DOI:10.12441/spyswjs.20250509001 [文章编号] 1673-1689(2026)03-0151-12

坛紫菜水提物的抗氧化效果及对UVB诱导的光损伤保护作用

乔乐克[1] 江晓路[1] 刘 菲[2] 常一斐[3] 刘 慧[2] 杨素珍[2*]

(1. 青岛海洋生物医药研究院,山东 青岛 266100; 2. 山东福瑞达生物股份有限公司,山东 济南 250101; 3. 中国海洋大学食品科学与工程学院,山东 青岛 266404)

摘要:【目的】探究坛紫菜水提物(*Porphyra haitanensis* extract,PHE)抗氧化效果及其对UVB诱导的微生物和人永生化角质形成细胞(human immortalized keratinocytes,HaCaT)光损伤的保护作用。**【方法】**解析PHE组分,采用DPPH自由基和羟自由基清除试验评价PHE的抗氧化活性。通过微生物模型,探讨PHE对大肠埃希菌(*Escherichia coli*,*E. coli*)和白色念珠菌(*Candida albicans*,*C. albicans*)抗UVB辐照损伤的保护效果,同时基于HaCaT细胞模型,解析PHE对UVB引起的细胞氧化应激因子的表达及DNA损伤情况的缓解作用。**【结果】**PHE主要成分为糖类,质量分数为(639.82±17.35) mg/g,具有良好的体外抗氧化活性,并可有效提高*E. coli*和*C. albicans*的抗辐照率。1.00 mg/mL的PHE可显著提高HaCaT细胞存活率(P<0.01),显著降低细胞内活性氧(reactive oxygen species,ROS)水平至29.52%(P<0.001),有效缓解氧化应激损伤。此外,PHE能将环丁烷嘧啶二聚体(cyclobutane pyrimidine dimers,CPDs)质量浓度显著降低至7.66 mg/mL(P<0.005)。**【结论】**PHE可通过平衡细胞内氧化应激体系和缓解DNA损伤发挥光损伤保护效果。

关键词:坛紫菜水提物;抗氧化;抗辐照率;HaCaT细胞;光损伤

Antioxidant Activity and Protective Effect of *Pyropia haitanensis* Extract Against UVB-induced Photodamage

QIAO Leke[1] *JIANG Xiaolu*[1] *LIU Fei*[2] *CHANG Yifei*[3] *LIU Hui*[2] *YANG Suzhen*[2*]

(1. Marine Biomedical Research Institute of Qingdao, Qingdao 266100, China; 2. Shandong Freda Biotech Co., Ltd., Jinan 250101, China; 3. College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266404, China)

Abstract: [**Objective**] This study aimed to investigate the antioxidant effects of *Porphyra haitanensis* extract (PHE) and its protective effect against UVB-induced photodamage in microbial models and human immortalized keratinocytes (HaCaT). [**Method**] The components of PHE were analyzed, and the antioxidant activity of PHE was evaluated by DPPH and hydroxyl radical scavenging assays. Microbial models were used to investigate the protective effects of PHE against UVB irradiation-induced damage in *Escherichia coli* (*E. coli*) and *Candida albicans* (*C. albicans*). Additionally, the HaCaT cell model was employed to analyze how PHE alleviated UVB-induced expression of oxidative stress factors and DNA damage. [**Result**] The primary components of PHE were carbohydrates, with a mass fraction of (639.82±17.35) mg/g. PHE demonstrated good *in vitro* antioxidant activity and effectively enhanced the radiation resistance rates of both *E. coli* and *C. albicans*. At a mass concentration of 1.00 mg/mL, PHE increased the HaCaT cell survival rate (P<0.01) and reduced the intracellular reactive oxygen species (ROS) level to 29.52% (P<0.001), thereby alleviating oxidative stress damage. In addition, it decreased the mass concentration of cyclobutane pyrimidine dimers (CPDs) to 7.66 mg/mL

通信作者:杨素珍(1968—),女,学士,工程技术应用研究员,主要从事皮肤科学与化妆品科学研究。E-mail:85844202@qq.com

收稿日期:2025-05-09 **修回日期:**2025-06-12

(P<0.005). [**Conclusion**] PHE may exert the protective effect against photodamage by balancing the intracellular oxidative stress system and mitigating DNA damage.

Keywords: *Pyropia haitanensis* extract; antioxidant effect; radiation resistance rate; HaCaT cell; photodamage

坛紫菜(*Porphyra haitanensis*)属于红藻门原红藻纲红毛菜目红毛菜科紫菜属,是一种生长于潮间带中高潮区域的大型经济红藻[1-2]。坛紫菜的分布范围较广,在我国主要分布于福建、浙江和广东等沿海地区,山东、江苏等地的养殖面积也逐渐扩大,现已成为我国主要的紫菜养殖品种。据统计,我国坛紫菜年产量(以干质量计)约占紫菜年总产量的75%[3]。坛紫菜富含多糖、肽、酚类、矿物质及维生素等多种活性物质,具有抗氧化、抗衰老、抗肿瘤、抗辐照、降血脂、降血糖以及免疫调节等多种生理功能,在功能性食品、化妆品以及医药领域应用广泛[4-5]。

随着人们生活水平的提高,人们对皮肤健康的问题越来越重视。皮肤是人体最大的器官,也是抵御外部环境侵害的第一道屏障[6]。然而,随着大气环境破坏的加剧,地球表面的紫外线强度日渐升高。过度暴露于紫外线的表现之一为晒伤反应,其在宏观上的表现为组织液外渗、红斑、水肿等症状[7],其本质为紫外线引发的皮肤细胞DNA损伤和氧化应激损伤,进而导致细胞炎症、衰老、凋亡甚至诱发皮肤癌等疾病[8]。因此,人们对具有抗紫外辐照效果的产品需求正在迅速增长。相关数据显示,2013—2022年,我国防晒化妆品市场规模已从17.45亿元增长至148亿元[9],这一增长趋势反映出抗紫外辐照剂已经成为研究人员和广大消费者共同关注的热点。

目前,市场上的抗紫外辐照剂主要分为两大类。一类是物理性紫外吸收剂,包括氧化锌和二氧化钛等,其主要通过反射或散射作用起效,但质地厚重且持久性较差[10];另一类是化学性紫外吸收剂,包括水杨酸乙酸己酯和甲氧基肉桂酸乙酸己酯等,其主要通过能量转化发挥作用,但具有皮肤致敏、内分泌干扰以及遗传毒性的潜在风险[11]。因此,健康安全并具有抗紫外辐照功能的天然产物的市场前景广阔。坛紫菜作为红藻的重要组成部分,其生长环境特殊,需耐受高压、高盐以及辐照等不良因素。相关研究表明,紫菜多糖、多酚类等功能成分具有良好的抗氧化和抗衰老活性,可以作为天然的皮肤营养剂应用于护肤品开发[5]。然而,PHE作为抗紫外辐照剂的研究鲜有报道。

作者以PHE为研究对象,对其进行组分分析和体外抗氧化评价,并建立UVB诱导的微生物抗辐照模型与人永生化角质形成细胞(HaCaT)抗辐照模型,从微生物生长、细胞水平氧化应激及DNA损伤等方面对PHE的抗UVB辐照功效进行系统评价,以期发掘坛紫菜在抗辐照化妆品领域的应用潜力。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

坛紫菜:福建蓝海食品科技有限公司;*E. coli*(CMCC(B)44102)、*C. albicans*(CMCC(F)98001):中国食品药品检定研究院;HaCaT细胞:南京科佰生物科技有限公司。

