

红枣玉竹酵素的功能研究

韩乐闪¹, 朱德强¹, 祝文兴¹, 刘新利¹, 徐向荣², 郑俊云², 黄谊东², 张国栋³, 黄武军⁴, 李欣⁴

¹齐鲁工业大学(山东省科学院)生物工程学院, 山东 济南

²江西仁仁健康产业有限公司, 江西 樟树

³江西农业工程职业学院, 江西 樟树

⁴江西仁和集团(发展)有限公司, 江西 樟树

收稿日期: 2021年12月5日; 录用日期: 2022年1月3日; 发布日期: 2022年1月12日

摘要

酵素是以动物、植物、菌类等为原料, 经微生物发酵制得的含有特定生物活性成分的产品, 以中药为原料酵素的功效合理评价受到广泛关注。本研究以红枣玉竹酵素为研究样本, 基于成分分析、体外和体内生化指标以及小鼠肠道蠕动实验, 探究对美容养颜酵素的功效评价。结果根据所得实验数据, 推断该酵素具有一定的美容养颜功效。为该类酵素的潜在功能阐述提供理论依据, 同时也为酵素类功能食品研究提供科学依据, 促进人们对酵素和酵素行业的科学认知, 扩大酵素的推广应用。

关键词

美容养颜, 酵素, 红枣玉竹酵素, 肠道蠕动

Study on the Function of Jiaosu of *Polygonatum odoratum* and Red Dates

Leshan Han¹, Deqiang Zhu¹, Wenxing Zhu¹, Xinli Liu¹, Xiangrong Xu², Junyun Zheng², Yidong Huang², Guodong Zhang³, Wujun Huang⁴, Xin Li⁴

¹School of Bioengineering, Qilu University of Technology (Shandong Academy of Sciences), Jinan Shandong

²Jiangxi Renren Health Industry Co., Ltd., Zhangshu Jiangxi

³Jiangxi Agricultural Engineering College, Zhangshu Jiangxi

⁴Jiangxi Renhe Group (Development) Co., Ltd., Zhangshu Jiangxi

Received: Dec. 5th, 2021; accepted: Jan. 3rd, 2022; published: Jan. 12th, 2022

Abstract

Jiaosu are products with specific biological active components produced by microbial fermenta-

文章引用: 韩乐闪, 朱德强, 祝文兴, 刘新利, 徐向荣, 郑俊云, 黄谊东, 张国栋, 黄武军, 李欣. 红枣玉竹酵素的功能研究[J]. 食品与营养科学, 2022, 11(1): 1-10. DOI: 10.12677/hjfn.2022.111001

tion with animals, plants and fungi as raw materials. This study used Jiaosu of *Polygonatum odoratum* and Red Dates enzyme as the research sample, based on component analysis, in vitro and in vivo biochemical indexes, and intestinal peristalsis experiment of mice, to explore the efficacy evaluation of beauty and beautifying enzyme. According to the experimental data, it was concluded that the enzyme had a certain effect on beauty. It provides theoretical basis for the elaboration of the potential function of enzymes, and also provides scientific basis for the research of enzymes functional food, promotes people's scientific cognition of enzymes and enzyme industry, and expands the promotion and application of enzymes.

Keywords

Maintain Beauty, Jiaosu, Jiaosu of *Polygonatum odoratum* and Red Dates, Intestinal Tract Movement

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

近年来, 中医药的价值在全世界受到持续关注。中医药作为中华民族的一大发明, 也是中国给世界的珍贵礼物。为了让中医药这一瑰宝更好服务大众, 中国卫生部及卫计委公布并不断更新“药食同源”(《既是食品又是药品的物品名单》) [1] [2], 为中医药的发展指出了新方向。

酵素是以动物、植物、菌类等为原料, 经微生物发酵制得的含有特定生物活性成分的产品。由于酵素产业具有绿色健康环保的理念, 近年来在行业发展中异军突起。同时, 国家也加大了科学研究和产业扶持力度。2019年8月, 国家发展和改革委员会审议通过了《产业结构调整指导目录(2019本)》, 在鼓励类第十九项轻工类第29条中新增“酵素生产工艺技术开发及工业化、规范化生产”。各式各样的酵素产品如雨后春笋般涌现, 极大丰富了行业供给端市场; 尤其是基于药食同源原料的中药酵素以其良好的功能预期吸引行业企业的普遍关注。

