



中药美白成分的复配及复方中药发酵液的功效

李瑜¹, 顾秋亚¹, 刘咏梅², 余晓斌^{1*}

¹江南大学生物工程学院, 工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122

²泰州职业技术学院药学院, 江苏 泰州 225300

摘要:【目的】通过中药美白成分的复配, 进而研究复方中药发酵液活性成分及功效性。【方法】以酪氨酸酶抑制率为指标研究最佳复配含量, 采用分光光度法测定复方中药发酵液中总酚、多糖、黄酮、蛋白质含量, 通过 HPLC 技术进行氨基酸分析, 抗氧化能力通过总还原力和自由基清除试验进行评价, 通过酪氨酸酶活性抑制实验进行美白功效分析。【结果】正交实验得出 4 种中药美白成分中覆盆子对酪氨酸酶抑制效果最好; 复方中药发酵液中多酚、多糖、黄酮和蛋白质含量分别为 147.80、4.36、1.17、2.22 g/kg; 复方中药发酵液具有较高的总还原力、羟自由基清除能力和 DPPH 自由基清除能力; 5% (W/V) 复方中药发酵液的酪氨酸酶活性抑制率为 82.41%。【结论】复方中药发酵液中含有多种活性成分, 具有一定的抗氧化和美白功效。

关键词: 中药, 复配, 发酵, 活性成分, 抗氧化, 美白

由于近年来中药化妆品的蓬勃发展, 越来越多具有美白功效的中草药被人们所发现, 并将其应用在化妆品中。中药来源的天然美白剂可结合多成分、多靶点与多功效的优势, 通过促进血液循环改善肤色、减少黑色素含量进而起到增白作用, 通过抗氧化作用保护肤色及抑制黑色素的增殖等途径达到美白的效果^[1]。酪氨酸酶是一种含铜的多酚氧化酶, 是生物体黑色素合成过程中的限速酶, 它的表达及活性决定了黑色素生成的多少和速度^[2]。我国具有丰富的医药宝库, 有着丰富的资源,

大力开发研究美白作用的中药具有广阔的前景。

微生物具有强大的转化能力, 其发酵中药能充分释放中药中的有效成分, 提高有效成分含量, 降低中药毒性, 将有效成分分离、提取, 使其更具生物活性^[3-4]。目前中药发酵的研究已从单味中药发展到复方中药, 且发酵复方中药可以较大程度地改变中药中的有效成分, 提高活性成分的含量^[5]。

目前, 已有微生物发酵单味中药制备化妆品原浆的报道^[6]。中药美白复方具有抑制酪氨酸酶活性、减少黑色素生成、促进皮肤新陈代谢等作用,

*通信作者。Tel: +86-510-85918167; E-mail: xbyu@jiangnan.edu.cn

收稿日期: 2017-11-13; 修回日期: 2017-12-27; 网络出版日期: 2018-01-24

具有综合的美白养颜效果^[7]。关于微生物发酵复方中药制备化妆品原浆的报道很少。本文选取美白化妆品中常用的部分中草药原料进行中药的复配研究,利用益生菌对复方中药进行全植物发酵,制备复方中药发酵液,测定发酵液中活性成分及含量、抗氧化能力及酪氨酸酶抑制率,为复方中药发酵制备生物美白化妆品提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌株及培养基:菌株:酵母菌株,扣囊复膜酵母(*Saccharomyces fibuligera*);乳酸菌菌株,粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*),菌种均由江南大学酶工程与技术实验室保藏。培养基:YPD 培养基、MRS 培养基。

1.1.2 中药及试剂:中药:红景天(*Rhodiola rosea*)、覆盆子(*Rubifructus*)、绿茶叶(*Green tea*)、丁香(*Eugenia caryophyllata*),均购于无锡市民大药房。芦丁标准品(生物试剂),大连生物美仑技术有限公司;酪氨酸酶(570 U/mg),1,1-二苯基-2-苦基苯肼(DPPH),均购于阿拉丁化学试剂有限公司;纤维素酶-果胶酶(10000 U/g),南京东恒华道生物科技有限责任公司。

1.2 具美白作用中药的复配

1.2.1 中药提取物的制备:精确称取各中药 5 g 分别与 100 mL 水混合,混匀后,调 pH 3.5–4.5,加 200 μ L 纤维素酶-果胶酶后 50 °C 水浴中酶解 3 h,沸水浴煮沸 5 min 将酶灭活,然后于 4 °C、10000 r/min 离心 10 min,取上清液,用水定容至 100 mL,即为 50 g/L 质量浓度的中药水提液,4 °C 保存备用。