DMEM高糖培养基、胎牛血清、胰酶、抗生素:普诺赛生命科技有限公司;DPPH:德国Sigma公司;甲基噻唑基四唑(methyl thiazolyl tetrazolium,MTT)测试盒:北京索莱宝科技有限公司;蛋白质定量(bicinchoninic acid assay,BCA)测试盒、ROS测试盒、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)测试盒、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathion peroxidase,GSH-Px)测试盒、丙二醛(malondialdehyde,MDA)测试盒:南京建成生物工程研究所有限公司;CPDs酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay,ELISA)试剂盒:上海酶联生物科技有限公司。试验所用其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

暗箱式四用紫外分析仪:ZF-8型,上海嘉鹏科技有限公司;酶标仪:TECAN Infinite E Plex型,帝肯(上海)贸易有限公司;二氧化碳培养箱:HF90型,上海力申科学仪器有限公司;超净台:HCB-900V型,青岛海尔生物医疗股份有限公司;普通倒置显微镜:DXS-2型,上海缔伦光学仪器有限公司。

1.3　方法

1.3.1　PHE的制备

按作者所在课题组前期建立的最优工艺进行PHE的制备。坛紫菜烘干、粉碎过40目筛，在料液比1 g∶25 L、80 ℃条件下水浴提取3 h，8 000 r/min离心10 min，收集上清液，减压浓缩，用体积分数75%乙醇沉淀24 h，4 000 r/min离心10 min，收集沉淀。将沉淀复溶后冷冻干燥，得到PHE样品，密封置于阴凉干燥处备用。

1.3.2　PHE基本组分分析

准确称取PHE固体1.0 g置于50 mL容量瓶中，用蒸馏水定容，完全溶解后作为待测液。采用苯酚-硫酸法[12]测定总糖质量分数；采用3，5-二硝基水杨酸法[13]测定还原糖质量分数；采用考马斯亮蓝法[14]测定可溶性蛋白质量分数；采用Folin-Ciocalteu法[15]测定总多酚质量分数；并依据GB 5009.6—2016中的索氏抽提法测定脂肪质量分数。

1.3.3　DPPH自由基清除率的测定

参考Qiu等[4]的方法并稍加修改。设置无水甲醇为空白对照组，2 mL DPPH溶液和2 mL无水甲醇为阴性对照组，2 mL不同质量浓度PHE溶液和2 mL无水甲醇为本底组，2 mL不同质量浓度PHE溶液和2 mL DPPH溶液为试验组。所有组别均置于室温避光处反应30 min，在517 nm测定吸光度，按照式（1）计算DPPH自由基清除率。

$$D=\frac{1-(T-T_0)}{C-C_0}\times 100\% \quad (1)$$

式中：

D——DPPH自由基清除率，%；

T——试验组吸光度；

T_0——本底组吸光度；

C——阴性对照组吸光度；

C_0——空白对照组吸光度。

1.3.4　羟自由基清除率的测定

参考Qiu等[4]的方法并稍加修改。设置1 mL 9 mmol/L $FeSO_4$、1 mL 9 mmol/L水杨酸-乙醇和2 mL蒸馏水作为空白对照组，用1 mL 8.8 mmol/L H_2O_2替换空白对照组中的1 mL蒸馏水作为阴性对照组，用1 mL不同质量浓度的PHE溶液替换空白对照组中的1 mL蒸馏水作为本底组，用1 mL 8.8 mmol/L H_2O_2替换本底组中1 mL蒸馏水作为试验组。所有组别均置于37 ℃水浴锅反应15 min，在510 nm测定吸光度，计算羟自由基清除率。

1.3.5　微生物菌悬液的制备

1）*E. coli*菌悬液的制备：参照唐倩[16]的方法并稍加修改。取出*E. coli*保藏菌种，完全解冻后，接种于营养琼脂斜面培养基，37 ℃恒温培养24 h。从斜面上挑取*E. coli*菌落接种于液体培养基中，37 ℃、180 r/min振荡培养4~8 h后，通过平板计数确定菌落数，经适当稀释后配制1×10^9 CFU/mL菌悬液，即为试验所需菌悬液。

2）*C. albicans*菌悬液的制备：参考臧聚玲[17]的方法并稍加修改。取出*C. albicans*保藏菌种，完全解冻后，接种于沙氏葡萄糖琼脂斜面培养基，28 ℃恒温培养48 h。从斜面上挑取*C. albicans*菌落接种于液体培养基中，28 ℃、180 r/min振荡培养12~24 h后，通过平板计数确定菌落数，经适当稀释后配制1×10^6 CFU/mL菌悬液，即为试验所需菌悬液。

1.3.6　微生物UVB辐照曲线的绘制

1）*E. coli*辐照曲线的绘制：参考唐倩[16]的方法并稍加修改。将紫外灯预热30 min以避免试验过程中的杂菌污染，取5 mL 1×10^9 CFU/mL *E. coli*菌悬液于直径9 cm的无菌培养皿内，于紫外箱中心位置进行辐照，设置不同辐照强度，按照式（2）计算*E. coli*存活率并绘制*E. coli*辐照曲线。

$$B=\frac{B_i}{B_0}\times 100\% \quad (2)$$

式中：

B——微生物存活率，%；

B_i——辐照菌悬液活菌数，CFU/mL；

B_0——未辐照菌悬液活菌数，CFU/mL。

2）*C. albicans*辐照曲线的绘制：辐照菌悬液浓度为1×10^6 CFU/mL，其余操作与*E. coli*相同，按照式（2）计算*C. albicans*存活率并绘制*C. albicans*辐照曲线。

1.3.7　微生物抗辐照率的测定

1）*E. coli*抗辐照率测定：参照1.3.6中*E. coli*辐照曲线绘制的方法并稍加修改。添加不同质量浓度PHE溶液至菌悬液中，调整辐照强度为20 mJ/cm^2，以单一*E. coli*菌悬液为对照组，按照式（3）计算抗辐照率探讨不同质量浓度PHE对

*E. coli*抗UVB辐照的影响。

$$A=\frac{\lg A_i-\lg A_0}{\lg A_i}\times 100\% \quad (3)$$

式中：

A——抗辐照率，%；

A_i——对照组经紫外辐照后的活菌数，CFU/mL；

A_0——试验组经紫外辐照后的活菌数，CFU/mL。

2）*C. albicans*抗辐照率测定：参照1.3.6中*C. albicans*抗辐照曲线绘制的方法并稍加修改。添加不同质量浓度PHE溶液至菌悬液中，调整辐照强度为30 mJ/cm^2，以单一*C. albicans*菌悬液为对照组，参照式（3）计算抗辐照率，探讨不同质量浓度PHE对*C. albicans*抗UVB辐照的影响。

1.3.8 HaCaT细胞培养

用含有体积分数10%胎牛血清、体积分数1%双抗和体积分数1%谷氨酰胺的DMEM高糖培养基培养HaCaT细胞，将其置于37 ℃、体积分数5% CO_2培养箱中培养。

