



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113559045 A

(43) 申请公布日 2021.10.29

(21) 申请号 202110993230.2

(22) 申请日 2021.08.26

(71) 申请人 浙江辰海生命科学有限公司  
地址 310018 浙江省杭州市钱塘新区白杨  
街道2号大街519号4号楼1402

(72) 发明人 史豆豆 邓朝庆

(74) 专利代理机构 北京箴思知识产权代理有限  
公司 11913  
代理人 谭艳 张宇

(51) Int. Cl.

A61K 8/9794 (2017.01)

A61Q 19/00 (2006.01)

A61Q 19/02 (2006.01)

G12P 1/02 (2006.01)

C12R 1/865 (2006.01)

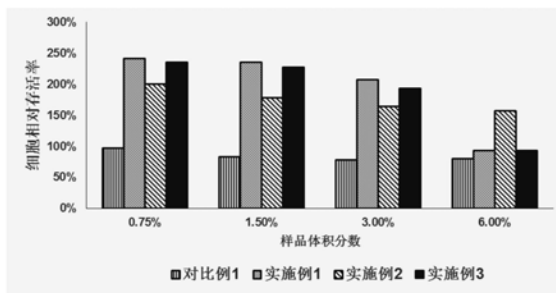
权利要求书2页 说明书13页 附图3页

(54) 发明名称

燕麦麸皮发酵物,含其皮肤外用剂及其制备方法和应用

(57) 摘要

本发明公开了一种燕麦麸皮发酵物,含其皮肤外用剂及其制备方法和应用。燕麦麸皮发酵物的制备方法包括如下步骤:酿酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*)接种到发酵底物中,经发酵培养、灭菌,即可;其中,发酵底物中包括燕麦麸皮。本发明制得的燕麦麸皮发酵物不仅对细胞无明显毒副作用,还具有良好的美白功效、锁水功效和抗氧化功效,可被广泛应用于皮肤外用剂领域,同时提高了燕麦麸皮的利用率,实现变废为宝。



1. 一种燕麦麸皮发酵物的制备方法,其特征在于,具体包括如下步骤:酿酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*)接种到发酵底物中,经发酵培养、灭菌,即可;其中,所述发酵底物中包括燕麦麸皮。

2. 如权利要求1所述的燕麦麸皮发酵物的制备方法,其特征在于,所述酿酒酵母菌为保藏编号为CGMCC No.2.5472的酿酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*)、保藏编号为CGMCC No.2.964的酿酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*)和保藏编号为CGMCC No.2.1543的酿酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*)中任意一种或多种;

和/或,所述酿酒酵母菌以酿酒酵母菌菌液的形式添加,所述酿酒酵母菌菌液中所述酿酒酵母菌的浓度为 $10^5$ - $10^9$ CFU/mL;

和/或,所述燕麦麸皮占所述发酵底物的质量百分比为1%-2%;

和/或,所述发酵底物中还进一步包括溶剂和/或葡萄糖;

和/或,所述发酵培养在摇床上进行,所述摇床的转速为150-200rpm;

和/或,所述发酵培养的时间为24-72h;

和/或,所述发酵培养的温度为20-30℃;

和/或,所述灭菌的方法为高温灭菌。

3. 如权利要求2所述的燕麦麸皮发酵物的制备方法,其特征在于,所述酿酒酵母菌菌液中所述酿酒酵母菌的浓度为 $10^7$ - $10^9$ CFU/mL;

和/或,所述酿酒酵母菌菌液与所述发酵底物的质量比为(1-5):100;

和/或,所述酿酒酵母菌菌液的制备方法包括如下步骤:所述酿酒酵母菌接种于YPD液体培养基中,经发酵培养,即可;

和/或,所述发酵底物中的所述溶剂为水;

和/或,所述发酵底物中的所述葡萄糖占所述发酵底物的质量百分比为0.5%-2%;

和/或,所述发酵培养在摇床上进行,所述摇床的转速为170-200rpm;

和/或,所述发酵培养的时间为45-48h;

和/或,所述发酵培养的温度为25-28℃;

和/或,当采用所述高温灭菌进行灭菌操作是,所述灭菌的温度为90-120℃;

和/或,所述灭菌的时间为15-30min;

和/或,所述灭菌的压力为0.09-0.15MPa。

4. 如权利要求3所述的燕麦麸皮发酵物的制备方法,其特征在于,所述发酵底物中的所述溶剂为去离子水;

和/或,所述发酵底物由如下质量百分含量的各组分组成:1wt%-2wt%的所述燕麦麸皮、0.5wt%-2wt%的所述葡萄糖和余量的所述水;

和/或,当采用所述高温灭菌进行灭菌操作是,所述灭菌的温度为100-120℃。

5. 如权利要求1-4中任意一项所述的燕麦麸皮发酵物的制备方法,其特征在于,所述发酵底物在使用前还进一步包括灭菌的操作;

和/或,所述发酵培养的操作后,还进一步包括离心的操作;

和/或,所述灭菌的操作后还进一步包括与防腐剂混合的操作。

6. 如权利要求5所述的燕麦麸皮发酵物的制备方法,其特征在于,所述发酵底物在使用前的所述灭菌的方法为高温灭菌;较佳地,所述灭菌的温度为95-130℃,更佳地为110-130

℃;较佳地,所述灭菌的时间为15-30min;较佳地,所述灭菌的压力为0.09-0.15MPa;

和/或,所述发酵培养后的所述离心的操作中,所述离心的转速为3900-5000r/min,较佳地为4500-5000r/min;

和/或,所述发酵培养后的所述离心的操作中,所述离心的时间为15-30min,较佳地为20-30min;

和/或,所述灭菌后的所述与防腐剂混合的操作中,所述混合的温度为70-75℃;

和/或,所述灭菌后的所述与防腐剂混合的操作中,所述混合的时间为20-30min;

和/或,所述灭菌后的所述与防腐剂混合的操作中,所述防腐剂包括对羟基苯乙酮和/或1,2-己二醇;当所述防腐剂包括对羟基苯乙酮和1,2-己二醇时,所述对羟基苯乙酮占所述灭菌后制得物料的质量百分比为0.2%-0.5%,所述1,2-己二醇占所述灭菌后制得物料的质量百分比为0.5%-2%;较佳地,当所述防腐剂包括对羟基苯乙酮和1,2-己二醇时,所述对羟基苯乙酮占所述灭菌后制得物料的质量百分比为0.3%-0.5%,所述1,2-己二醇占所述灭菌后制得物料的质量百分比为1%-2%。

7.一种燕麦麸皮发酵物,其特征在于,其由如权利要求1-6中任意一项所述的燕麦麸皮发酵物的制备方法制得。

8.一种如权利要求7所述的燕麦麸皮发酵物作为产品、产品添加剂或产品基底在制备皮肤外用剂中的应用。

9.如权利要求8所述的应用,其特征在于,所述燕麦麸皮发酵物作为所述皮肤外用剂中的美白活性成分、锁水活性成分和抗氧化活性成分中任意一种或多种;

较佳地,所述美白活性成分为具有抑制酪氨酸酶活性作用的美白活性成分;