1.2.2 酪氨酸酶抑制率测定:参考文献[8]报道的方法,稍有改动。反应体系见表 1,按表中顺序先

后准确移取 PBS、样品溶液、L-酪氨酸溶液到 C_1 、 C_2 、 C_3 、 C_4 四组反应样液中后,于 37 °C 水浴中预热 10 min,将酪氨酸酶溶液加入体系中,然后将反应体系置于 37 °C 水浴中保温 20 min,于波长 475 nm 下以 C_2 调零,测定 C_1 管吸光度值,记作 OD_{C1} ;同样方法,以 T_2 调零,测定 T_1 管吸光度值,记作 OD_{T1} 。酪氨酸酶抑制率= $[1-(OD_{C1}-OD_{T1})\div OD_{C1}]\times 100\%$ 。

1.2.3 正交设计优化中药复方:4 种中药美白成分按正交表 $L_9(3^4)$ 配成复方中药,分别加水 100 mL 混合,混匀,各加 200 μ L 纤维素酶-果胶酶后 50 °C 中酶解 3 h,沸水浴煮沸 5 min 将酶灭活,然后于 4 °C、10000 r/min 离心 10 min,取上清液,用水定容至 100 mL,即为复配组合水提液,测定各试验酪氨酸酶抑制率。通过 SPSS 统计软件处理试验结果,进行影响因子的显著性及方差分析。正交设计因素水平见表 2。

1.3 复方中药发酵液的制备及功效性研究

1.3.1 菌体的培养:酵母菌株采用 YPD 培养基,按 10% (V/V) 接种量接于 YPD 液体培养基,在 30 °C、180 r/min 条件下培养 20 h,连续活化 2 次;乳酸菌菌株采用 MRS 培养基,按 5% (V/V) 接种量接于 MRS 液体培养基,在 37 °C 恒温培养箱中静置培养 20 h,连续活化 2 次。

表 1. 试剂用量表

Table 1. Table of reagent dosage (mL)

Reagent	C_1	C_2	T_1	T_2
0.05 mol/L (pH 6.80) sodium phosphate buffer	1.00	2.00	0.95	1.95
Chinese herb extract	0	0	0.05	0.05
1.0 mg/mL L-Tyrosine	2.00	2.00	2.00	2.00
57 U/mL mushroom tyrosinase solution	1.00	0	1.00	0

表 2. 正交试验因素水平表
Table 2. Factors and level of orthogonal test

Level	<i>Rhodiola rosea</i> (A)/%	<i>Rubifructus</i> (B)/%	Green tea (C)/%	<i>Eugenia caryophyllata</i> (D)/%
1	0.125	0.025	0.250	0.250
2	0.250	0.050	0.500	0.500
3	0.500	0.100	1.000	1.000

1.3.2 复方中药发酵液的制备:将 1×10^9 CFU/mL 的酵母菌和乳酸菌种子液各 5.0 mL 接种到复方中药和 100 mL 的水中, 得到复方中药发酵体系; 将 1×10^9 CFU/mL 的酵母菌和乳酸菌种子液各 5.0 mL 接种到 100 mL 的生理盐水中, 得到空白发酵体系; 将复方中药发酵体系和空白发酵体系在 30 °C、120 r/min 摇床中发酵培养 48 h 后, 在 4 °C、10000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 得到复方中药发酵液和空白发酵液。

1.3.3 总还原力测定:参照 Agrawal 等的方法^[9], 略有改动。吸取 0.5 mL 待测样液, 向其中加入 0.5 mL 1% 铁氰化钾溶液及 0.5 mL PBS, 混匀后置于 50 °C 水浴恒温反应 20 min, 取出后放入冰浴中快速冷却, 再加入 0.5 mL 10% 三氯乙酸溶液, 混匀后离心收集上清液。取上清液 1.0 mL, 加入 1.0 mL 水, 再加入 1.0 mL 0.1% 三氯化铁溶液, 混匀, 室温静置 10 min 后在 700 nm 处测定其吸光值, 吸光值越大表示待测样品的总还原能力越强。

1.3.4 羟自由基(\cdot OH)清除能力测定:参考 Smirnoff 等^[10]的方法, 稍加改进。反应体系共 4 mL 包括: 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, 反应体系在 37 °C 水浴中保温 60 min, 于 510 nm 处检测吸光度, 并计算 \cdot OH 清除率。 \cdot OH 清除率 = $[1 - (A_s - A_b) \div A_c] \times 100\%$ 。式中: A_s —溶剂空白管吸光值; A_b —样品

