DOI:10.12441/spyswjs.20250205002 [文章编号] 1673-1689(2025)04-0098-09

3种益生菌发酵上清液不同超滤组分的抗光老化作用

曹雨荷[1,2] 张晓芳[1] 马明珠[2] 郑 斌[1] 宋 燕[1] 郭阮怡[3] 孙继鹏[2*]

(1. 浙江海洋大学食品与药学学院,浙江 舟山 316022; 2. 浙江省海洋开发研究院,浙江 舟山 316021; 3. 肤可思化妆品(上海)有限公司,上海 201210)

摘要:【目的】通过考察益生菌发酵上清液对细胞光老化的改善作用,探究不同超滤组分能否作为有效成分应用于抗光老化的化妆品。**【方法】**以鼠李糖乳酪杆菌发酵上清液(LR)、副干酪乳酪杆菌发酵上清液(LP1)和植物乳植杆菌发酵上清液(LP2)的3个不同超滤组分(相对分子质量>3 000、相对分子质量1 000~3 000和相对分子质量<1 000)为研究对象,构建紫外线(UVB)诱导的正常人皮肤成纤维细胞(NHDF)模型和小鼠黑色素瘤细胞B16F10模型,评价3种益生菌发酵上清液不同超滤组分的抗光老化作用。**【结果】**LR、LP1和LP2的超滤组分均无细胞毒性,显著降低了SA-β-gal染色率、酪氨酸酶的酶活力、活性氧(ROS)水平、一氧化氮(NO)和肿瘤坏死因子-α(TNF-α)浓度,增加了$ABTS^+$自由基清除能力,且相对分子质量<1 000的超滤组分作用最显著,其中酪氨酸酶活力相比于模型组降低50%~60%。**【结论】**3种益生菌发酵上清液可以通过抑制黑色素生成、抗氧化和抗炎发挥抗光老化作用,相对分子质量<1 000的超滤组分可作为化妆品行业中潜在的抗光老化活性成分。

关键词:益生菌发酵上清液;超滤分级;皮肤细胞;抗光老化;中波紫外线

Anti-photoaging Effects of Different Ultrafiltration Fractions from Fermentation Supernatants of Three Probiotics

CAO Yuhe[1,2] *ZHANG Xiaofang*[1] *MA Mingzhu*[2] *ZHENG Bin*[1] *SONG Yan*[1]
GUO Ruanyi[3] *SUN Jipeng*[2*]

(1. Food and Pharmacy College, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China; 2. Zhejiang Marine Development Research Institute, Zhoushan 316021, China; 3. Focus Plus Cosmetics (Shanghai) Co., Ltd., Shanghai 201210, China)

Abstract: [**Objective**] The present study investigates the ameliorative effects of probiotic fermentation supernatants on cellular photoaging, exploring whether different ultrafiltration fractions can serve as effective components in anti-photoaging cosmetics. [**Method**] Three distinct ultrafiltration fractions (relative molecular mass >3 000, relative molecular mass 1 000~3 000, and relative molecular mass <1 000) of the fermentation supernatants of *Lactobacillus rhamnosus* (LR), *Lactobacillus paracasei* (LP1), and *Lactobacillus plantarum* (LP2) were examined for their anti-photoaging effects on UVB-induced human skin fibroblasts (NHDF) and mouse B16F10 melanoma cell models. [**Result**] All the ultrafiltration fractions of LR, LP1, and LP2 were non-toxic to cells and significantly reduced the SA-β-gal staining rate, tyrosinase activity, reactive oxygen species (ROS) level, and nitric oxide (NO) and tumor necrosis factor-α (TNF-α) concentrations, while increasing the $ABTS^+$ free radical scavenging capacity. The ultrafiltration fraction with the relative molecular mass <1 000 showed the most pronounced effects, decreasing the tyrosinase activity by 50%~60% compared with the control

基金项目:舟山科技计划项目(2023C13016)。

通信作者:孙继鹏(1980—),男,博士,副研究员,硕士研究生导师,主要从事海洋生物资源高值化开发利用研究。E-mail: jipengsun@yeah.net

收稿日期:2025-02-05 **修回日期:**2025-03-17

group. [**Conclusion**] The fermentation supernatants of the three probiotics can exert anti-photoaging effects by inhibiting melanin production and exhibiting antioxidant and anti-inflammatory activities. The ultrafiltration fraction with the relative molecular mass <1 000 may serve as potential anti-photoaging active components in the cosmetic industry.

Keywords: probiotic fermentation supernatant; ultrafiltration grading; skin cells; anti-photoaging; ultraviolet B

皮肤是保护人体的第一道防线[1]，而紫外线（UV）照射极易造成皮肤损伤[2]。UV由UVA、UVB和UVC组成，其中UVB对皮肤健康危害最大。定期和持续暴露于UVB下，皮肤易产生光老化现象，具体表现为氧化损伤、皱纹形成和黑色素生成[3-4]。目前，一些天然提取物和人工合成化合物，例如胶原蛋白肽、萝卜硫素、对苯二酚等，已被运用到抗光老化的化妆品中[5-8]。然而，这些提取物和化合物存在成本高[9]或者具有一定副作用的缺点，如熊果苷在某些条件下被分解为氢醌，长期使用可能导致红斑、脱皮和灼烧感[10-11]；视黄醇、视黄酸会对皮肤产生刺激，引起干燥、脱屑、红斑，口服视黄酸（如维A酸）有致畸风险[12]。因此，寻找廉价且安全有效的活性物质，将其添加到化妆品中来预防和减缓由UVB引起的皮肤光老化至关重要。