1.3.9 PHE的HaCaT细胞毒性测定

参照朱恒杏等[18]的方法并稍加修改。取对数生长期细胞接种于96孔板中，细胞数为5×10^{4}个/mL，接种量为100 μL，于37 ℃恒温CO_2培养箱中培养12~24 h至细胞贴壁，弃去上清液。按试验设计，每孔加入不同质量浓度的PHE，继续培养24 h。随后，每孔加入20 μL MTT试剂，继续培养4 h弃去上清液，向各孔中加入150 μL DMSO，低频振荡10 min，用酶标仪测定490 nm的吸光度，按照式（4）计算细胞存活率。

$$R=\frac{R_i-R_0}{R_1-R_0}\times 100\% \quad (4)$$

式中：

R——细胞存活率，%；

R_i——样品组在490 nm的吸光度；

R_1——对照组在490 nm的吸光度；

R_0——空白组在490 nm的吸光度。

1.3.10 UVB诱导HaCaT细胞辐照模型的建立

参考Chang等[19]的方法并稍加修改。取对数生长期细胞接种于96孔板中，细胞数为5×10^{4}个/mL，接种量为100 μL，于37 ℃恒温CO_2培养箱中培养12~24 h至贴壁后，弃去上清液。向96孔板中加入少量PBS缓冲液，分别进行不同强度的UVB辐照。辐照完成后，弃去PBS，更换新培养液。继续培养24 h后，按照1.3.9的方法测定细胞存活率。

1.3.11 PHE对UVB诱导的HaCaT细胞存活率测定

基本操作与1.3.10相同，设置对照组、模型组与试验组。试验组分别加入不同质量浓度的PHE。除对照组外，其余各组均进行UVB辐照，按1.3.9的方法测定细胞存活率。

1.3.12 ROS水平测定

取对数生长期细胞接种于6孔板中，细胞数为1.2×10^{6}个/mL，接种量为2.5 mL。按照1.3.11的方法进行细胞分组与处理，按照ROS测试盒说明书进行后续操作。将模型组ROS表达量设为100%，其余各组以相对百分比表示。

1.3.13 SOD、GSH-Px活力测定和MDA质量摩尔浓度测定

取对数生长期细胞接种于6孔板中，细胞数为1.2×10^{6}个/mL，接种量为2.5 mL。按照1.3.11的方法进行细胞分组与处理。对细胞进行裂解，收集上清液。按照各检测试剂盒说明书测定SOD、GSH-Px活力和MDA质量摩尔浓度。

1.3.14 DNA损伤保护效果评价

取对数生长期细胞接种于6孔板中，细胞数为1.2×10^{6}个/mL，接种量为2.5 mL。按照1.3.11的方法进行细胞分组与处理。收集细胞培养液，按照ELISA检测试剂盒说明书测定CPDs质量浓度。

1.4 数据统计与分析

所有试验均独立重复3次，数据表示为平均值±标准差。用GraphPad Prism 9.0软件对结果进行统计分析，P<0.05表示差异显著，具有统计学意义。

2 结果与讨论

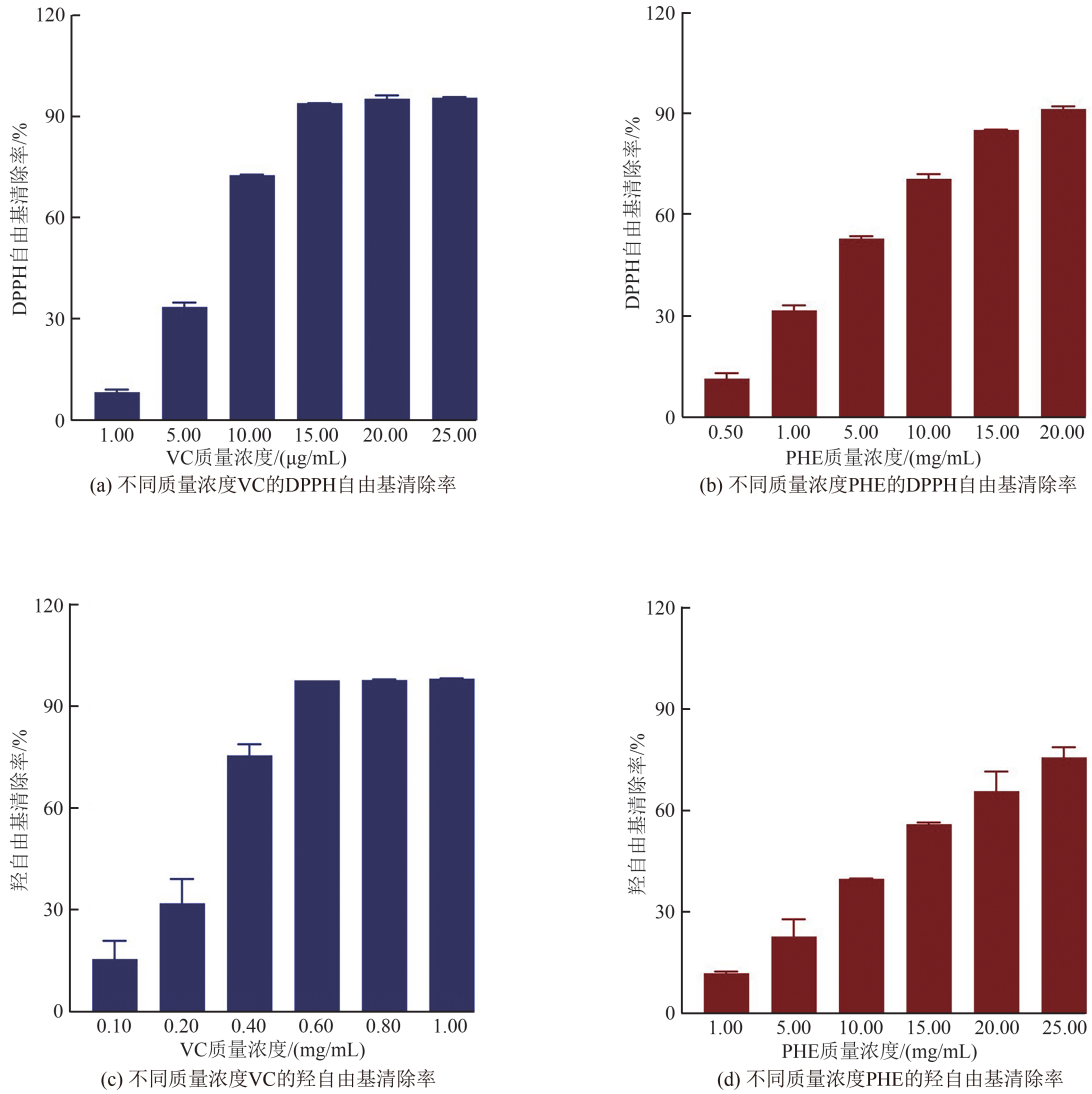
2.1 PHE基本组分分析结果

PHE的主要成分为糖类，质量分数为（639.82±17.35）mg/g；其次为可溶性蛋白和还原糖，质量分数分别为（123.26±2.84）、（11.55±0.15）mg/g；而脂肪和总酚质量分数较低，质量分数分别（5.32±0.14）、（3.41±0.05）mg/g，占比均不足1%，这可能与水提物的制备工艺有关。热水浸提过程中，高温使坛紫菜细胞质壁分离，让胞外水溶剂更容易进入胞内使多糖溶出[5]。相比之下，酚类组