管吸光值; A_c —样品空白管吸光值。

1.3.5 DPPH 自由基(DPPH \cdot)清除能力测定:参照 Wang 等^[11]的方法并加以改进。吸取 1.0 mL 乙醇溶液, 加 0.5 mL DPPH \cdot 乙醇溶液 (0.1 mmol/L), 加 1.0 mL 样品溶液, 混匀, 在室温下避光放置 60 min, 然后测定 517 nm 处的吸光度, 并计算 DPPH \cdot 清除率。DPPH \cdot 清除率 = $[(A_0 - A) \div A_0] \times 100\%$ 。式中: A_0 —溶剂空白管吸光值; A —样品管吸光值。

1.3.6 成分分析:复方中药发酵液和水提液中总酚含量测定参照 Tian 等^[12]的方法; 参照 GB/T 5009.8-2008 进行多糖含量检测; 参照 GB/T 5009.124-2003 进行总黄酮(以芦丁计)含量检测; 参照 GB/T 5009.5-2010 进行蛋白质含量检测; 游离氨基酸含量的测定参照 GB/T 5009.124-2003。

1.4 统计学分析

实验数据采用 Excel 2013 进行统计分析, 采用 SPSS 20.0 进行差异显著性分析, 实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。 $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异极显著。

2 结果和讨论

2.1 不同质量浓度美白中药对酪氨酸酶的抑制能力

不同质量浓度红景天、覆盆子、绿茶叶和丁香提取液的酪氨酸酶抑制率测定结果见表 3, 在相同质量浓度下, 覆盆子提取物对酪氨酸酶的抑制作用

表 3. 不同质量浓度美白中药对酪氨酸酶的影响

Table 3. Effect of different mass concentration whitening Chinese herbs extract on tyrosinase activity

Concentration/%	Tyrosinase inhibition rate/%			
	<i>Rhodiola rosea</i>	<i>Rubifructus</i>	Green tea	<i>Eugenia caryophyllata</i>
0.025	-	40.40±0.98	-	-
0.050	-	51.77±1.45	-	-
0.100	-	60.15±1.23	-	-
0.125	1.23±0.25	73.39±2.01	-	-
0.250	5.44±1.65	82.40±2.98	0.43±0.06	3.41±1.45
0.500	28.28±1.29	87.42±2.05	3.31±1.13	7.95±1.65
1.000	57.62±2.76	90.05±2.21	33.77±2.35	29.14±2.29

最为突出,当覆盆子提取物质量浓度为 0.025%时,其酪氨酸酶抑制率达到 40.40%,且在一定浓度范围内,这 4 种中药提取物对酪氨酸酶的抑制作用均表现出良好的量效关系。

2.2 中药美白成分复配结果

中药美白成分正交试验结果及方差分析见表 4、表 5。由表 4 可知极差值 $R_B > R_A > R_D > R_C$, 即各美白中药对酪氨酸酶抑制影响的大小顺序为覆盆子>红景天>丁香>绿茶叶;正交试验得到的最佳复配组合为 $A_3B_3C_1D_3$, 即红景天 0.50%, 覆盆子 0.10%, 绿茶叶 0.25%, 丁香 1.00%。由方差分析可知,红景天和覆盆子对酪氨酸酶活性的影响差异显著($P < 0.05$),其中覆盆子对酪氨酸酶活性的影响最大。组合 $A_3B_3C_1D_3$ 在表 4 中 9 组试验中并未出现,为了验证正交试验结果的准确性,对该组合和表 4 中酪氨酸酶抑制率最高的组合 6 ($A_2B_3C_1D_2$) 进行验证试验,结果见表 6,复配组合 $A_3B_3C_1D_3$ 和 $A_2B_3C_1D_2$ 的实际酪氨酸酶抑制率分别为 74.53%、68.59%,均比单独使用时的抑制效果要好,但低于理论的酪氨酸酶抑制率,这是由于不同美白中药成分之间在复配时受协同效应和拮抗效应^[11,13]的影响。因此,确定组合 $A_3B_3C_1D_3$ 为最佳复配组合。

