

由荧光和反射光谱研究胶原蛋白与抗坏血酸对 老化肌肤的吸收速率和治疗效果

杨伯温¹, 林育民², 王诗渊¹, 叶景棠¹

1. 明新科技大学工学院光电系统工程系, 台湾 新竹

2. 明新科技大学工学院电子工程研究所, 台湾 新竹

摘要 胶原蛋白是皮肤组织中的结构性蛋白, 其数量和健康关系到外表皱纹的生成与皮肤的老化现象; 而抗坏血酸有良好的美白与抗氧化能力, 可使肌肤外表更白皙亮丽和保持健康。由于胶原蛋白具有自体荧光, 因此我们提出一个藉由皮肤光谱来检验胶原蛋白含量的方法, 此检测法更具实时性与非侵入性。本研究使用胶原蛋白和抗坏血酸, 涂抹于健康的、与有斑点、皱纹等问题的肌肤, 以其荧光与反射光谱随时间的变化, 归纳出胶原蛋白与抗坏血酸对不同部位肌肤的吸收难易与修复疗效。结果显示, 皮肤会对适当浓度的胶原蛋白或抗坏血酸之吸收效果较佳; 加上适当浓度的抗坏血酸, 胶原蛋白可被有效吸收同时产生良好的除皱效果; 而抗坏血酸之去斑效果也在此研究中明确证实。藉由此一系列科学性的实验, 可确实验证美容保养品的作用, 帮助爱美人士对化妆保养品的正确选择与正确使用, 发挥最好的疗效。

关键词 胶原蛋白; 抗坏血酸; 自体荧光; 非侵入性; 荧光光谱; 反射光谱

中图分类号: O433.5 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2012)12-3299-05

引言

近年来, 美容医学产业成长快速, 了解皮肤表面与深层的健康状况, 格外重要。当人变老, 皮肤内胶原蛋白的老化和流失导致皱纹的出现^[1], 使用胶原蛋白化妆品, 可重新对皮肤供给胶原蛋白, 使其结构组织坚实^[2]。胶原蛋白在皮肤中的含量可由生化的方法来测量, 但是侵入性和费时的^[3]。因为胶原蛋白可引发轻微的荧光, 因此它的含量可用光学方法量出^[4], 在本研究的第一部分, 我们计划利用荧光光谱研究胶原化妆品对皮肤的作用。另一种化妆原料抗坏血酸常用于去除斑点的美白作用与抗氧化的护肤作用^[5-7]。抗坏血酸去斑的治疗效果, 在短期疗程内若用肉眼几乎无法分辨, 但是斑点淡化的亮度改变可由它的反射光谱^[8, 9]检出。因此由荧光和反射光谱, 可定量研究使用化妆品对皱纹和斑点的确实治疗效果。

1 实验部分

1.1 仪器

研究中使用的系统架构如图 1 所显示, 其主要仪器为荧

光光谱仪组, 以氙气灯为主光源, 透过 Jobin-Yvon H10 单光仪, 将宽带光源分出单频光做为激发光源^[10]。为检查手或脸部方便起见, 以 Y-type fiber(Y 字型光纤)取代样本箱, 如图 2 所显示。胶原蛋白被激发后所得之荧光经由 Y 字型光纤传至 Jobin-Yvon TRIAX 320 光谱仪, 经光谱分析后经 GPIB 界面将数据传到计算机, 透过 SpectraMax 软件来显示其荧光光谱, 来研究皮肤对胶原蛋白与抗坏血酸之吸收效率和这两种美容材料对年迈皮肤的恢复作用。相较于化学取样分析法, 本系统建立了易于检测、实时显示的光学检测术, 并方便于同时针对不同的美容部位进行多点的光谱与疗效检测。

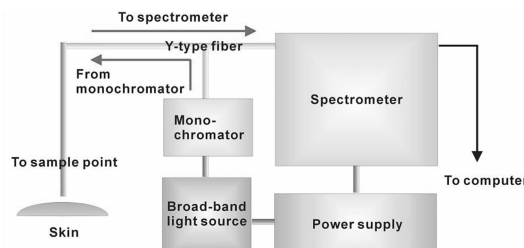


Fig. 1 Spectroscopic system designed for skin detection, which is composed of a broad-band light source, a mono-chromator, a Y-type fiber and the spectrometer