分和脂肪类组分则易于溶解在乙醇等有机相介质中，故而其质量分数偏低。

2.2　体外抗氧化效果评价

DPPH自由基是一种稳定的自由基，羟自由基是一种较为常见的活性氧自由基，两者均可被具有抗氧化功能的物质捕获和中和。作者通过研究PHE对DPPH自由基和羟自由基的清除作用来评价其体外抗氧化效果。如图1所示，PHE对2种自由基的清除效果均呈现剂量依赖性。其中，PHE的DPPH自由基清除率的IC_{50}值为3.26 mg/mL。Cai等[20]在讨论紫菜多糖的体外抗氧化活性时发现，3 mg/mL紫菜多糖的DPPH自由基清除率仅为10%左右。黄海潮等[21]发现，坛紫菜多糖的DPPH自由基清除率的IC_{50}值为9.37 mg/mL，与之相比，PHE具有更优异的DPPH自由基清除作用。PHE的羟自由基清除率的IC_{50}值为12.34 mg/mL，表明其亦具有一定的捕捉活性氧自由基的能力，体外抗氧化效果较好，这可能与PHE中含有的多糖组分和多酚组分有关。DPPH自由基清除作用与供氢反应密切相关，其清除能力的强弱与受试物氢原子转移活性相匹配[22]。孔立敏[23]的研究表明，紫菜多糖结构中含有大量羟基，是良好的电子供体和氢供体，可以捕获DPPH自由基，形成稳定的DPPH-H分子，同时也可以结合羟自由基，形成稳定化合物终止自由基链式反应，从而发挥抗氧化功效。此外，紫菜中的多酚类物质也可以通过提



(a) 不同质量浓度VC的DPPH自由基清除率　(b) 不同质量浓度PHE的DPPH自由基清除率

(c) 不同质量浓度VC的羟自由基清除率　(d) 不同质量浓度PHE的羟自由基清除率

图1　PHE的体外抗氧化能力

Fig. 1　Antioxidant activity of PHE *in vitro*

供氢原子或螯合剂等方式发挥清除自由基的作用[24]。

2.3 PHE对UVB诱导的微生物抗辐照的影响效果评价

2.3.1 UVB诱导的微生物损伤模型的建立

紫外线辐照会增加氧自由基的生成，过量的氧自由基可浸润微生物细胞并损伤其结构，产生类脂过氧化物，从而影响细胞膜功能，阻碍微生物的正常生长与代谢[16,25]。如图2(a)~(b)所示，UVB辐照对*E. coli*和*C. albicans*均具有显著的杀伤作用。以*E. coli*为例，随着辐照强度的增强，其存活率逐渐降低。当辐照强度为20 mJ/cm^{2}时，*E. coli*的存活率为52.93%；继续增加辐照强度至30、40、50 mJ/cm^2，其存活率分别降至21.85%、12.69%、1.07%。这些结果表明，*E. coli*对低剂量的紫外辐照具有一定的抵抗能力，但对于长时间、高剂量的紫外辐照的抵抗力较弱。相比之下，真核微生物*C. albicans*抵抗UVB辐照的能力稍强，在辐照强度为20 mJ/cm^{2}时，其存活率可达66.23%；当辐照强度进一步增加到30 mJ/cm^{2}时，其存活率降低至54.51%，这可能与微生物的细胞结构差异有关。*C. albicans*细胞壁含有甘露聚糖和葡聚糖，可以有效抵御氧自由基对细胞膜中类脂和蛋白质的损害[25]。此外，真核细胞完整的细胞核结构可能更有利于抵抗由紫外线造成的DNA损伤。综合考虑，分别选择辐照强度20 mJ/cm^{2}和30 mJ/cm^{2}用于后续*E. coli*和*C. albicans*抗辐照率的测定。

2.3.2 PHE对微生物抗辐照率的影响

微生物抗辐照模型是一种探究抗紫外辐照功能的传统模型，多用于微生物产胞外多糖或其他次级代谢产物的抗辐照功效评价[15]，近年来逐渐应用于藻类多糖的抗辐照研究中。例如，唐倩[16]采用大肠杆菌抗紫外辐照模型，讨论了从强紫外辐照环境中分离出来的具鞘微鞘藻胞外多糖的抗紫外辐照能力；臧聚玲[17]探究了*Pantoea agglomerans* KFS胞外多糖的抗紫外辐照性能，选用白色念珠菌作为真菌试验模型；梁晓婷[25]在讨论*Pantoea agglomerans* TCa-7多糖的抗紫外辐照活性时，也采用了白色念珠菌作为真菌模型菌株。然而，微生物抗辐照模型在紫菜水提物类的抗辐照研究中却鲜有报道。本研究以原核微生物*E. coli*和真核微生物*C. albicans*作为抗UVB辐照模型，以评价PHE对缓解UVB诱导的微生物损伤的保护效果。

不同质量浓度PHE对*E. coli*和*C. albicans*的抗辐照率的影响见图2(c)~(d)。当PHE质量浓度为2.00 mg/mL时，*E. coli*抗辐照率为16.71%，几乎达到峰值；继续增加PHE质量浓度，*E. coli*抗辐照率的增幅不显著。当PHE质量浓度为4.00 mg/mL时，*C. albicans*抗辐照率达到峰值，约为14%。结果表明，PHE对*E. coli*和*C. albicans*均具有良好的抗紫外辐照效果。UVB辐照会导致微生物胞内琥珀酸脱氢酶及过氧化氢酶活性降低，影响细胞呼吸并显著减缓新陈代谢过程中产生的活性氧和其他有害物质的分解效率，进而造成细胞功能损坏或丧失，甚至导致细胞死亡[26]。由此推测，PHE可能借助于细胞膜的渗透作用进入微生物细胞内，通过对活性氧类自由基的捕获、中和和清除作用，发挥其抗辐照功效。

2.4 PHE对UVB诱导的HaCaT细胞抗辐照的影响

2.4.1 细胞毒性

采用MTT法探究不同质量浓度PHE对HaCaT细胞的毒性，以确定PHE的安全性和适宜质量浓度。由图3可知，随着PHE质量浓度的增加，细胞存活率呈下降趋势。当PHE质量浓度≤2.00 mg/mL时，细胞存活率均≥95.71%；当PHE质量浓度升高至4.00 mg/mL时，细胞存活率下降至76.32%(P<0.001)。当细胞存活率高于80%时可视为样品对该细胞无明显毒性[18]。考虑到原料成本，在试验效果接近时，优选较低的质量浓度。因此，在后续试验过程中，选择PHE质量浓度<2.00 mg/mL作为受试质量浓度。

2.4.2 UVB诱导的HaCaT细胞损伤模型的建立结果

紫外辐照易打破皮肤细胞的氧化平衡，导致细胞氧化应激增强，线粒体膜电位升高，造成氧化损伤及细胞凋亡等。在研究紫外线对人体皮肤损伤的试验中，HaCaT细胞是使用较为广泛的经典细胞模型之一[15]，因此作者采用UVB辐照建立HaCaT细胞损伤模型。如图4(a)所示，HaCaT细胞存活率随着UVB辐照强度的增加呈下降趋势，表明UVB辐照对细胞具有杀伤作用。当辐照强度为30 mJ/cm^{2}时，HaCaT细胞存活率为52.88%；继续