本研究将以红枣玉竹酵素为主要研究对象, 从生化指标、体外细胞实验、肠道菌群组学分析等角度对红枣玉竹酵素的美容养颜功能进行活性评价, 这对该酵素的功能阐释具有重要的科学意义。

2. 实验材料与方法

2.1. 实验材料

红枣玉竹酵素提取液和红枣玉竹酵素由江西仁仁健康产业有限公司提供, 红枣玉竹酵素提取液为未发酵的原料浸提液, 其主要配料为红枣、玉竹、山药、百合、黄精、枸杞、陈皮、麦芽、山楂、炙甘草、阿胶。1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)购自上海阿拉丁生化科技有限公司, 福林酚试剂、没食子酸、芦丁购自上海生工生物工程有限公司, 马来酸曲美布汀溶液片购自济南市长清区人民医院, 产自天津田边制药有限公司。其他试剂均购自国药集团化学试剂有限公司。本实验用到的检测试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

2.2. 多酚、总酸含量、有机酸的测定

多酚的测定按照 GB/T 8313-2008《茶叶中茶多酚的检测》进行; 总酸的测定(以柠檬酸计)按照 GB/T

12456-2008《食品中总酸的测定》测定。

有机酸的测定采用带有示差检测器的岛津高效液相色谱仪(LC-20AT, 日本岛津); 色谱柱 Bio-Rad AminexHPX-87H(美国伯乐); 流动相为 0.5 mM H₂SO₄ 溶液, 流速 0.6 mL/min, 柱温 65°C, 进样量为 10 μL。样品经离心(12,000 g, 2 min), 取上清过 0.22 μm 无机滤膜, 待用。

2.3. 氨基酸种类及含量测定

采用氨基酸分析仪(HITACHI L-8900, 日本日立), 样品 8000 g 离心 5 min, 取上清; 酵素用双蒸水稀释后按 1:1 体积比加入去沉淀处理液, 混匀后过 0.22 μm 滤膜; 进样量 20 μL。

2.4. 抗氧化能力测定

准确称量 4 mg DPPH 用无水乙醇溶解定容至 100 mL 容量瓶中, 摇匀即得到 DPPH 工作液。在 10 mL 比色管中依次加入 4.0 mL DPPH 工作液和待测液, 加入无水乙醇至刻度, 混匀后立即用 1 cm 比色皿在 517 nm 波长处测定吸光度(A), 吸光值记为 A_i; 在室温避光保存 30 min 后测定吸光值, 记为 A_j; 对照实验为只加 DPPH 的乙醇溶液, 其吸光值为 A_c。自由基清除率(K)的计算公式: $K(\%) = [1 - (A_i - A_j)/A_c] \times 100\%$ 。

2.5. 人皮肤成纤维细胞(HSF)增殖实验

HSF 细胞培养: 配制含 1%青霉素 - 链霉素双抗的 DMEM 低糖培养基(10%胎牛血清按需添加), 将 HSF 细胞稀释至 3×10^5 个/mL, 将细胞悬液按 20 μL/孔接种至 96 孔细胞培养板, 培养于 37°C、5% CO₂、饱和湿度的培养箱中。待细胞生长到 80%融合时, 加入梯度浓度的样品, 继续培养。

MTT 法检测细胞活力: 向 96 孔培养板中加入待测样品后, 继续孵育 24 h。吸弃培养基, 每孔加入 90 μL 新鲜培养基及 10 μL 5 mg/mL MTT。将 96 孔板置于 CO₂ 培养箱中继续孵育培养 4 h。吸弃培养基, 每孔加入 100 μL 二甲基亚砜(DMSO), 震荡混匀 10 min。用酶标仪测定 570 nm 处的吸光值, 计算细胞活力。

2.6. 胞内胶原蛋白合成相关基因转录水平测定

分别采用 ELISA 试剂盒检测 HSF 细胞中 Col-I 含量, 方法依照试剂盒说明书所述。相关基因转录水平的测定采用 qRT-PCR 法, 选用甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDF)为内参基因。所用引物见表 1。

