

酶辅助法优化金缕梅多酚提取工艺及其美白功效评价的研究

樊远红, 杨思敏, 李慧婷, 秦小桐, 吴发亮, 彭效明, 居瑞军*
(北京石油化工学院新材料与化工学院, 北京 102617)

摘要:为了优化金缕梅多酚提取工艺及美白功效,采用酶辅助法和响应面法优化金缕梅多酚提取工艺,并检测金缕梅多酚对酪氨酸酶活性及黑色素合成的影响。结果表明,金缕梅多酚提取最优工艺为:纤维素质量分数为2.5%、酶解温度为38℃、酶解时间为85 min、料液比为1:21、乙醇体积分数为40%,该条件下金缕梅多酚提取率达到62.16 mg/g。金缕梅多酚具有良好的抑制酪氨酸酶活性及黑色素生成的功效,具备潜在的美白功效。

关键词:金缕梅;多酚;酶辅助提取;响应面分析;美白

中图分类号:R282.4

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2024)02-0137-06

DOI:10.16606/j.cnki.issn0253-4320.2024.02.026

Enzyme assisted optimization of witch hazel polyphenols extraction process and evaluation of its whitening effect

FAN Yuan-hong, YANG Si-min, LI Hui-ting, QIN Xiao-tong, WU Fa-liang,
PENG Xiao-ming, JU Rui-jun*

(College of New Materials and Chemical Engineering, Beijing Institute of Petrochemical Technology,
Beijing 102617, China)

Abstract:The enzyme-assisted method and response surface method are employed to optimize the witch hazel polyphenols extraction process and the whitening effect of polyphenols. The effect of witch hazel polyphenols on the activity of tyrosinase and the synthesis of melanin are detected. It is found that the optimum extraction conditions are as follows: cellulose concentration is 2.5%, enzymolysis temperature is 38℃, enzymolysis time is 85 min, solid-liquid ratio is 1:21, and ethanol concentration is 40%. Under these conditions, the extraction rate of polyphenols reaches 62.16 mg·g⁻¹. Witch hazel polyphenols exhibit good abilities in inhibiting the activity of tyrosinase and blocking melanin synthesis, presenting potential whitening effect.

Key words:witch hazel; polyphenols; enzyme-assisted extraction; response surface methodology; whitening

金缕梅 (*Hamamelis mollis* Oliver) 又称牛踏果、木里香,是金缕梅科、金缕梅属落叶小乔木或灌木。花瓣多为金黄色,呈放射状盛开,具有观赏价值。野生金缕梅多生长于山坡、溪谷,花期能够从冬季过渡到春季,耐寒力强,对土壤要求不高,能够在中性、酸性土壤中生长。金缕梅分布于我国四川、湖北、安徽、浙江、江西、湖南、广西等地,最早记载于《新华本草纲要》,主治劳伤乏力、性味甘平,有益气补中的功效。研究表明,金缕梅内含山柰酚、槲皮素、紫云英甙等成分,具有抗氧化^[1-2]、抗炎^[3-5]、美白^[6-7]、抑菌^[8]等多种功效。迄今为止,金缕梅多酚的提取工艺主要集中在浸提法、回流提取法和超声辅助提取法^[6-7,9]。由于酚羟基的存在,致使多酚物质化学稳

定性差且生物利用度低,导致在行业发展受到极大限制。因此寻找合适的提取方法来提高多酚的生产率有着重要意义。

笔者采用酶辅助法提高金缕梅多酚提取率,考察纤维素浓度、酶解温度、酶解时间、料液比、乙醇体积分数等单因素对提取率的影响,通过响应面综合优化提取工艺,并对所制备的提取物进行体外美白功效的初步研究。

1 仪器与材料

1.1 仪器

QUINTIX35-1CN 电子天平,德国赛多利斯公司生产;数控超声波清洗器,昆山禾创超声仪器有限公司

收稿日期:2023-04-10;修回日期:2023-12-15

基金项目:北京市教委科技计划一般项目(KM202210017011, KM201810017002);国家自然科学基金项目(81703453);北京石油化工学院校内学科平台建设项目(2019XK006);北京石油化工学院交叉科研探索项目资助(BIPTCSF-019&021)

作者简介:樊远红(1997-),女,硕士生,研究方向为天然产物研究与开发,2734855487@qq.com;居瑞军(1986-),男,博士,副教授,研究方向为天然产物研究与开发,通讯联系人,juruijun@bipt.edu.cn。