光老化受到多种因素的影响，其中氧化损伤和炎症反应是引起皮肤光老化的主要原因[13-14]。一方面，皮肤暴露于UVB照射后会产生具有强氧化作用的自由基，如$ABTS^{+}$、ROS等[15]，而自由基过量积累后，会导致氧化应激，进一步损伤细胞膜不饱和键，从而破坏细胞的正常生理状态[16]。同时，自由基也会攻击细胞内的蛋白质、脂质和核酸，导致细胞衰老[17]。因此，保护机体免受氧化损伤是预防皮肤光老化的有效手段之一。另一方面，炎症反应是皮肤细胞在UVB照射后产生的一种防御反应[18]。当皮肤受到紫外线刺激时，表皮角质形成细胞释放出大量的活性因子，如NO、TNF-α等。这些活性因子可通过不同的作用途径抑制弹性蛋白和胶原蛋白的合成，进而导致皮肤松垮、皱纹形成[19]。此外，黑色素沉积也是光老化形成的表征之一[20]。长期UVB照射后会激化黑色素母细胞并形成酪氨酸酶，随着新细胞的不断更新推移到肌肤表面，日积月累导致色素沉淀并形成色斑[21]。综上，黑色素生成、氧化损伤和炎症反应共同参与了光老化的过程。因此，减少黑色素生成、抑制氧化应激和控制炎症反应是延缓光老化的重要手段。

皮肤的健康状况与其微生物生态系统密切相关[22]。研究表明，益生菌作为一类为宿主提供健康益处的微生物[23]，具有改善皮肤屏障功能、降低皮肤敏感性和缓解皮肤炎症[24-26]等作用。然而，口服活性益生菌的安全性仍存在一定争议，主要原因是其易导致免疫系统较弱的人群发生由易位引起的全身感染等副作用[27]。为降低此类风险，研究者逐渐将研究重点转向益生菌发酵上清液。大量研究表明，鼠李糖乳酪杆菌、副干酪乳酪杆菌和植物乳植杆菌等益生菌发酵液能有效改善皮肤健康[28]。Tsai等[29]发现鼠李糖乳酪杆菌发酵上清液有抗氧化功效；李鸾等[30]研究表明植物乳植杆菌IMAU30043能够缓解LPS诱导的RAW264.7巨噬细胞氧化损伤和炎症反应；Lee等[31]利用α-MSH诱导B16F10细胞，结果表明加氏乳杆菌BNR17发酵上清液具有抑制黑色素生成和抗氧化功效。然而，这3种益生菌发酵上清液不同超滤组分的抗光老化作用，尤其针对氧化损伤、炎症反应和黑素色生成的影响仍未见报道，有必要进一步研究。

选取天然、无毒、无污染并且可能具有抗光老化作用的3种益生菌（鼠李糖乳酪杆菌、副干酪乳酪杆菌和植物乳植杆菌），以暴露于UVB照射的NHDF细胞和B16F10细胞为研究对象，探讨了3种益生菌的发酵上清液不同超滤组分对细胞黑素色生成、氧化损伤和炎症反应的影响，以期为益生菌发酵上清液超滤组分作为有效成分应用于抗光老化的化妆品提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

鼠李糖乳酪杆菌ATCC7469、副干酪乳酪杆菌ATCC11578、植物乳植杆菌ATCC8014：中国信阳莱耀生物科技有限公司；NHDF细胞和B16F10细胞：广东华拓生物科技有限公司；DMEM培养基

和胎牛血清：BBI生命科学有限公司；MTT检测试剂盒、衰老细胞组织化学染色试剂盒：上海碧云天生物技术有限公司；ROS染色试剂盒、$ABTS^+$试剂盒、NO试剂盒：南京建成生物工程研究所；引物合成：生工生物工程（上海）股份有限公司；PrimeScriPt™ RT和PrimeScriPt RT试剂盒：日本TaKaRa公司；其他试剂：分析纯，公司。

1.2 仪器与设备

气浴恒温振荡器：THZ-82B型，金坛区医疗仪器厂；立式压力蒸汽灭菌器：LDZX-50KBS型，上海申安医疗器械厂；分析天平：FA1004N型，上海民桥精密科学仪器有限公司；冷冻离心机：TG20-WS型，长沙湘智离心机仪器有限公司；全自动酶标仪：1510 MultiskanFC型，赛默飞世尔科技（中国）有限公司；倒置显微镜：CKX41型，日本奥林巴斯公司；实时荧光定量PCR仪：赛默飞世尔科技（中国）有限公司。

1.3 发酵上清液的制备及超滤

3种菌株分别以体积分数1%接种于MRS液体培养基中，于37 ℃培养48 h，此时白色沉淀产生且不再增加。离心收集上清液，并逐级用相对分子质量分别为3 000和1 000的超滤管处理，将3种益生菌发酵液分为相对分子质量>3 000、相对分子质量为1 000~3 000和相对分子质量<1 000共3个超滤组分，以下简称为待测物。进行细胞试验前，发酵上清液用0.45 μm无菌过滤膜过滤后，放入4 ℃冰箱待用。

1.4 细胞培养

NHDF细胞和B16F10细胞在含有体积分数10%胎牛血清和体积分数1%青霉素-链霉素的DMEM培养基中培养，然后转移到37 ℃、体积分数5% CO_2培养箱中孵育待用。