Table 1. Primers used in qRT-PCR

表 1. qRT-PCR 用到的引物

基因	序列(5'-3')
GAPDF	F: GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT
	R: GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG
Col-I	F: CTCGAGGTGGACACCACCCT
	R: CAGCTGGATGGCCACATCGG

2.7. 皮肤修复能力

收集对数生长期 HaCaT 细胞以每孔 1×10^6 个细胞的密度接种于 6 孔培养板, 于 37°C 和 5% CO₂ 条件下培养 24 h 至细胞达 80%融合时, 用灭菌的 200 μL Tip 头垂直于培养板底面划痕, 移去培养基, PBS 缓冲液洗涤 3 次, 用梯度浓度红枣玉竹酵素样品处理细胞 24 h, 于 37°C 和 5% CO₂ 条件下培养箱中培养。

分别于 0 h、24 h 和 48 h 倒置相差显微镜下观察。计算细胞划痕愈合率。

$$\text{划痕愈合率} = (\text{0 h 划痕面积} - \text{24 h 或 48 h 划痕面积}) / \text{0 h 划痕面积} \times 100\%。$$

2.8. 肠道蠕动能力测定

实验小鼠选用 C57BL/6J 雄性 7~8 周小鼠(体重 18~22 g)，购自斯贝福(北京)生物技术有限公司。小鼠随机分组，每组 10 只；经适应性培养 1 周后，按以下分组进行灌胃培养：

CK (阴性对照组)：蒸馏水(灌胃 14 天 0.3 mL/day)

MOD (模型对照组)：蒸馏水(灌胃 14 天 0.3 mL/day)，然后腹腔注射硫酸阿托品以建模，下同

BF (发酵前原料提取液对照组)：原料提取液(灌胃 14 天 0.3 mL/day)

PC (阳性对照组)：马来酸曲美布汀片溶液 0.3 mL (取一片溶解到 250 mL 水中，彻底溶解。现配现用，灌胃 14 天 0.3 mL/day)

B/LD (低剂量组)：红枣玉竹酵素(灌胃 14 天 0.3 mL/day)

B/HD (高剂量组)：红枣玉竹酵素(灌胃 14 天 0.6 mL/day)

按照上述分组和剂量，连续灌胃 14 d 后，各组小鼠禁食不禁水 12 h。PC 组、MOD 组、酵素 LD 和 HD 组分别给予硫酸阿托品 100 μ L 腹腔注射抑制小肠蠕动。30 min 后，所有组给予灌胃墨汁 200 μ L。25 min 后脱颈椎处死动物，打开腹腔分离肠系膜，剪取上端至幽门，下端至回盲部的肠管，置于托盘上，轻轻将小肠拉成直线，测量肠管长度为“小肠总长度”，从幽门至墨汁前沿为“墨汁推进长度”，计算墨汁推进率公式： $\text{墨汁推进率}/\% = \text{墨汁推进长度}(\text{cm}) / \text{小肠总长度}(\text{cm}) \times 100\%$ 。

2.9. 数据分析

本研究数据采用平均值 \pm 标准方差表示，采用单因素方差分析(One-way Anova)进行统计学差异分析，图中标注不同字母的组别表示具有统计学差异($p < 0.05$)，标注相同字母的组别表示不具有统计学差异($p > 0.05$)。

3. 实验结果

3.1. 多酚，总酸含量

在酵素样品中存在少量不溶性固形物，为使实验结果免受固形物的干扰，测试样品均经过了离心(10,000 g, 1 min)去沉淀处理。由表 2 可知，红枣玉竹酵素中多酚含量较高，达到 294.06 mg/L，赋予其抗氧化能力和丰富的营养成分；经滴定后，总酸含量达到 9.71 g/kg，从侧面反映出该酵素的发酵程度较深，酸度较大。

Table 2. Polyphenols, flavonoids and total acid content

表 2. 多酚、黄酮和总酸含量

项目	红枣玉竹酵素提取液	红枣玉竹酵素
多酚含量(mg/L)	207.14	294.06
总酸含量(g/kg)	1.30	9.71

3.2. 有机酸、单糖和二糖含量

如表 3 所示，经过液相色谱检测可知，红枣玉竹酵素中含量最高的是乙酸，达到 9.33 g/kg 预示着醋酸菌在其发酵体系中发挥较大作用。甲醇对人体有较大毒性，在该酵素样品中未检出；同样未检出的还