表 4. 正交试验结果

Table 4. Results of orthogonal

Group	Factors				Tyrosinase inhibition rate/%
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	21.36±1.25
2	1	2	2	2	35.92±0.89
3	1	3	3	3	51.94±2.18
4	2	1	2	3	46.60±1.44
5	2	2	3	1	29.13±1.10
6	2	3	1	2	70.87±1.45
7	3	1	3	2	38.35±1.08
8	3	2	1	3	67.48±2.64
9	3	3	2	1	66.02±2.47
k1	36.67	35.44	53.24	38.83	
k2	53.24	44.17	49.51	48.38	
k3	57.95	62.94	39.81	55.34	
R	21.27	27.51	13.43	16.50	

表 5. 方差分析表

Table 5. Variance analysis

Factor	SS	df	MS	F	Sig.(P)
A	749.32	2	374.66	23.37	*
B	1185.37	2	592.68	36.97	*
C	288.49	2	144.24	8.99	
D	411.97	2	205.98	12.84	
Error	288.49				

Injection: * has significant differences ($P < 0.05$).

表 6. 验证试验

Table 6. Validation test

Group	Actual tyrosinase inhibition rate/%	Theoretical tyrosinase inhibition rate/%
$A_2B_3C_1D_2$	68.59	73.97
$A_3B_3C_1D_3$	74.53	118.00

2.3 复方中药发酵液和水提液中主要活性成分含量的变化

利用益生菌发酵中草药已成为近年来研究的新领域, 目前已有乳酸菌、芽孢菌、酵母菌发酵中草药的报道^[14-15]。在化妆品中, 多糖可起到抗皱保湿的效果; 黄酮类物质可清除多余的自由基, 发挥抗氧化活性; 蛋白质是组成人体细胞、组织的重要成分, 可保持皮肤弹性润泽。植物多酚具有多种药理和生理活性, 且多酚的美白作用是一种综合效应, 与其抗氧化消除自由基、吸收紫外光及酪氨酸酶抑制能力有关^[16]。复方中药水提液及发酵液的主要活性成分含量分析见表 7, 测定结果表明, 空白发酵液中活性成分含量较低, 故未在表 7 中列出, 发酵液及水提液中游离氨基酸含量的对比见图 1。

复方中药发酵液富含多酚、多糖、黄酮和蛋白质, 且复方中药发酵液和水提液中多糖、黄酮、蛋白质含量差异显著($P<0.01$)。发酵液中氨基酸含量明显升高, 其中天冬氨酸、谷氨酸、精氨酸和丙氨酸含量最高, 分别为 0.055、0.078、0.071、0.048 g/kg。

2.4 复方中药发酵液的抗氧化能力

2.4.1 总还原力研究: 以维生素 C (Vc) 作为阳性对照, 对复方中药水提液及发酵液的总还原力进行研究(图 2)。在 10.5–73.5 mg/L 浓度范围内, Vc 溶液的总还原力呈现出良好的量效关系。复方中药发酵液总还原力明显高于水提液的总还原力, 且差异显著($P<0.01$), 空白发酵体系的总还原力较低。在 10.5–52.5 mg/L 浓度范围内, 相同质量浓度复方中药发酵液的总还原力大于 Vc 溶液的总还原力, 说明复方中药发酵液具有较强的抗氧化能力。

2.4.2 羟自由基清除作用: 以 Vc 作为阳性对照, 通过·OH 清除试验, 对复方中药水提液及发酵液的抗氧化能力进行检测(图 3)。相同质量浓度复方中药发酵液与水提液的·OH 清除率差异极显著($P<0.01$), 空白发酵液的·OH 清除能力较差, 它们均明显低于 Vc 溶液, 且在一定浓度范围内呈现出良好的量效关系, 当浓度为 1.05 mg/mL 时, 复方中药发酵液的·OH 清除率为 54.33%, 之后随浓度的增加变化很小, 相同质量浓度发酵液的·OH 清除率要明显高于水提液, 说明复方中药发酵液具有较强的抗氧化能力。

2.4.3 清除 DPPH 自由基能力: 复方中药水提液及发酵液的 DPPH·清除率如图 4 所示。由图可知, 复方中药发酵液能有效清除 DPPH 自由基, DPPH·清除率越高, 抗氧化能力越强。在 0.42–1.47 mg/mL 浓度范围内, 复方中药发酵液的 DPPH·清除率高

表 7. 发酵液和水提液中成分

Table 7. Composition of fermentation broth and water extractive

Liquid	Content/(g/kg)			
	Total polyphenols	Total polysaccharides	Total flavonoids	Total protein
Water extractive	162.37±1.25	0.97±0.24	0.35±0.09	0.75±0.04
Fermentation broth	147.80±1.32	4.36±0.17	1.17±0.11	2.22±0.10