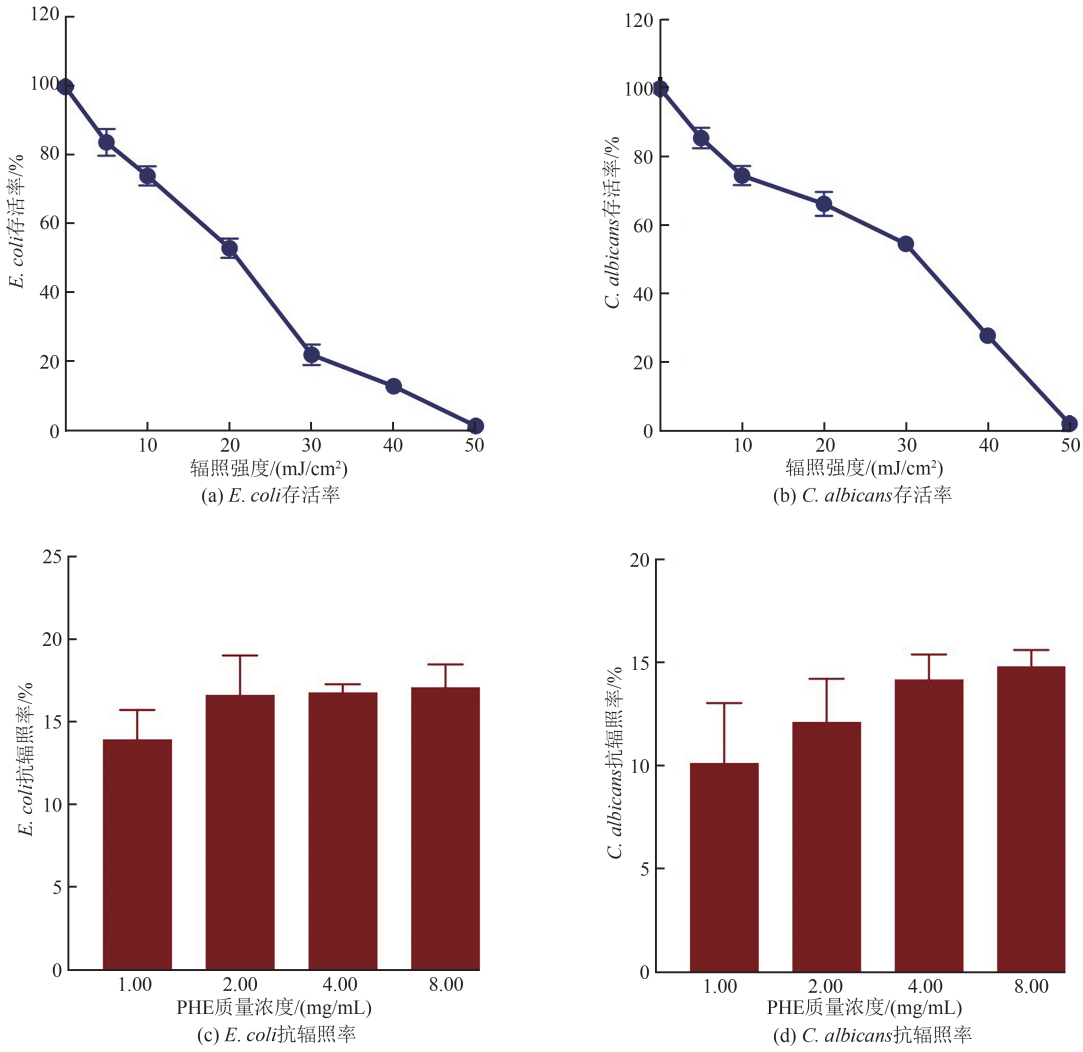


图2　PHE对微生物抗UVB辐照的影响

Fig. 2　Effects of PHE on UVB radiation resistance in microbial models

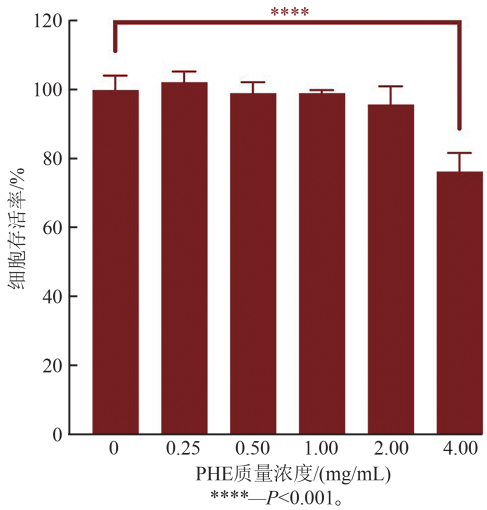


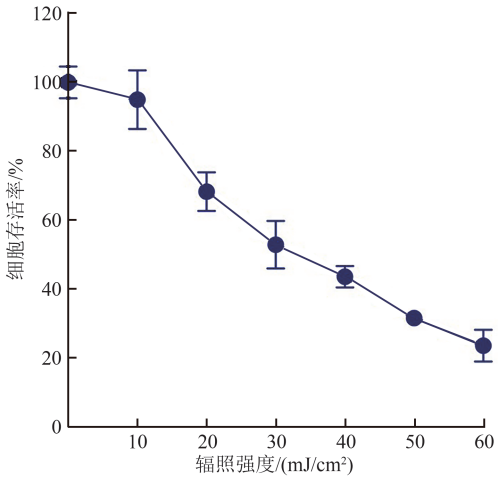
图3　PHE对HaCaT细胞的毒性评价

Fig. 3　Toxicity evaluation of PHE in HaCaT cells

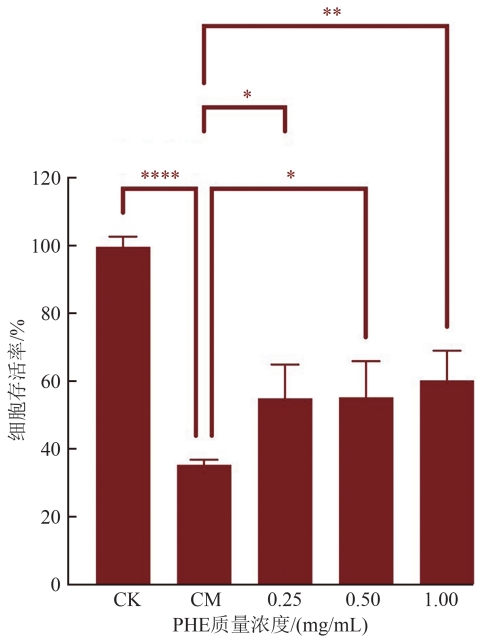
增大辐照强度至60 mJ/cm²，细胞存活率降低至23.55%。因此在后期试验过程中，选用30 mJ/cm²的辐照强度进行建模。

2.4.3　PHE对UVB诱导的HaCaT细胞存活率的影响

细胞存活率是细胞状态的基础指标，细胞存活率越高表明细胞状态越好[27]。如图4(b)所示，模型组(CM)的细胞存活率为35.41%，与空白组(CK)相比差异显著(P<0.001)，表明建模成功。与CM相比，试验组的细胞存活率均显著升高。当PHE质量浓度为0.25、0.50 mg/mL时，细胞存活率分别为55.13%和55.48%；当PHE质量浓度为1.00 mg/mL时，细胞存活率提高至60.45%(P<0.01)，表明PHE提高UVB诱导的HaCaT细胞存活率的效果显著。



