

一种天然多效护肤液的制备方法

技术领域

本发明属于护肤品制备技术领域，具体涉及一种天然多效护肤液的制备方法。

背景技术

随着护肤品行业的快速发展，人们对护肤品提出了更高的要求——天然、高效、环保。植物是天然护肤品的主要来源，中草药在护肤品中的应用由来已久，已有研究发现，中草药在护肤方面的活性可分为两类，一是通过抑制酪氨酸酶活性抑制黑色素生成实现美白，如丹参、益母草、红花、红景天等；二是通过消除细胞自由基实现抗衰老，如人参、雪莲、红景天等。目前中草药在护肤品中的应用方式一般为直接添加或提取活性成分后添加。

微生物发酵产物是天然护肤品的另一重要来源，目前常用于护肤品的微生物主要是裂殖酵母、清酒酵母及双歧杆菌（国外某些文献称之为二裂酵母）。酵母发酵可产生多种小分子氨基酸、多肽、核苷酸、维生素等天然活性成分物质，是非常好的综合皮肤调理剂，具有抗衰老、保湿、美白的护肤活性，人体实验证实酵母提取物具有可以媲美维生素的安全性，可改善皮肤粗糙度，具有良好的亮白皮肤作用，并且，其发酵成分活性高、分子小，吸收率比其他天然成分高 36 倍以上，一些酵母提取物已用在功能性护肤品中，实现补水、美白、抗氧化、减少皮肤油水等功效。双歧杆菌富含 B 族维生素，该菌的代谢产物富含 L-乳酸、小分子肽及具有微生态作用的酶，许多中药成分对双歧杆菌具有促进作用，如人参、党参、枸杞、大黄等提取物是良好的促双歧因子。

鉴于中药中的有效成分通常含量较低，且被纤维等物质包裹，微生物发酵技术已被证实为提升中药药用价值、减少毒副作用的重要手段。如半夏曲、六神曲、百药煎等经过发酵的中药其活性明显改善，毒副作用下降，人参经发酵

后其稀有皂苷含量大幅上升，目前用于中草药发酵的微生物包括药用真菌（30余种）、双歧杆菌、芽孢杆菌、乳酸菌和酵母（仅见酿酒酵母一个种）等。但迄今为止，尚未见发酵后中药用于护肤品原料的相关报道。

另外，浓香型白酒采用传统的混菌自然固态发酵工艺，数百年来经多轮次的续糟发酵，在糟醅中逐渐形成了相对稳定的功能微生物群体，这些功能微生物是我国重要的特色微生物资源。在长达 70 天的浓香型白酒固态发酵过程中，这些功能微生物不仅产生乙醇及多种风味物质，还产生氨基酸、小分子肽等多种护肤活性物质，这些物质与菌体分解物一起，经渗滤运移富集到发酵副产物黄水中，沉积在窖池中下部，在生产中通常用于串蒸提香、养窖护窖。

在前期研究中，我们从白酒糟醅中分离到可产多种护肤活性产物的 65 株 *Pichia kudriavzevii* 酵母，其中大部分菌株与双歧杆菌不存在相互之间的生长抑制，存在混菌发酵制备活性产物的可能。

基于上述背景，本发明开展了酵母与双歧杆菌混合发酵中药制备护肤品的相关研究。

发明内容

针对现有技术存在的上述问题，本发明提供一种天然多效护肤液的制备方法，是利用酵母菌与双歧杆菌混合发酵中药，同时添加浓香型白酒发酵副产物黄水中的护肤活性物质来制备护肤品。本发明的技术方案为：

第一个方面，本发明提供一种天然多效护肤液的制备方法，包括：将黄水活性成分提取液按照 5-20%（v/v）的添加量添加到酵母及双歧杆菌混合发酵的中药活性产物中，再添加植物提取液调香，之后依次均质、除菌过滤、分装、密封，并于 0-10℃ 保藏。

进一步，所述制备方法包括以下步骤：

步骤 1、中药培养液制备：在川芎、白芨、金银花、槐花、白术、黄豆芽的混合提取液中加入番茄汁混匀，得到中药培养液；

步骤 2、酵母菌发酵中药：在 YPD 培养基中加入乳酸调节 pH 至 5.0-5.5，然后加入酵母菌，于 25-32℃ 振荡培养 24-36h，再以 5-10% (v/v) 的接种量接种到所述中药培养液中，按照前述培养条件继续培养 6-12 h，再保温静置培养 30-72h，得到酵母发酵液；

步骤 3、双歧杆菌继续发酵中药：在 TPY 培养基中加入双歧杆菌于 37℃ 活化培养后，以 5-10% 的接种量接种到步骤 2 获得的酵母发酵液中，于 35-40℃ 静置培养 48-72 h，得到混菌发酵液；

步骤 4、发酵液后处理：向步骤 3 获得的混菌发酵液中添加 5-10 万 U/L 的酸性蛋白酶、10-20 万 U/L 的中性蛋白酶，于 40-50℃ 超声条件下酶解 30-50min，再离心取上清液，即得酵母及双歧杆菌混合发酵的中药活性产物；

步骤 5、黄水活性成分提取：在浓香型白酒发酵得到的黄水中加入 5-15 万 U/L 的酸性蛋白酶，于 40-50℃ 处理 30-50min，再离心取上清液；将上清液进行透析并收集其中的活性成分，浓缩，得到黄水活性成分提取液；

步骤 6、护肤水调配：将步骤 5 获得的黄水活性成分提取液按照 5-20% (v/v) 的添加量添加到步骤 4 获得的上清液中，再添加用于香味调节的植物提取液混匀，之后依次均质、0.22μm 滤膜过滤、分装、密封，于 0-10℃ 保藏。

进一步地，所述酵母菌具体为 *Pichia kudriavzevii* YB04 菌株，保藏于中国普通微生物菌种保藏中心，保藏编号 CGMCC NO: 20033。

进一步地，所述双歧杆菌具体为青春双歧杆菌。

可选地，所述植物提取液包括但不限于玫瑰提取液或甜橙提取液，以玫瑰提取液为例，可添加玫瑰精油或玫瑰花露水，添加量分别为酵母及双歧杆菌混合发酵中药的活性产物的 0.005-0.03% (wt/v) 和 0.05-0.3% (wt/v)。也可根据个人喜好采用其他植物精油或花露水，并相应调整用量。均质处理也可根据添加精油后的澄清状态灵活选择是否使用。