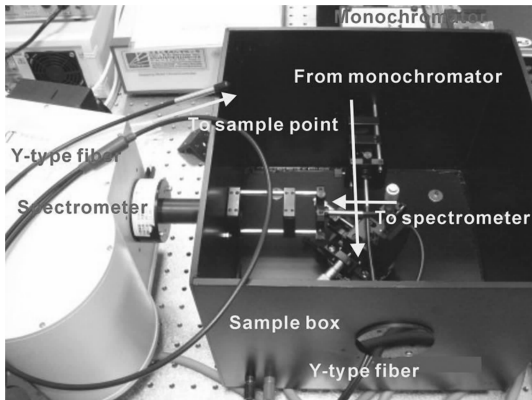


Fig. 2 Y-type fiber implemented in the spectroscopic system to take place of the sample box

1.2 方法

本研究的目的是针对不同情况的皮肤,以光学方法检测常见保养品的疗效。以手腕内侧正常皮肤、脸部细纹及手臂黑斑作为受测部位,分别代表正常皮肤、皱纹生成与黑色素沉积三种不同的皮肤状态。实验中样本选用可稀释的美容用胶原蛋白粉与抗坏血酸粉搭配蒸馏后的纯水调制而成。所调制之样品浓度以重量百分比浓度(%)来表示。实验中雇用一位 38 岁男性作为样本,实验在亚洲东部日照甚少的冬天实行。选择在前臂的斑点和嘴角的皱纹作为实验位置;另选择没有斑点或皱纹的健康皮肤作为对照。进行户外活动时,实验样本被要求穿长袖服和戴口罩以防止阳光照射。

1.2.1 胶原蛋白的作用

市售胶原蛋白产品的主要功效在于增强组织的结构、紧致肌肤与抗皱除纹。在此实验中我们将验证胶原蛋白经由皮肤吸收之效率。市售之胶原蛋白溶液浓度大都低于 1%^[2],我们配置出 0.1%, 0.5% 和 1.0% 的胶原蛋白溶液用于吸收、淡斑与除皱之实验。胶原蛋白在波长 325~335 nm 光源激发下会产生荧光^[11, 12],此处选择波长 330 nm 为激发光源。

1.2.2 抗坏血酸的作用

市售抗坏血酸产品的主要功效在于减轻黑色素沉积、淡化黑斑之分布与美白。我们分别调制出 15%, 25%, 35%, 40% 的抗坏血酸溶液进行去斑实验,以求知其最佳疗效之浓度比例^[13]。我们以全波段的光线进行入射,以判断黑色素的沉积状况是否有明显改善,因此将光谱扫描的范围设定于 350~750 nm 波段。

1.3 频谱分析

经过三周的胶原蛋白疗程后,治疗前与治疗后皮肤荧光光谱之增长情形如图 3 显示。图中两条绿线范围 380~450 nm 间为胶原蛋白的特性荧光波长范围,选取此特性波段以式(1)计算出其平均荧光强度,再利用式(2)来计算荧光强度的增长比率,以观察各部位皮肤的胶原蛋白吸收效果与增加效率。

为了方便,定义平均荧光强度是 $\lambda=380\sim 450$ nm 光谱曲线下方的区域总面积除以带宽 70 nm。

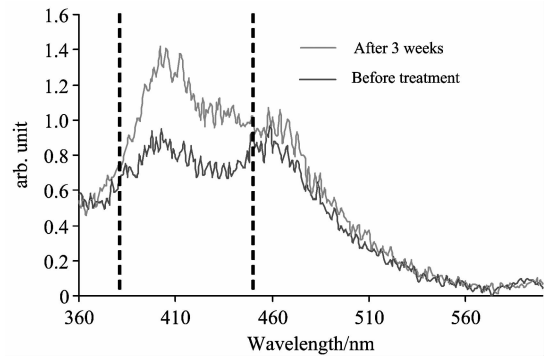


Fig. 3 Raise of fluorescence spectrum after three weeks of collagen treatment on healthy skin

平均荧光强度 = (380~450 nm 光谱曲线以下的区域总面积) / 70 nm (1)

在皮肤上,胶原蛋白使皱纹平滑的作用与胶原蛋白含量的提升成正比。荧光光谱的增长比率定义为使用胶原蛋白若干天后相对于第一天荧光光谱含量的增加程度。

荧光光谱的增长比率 = [(当天的平均荧光光谱强度 - 第一天的平均荧光光谱强度) / 第一天的平均荧光光谱强度] × 100% (2)