司生产;SL-100 高速多功能粉碎机,永康市松青五金厂生产;旋转蒸发仪,郑州长城科工贸有限公司生产;水浴锅,天津市泰斯特仪器有限公司生产;细胞计数仪,美国 BIO-RAD 公司生产;MX-S 可调式混匀仪,大龙兴创实验仪器(北京)股份公司生产;INFINITE-F50 酶标仪,瑞士 TECAN 公司生产;SCIENTZ-50F 冷冻干燥机,宁波新芝生物科技公司生产。

1.2 材料

乙醇、乙酸乙酯、石油醚、NaOH,北京化工厂生产;碳酸钠,天津市光复科技发展有限公司生产;福林酚、没食子酸、纤维素酶,大连美仑生物技术有限公司生产;纯净水,娃哈哈饮料有限公司生产;Triton X-100,北京雷根生物技术有限公司生产;CCK8、L-DOPA,北京索莱宝科技有限公司生产;0.25%胰酶、青霉素、链霉素、胎牛血清、PBS 磷酸盐缓冲液、RPMI-1640 培养基,北京中生奥邦生物技术有限公司生产。

2 实验方法

2.1 总多酚检测

标准曲线的测定:采用福林酚比色法。配制质量浓度分别为 0、4、8、12、20、40、60、80、100 mg/L 的没食子酸标准溶液,分别取上述各溶液 100 μ L,加入 250 μ L 的福林酚试剂,混匀后反应 5 min,加 250 μ L 15%碳酸钠溶液,加水定容至 1 mL,40 $^{\circ}$ C 恒温水浴避光反应 1 h,冷却静置 20 min 后于 778 nm 处测定吸光值。

样品金缕梅多酚含量测定:样品稀释相应的倍数,取各溶液 100 μ L,其余步骤与标准曲线的测定方法相同。

2.2 金缕梅不同溶剂提取物的制备

取粉碎好的金缕梅药材过 60 目筛,每份称取 20 g,分别用水、乙醇、60%乙醇、乙酸乙酯、石油醚等 5 种极性不同的溶剂对金缕梅活效成分进行提取,按照料液比 1:20(M/V)的比例分别加入不同极性的浸提溶剂,超声 30 min,室温浸提 24 h。过滤得上清液,所得残渣在同样条件下重复再提 1 次。弃残渣,收集上清液用相应溶剂定容到 800 mL,密封低温保存备用。取其中 10 mL 用于多酚检测,剩余溶液在旋转蒸发仪上浓缩至膏状,并进行冻干获得金缕梅提取物。

2.3 单因素实验

称取过 60 目筛的金缕梅粉末 5 g,加入一定体积分数的乙醇溶液,于 240 W 功率下超声处理 10 min。分别考察纤维素酶(0.5%、1%、1.5%、2%、

2.5%、3%、3.5%)、酶解温度(35、40、45、50、55、60、65 $^{\circ}$ C)、酶解时间(30、40、50、60、90 min)、乙醇体积分数(20%、30%、40%、50%、60%、70%)、料液比(1:10、1:15、1:20、1:25、1:30、1:35、1:40)对金缕梅多酚提取率的影响。

2.4 响应面实验

基于 Box-Behnken 实验设计原理,在单因素实验基础上对金缕梅多酚进行 3 因素 3 水平实验设计,并运用 Design Expert 12 软件拟合数据优化金缕梅多酚提取工艺。以金缕梅多酚提取率为评价指标,设定金缕梅质量为 5.0 g,纤维素酶质量分数为 2.5%,以酶解温度(A)、酶解时间(B)和料液比(C)为考察因素对提取金缕梅多酚进行优化。因素与水平如表 1 所示。

表 1 响应面设计要素与水平

水平	酶解温度(A)/ $^{\circ}$ C	酶解时间(B)/ min	料液比(C)/ (g·mL $^{-1}$)
-1	20	60	1:10
0	35	75	1:20
1	50	90	1:30