1.5 MTT细胞活力测定

采用MTT检测评估细胞活力[32]，用体积分数100%待测物处理NHDF细胞，孵育24 h后，用酶标仪在570 nm处测定吸光度，按式（1）计算细胞活力。

$$H = A_1 / A_2 \times 100\% \quad (1)$$

式中：

H——细胞活力，%；

A_1——试验组吸光度；

A_2——对照组吸光度。

1.6 UVB照射

用UVB灯照射细胞，使用紫外线测定仪测量紫外线照射强度。NHDF细胞和B16F10细胞的紫外线照射剂量（30 mJ/cm²）按式（2）计算。

$$D = P \times t \quad (2)$$

式中：

D——紫外线照射剂量，mJ/cm²；

P——UVB照射强度，mW/cm²；

t——照射时间，s。

1.7 光老化模型构建

将NHDF细胞和B16F10细胞暴露于30 mJ/cm²的UVB中，分别用体积分数100%的3种益生菌发酵液（LR、LP1 LP2）的3个超滤组分（相对分子质量>3 000，相对分子质量为1 000~3 000和相对分子质量<1 000）处理24 h，进行后续指标测定。分为：空白组；UVB组；对照组。

1.8 β-半乳糖苷酶（SA-β-gal）活性测定

利用衰老细胞组织化学染色试剂盒行测定SA-β-gal活性[33]。将NHDF细胞暴露于UVB（30 mJ/cm²）中，然后用体积分数100%待测物处理24 h。处理后的细胞固定在体积分数4%多聚甲醛中，7 ℃下与SA-β-gal染色液孵育过夜。在放大倍数为100×的显微镜下，对10个区域内所有蓝染细胞（5×10^5个细胞）进行计数，并以阳性细胞的百分比表示SA-β-gal的活性。

1.9 酪氨酸酶的酶活力测定

采用*L*-DOPA氧化速率法测定酪氨酸酶的酶活力[34]。将B16F10细胞暴露于UVB（30 mJ/cm²）后，用体积分数100%待测物处理24 h。随后，细胞在含有蛋白酶抑制剂的裂解缓冲液中裂解，将细胞裂解物以13 000 *g*离心15 min。最后，将含有相同蛋白质的100 μL细胞匀浆和20 μL 10 mmol/L多巴加入96孔板的孔中混合，37 ℃孵育1 h，用酶标仪在475 nm处测定吸光度。

1.10 抗氧化活性测定

1.10.1 $ABTS^+$自由基清除测定

采用$ABTS^+$方法测定体积分数100%待测物的自由基清除活性，以抗坏血酸（VC，300 μmol/L）为阳性对照。参照Kim等[35]的方法，将体积分数100%待测物加入含乙醇的$ABTS^+$溶液（7 mmol/L）中，室温孵育4 min，用酶标仪在734 nm处测定$ABTS^+$混合物的光密度。

1.10.2　DCFH-DA测定

采用DCFH-DA荧光试验测定ROS自由基的生成[36]。将NHDF细胞暴露于UVB（30 mJ/cm^2）后，加入体积分数100%待测物处理24 h。随后，在细胞中加入DCFH-DA（10 mmol/L）溶液，用PBS冲洗，37 ℃下孵育20 min。测量485、535 nm下DCFH-DA荧光的激发强度和发射强度。

1.10.3　NO和TNF-α浓度测定

采用ELISA试剂盒测定细胞内的NO和TNF-α浓度[37]。将NHDF细胞暴露于UVB（30 mJ/cm^2）中，加入体积分数100%待测物处理24 h后，放入37 ℃、体积分数5% CO_2培养箱中培养24 h。收集上清液，1000 r/min离心10 min，取200 μL上清液。根据ELISA试剂盒说明书检测NO和TNF-α浓度。

1.11　数据分析

取3次测定的平均值，数据均用平均值±标准差表示。数据采用SPSS 23.0进行单因素方差分析，确定试验组之间是否有显著差异，P<0.05表示差异显著。在相同显著性水平上使用Pearson相关性系数法进行分析。

2　结果与讨论

2.1　3种益生菌发酵上清液不同超滤组分的细胞毒性作用

MTT检测方法是通过测定细胞代谢活性，来评估细胞毒性、增殖能力和细胞活力[32]。图1为不同相对分子质量的3种益生菌发酵上清液对细胞活力影响的检测结果。不同相对分子质量的3种益生菌发酵上清液处理NHDF细胞和B16F10细胞后，细胞活力均为90%以上。邓逸琳等[38]研究结果表明，乳酸菌发酵液对角质细胞不存在明显毒性，与本试验结果一致。表明3种益生菌发酵液不同超滤组分对NHDF细胞和B16F10细胞不存在明显毒性，可作为无毒活性成分添加到化妆品中。

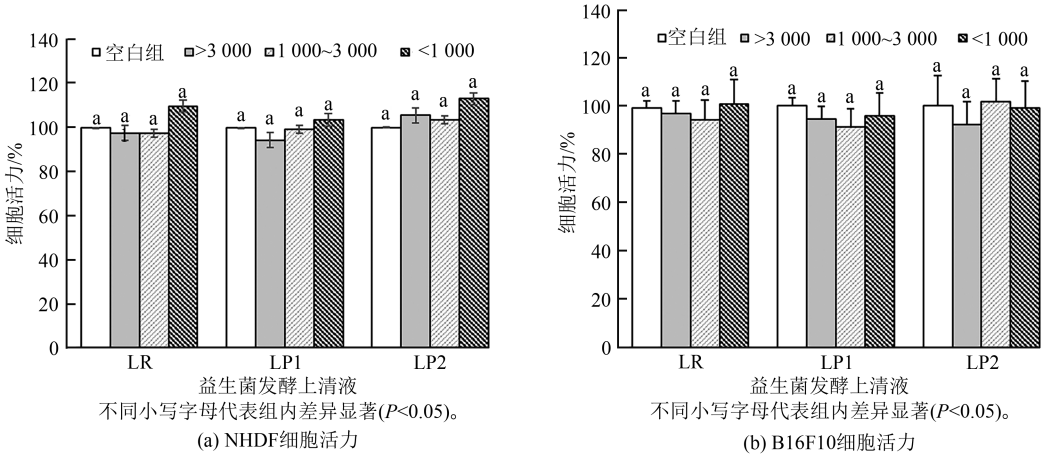
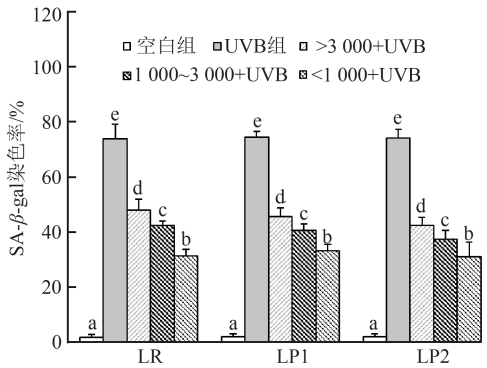