进一步地，所述川芎、白芨、金银花、槐花、白术、黄豆芽的混合提取液

说明书

的制备方法包括：将川芎、白芨、金银花、槐花、白术、黄豆芽、水按照重量份配比为：川芎 8~15 份，白芨 10~20 份，金银花 6~10 份，槐花 10~15 份，白术 10~20 份，黄豆芽 3~10 份，水 80~150 份混合均匀，浸泡后再煎煮，过滤，保留滤液，加入占滤液重量 1-3% 的糖，灭菌。

优选地，所述川芎、白芨、金银花、槐花、白术、黄豆芽、水的重量份配比为：川芎 10 份，白芨 15 份，金银花 8 份，槐花 12 份，白术 15 份，黄豆芽 5 份，水 100 份。

可选地，所述川芎 8~15 份替换成红景天 8~12 份，优选为 9 份。

可选地，所述槐花 10~15 份替换成覆盆子 10~15 份，优选为 11 份。

可选的，所述糖为葡萄糖或蔗糖。

优选地，所述番茄汁的制备方法包括：将番茄切块添加 9 倍重量的水煮沸 20min，纱布过滤，4000rpm 离心 5min，0.22 μ m 过滤。

优选地，所述番茄汁的加入量为川芎、白芨、金银花、槐花、白术、黄豆芽的混合提取液的 1-5% (v/v)。

可选地，所述 YPD 培养基替换为麦芽汁培养基。

进一步地，所述 TPY 培养基的制备方法包括：按照重量份配比，将水解酪蛋白 8~12 份、大豆胨 5~10 份、酵母粉 1~3 份、葡萄糖 3~5 份、L-半胱氨酸 0.1~1 份、磷酸氢二钾 1~3 份、氯化镁 0.5~1 份、硫酸锌 0.1~0.5 份、氯化钙 0.1~0.2 份、氯化铁 0.0001 份、吐温 80 1~1.5 份、黄豆芽 30~60 份混匀煮沸 20~30min，之后过滤，灭菌，再加入番茄汁 40~60 份混匀。

可选地，所述步骤 4 中的离心方法替换为其他过滤方法。

优选地，所述黄水采用浓香型白酒发酵完毕取出的头道黄水。

进一步地，所述透析的操作过程包括：将上清液加入到截留 1000 分子量的透析袋中，于 0.5 倍体积去离子水中搅拌透析 12-18h，收集水中分子量 1000 以下的小分子肽等活性成分。

可选地，所述步骤 5 中浓缩具体为旋转蒸发、薄层蒸发等方案。

第二个方面，本发明提供一种天然多效护肤液，是采用上述制备方法获得。

与现有技术相比，本发明的有益效果总结如下，具体实施例中还有进一步地证明：

1) 高保湿性：在室温下，吸取 0.5mL 本发明的天然多效护肤液滴加在滤纸片上，15 min 后称重，失水不高于 42%，对照（蒸馏水）失水 80%以上。

2) 美白性：本发明的天然多效护肤液对酪氨酸酶抑制率在 80-95%。

3) 抗氧化性：本发明的天然多效护肤液羟自由基清除率在 90%以上。

4) 安全性：本发明所用原料均为天然原料，具有可媲美维生素的安全性。参考《化妆品安全技术规范》进行 24h 皮肤斑贴试验及 30 日皮肤安全试验，该护肤液试验结果均为阴性。

5) 本发明所得护肤液含有 102 种来源于毕赤酵母和双歧杆菌的小分子肽，其中 99 种分子量低于 1000Da(表 3)，可被皮肤吸收，具有复合高效护肤效果，10℃储存半年，其 200-400nm 吸光谱无明显变化。

附图说明

此处所说明的附图用来提供对本发明的进一步理解，构成本发明的一部分，本发明的示意性实施例及其说明用于解释本发明，并不构成对本发明的不当限定。在附图中：

图 1 是本发明采用的 *Pichia kudriavzevii* YB04 菌株的菌落及细胞形态图，其中图（a）为菌落形态图；图（b）为细胞形态图。

图 2 是本发明实施例制备得到的护肤液样品的实物图。

图 3 是本发明实施例 1 的护肤液的蛋白质谱总离子图。

图 4 是本发明实施例 3 中护肤液的储存时间及温度对其 200-400nm 吸收光谱的

影响曲线。

具体实施方式

本发明实施例采用的 *Pichia kudriavzevii* YB04 酵母菌株,保藏于中国普通微生物菌种保藏中心,保藏编号 CGMCC NO: 20033。其菌落及细胞形态如图 1 所示。

本发明实施例采用的青春双歧杆菌购自 CICC,保藏号 CICC: 6070。

本发明实施例采用的 YPD 液体培养基、麦芽汁培养基购自青岛海博公司。

此外,在本发明的描述中,需要说明的是,实施例中未注明具体条件者,按照常规条件或制造商建议的条件进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者,均为可以通过市售购买获得的常规产品。

下面结合附图和具体的实施例对本发明做进一步详细说明,所述是对本发明的解释而不是限定。

实施例 1

本实施例提供一种天然多效护肤液的制备方法,包括以下步骤:

步骤 1、中药培养液制备:100 克番茄切块添加 900 mL 水煮沸 20 分钟,纱布过滤,4000 rpm 离心 5 min,0.22 μ m 过滤制得番茄汁备用。称取川芎 100g、白芨 150g、金银花 80g、槐花 120g、白术 150g、黄豆芽 50 克,加入 1L 水浸泡 30 分钟,煎煮 30 分钟后四层纱布过滤,得 600 mL 左右滤液,加入 12g 葡萄糖,分装入 2 个 500mL 的三角瓶中,115 $^{\circ}$ C 灭菌 30min,无菌条件下每瓶加入上述除菌过滤后的番茄汁 6mL,混匀。

步骤 2、*Pichia kudriavzevii* YB04 酵母发酵中药:该酵母分离自浓香型白酒发酵糟醅,现保存于中国普通微生物菌种保藏中心。从保藏斜面挑取酵母菌株 YB04,接种至 30 mL 乳酸 YPD 液体培养基(添加乳酸调节 pH 至 5.0)中,28 $^{\circ}$ C 振荡培养 30 h,以 5%的接种量将菌悬液接种至步骤 1 所得中药培养液中,28 $^{\circ}$ C

