



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 117180143 A

(43) 申请公布日 2023. 12. 08

(21) 申请号 202311207753.5

A61P 17/00 (2006.01)

(22) 申请日 2023.09.19

A61P 17/02 (2006.01)

(71) 申请人 上海川跃生物科技有限公司

A61P 17/18 (2006.01)

地址 201506 上海市金山区金山工业区揽
工路568号

A61P 17/16 (2006.01)

C12P 1/02 (2006.01)

C12R 1/865 (2006.01)

(72) 发明人 王祥

C12R 1/85 (2006.01)

(74) 专利代理机构 苏州市中南伟业知识产权代
理事务所(普通合伙) 32257

C12R 1/645 (2006.01)

C12R 1/72 (2006.01)

专利代理师 张静杰

(51) Int. Cl.

A61K 8/92 (2006.01)

A61Q 19/00 (2006.01)

A61Q 19/08 (2006.01)

A61Q 17/04 (2006.01)

A61K 36/54 (2006.01)

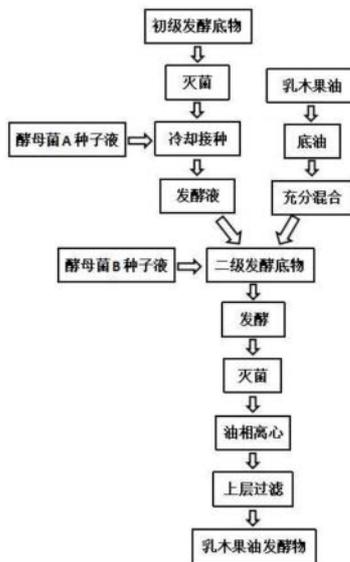
权利要求书1页 说明书9页 附图3页

(54) 发明名称

一种乳木果油发酵物及其制备方法和应用

(57) 摘要

本发明涉及一种乳木果油发酵物及其制备方法和应用,属于微生物发酵技术领域。本发明由常规碳源、氮源、无机盐等配备初级发酵底物,向初级发酵底物中接种第一酵母菌发酵后与含乳木果油的油料混合制得二级发酵底物,随后向二级发酵底物中继续接种第二酵母菌,经发酵培养、灭菌、离心过滤即得到乳木果油发酵物。本发明所制备的乳木果油发酵物对皮肤无刺激性,不添加其他化学成分,安全性高,具有明显发酵香气,能显著提升使用后皮肤水合状态,具有明显的保湿效果,降低皮肤水分散失,提高皮肤总弹性,同时具有显著的抗氧化效果,可被广泛应用于化妆品等领域。



1. 一种乳木果油发酵物的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

S1、将第一酵母菌接种至初级发酵培养基中进行一次发酵,得到酵母菌发酵产物;

S2、将乳木果油与底油混合均匀,得到混合油料;

S3、将S1制备的酵母菌发酵产物与S2制备的混合油料混合作为二级发酵底物,采用第二酵母菌进行二次发酵,发酵结束后进行灭菌,取上层油相离心,取上清,得到所述乳木果油发酵物;

其中,所述第一酵母菌选自酿酒酵母或扣囊复膜孢酵母,第二酵母菌选自熊蜂生假丝酵母或圆球假丝酵母。

2. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于:按质量百分比计,所述初级发酵培养基中含有:6-12%碳源、0.1-0.3%氮源、0.15-0.45%无机盐。

3. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于:所述混合油料中,乳木果油占底油的质量百分比为5%-45%。

4. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于:所述混合油料占酵母菌发酵产物的质量百分比为10%-40%。

5. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于:所述一次发酵为,在25-28℃、180-220rpm下发酵24-36h。

6. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于:所述二次发酵为,在28-33℃、180-220rpm下发酵72-120h。

7. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于:所述第一酵母菌为保藏编号为CICC 1299的酿酒酵母,或保藏编号为CICC 31025的扣囊复膜孢酵母;所述第二酵母菌为保藏编号为ATCC 22214的熊蜂生假丝酵母,或保藏编号为ATCC 8625的圆球假丝酵母。

8. 权利要求1-7任一项所述的制备方法得到的乳木果油发酵物。

9. 权利要求8所述的乳木果油发酵物在制备化妆品或医用产品中的应用。

10. 根据权利要求9所述的应用,其特征在于:所述产品包括抗衰老、抗氧化、紧致抗皱、保湿、消炎、屏障功能修护或促进创口愈合的产品。

一种乳木果油发酵物及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明属于微生物发酵技术领域,尤其涉及一种乳木果油发酵物及其制备方法和应用。