图1　3种益生菌发酵上清液不同超滤组分对NHDF细胞和B16F10细胞的细胞活力的影响

Fig. 1　Effects of different ultrafiltration fractions from fermentation supernatants of three probiotics on the viability of NHDF cells and B16F10 cells

2.2　3种益生菌发酵上清液不同超滤组分对SA-β-gal染色率的影响

SA-β-gal是一种衰老相关的水解酶，仅在衰老细胞中催化β-半乳糖苷水解为单糖[33]。随着年龄增长，人皮肤中SA-β-gal增加[1]。图2为不同相对分子质量的3种益生菌发酵上清液对NHDF细胞SA-β-gal染色率影响的检测结果。与UVB组相比，LR、LP1和LP2的3个超滤组分都显著降低了NHDF细胞的SA-β-gal染色率（P<0.05），且UVB刺激后相对分子质量<1 000的组分SA-β-gal染色率最低，即相对分子质量<1 000的组分抗衰老效果最好。Hong等[39]研究发现，双歧杆菌和乳酸菌发酵液对UV诱导的人皮肤细胞光老化具有保护作用。Kumar等[40]的研究结果表明，益生菌发酵乳杆菌无细胞上清液通过抑制ROS-AKT-mTOR信号来保护H_2O_2诱导的小鼠前脂肪细胞早衰。以上结果均与本试验结果一致。因此，3种益生菌发酵上清液均对NHDF细胞有抗光老化的作用。



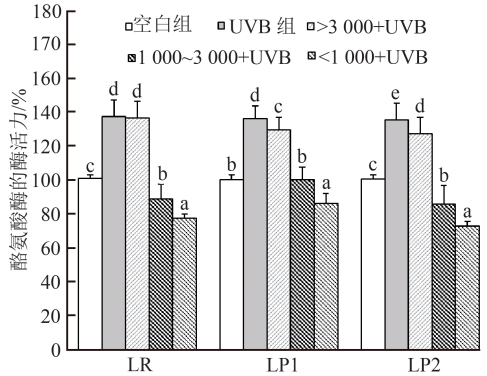
不同小写字母代表组内差异显著(P<0.05)。

图 2 3 种益生菌发酵上清液不同超滤组分对 NHDF 细胞 SA-β-gal 染色率的影响

Fig. 2 Effects of different ultrafiltration fractions from fermentation supernatants of three probiotics on the SA-β-gal staining rate in NHDF cells

2.3 3 种益生菌发酵上清液不同超滤组分对酪氨酸酶酶活力的影响

酪氨酸酶是黑色素合成的重要酶。抑制酪氨酸酶的酶活力是降低皮肤黑色素沉积的主要方式之一[21]。图 3 为不同相对分子质量的 3 种益生菌发酵上清液对 B16F10 细胞酪氨酸酶的酶活力的影响。与 UVB 处理组相比，LR 中相对分子质量 1 000~3 000 超滤组分和相对分子质量<1 000 超滤组分能显著降低 B16F10 细胞中酪氨酸酶的酶活力(P<0.05)，而 LP1 和 LP2 的 3 个超滤组分均能显著降低酪氨酸酶的酶活力(P<0.05)。在 3 种益生菌发酵上清液中，相对分子质量<1 000 的组分抑制酪氨酸酶的酶活力效果最好。乳酸菌发酵上清液和双歧杆菌细胞裂解物与本研究中益生菌发酵液有类似的作用：邓逸琳等[38]研究表明，乳酸菌发酵上清液能有效抑制酪氨酸酶的酶活力，抑制黑色素生成，从而发挥美白功效；Kim 等[41]研究发现，菊苣植物乳植杆菌 K8 裂解物可以抑制酪氨酸酶的生成，进而降低黑色素沉积。研究显示，益生菌发酵液能够靶向作用 PKA/CREB/MITF 通路抑制黑色素相关酶，减少黑色素产生，还能够通过不同途径减轻 UVB 诱导的 DNA 损伤[13-14]。



不同小写字母代表组内差异显著(P<0.05)。

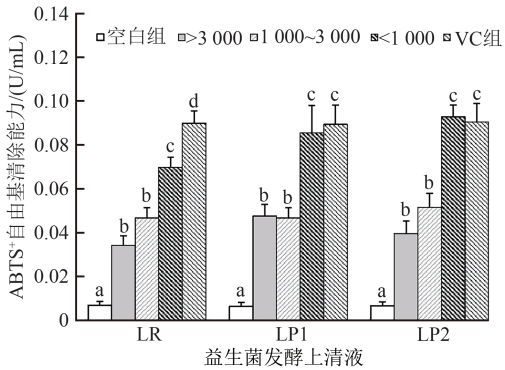
图 3 3 种益生菌发酵上清液不同超滤组分对 B16F10 细胞酪氨酸酶的酶活力的影响

Fig. 3 Effects of different ultrafiltration fractions from fermentation supernatants of three probiotics on the tyrosinase activity in B16F10 cells