2.5 金缕梅多酚美白功效研究

2.5.1 金缕梅多酚对 B16 细胞活力的影响

采用 CCK8 法检测金缕梅多酚对 B16 黑色素瘤细胞活力的影响,分为空白组、对照组、实验组。除空白组外,于 96 孔板以 6 000 细胞/孔接种对数生长期的 B16 细胞,培养过夜使细胞完全贴壁。空白组、对照组更换新鲜的 RPMI-1640 培养液,样品组加入含有不同质量浓度的金缕梅多酚的新鲜培养基,继续培养 24 h。每孔加入 10 μ L CCK8 溶液,37 $^{\circ}$ C 反应 150 min,然后利用酶标仪在 450 nm 波长下测定每孔 OD 值。每组设置 6 个平行复孔,计算细胞存活率(%):

$$\text{细胞存活率}(\%) = [(\text{实验组 OD} - \text{空白组 OD}) / (\text{对照组 OD} - \text{空白组 OD})] \times 100\% \quad (1)$$

2.5.2 金缕梅多酚对酪氨酸酶活性的影响

胰酶消化对数生长期的 B16 黑色素瘤细胞,以 2 000 细胞/孔接种于 96 孔板中,分为对照组和实验组培养过夜使细胞完全贴壁。对照组加入新鲜的 RPMI-1640 培养液,实验组加入不同浓度的金缕梅多酚培养液继续培养 72 h。弃上清,用预冷 PBS 缓冲溶液清洗 2 次,每孔加入 90 μ L 体积分数为 1%的 Triton X-100 的 PBS 溶液,超声 5 min 破碎细胞,每孔继续加入 10 μ L 的 10 mmol/L L-DOPA,37 $^{\circ}$ C 反应 40 min。利用酶标仪在 490 nm 波长下测定每孔

OD 值,计算细胞相对酪氨酸酶活性(%):

$$\text{细胞相对酪氨酸酶活性}(\%) = (\text{OD 实验组} / \text{OD 对照组}) \times 100\% \quad (2)$$

2.5.3 金缕梅多酚对黑色素含量的影响

胰酶消化对数生长期的 B16 黑色素瘤细胞,以 80 000 细胞/孔接种于 6 孔板中,分为对照组和实验组,培养过夜使细胞完全贴壁。对照组更换新鲜的 RPMI-1640 培养液,实验组加入不同质量浓度的金缕梅多酚培养液,继续培养 72 h。弃去上清液,用预冷 PBS 缓冲液清洗,胰酶消化细胞后加入新鲜培养基终止消化,1 000 r/min 离心 5 min,将细胞收集到新的 EP 管内。重悬细胞并计算细胞个数,再次离心弃上清液,向沉淀中加入 1 mol/L NaOH 溶液,80℃ 水浴加热反应 30 min。利用酶标仪在 490 nm 波长下测定每孔 OD 值,计算细胞相对黑色素含量(%):

$$\text{细胞相对黑色素含量}(\%) = [(\text{OD 实验组} / \text{实验组细胞数}) / (\text{OD 对照组} / \text{对照组细胞数})] \times 100\% \quad (3)$$

3 实验结果

3.1 不同溶剂对金缕梅多酚提取率的测定

不同溶剂对金缕梅多酚的提取率存在显著差异,结果表 2 所示。

表 2 不同溶剂提取金缕梅多酚含量测定

溶剂	提取率/(mg·g ⁻¹)	SD 值
水	35.00	2.08
60%乙醇	45.29	7.78
无水乙醇	41.45	0.58
乙酸乙酯	13.87	4.24
石油醚	0.98	1.73

从表 2 中可以看出,5 种不同极性溶剂中金缕梅多酚在 60%乙醇中的提取率最高,达到 45.29 mg/g,金缕梅水提物和无水乙醇提取物提取率有所下降,分别为 35.00 mg/g 和 41.45 mg/g。在乙酸乙酯溶剂中金缕梅多酚溶出率只有 13.87 mg/g,石油醚中金缕梅多酚提取率为 0.98 mg/g,几乎没有提取效果。根据多酚提取率且考虑到金缕梅多酚药用安全性,采用醇水混合物作为提取溶剂更有利于提高金缕梅多酚的提取。