较佳地,所述抗氧化活性成分为具有清除活性氧作用的抗氧化活性成分。

10.一种皮肤外用剂,其特征在于,其包括如权利要求7所述的燕麦麸皮发酵物;

较佳地,所述皮肤外用剂中所述燕麦麸皮发酵物的质量百分比为10%-100%,更佳地为90%-100%;

较佳地,所述皮肤外用剂包括面膜、精华或爽肤水;

较佳地,所述皮肤外用剂中还进一步包括增稠剂和/或保湿剂;所述增稠剂较佳地为羟丙基甲基纤维素;所述增稠剂占所述皮肤外用剂的质量百分比较佳地为0.1%-0.5%;所述保湿剂较佳地为1,3-丙二醇和/或甘油;所述保湿剂占所述皮肤外用剂的质量百分比较佳地为3%-5%。

## 燕麦麸皮发酵物,含其皮肤外用剂及其制备方法和应用

### 技术领域

[0001] 本发明属于发酵技术领域,尤其涉及一种燕麦麸皮发酵物,含其皮肤外用剂及其制备方法和应用。

### 背景技术

[0002] 燕麦麸皮是芽麦表层的谷皮,对燕麦起保护作用,在燕麦加工过程中,燕麦麸皮一般当做废弃物过滤掉。由于燕麦麸皮中含有大量的水溶性膳食纤维、非可溶性膳食纤维、燕麦紧肤蛋白、亚油酸、皂甙素和 $\beta$ -葡聚糖等多种物质,具有降血脂、降血糖和清理肠道等功效,近年来在食品领域得到广泛关注,成为减肥者喜爱的食物,但其在皮肤外用剂领域的应用鲜有报道。

[0003] 现有技术中有采用水提法制备燕麦麸皮提取物的相关报道,制得的产品容易造成皮肤过敏,具有细胞毒性等缺陷。因此,有效提取燕麦麸皮中有效活性成分,减少皮肤过敏现象,是本领域亟待解决的技术难题。皮肤外用剂领域常用的活性物质提取方法有水提取法、有机溶剂提取法、超声波提取法、微波提取法、超临界流体萃取法和微生物发酵法等。由于不同的提取方法,对终产品中活性成分的种类和得率,以及终产品功效均具有较大影响,因此,面对如此众多的提取方法,如何筛选出更利于从燕麦麸皮中提取出可用于皮肤外用剂的活性成分的方法仍是本领域研发人员面临的技术难题。

[0004] 因此,本领域亟需开发一种可从燕麦麸皮中提取可用于皮肤外用剂领域的活性物质的提取方法,且提取物满足使用安全性高,具有多重功效的要求,使燕麦麸皮得到充分利用,实现变废为宝。

### 发明内容

[0005] 本发明所要解决的技术问题是克服现有技术中燕麦麸皮利用率低,水提法制得的燕麦麸皮提取物在使用过程中容易出现皮肤过敏,细胞毒性高,且现有植物提取工艺繁多,筛选出可从燕麦麸皮中提取适用于皮肤外用剂领域活性成分的方法依然存在困难等缺陷,而提供一种燕麦麸皮发酵物,含其皮肤外用剂及其制备方法和应用。本发明制得的燕麦麸皮发酵物不仅对细胞无明显毒副作用,还具有良好的美白功效、锁水功效和抗氧化功效,可被广泛应用于皮肤外用剂领域,同时提高了燕麦麸皮的利用率,实现变废为宝。

[0006] 本发明采用以下技术方案解决上述技术问题:

[0007] 本发明提供一种燕麦麸皮发酵物的制备方法,具体包括如下步骤:酿酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*)接种到发酵底物中,经发酵培养、灭菌,即可;其中,所述发酵底物中包括燕麦麸皮。

[0008] 一些实施例中,所述酿酒酵母菌可为保藏编号为CGMCC No.2.5472的酿酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*)、保藏编号为CGMCC No.2.964的酿酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*)和保藏编号为CGMCC No.2.1543的酿酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*)中任意一种或多种。

[0009] 一些实施例中,所述酿酒酵母菌可按照本领域常规以酿酒酵母菌菌液的形式添加,所述酿酒酵母菌菌液中所述酿酒酵母菌的浓度可为 $10^5$ - $10^9$ CFU/mL,较佳地为 $10^7$ - $10^9$ CFU/mL。

[0010] 其中,所述酿酒酵母菌菌液与所述发酵底物的质量比可为本领域常规,较佳地为(1-5):100。

[0011] 其中,所述酿酒酵母菌菌液的制备方法可为本领域常规,具体包括如下步骤:所述酿酒酵母菌接种于YPD液体培养基中,经发酵培养,即可。

[0012] 所述酿酒酵母菌菌液的制备过程中,所述发酵培养可按照本领域常规在摇床上进行,所述摇床的转速可为本领域常规,一般可为150-200r/min,较佳地为180-200r/min。

[0013] 所述酿酒酵母菌菌液的制备过程中,所述发酵培养的时间可为本领域该类操作常规的时间,较佳地为36-48h。

[0014] 所述酿酒酵母菌菌液的制备过程中,所述发酵培养的温度可为本领域该类操作常规的温度,较佳地为25-30℃,更佳地为25-28℃。

[0015] 一些实施例中,所述燕麦麸皮可为本领域技术人员常规认为的燕麦表层的谷皮,例如可为张家口苡芽食品有限公司生产的燕麦麸皮。

[0016] 一些实施例中,所述燕麦麸皮占所述发酵底物的质量百分比可为本领域常规,一般可为1%-2%。

[0017] 一些实施例中,所述发酵底物中还可进一步包括溶剂和/或葡萄糖。

[0018] 其中,所述溶剂可为本领域常规使用的溶剂,较佳地为水,更佳地为去离子水。

[0019] 其中,所述葡萄糖占所述发酵底物的质量百分比可为本领域常规,一般可为0.5%-2%。

[0020] 一较佳实施方案中,所述发酵底物由如下质量百分含量的各组分组成:1wt%-2wt%的所述燕麦麸皮、0.5wt%-2wt%的所述葡萄糖和余量的所述水。

[0021] 一些实施例中,所述发酵底物在使用前还可进一步包括灭菌的操作。所述灭菌的条件和方法可为本领域常规使用的高温灭菌。

[0022] 其中,所述灭菌的温度可为本领域该类操作常规的温度,较佳地为95-130℃,更佳地为110-130℃。

[0023] 其中,所述灭菌的时间可为本领域该类操作常规的时间,较佳地为15-30min。

[0024] 其中,所述灭菌的压力可为本领域该类操作常规的压力,较佳地为0.09-0.15MPa。

[0025] 一些实施例中,所述发酵培养的条件和方法可为本领域常规,一般可在摇床上进行,所述摇床的转速可为本领域该类操作常规的转速,较佳地为150-200rpm,更佳地为170-200rpm。