2.4 3 种益生菌发酵上清液不同超滤组分的抗氧化作用

2.4.1 $ABTS^+$ 自由基清除能力

$ABTS^+$ 自由基清除能力的测定是测定样品抗氧化能力的常用方法。图 4 为 3 种益生菌发酵上清液的不同相对分子质量超滤组分对 $ABTS^+$ 自由基清除能力的影响。与空白组相比，LR、LP1 和 LP2 的 3 个超滤组分都具有显著清除 $ABTS^+$ 自由基的能力(P<0.05)，且相对分子质量<1 000 超滤组分的自由基清除效果在 3 个组分中表现最好。其中，LP1 和 LP2 中相对分子质量<1 000 的超滤组分清除 $ABTS^+$ 自由基的效果与阳性对照 VC 组效果相当。Zhang 等[42]报道克菲里乳杆菌发酵上清液能通过清除人皮肤成纤维细胞 $ABTS^+$ 自由基，从而减少氧化应激，达到延缓细胞衰老的目的，该研究结果与本试验结果一致。



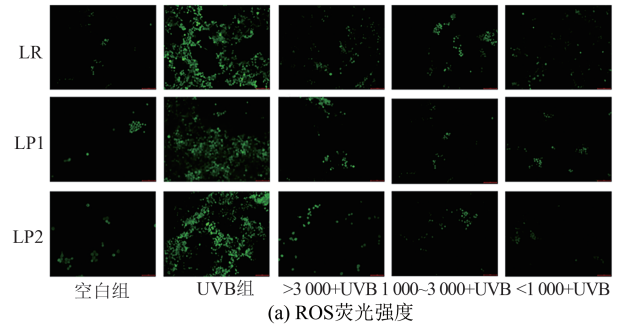
不同小写字母代表组内差异显著(P<0.05)。

图 4 3 种益生菌发酵上清液不同超滤组分对 $ABTS^+$ 自由基清除能力的影响

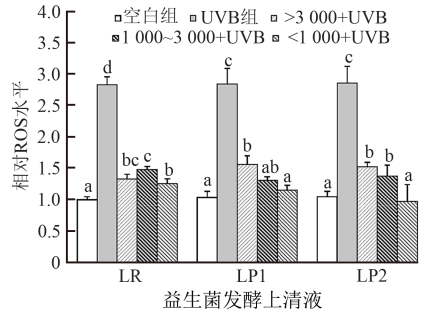
Fig. 4 Effects of different ultrafiltration fractions from fermentation supernatants of three probiotics on the $ABTS^+$ free radical scavenging ability

2.4.2　ROS自由基清除能力

紫外线能诱导细胞内ROS增加，ROS积累诱导的氧化应激可引起蛋白质、脂质、核酸发生变化和细胞器损伤，进而导致细胞衰老[17]。图5为3种益生菌发酵上清液的不同相对分子质量超滤组分对ROS自由基清除能力的影响。与UVB组相比，LR、LP1和LP2的3个超滤组分都能显著降低ROS水平（P<0.05）。且在UVB刺激后，相对分子质量<1 000超滤组分的ROS清除效果在3个组分中表现最好。Wang等[43]研究发现，在A7R5细胞中，长双歧杆菌和扁平乳杆菌的发酵上清液表现出良好的ROS清除能力，能够有效减少氧化应激，这可能有助于降低心血管疾病发生风险，与本试验结果一致，说明益生菌发酵上清液具有良好的ROS清除能力。



(a) ROS荧光强度



不同小写字母代表组内差异显著(P<0.05)。

(b) 相对ROS水平

图5　3种益生菌发酵上清液不同超滤组分对NHDF细胞ROS自由基清除能力的影响

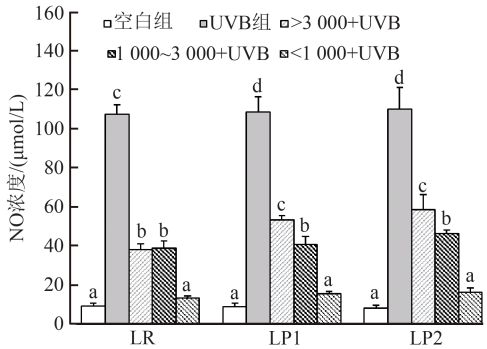
Fig. 5　Effects of different ultrafiltration fractions from fermentation supernatants of three probiotics on the ROS scavenging ability in NHDF cells

Lee等[31]研究发现，加氏乳杆菌BNR1无细胞上清液能减轻人角质形成细胞（HaCaT）中氧化应激反应，可作为护肤品中潜在的活性成分。综上，3种益生菌发酵上清液中相对分子质量<1 000的超滤组分抗氧化能力最强，能通过提高$ABTS^+$和ROS自由基清除能力来降低氧化损伤，可能在抗光老化的化妆品中发挥有效作用。

2.5　3种益生菌发酵上清液不同超滤组分的抗炎作用

2.5.1　NO浓度

NO是体内重要的生理递质和细胞间、细胞内的化学信使，在炎症反应的许多环节中发挥复杂的调节作用[44]。图6为3种益生菌发酵上清液的不同相对分子质量超滤组分对NHDF细胞NO浓度影响的结果。与UVB组相比，LR、LP1和LP2的3个超滤组分都能显著降低NO浓度（P<0.05）。在UVB刺激后，相对分子质量<1 000的组分降低NO浓度的能力在3个组分中表现最优。研究发现，鼠李糖乳酪杆菌（*Mitragyna speciosa*）发酵上清液能够显著降低LPS刺激的RAW264.7巨噬细胞中NO的产生[45]。