(a) UVB对HaCaT细胞存活率的影响



*—P<0.05；**—P<0.01；****—P<0.001。

(b) 坛紫菜水提物对HaCaT细胞存活率的影响

图 4 PHE 对 UVB 诱导的 HaCaT 细胞存活率的影响

Fig. 4 Effects of PHE on the survival rate of UVB-treated HaCaT Cells

2.4.4 PHE 对 UVB 诱导的 HaCaT 细胞氧化应激相关因子水平的影响

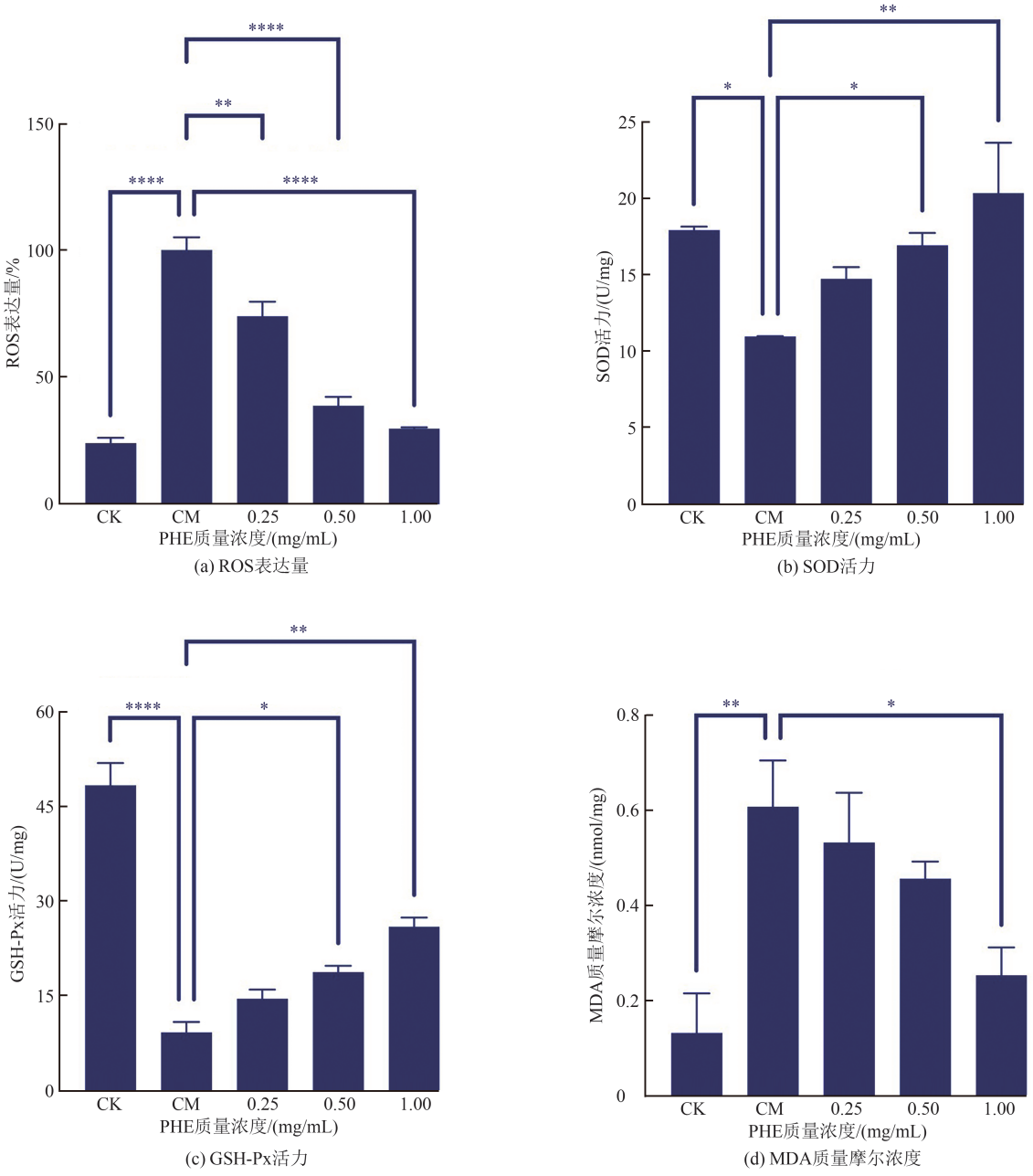
ROS 是指在生物体内与氧代谢有关的、含氧自由基和易形成自由基的过氧化物的总称，其在细胞信号传导和稳态平衡方面具有重要作用。过量 ROS 的积累易导致细胞氧化应激，影响细胞正常生理功能[28-29]。因此，细胞内 ROS 水平可以直观反映细胞的氧化损伤情况[30]。如图 5(a)所示，CM 细胞 ROS 表达量显著升高，约为对照组的 4.17 倍，表明 UVB 辐照使 HaCaT 细胞内积累了大量的 ROS，造成了氧化应激损伤，说明建模成功。经 PHE 处理后，ROS 表达量显著降低。当 PHE 质量浓度达到 1.00 mg/mL 时，ROS 表达量下降至 29.52%(P<0.001)。结果表明，PHE 能有效缓解由 UVB 辐照引起的细胞急性氧化应激损伤，该研究结果与李锋等[15]的研究结果类似。

SOD 和 GSH-Px 是生物体内重要的抗氧化酶，它们可以通过催化反应与自由基清除作用有效抑制毒性物质的产生和积累，并维持细胞膜结构的完整[31]。MDA 是细胞脂质过氧化反应的最终产物，是评估细胞氧化损伤程度的常用标志物之一。如图 5(b)~(d)所示。UVB 辐照显著降低了 HaCaT 细胞 SOD(P<0.05)、GSH-Px(P<0.001)活力，并使细胞内积累了大量的 MDA(P<0.01)。经 1.00 mg/mL 的 PHE 给药处理后，HaCaT 细胞的 SOD 和 GSH-Px 活力分别提升至 20.40 U/mg(P<0.01)和 25.83 U/mg(P<0.01)，分别为 CM 的 1.86 倍和 2.81 倍。与此同时，MDA 质量摩尔浓度显著降低至 0.25 nmol/mg(P<0.05)。

Cai 等[20]研究发现，0.5 mg/mL 的紫菜多糖具有良好的紫外线抗性，与本研究结果类似。Ji 等[32]探究了羊栖菜多糖(SFP-P1)对 UVB 诱导的 HaCaT 细胞氧化应激的保护作用，发现不同质量浓度(0.5、1.0、2.0 mg/mL)的 SFP-P1 均可以有效缓解 HaCaT 细胞的氧化应激损伤。与本研究相比，该研究的最小作用质量浓度(0.5 mg/mL)高于 PHE 的最小作用质量浓度(0.25 mg/mL)，表明 PHE 对 UVB 诱导的 HaCaT 细胞氧化应激损伤的缓解作用更佳，这可能归因于紫菜多糖特有的单糖组成。Kim 等[33]研究表明，紫菜多糖中特有的脱水半乳糖通过增强与细胞表面受体的结合来调节黑色素生物合成的信号级联反应，有效缓解紫外线引起的皮肤损伤。结果表明，PHE 具有缓解 HaCaT 细胞氧化应激损伤的生物学功能，并可能通过提高 SOD、GSH-Px 活力以及降低 MDA 积累来发挥作用。

2.5 PHE 对 UVB 诱导的 HaCaT 细胞 CPDs 质量浓度的影响

DNA 是一种天然的发色团，可以吸收紫外线中的光子，导致碱基嘧啶与相邻嘧啶结合生成 CPDs 和 6-4 光产物(6-4PPs)。其中 CPDs 是主要的损伤产物，其也是紫外线引起的生物体表皮层细胞 DNA 损伤的代表产物[34]，占比可达 75%。