[0026] 一些实施例中,所述发酵培养的时间可为本领域该类操作常规的时间,较佳地为24-72h,更佳地为45-48h。

[0027] 一些实施例中,所述发酵培养的温度可为本领域该类操作常规的温度,较佳地为20-30℃,更佳地为25-28℃。

[0028] 一些实施例中,所述灭菌的条件和方法可为本领域常规使用的高温灭菌。

[0029] 一些实施例中,所述灭菌的温度可为本领域该类操作常规的温度,较佳地为90-120℃,更佳地为100-120℃。

- [0030] 一些实施例中,所述灭菌的时间可为本领域该类操作常规的时间,较佳地为15-30min。
- [0031] 一些实施例中,所述灭菌的压力可为本领域该类操作常规的压力,较佳地为0.09-0.15MPa。
- [0032] 一些实施例中,所述发酵培养的操作后,还可进一步包括离心的操作。
- [0033] 其中,所述离心的转速可为本领域该类操作常规的转速,较佳地为3900-5000r/min,更佳地为4500-5000r/min。
- [0034] 其中,所述离心的时间可为本领域该类操作常规的时间,较佳地为15-30min,更佳地为20-30min。
- [0035] 一些实施例中,所述灭菌的操作后还可进一步包括与防腐剂混合的操作。
- [0036] 其中,与所述防腐剂混合的过程中,所述混合的温度可为本领域该类操作常规的温度,较佳地为70-75℃。
- [0037] 其中,与所述防腐剂混合的过程中,所述混合的时间可为本领域该类操作常规的时间,较佳地为20-30min。
- [0038] 其中,所述防腐剂的种类可为本领域常规,较佳地为对羟基苯乙酮和/或1,2-己二醇。当所述防腐剂包括对羟基苯乙酮和1,2-己二醇时,所述对羟基苯乙酮占所述灭菌后制得物料的质量百分比可为0.2%-0.5%,所述1,2-己二醇占所述灭菌后制得物料的质量百分比可为0.5%-2%;较佳地,当所述防腐剂包括对羟基苯乙酮和1,2-己二醇时,所述对羟基苯乙酮占所述灭菌后制得物料的质量百分比为0.3%-0.5%,所述1,2-己二醇占所述灭菌后制得物料的质量百分比为1%-2%。
- [0039] 本发明还提供一种燕麦麸皮发酵物,其由如上所述的燕麦麸皮发酵物的制备方法制得。
- [0040] 本发明还提供一种如上所述的燕麦麸皮发酵物作为产品、产品添加剂或产品基底在制备皮肤外用剂中的应用。
- [0041] 一些实施例中,所述燕麦麸皮发酵物可作为所述皮肤外用剂中的美白活性成分、锁水活性成分和抗氧化活性成分中任意一种或多种。
- [0042] 其中,所述美白活性成分可为具有抑制酪氨酸酶活性作用的美白活性成分。
- [0043] 其中,所述抗氧化活性成分可为具有清除活性氧作用的抗氧化活性成分。
- [0044] 本发明还提供一种皮肤外用剂,其包括如上所述的燕麦麸皮发酵物。
- [0045] 一些实施例中,所述皮肤外用剂中所述燕麦麸皮发酵物的质量百分比可为10%-100%,较佳地为90%-100%。
- [0046] 一些实施例中,所述皮肤外用剂可按照本领域常规包括面膜、精华或爽肤水。
- [0047] 一些实施例中,所述皮肤外用剂中还可进一步包括增稠剂和/或保湿剂。
- [0048] 其中,所述增稠剂可按照本领域常规包括羟丙基甲基纤维素。
- [0049] 其中,所述增稠剂占所述皮肤外用剂的质量百分比可为本领域常规,一般可为0.1%-0.5%。
- [0050] 其中,所述保湿剂可按照本领域常规包括1,3-丙二醇和/或甘油。
- [0051] 其中,所述保湿剂占所述皮肤外用剂中的质量百分比可为本领域常规,一般可为3%-5%。

[0052] 在符合本领域常识的基础上,上述各优选条件,可任意组合,即得本发明各较佳实例。

[0053] 本发明所用试剂和原料均市售可得。

[0054] 本发明的积极进步效果在于:本发明通过微生物发酵法,选用燕麦麸皮作为发酵底物,采用酿酒酵母菌作为发酵菌种,制得燕麦麸皮发酵物,其具有良好的锁水功效、美白功效和抗氧化功效,对细胞无明显毒副作用,安全性佳,对皮肤无刺激性,可以作为皮肤外用剂的优良原料或者直接用作皮肤外用剂,同时提高了燕麦麸皮的利用率,实现变肥为宝。

## 附图说明

[0055] 本公开可以通过参考下文中结合附图所给出的描述而得到更好的理解。所述附图连同下面的详细说明一起包含在本说明书中并且形成本说明书的一部分,而且用来进一步举例说明本公开的优选实施例和解释本公开的原理和优点。其中:

[0056] 图1为不同浓度实施例1-3制得的燕麦麸皮发酵物和对比例1制得的燕麦麸皮水提物处理B16细胞后,B16细胞存活率对比图;

[0057] 图2为实施例1-3制得的燕麦麸皮发酵物和对比例1-2制得产品总抗氧化能力的对比图;

[0058] 图3为实施例1-3制得的燕麦麸皮发酵物和对比例1制得的燕麦麸皮水提物分别处理HFF-1细胞后,细胞中活性氧含量的对比图;

[0059] 图4为分别采用本发明实施例1-3制得的燕麦麸皮发酵物和对比例1制得的燕麦麸皮水提物处理细胞后,细胞中酪氨酸酶活力的对比图;

[0060] 图5为分别采用实施例1-3制得的燕麦麸皮发酵物配置成的精华液和空白对照组的精华液处理皮肤后,皮肤经皮失水率的对比图。

## 具体实施方式

[0061] 下面通过实施例的方式进一步说明本发明,但并不因此将本发明限制在所述的实施例范围之中。下列实施例中未注明具体条件的实验方法,按照常规方法和条件,或按照商品说明书选择。

[0062] 在下文中将结合附图对本公开的示范性实施例进行描述。

[0063] 下述实施例中所使用的实验方法如无特殊说明,均为常规方法。

[0064] 下述实施例1中的酿酒酵母菌1具体为酿酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*),购自中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,保藏编号为CGMCC No.2.964。

[0065] 下述实施例2中的酿酒酵母菌2具体为酿酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*),购自中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,保藏编号为CGMCC No.2.5472。

[0066] 下述实施例3中的酿酒酵母菌3具体为酿酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*),购自中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,保藏编号为CGMCC No.2.1543。

[0067] 下述对比例1中甜酒曲(根霉菌),购自于安琪酵母股份有限公司;

[0068] 下述实施例中燕麦麸皮的生产公司为张家口薇芽食品有限公司。

[0069] 下述实施例中YPD液体培养基配方为:葡萄糖2wt%,蛋白胨1wt%,酵母膏0.5wt%;YPD固体培养基为YPD液体培养基中添加2wt%琼脂粉。

[0070] 下述实施例1中酿酒酵母菌1菌液的制备方法包括如下步骤如:

[0071] (1) 菌种的活化:将酿酒酵母菌1接种于YPD固体培养基中进行划线活化,于28℃培养箱中培养48h,获得单菌落;