不同小写字母代表组内差异显著(P<0.05)。

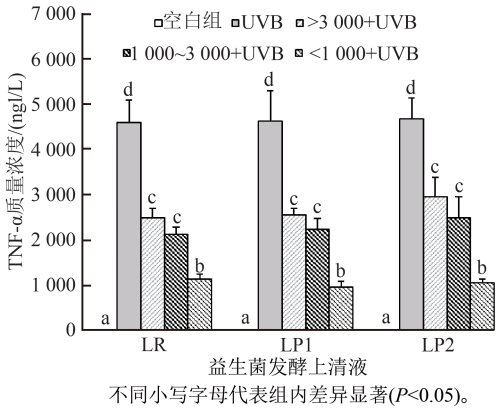
图6　3种益生菌发酵上清液不同超滤组分对NHDF细胞NO浓度的影响

Fig. 6　Effects of different ultrafiltration fractions from fermentation supernatants of three probiotics on the NO concentration in NHDF cells

2.5.2　TNF-α质量浓度

TNF-α是一种参与全身炎症的促炎因子，其作为炎症放大器，能诱导细胞衰老[46]。图7为3种益生菌发酵上清液的不同相对分子质量超滤组分对NHDF细胞TNF-α质量浓度影响的结果。与UVB组相比，LR、LP1和LP2的3个超滤组分都具有显著降低TNF-α质量浓度的能力（P<0.05），且在UVB刺激后，相对分子质量<1 000的组分的TNF-α质量浓度最低。Jiang等[47]利用植物乳植杆菌发酵芦荟得到上清液，将其作用于LPS刺激的

RAW264.7巨噬细胞，能够显著降低其TNF-α质量浓度，有助于降低RAW264.7细胞的炎症反应，与本试验结果一致。



不同小写字母代表组内差异显著(P<0.05)。

图7 3种益生菌发酵上清液不同超滤组分对NHDF细胞TNF-α质量浓度的影响

Fig. 7 Effects of different ultrafiltration fractions from fermentation supernatants of three probiotics on the TNF-α mass concentration in NHDF cells

综上，3种益生菌发酵上清液中相对分子质量<1 000的超滤组分抗炎作用最强，能通过抑制NO和TNF-α产生来减轻炎症反应，由于益生菌代谢会产生酸性分子、胞外多糖和多肽等对皮肤细胞具有抗老化功效的活性物质[38,48]，而酸性分子相对分子质量较小，能够被相对分子质量为1 000的超滤膜截留，使得相对分子质量<1 000的组分具有更高含量的酸性分子，且低相对分子质量的胞外多糖和多肽也有更好的生物活性[49-50]。因此，相对分子质量<1 000的超滤组分能够在抗光老化的化妆品中发挥有效作用。

3 结论

通过对鼠李糖乳酪杆菌、副干酪乳酪杆菌和植物乳植杆菌这3种益生菌发酵上清液的不同超滤组分进行抗光老化能力分析，筛选出作用效果最好的超滤组分。结果表明，不同超滤组分对细胞无显著毒性作用，且能降低酪氨酸酶的酶活力、提高$ABTS^{+}$和ROS自由基清除能力、抑制NO和TNF-α产生，从而发挥抑制黑色素生成、抗氧化和抗炎作用，其中，相对分子质量<1 000超滤组分的效果最显著。综上，益生菌发酵上清液可作为抗光老化的化妆品中潜在的活性成分。研究表明，热灭活益生菌能够有效改善皮肤的健康状态，且成本低、安全性高。在此研究基础上，对3种益生菌发酵上清液的抗光老化作用进行研究，验证其抗光老化作用。

3种益生菌发酵上清液均属于混合物，并未对其发挥活性作用的确切成分进行挖掘，仅通过体外细胞试验研究益生菌发酵上清液的抗光老化作用，活性成分（如用作抗老化的化妆品添加物质）。还需要通过动物试验和人体试验进行验证，有必要进一步研究。

参考文献

[1] LI X K，QIU W J，LI J W，et al. First-generation species-selective chemical probes for fluorescence imaging of human senescence-associated β-galactosidase[J]. Chemical Science，2020，11(28)：7292-7301.

[2] CHOI S Y，BIN B H，KIM W，et al. Exposure of human melanocytes to UVB twice and subsequent incubation leads to cellular senescence and senescence-associated pigmentation through the prolonged p53 expression[J]. Journal of Dermatological Science，2018，90(3)：303-312.

[3] NGUYEN Q T N，FANG M Z，DO N Q，et al. *Anemopsis californica* attenuates photoaging by regulating MAPK，NRF2，and NFATc1 signaling pathways[J]. Antioxidants，2021，10(12)：1882.

[4] OLIVEIRA M M，RATTI B A，DARÉ R G，et al. Dihydrocaffeic acid prevents UVB-induced oxidative stress leading to the inhibition of apoptosis and MMP-1 expression *via* p38 signaling pathway[J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity，2019，2019(1)：2419096.

[5] LIU S W，YOU L，ZHAO Y X，et al. Hawthorn polyphenol extract inhibits UVB-induced skin photoaging by regulating MMP expression and type I procollagen production in mice[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry，2018，66(32)：8537-8546.

[6] PARK J H，LEE J E，CHOI S S，et al. Protective effects of silkworm hemolymph extract and its fractions on UV-induced photoaging[J]. Biotechnology and Bioprocess Engineering，2017，22(1)：37-44.

[7] KIM K，JEONG H I，YANG I，et al. Acremonidin E produced by *Penicillium* sp. SNF123，a fungal endophyte of *Panax ginseng*，has antimelanogenic activities[J]. Journal of Ginseng Research，2021，45(1)：98-107.

[8] RO J，KIM Y，KIM H，et al. Pectin micro- and nano-capsules of retinyl palmitate as cosmeceutical carriers for stabilized skin transport[J]. The Korean Journal of Physiology & Pharmacology，2015，19(1)：59-64.