*—P<0.05；**—P<0.01；****—P<0.001。

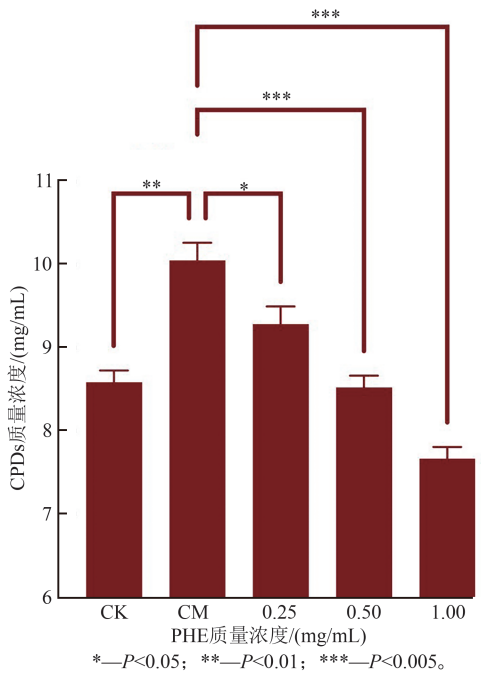
图5　坛紫菜水提物对UVB诱导的HaCaT细胞氧化应激因子的影响

Fig. 5　Effects of PHE on oxidative stress factors in UVB-treated HaCaT cells

CPDs对DNA/RNA聚合酶的生理功能有一定的阻断作用，可导致核苷酸错误掺入，从而影响DNA的复制与转录过程。与此同时，CPDs与部分肿瘤抑制基因的突变密切相关，尤其是皮肤癌抑制基因[35]。因此，有效抑制光产物CPDs的产生对生物体皮肤健康具有重要意义。

不同质量浓度PHE对HaCaT细胞CPDs质量浓度的影响见图6。相较于CK，CM的CPDs质量浓度显著升高（P<0.01），表明UVB辐照造成了细胞的DNA损伤，建模成功。与CM相比，试验组细胞的CPDs质量浓度均显著降低，且呈现剂量依赖性。1.00 mg/mL PHE对DNA损伤的保护作用最优，CPDs质量浓度显著下降至7.66 mg/mL（P<0.005），表明PHE可以显著促进UVB诱导的DNA损伤修复。生物机体具有修复光损伤的天然能力，其修复过程通常包括辐照后的快速修复期和缓慢修复

期2个阶段，这种修复能力会受到外界环境因素的影响[34,36]。结果表明，PHE可以显著降低光产物CPDs的质量浓度，有助于增强HaCaT细胞光修复的能力。有研究者[37]报道，紫外线介导的DNA损伤存在多种修复途径，CPDs则主要通过核苷酸切除修复（nucleotide excision repair，NER）途径进行修复。因此，推测PHE可能通过影响NER途径发挥光保护作用。



*—P<0.05；**—P<0.01；***—P<0.005。

图6 PHE对UVB诱导的HaCaT细胞CPDs质量浓度的影响

Fig. 6 Effects of PHE on the mass concentration of CPDs in UVB-treated HaCaT cells

2.6 PHE的潜在应用场景

本研究结果表明，PHE具有良好的体外抗氧化能力，并对低剂量UVB诱导的光损伤具有良好的缓解作用，表明其具备应用于以下2种场景的潜力。第一种为基础性防晒产品，如适用于冬季或初春的低防晒指数（sun protection factor，SPF）的护肤品和化妆品，可以有效缓解UVB对人体表皮细胞的光损伤；第二种为植物保护剂产品，适量的阳光辐照有利于植物生长，但过量的UVB辐照会直接或间接破坏陆生或水生植物的DNA、蛋白质以及膜结构，并抑制其光合作用和固氮作用[38]，PHE水溶性良好，可作为植物保护剂的功效成分应用于植物生长过程。

3 结论

作者测定了坛紫菜水提物（PHE）的体外抗氧化活性，建立了微生物模型以及HaCaT细胞模型，并系统探究了PHE对UVB诱导光损伤的保护作用。结果表明，PHE具有良好的体外抗氧化活性，可以提高*E. coli*和*C. albicans*的抗辐照率。PHE对HaCaT细胞抗UVB光损伤的保护作用体现在多个方面，包括提高细胞存活率、有效缓解细胞内氧化应激损伤、显著降低DNA光损伤主产物CPDs的质量浓度。综上所述，PHE具有良好的抗氧化活性及对UVB诱导的光损伤的保护作用，可作为抗辐照原料应用于基础性防晒产品以及植物保护剂。未来可进一步关注PHE的组分纯化及抗辐照活性的作用机制，为坛紫菜的高附加值利用提供理论支持。

参考文献

[1] CHEN P L，SHANG X K，HUANG X Z，et al. Recent advance of physicochemical，structural properties，potential health benefits and application of bioactive macromolecules from *Porphyra haitanensis*：a review[J]. International Journal of Biological Macromolecules，2024，279：135497.

[2] CHEONG K L，LIU K Y，CHEN W T，et al. Recent progress in *Porphyra haitanensis* polysaccharides：extraction，purification，structural insights，and their impact on gastrointestinal health and oxidative stress management[J]. Food Chemistry：X，2024，22：101414.

[3] ZHENG M J，MA M H，YANG Y F，et al. Structural characterization and antioxidant activity of polysaccharides extracted from *Porphyra haitanensis* by different methods[J]. International Journal of Biological Macromolecules，2023，242（Pt 2）：125003.

[4] QIU Y J，JIANG H，FU L L，et al. Porphyran and oligo-porphyran originating from red algae *Porphyra*：preparation，biological activities，and potential applications[J]. Food Chemistry，2021，349：129209.

[5] 李竹嘉，徐静雯，赵勇. 紫菜活性成分提取技术及其功能特性研究进展[J]. 食品工业科技，2022，43（20）：437-446.
LI Z J，XU J W，ZHAO Y. Research progress on extraction technology and functional characteristics of active components from *Porphyra*[J]. Science and Technology of Food Industry，2022，43（20）：437-446.（in Chinese）

[6] LEUNG W Y，MURRAY V. The influence of DNA methylation on the sequence specificity of UVB- and UVC-induced DNA damage[J]. Journal of Photochemistry and

Photobiology B：Biology，2021，221：112225.

[7] 武思敏，袁梅，满佳旭，等. 绿原酸对UVB损伤人永生化表皮角质细胞的保护作用[J]. 食品与生物技术学报，2023，42(5)：96-101.
WU S M，YUAN M，MAN J X，et al. Protective effect of chlorogenic acid on UVB damaged HaCaT cells [J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2023，42(5)：96-101.(in Chinese)

[8] 黄芳，张营，熊玥，等. 望春花(*M. biondi*)花提取物缓解UVB导致皮肤损伤的作用研究[J]. 日用化学工业(中英文)，2023，53(9)：1065-1072.
HUANG F，ZHANG Y，XIONG Y，et al. The study of *Magnolia biondii* flower extract in relieving UVB-induced skin damage [J]. China Surfactant Detergent & Cosmetics，2023，53(9)：1065-1072.(in Chinese)

[9] 张云哲，肖鹏宇，慕昱杰，等. 我国防晒化妆品市场现状及趋势分析[J]. 中国化妆品，2022(11)：45-49，44.
ZHANG Y Z，XIAO P Y，MU Y J，et al. Analysis on the current situation and development trend of the sunscreen cosmetics market in China[J]. China Cosmetics Review，2022(11)：45-49，44.(in Chinese)

[10] 赵颖，袁佳琪，刘屹. 防晒类化妆品中化学防晒剂的使用现状及风险分析[J]. 当代化工研究，2024(23)：110-112.
ZHAO Y，YUAN J Q，LIU Y. Current situation and risk analysis of chemical sunscreens used in sunscreen cosmetics[J]. Modern Chemical Research，2024(23)：110-112.(in Chinese)

[11] 王晓榕，郭昌胜，樊境朴，等. 紫外线防晒剂暴露及其对人体健康影响研究[J]. 环境卫生学杂志，2025，15(1)：12-22.
WANG X R，GUO C S，FAN J P，et al. Exposure to ultraviolet filters and its effects on human health [J]. Journal of Environmental Hygiene，2025，15(1)：12-22.(in Chinese)

[12] DUBOIS M，GILLES K A，HAMILTON J K，et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances[J]. Analytical Chemistry，1956，28(3)：350-356.