振荡培养 8 h 后，再静置培养 36 h，得到酵母发酵液。

步骤 3、双歧杆菌继续发酵中药：在 TPY 培养基中加入双歧杆菌于 37℃ 活化培养，然后进行细胞计数，将细胞数量为 10^8 个/mL 的双歧杆菌细胞悬液按 5% 的接种量接种到步骤 2 中得到的酵母发酵液中，37℃ 静置培养 48 h；所述 TPY 培养基的制备方法包括：按照重量份配比，将水解酪蛋白 10 份、大豆胨 8 份、酵母粉 2 份、葡萄糖 4 份、L-半胱氨酸 0.5 份、磷酸氢二钾 2 份、氯化镁 0.7 份、硫酸锌 0.3 份、氯化钙 0.1 份、氯化铁 0.0001 份、吐温 80 1.2 份、黄豆芽 45 份混匀煮沸 30min，之后过滤，灭菌，再加入番茄汁 50 份混匀。

步骤 4、发酵液后处理：向步骤 3 所得混菌发酵液中添加活性为 10 万 U/g 的酸性蛋白酶 0.25g、活性为 10 万 U/g 的中性蛋白酶 0.5g，45℃ 超声条件下酶解 40min，再 5000rpm 离心 10min，得到约 500mL 上清液备用。

步骤 5、黄水活性成分提取：浓香型白酒发酵完毕开窖后第一次取到的黄水（头道黄水）100mL，加入活性为 10 万 U/g 的酸性蛋白酶 0.1g，于 50℃ 处理 30min，5000rpm 离心 5min，取 80 mL 上清液，加入到截留 1000 分子量的透析袋中，于 40mL 去离子水中搅拌透析 14h，收集 40mL 左右透析袋外液体，再在 40℃ 下氮吹 20min，去除部分挥发性有机物，收集氮吹残液备用。

步骤 6、护肤液调配：将步骤 4 所得 500mL 上清液及步骤 5 所得 36 mL 黄水提取液混合，再添加 0.06g 玫瑰精油混匀，30Mpa 均质 5min，0.22 μ m 除菌过滤，分装到无菌容器中，密封，0-10℃ 保藏。制备得到的护肤液的实物如图 2 中左图所示。

实施例 2

本实施例提供一种天然多效护肤液的制备方法，包括以下步骤：

步骤 1、中药培养液制备：100 克番茄切块添加 900 mL 水煮沸 20 分钟，纱布过滤，4000 rpm 离心 5 min，0.22 μ m 过滤制得番茄汁备用。称取红景天 90g、白芨 150g、金银花 80g、覆盆子 110g、白术 150g、黄豆芽 50 克，加入 1L 水浸

泡 30 分钟，煎煮 30 分钟后四层纱布过滤，得 600 mL 左右滤液，加入 12g 葡萄糖，分装入 2 个 500mL 的三角瓶中，115℃灭菌 30min，无菌条件下每瓶加入上述除菌过滤后的番茄汁 5 mL，混匀。

步骤 2、*Pichia kudriavzevii* YB04 酵母发酵中药：从保藏斜面挑取酵母菌株 YB04，接种至 30 mL 乳酸麦芽汁培养基（添加乳酸调节 pH 至 5.0）中，28℃振荡培养 36 h，以 5%的接种量将菌悬液接种至步骤 1 所得培养基中，28℃振荡培养 10 h 后，再静置培养 40 h，得到酵母发酵液。

步骤 3、双歧杆菌继续发酵中药：在 TPY 培养基中加入双歧杆菌于 37℃活化培养，然后进行细胞计数，将细胞数量为 10^8 个/mL 的双歧杆菌细胞悬液按 10%的接种量接种到步骤 2 中得到的酵母发酵液中，37℃静置培养 48 h；所述 TPY 培养基的制备方法包括：按照重量份配比，将水解酪蛋白 8 份、大豆胨 10 份、酵母粉 1 份、葡萄糖 4 份、L-半胱氨酸 1 份、磷酸氢二钾 1 份、氯化镁 0.5 份、硫酸锌 0.3 份、氯化钙 0.2 份、氯化铁 0.0001 份、吐温 80 1 份、黄豆芽 60 份混匀煮沸 30min，之后过滤，灭菌，再加入番茄汁 50 份混匀。

步骤 4、发酵液后处理：向步骤 3 所得混菌发酵液中添加活性为 10 万 U/g 的酸性蛋白酶 0.2g、活性为 10 万 U/g 的中性蛋白酶 0.4g，42℃超声条件下酶解 40min，再 5000rpm 离心 10min，得到约 500mL 上清液备用；

步骤 5、黄水活性成分提取：浓香型白酒发酵完毕开窖后第一次取到的黄水（头道黄水）200mL，加入活性为 10 万 U/g 的酸性蛋白酶 0.3g，于 40℃处理 50min，5000rpm 离心 5min，取 170 mL 上清液，加入到截留 1000 分子量的透析袋中，于 85mL 去离子水中搅拌透析 14h，收集 85mL 左右透析袋外液体，再在 50℃下薄层（平铺，0.5cm 厚）鼓风蒸发 20min，去除部分挥发性有机物，收集浓缩液备用。

步骤 6、护肤液调配：将步骤 4 所得 500mL 上清液及步骤 5 所得 60 mL 黄水提取液混合，再添加 0.1g 甜橙精油混匀，分装到无菌容器中，密封，0-10℃

保藏。制备得到的护肤液的实物如图 2 中右图所示。

实施例 3

性能测试

对实施例 1 和 2 所得的护肤液进行性能测试，性能测试方法如下：

1) 外观及气味

微黄，清澈透明，气味芳香，有酵母发酵液特有的微酸味。

2) 抗氧化特征：羟自由基清除率 90%以上。

在试管中 1.0 mL H_2O_2 (8.8 mmol/L)，1.0 mL FeSO_4 溶液 (0.9 mmol/L)，1.0 mL 水杨酸 (9 mmol/L)，1.0 mL 样品溶液， H_2O_2 最后加入以启动反应，将反应体系在 37℃ 水浴中孵育 60 min，在 510 nm 处检测吸光度，并计算 $\cdot\text{OH}$ 清除率。

$$\cdot\text{OH} \text{ 清除率} = [1 - (\text{As} - \text{Ab}) \div \text{Ac}] \times 100\%。$$

式中：As—溶剂空白管吸光值（以蒸馏水代替水杨酸）；Ab—样品管吸光值；Ac—样品空白管吸光值。

按照上述方法测得实施例 1 和 2 中不同批次护肤液的羟自由基清除率在 90%-98% 之间。并且设置对照组：添加 0.01% 焦糖色素的蒸馏水。以某一批次为准平行测定 3 次，结果如表 2 所示。