[0072] (2) 菌种的扩大培养:将步骤(1)获得的单菌落接种至100mL YPD液体培养基中,在28℃、180rpm的摇床中培养48h,得到酿酒酵母菌1菌液,浓度为 $10^7$ CFU/mL。

[0073] 下述实施例中酿酒酵母菌2菌液和酿酒酵母菌3菌液的制备方法与酿酒酵母菌1菌液相比,区别仅在于将步骤(1)中接种的菌种分别替换为酿酒酵母菌2或酿酒酵母菌3,其他条件参数相同。

[0074] 实施例1

[0075] 发酵底物的制备方法包括如下步骤:取6g燕麦麸皮和1.5g葡萄糖加入300g水中,在温度为110℃,压力为0.1MPa的条件下灭菌30min,得到燕麦麸皮发酵底物;

[0076] 以上述方法制得的浓度为 $10^7$ CFU/mL的酿酒酵母菌1菌液和燕麦麸皮发酵底物为原料,制备燕麦麸皮发酵物,具体包括如下步骤:将3g酿酒酵母菌1菌液接种到300g燕麦麸皮发酵底物中,在温度为28℃,且搅拌的条件下发酵培养45小时,搅拌的转速为170rpm;制得的物料转移到离心机中,在转速为4500rpm的条件离心20min,收集上清液,上清液在温度为100℃,压力为0.1MPa的条件下灭菌30min;灭菌后,降温,在70℃条件下与防腐剂混合30min;防腐剂中对羟基苯乙酮占灭菌后物料的质量百分比为0.3%,1,2-己二醇占灭菌后物料的质量百分比为1%,制得燕麦麸皮发酵物。

[0077] 实施例2

[0078] 发酵底物的制备方法包括如下步骤:取6g燕麦麸皮和1.5g葡萄糖加入300g水中,在温度为110℃,压力为0.1MPa的条件下灭菌30min,得到燕麦麸皮发酵底物;

[0079] 以上述方法制得的浓度为 $10^7$ CFU/mL的酿酒酵母菌2菌液和燕麦麸皮发酵底物为原料,制备燕麦麸皮发酵物,具体包括如下步骤:将3g酿酒酵母菌2菌液接种到300g燕麦麸皮发酵底物中,在温度为28℃,且搅拌的条件下发酵培养45小时,搅拌的转速为170rpm;制得的物料转移到离心机中,在转速为4500rpm的条件离心2min,收集上清液,上清液在温度为100℃,压力为0.1MPa的条件下灭菌30min;灭菌后,降温,在70℃条件下与防腐剂混合30min;防腐剂中对羟基苯乙酮占灭菌后物料的质量百分比为0.3%,1,2-己二醇占灭菌后物料的质量百分比为1%,制得燕麦麸皮发酵物。

[0080] 实施例3

[0081] 发酵底物的制备方法包括如下步骤:取6g燕麦麸皮和1.5g葡萄糖加入300g水中,在温度为110℃,压力为0.1MPa的条件下灭菌30min,得到燕麦麸皮发酵底物;

[0082] 以上述方法制得的浓度为 $10^7$ CFU/mL的酿酒酵母菌3菌液和燕麦麸皮发酵底物为原料,制备燕麦麸皮发酵物,具体包括如下步骤:将3g酿酒酵母菌3菌液接种到300g燕麦麸皮发酵底物中,在温度为28℃,且搅拌的条件下发酵培养45小时,搅拌的转速为170rpm;制得的物料转移到离心机中,在转速为4500rpm的条件离心20min,收集上清液,上清液在温度为100℃,压力为0.1MPa的条件下灭菌30min;灭菌后,降温,在70℃条件下与防腐剂混合30min;防腐剂中对羟基苯乙酮占灭菌后物料的质量百分比为0.3%,1,2-己二醇占灭菌后物料的质量百分比为1%,制得燕麦麸皮发酵物。

[0083] 对比例1



[0084] 燕麦麸皮水提物的制备方法包括如下步骤:6g燕麦麸皮加入300mL的水中,在温度为95℃,转速为500rpm条件下加热搅拌提取2h,制得的物料转移到离心机中,在转速为4500rpm的条件离心20min,收集上清液,上清液在温度为100℃,压力为0.1MPa的条件下灭菌30min;灭菌后,降温,在70℃条件下与防腐剂混合30min;防腐剂中对羟基苯乙酮占灭菌后物料的质量百分比为0.3%,1,2-己二醇占灭菌后物料的质量百分比为1%,制得燕麦麸皮水提物。

[0085] 对比例2

[0086] 将甜酒曲复水活化:复水温度应以27-30℃的水为宜,将1g甜酒曲粉末加水10g,搅拌均匀,制得甜酒曲菌液,备用;

[0087] 发酵底物的制备方法包括如下步骤:取6g燕麦麸皮和1.5g葡萄糖加入300g水中,在温度为110℃,压力为0.1MPa的条件下灭菌30min,得到燕麦麸皮发酵底物;

[0088] 以制得的甜酒曲菌液和燕麦麸皮发酵底物为原料,制备燕麦麸皮发酵物,具体包括如下步骤:将3g甜酒曲菌液接种到300g燕麦麸皮发酵底物中,在温度为28℃,且搅拌的条件下发酵培养45小时,搅拌的转速为170rpm;制得的物料转移到离心机中,在转速为4500rpm的条件离心20min,收集上清液,上清液在温度为100℃,压力为0.1MPa的条件下灭菌30min;灭菌后,降温,在70℃条件下与防腐剂混合30min;防腐剂中对羟基苯乙酮占灭菌后物料的质量百分比为0.3%,1,2-己二醇占灭菌后物料的质量百分比为1%,制得燕麦麸皮发酵物。

[0089] 效果实施例1安全性检测

[0090] 人体斑贴试验主要是用于检测化妆品终产品或原料的刺激性。根据《化妆品卫生规范》(2015)对实施例1-3和对比例1-2制得的产品进行人体封闭式斑贴试验,旨在对其皮肤刺激性进行评估。

[0091] 1、试验对象:

[0092] 严格按照《化妆品接触性皮炎诊断标准及处理原则》要求,选择受试对象,皮肤的待测部位出现瘢痕、鲜红斑痣等影响结果判定的受试者、体质高度敏感者均不能参与试验。本试验选择合适的志愿者30人,年龄范围在18-60岁随机选择。

[0093] 2、实验方法

[0094] 分别将0.02mL上述实施例1-3和对比例1-2制得的产品滴加在滤纸片上,再将滤纸片置于斑试器内。样品均设置空白对照,即在对照斑试器孔内加入与样品等量的样品溶剂蒸馏水。测试周期持续24h。为了试验结果的准确、可信和科学,在测试期间志愿者按照要求,不能摘掉斑试器,亦不可使受试部位接触水。24h后去除斑试器,静置30min后,等待压痕消失,观察皮肤的反应,接着于24h后观察皮肤的反应。体斑贴试验皮肤不良反应分级标准参见表1。