3.2 单因素实验

3.2.1 纤维素酶质量分数对金缕梅多酚提取率的影响

纤维素酶质量分数对金缕梅多酚提取率的影响如图 1 所示。

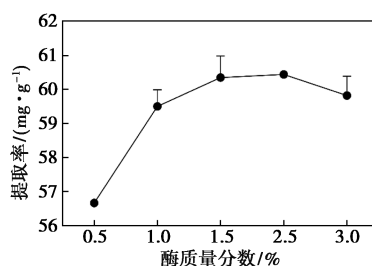


图 1 纤维素酶质量分数对金缕梅多酚提取率的影响

由图 1 中可以看出,随着纤维素酶质量分数的增加,金缕梅多酚提取率也随之提高,在纤维素酶质量分数为 2.5% 时达到最高,之后随着纤维素酶质量分数的增加反而减少。说明在一定范围内,适量增加纤维素酶的用量破坏了植物细胞壁结构,有利于金缕梅多酚的溶出,但纤维素酶质量分数增大的同时也存在着增大溶剂黏度的问题,反而堵塞植物金缕梅多酚溶出通道,降低多酚的提取率。

3.2.2 酶解温度对金缕梅多酚提取率的影响

酶解温度对金缕梅多酚提取率的影响如图 2 所示。

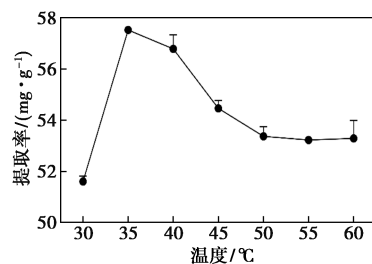


图 2 酶解温度对金缕梅多酚提取率的影响

由图 2 中可以看出,酶解提取金缕梅多酚在 35℃ 时提取率达到最高点,之后随酶解温度的上升提取率反而逐渐下降,最后趋于稳定。这是由于过高的温度会引起酶活性发生改变,同时提高温度会使酚类物质解离,从而降低金缕梅多酚的提取率。由此可以看出,选择合适的温度有利于维持酶的活力,增加多酚的溶出率。

3.2.3 酶解时间对金缕梅多酚提取率的影响

酶解时间对金缕梅多酚提取率的影响如图 3 所示。

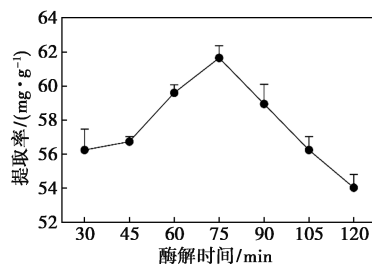


图 3 酶解时间对金缕梅多酚提取率的影响

由图 3 中可以看出,在 30~75 min 内,随着纤维素酶的酶解作用时间的增加,金缕梅多酚提取效果不断提高,有利于多酚提取,在 75 min 达到最高点 61.66 mg/g,之后随着处理时间的增加反而减少。说明在一定范围内,适量增加纤维素酶作用时间可以提取更多的金缕梅多酚,但是酶解时间为 75 min 时,由于酶活性的降低以及金缕梅多酚的自身不稳定性反而不利于提取。

3.2.4 乙醇体积分数对金缕梅多酚提取率的影响

乙醇体积分数对金缕梅多酚提取率的影响如图 4 所示。

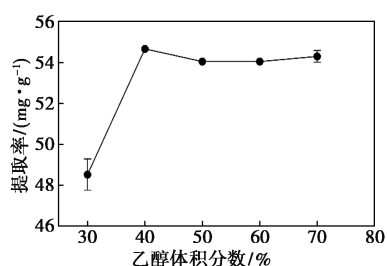


图 4 乙醇体积分数对金缕梅多酚提取率的影响

由图 4 中可以看出,随着乙醇体积分数的增加金缕梅多酚提取量显著增加,在乙醇体积分数为 40% 时达到最大值 54.67 mg/g,当乙醇体积分数继续增加时金缕梅总酚提取率没有明显的变化,考虑经济因素,最终选择 40% 的乙醇体积分数进行金缕梅多酚的提取。

3.2.5 料液比对金缕梅多酚提取率的影响

料液比对金缕梅多酚提取率的影响如图 5 所示。

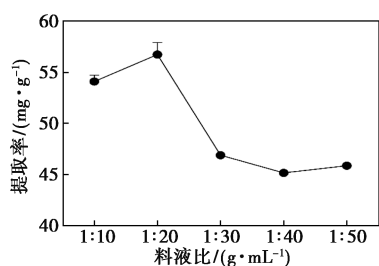


图 5 料液比对金缕梅多酚提取率的影响

由图 5 中可以看出,料液比为 1:10 时不利于金缕梅多酚与溶剂充分接触,料液比为 1:20 时金缕梅总酚提取率达到最大值。在 1:20~1:50 料液比范围内,多酚提取率呈现大幅度的下降,之后趋于平稳。在料液比较低时,在金缕梅药材和溶剂之间金缕梅多酚存在较大的浓度差,有利于酚的溶出。但是随着溶剂的增多,在反应温度、反应时间不变的情