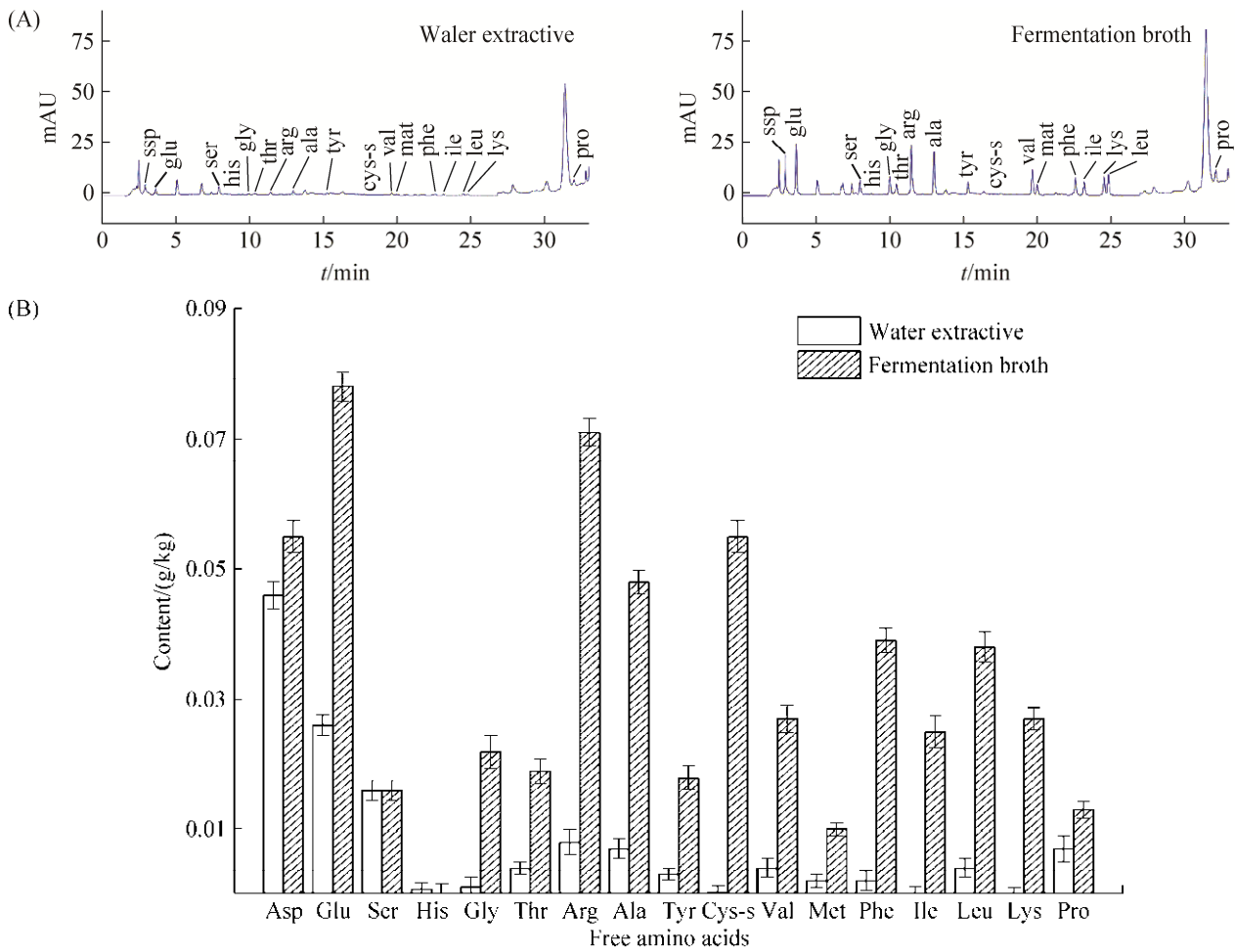


图 1. 水提液和发酵液中游离氨基酸色谱图(A)及含量对比(B)

Figure 1. Free amino acids chromatogram (A) and content comparison (B) in water extractive and fermentation broth.