[0095] 表1皮肤不良反应分级标准

| 反应程度 | 评分等级 | 皮肤反应  |
|------|------|---|
| -    | 0    | 阴性反应  |
| ±    | 1    | 可以反应, 仅有微弱红斑                                  |
| +    | 2    | 弱阳性反应 (红斑反应); 红斑、浸润、水肿、可有丘疹                   |
| ++   | 3    | 强阳性反应 (疱疹反应); 红斑、浸润、水肿、丘疹、疱疹; 反应可超出受试区        |
| +++  | 4    | 极强阳性反应 (融合性疱疹反应); 明显红斑、严重浸润、水肿、融合性疱疹; 反应超出受试区 |

[0096] 3、试验结果

[0097] 结果参见表2, 从表中可以看出; 本发明实施例1-3得到的燕麦麸皮发酵物试敏结果都是阴性反应, 说明本发明制得的燕麦麸皮发酵物具有安全性, 不会给人体带来不良反应。而对比例1制得燕麦麸皮水提物个别出现微弱红斑, 安全性相对较差。

[0098] 表2

| 编号           | 评分等级 | 观察时间点   |       | 反应人数 |
|--------------|------|---------|-------|------|
|              |      | 30min 后 | 24h 后 |      |
| [0100] 实施例 1 | 0    | 30      | 30    | 0    |
|              | 1    | 0       | 0     |      |
|              | 2    | 0       | 0     |      |
|              | 3    | 0       | 0     |      |
|              | 4    | 0       | 0     |      |
| 实施例 2        | 0    | 30      | 30    | 0    |
|              | 1    | 0       | 0     |      |
|              | 2    | 0       | 0     |      |

|        |       |   |    |    |   |
|--------|-------|---|----|----|---|
| [0101] |       | 3 | 0  | 0  |   |
|        |       | 4 | 0  | 0  |   |
|        | 实施例 3 | 0 | 30 | 30 | 0 |
|        |       | 1 | 0  | 0  |   |
|        |       | 2 | 0  | 0  |   |
|        |       | 3 | 0  | 0  |   |
|        |       | 4 | 0  | 0  |   |
|        | 对比例 1 | 0 | 29 | 28 | 2 |
|        |       | 1 | 1  | 2  |   |
|        |       | 2 | 0  | 0  |   |
|        |       | 3 | 0  | 0  |   |
|        |       | 4 | 0  | 0  |   |
|        | 对比例 2 | 0 | 30 | 30 | 0 |
|        |       | 1 | 0  | 0  |   |
|        |       | 2 | 0  | 0  |   |
|        |       | 3 | 0  | 0  |   |
|        |       | 4 | 0  | 0  |   |
|        | 空白对照  | 0 | 30 | 30 | 0 |
|        |       | 1 | 0  | 0  |   |
|        |       | 2 | 0  | 0  |   |
| 3      |       | 0 | 0  |    |   |
| 4      |       | 0 | 0  |    |   |

[0102] 效果实施例2细胞毒性实验

[0103] 本实验采用B16细胞,来自中国医学科学院基础医学研究所细胞资源中心),验证上述实施例1-3和对比例1制得的产品细胞的细胞毒性。

[0104] 1、实验步骤:

[0105] 上述实施例1-3和对比例1的产品均稀释成体积百分比为0.750%、1.500%、3.000%和6.000%的待测液。

[0106] B16细胞养于含10%胎牛血清以及1%双抗( $1 \times 10^5$ U/L青霉素、100mg/L链霉素)的DMEM培养基中。细胞生长于37℃、5%CO<sub>2</sub>饱和湿度的培养箱中,当细胞融合达到85%以上时,以0.05%胰酶消化传代,用含血清的DMEM终止消化反应。细胞计数板计数,将细胞悬液浓度调整到 $5 \times 10^4$ 个/mL,将细胞悬液按照每孔100μL的比例接种到96孔板上,37℃、5%CO<sub>2</sub>条件下孵育过夜。去除培养液,加入已过滤除菌的待测液,每样品做6个复孔,培养24h。培养结束后每孔加入MTT溶液(5mg/mL)和DMEM的混合溶液(v/v,1:5)100μL,孵育4h。去除旧培养基,每孔加入150μL的DMSO,37℃孵育10min后读取490nm下实验组的吸光度(记为A)。将无细胞处理组(细胞悬液用无血清的DMEM代替,其余步骤相同)设定为空白对照组,记为B。将细胞对照组(待测液用无血清DMEM替代,其余步骤相同)记为C。

[0107] 细胞相对存活率的计算公式如下:

[0108] 细胞相对存活率 =  $(A-B) / (C-B) \times 100\%$ ;

[0109] 不同浓度本发明实施例1-3制得的燕麦麸皮发酵物和对比例1制得的燕麦麸皮水提物处理B16细胞后,B16细胞相对存活率见图1和表3;从表3中可以看出本发明实施例1-3

制得的燕麦麸皮发酵物与对比例1制得的燕麦麸皮水提物相比,细胞毒性显著降低,甚至有促进细胞生长的作用。

[0110] 表3

| 浓度<br>编号     | 样品浓度/细胞相对存活率 |         |         |         |
|--------------|--------------|---------|---------|---------|
|              | 0.750%       | 1.500%  | 3.000%  | 6.000%  |
| [0111] 实施例 1 | 241.43%      | 235.71% | 207.14% | 92.86%  |
| 实施例 2        | 200.00%      | 178.57% | 164.29% | 157.14% |
| 实施例 3        | 235.71%      | 227.14% | 192.86% | 92.86%  |
| 对比例 1        | 96.67%       | 83.33%  | 77.78%  | 80.00%  |

[0112] 效果实施例3总抗氧化性评估

[0113] ABTS法测定总抗氧化能力的原理如下,ABTS在适当的氧化剂作用下氧化成绿色的 $ABTS^+$ ,在抗氧化物存在时 $ABTS^+$ 的产生会被抑制,在734nm或405nm测定 $ABTS^+$ 的吸光度即可测定并计算出样品的总抗氧化能力。Trolox是一种维生素E的类似物,具有和维生素E相近的抗氧化能力,用作其它抗氧化物总抗氧化能力的参考。总抗氧化能力检测参照总抗氧化能力检测试剂盒说明书进行,具体测试方法如下:

[0114] 1、实验步骤:

[0115] 上述实施例1-3和对比例1-2的产品均用PBS稀释成体积浓度为40%的待测液;把10mM Trolox标准溶液稀释成0.1、0.15、0.3、0.6mM待测液。

[0116] 96孔板的每个检测孔中加入200 $\mu$ L的ABTS工作液。空白对照孔中加入10 $\mu$ L的蒸馏水或PBS等适当溶液;标准曲线检测孔内加入10 $\mu$ L各种浓度的Trolox标准溶液;样品检测孔内加入10 $\mu$ L各种样品,轻轻混匀,室温孵育2-6min后测定734nm处的吸光度。根据标准曲线检测孔测试的结果,拟合得标准曲线方程如下: $y = -0.6923x + 0.456, R^2 = 0.9993$ 。