背景技术

[0002] 乳木果油是从西非牛油树果肉中提取的一种天然油脂,乳木果油外观呈白色油脂,常温下为固体,它的熔点一般介于32-45℃之间。乳木果油,INCI Name(国际化妆品原料标准命名)为“牛油果树(BUTYROSPERMUMPARKII)果脂”,其主要成分为甘油三酯(含一定数量的亚油酸)和不可皂化物,其中甘油三酯含量为80%左右。而不可皂化物的含量根据季节、产地和提取及精制方法的不同而有所变化。乳木果油不可皂化物中的萜烯醇以及树脂醇等的肉桂酸酯,具有一定的消炎作用和促进伤口愈合作用。另外乳木果油也具有轻微阻断紫外线作用,又是一种温和的天然植物防晒剂。除此之外,乳木果油具有良好的皮肤亲和性,润肤效果非常好,同时有防止皮肤衰老的作用。因而乳木果油是优良的化妆品用油脂。近年来受到市场青睐,进口量越来越大。

[0003] 近几年,微生物发酵技术被广泛应用于化妆品原料的制备,微生物发酵法不需要添加其它的催化剂,只需培养出大量的微生物菌种,然后加入发酵底物进行复杂的生物催化反应,反应条件温和,不需要高温、高压等苛刻的条件,也不需要添加各类化学试剂,为天然护肤打开了一扇技术的大门。通过特定微生物的发酵能够降低底物中有毒成分的含量,减少过敏性成分。

[0004] 乳木果油在常温下为固态,与水不能混溶;且在精炼过程中或多或少添加了一些化学成分,影响了它原本的植物香味;并且乳木果油是膏状的固体,肤感厚重偏腻、不够清爽、相对于其他的润肤油铺展性差;此外,乳木果油是类白色的膏体、易析出,很难在目前市场爆款的透明剂型的以油养肤精华油产品中大量添加。以上这些都限制了其在化妆品配方中的搭配应用。发酵后的乳木果油,就能够解决以上的技术痛点。而如何选择适当的发酵工艺是制备乳木果油发酵物的关键。中国专利CN115252478A公开了一种发酵植物油及其制备方法和应用,通过接种解脂假丝酵母发酵植物油混合物,制备发酵植物油,然而所述发酵工艺与发酵菌种无法适用于乳木果油发酵物的制备。同时,目前市面上有限的几款宣称发酵乳木果油的产品均为乳木果油与其他发酵物的简单复配,原料乳木果油并没有经过微生物的发酵作用。至今没有关于乳木果油发酵物制备的相关报道。

发明内容

[0005] 为解决上述技术问题,本发明提供了一种乳木果油发酵物制备方法和由此获得的乳木果油发酵物,该乳木果油发酵物常温下流动性好、极易于铺展,透明至半透明的状态,带有发酵特殊香气,对皮肤无刺激性,且在透皮、保湿、维持皮肤弹性等方面均有良好表现,可广泛应用于化妆品等领域。

[0006] 本发明提供了一种乳木果油发酵物的制备方法,包括以下步骤:

- [0007] S1、将第一酵母菌接种至初级发酵培养基中进行一次发酵,得到酵母菌发酵产物;
- [0008] S2、将乳木果油与底油混合均匀,得到混合油料;
- [0009] S3、将S1制备的酵母菌发酵产物与S2制备的混合油料混合作为二级发酵底物,采用第二酵母菌进行二次发酵,发酵结束后进行灭菌,取上层油相离心,取上清,得到所述乳木果油发酵物;
- [0010] 其中,所述第一酵母菌选自酿酒酵母或扣囊复膜孢酵母,第二酵母菌选自熊蜂生假丝酵母或圆球假丝酵母。
- [0011] 此外,本发明使用的菌种在发酵过程中可产生生物表面活性成分,所获得的植物油发酵物促进了水相和油相的互溶,具有亲水亲油的特性。发酵过程中既能溶入诸如多糖、多肽、氨基酸等水溶性活性成分,也能溶入植物油本身具有的油性活性成分。使得产品在化妆品等领域的功效和应用范围更广。
- [0012] 进一步地,在步骤S1中,按质量百分比计,所述初级发酵培养基中含有:6-12%碳源、0.1-0.3%氮源、0.15-0.45%无机盐,余量为水。
- [0013] 进一步地,在步骤S1中,所述一次发酵为,在25-28℃、180-220rpm下发酵24-36h。
- [0014] 进一步地,第一酵母菌的接种量为1-10%。
- [0015] 进一步地,在步骤S2中,乳木果油与底油于35-45℃混合。
- [0016] 进一步地,所述混合油料中,乳木果油占底油的质量百分比为5%-45%。
- [0017] 进一步地,在步骤S3中,所述混合油料占酵母菌发酵产物的质量百分比为10%-40%。
- [0018] 进一步地,所述二次发酵为,在28-33℃、180-220rpm下发酵72-120h。
- [0019] 进一步地,第二酵母菌的接种量为1-10%。
- [0020] 进一步地,在步骤S3中,所述灭菌为于90-115℃下灭菌10-15min。
- [0021] 进一步地,所述离心操作为,离心力8000-12000g,离心时间5-20min。
- [0022] 进一步地,在步骤S3中还包括对上清进行过滤的步骤,优选地,使用0.45μm微滤膜进行过滤。
- [0023] 进一步地,所述第一酵母菌优选为保藏编号为CICC 1299的酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*),或保藏编号为CICC 31025的扣囊复膜孢酵母(*Saccharomycopsis fibuligera*)。用于接种的酵母菌菌液的浓度为 10^5 - 10^8 CFU/mL。
- [0024] 进一步地,所述第二酵母菌优选为保藏编号为ATCC 22214的熊蜂生假丝酵母(*Starmerella bombicola*),或保藏编号为ATCC 8625的圆球假丝酵母(*Candida sphaerica*)。用于接种的酵母菌菌液的浓度为 10^5 - 10^8 CFU/mL。
- [0025] 本发明的第二个目的是提供上述制备方法得到的乳木果油发酵物。
- [0026] 本发明的第三个目的是提供上述乳木果油发酵物在制备化妆品、医用产品中的应用。
- [0027] 进一步地,所述产品包括但不限于抗衰老、抗氧化、紧致、抗皱、保湿、舒缓抗敏、屏障功能修护或促进创口愈合的产品。
- [0028] 借由上述方案,本发明至少具有以下优点:
- [0029] 本发明通过接种不同的酵母菌在不同条件下分步对乳木果油进行深度发酵,经发酵后制备的乳木果油发酵物稳定、均匀性好,流动性佳、易于铺展,透明至半透明,功效明显