经过三周的抗坏血酸使用,皮肤的反射光谱如图 4 上升了,所上升的部分主要是分布于 450~650 nm 的区段。

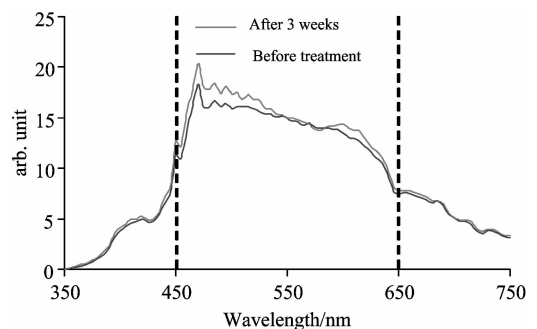


Fig. 4 Raise of reflection spectrum after three weeks of ascorbic acid treatment on healthy skin

为了频谱分析,光谱的平均强度定义为 $\lambda=450\sim 650$ nm 曲线下方的区域总面积除以 200 nm 的光谱宽度区域。

平均光谱强度 = (450~650 nm 光谱曲线以下的区域总面积) / 200 nm (3)

在皮肤上,抗坏血酸去除斑点的疗效与反射光谱的增长率成比例^[9]。反射光谱的增长比率被定义为使用抗坏血酸治疗若干天后相对于第一天反射光谱的增加程度。

反射光谱的增长比率 = [(当天的平均反射光谱强度 - 第一天的平均反射光谱强度) / 第一天的平均反射光谱强度] × 100% (4)

2 结果与讨论

2.1 胶原蛋白或抗坏血酸的作用

在实验中,我们使用胶原蛋白或抗坏血酸于手腕内测健

康皮肤以测量其吸收效率。随后将胶原蛋白或抗坏血酸应用于前臂的斑点或脸上的皱纹以进行其疗效研究。

2.1.1 手腕内侧的健康皮肤

应用胶原蛋白于手腕内侧没有斑点或皱纹的位置三个星期，使用后皮肤中胶原蛋白含量的增长比率对使用时间的曲线变化示于图 5。

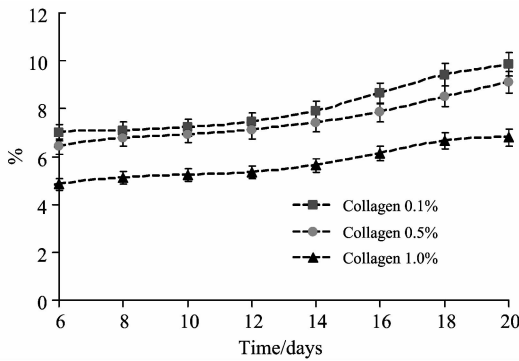


Fig. 5 Increasing rate of collagen content in skin as a function of time after the treatment of external collagen on the inner wrist

由于美容疗程通常超过一周，我们将显示研究结果的时间订为 6(第 7)天到 20(第 21)天。从图 5 可见，经过三周 0.1%胶原蛋白的使用，外部胶原蛋白大约 10%被吸收到皮肤。胶原蛋白的浓度越高，皮肤的吸收度反而越低，证明胶原蛋白在分子过多的情形之下越难被吸收，这也是市售胶原蛋白浓度大都低于 1% 的原因。手腕内侧使用胶原蛋白前及后的照片，如图 6 所示。

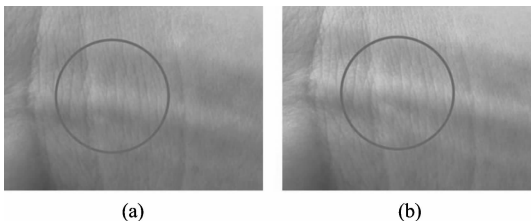


Fig. 6 Photographs of the inner wrist (a) before and (b) after the treatment of collagen

因为实验的部位本来就是健康的，所以几乎看不出变化。

2.1.2 在前臂上的斑点

针对手臂上的黑斑部位，抗坏血酸的淡斑疗效可由涂抹后反射光谱的增长情形来观察，如图 7 所示。使用过抗坏血酸后，黑斑部位的反射光强度随着时间的增加而有所增长。

使用 20%和 40%的抗坏血酸治疗三周后，皮肤上的斑点颜色变浅了，反之使用胶原蛋白并没有明显的去斑作用。另外，抗坏血酸浓度大于 20%(饱和浓度)时不能引发额外的去除效果。如图 8 所示，在前臂上使用 20%的抗坏血酸治疗三周后，黑斑处有明显的淡化与去除效果。