[0117] 根据标准曲线计算出样品的总抗氧化能力。如果样品测定出来的吸光度在标准曲线范围以外,需把样品适当稀释或浓缩后再进行测定。

[0118] 实验结果见下表4和图2,从表4中可以看出实施例1-3制得的燕麦麸皮发酵物的总抗氧化能力比对比例1-2制得的产品的总抗氧化能力强。

[0119] 计算实施例1-3与对比例1-2相比总抗氧化能力的显著性差异P,结果见表4;其中, $P > 0.05$ 表示差异性不显著; $0.01 < P < 0.05$ 表示差异性显著; $P < 0.01$ 表示差异性极显著。结果表明,实施例1-3制得的产品的总抗氧化能力与对比例1-2相比极显著提高。

[0120] 表4

|                      | 实施例 1       | 实施例 2       | 实施例 3                    | 对比例 1 | 对比例 2 |
|----------------------|-------------|-------------|--------------------------|-------|-------|
| TEAC (mM)            | 0.432       | 0.414       | 0.452                    | 0.312 | 0.380 |
| [0121] 与对比例 1 相比 P 值 | 0.000132202 | 0.000133113 | $3.57196 \times 10^{-5}$ | --    | --    |
| 与对比例 2 相比 P 值        | 0.000604707 | 0.000384894 | 0.0003849                | --    | --    |

[0122] 效果实施例4体外抗氧化清除活性氧性能的测试

[0123] 测试上述实施例1-3制得的产品对细胞中活性氧含量的影响。将实施例1-3制得的产品分别配置成体积百分数为6.000%的待测液；收集对数生长期状态良好的细胞HFF-1，经胰蛋白酶消化，完全培养基终止消化，计数；将细胞悬浮液调整细胞浓度为 $1 \times 10^5$ 个/mL，并加入到6孔培养板中，每孔加入1mL新鲜的完全培养基，1mL细胞悬浮液，于37℃，5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养过夜；吸取培养基，每孔加入上述配置的待测液2mL，细胞对照孔加入2mL基础培养基，于37℃，5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养48h；

[0124] 培养24h后去除培养液，经胰蛋白酶消化，完全培养基终止消化，用PBS (PH7.2-7.4) 稀释细胞悬液，细胞浓度达到100万/mL左右。通过反复冻融，以使细胞破坏并放出细胞内成份。离心20分钟左右 (2000-3000转/分)。仔细收集上清。保存过程中如有沉淀形成，应再次离心。

[0125] 采用人活性氧 (ROS) ELISA试剂盒进行检测。

[0126] 该试剂盒是采用双抗体一步夹心法酶联免疫吸附试验 (ELISA)。往预先包被人活性氧 (ROS) 捕获抗体的包被微孔中，依次加入标本、标准品、HRP标记的检测抗体，经过温育并彻底洗涤。用底物TMB显色，TMB在过氧化物酶的催化下转化成蓝色，并在酸的作用下转化成最终的黄色。颜色的深浅和样品中的人活性氧 (ROS) 呈正相关。用酶标仪在450nm波长下测定吸光度 (OD值)，计算样品浓度。

[0127] 实施例1-3制得的燕麦麸皮发酵物与细胞对照组相比，活性氧含量均明显下降，具有理想的抗氧化能力；其中，实施例1-2制得的燕麦麸皮发酵物的抗氧化能力明显强于对比例1，结果见表5和图3。

[0128] 表5

| 编号    | 样品浓度/活性氧含量IU/mL |
|-------|-----------------|
| 实施例1  | 2.247           |
| 实施例2  | 2.21            |
| 实施例3  | 2.39            |
| 对比例1  | 2.337           |
| 细胞对照组 | 2.47            |

[0130] 效果实施例5

[0131] 对实施例1-3和对比例1制得产品的酪氨酸酶抑制活性进行测试。将实施例1-3制得的燕麦麸皮发酵物和对比例1制得的燕麦麸皮水提物分别用蒸馏水配置成浓度为0.75%的待测样品；

## [0132] 1、实验原理

[0133] 酪氨酸酶是黑色素合成过程中的关键酶,与肌肤的颜色关系密切。目前市场上流行的美白化妆品,其中的活性物质均为酪氨酸酶抑制剂,主要是通过抑制酪氨酸酶的活性而达到抑制黑色素合成,进而发挥美白的作用。同时,酪氨酸酶具有独特的双重催化功能,与人体的衰老有密切关系。其异常过量表达可导致人体的色素沉着性疾病,进而引起机体氧化损伤。因此,对酪氨酸酶的抑制作用不仅可以反映活性成分的美白功效,还能够反映其抗机体氧化损伤活性。

[0134] L-酪氨酸酶在475nm处具有最大吸收波长,与其底物L-酪氨酸或L-多巴溶液可以发生催化反应,当在实验体系中添加了有L-酪氨酸酶活性抑制作用的试剂后,对催化反应可以产生抑制作用。因此通过测定添加酶前后样品在475nm处的吸光光度,来评价样品对L-酪氨酸酶活性的抑制率。

## [0135] 2、实验方法

[0136] 收集对数生长期状态良好的细胞,经胰蛋白酶消化,完全培养基终止消化,计数;将细胞悬浮液调整为 $10 \times 10^4$  cells/mL,接种于96孔培养板,每孔加入100 $\mu$ L细胞悬浮液,边缘孔用无菌的PBS填充,于37 $^{\circ}$ C,5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养过夜,吸取培养基,每孔加入不同浓度样品100 $\mu$ L,样品作用48h,加入50 $\mu$ L浓度为1%的Triton X-100溶液裂解细胞,迅速放入-80 $^{\circ}$ C超低温冰箱冻存1h,随后室温融化,使细胞内的酪氨酸酶释放出细胞外,37 $^{\circ}$ C预温后加入50 $\mu$ L浓度为1%的左旋多巴溶液,37 $^{\circ}$ C反应2h,于490nm波长下测定每孔吸光度值,每一个浓度设置3个以上副孔,取平均值。

[0137] 酪氨酸酶活性变化 = (测定孔OD值 - 空白对照OD值) / (细胞对照组OD值 - 空白对照OD值)  $\times$  100%。

## [0138] 3、实验结果

[0139] 实验结果参见图4和表6。从图4和表6中可以看出实施例1-3制得的产品对酪氨酸酶均有抑制作用,且抑制能力各不相同,实施例2制得产品对酪氨酸酶抑制作用最理想。实施例1-3制得的产品对酪氨酸酶的抑制作用均强于对比例1,且与对比例1相比均存在极显著性差异,结果见表6。

[0140] 表6

| 编号   | 酪氨酸活性变化<br>酪氨酸酶活力 | 酪氨酸酶抑制率 | 与对比例1相比,对酪氨酸酶抑制作用的显著性差异P |
|------|-------------------|---------|--------------------------|
| 实施例1 | 98%               | 2.00%   | $9.96778 \times 10^{-5}$ |
| 实施例2 | 91%               | 9.00%   | $1.95677 \times 10^{-6}$ |
| 实施例3 | 93%               | 7.00%   | $9.84289 \times 10^{-6}$ |
| 对比例1 | 106%              | -6.00%  | --                       |