提高的同时也有利于工业化,降低析出、避免批次差异,从而保证批次稳定性以及功效一致性。乳木果油的使用肤感也得到明显提升,润肤、保湿等性能更强,安全性高,在抗氧化损伤方面也具有明显优势,无需加热融化、节省能耗、更加环保、易于应用于化妆品产品生产制造。

附图说明

[0030] 图1为乳木果油发酵物生产工艺流程图。

[0031] 图2为实施例与对比比例的乳木果油发酵物样品实物图。

[0032] 图3为实施例乳木果油发酵物(S1,S2,S2)、对比比例乳木果油发酵物(C1,C2)及空白组、模型组及阳性对照组细胞试验中细胞活性值。

[0033] 图4为实施例与对比比例乳木果油发酵物舒缓细胞氧化损伤功效测试细胞图。

具体实施方式

[0034] 下面结合附图和具体实施例对本发明作进一步说明,以使本领域的技术人员可以更好地理解本发明并能予以实施,但所举实施例不作为对本发明的限定。

[0035] 原料说明:

[0036] 下述实施例中所用的乳木果油、底油、培养基试剂等,如无特殊说明,均可从商业途径得到,实施例中的菌种等,均可从CICC或者ATCC代理公司购买得到。

[0037] 下述实施例中涉及的培养基如下:

[0038] YM液体培养基(g/L):葡萄糖10,酪蛋白胨5,酵母浸粉3,麦芽浸粉3。

[0039] YM固体培养基(g/L):葡萄糖10,酪蛋白胨5,酵母浸粉3,麦芽浸粉3,琼脂15。

[0040] 下述实施例中涉及的酵母菌种子液制备方法:

[0041] 将保藏的酵母菌划线接种至YM固体培养基平板上,30℃培养48小时活化,挑取单菌落接种至50mL YM液体培养基,28℃、150rpm培养24小时,用无菌水调整细胞浓度为 10^7 CFU/mL。得到酵母菌种子液。

[0042] 实施例1

[0043] (1) 二级发酵底物组分一制备:

[0044] 按如下组成配制初级发酵底物:葡萄糖70g/L,酵母粉1.5g/L,磷酸二氢钾1.5g/L,磷酸二氢钠1.5g/L,硫酸镁0.3g/L。

[0045] 初级发酵底物121℃、20min灭菌冷却后,以1%接种量接种酿酒酵母CICC 1299种子液,26℃、200rpm震荡培养箱培养24h,即制得二级发酵底物组分一(即酵母菌发酵产物)。

[0046] (2) 二级发酵底物组分二制备:

[0047] 配备以重量百分比计的以下原料:乳木果油30%、葵花籽油70%。将以上混合油料在45℃保温充分搅拌混合,即制得二级发酵底物组分二。

[0048] (3) 乳木果油发酵物制备:

[0049] 将步骤(1)获得的二级发酵底物组分一与步骤(2)获得的二级发酵底物组分二,以重量比8:2进行充分混合获得二级发酵底物,以10%接种量接种熊蜂生假丝酵母ATCC 22214种子液,30℃、200rpm震荡培养箱培养96h后进行灭菌处理。灭菌温度100℃,灭菌时间15min,灭菌结束后,取上层油相进行离心,9000g离心20min。取上层清相过0.45μm微滤膜即

得到乳木果油发酵物S1(即含有“牛油果树(BUTYROSPERMUM PARKII)果脂”和“酵母菌发酵产物”和“蜂生假丝酵母/葡萄糖/油菜籽油酸甲酯发酵产物”的混合物)。