有葡萄糖,说明发酵进行较为充分,这一结论与滴定总酸的数值较高是一致的,契合“低糖低脂”的健康饮食理念。乙醇未检出,说明发酵体系中不含有酿酒酵母等产乙醇微生物,但也说明该饮用该酵素后没有酒后驾车等风险。

Table 3. Organic acid, monosaccharide and disaccharide content

表 3. 有机酸、单糖和二糖含量

项目	红枣玉竹酵素提取液	红枣玉竹酵素
草酸	6.42	0.48
麦芽糖	3.34	-
葡萄糖	8.02	-
甲酸	-	0.60
乙酸	-	9.33
丁酸	-	-
偏丁酸	-	1.62
戊酸	-	-
偏戊酸	-	0.02
苹果酸/果糖/半乳糖	8.37	13.13
乳酸	0.03	1.03

3.3. 氨基酸的总类及含量测定

如表 4 所示,红枣玉竹酵素中经氨基酸自动分析仪共检测到 11 种氨基酸,总量达到 47.3 mg/L,种类丰富的氨基酸为该酵素提供了营养支持。其中,必需氨基酸有苏氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、缬氨酸等四种;含量最高的氨基酸是苏氨酸,接近 14 mg/L。

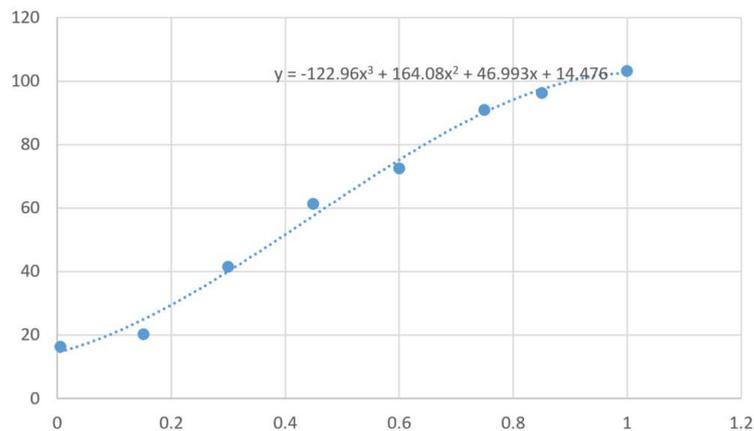
Table 4. Amino acid type and content

表 4. 氨基酸种类及含量

氨基酸	红枣玉竹酵素提取液	红枣玉竹酵素
天冬氨酸	15.916	5.028
苏氨酸	42.864	27.994
丝氨酸	13.824	4.578
谷氨酸	18.444	19.702
甘氨酸	2.404	3.046
丙氨酸	18.256	15.656
半胱氨酸	2.288	-
缬氨酸	8.512	2.864
蛋氨酸	7.052	0.390
酪氨酸	5.560	6.840
苯丙氨酸	15.720	2.576
赖氨酸	9.004	-
组氨酸	5.200	5.908
精氨酸	106.904	-

3.4. 抗氧化能力测定

如图 1 所示, 自由基清除比例曲线的拟合公式为 $y = -122.96x^3 + 164.08x^2 + 46.993x + 14.476$ 。解方程可知 $IC_{50} = 77.21/200$, 即当红枣玉竹酵素按照 77.21/200 (酵素/稀释后终体积) 后, 其氧自由基清除能力仍可达 50%。可知, 该酵素的氧自由基清除能力较强, 3 倍稀释后仍有较强的抗氧化能力, 这与前述实验检测到较高含量的多酚含量是吻合的。



*横坐标自左向右分别代表稀释比例 v/v: 1/200、30/200、60/200、90/200、120/200、150/200、170/200、200/200

Figure 1. Radical scavenging activities

图 1. 自由基清除能力*

此外, 将微生物发酵前后样品进行抗氧化活性对比检测, 同样经 10 倍稀释后, 以发酵前的中药提取液为基准(100%), 发酵后 DPPH 氧自由基清除率提升 69.2% 提示微生物发酵对中药提取物中抗氧化活性物质的生物转化起到重要作用, 在微生物发酵的作用下, 中药活性物质得到更充分释放和生物转化[3] [4]。

