

植物乳植杆菌W114后生元的特性及其应用

杨凤妍¹,于明辉¹,武改红²,王 军²,王艳萍^{1*}

(1.天津科技大学 食品科学与工程学院,天津 300457;2.天津中耀博研生物医药有限公司,天津 300385)

摘要:该研究以一株筛选自西藏开菲尔粒中的乳酸菌W114为研究对象,采用形态学观察、生理生化实验及分子生物学技术对其进行鉴定,并研究其后生元的制备方法和抗氧化、酪氨酸酶抑制等特性,进一步观察其对维护皮肤微生态的影响。结果表明,菌株W114被鉴定为植物乳植杆菌(*Lactiplantibacillus plantarum*);当后生元添加量为10%(V/V)时,对1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基清除能力为36.42%,对酪氨酸酶的抑制率达到51.91%;随机抽取10名受试者使用含有菌株W114的后生元面膜,16S rDNA高通量测序结果表明,受试者的面部皮肤菌群丰富度均显著升高($P<0.05$),菌群分布更为集中,能调节与炎症、衰老、皮肤屏障等相关的菌群丰度,使皮肤菌群中放线菌门(Actinobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)和变形菌门(Proteobacteria)总相对丰度增加,链球菌属(*Streptococcus*)相对丰度降低,表面葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)和人葡萄球菌(*Staphylococcus hominis*)的相对丰度升高,有效改善了皮肤的微生态。

关键词:植物乳植杆菌;后生元;抗氧化;酪氨酸酶;皮肤菌群

中图分类号:TS201.1 文章编号:0254-5071(2025)11-0224-07 doi:10.11882/j.issn.0254-5071.2025.11.033

引文格式:杨凤妍,于明辉,武改红,等.植物乳植杆菌W114后生元的特性及其应用[J].中国酿造,2025,44(11):224-230.

Characterisation and application of *Lactiplantibacillus plantarum* W114 postbiotics

YANG Fengyan¹, YU Minghui¹, WU Gaihong², WANG Jun², WANG Yanping^{1*}

(1.College of Food Science and Engineering, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China;

2.Tianjin Zhongyao Boyan Biopharmaceutical Co., Ltd., Tianjin 300385, China)

Abstract: Using a lactic acid bacterium W114 selected from Kefir granules in Tibet as the research object, the strain was identified by morphological observation, physiological and biochemical experiments, and molecular biology techniques, the preparation methods of its postbiotics, antioxidant and tyrosinase inhibitory properties were studied, and its effect on maintaining the microecology of the skin was observed. The results showed that the strain W114 was identified as *Lactiplantibacillus plantarum*. When the postbiogens addition was 10% (V/V), the scavenging ability of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radicals was 36.42%, and the tyrosinase inhibitory rate reached 51.91%. Ten subjects were randomly selected to use postbiotics masks containing strain W114. The results of 16S rDNA high-throughput sequencing showed that the richness of facial skin flora in the subjects was significantly increased ($P<0.05$), and the distribution of flora was more concentrated, which could regulate the abundance of flora related to inflammation, aging, skin barrier, etc., increase the total relative abundance of Actinobacteria, Firmicutes and Proteobacteria in the skin flora, reduce the relative abundance of *Streptococcus*, and increase the relative abundance of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus hominis*, effectively improve the microecology of the skin.

Key words: *Lactiplantibacillus plantarum*; postbiotics; antioxidant; tyrosinase; skin flora

益生菌是一种活的微生物,当摄入充足的数量时,对宿主产生健康益处^[1]。100多年的研究表明,益生菌具有多种生理功能。特别是近年来的研究发现,不仅益生菌功能多样,其后生元也具有多种益生作用,其中对皮肤屏障功能的影响备受关注^[2]。

后生元是指能够改善宿主健康状态的无生命微生物和/或其成分制剂^[3],其包含了灭活的微生物细胞或细胞成分及其代谢物^[4]。有研究表明,后生元对肌肤的衰老有很好的缓解和改善的效果,如抗氧化、减少皮肤炎症,治愈皮肤状况以及预防过敏性接触性皮炎的作用^[5]。此外,其对于增强

皮肤屏障,促进水分吸收和延缓皮肤老化过程至关重要^[6]。后生元源于益生菌但又有一些不同之处,与益生菌相比,后生元易于加工、储存和运输,并且其组成含有菌体成分及多种代谢产物,在食品、化妆品领域具有广阔的应用前景。