况下,溶剂的热负荷增大,导致在有限的温度和时间下使得金缕梅多酚提取不完全,同时料液比的增大,造成杂质的溶出,进一步降低多酚的提取率。

3.3 响应面实验

3.3.1 金缕梅多酚提取模型建立及方差分析

在单因素实验基础上,利用 Box-Behnken 实验设计原理并利用 Design Expert 12 软件进行数据分析,以多酚提取率为响应值,考察酶解温度(A)、酶解时间(B)和料液比(C)的响应面设计和方差分析结果,如表 3、表 4 所示。

表 3 响应面分析结果

序号	酶解温度 (A)	酶解时间 (B)	料液比 (C)	总酚质量分数 / (mg·g ⁻¹)
1	0	1	1	51.30
2	-1	-1	0	63.21
3	1	0	-1	51.20
4	0	0	0	62.56
5	0	0	0	63.10
6	1	0	1	53.83
7	0	0	0	64.58
8	0	-1	-1	48.86
9	-1	0	-1	50.63
10	-1	0	1	54.37
11	0	0	0	63.86
12	0	-1	1	51.78
13	0	0	0	62.78
14	0	1	-1	48.14
15	1	1	0	60.08
16	-1	1	0	63.57
17	1	-1	0	61.20

表 4 响应面方差分析结果

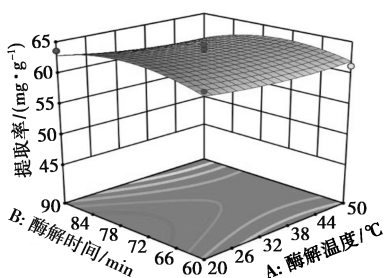
方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	601.83	9	66.87	70.56	<0.0001
酶解温度(A)	3.73	1	3.73	3.94	0.0876
酶解时间(B)	0.4799	1	0.4799	0.5064	0.4997
料液比(C)	19.35	1	19.35	20.42	0.0027
AB	0.5432	1	0.5432	0.5732	0.4737
AC	0.3106	1	0.3106	0.3277	0.5849
BC	0.0137	1	0.0137	0.0144	0.9078
A ²	1.33	1	1.33	1.4	0.2747
B ²	15.57	1	15.57	16.43	0.0049
C ²	550.34	1	550.34	580.69	<0.0001
残差	6.63	7	0.9477		
失拟项	3.87	3	1.29	1.87	0.2762
纯误差	2.77	4	0.6913		
总误差	608.46	16			

采用 Design-Expert 12.0 软件对响应面数据及方差分析进行二次拟合,得到金缕梅多酚提取回归方程: $Y = 63.38 - 0.6831A - 0.2449B + 1.56C - 0.3685AB - 0.2786AC + 0.0584BC + 0.5622A^2 - 1.92B^2 - 11.43C^2$ 。

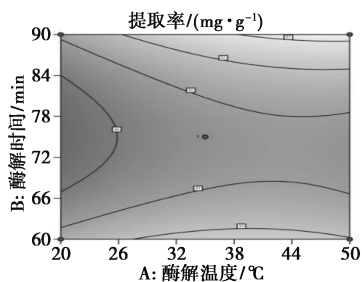
由表4方差分析可知,所建方程模型 $P < 0.0001$, 极显著,失拟项 $P = 0.2762 > 0.05$, 说明不显著,实验数据与模型拟合度较好。模型相关系数 $R^2 = 0.9891$, $R_{adj}^2 = 0.9751$, 表明实验值与预测值相关度高,金缕梅多酚提取率同各变量之间的回归系数显著,代表成功建立模型,可以用来预测和分析变量对金缕梅多酚提取率的影响。由 F 值可知,各因素影响主次顺序为料液比 > 酶解温度 > 酶解时间。