[13] MILLER G L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar [J]. Analytical Chemistry，1959，31(3)：426-428.

[14] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. Analytical Biochemistry，1976，72(1/2)：248-254.

[15] 李锋，李清仙，程志远，等. 坛紫菜多酚抗氧化及抑制UVB致HSF细胞氧化损伤作用[J]. 食品科学，2017，38(17)：190-197.
LI F，LI Q X，CHENG Z Y，et al. Antioxidant and protective effect of *Porphyra haitanensis* polyphenols against oxidative damage induced by UVB in HSF cells [J]. Food Science，2017，38(17)：190-197.(in Chinese)

[16] 唐倩. 具鞘微鞘藻胞外多糖的提取及抗紫外辐射活性研究[D]. 衡阳：南华大学，2015.

[17] 臧聚玲. *Pantoea agglomerans* KFS胞外多糖抗辐射性能及其结构分析[D]. 青岛：中国海洋大学，2014.

[18] 朱恒杏，邵孟茹，洪天畅，等. 黑枸杞花青素、EGCG对中波紫外线诱导HaCaT细胞氧化损伤的协同保护作用[J]. 现代食品科技，2024，40(8)：106-115.
ZHU H X，SHAO M R，HONG T C，et al. Synergistic protective effects of the anthocyanins from black wolfberry and EGCG against the UVB-induced oxidative damage in HaCaT cells[J]. Modern Food Science & Technology，2024，40(8)：106-115.(in Chinese)

[19] CHANG Y B，KIM H D，KIM S M，et al. Photoaging protective effect of enzyme extracted pomegranate peel against oxidative damage in UVB-irradiated HaCaT cells[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy，2024，181：117679.

[20] CAI C E，YANG Y Y，CAO R D，et al. Derivatives from two algae：moisture absorption-retention ability，antioxidative and uvioresistant activity[J]. Journal of Biobased Materials and Bioenergy，2018，12(3)：277-282.

[21] 黄海潮，王锦旭，潘创，等. 超声波辅助过氧化氢法降解坛紫菜多糖及其抗氧化活性的研究[J]. 南方水产科学，2020，16(1)：110-119.
HUANG H C，WANG J X，PAN C，et al. Degradation of *Porphyra haitanensis* polysaccharide by ultrasonic assisted hydrogen peroxide method and its antioxidant activity analysis [J]. South China Fisheries Science，2020，16(1)：110-119.(in Chinese)

[22] LI X C，HAN W J，MAI W Q，et al. Antioxidant activity and mechanism of tetrahydroamentoflavone *in vitro*[J]. Natural Product Communications，2013，8(6)：1934578X1300800626.

[23] 孔立敏. 条斑紫菜多糖的降解、分离纯化及生物活性研究[D]. 杭州：浙江工商大学，2019.

[24] 杜彦丽，王雷，许加超，等. 发酵条斑紫菜的活性成分及抗氧化、降血糖和降血压活性[J]. 食品工业科技，2024，45(22)：72-80.
DU Y L，WANG L，XU J C，et al. Active components and antioxidant，hypoglycaemic and anti-hypertensive activities of fermented *Pyropia yezoensis*[J]. Science and Technology of Food Industry，2024，45(22)：72-80.(in Chinese)

[25] 梁晓婷. *Pantoea agglomerans* TCa-7抗紫外辐射损伤作用的研究[D]. 青岛：中国海洋大学，2006.

[26] 靳慧霞，董滨，孙颖，等. 超声协同紫外灭活大肠杆菌实验研究[J]. 环境科学与技术，2010，33(11)：22-27，42.
JIN H X，DONG B，SUN Y，et al. Synergistic efficiency of *E. coli* inactivation under US and UV [J]. Environmental Science & Technology，2010，33(11)：22-27，42.(in Chinese)

[27] 王振. 不同茶类抗UVB致表皮细胞衰老作用研究[D]. 长沙：湖南农业大学，2018.

[28] 徐莹，李晓娟，孟君，等. 荔枝玫瑰酒延缓小鼠皮肤衰老的研究[J]. 食品与生物技术学报，2022，41(4)：102-111.
XU Y，LI X J，MENG J，et al. Experimental study of lychee rose wine on anti-skin aging in mice[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2022，41(4)：102-111.(in Chinese)

[29] 王振，刘仲华，蔡淑贤，等. 绿茶水粗提物抗中波紫外线致人表皮细胞衰老作用[J]. 食品与机械，2017，33(12)：129-134.
WANG Z，LIU Z H，CAI S X，et al. Effect of anti-aging on human epidermal keratinocyte by UVB induced for green tea crude water extract[J]. Food & Machinery，2017，33(12)：129-134.(in Chinese)

[30] YANG Z B，JIN S Y，HE Y，et al. Comparison of microfat，nanofat，and extracellular matrix/stromal vascular fraction gel for skin rejuvenation：basic research and clinical applications[J]. Aesthetic Surgery Journal，2021，41(11)：NP1557-NP1570.

[31] TAKEBE G，YARIMIZU J，SAITO Y，et al. A comparative study on the hydroperoxide and thiol specificity of the glutathione peroxidase family and selenoprotein P[J]. Journal of Biological Chemistry，2002，277(43)：41254-41258.

[32] JI D S，YOU L J，REN Y L，et al. Protective effect of polysaccharides from *Sargassum fusiforme* against UVB-induced oxidative stress in HaCaT human keratinocytes [J]. Journal of Functional Foods，2017，36：332-340.

[33] KIM J H，YUN E J，YU S，et al. Different levels of skin whitening activity among 3，6-anhydro-l-galactose，agarooligosaccharides，and neoagarooligosaccharides[J]. Marine Drugs，2017，15(10)：321.

[34] VECHTOMOVA Y L，TELEGINA T A，BUGLAK A A，et al. UV radiation in DNA damage and repair involving DNA-photolyases and cryptochromes[J]. Biomedicines，2021，9(11)：1564.

[35] HEGEDŰS C，JUHÁSZ T，FIDRUS E，et al. Cyclobutane pyrimidine dimers from UVB exposure induce a hypermetabolic state in keratinocytes *via* mitochondrial oxidative stress[J]. Redox Biology，2021，38：101808.

[36] 林向飞，骆丹，闵玮，等. UVB辐射后HaCaT细胞光产物的产生和清除及EGCG的干预作用[J]. 中国美容医学，2006，15(4)：384-386.
LIN X F，LUO D，MIN W，et al. Production and removal of photoproducts induced by UVB irradiation and intervention effect of epigallocatechingallate in HaCaT cells[J]. Chinese Journal of Aesthetic Medicine，2006，15(4)：384-386.(in Chinese)

[37] PULZOVÁ L B，WARD T A，CHOVANEC M. XPA：DNA repair protein of significant clinical importance[J]. International Journal of Molecular Sciences，2020，21(6)：2182.

[38] QUESADA A，VINCENT W F. Strategies of adaptation by *Antarctic cyanobacteria* to ultraviolet radiation[J]. European Journal of Phycology，1997，32(4)：335-342.