2.1.3 在脸部上的皱纹

针对脸上的细纹部位，不同浓度胶原蛋白对皱纹的平滑

效果如图 9 所示。

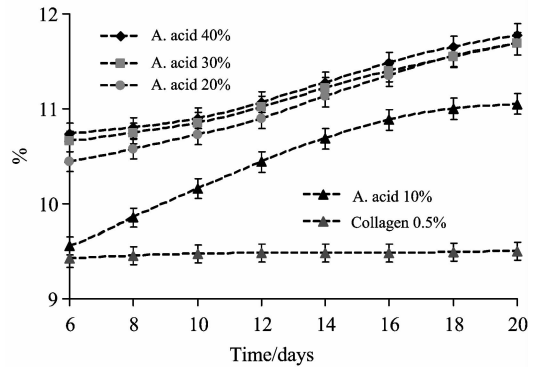


Fig. 7 Effect of spot removing of collagen or ascorbic acid on the forearm

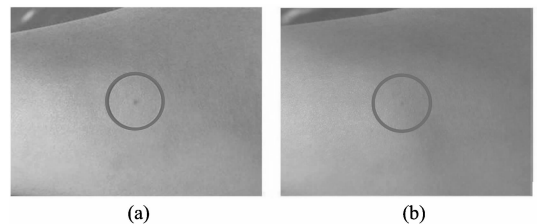


Fig. 8 Effect of spot removing by 20% ascorbic acid (a) before and (b) after three weeks

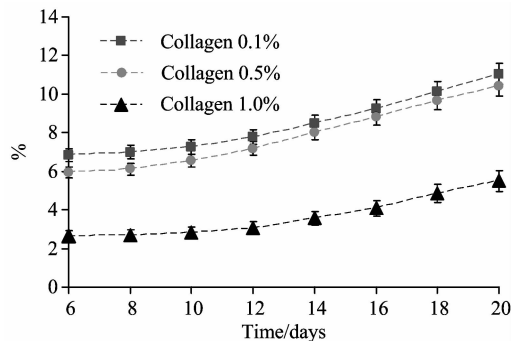


Fig. 9 Effect of wrinkle smoothing of collagen on the face

当皮肤内的胶原蛋白含量越多时，受到激发光源照射后可导出更高的荧光反应，也使皮肤的结构因胶原的补充与支撑而更加紧实，使皮肤表面的细纹得以抚平。使用 0.1%的胶原蛋白治疗三星期后，约 11%的胶原蛋白被吸收进入皮肤产生除皱效果，如图 10 所示。相对的，使用抗坏血酸并不会产生明显的皱纹平滑效果。

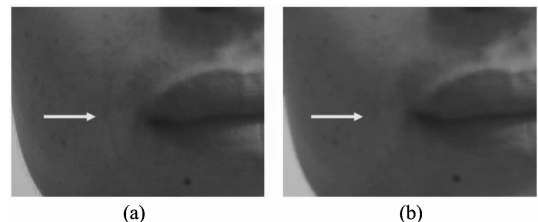


Fig. 10 Effect of wrinkle smoothing by 0.1% collagen (a) before and (b) after three weeks

2.2 胶原蛋白和抗坏血酸混合物的疗效

抗坏血酸除了有淡斑的功效外, 还有诱发胶原蛋白生成、间接提升除皱能力的特点^[14, 15], 因此现代的化妆品常将数种美容原料合在一起, 达到多重护肤的效果^[13]。在下面实验中, 我们混合胶原蛋白与抗坏血酸制成混合液, 将其效果与纯胶原蛋白相比较, 以找出更佳的肌肤保养成分配方。

2.2.1 手腕内侧的健康皮肤

在健康的皮肤上涂抹胶原蛋白和抗坏血酸的混合物, 皮肤的吸收效率对时间的变化情形如图 11 所示。

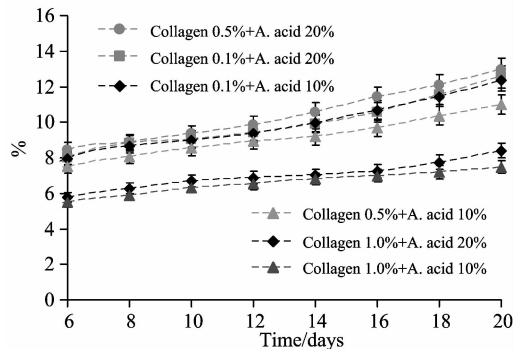


Fig. 11 Absorption efficiency of mixtures with collagen and ascorbic acid on the inner wrist