3.3.2 金缕梅多酚提取响应面分析图

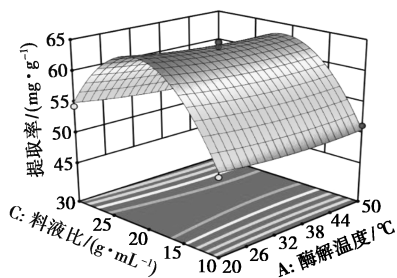
用 Design-Expert 12.0 软件分析各因素之间交互作用得到响应面图如图6所示。结合响应面坡度陡峭变化发现,料液比对金缕梅多酚提取量影响更为显著,其次是酶解时间和酶解温度,同方差分析结果吻合。



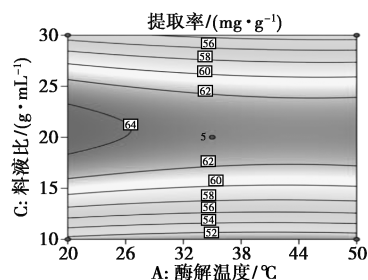
(a) 酶解时间与酶解温度对金缕梅多酚提取率影响的响应面图



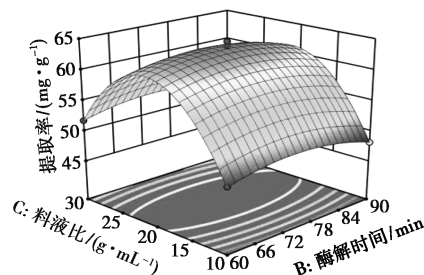
(b) 酶解时间与酶解温度对金缕梅多酚提取率影响的等高线图



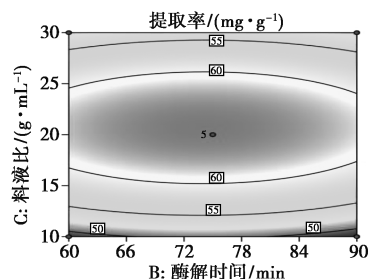
(c) 料液比与酶解温度对金缕梅多酚提取率影响的响应面图



(d) 料液比与酶解温度对金缕梅多酚提取率影响的等高线图



(e) 料液比与酶解时间对金缕梅多酚提取率影响的响应面图



(f) 料液比与酶解时间对金缕梅多酚提取率影响的等高线图

图6 因素间相互作用对金缕梅多酚提取率影响的响应面图及等高线图

3.3.3 响应面优化实验验证结果

为验证模型的准确性,经 Design-Expert 12.0 分析模拟最优工艺条件为:酶解温度为 37.988°C 、酶解时间为 85.120 min 、料液比为 $1:21.073$ 。考虑实验的可操作性与准确性,选取纤维素质量分数为 2.5% 、酶解温度为 38°C 、酶解时间为 85 min 、料液比为 $1:21$ 、乙醇体积分数为 40% 最佳工艺条件下进行验证实验,平行重复实验3次。实验结果表明,金缕梅多酚提取率为 62.16 mg/g ,同预测值 60.35 mg/g 相近,说明该模型符合实际,具有参考价值。

3.4 金缕梅多酚美白功效研究

3.4.1 金缕梅多酚对 B16 细胞活力的影响

为验证金缕梅多酚对细胞正常生长的影响,通过 CCK-8 方法检测金缕梅多酚对 B16 细胞存活率的影响,结果如表5所示。

由表5中可以看出,在金缕梅多酚质量浓度为 $6.25\sim 75\text{ }\mu\text{g/mL}$ 情况下,B16 细胞存活率均在 95% 以上,说明在此质量浓度区间下,金缕梅药物对细胞

表 5 金缕梅多酚对 B16 细胞活力的影响

质量浓度/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	细胞存活率/%	SD 值
control	100.00	3.89
6.25	100.52	10.93
12.5	102.15	9.18
25	101.16	8.79
50	103.56	8.18
75	101.67	9.23
100	88.13	1.83
125	89.48	7.29

没有毒性作用。

3.4.2 金缕梅多酚对酪氨酸酶活性的影响

酪氨酸酶是细胞合成黑色素过程中的关键催化酶,为合成黑色素中主要限速酶,抑制酪氨酸酶的活性可有效减少黑色素的合成。金缕梅多酚质量浓度对酪氨酸酶活性的影响如表 6 所示。

表 6 金缕梅多酚对酪氨酸酶活性的影响

质量浓度/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	相对酪氨酸酶活性/%	SD 值	显著性
control	100.00	6.36	
10	90.22	7.18	*
25	84.29	3.72	***
50	64.38	1.91	****