3.5. 人皮肤成纤维细胞(HSF)增殖实验

成纤维细胞是真皮层的主要细胞, 具有合成和分泌胶原纤维、弹性纤维及其它基质成分的功能, 这些成分与成纤维细胞共同作为真皮的主体并维持真皮层的弹性。以不加 10% 血清、加表皮细胞生长因子(EGF)的 HSF 生长为基准(100%), 若加入待测样品后细胞增值率超过 100%, 认为样品有促进细胞生长的作用, 而低于 100% 则认为样品抑制细胞生长, 对细胞有一定毒害作用。如表 5 所示, 在未发酵的酵素提取液实验中, 可以看到样品并未表现出明显的促生长现象, 预示着发酵过程对原料提取液关键成分的生物转化和表现生活理性是必要的。

Table 5. Effect of Jiaosu sample on HSF cell proliferation

表 5. 酵素样品对 HSF 细胞增殖的影响

组别	空白对照	EGF	红枣玉竹酵素		红枣玉竹酵素提取液		
			1:200	1:100	1:200	1:100	
无血清	1	97.31	98.24	108.02	104.99	99.30	100.01
	2	99.27	103.08	110.52	111.11	102.17	98.36
	3	103.47	104.31	106.36	105.19	101.79	98.68
AVE	100.02 ± 3.15b	101.88 ± 3.21ab	108.30 ± 2.09a	107.09 ± 3.48ac	101.09 ± 1.56bc	99.02 ± 0.88b	

Continued

	1	101.28	100.72	103.08	109.19	102.66	100.94
10%血清	2	100.04	101.16	109.79	103.28	101.05	100.27
	3	98.68	102.16	105.00	102.48	102.43	101.83
	AVE	100.00 ± 1.30a	101.35 ± 0.74a	105.96 ± 3.46a	104.98 ± 3.66a	102.05 ± 0.87a	101.01 ± 0.78a

基于上述实验结果, 在设计的浓度梯度下, 除高浓度实验组以外, 高低浓度均对细胞无明显副作用, 且在 1:200 和 1:100 稀释倍数条件下促进成纤维细胞的生长。该实验结果提示, 红枣玉竹酵素具有促进皮肤再生的潜力。

3.6. 胞内胶原蛋白合成、降解影响实验

HSF 作为人皮肤真皮层中的主要细胞, 对皮损损伤后的修复起到重要作用, 在对抗紫外线损伤、衰老等皮肤生理过程中起着决定性作用。在一定的时间内, HSF 增殖能力大小可以作为反应皮肤修复能力的一个重要指标[5]。如前所述, 红枣玉竹酵素中含量丰富的多酚类物质, 其抗氧化、抗炎和美容作用已有不少研究[6], 在 HSF 生长过程中自由基产生于消耗之间不平衡造成的氧化应激是造成多种病症的主要原因, 包括突变和衰老等[7]。凭借丰富的多酚类物质, 红枣玉竹酵素表现出较好的促进 HSF 细胞生长的作用, 具有一定的美容功效潜力。

Table 6. Effect on Col-I content of HSF

表 6. HSF 细胞中 Col-I 含量的影响

样品	稀释倍数	1#	2#	3#	AVE
Vc	0.3 mg/mL	3.809	3.696	3.762	3.756 ± 0.055a
空白对照	-	2.260	2.256	2.236	2.251 ± 0.013d
红枣玉竹酵素	1:100	3.247	3.243	3.159	3.216 ± 0.050b
	1:200	3.120	3.184	3.182	3.162 ± 0.036b
红枣玉竹酵素提取液	1:100	2.959	2.742	2.844	2.848 ± 0.109c
	1:200	2.930	2.896	2.918	2.915 ± 0.017c