我们发现 0.5% 的胶原蛋白混合 20% 抗坏血酸, 皮肤的吸收效率比其他的配方更高。

2.2.2 在前臂上的斑点

为了去除斑点, 将 10%~20% 的抗坏血酸加入 0.1%~1.0% 的胶原蛋白混合使用, 结果 20% 抗坏血酸和 0.1%~1.0% 胶原蛋白混合产生较高的效果, 如图 12 所示。

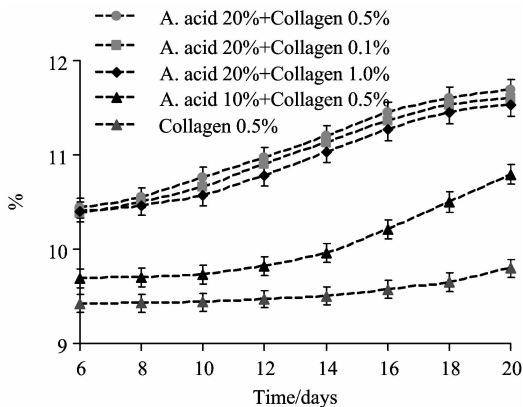


Fig. 12 Spot-removing effect of mixtures with collagen and ascorbic acid on the forearm

对照图 7, 我们发现这三条除斑效果较好的曲线与图 7 中 20% 抗坏血酸的曲线(没有加上胶原蛋白的)几乎完全相同, 证明加入胶原蛋白不能帮助抗坏血酸产生更好的去斑效

果^[14]。

2.2.3 在脸部上的皱纹

为了测试平抚皱纹的效果, 我们使用 0.1%~1.0% 胶原蛋白与 10%~20% 抗坏血酸混合, 发现 0.5% 胶原蛋白与 20% 抗坏血酸之混合物对平抚皱纹有最好的效果, 如图 13 所示。

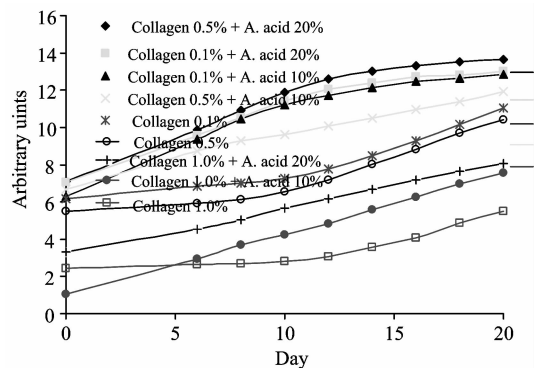


Fig. 13 Wrinkle-smoothing effect of mixtures with collagen and ascorbic acid on the face

对照图 9, 0.5% 胶原蛋白若加上 20% 抗坏血酸后, 在三周后平抚皱纹的效果从 10% 提高到 13%。由此可知, 抗坏血酸帮助合成更多的胶原蛋白分子^[1, 11], 因而提升使皮肤恢复光滑的治疗效果。

3 结论

针对三类不同性质之皮肤, 探讨其对于胶原蛋白与抗坏血酸的吸收与治疗反应。于吸收效果方面, 胶原蛋白浓度若高于 1%, 皮肤就无法正常吸收。而添加抗坏血酸确实有促进皮肤组织对于胶原蛋白的吸收与增生效果。

在淡斑方面, 由前臂皮肤反射光谱的强度变化可看出, 抗坏血酸对于黑斑具有显著的淡化效果, 而胶原蛋白则无明显表现。因抗坏血酸属酸性物质, 易使皮肤敏感, 故使用上浓度建议以 20% 即可, 不需太高。

在除皱方面, 由脸部皮肤荧光光谱的强度变化可看出, 外用胶原蛋白对于细纹有明显抚平效果。其中, 以添加浓度 20% 抗坏血酸之 0.5% 胶原蛋白混合液效果最佳, 除了能提高肌肤组织中胶原蛋白的含量、去除细纹, 尚能提供不错的美白表现。

我们应用光学检测的方法, 包括荧光和反射光谱的分析, 在健康或老化的肌肤上研究医学美容材料的使用效果, 证实了此方法的可行性。和传统的生物化学方法相较^[16], 这种方法对于皮肤的健康提供了方便省时, 非侵入性和实时检查等好处。若配合医学影像法^[17, 18]为皮肤作影像检测, 将对皮肤的健康状况作更精密和完整的检查。