3) 美白特性：酪氨酸酶抑制率 80%以上；

使用 L-酪氨酸作为底物，于 37℃ 下，按表 1 准确添加试剂，并测量 475 nm 处样品的吸光度。

将底物和 pH=6.8 的磷酸盐缓冲液分别添加到实验试管中，然后再添加 1.0 mL 的样品溶液，在 37℃ 的水浴中充分进行反应 10 分钟，然后再添加酪氨酸酶溶液，再在 37℃ 的水浴中充分进行反应。10 分钟后，在 475 nm 处进行测定吸光度，并对每一个样本进行 3 次测定，以便获得平均值。

磷酸盐缓冲液（PBS）：磷酸二氢钾 (KH_2PO_4)：0.24 g，磷酸氢二钠 (Na_2HPO_4)：1.44 g，氯化钠 (NaCl)：8 g，氯化钾 (KCl)：0.2 g，加入约 800 mL 去离子水充分搅拌使其溶解，然后加入浓盐酸调节 pH 至 7.4，最后调至 1 L。

说明书

表 1 实验体系设计

| 试剂 | C ₁ (mL) | C ₀ (mL) | T ₁ (mL) | T ₀ (mL) |
|-------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| PBS | 2 | 2.5 | 1 | 1.5 |
| 样品 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| L-酪氨酸 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 酪氨酸酶 | 0.5 | 0 | 0.5 | 0 |

$IR(\%) = [(C_1 - C_0) - (T_1 - T_0)] / (C_1 - C_0) * 100\%$; 其中, IR—酪氨酸酶抑制率, C₁—空白对照组吸光值, C₀—不加酪氨酸酶的空白对照吸光度值, T₁—样品组吸光度值, T₀—不加酪氨酸酶的样品组吸光度值。

按照上述方法测得不同批次护肤液的酪氨酸酶抑制率在 80-95%之间, 结果如表 2 所示。

4) 保湿特性: 失水率低于对照(蒸馏水)的 50%;

在室温下, 吸取 0.5 mL 样品滴加在滤纸片上, 对滴加样品前后、15 min 后分别进行称重, 计算水分残存率, 并与对照(蒸馏水)比较, 结果显示不同批次护肤液的水分残存率为对照的 200-280%, 即失水率为对照的 46-50%。

水分残存率(%) = $H_n / H_0 * 100\%$, 其中, H_n—为放置后样品的质量; H₀—为放置前样品的质量。结果如表 2 所示。

表 2 实施例 1 和 2 的羟自由基清除、酪氨酸酶活性抑制、失水性能测试结果

| 试验组 | 羟自由基清除率 | 酪氨酸酶活性抑制率 | 失水率 |
|------------------------|-------------|-------------|-------------|
| 实施例 1 的护肤液组 | 92%、95%、98% | 88%、90%、95% | 30%、40%、35% |
| 实施例 2 的护肤液组 | 93%、95%、97% | 80%、85%、87% | 40%、42%、34% |
| 对照组(添加 0.01% 焦糖色素的蒸馏水) | 5%、4%、6% | 2%、6%、5% | 80%、90%、95% |

说 明 书

5) 营养特性：参考国标《GB 5009.5-2016 食品安全国家标准食品中蛋白质的测定》测得两个实施例中不同批次护肤液的总氮含量在 8-10 大于 8g/L 之间；参考《GB 5009.235-2016 食品安全国家标准食品中氨基酸态氮的测定》测得不同批次护肤液中的氨态氮（氨基酸）含量在 4-6 g / L 之间。此外，实施例 1 的护肤液中含有 102 种来源于毕赤酵母和双歧杆菌的小分子肽，其中 99 种分子量低于 1000Da，结果如表 3 所示，可被皮肤吸收，具有复合高效护肤效果。蛋白质谱的总离子流图如图 3 所示。

表 3 护肤液肽段分布情况

| 序号 | 注释序列 | 关联蛋白 | 匹配到二级谱库的肽数目 | 主蛋白数据库编号 | 分子量+1 [Da] | 来源 | 保留时间 min |
|----|--------------------|------|-------------|----------|------------|-------------------------|----------|
| 1 | [S].ILLILIL.[I] | 1 | 2 | Q6DNA2 | 923.6904 | Pichia | 50.81 |
| 2 | [S].TGGGASL.[E] | 5 | 1 | B3DRV9 | 562.2831 | Bifidobacterium; Pichia | 17.58 |
| 3 | [D].KNIITNQ.[N] | 1 | 2 | A3LNC4 | 833.4251 | Pichia | 13.84 |
| 4 | [K].AVNEVIAP.[K] | 2 | 3 | B7GTK2 | 812.4512 | Bifidobacterium | 48.71 |
| 5 | [S].RPQGPPEG.[Q] | 1 | 1 | A3LSY7 | 806.4155 | Pichia | 25.28 |
| 6 | [T].VGINGFGRIG.[R] | 2 | 1 | Q9UVC0 | 989.5527 | Pichia | 44.41 |
| 7 | [Y].KDQKVE.[Y] | 1 | 1 | A3LR68 | 747.3883 | Pichia | 3.02 |
| 8 | [T].EVIVAP.[DG] | 5 | 8 | Q8G6B1 | 627.3712 | Bifidobacterium | 44.48 |
| 9 | [L].GLPGAP.[K] | 1 | 3 | A3GGE9 | 511.2875 | Pichia | 24.56 |
| 10 | [F].SAGPGTL.[S] | 1 | 1 | A3GFA2 | 602.3144 | Pichia | 22.94 |
| 11 | [L].NLPLLP.[T] | 1 | 1 | A1A1F4 | 666.4185 | Bifidobacterium | 56.09 |
| 12 | [AQ].LPINLP.[D] | 3 | 1 | | 666.4185 | Bifidobacterium | 56.09 |
| 13 | [N].PDLPLP.[T] | 2 | 4 | B7GS97 | 651.3712 | Bifidobacterium | 47.32 |
| 14 | [S].SGGIVNA.[Q] | 1 | 2 | A3LR41 | 617.3253 | Pichia | 25.06 |
| 15 | [Q].ISYITP.[H] | 1 | 1 | A3LZ54 | 693.3818 | Pichia | 39.25 |
| 16 | [L].LASGATITY.[S] | 1 | 2 | P48874 | 896.4724 | Pichia | 40.21 |
| 17 | [K].VVITAP.[S] | 2 | 2 | Q9UVC0 | 599.3763 | Pichia | 36.86 |
| 18 | [L].TSLPK.[P] | 1 | 2 | Q9P8N0 | 658.4134 | Pichia | 25.86 |
| 19 | [S].GANLAP.[E] | 2 | 3 | Q6ZZF4 | 543.2773 | Pichia | 23 |
| 20 | [M].LGGTLA.[G] | 1 | 1 | | 531.3137 | Bifidobacterium | 21.29 |
| 21 | [R].NKSVP.[V] | 1 | 3 | A3GGT2 | 644.3614 | Pichia | 27.57 |
| 22 | [V].GITKDGK.[W] | 4 | 2 | B7GU04 | 718.4094 | Bifidobacterium | 15.72 |
| 23 | [P].GLGTLA.[L] | 1 | 1 | Q841V6 | 531.3137 | Bifidobacterium | 21.29 |
| 24 | [TL].VLVTGG.[AS] | 3 | 1 | E8MF10 | 545.3293 | Bifidobacterium | 19.33 |
| 25 | [L].AGGVTP.[D] | 1 | 2 | O13504 | 501.2667 | Pichia | 15.7 |
| 26 | [S].SLFNLP.[E] | 1 | 2 | A3GF47 | 691.3661 | Pichia | 60.65 |
| 27 | [Y].SFINIP.[Q] | 1 | 2 | Q37024 | 691.3661 | Pichia | 60.65 |
| 28 | [E].YALDIP.[Q] | 1 | 2 | | 691.3661 | Bifidobacterium | 60.65 |
| 29 | [L].KADGVL.[A] | 1 | 3 | A1A2C3 | 602.3508 | Bifidobacterium | 40.81 |
| 30 | [V].GPVPVGG.[G] | 1 | 2 | Q8G7Y6 | 582.3246 | Bifidobacterium | 26.53 |