[9] HONG J H，JUNG I I，CHO Y K，et al. Preparation of high-quality glabridin extract from *Glycyrrhiza glabra*[J].

Biotechnology and Bioprocess Engineering，2019，24（4）：666-674.

[10] MAEDA K，FUKUDA M. Arbutin：mechanism of its depigmenting action in human melanocyte culture[J]. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics，1996，276（2）：765-769.

[11] COUTEAU C，COIFFARD L. Overview of skin whitening agents：drugs and cosmetic products[J]. Cosmetics，2016，3（3）：27.

[12] KONG R，CUI Y L，FISHER G J，et al. A comparative study of the effects of retinol and retinoic acid on histological，molecular，and clinical properties of human skin[J]. Journal of Cosmetic Dermatology，2016，15（1）：49-57.

[13] XU J，ZHANG X F，SONG Y，et al. Heat-killed *Lacticaseibacillus paracasei* ameliorated UVB-induced oxidative damage and photoaging and its underlying mechanisms[J]. Antioxidants，2022，11（10）：1875.

[14] ZHANG X F，XU J，MA M Z，et al. Heat-killed *Lactobacillus rhamnosus* ATCC7469 improved UVB-induced photoaging *via* antiwrinkle and antimelanogenesis impacts[J]. Photochemistry and Photobiology，2023，99（5）：1318-1331.

[15] 卢怡雯，李晓芬，项朋志，等. 没食子酸清除DPPH自由基的紫外-可见吸收光谱研究[J]. 食品工业科技，2014，35（2）：124-126，130.
LU Y W，LI X F，XIANG P Z，et al. Study on UV-Vis absorption spectrometric investigation of the gallic acid against DPPH free radicals[J]. Science and Technology of Food Industry，2014，35（2）：124-126，130.（in Chinese）

[16] KATIYAR S K，MELETH S，SHARMA S D. Silymarin，a flavonoid from milk thistle（*Silybum marianum* L.），inhibits UV-induced oxidative stress through targeting infiltrating $CD11b^{+}$ cells in mouse skin[J]. Photochemistry and Photobiology，2008，84（2）：266-271.

[17] HUMPHRIES K M，SZWEDA P A，SZWEDA L I. Aging：a shift from redox regulation to oxidative damage[J]. Free Radical Research，2006，40（12）：1239-1243.

[18] LUGRIN J，ROSENBLATT-VELIN N，PARAPANOV R，et al. The role of oxidative stress during inflammatory processes[J]. Biological Chemistry，2014，395（2）：203-230.

[19] LEE S，HOANG G D，KIM D，et al. Efficacy of alpinumisoflavone isolated from *Maclura tricuspidata* fruit in tumor necrosis factor-α-induced damage of human dermal fibroblasts[J]. Antioxidants，2021，10（4）：514.

[20] TAO X Y，HU X，WU T C，et al. Characterization and screening of anti-melanogenesis and anti-photoaging activity of different enzyme-assisted polysaccharide extracts from *Portulaca oleracea* L.[J]. Phytomedicine，2023，116：154879.

[21] CHOI H，YOON J H，YOUN K，et al. Decursin prevents melanogenesis by suppressing MITF expression through the regulation of PKA/CREB，MAPKs，and PI3K/Akt/GSK-3β cascades[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy，2022，147：112651.

[22] PRESCOTT S L，LARCOMBE D L，LOGAN A C，et al. The skin microbiome：impact of modern environments on skin ecology，barrier integrity，and systemic immune programming[J]. World Allergy Organization Journal，2017，10：29.

[23] PIQUÉ N，BERLANGA M，MIÑANA-GALBIS D. Health benefits of heat-killed（tyndallized）probiotics：an overview[J]. International Journal of Molecular Sciences，2019，20（10）：2534.

[24] PHILIPPE D，BLUM S，BENYACOUB J. Oral *Lactobacillus paracasei* improves skin barrier function recovery and reduces local skin inflammation[J]. European Journal of Dermatology，2011，21（2）：279-280.

[25] BENYACOUB J，BOSCO N，BLANCHARD C，et al. Immune modulation property of *Lactobacillus paracasei* NCC2461（ST11）strain and impact on skin defences[J]. Beneficial Microbes，2014，5（2）：129-136.

[26] CHAIYASUT C，TIRAWAT Y，SIVAMARUTHI B S，et al. Effect of *Lactobacillus paracasei* HII01 supplementation on total cholesterol，and on the parameters of lipid and carbohydrate metabolism，oxidative stress，inflammation and digestion in Thai hypercholesterolemic subjects[J]. Applied Sciences，2021，11（10）：4333.

[27] AKTER S，PARK J H，JUNG H K. Potential health-promoting benefits of paraprobiotics，inactivated probiotic cells[J]. Journal of Microbiology and Biotechnology，2020，30（4）：477-481.

[28] GAO T，WANG X Y，LI Y X，et al. The role of probiotics in skin health and related gut-skin axis：a review[J]. Nutrients，2023，15（14）：3123.

[29] TSAI C C，CHAN C F，HUANG W Y，et al. Applications of *Lactobacillus rhamnosus* spent culture supernatant in cosmetic antioxidation，whitening and moisture retention applications[J]. Molecules，2013，18（11）：14161-14171.