本研究以分离自西藏开菲尔粒中的乳酸菌W114为研究对象进行系统的菌种鉴定和生物学特性研究,并研究其后生元的抗氧化、抑制酪氨酸酶活性的能力,进一步以其为原料制备成面膜,探究含有植物乳植杆菌W114后生元面膜对皮肤菌群多样性和丰度的影响。旨在为后生元功能产品的研发与应用提供参考。

收稿日期:2024-11-04 修回日期:2025-09-11

基金项目:国家自然科学基金(31801514)

作者简介:杨凤妍(1999-),女,硕士研究生,研究方向为发酵食品与微生物资源开发。

*通讯作者:王艳萍(1962-),女,教授,博士,研究方向为发酵食品与微生物资源开发。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 菌种

乳酸菌W114:分离自西藏开菲尔粒中,保藏于中国科学院微生物研究所菌种保藏中心,保藏号为CGMCC29069。

1.1.2 培养基

MRS固(液)体培养基:参照参考文献[7]配制。

1.1.3 主要试剂

革兰氏染色试剂盒、氨基酸(T-AA)试剂盒、黄酮检测试剂盒:南京建成生物有限公司;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)自由基清除试剂盒、左旋多巴、酪氨酸酶(生化试剂):上海源叶生物科技有限公司;湿润液(分析纯):深圳市溢蓬化学有限公司;总糖含量检测试剂盒:北京索莱宝科技有限公司。

1.2 仪器与设备

E200生物显微镜:日本NIKON公司;SEM-3200扫描式电子显微镜:日本日立公司;BIORAD imark酶标仪:美国伯乐公司;HFsafe 900型超净工作台:上海力申科学仪器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 菌株W114鉴定

形态学观察:将菌株W114划线接种于MRS固体培养基上,37℃有氧培养24 h,记录菌落特征。同时挑取单菌落进行革兰氏染色在显微镜下观察记录菌体的形态特征。

生理生化鉴定:参照《伯杰氏细菌鉴定手册》^[8]进行生理生化实验,并挑取菌株W114单菌落于MRS斜面培养基,37℃有氧培养24 h,送至中国科学院微生物研究所进行API 50 CHL试剂条碳水化合物发酵试验。

分子生物学鉴定:参考严婷等^[7]的方法,采用细菌通用引物27F(5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')、1492R(5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3')对菌株W114的16S rDNA基因序列进行聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)扩增,PCR扩增产物送至天津金唯智生物科技有限公司进行测序。将得到的序列提交至美国国家生物技术信息中心(national center for biotechnology information, NCBI)的GenBank数据库中进行基本局部比对搜索工具(basic local alignment search tool, BLAST)同源性比对搜索,选取同源性较高的模式菌株的16S rDNA基因序列,采用MEGA 11.0软件构建系统发育树。

1.3.2 菌株W114的生物学特性

将菌株W114按4%(V/V)的接种量接种至MRS液体培养基中,37℃有氧静置培养24 h,每隔2 h取样,采用紫外可见分光光度计测定OD_{600nm}值,采用pH计,测定pH。以培养时间(X)为横坐标,分别以OD_{600nm}值和pH值(Y)绘制生长曲线和产酸曲线。

1.3.3 W114后生元活性成分测定

氨基酸、黄酮的测定参照南京建成生物工程研究所氨基酸(T-AA)试剂盒(比色法)和黄酮检测试剂盒(比色法)说明书进行操作,多糖含量的测定参照北京索莱宝科技有限公司总糖含量检测试剂盒(可见分光光度法)说明书进行操作。

1.3.4 W114后生元面膜的制备

参照参考文献[9]的方法制备W114后生元面膜,W114后生元含量为10%(V/V)。

1.3.5 样本采集

选择皮肤健康且无过敏史的10人作为受试者,以受试者的面部作为测试区域。参照文献[10]的方法并修改:受试者洁面后,将面膜涂敷于面部,静待15~20 min后轻轻按摩面部,用清水洗净,面膜使用频率2 d/次,连续使用42 d。测试取样前8 h内受试者不可清洁面部皮肤或使用任何化妆品,在温度为20.0~25.0℃、相对湿度(relative humidity, RH)40.0%~60.0%的环境中,用无菌棉拭子蘸取润湿液,于受试者面颊取样将获得的面部微生物样品,分别记为CON组(使用W114后生元面膜前)和W114组(使用W114后生元面膜后)。