说明书

| | | | | | | | |
|----|---------------------------|---|---|--------|----------|----------------------------|-------|
| 31 | [V].SALGGP.[D] | 1 | 1 | A3LR41 | 501.2667 | Pichia | 15.7 |
| 32 | [D].VPAGPV.[D] | 1 | 1 | Q8G5Q9 | 539.3188 | Bifidobacterium | 34.24 |
| 33 | [G].VLGTIAG.[D] | 4 | 2 | Q8G5F1 | 630.3821 | Bifidobacterium | 34.47 |
| 34 | [K].NLPAPGP.[D] | 1 | 2 | A3LT66 | 665.3617 | Pichia | 31.3 |
| 35 | [D].QPAQAGP.[E] | 1 | 3 | P12808 | 669.3202 | Pichia | 17.04 |
| 36 | [R].SGQPSAI.[N] | 1 | 2 | A3LW52 | 659.3359 | Pichia | 23.39 |
| 37 | [K].AELNIK.[N] | 1 | 1 | Q8G3I2 | 687.4036 | Bifidobacterium | 28.85 |
| 38 | [V].EALNLK.[Q] | 1 | 1 | | 687.4036 | Pichia | 28.85 |
| 39 | [S].SVAPSP.[P] | 1 | 3 | Q9HG09 | 557.293 | Pichia | 21.32 |
| 40 | [Y].ANKNIK.[M] | 1 | 1 | | 687.4148 | Pichia | 28.85 |
| 41 | [S].GAGKNLK.[R] | 3 | 1 | | 687.4148 | Bifidobacterium | 28.85 |
| 42 | [Q].LVNVIAP.[I] | 2 | 1 | Q841V6 | 725.4556 | Bifidobacterium | 51.46 |
| 43 | [P].ASGGPVTA.[T] | 1 | 2 | Q8G838 | 659.3359 | Bifidobacterium | 23.39 |
| 44 | [G].GGGLIP.[G] | 1 | 2 | Q9UVG5 | 513.3031 | Pichia | 37.45 |
| 45 | [A].GKQNLK.[N] | 1 | 1 | | 687.4148 | Bifidobacterium | 28.85 |
| 46 | [S].AVVVVN.[A] | 1 | 3 | B7GTL2 | 601.3556 | Bifidobacterium | 30.92 |
| 47 | [S].SGGIVN.[A] | 1 | 1 | A3LR41 | 546.2882 | Pichia | 17.24 |
| 48 | [F].AVILTP.[T] | 1 | 1 | A3LWH3 | 613.3919 | Pichia | 49.09 |
| 49 | [V].VLSAVG.[D] | 1 | 1 | B8DVY5 | 545.3293 | Bifidobacterium | 32.65 |
| 50 | [A].VASVVG.[G] | 1 | 1 | | 644.3978 | Bifidobacterium | 40.53 |
| 51 | [D].GSVAGSIP.[L] | 1 | 1 | A3LYL7 | 687.3672 | Pichia | 36.32 |
| 52 | [A].GVAPSA.[P] | 1 | 1 | Q8G4D1 | 501.2667 | Bifidobacterium | 16.59 |
| 53 | [E].GITLLP.[N] | 1 | 1 | | 613.3919 | Bifidobacterium | 49.09 |
| 54 | [K].IGTLLP.[N] | 1 | 1 | | 613.3919 | Pichia | 49.09 |
| 55 | [R].TIPGFP.[K] | 1 | 2 | A1A1K5 | 631.345 | Bifidobacterium | 49.21 |
| 56 | [Q].IVPLSP.[T] | 2 | 3 | C6AHX0 | 625.3919 | Bifidobacterium | 42.77 |
| 57 | [P].PAPVVQ.[N] | 1 | 1 | A3LYL7 | 611.3399 | Pichia | 25.06 |
| 58 | [P].LTAVLP.[V] | 1 | 1 | | 613.3919 | Pichia | 49.09 |
| 59 | [Q].SSVAPSP.[P] | 1 | 1 | Q9HG09 | 644.325 | Pichia | 23.9 |
| 60 | [P].VAGPAP.[VI] | 3 | 2 | B7GQH1 | 511.2875 | Bifidobacterium | 26.09 |
| 61 | [AG].LKNVVA.[LG] | 4 | 1 | Q6ZZF4 | 644.3978 | Bifidobacterium;P ichia | 40.53 |
| 62 | [R].ISAASALT.[H] | 1 | 2 | A3LN91 | 733.4091 | Pichia | 29.4 |
| 63 | [R].TAVPGHVQ.[Q] | 2 | 1 | Q92448 | 808.4312 | Pichia | 30.34 |
| 64 | [K].NQTKYGNDKIA.[S] | 1 | 2 | C4R7Z3 | 1252.617 | Pichia | 43.76 |
| 65 | [V].SANVLSP.[E] | 1 | 1 | | 687.3672 | Bifidobacterium | 36.32 |
| 66 | [G].AASAGVI.[L] | 1 | 1 | Q9P864 | 588.3352 | Pichia | 34.72 |
| 67 | [A].VPNVPA.[G] | 1 | 1 | A3LTE2 | 596.3402 | Pichia | 27.11 |
| 68 | [-].MAGLPP.[L] | 1 | 1 | Q8G4R1 | 585.3065 | Bifidobacterium | 35.28 |
| 69 | [T].AASLAS.[K] | 1 | 1 | A3LU10 | 519.2773 | Pichia | 2.35 |
| 70 | [V].GLVGGN.[S] | 1 | 1 | A3GGS6 | 517.2617 | Pichia | 11.68 |
| 71 | [D].LTNQIP.[V] | 1 | 1 | A3M022 | 685.3879 | Pichia | 39.1 |
| 72 | [S].VNSSILT.[L] | 1 | 2 | | 733.4091 | Pichia | 29.4 |
| 73 | [F].GTATAAYQIEGAV. [A] | 1 | 1 | | 1252.606 | Bifidobacterium | 43.76 |
| 74 | [H].GNKGV.[S] | 1 | 1 | | 588.3352 | Bifidobacterium | 34.72 |
| 75 | [D].VSQPLTA.[E] | 2 | 1 | B7GQ70 | 715.3985 | Bifidobacterium | 26.72 |
| 76 | [C].SAVDKLT.[G] | 1 | 1 | A3LN91 | 733.4091 | Pichia | 29.4 |
| 77 | [T].GSGIVQG.[L] | 1 | 1 | | 617.3253 | Pichia | 25.06 |