## [0142] 效果实施例5

[0143] 对实施例1-3产品进行保湿性测试。将实施例1-3制得的燕麦麸皮发酵物进行复配,得到1-3号精华液,4号为辅料基质,具体配方见表7;

[0144] 表7

| [0145] | 编号 | 各组分的质量百分含量        |         |    |          |
|--------|----|-------------------|---------|----|----------|
|        |    | 样品                | 1,3-丙二醇 | 甘油 | 羟丙基甲基纤维素 |
| [0146] | 1号 | 94.9%实施例1 燕麦麸皮发酵物 | 3%      | 2% | 0.1%     |
|        | 2号 | 94.9%实施例2 燕麦麸皮发酵物 | 3%      | 2% | 0.1%     |
|        | 3号 | 94.9%实施例3 燕麦麸皮发酵物 | 3%      | 2% | 0.1%     |
|        | 4号 | 94.9%去离子水         | 3%      | 2% | 0.1%     |

[0147] 1、实验设计：

[0148] 测试环境：温度：22±2℃；湿度：50%-60%

[0149] 测试区域：测试部位选择双侧前臂内侧。

[0150] 测试指标：皮肤经皮水分散失量。

[0151] 测试时间点：保湿功效（手臂）：本底测试后，分别在取下膜布后30min、1h、2h、4h、8h进行皮肤测试。

[0152] 实验仪器：MPA580。

[0153] 2、测试方法：

[0154] 10名符合条件的志愿者参加测试。测试场所无光线直射、无风，室温22-24℃，湿度50%~60%。检测前用洗面奶清洗双侧前臂，静息30min，取受试者双侧前臂内侧用记号笔画出6个面积为3.5×3.5cm正常皮肤，以数字标记。测定皮肤经皮水分散失量。将面膜布分别剪成3×3cm大小，分别贴在前臂相应标记处，滴加对应标记样品，15min后取下，轻轻用化妆棉沾干测试部位未干的精华液，并开始计时。分别在30min、1h、2h、4h、8h测试各个部位角质层TEWL值。每个部位测量3次取平均值。

[0155] 3、实验结果

[0156] 计算4个样品经皮失水率，实验结果参见图5和表8。从图5和表8中可以看出四个产品均有锁水效果，但1-3号精华液的锁水效果明显优于4号精华液。

[0157] 表8

| [0158] | 编号 | 经皮失水率 |         |         |         |         |         |
|--------|----|-------|---------|---------|---------|---------|---------|
|        |    | 0h    | 0.5h    | 1h      | 2h      | 4h      | 8h      |
|        | 1  | 0     | -13.92% | -24.31% | -24.14% | -28.38% | -30.65% |
|        | 2  | 0     | -27.37% | -22.54% | -24.59% | -32.39% | -31.45% |
| [0159] | 3  | 0     | -19.36% | -31.51% | -29.13% | -25.19% | -27.20% |
|        | 4  | 0     | -8.02%  | -19.20% | -16.28% | -13.10% | -15.79% |

[0160] 最后，还需要说明的是，在本发明中术语“包括”、“包含”或者其任何其他变体意在涵盖非排他性的包含，从而使得包括一系列要素的过程、方法、物品或者设备不仅包括那些要素，而且还包括没有明确列出的其他要素，或者是还包括为这种过程、方法、物品或者设

备所固有的要素。

[0161] 尽管上面已经通过本公开的具体实施例的描述对本公开进行了披露,但是,应该理解,本领域技术人员可在所附方案的精神和范围内设计对本公开的各种修改、改进或者等同物。这些修改、改进或者等同物也应当被认为包括在本公开所要求保护的范围内。