研究发现, 在 HSF 细胞衰老后, 细胞新陈代谢减弱, 变化之一就是细胞合成 I 型胶原蛋白(Col-1)的能力弱化, 进而表现为皮肤衰老。通过促进相关基因的表达, 提高 HSF 胞内 Col-1 含量提高, 是一种有效的美容手段[8] [9]。从表 6 和表 7 可知, 红枣玉竹酵素对 Col-1 含量和基因转录水平具有一定的提升作用, 反映出红枣玉竹酵素对延缓皮肤衰老和保护是通过促进 I 型胶原蛋白(Col-1)的合成起作用[10] [11]。也应认识到酵素是一种成分复杂的天然产物发酵物质, 尚不能明确界定发挥作用的是哪种或哪几种物质。

Table 7. Effect of Jiaosu samples on Col-I gene transcription level of HSF

表 7. 酵素样品对 HSF 细胞中 Col-I 基因转录水平的影响

样品	稀释倍数	Col-I/GAPDH
对照	-	1
红枣玉竹酵素	1:100	3.532
	1:200	3.686
红枣玉竹酵素提取液	1:100	2.458
	1:200	2.626

3.7. 人永生角质形成细胞(HaCat)划痕愈合能力

表皮是人体皮肤的最外层，在创伤刚发生时，创口边缘的表皮细胞开始增生，表皮细胞增生后形成单层上皮细胞，能对伤口部位其保护作用，并且促进伤口愈合。且单层表皮完全形成后，则表皮细胞增生分化成鳞状上皮。因此，表皮细胞在创面愈合中也起到非常重要的作用[12]。

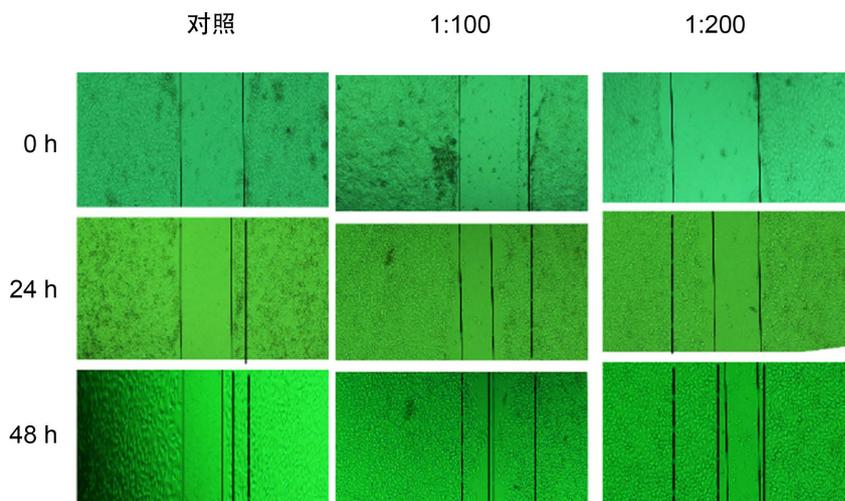


Figure 2. Effect of Jiaosu sample on HaCat scratch healing
图 2. 酵素样品对 HaCat 划痕愈合的影响

利用移液器吸头在已融合的细胞表面造成机械性损伤，破坏细胞连续性，此后在继续培养过程中细胞通过增殖、迁移等生物学活动，创面逐步缩小，直至愈合，模拟体内组织创伤修复过程[13]。如图 2 所示，本实验结果显示在红枣玉竹酵素作用下，HaCat 细胞划痕创伤愈合率受到明显影响，较空白对应组相比提高，1:100 和 1:200 稀释度条件下，48 h 愈合度分别达到 65% 和 66%，无疑表明该酵素在促进人体皮肤愈合方面具有一定的潜力；本实验为挖掘红枣玉竹酵素对皮肤组成细胞修复能力方面的作用提供了有力支撑。