References

- [1] Hata R I, Senoo H J. *Cell. Physiol.*, 2005, 138; 8.
- [2] Hamada Y, Shirai K, Sato C, et al. *U. S. Patent*, 9427672, 1999.
- [3] Junqueira L C U, Montes G S, Sanchez E M. *Cell. Biol.*, 1982, 74; 153.
- [4] Theodossiou T, Rapti G S, Hovhannisyan V, et al. *Lasers Med. Sci.*, 2002, 17; 34.
- [5] Hindi E T, Ehlers G, Demchuk M, et al. *Arch. Dermatol. Res.*, 2004, 296; 258.
- [6] Geesin J, Darr D, Kaufman R, et al. *J. Invest. Dermatol.*, 1988, 90; 420.
- [7] Pinnell S R, Yang H S, Omar M, et al. *Dermatol. Surg.*, 2008, 27; 137.
- [8] Tuchin V V. *Tissue Optics: Light Scattering Methods and Instruments for Medical Diagnosis*. New York: SPIE Optical Engineering Press, 2000.
- [9] Webb A G. *Introduction to Biomedical Imaging*. New York: Wiley-IEEE Press, 2002.
- [10] YANG Bor-wen, YANG Pao-geng, CHANG Yuan-shuo, et al(杨伯温, 杨宝庚, 张元硕, 等). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 2010, 30(9); 2546.
- [11] Anderson R R, Parrish J A. *J. Invest. Dermatol.*, 1981, 77; 13.
- [12] Schomacker K T, Frisoli J K, Compton C C, et al. *Lasers Surg. Med.*, 1992, 12; 63.
- [13] Shibayama H, Ueda K, Indo H, et al. *U. S. Patent*, 10554872, 2005.
- [14] Suzuki E, Hiraki J, Fujii M. *U. S. Patent*, 5087446, 1992.
- [15] Chojkier M, Houglum K, Solis-Herruzo J, et al. *J. Biol. Chem.*, 1989, 264; 16957.
- [16] Kumano Y, Sakamoto T, Egawa M, et al. *Biol. Pharm. Bull.*, 1998, 21; 662.
- [17] Yang B W, Chan L M, Wang K C. *Opt. Rev.*, 2009, 16(3); 392.
- [18] Yang B W, Chen X C. *Biomed. Opt. Express*, 2010, 18; 1341.

The Study of Absorption Efficiency and Restoring Effects of Collagen and Ascorbic Acid on Aged Skin by Fluorescence and Reflection Spectroscopy

YANG Bor-wen¹, LIN Yu-min², WANG Shi-yuan¹, YEH D. C.¹

1. Department of Opto-Electronic System Engineering, College of Engineering, Minghsin University of Science and Technology, Hsinchu 30401, Taiwan, China
2. Institute of Electronic Engineering, College of Engineering, Minghsin University of Science and Technology, Hsinchu 30401, Taiwan, China

Abstract Collagen is one of the main structural proteins in human dermis. The lack and atrophy of collagen induces the appearance of wrinkles and beginning of aging. L-ascorbic acid has significant effects on skin-whitening and anti-oxidation, which helps keep skin beautiful and healthy, respectively. With auto-fluorescence, the amount of collagen is in proportion to the strength of its fluorescence spectrum. Therefore, a new method is proposed to determine the content of collagen and the health of skin through the analysis of fluorescence and reflection spectra. Compared with conventional chemical analysis, this method needs less time, and is much more noninvasive. Solutions of different concentration of external collagen and L-ascorbic acid were applied on healthy, spotted and wrinkled skin in this study. By the time dependence of fluorescence and reflection spectra, the effects of skin absorption and restoration of collagen and L-ascorbic acid were derived, respectively. The experiment shows that the collagen or L-ascorbic acid solution of adequate concentration is best for skin absorption. Admixed with suitable concentration of L-ascorbic acid, the collagen solution was well absorbed and results in effect of smoothing wrinkles; the effect of L-ascorbic acid to clear up the spots was also demonstrated. By scientific explorations shown above, the restoration effects of cosmetic materials were validated, and people's confusion and myth about skincare products were avoided. Consequently, this study helps advance cosmetic industry.

Keywords Collagen; L-ascorbic acid; Auto-fluorescence; Non-invasiveness; Fluorescence spectrum; Reflection spectrum

(Received Jul. 4, 2012; accepted Sep. 20, 2012)