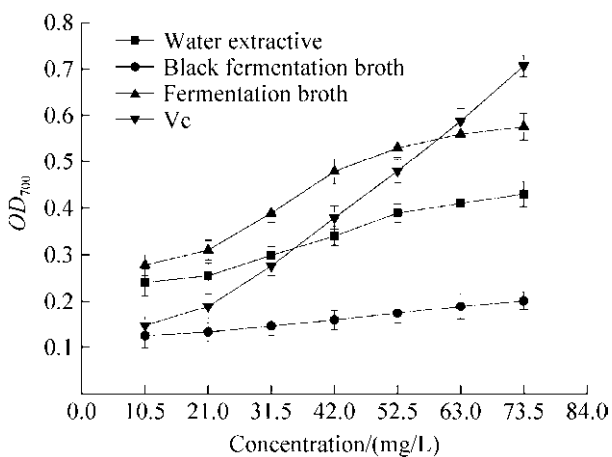


图 2. 复方中药发酵液的总还原力

Figure 2. The total reducing power of compound Chinese herbs fermentation broth.

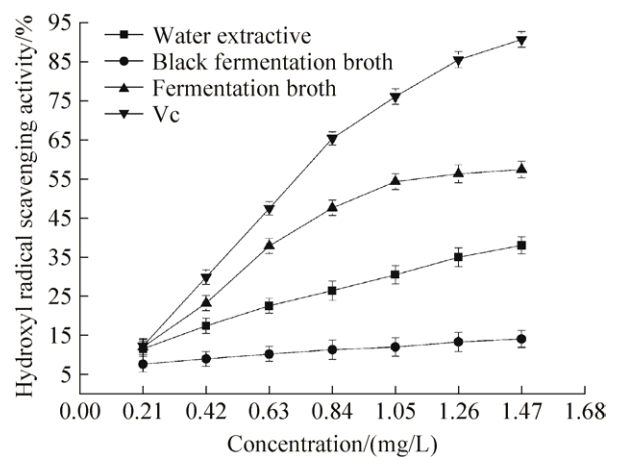


图 3. 复方中药发酵液的·OH 清除率

Figure 3. The hydroxyl radical scavenging activity of compound Chinese herbs fermentation broth.

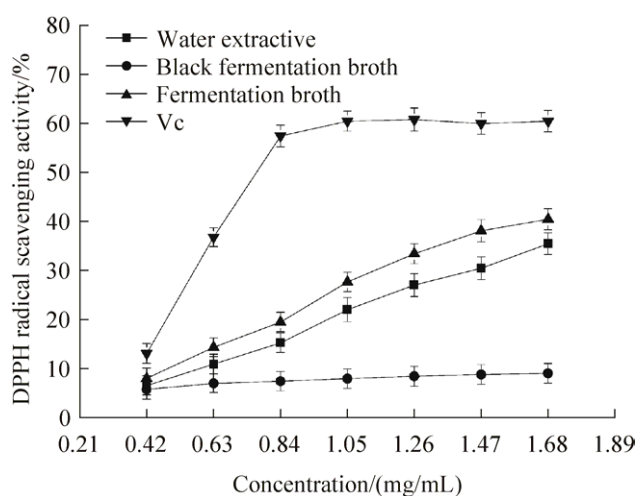


图 4. 复方中药发酵液对 DPPH· 的清除能力

Figure 4. DPPH radical scavenging activity of compound Chinese herbs fermentation broth.

于水提液,且差异显著($P < 0.05$),均呈现出良好的量效关系,空白发酵液的 DPPH·清除能力较差,当浓度为 0.42 mg/mL 时,发酵液的 DPPH·清除率为 7.98%,而当浓度为 1.47 mg/mL 时,清除率达到 40.45%,说明复方中药发酵液具有较强的抗氧化能力。

2.5 复方中药发酵液酪氨酸酶活性抑制试验

对复方中药发酵液的美白能力通过酪氨酸酶抑制能力进行评估。以 1% Vc 溶液做阳性对照,5% 复方中药水提液及发酵液的酪氨酸酶抑制率测定结果如图 5 所示。5% 复方中药发酵液的酪氨酸酶抑制率为 82.41%,显著高于其水提液,且两者差异显著($P < 0.05$),5% 空白发酵液的酪氨酸酶抑制率较差,为 34.20%,5% 复方中药发酵液与 1% Vc 溶液酪氨酸酶抑制率(86.77%)相近,表明复方中药发酵液有较好的酪氨酸酶抑制作用。

