophyllan [J]. *Natural Product Research and Development*, 2006, 18(4): 555-557
- [12] R W Eyler, E D Klug, Floyd Diephuis. Determination of degree of substitution of sodium carboxymethylcellulose [J].

- Analytical Chemistry, 1947, 19(1): 24-27
- [11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典第一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015
- Chinese pharmacopoeia commission. Pharmacopoeia of people's republic of China (1) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2015
- [12] Zhong-shan Zhang, Xiao-mei Wang, Zhi-ping Han, et al. Purification, antioxidant and moisture-preserving activities of polysaccharides from papaya [J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 87(3): 2332-2337
- [13] 赵巧娇. 羧甲基板栗淀粉的制备及性质研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2016
- ZHAO Qiao-jiao. Synthesis and physicochemical properties of carboxymethyl chestnut starch [D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2016
- [14] Hao Ren, Shuang Qian, Shigetoshi Omori. Solubilization of graminaceous plants in water by carboxymethylation [J]. Journal of Wood Science, 2015, 61(2): 199-203
- [15] Ling-yun Chen, Yu-min Du, Xiao-qing Zeng. Relationships between the molecular structure and moisture-absorption and moisture-retention abilities of carboxymethyl chitosan II. Effect of degree of deacetylation and carboxymethylation [J]. Carbohydrate Research, 2003, 338(4): 333-340
- [16] 焦中高, 刘杰超, 王思新, 等. 羧甲基化红枣多糖制备及其活性[J]. 食品科学, 2011, 32(17): 176-180
- JIAO Zhong-gao, LIU Jie-chao, WANG Si-xin, et al. Carboxymethylation of polysaccharide from zizyphus jujuba fruits and its activity [J]. Food Science, 2011, 32(17): 176-180
- [17] Ling-yun Chen, Yu-min Du, Hui-qing Wu, et al. Relationship between molecular structure and moisture-retention ability of carboxymethyl chitin and chitosan [J]. Journal of Applied Polymer Science, 2002, 83(6): 1233-1241
- [18] 张琪, 钟葵, 周素梅. 裂褶多糖保湿功效评价[J]. 中国食品学报, 2015, 15(3): 223-228
- ZHANG Qi, ZHONG Kui, ZHOU Su-mei. Moisturizing effect evaluation about schizophyllan [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2015, 15(3): 223-228