说明书

| | | | | | | | |
|-----|--------------------|---|---|--------|----------|-----------------|-------|
| 78 | [D].SNVPGP.[G] | 2 | 1 | Q8G5I3 | 571.2722 | Bifidobacterium | 12.43 |
| 79 | [V].SAGGSM.[L] | 1 | 1 | D4QFE7 | 509.2024 | Bifidobacterium | 4.34 |
| 80 | [L].TGVAVP.[L] | 1 | 1 | A0ZZS8 | 543.3137 | Bifidobacterium | 32.04 |
| 81 | [G].GKSDILT.[L] | 1 | 1 | | 733.4091 | Pichia | 29.4 |
| 82 | [EK].TSALQLT.[T] | 2 | 1 | | 733.4091 | Bifidobacterium | 29.4 |
| 83 | [S].NSGSAP.[I] | 1 | 1 | P32101 | 532.2362 | Pichia | 26.48 |
| 84 | [C].INGGGQIN.[P] | 1 | 1 | A3LYR2 | 772.3948 | Pichia | 18.27 |
| 85 | [A].GVGVGQ.[A] | 1 | 1 | A1A200 | 516.2776 | Bifidobacterium | 12.35 |
| 86 | [G].NTLGLAP.[G] | 1 | 1 | | 685.3879 | Bifidobacterium | 39.1 |
| 87 | [A].LSGAVP.[P] | 1 | 1 | | 543.3137 | Bifidobacterium | 32.04 |
| 88 | [L].LSQGLAP.[F] | 1 | 1 | | 685.3879 | Pichia | 39.1 |
| 89 | [D].NSSGAP.[L] | 1 | 1 | | 532.2362 | Pichia | 26.48 |
| 90 | [K].NQTKYGNDKI.[A] | 1 | 2 | C4R7Z3 | 1181.58 | Pichia | 40.59 |
| 91 | [AL].AAAISA.[AG] | 4 | 2 | Q8G4Q4 | 503.2824 | Bifidobacterium | 4.44 |
| 92 | [A].AAALAS.[AN] | 2 | 1 | | 503.2824 | Bifidobacterium | 4.44 |
| 93 | [Q].AAASIA.[L] | 1 | 1 | | 503.2824 | Bifidobacterium | 4.44 |
| 94 | [N].AAAAIS.[A] | 3 | 1 | Q8G4Q4 | 503.2824 | Bifidobacterium | 4.44 |
| 95 | [T].SGNVFISVN.[D] | 1 | 1 | A1A0T4 | 936.4785 | Bifidobacterium | 40.16 |
| 96 | [T].AAAIGT.[E] | 1 | 1 | | 503.2824 | Pichia | 4.44 |
| 97 | [A].PAATVN.[V] | 1 | 1 | Q8G3M4 | 573.2879 | Bifidobacterium | 4.43 |
| 98 | [A].AAAGIT.[Y] | 1 | 1 | | 503.2824 | Bifidobacterium | 4.44 |
| 99 | [VI].AAAGTI.[V] | 2 | 1 | | 503.2824 | Bifidobacterium | 4.44 |
| 100 | [H].QITSIE.[A] | 1 | 2 | A3LQU0 | 691.3509 | Pichia | 35.57 |
| 101 | [S].AVVVAP.[G] | 1 | 2 | A1A3A4 | 555.3501 | Bifidobacterium | 36.77 |
| 102 | [I].QAPQQPQ.[E] | 1 | 1 | A3LN91 | 797.3788 | Pichia | 14.73 |

表 3 和图 3 的数据表明，在实施例 1 的护肤液中有 97%的蛋白成分分子量都小于 1000，因而极易被皮肤吸收，可以带来很好的护肤效果。

6) 安全性及致敏性：参考《化妆品安全技术规范》进行 24h 皮肤斑贴试验及 30 日皮肤安全试验，该护肤液试验结果均为阴性。

7) 储存稳定性：如图 4 所示。

将实施例 1 的护肤液分别在室温（20℃）、30℃、40℃、50℃下处理 30 d，或在 4℃下分别储存 10d、45d、90d、180d 后，稀释 10 倍，用紫外-可见分光光度计扫描 200-600 nm 之间的吸光度，以 Abs 为纵坐标，波长为横坐标做出扫描光谱图，得到如图 4 所示实验结果，可以看出温度对该护肤液活性的影响大于

时间，该护肤液宜于 20℃ 以下低温储存使用，10℃ 存储更好，半年内 200-400nm 吸光谱无明显变化。

实施例 4

本实施例提供实施例 1 和 2 的多效天然活性护肤液日常护肤效果评价，具体评价过程如下：

使用 3 个棕色喷雾瓶分别装入实施例 1 和 2 的护肤液及蒸馏水（添加 0.01% 焦糖色素），试验时间为 30 日，选择 90 名年龄在 20-30 岁之间的志愿者，随机分发随机编码的 30 个实施例 1 的护肤液、30 个实施例 2 的护肤液及 30 个对照（添加 0.01% 焦糖色素的蒸馏水），每天早晚直接喷雾或均匀涂抹于清洁后的左手背皮肤，持续 30 日，右手背不做处理，30 日后对结果进行统计分析，结果如表 4 所示，表明护肤液具有显著美白效果（ $P < 0.05$ ），同时所有志愿者无报告不适，根据《化妆品安全技术规范》中人体试用试验安全性评价相关规定，判定该护肤液具有良好的皮肤安全性。