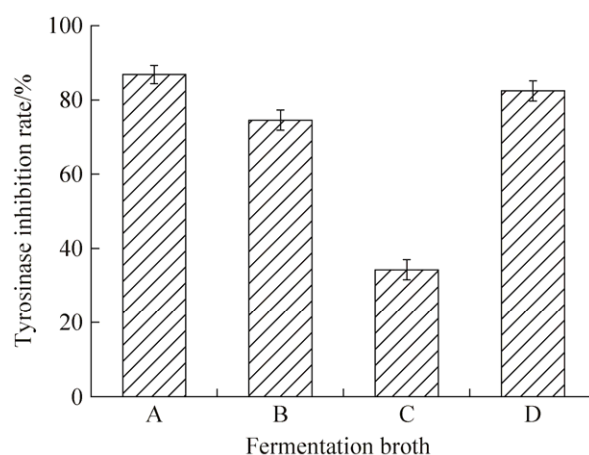


图 5. 复方中药发酵液对酪氨酸酶的抑制作用

Figure 5. Effect of compound Chinese herbs fermentation broth on tyrosinase activity. A: 1% Vc; B: 5% Water extractive; C: 5% Black fermentation broth; D: 5% Fermentation broth.

3 结论

通过中药美白成分的复配研究,确定了最佳复配含量,为红景天 0.50%、覆盆子 0.10%、绿茶叶 0.25%、丁香 1.00%,该复配含量下酪氨酸酶抑制率为 74.53%。用酵母菌和乳酸菌对复方中药进行全植物发酵,得到的发酵液中多糖、黄酮和蛋白质含量均有提高,其中多糖含量明显提高,为 4.36 g/kg,它们的增加对复方中药发酵液抗氧化活性的提高有促进作用,总酚含量最高(147.80 g/kg),且发酵液中富含多种氨基酸。在一定浓度范围内,复方中药发酵液具有良好的体外抗氧化能力和美白功效,为复方中药在抗衰老及美白化妆品中的应用提供参考,也为微生物发酵复方中药制备化妆品原浆提供了参考和依据。

参考文献

- [1] Wang YF, Lai JZ, Long XY, Chen WR, Lin WT. Progress of traditional Chinese medicine in skin-whitening mechanism.