3.8. 肠道蠕动能力动物实验

测量肠管长度为“小肠总长度”，从幽门至墨汁前沿为“墨汁推进长度”，计算墨汁推进率，如图 3 和图 4 所示。

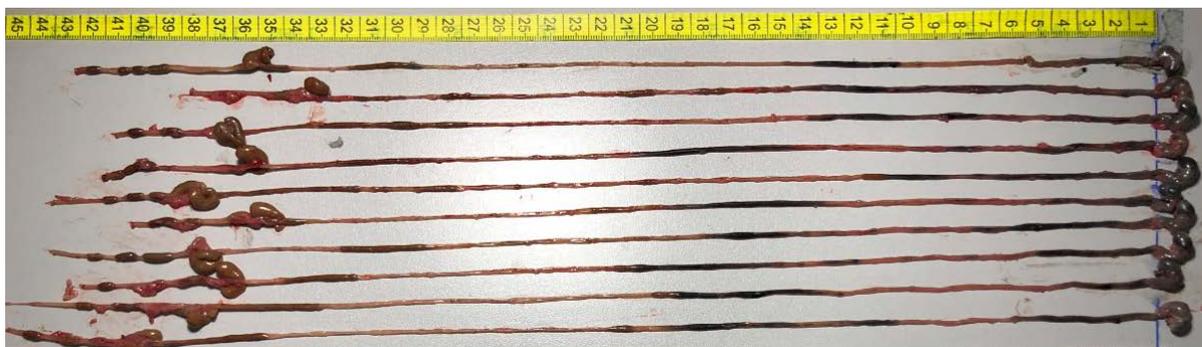


Figure 3. Response of intestinal ink tube length to enzyme administration in mice
图 3. 小鼠肠管墨管长度对酵素灌胃的响应

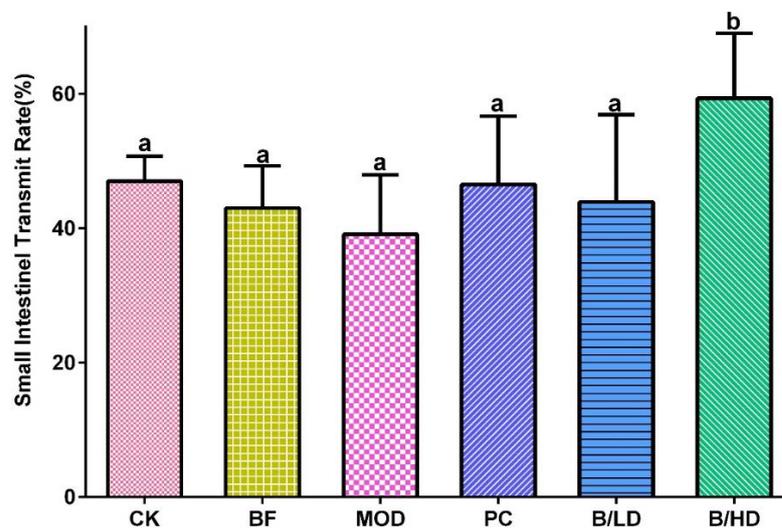


Figure 4. Effects of Jiaosu samples on peristalsis activity of intestinal tract
图 4. 酵素样品对小鼠肠管蠕动活性的影响

以润肠药物马来酸曲美布汀片为对照,以硫酸阿托品制备小鼠便秘模型,以小鼠肠道中的墨汁推进率为指标,研究红枣玉竹酵素的润肠通便能力。结果表明:相比于CK阴性对照组,MOD建模对照组的肠道蠕动速率明显下降,说明建模成功;马来酸曲美布汀片、红枣玉竹酵素低剂量(同等成分日推荐食用量)组的墨汁推进率均比模型空白组提高,且两者之间差异很小,没有统计学差异,表明红枣玉竹酵素和马来酸曲美布汀片一样具有润肠功能,具有很强的通便功能[14]。流行病学调查和病因病机相关性研究都表明便秘是痤疮的重要危险因素[15][16]。通肠润便有利于粪便排出,将有效缓解便秘,有助于减轻或避免痤疮的发生,对美容具有积极意义[15]。

4. 结论

通过从理化指标、细胞实验、动物实验等不同角度研究、表征红枣玉竹酵素对美容养颜相关功效的影响。从实验结果可知,红枣玉竹酵素含有丰富的多酚和氨基酸物质,对HSF细胞增殖有一定的促进作用,胞内胶原蛋白的合成/降解受到正向调控;同时,表皮细胞的划痕愈合速度加快。小鼠灌胃实验显示在红枣玉竹酵素的干预下,其肠道蠕动速度加快,具有通肠润便的效果。微生物对中药的作用机理一方面包括微生物自身的次级代谢产物所表现出的良好功效,另一方面微生物可将中药的化合物定向转化成新的化合物,其次微生物的作用也表现在对中药中某些不良物质的消化和降解,减轻中药的不良反应[17][18]。同样,从实验结果可知,发酵后的中药提取液相比发酵前对美容养颜关联指标,如HSF细胞增殖和胶原蛋白合成/降解调控等方面具有更加优异的提升和促进效果。综合上述结果,推断该酵素具有一定的美容养颜功效。同时,该研究对目前酵素等天然发酵产物的功效评价具有方法学上的参考意义。