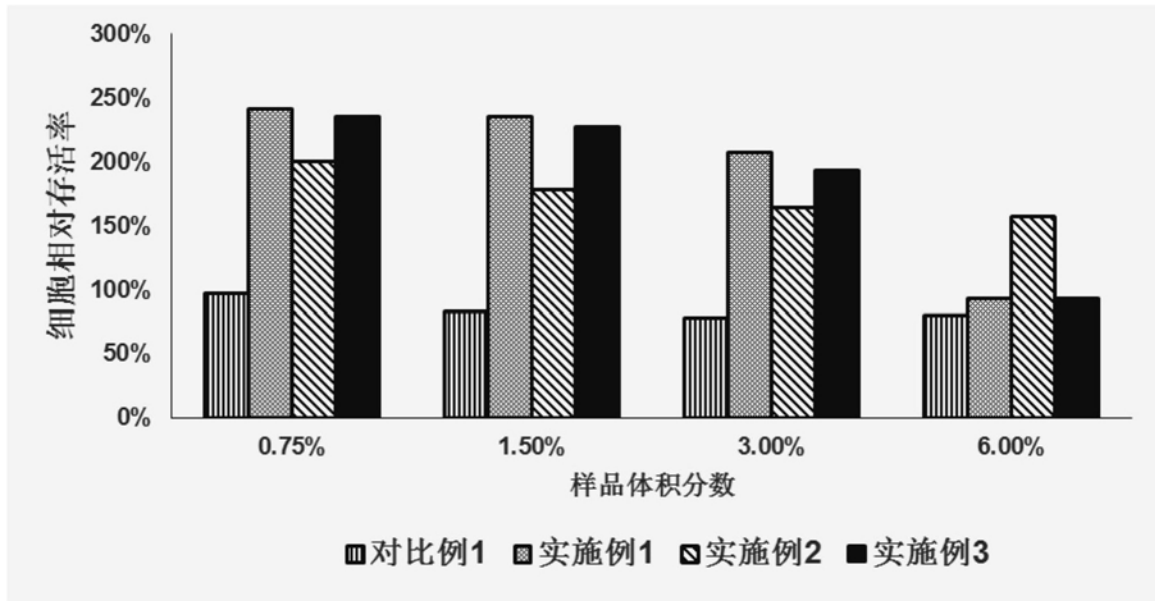


图1

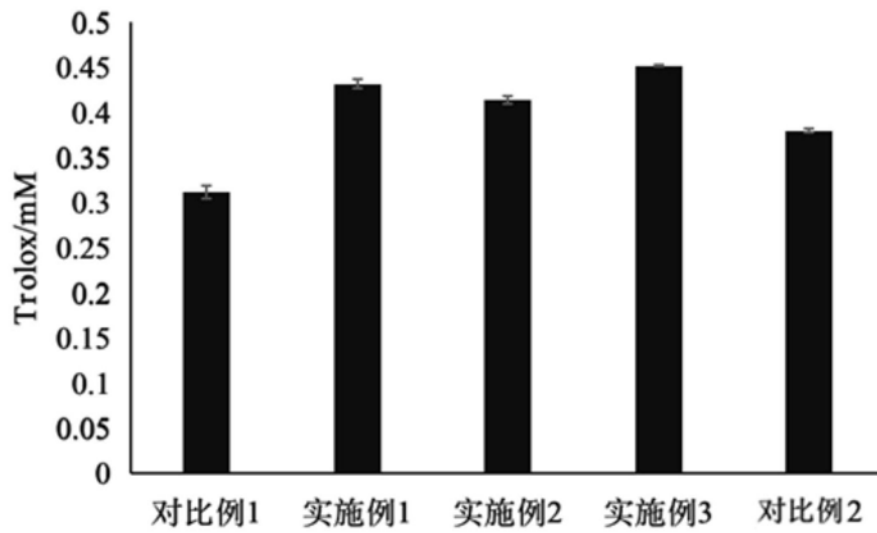


图2

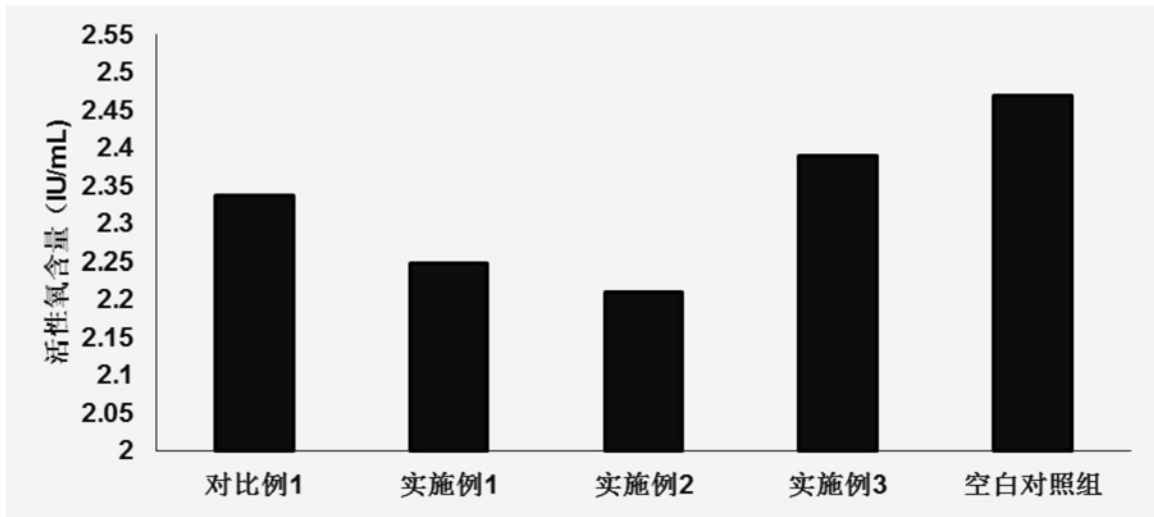


图3

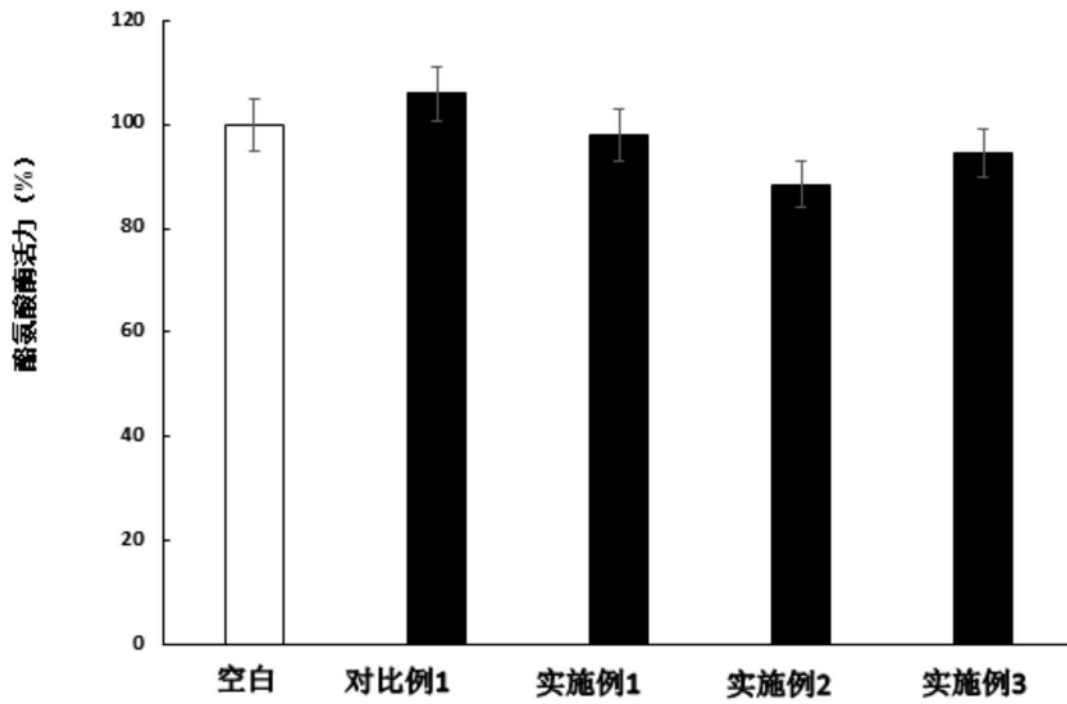


图4

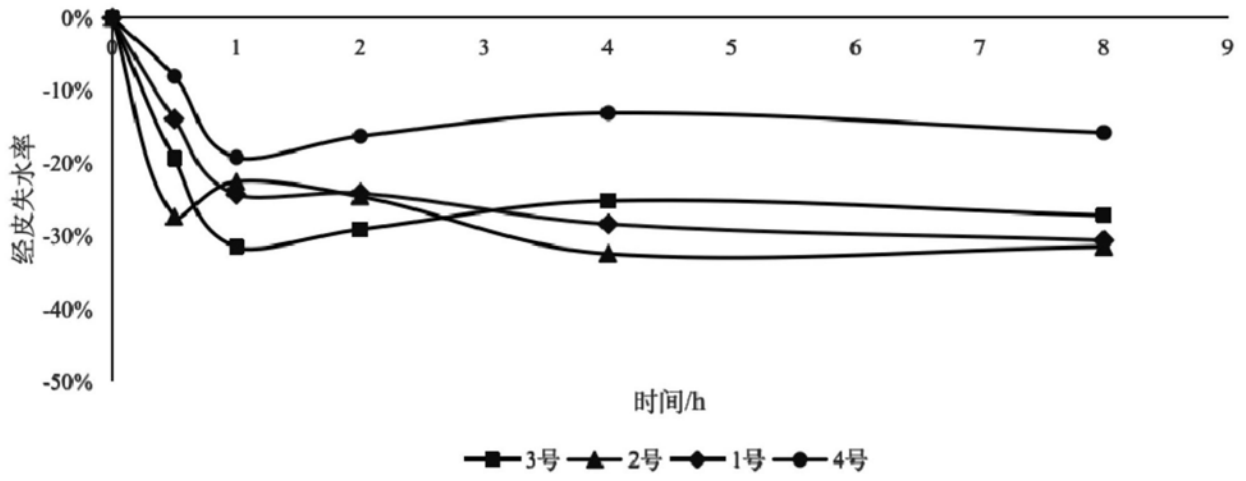


图5