表 4 护肤液美白实验结果

| 试验组 | 显著美白效果报告人数 | 无美白效果报告人数 | 不适报告人数 | 不确定是否有美白效果报告人数 |
|------------------------|------------|-----------|--------|----------------|
| 实施例 1 的护肤液组 | 23 | 3 | 0 | 4 |
| 实施例 2 的护肤液组 | 22 | 2 | 0 | 6 |
| 对照组（添加 0.01% 焦糖色素的蒸馏水） | 5 | 20 | 0 | 5 |

实施例 5

本实施例提供一种多效天然活性护肤液用于舒缓皮肤的应用效果评价，包括以下步骤：

使用棕色喷雾瓶分别装入护肤液及蒸馏水，于 4-7 月，选择 90 名年龄在

说明书

20-30 岁之间具有敏感、干燥等皮肤不适情况的志愿者，随机分发随机编码的 30 个实施例 1 的护肤液、30 个实施例 2 的护肤液及 30 个对照（添加 0.01% 焦糖色素的蒸馏水），要求每天早晚直接喷雾或均匀涂抹于清洁后的左手臂皮肤，右手臂不做处理，最后对结果进行统计分析，结果如表 5 所示，发现护肤液可显著舒缓皮肤（ $P < 0.05$ ）。

表 5 护肤液舒缓皮肤实验结果

| 试验组 | 显著舒缓皮肤 报告人数 | 无舒缓作用报 告人数 | 不适报告人数 | 不确定是否有 舒缓作用报告 人数 |
|-------------------------------|----------------|---------------|--------|------------------------|
| 实施例 1 的护 肤液组 | 25 | 1 | 0 | 4 |
| 实施例 2 的护 肤液组 | 22 | 4 | 0 | 4 |
| 对照组（添加 0.01% 焦糖色 素的蒸馏水） | 2 | 18 | 0 | 10 |

实施例 6

酵母菌和双歧杆菌的复配选择

本发明在研究初期考察首先考察了 3 种常见双歧杆菌对 13 种中药的适应性，其方法为分别接种 3 种双歧杆菌到 13 种中药提取物中 37℃ 静置培养 2d，检测菌悬液在 560nm 处的吸光值，其结果如表 6 所示，可以看出青春双歧杆菌与动物双歧杆菌在 9 种中药提取物中的生长情况更好，因而作为下一步筛选酵母的背景。

表 6 双歧杆菌在中药中的生长情况

| 中药 | 青春双歧杆菌 (OD600nm) | 动物双歧杆菌 (OD600nm) | 乳双歧杆菌 (OD600nm) |
|----|---------------------|---------------------|--------------------|
| 黄芪 | 1.546 | 1.52 | 0 |

说 明 书

| | | | |
|-----|-------|-------|-------|
| 银杏 | 0.431 | 0.38 | 0.389 |
| 金银花 | 1.182 | 1.235 | 0 |
| 白芨 | 0.865 | 0.901 | 0.871 |
| 红景天 | 1.712 | 1.654 | 0 |
| 茯苓 | 0.322 | 0.346 | 0.319 |
| 覆盆子 | 1.658 | 1.579 | 0 |
| 槐花 | 0.621 | 0.627 | 0.669 |
| 红花 | 0.812 | 0.835 | 0.768 |
| 川芎 | 1.998 | 2.102 | 0 |
| 葛根 | 0.193 | 0.172 | 0.175 |
| 马齿苋 | 0 | 0 | 0 |
| 白术 | 0.524 | 0.532 | 0.519 |

我们从酒糟中一共分离出 85 株 *Pichia kudriavzevii* 酵母，从中筛选到 16 株具有抗氧化活性和抑制酪氨酸酶活性双重功能的酵母，表 7 展示这 16 株酵母在不同中药提取物中的生长情况，可以看出，同是 *Pichia kudriavzevii* 酵母，其在 9 种中药提取物中的生长情况各不相同。YB04 可发酵川芎、白芨、金银花、槐花、白术、红景天、覆盆子，YB05 可发酵川芎、金银花、红景天、白术、红花、槐花，二者相比，YB04 可适应白芨，但无法适应红花，YB05 可适应红花，却无法适应白芨、覆盆子。

表 7 16 株 *Pichia kudriavzevii* 酵母在 9 种中药提取物中的生长情况 (OD560nm)

| 菌株 | 川芎 | 白芨 | 红景天 | 红花 | 覆盆子 | 黄芪 | 金银花 | 槐花 | 白术 |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| YB01 | 0 | 0 | 0.384 | 1.389 | 0 | 0.102 | 0 | 0.116 | 0.14 |
| YB02 | 0.153 | 0.155 | 0 | 0 | 0.155 | 0.107 | 0.104 | 0.155 | 0.109 |
| YB03 | 0 | 0.161 | 0 | 0 | 0 | 0.125 | 0.177 | 0.101 | 0.177 |
| YB04 | 0.159 | 0.205 | 0.253 | 0 | 1.375 | 0 | 0.196 | 0.213 | 0.247 |
| YB05 | 0.121 | 0 | 0.564 | 1.201 | 0 | 0 | 0.227 | 0.109 | 0.195 |
| YB06 | 0 | 0.149 | 0.845 | 0 | 0 | 0.118 | 0.102 | 0.109 | 0.161 |
| YB07 | 0 | 0 | 0 | 0.485 | 0.256 | 0.226 | 0 | 0 | 0.161 |
| YB08 | 0 | 0.154 | 0.419 | 0 | 1.305 | 0 | 0.11 | 0 | 0.188 |
| YB09 | 0 | 0 | 0.609 | 1.029 | 0.945 | 0 | 0.202 | 0 | 0.22 |
| YB10 | 0.106 | 0 | 0.918 | 0 | 3.769 | 0 | 0.196 | 0 | 0.33 |
| YB11 | 0.136 | 0 | 0 | 0.179 | 0.209 | 0 | 0.156 | 0.223 | 0.146 |

说明书

| | | | | | | | | | |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| YB12 | 0 | 0 | 0.522 | 0 | 2.888 | 0.153 | 0 | 0.114 | 0.119 |
| YB13 | 0 | 0.116 | 0 | 0.106 | 0.124 | 0 | 0 | 0.263 | 0.152 |
| YB14 | 0.121 | 0 | 0.151 | 0.101 | 0 | 0 | 0 | 0.111 | 0.131 |
| YB15 | 0.114 | 0.114 | 0 | 0.135 | 0.147 | 0 | 0 | 0.126 | 0 |
| YB16 | 0 | 0.11 | 0 | 0.152 | 0.107 | 0 | 0.123 | 0 | 0.19 |