[30] 李鸾，王丹丹，青格乐，等. 植物乳植杆菌IMAU30043胞外多糖对脂多糖诱导的RAW264.7巨噬细胞氧化损伤的保护作用[J]. 食品与生物技术学报，2024，43（9）：80-89.
LI L，WANG D D，QING G L，et al. Protection of exopolysaccharide from *Lactiplantibacillus plantarum* IMAU30043 against oxidative damage in RAW264.7 macrophages[J]. Journal of Food Science and

Biotechnology，2024，43(9)：80-89.(in Chinese)
[31] LEE S，PARK H O，YOO W. Anti-melanogenic and antioxidant effects of cell-free supernatant from *Lactobacillus gasseri* BNR17 [J]. Microorganisms，2022，10(4)：788.
[32] DING Y L，JIRATCHAYAMAETHASAKUL C，LEE S H. Protocatechuic aldehyde attenuates UVA-induced photoaging in human dermal fibroblast cells by suppressing MAPKs/AP-1 and NF-κB signaling pathways[J]. International Journal of Molecular Sciences，2020，21(13)：4619.
[33] PERMATASARI F，HU Y Y，ZHANG J A，et al. Anti-photoaging potential of botulinum toxin type A in UVB-induced premature senescence of human dermal fibroblasts *in vitro* through decreasing senescence-related proteins[J]. Journal of Photochemistry and Photobiology B：Biology，2014，133：115-123.
[34] LIU J Z，JIANG R，ZHOU J Y，et al. Salicylic acid in ginseng root alleviates skin hyperpigmentation disorders by inhibiting melanogenesis and melanosome transport [J]. European Journal of Pharmacology，2021，910：174458.
[35] KIM J H，GAO D，JEONG W S，et al. Anti-wrinkle effect of *Isatis indigotica* leaf extract：evaluation of antioxidant，anti-inflammation，and clinical activity[J]. Antioxidants，2021，10(9)：1339.
[36] HU S H，HUANG J H，PEI S Y，et al. *Ganoderma lucidum* polysaccharide inhibits UVB-induced melanogenesis by antagonizing cAMP/PKA and ROS/MAPK signaling pathways [J]. Journal of Cellular Physiology，2019，234(5)：7330-7340.
[37] ZHOU J，CHENG G，PANG H，et al. The effect of ^{131}I-induced hypothyroidism on the levels of nitric oxide (NO)，interleukin 6 (IL-6)，tumor necrosis factor alpha (TNF-α)，total nitric oxide synthase (NOS) activity，and expression of NOS isoforms in rats[J]. Bosnian Journal of Basic Medical Sciences，2018，18(4)：305-312.
[38] 邓逸琳，王斌，曹辉. 6种乳酸菌发酵液对皮肤抗氧化及美白功能的评价[J]. 日用化学工业，2020，50(5)：325-330.
DENG Y L，WANG B，CAO H. Evaluation of six *Lactobacillus* fermentation broth on skin antioxidant and whitening function[J]. China Surfactant Detergent & Cosmetics，2020，50(5)：325-330.(in Chinese)
[39] HONG Y K，AN S，LEE Y H，et al. Potential anti-ageing effects of probiotic-derived conditioned media on human skin cells[J]. Acta Pharmaceutica，2022，72(3)：359-374.
[40] KUMAR R，SHARMA A，GUPTA M，et al. Cell-free culture supernatant of probiotic *Lactobacillus fermentum* protects against H_2O_2-induced premature senescence by suppressing ROS-Akt-mTOR axis in murine preadipocytes [J]. Probiotics and Antimicrobial Proteins，2020，12(2)：563-576.
[41] KIM H，KIM H R，JEONG B J，et al. Effects of oral intake of kimchi-derived *Lactobacillus plantarum* K8 lysates on skin moisturizing[J]. Journal of Microbiology and Biotechnology，2015，25(1)：74-80.
[42] ZHANG Y Z，LIU P P，FU H，et al. Effects of *Lactobacillus kefiri* fermentation supernatant on skin aging caused by oxidative stress [J]. Journal of Functional Foods，2022，96：105222.
[43] WANG Y S，FANG Z F，ZHAI Q X，et al. Supernatants of *Bifidobacterium longum* and *Lactobacillus plantarum* strains exhibited antioxidative effects on A7R5 cells[J]. Microorganisms，2021，9(2)：452.
[44] MAN M Q，WAKEFIELD J S，MAURO T M，et al. Regulatory role of nitric oxide in cutaneous inflammation [J]. Inflammation，2022，45(3)：949-964.
[45] SORNSENEE P，CHIMPLEE S，ROMYASAMIT C. Evaluation of antibacterial，antibiofilm，antioxidant，and anti-inflammatory activities of kratom leaves (*Mitragyna speciosa*) fermentation supernatant containing *Lactobacillus rhamnosus* GG [J]. Probiotics and Antimicrobial Proteins，2025，17(1)：328-340.
[46] CIEBIERA M，WŁODARCZYK M，ZGLICZYŃSKA M，et al. The role of tumor necrosis factor α in the biology of uterine fibroids and the related symptoms [J]. International Journal of Molecular Sciences，2018，19(12)：3869.
[47] JIANG M X，DENG K，JIANG C L，et al. Evaluation of the antioxidative，antibacterial，and anti-inflammatory effects of the *Aloe* fermentation supernatant containing *Lactobacillus plantarum* HM218749.1[J]. Mediators of Inflammation，2016，2016(1)：2945650.
[48] YADAV H，JAIN S，SINHA P R. Production of free fatty acids and conjugated linoleic acid in probiotic dahi containing *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* during fermentation and storage[J]. International Dairy Journal，2007，17(8)：1006-1010.
[49] WANG K，LI W，RUI X，et al. Characterization of a novel exopolysaccharide with antitumor activity from *Lactobacillus plantarum* 70810[J]. International Journal of Biological Macromolecules，2014，63：133-139.
[50] ZHANG M Y，LIU S Q，YANG X M，et al. Immunomodulatory effects of different molecular weight *Sporisorium reilianum* polypeptides on LPS-induced RAW264.7 macrophages[J]. Food Bioscience，2021，43：101322.

（责任编辑：李春丽）