[0050] 实施例1制备所得的乳木果油发酵物S1流动性好、半透明、发酵香气明显,样品见图2。菌落总数小于50CFU/ml,无致病菌检出。根据化妆品卫生标准GB7916-87,化妆品细菌总数不高于1000CFU/ml,所以此发酵物符合化妆品原料质量要求。

[0051] 实施例2

[0052] (1) 二级发酵底物组分一制备:

[0053] 按如下组成配制初级发酵底物:葡萄糖60g/L,酵母粉1.0g/L,磷酸二氢钾1.0g/L,磷酸二氢钠1.0g/L,硫酸镁0.1g/L。

[0054] 初级发酵底物121℃、20min灭菌冷却后,以1%接种量接种扣囊复膜孢酵母CICC 31025种子液,26℃、200rpm震荡培养箱培养24h,即制得二级发酵底物组分一(即酵母菌发酵产物)。

[0055] (2) 二级发酵底物组分二制备:

[0056] 配备以重量百分比计的以下原料:乳木果油20%、山茶籽油80%。将以上混合油料在40℃保温充分搅拌混合,即制得二级发酵底物组分二。

[0057] (3) 乳木果油发酵物制备:

[0058] 将步骤(1)获得的二级发酵底物组分一与步骤(2)获得的二级发酵底物组分二,以重量比7:3进行充分混合获得二级发酵底物,以10%接种量接种圆球假丝酵母ATCC 8625种子液,30℃、200rpm震荡培养箱培养96h后进行灭菌处理。灭菌温度100℃,灭菌时间15min,灭菌结束后,取上层油相进行离心,9000g离心20min。取上层清相过0.45μm微滤膜即得到乳木果油发酵物(S2)。

[0059] 实施例2制备所得的乳木果油发酵物(S2)半透明、流动性好、发酵香气明显,样品见图2。菌落总数小于50CFU/ml,无致病菌检出。根据化妆品卫生标准GB7916-87,化妆品细菌总数不高于1000CFU/ml,所以此发酵物符合化妆品原料质量要求。

[0060] 实施例3

[0061] (1) 二级发酵底物组分一制备:

[0062] 按如下组成配制初级发酵底物:葡萄糖80g/L,酵母粉2.0g/L,磷酸二氢钾2.0g/L,磷酸二氢钠2.0g/L,硫酸镁0.5g/L。

[0063] 初级发酵底物121℃、20min灭菌冷却后,以1%接种量接种酿酒酵母CICC 1299种子液,26℃、200rpm震荡培养箱培养24h,即制得二级发酵底物组分一(即酵母菌发酵产物)。

[0064] (2) 二级发酵底物组分二制备:

[0065] 配备以重量百分比计的以下原料:乳木果油10%、菜籽油90%。将以上混合油料在35℃保温充分搅拌混合,即制得二级发酵底物组分二。

[0066] (3) 乳木果油发酵物制备:

[0067] 将步骤(1)获得的二级发酵底物组分一与步骤(2)获得的二级发酵底物组分二,以重量比7:3进行充分混合获得二级发酵底物,以10%接种量接种圆球假丝酵母ATCC 8625种子液,28℃、200rpm震荡培养箱培养96h后进行灭菌处理。灭菌温度115℃,灭菌时间15min,灭菌结束后,取上层油相进行离心,9000g离心20min。取上层清相过0.45μm微滤膜即得到乳木果油发酵物(S3)。

[0068] 实施例3制备所得的乳木果油发酵物(S3)透明性高、流动性好、极易铺展、发酵香气明显,样品见图2。菌落总数小于50CFU/ml,无致病菌检出。根据化妆品卫生标准GB7916-87,化妆品细菌总数不高于1000CFU/ml,所以此发酵物符合化妆品原料质量要求。

[0069] 对比例1

[0070] (1) 组分一制备:

[0071] 按如下组成配制发酵底物:葡萄糖70g/L,酵母粉1.5g/L,磷酸二氢钾1.5g/L,磷酸二氢钠1.5g/L,硫酸镁0.3g/L。初级发酵底物121℃、20min灭菌冷却后,以1%接种量接种酿酒酵母CICC 1299种子液,26℃、200rpm震荡培养箱培养24h,即制得组分一。

[0072] (2) 组分二制备:

[0073] 配备以重量百分比计的以下原料:乳木果油30%、葵花籽油70%。将以上混合油料在45℃保温充分搅拌混合,即制得组分二。

[0074] (3) 乳木果油发酵物制备:

[0075] 将步骤(1)获得的组分一与步骤(2)获得的组分二,以重量比8:2进行充分混合后,30℃、200rpm震荡培养箱培养96h后进行灭菌处理。灭菌温度100℃,灭菌时间15min,灭菌结束后,取上层油相进行离心,9000g离心20min。取上层清相过0.45μm微滤膜即得到乳木果油发酵物(C1)。