注: * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$, vs. Control。

从表 6 中可以看出,随着金缕梅多酚质量浓度的增加,相对酪氨酸酶活性越低,对细胞酪氨酸酶活性抑制作用就越强,与空白组差异具有显著性 ($P < 0.05$)。

3.4.3 金缕梅多酚对黑色素含量的影响

表皮细胞黑色素含量的多少直接影响肤色,黑色素含量是表征美白效果重要指标之一。金缕梅多酚对 B16 胞内黑色素含量的影响如表 7 所示。

表 7 金缕梅多酚对黑色素含量的影响

质量浓度/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	相对黑色素含量/%	SD 值	显著性
control	100.00	5.28	
2	76.45	0.52	****
6	65.96	0.55	****
10	55.09	1.36	****

注: **** $P < 0.0001$, vs. Control。

从表 7 中可以看出,金缕梅多酚抑制黑色素合成浓度区间与酪氨酸酶活性具有一定的差异,这是由于该药物除了抑制酪氨酸酶活性外,还同时存在其他的机制影响。实验结果表明,不同质量浓度金

缕梅多酚能显著降低 B16 细胞胞内黑色素含量,差异极显著 ($P < 0.0001$);不同质量浓度作用细胞,黑色素含量逐渐下降,呈现剂量依赖性。尤其当金缕梅多酚质量浓度为 $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ 时,相对黑色素含量达到 50% 左右,证明金缕梅多酚具有很好的美白效果。

4 结论

以多酚为检测指标,利用 5 种不同溶剂提取金缕梅多酚,实验结果表明体积分数 60% 的乙醇提取效果最好,达到 $45.29 \text{ mg}/\text{g}$ 。通过单因素和 Box-Behnken 响应面法得出酶辅助提取金缕梅多酚的最佳工艺条件为:纤维素质量分数为 2.5%、酶解温度为 38°C 、酶解时间为 85 min、料液比为 1:21、乙醇体积分数为 40%,该条件下金缕梅多酚提取率达到 $62.16 \text{ mg}/\text{g}$ 。黑色素形成过程主要限速酶是酪氨酸酶,其含量与皮肤颜色密切相关,研究发现金缕梅多酚能够有效抑制酪氨酸酶活性且减少黑色素的合成,证明其具有潜在的美白功效,为金缕梅的后续开发提供了新的方向和思路。

参考文献

- [1] 焦胜敏. 超声波辅助提取金缕梅紫云英苷及其体外抗氧化研究[J]. 食品工业, 2014, 35(5): 51-53.
- [2] Sonia Touriño, Daneida Lizárraga, Anna Carreras, et al. Highly galloylated tannin fractions from witch hazel (*Hamamelis virginiana*) bark: Electron transfer capacity, in vitro antioxidant activity, and effects on skin-related cells[J]. Chemical Research in Toxicology, 2008, 21(3): 696-704.
- [3] Helmut H W, Meinhard K. Hamamelis in children with skin disorders and skin injuries: Results of an observational study[J]. European Journal of Pediatrics, 2006, 166(9): 943-948.
- [4] Sophia C, Jason K R. Botanicals with dermatologic properties derived from first nations healing: Part 1-trees[J]. Journal of Cutaneous Medicine and Surgery, 2017, 21(4): 288-298.
- [5] Hughes-Formella B J, Bohnsack K, Rippke F, et al. Anti-inflammatory effect of hamamelis lotion in a UVB erythema test[J]. Dermatology, 1998, 196(3): 316-322.
- [6] 刘辉, 曾洁琳, 梅萍, 等. 金缕梅总酚的超声辅助提取工艺优化及其抗氧化、酪氨酸酶抑制作用研究[J]. 中国中医药科技, 2021, 28(5): 744-747, 860.
- [7] 肖伟洪, 周磊, 扬春华, 等. 江西四种野生金缕梅科植物对强紫外线照射致小鼠皮肤光老化防护作用研究[J]. 江西化工, 2004, (2): 112-114.
- [8] 肖伟洪, 扬春华, 徐秋林, 等. 3 种金缕梅科植物提取物对动物皮肤防护研究[J]. 日用化学工业, 2005(1): 27-29.
- [9] 苏思恩, 阮焕群. 金缕梅中槲皮素的提取工艺优化[J]. 广东化工, 2017, 44(8): 84-85, 107. ■