- Journal of Guangdong Pharmaceutical University*, 2014, 30(4): 525–529. (in Chinese)
- 王一帆, 赖家珍, 龙晓英, 陈文荣, 林婉婷. 中药美白机制及功效评价进展. *广东药学院学报*, 2014, 30(4): 525–529.
- [2] Wang XL, Yao WJ, Yuan L. Effect of the polysaccharides and other active extracts from cynanchum auriculatum on the activity of tyrosinase. *Journal of Food Science & Biotechnology*, 2013, 32(10): 1097–1100. (in Chinese)
- 王晓岚, 姚文杰, 苑亮. 白首乌中多糖等活性成分对酪氨酸酶活力的影响. *食品与生物技术学报*, 32(10): 1097–1100.
- [3] Yuan Y, Luan XN, Rana X, Hassan ME, Dou DQ. Covalent immobilization of cellulase in application of biotransformation of ginsenoside Rb₁. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 2016, 133(S1): S525–S532.
- [4] Wu TX, Wang N, Zhang Y, Xu XB. Advances in the study on microbial fermentation and transformation of traditional Chinese medicine. *African Journal of Microbiology Research*, 2013, 7(17): 1644–1650.
- [5] Shi TR, Liu Y, Wang S, Wang Y, Zhu DD, Li D. Research progress of Chinese fermentation technology. *Chinese Journal of Traditional Veterinary Science*, 2014, (1): 51–54. (in Chinese)
- 史同瑞, 刘宇, 王爽, 王岩, 朱丹丹, 李丹. 现代中药发酵技术及其优势. *中兽医学杂志*, 2014, (1): 51–54.
- [6] Su N, Liu HM, Liu J, Zhou HY, Yang L, Wang CT. Preparation, efficacy and safety research of fermented rhodiola liquid cosmetic. *Flavour Fragrance Cosmetics*, 2017, (2): 44–48. (in Chinese)
- 苏宁, 刘红梅, 刘娟, 周荷益, 杨丽, 王昌涛. 红景天发酵原浆化妆品的制备及其功效性和安全性研究. *香料香精化妆品*, 2017, (2): 44–48.
- [7] Deng GJ, Liu YT, Ling PX. Study of whitening efficacy on cortex moutan compound extract. *Journal of Pharmaceutical Research*, 2016, 35(5): 260–263. (in Chinese)
- 邓观杰, 刘有停, 凌沛学. 丹皮复方提取液美白功效研究. *药学研究*, 2016, 35(5): 260–263.
- [8] Khazaeli P, Goldoozian R, Sharififar F. An evaluation of extracts of five traditional medicinal plants from Iran on the inhibition of mushroom tyrosinase activity and scavenging of free radicals. *International Journal of Cosmetic Science*, 2009, 31(5): 375–381.
- [9] Agrawal H, Joshi R, Gupta M. Isolation, purification and characterization of antioxidative peptide of pearl millet (*Pennisetum glaucum*) protein hydrolysate. *Food Chemistry*, 2016, 204: 365–372.
- [10] Smitnoff N, Cumbes QJ. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry*, 1989, 28(4): 1057–1060.
- [11] Wang RX, Zhao Z, Zhong Y, Li XD, Wang ZY. Synergistic effect of several kinds of whitening agent on inhibition of tyrosinase activity. *China Surfactant Detergent & Cosmetics*, 2014, 44(10): 572–576. (in Chinese)
- 王瑞雪, 赵珍, 钟雁, 李小迪, 王志勇. 几种常用美白剂协同作用研究. *日用化学工业*, 2014, 44(10): 572–576.
- [12] Tian F, Li B, Ji BP, Yang JH, Zhang GZ, Chen Y, Luo YC. Antioxidant and antimicrobial activities of consecutive extracts from *Galla chinensis*: The polarity affects the bioactivities. *Food Chemistry*, 2009, 113(1): 173–179.
- [13] Zhang LX, Cui CC. Study on the recombination of Chinese herb for antifungal activity against fusarium oxysporum. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2012, 40(31): 15231–15233. (in Chinese)
- 张玲秀, 崔成成. 抑制黄瓜黑斑病的中药复配方法研究. *安徽农业科学*, 2012, 40(31): 15231–15233.
- [14] Zou Y, Hu WZ, Liu CH, Chen C, Gu ZX. Production of tyrosinase by *Auricularia auricula* using low cost fermentation medium. *Annals of Microbiology*, 2013, 63(2): 699–705.
- [15] Wang GH, Chen CY, Lin CP, Huang CL, Lin CH, Cheng CY, Chung YC. Tyrosinase inhibitory and antioxidant activities of three *Bifidobacterium bifidum*-fermented herb extracts. *Industrial Crops & Products*, 2016, 89: 376–382.
- [16] Zheng GM, Xu LX, Wu P, Xie HH, Jiang YM, Chen F, Wei XY. Polyphenols from longan seeds and their radical-scavenging activity. *Food Chemistry*, 2009, 116(2): 433–436.

Complex of whitening ingredients from different chinese herbs and effectiveness of compound Chinese herbs fermentation broth

Yu Li¹, Qiuya Gu¹, Yongmei Liu², Xiaobin Yu^{1*}

¹ Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu Province, China

² School of Pharmacy, Taizhou Polytechnic College, Taizhou 225300, Jiangsu Province, China

Abstract: [Objective] Through complex of whitening ingredients from different Chinese herbs, we studied the active ingredients and effectiveness of compound Chinese herbs fermentation broth. [Methods] The tyrosinase inhibition rate was used as the index, the best compound composition was obtained. The contents of total polyphenols, polysaccharides, flavonoids, and protein in the fermentation broth were measured by UV spectrophotometry, and amino acids compositions were analyzed by HPLC. We evaluated their antioxidant activity in fermentation broth by total reducing power and radical scavenging tests. The whitening efficacy was evaluated by tyrosinase inhibition test. [Results] *Rubifructus* had the best inhibition of tyrosinase activity by orthogonal designed experiment. The fermentation broth of compound Chinese herbs contained 147.8 g/kg of total polyphenols, 4.360 g/kg of polysaccharides, 1.170 g/kg of flavonoids and 1.220 g/kg of total protein. The fermentation broth of compound Chinese herbs had strong total reducing power, hydroxyl radical scavenging ability and 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity. Tyrosinase inhibition rate of 5% (W/V) compound Chinese herbs fermentation broth reached 82.41%. [Conclusion] The fermentation broth of compound Chinese herbs contained multiple active ingredients, with antioxidant activity and whitening efficacy.

Keywords: Chinese herb, complex, fermentation, active ingredients, anti-oxidation, whitening

(本文责编: 李磊)

*Corresponding author. Tel: +86-510-85918167; E-mail: xbyu@jiangnan.edu.cn

Received: 13 November 2017; Revised: 27 December 2017; Published online: 24 January 2018