[0076] 对比例1制备所得的乳木果油发酵物(C1)流动性好、具有一定的发酵香气,但放置一定时间出现分层现象,样品见图2。菌落总数小于50CFU/ml,无致病菌检出。根据化妆品卫生标准GB7916-87,化妆品细菌总数不高于1000CFU/ml,所以此发酵物也符合化妆品原料质量要求。

[0077] 对比例2

[0078] (1) 组分一制备:

[0079] 按如下组成配制发酵底物:葡萄糖70g/L,酵母粉1.5g/L,磷酸二氢钾1.5g/L,磷酸二氢钠1.5g/L,硫酸镁0.3g/L。初级发酵底物121℃、20min灭菌冷却后,即制得组分一。

[0080] (2) 组分二制备:

[0081] 配备以重量百分比计的以下原料:乳木果油30%、葵花籽油70%。将以上混合油料在45℃保温充分搅拌混合,即制得组分二。

[0082] (3) 乳木果油发酵物制备:

[0083] 将步骤(1)获得的组分一与步骤(2)获得的组分二,以重量比7:3进行充分混合获得发酵底物,以10%接种量接种熊蜂生假丝酵母ATCC 22214种子液,30℃、200rpm震荡培养箱培养96h后进行灭菌处理。灭菌温度100℃,灭菌时间15min,灭菌结束后,取上层油相进行离心,9000g离心20min。取上层清相过0.45μm微滤膜即得到乳木果油发酵物(C2)。

[0084] 对比例2制备所得的乳木果油发酵物(C2)流动性好、具有一定的发酵香气,但放置一定时间也会出现分层现象,样品见图2。菌落总数小于50CFU/ml,无致病菌检出。根据化妆品卫生标准GB7916-87,化妆品细菌总数不高于1000CFU/ml,所以此发酵物也符合化妆品原料质量要求。

[0085] 对比例3

[0086] (1) 发酵底物组分一制备:

[0087] 按如下组成配制初级发酵底物:葡萄糖70g/L,酵母粉1.5g/L,磷酸二氢钾1.5g/L,

磷酸二氢钠1.5g/L,硫酸镁0.3g/L。初级发酵底物121℃、20min灭菌冷却后,即制得发酵底物组分一。

[0088] (2) 发酵底物组分二制备:

[0089] 配备以重量百分比计的以下原料:乳木果油30%、葵花籽油70%。将以上混合油料在45℃保温充分搅拌混合,即制得发酵底物组分二。

[0090] (3) 乳木果油发酵物制备:

[0091] 将步骤(1)获得的发酵底物组分一与步骤(2)获得的发酵底物组分二,以重量比8:2进行充分混合获得发酵底物,以1%接种量接种酿酒酵母CICC 1299种子液,同时以10%接种量接种熊蜂生假丝酵母ATCC 22214种子液,28℃、200rpm震荡培养箱培养。发酵开始一段时间后发现油相开始出现凝固现象,无法进一步发酵,此乳木果油发酵物制备失败。

[0092] 测试例

[0093] 一、乳木果油发酵物的安全性检测

[0094] 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。本发明根据《化妆品安全技术规范》(2022)对实施例和对比例获得的乳木果油发酵物液进行人体封闭式斑贴试验,旨在对其潜在皮肤刺激性进行评估。

[0095] 1、试验对象:

[0096] 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人作为受试对象,年龄范围在18-60岁随机选择。

[0097] 2、试验方法:

[0098] 将液体样品(100%乳木果油发酵物,无稀释)0.02mL滴加在滤纸片上,再将滤纸片置于斑试器内。每个样品均设置空白对照(水),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),24h和48h观察皮肤的反应。人体斑贴试验皮肤不良反应分级标准参见表1。

[0099] 表1人体试用试验皮肤反应分级标准

[0100]

皮肤反应	分级
无反应	0
微弱红斑	1
红斑、浸润、丘疹	2
红斑、水肿、丘疹、水疱	3
红斑、水肿、大疱	4

[0101] 3、试验结果:

[0102] 见表2。从表中可以看出:使用实施例与对比例得到的乳木果油发酵物后都是阴性反应,说明本发明提供的乳木果油发酵物具有安全性,不会给人体带来不良反应。

[0103] 表2实施例与对比例获得的乳木果油发酵物的斑贴试验

样品名称	评分等级	反应例数			反应人数	
		30min 后	24h 后	48h 后		
[0104] 空白对照	0	30	30	30	30	
	1	0	0	0	0	
	2	0	0	0	0	
	3	0	0	0	0	
	4	0	0	0	0	
乳木果油发酵物 (S1)	0	30	30	30	30	
	1	0	0	0	0	
	2	0	0	0	0	
	3	0	0	0	0	
	4	0	0	0	0	
乳木果油发酵物 (S2)	0	30	30	30	30	
	1	0	0	0	0	
	2	0	0	0	0	
[0105]	3	0	0	0	0	
	4	0	0	0	0	
	乳木果油发酵物 (S3)	0	30	30	30	30
		1	0	0	0	0
		2	0	0	0	0
		3	0	0	0	0
		4	0	0	0	0
	乳木果油发酵物 (C1)	0	30	30	30	30
		1	0	0	0	0
		2	0	0	0	0
		3	0	0	0	0
		4	0	0	0	0
	乳木果油发酵物 (C2)	0	30	30	30	30
		1	0	0	0	0
		2	0	0	0	0
3		0	0	0	0	
4		0	0	0	0	