表 8 酵母与两种双歧杆菌在中药培养基中单独及协同生长情况

| 菌株 | 培养基配方 | 酵母 (O D560 nm) | 青春 双歧 杆菌 (O D560 nm) | 动物 双歧 杆菌 (O D560 nm) | 酵母 +青春 双歧杆 菌 (O D560 nm) | 酵母 +动物 双歧杆 菌 (O D560 nm) |
|------|--|-------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--|--|
| YB01 | 红景天 1 份+红花 1 份+黄芪 1 份+槐花 1 份+白术 1 份+水 45 份 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| YB02 | 川芎 1 份+白芩 1 份+覆盆子 1 份+黄芪 1 份+金银花 1 份+槐花 1 份+白术 1 份+水 63 份 | 0.481 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| YB03 | 白芩 1 份+黄芪 1 份+金银花 1 份+槐花 1 份+白术 1 份+水 45 份 | 0.940 | 0.154 | 0.172 | 0.173 | 0.144 |
| YB04 | 川芎 1 份+白芩 1 份+红景天 1 份+覆盆子 1 份+金银花 1 份+槐花 1 份+白术 1 份+水 63 份 | 0.532 | 0.211 | 0.181 | 0.552 | 0.139 |
| YB05 | 川芎 1 份+红景天 1 份+红花 1 份+金银花 1 份+槐花 1 份+白术 1 份+水 54 份 | 0.662 | 0.078 | 0.181 | 0.485 | 0.642 |
| YB06 | 红景天 1 份红花 1 份+黄芪 1 份+金银花 1 份+槐花 1 份+白术 1 份+水 54 份 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| YB07 | 红景天 1 份红花 1 份+黄芪 1 份+金银花 1 份+槐花 1 份+白术 1 份+水 54 份 | 0 | 0.292 | 0.172 | 0.293 | 0.121 |

说 明 书

| | | | | | | |
|------|--|-------|-------|-------|-------|-------|
| YB08 | 白芨 1 份+红景天 1 份+覆盆子 1 份+金银花 1 份+白术 1 份+水 45 份 | 0.583 | 0.145 | 0.176 | 0.228 | 0.320 |
| YB09 | 红景天 1 份红花 1 份+覆盆子 1 份+金银花 1 份+白术 1 份+水 45 份 | 0.344 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| YB10 | 川芎 1 份+红景天 1 份+覆盆子 1 份+金银花 1 份+白术 1 份+水 45 份 | 0.785 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| YB11 | 川芎 1 份+红花 1 份+覆盆子 1 份+金银花 1 份+槐花 1 份+白术 1 份+水 54 份 | 0.682 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| YB12 | 红景天 1 份+覆盆子 1 份+黄芪 1 份+槐花 1 份+白术 1 份+水 45 份 | 0.579 | 0.156 | 0.199 | 0.197 | 0.142 |
| YB13 | 白芨 1 份+红花 1 份+覆盆子 1 份+槐花 1 份+白术 1 份+水 45 份 | 0.465 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| YB14 | 川芎 1 份+红景天 1 份+红花 1 份+槐花 1 份+白术 1 份+水 45 份 | 0.371 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| YB15 | 川芎 1 份+白芨 1 份+红花 1 份+覆盆子 1 份+槐花 1 份+水 45 份 | 0.516 | 0.399 | 0.246 | 0.397 | 0.241 |
| YB16 | 白芨 1 份+红景天 1 份+覆盆子 1 份+金银花 1 份+白术 1 份+水 45 份 | 0.578 | 0 | 0 | 0.579 | 0.401 |

根据表 7 将各酵母菌株可适应的中药制成复合配方培养基，在其中分别接种两种双歧杆菌、酵母或二者混合物，30℃震荡培养 1d 转入 37℃静置培养 2d 后，检测培养液的 OD560nm，结果如表 8 所示，YB03、YB04、YB05、YB07、YB08、YB12、YB15、YB16 这 8 株酵母可单独或同时与至少一种双歧杆菌在中药混合提取物中生长。

在表 8 的基础上进一步将 YB03、YB04、YB05、YB07、YB08、YB12、YB15、YB16 与动物双歧杆菌或青春双歧杆菌共培养的中药进行抗氧化活性及抑制酪

氨酸酶效果测定，测试方法同实施例 3 中的 2)、3)、4)，结果如表 9 所示。

表 9 表明这些酵母与不同双歧杆菌共培养物的抗氧化活性及抑制酪氨酸酶效果分别以 YB04、YB05 效果最好，且二者各有侧重，其中 YB04 更适宜与青春双歧杆菌搭配使用，YB05 更适宜与动物双歧杆菌搭配使用。

表 9 酵母与两种双歧杆菌共培养物的美白特性

| | 酵母+动物双歧杆菌 (OD560nm) | | | 酵母+青春双歧杆菌 (OD560nm) | | |
|------|------------------------|-----------------|--------------------------|------------------------|---------------------|------------------|
| | 羟自由基 抑制率 | 酪氨酸 酶抑制 率 | 失水率 (与空 白对照 相比) | 羟自 由基 抑制 率 | 酪氨 酸酶 抑制 率 | 失水率(与空白 对照相比) |
| YB03 | 80% | 20% | 37.08% | 76% | 28% | 35.28% |
| YB04 | 89% | 99% | 36.94% | 80% | 82% | 35.84% |
| YB05 | 81% | 78% | 35.92% | 99% | 88% | 36.22% |
| YB07 | 60% | 72% | 13.61% | 56% | 48% | 12.03% |
| YB08 | 37% | 62% | 39.52% | 81% | 65% | 37.08% |
| YB12 | 54% | 75% | 39.39% | 51% | 45% | 39.06% |
| YB15 | 44% | 57% | 37.08% | 24% | 32% | 37.08% |
| YB16 | 74% | 83% | 36.94% | 51% | 38% | 36.94% |

综上所述，本发明开发出一种天然多效护肤液的制备方法，该护肤液具有高保湿性、美白性、抗氧化性和安全性，并且该护肤液在 10℃ 下可以储存半年，其 200-400nm 吸光谱无明显变化。

以上所述实施例仅表达了本发明的几种实施方式，其描述较为具体和详细，但并不能因此而理解为对本发明专利范围的限制。应当指出的是，对于本领域的普通技术人员来说，在不脱离本发明构思的前提下，还可以做出若干变形和改进，这些都属于本发明的保护范围。因此，本发明的保护范围应以所附权利要求为准。