参考文献

- [1] 卫生部. 卫生部公布药食同源物品可用于保健食品物品名单[J]. 中医药学刊, 2002(2): 76.
- [2] 国家卫生计生委. 国家卫生计生委公布 101 种药食同源品种征求意见[J]. 山东中医杂志, 2015, 34(1): 76.
- [3] 李红, 等. 发酵温度对苹果酵素抗氧化性和安全性的影响[J]. 食品与药品, 2020, 22(5): 337-341.
- [4] 李红. 苹果酵素的发酵工艺研究[D]: [硕士学位论文]. 成都: 西南交通大学, 2019.
- [5] 刘金娟, 等. 紫外线对人皮肤成纤维细胞老化损伤的影响[J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(9): 1053-1058.

- [6] Liang, C.P., Chang, C.H., Liang, C.C., Hung, K.Y. and Hsieh, C.W. (2014) *In Vitro* Antioxidant Activities, Free Radical Scavenging Capacity, and Tyrosinase Inhibitory of Flavonoid Compounds and Ferulic Acid from *Spiranthes Sinensis* (Pers.) Ames. *Molecules*, **19**, 4681-4694. <https://doi.org/10.3390/molecules19044681>
- [7] 孙菡峥. 龙眼核多酚的分离纯化及抗氧化性能的研究[D]: [硕士学位论文]. 无锡: 江南大学, 2019.
- [8] 史楠楠. 抗皮肤衰老短肽 PSN 的分子设计及作用机制[D]: [硕士学位论文]. 大连: 大连理工大学, 2019.
- [9] Lee, S.H., Bae, I.-H., Lee, E.-S., Kim, H.-J., Lee, J.S. and Lee, C.S. (2020) Glucose Exerts an Anti-Melanogenic Effect by Indirect Inactivation of Tyrosinase in Melanocytes and a Human Skin Equivalent. *International Journal of Molecular Sciences*, **21**, 1736. <https://doi.org/10.3390/ijms21051736>
- [10] 秦登科, 等. 雷帕霉素调控光老化成纤维细胞 MMPs 和 COL-1 表达[J]. 中国美容整形外科杂志, 2017, 28(12): 723-725+732.
- [11] Chai, W.-M., Lin, M.-Z., Wang, Y.-X., Xu, K.-L., Huang, W.-Y., Pan, D.-D., Zou, Z.-R. and Peng, Y.-Y. (2017) Inhibition of Tyrosinase by Cherimoya Pericarp Proanthocyanidins: Structural Characterization, Inhibitory Activity and Mechanism. *Food Research International*, **100**, 731-739. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.082>
- [12] 汪文琪. 断体再生期地龙提取液促进创伤愈合活性成分筛选及作用机制初步研究[D]: [硕士学位论文]. 北京: 北京中医药大学, 2016.
- [13] 蒋艳. 富组蛋白 1 促进人表皮细胞, 人成纤维细胞增殖和迁移在创伤愈合中的作用及机制研究[D]: [硕士学位论文]. 重庆: 第三军医大学, 2012.
- [14] 蒋静. 便秘与痤疮的相关性研究及自拟理气通便方干预气滞型便秘合并痤疮的研究[D]: [硕士学位论文]. 北京: 北京中医药大学, 2019.
- [15] 吕恒刚, 宋云平, 郭莘. 便秘的危害及预防[J]. 解放军预防医学杂志, 2019, 37(8): 198.
- [16] 赵英武. 排便不畅, 危害多多[J]. 中医健康养生, 2019, 5(8): 48-49.
- [17] 李艳凤, 等. 发酵法在中药研究中的应用[J]. 医学综述, 2020, 26(4): 753-757.
- [18] 李豆. 新型水果酵素的研制及生物活性研究[D]: [博士学位论文]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2018.