[0106] 二、乳木果油发酵物的保湿功效验证

[0107] 以乳木果油发酵物 (C1) 和乳木果油发酵物 (C2) 作为对比例,以实施例1、2、3中的乳木果油发酵物 (S1, S2, S3) 作为实验组,比较二者的作用前后的皮肤水分含量值,皮肤弹性和经表皮水分散失值。具体试验过程如下:

[0108] 在受试者左、右手臂内侧距手掌基部5cm处,在左前臂定义2个面积相同的区域 (3cm×3cm) 作为使用区域;右前臂相同位置的点作为空白对照区域,左、右臂的对应区域同时测试。受试者在手臂的两个试验区域分别涂抹乳木果油发酵物 (C1, C2) 和乳木果油发酵物 (S1, S2, S3)。在涂抹后0、2、4、8h,使用皮肤水分测量仪Corneometer CM825 (德国) 测试皮肤水分含量,使用多功能皮肤测试仪 (MPA580, Courage&Khazaka, 德国) 测试皮肤弹性,采用经皮水分散失测量仪Tewameter TM300 (德国) 测试皮肤的水分散失量,每次测量3次,取平均值。空白对照组为0h时刻测得3次皮肤水分含量、弹性、和水分散失值的平均值。结果如下表3所示:

[0109] 表3皮肤水分含量、弹性及水分散失测试结果

[0110]	样品	样品涂抹后时间/h											
		0			2			4			8		
		皮肤水分 /%	皮肤弹性 /%	皮肤水分散失 /%	皮肤水分 /%	皮肤弹性 /%	皮肤水分散失 /%	皮肤水分 /%	皮肤弹性 /%	皮肤水分散失 /%	皮肤水分 /%	皮肤弹性 /%	皮肤水分散失 /%
[0111]	C1	47.6	76.2	11.7	48.3	76.5	10.3	48.6	76.8	10.1	48.1	76.7	10.9
	C2	47.6	76.2	11.7	48.9	76.8	10.1	49.2	76.9	9.8	48.5	76.4	10.8
	S1	47.6	76.2	11.7	55.6	77.9	9.6	57.8	78.6	9.1	56.3	77.8	10.2
	S2	47.6	76.2	11.7	54.7	77.6	9.8	56.9	78.4	9.1	56.1	77.7	9.9
	S3	47.6	76.2	11.7	54.5	77.5	9.5	56.8	78.3	9.2	55.8	77.9	10.1

[0112] 由表3中实施例与空白对照的比较可知,本发明实施例乳木果油发酵物能显著提升使用后皮肤水合状态、具有明显的保湿效果。与对比例的比较可知,发酵过程中接种的菌种及发酵工艺也能对乳木果油发酵物的保湿效果产生一定的影响。同时本发明的乳木果油发酵物也能显著降低皮肤水分散失,提高皮肤总弹性,应用于护肤化妆品具有良好的保湿紧致抗衰老功效。

[0113] 三、乳木果油发酵物舒缓细胞氧化损伤功效测试

[0114] 试验参照《T/SHRH 032-2020化妆品紧致、抗皱功效测试-体外角质形成细胞活性氧(ROS)抑制测试方法》团体标准进行设计,根据样品情况有部分修改,通过空白对照验证样品的舒缓细胞氧化损伤功效。

[0115] 试验细胞:人皮肤成纤维细胞(HSF细胞)

[0116] 细胞造模:保护:将HSF细胞按照 1×10^4 个/孔(完全培养基配置)的密度铺在96孔板中,每孔100u1,37℃5%CO₂培养24h。然后吸弃旧培养基,更换为100u1基础培养基,其中阳性孔采用100u1 0.5‰的VE(无水乙醇将VE稀释成5%溶液,用基础培养基稀释至0.5‰)作为阳性对照,正式试验时可加药物,孵育24h后,添加100u1 400umol/L的H₂O₂(终浓度为200umol/L)刺激1h,用PBS缓冲液清洗3遍后,添加100u1的基础培养基及20u1的MTT,继续培养4h后将MTT培养基吸出,并添加150u1的二甲基亚砷溶液摇床震荡10min,然后在570nm下测定吸光值。

[0117] 试验原理:使用一定浓度的双氧水制造细胞氧化损伤模型,双氧水影响细胞活性。添加样品的细胞培养体系,如果能够提升细胞活性,表明具有舒缓细胞氧化损伤功效,阳性对照使用0.5‰的VE溶液,空白对照使用基础培养基。

[0118] 实验结果如图3-图4所示,其中,K代表空白组,M代表模型组,VE代表阳性对照组,C1-C2、S1-S3分别代表上述实施例和对比例制备的发酵产物。从图3,4结果可以看出:以空白对照细胞活性设定为100%,使用双氧水制造细胞氧化损伤模型后,细胞活性不足60%,图4的细胞显微图也可以发现:与加样前相比,细胞个数有明显减少。添加0.5‰的VE溶液后,细胞活性超过了80%。结合图3数据及图4细胞显微图分析,可以发现:添加不同实施例和对比例的乳木果油发酵物,均具有一定的舒缓细胞氧化损伤功效,但实施例与对比例相比较而言,实施例舒缓细胞氧化损伤的功效更强一些。

[0119] 显然,上述实施例仅仅是为清楚地说明所作的举例,并非对实施方式的限定。对于所属领域的普通技术人员来说,在上述说明的基础上还可以做出其它不同形式变化或变动。这里无需也无法对所有的实施方式予以穷举。而由此所引申出的显而易见的变化或变

动仍处于本发明创造的保护范围之内。

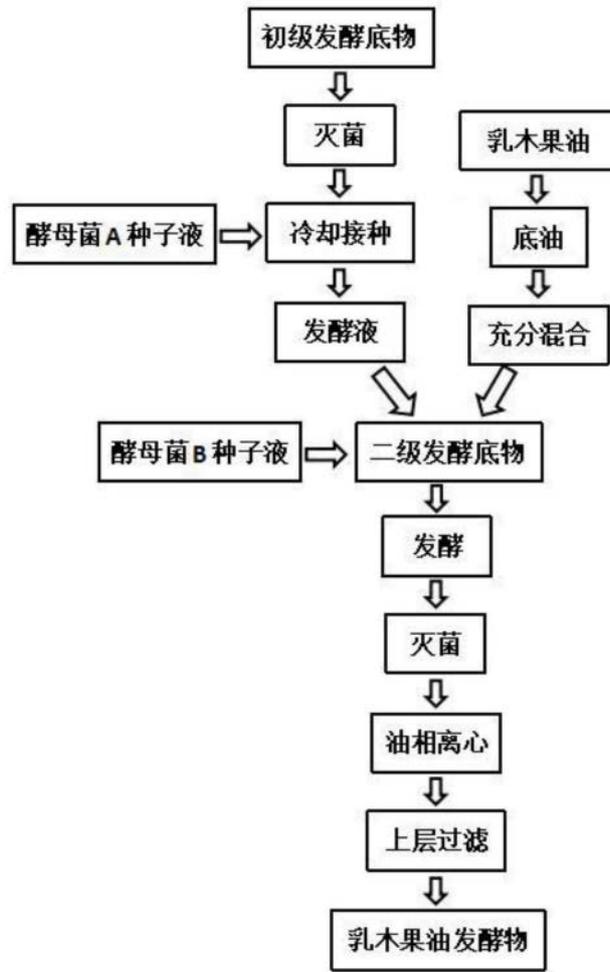


图1

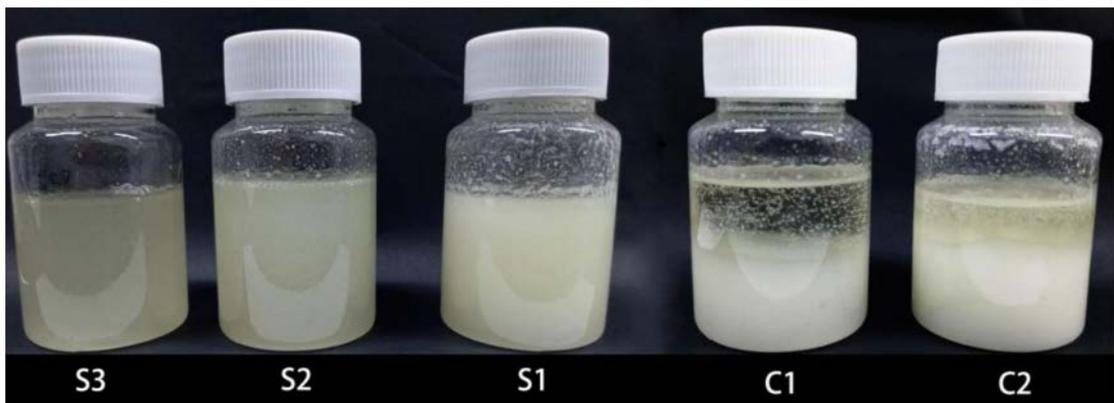


图2

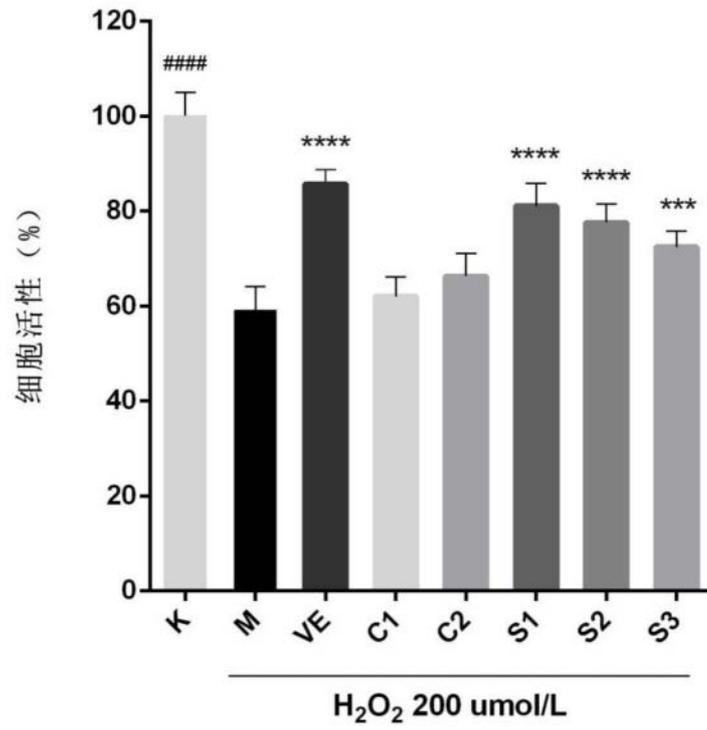


图3

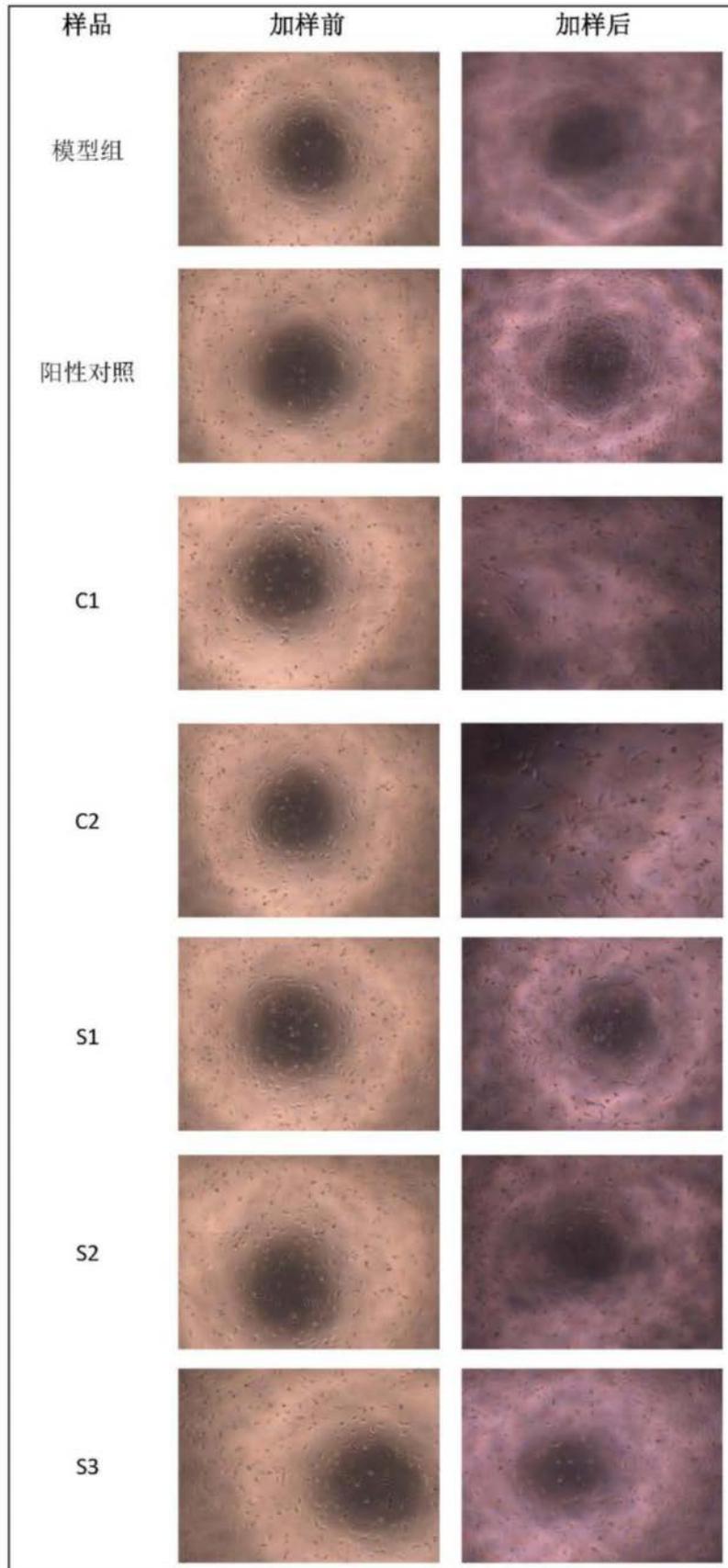


图4