1.3.6 测定方法

W114后生元DPPH自由基清除率的测定:将W114后生元用0.85%生理盐水稀释至1%、2%、5%、10%和20%(V/V)后参照文献[11]的方法。DPPH自由基清除率计算公式如下:

$$\text{DPPH自由基清除率} = \frac{A_0 - (A_1 - A_2)}{A_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中: A_0 为对照管吸光度值; A_1 为样本测定管吸光度值; A_2 为样本对照管吸光度值。

W114后生元抑制酪氨酸酶活性检测:将W114后生元用0.85%生理盐水稀释至1%、2%、5%、10%和20%(V/V)后参照文献[12-13]的方法。酪氨酸酶抑制率计算公式如下:

$$\text{酪氨酸酶抑制率} = \frac{(A-B) - (C-D)}{A-B} \times 100\% \quad (2)$$

式中: A 为空白测定管吸光度值; B 为空白对照管吸光度值; C 为样品测定管吸光度值; D 为样品对照管吸光度值。

1.3.7 面部皮肤菌群测序

测序过程均由青岛百迈客生物科技公司完成。使用Trimomatic软件^[14](version 0.33)对原始数据进行质量过滤,其后使用USEARCH软件^[15](version 10)对双端reads进行拼接并去除嵌合体(UCHIME软件^[16], version 8.1)。使用USEARCH软件^[15]对Reads在97.0%的相似度水平下进行聚类获得操作分类单元(operational taxonomic unit, OTU)。以SILVA数据库^[17]为参考数据库,使用朴素贝叶斯分类器结合比对的方法对特征序列进行分类学注释,可得到每个特征对应的物种分类信息,进而在各水平统计各样品群落组成,再利用R语言工具绘制成样品各分类学水平下的群落

结构图。使用QIIME2 2020.6^[18]软件对样品Alpha多样性和Beta多样性进行评估。

1.3.8 统计分析

采用Origin 2018对所有数据进行统计,SPSS Statistics 27进行差异显著性分析, $P<0.05$ 认为其组间差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 菌株W114的鉴定

2.1.1 形态学观察

菌株W114的菌落形态、菌体形态及电镜扫描图见图1。由图1可知,菌株W114在MRS固体培养基中,37℃有氧静置培养24 h,其革兰氏染色为阳性,菌株个体呈单独或短链状存在,细胞形态呈短杆状,宽0.4~0.8 μm,长5.0~10 μm,无芽孢,无鞭毛。菌落在MRS固体培养基上呈乳白色,圆形,中心凸起,边缘整齐,分散均匀。

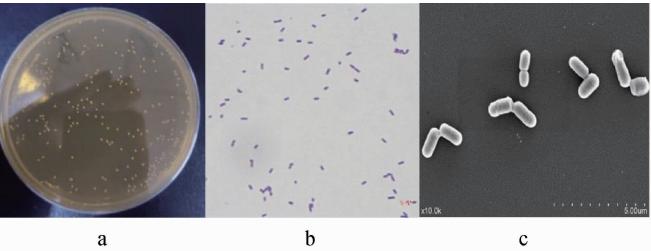


图1 菌株W114的菌落形态(a)、菌体形态(b)及电镜扫描图(c)
Fig. 1 Colony morphology (a), cell morphology (b) and electron microscope scanning image (c) of strain W114

2.1.2 生理生化实验结果

菌株W114生理生化实验结果见表1。由表1可知,菌株W114为革兰氏阳性菌;氧化酶、接触酶及硝酸盐还原试验呈阴性;不产硫化氢;不运动;能酸化和凝固牛乳;15℃生长;45℃不生长;pH 9.2和4.8均能生长;可耐受6.5%的NaCl。

表1 菌株W114的生理生化试验结果
Table 1 Results of physiological and biochemical tests of strain W114

项目	结果	项目	结果
革兰氏染色	+	15℃生长	+
氧化酶	-	45℃生长	-
接触酶	-	6.5%的NaCl生长	+
硝酸盐还原试验	-	pH 9.2生长	+
产硫化氢实验	-	pH 4.8生长	+
运动性实验	-	酸化和凝乳	+

注:“-”表示结果呈阴性;“+”表示结果呈阳性。下同。

应用API 50 CHL试剂条对菌株W114发酵碳水化合物的能力进行测定,结果见表2。由表2可知,菌株W114可利用L-阿拉伯糖、D-核糖等进行发酵,不可利用甘油、赤藓醇等进行发酵。

表2 菌株W114的碳水化合物发酵试验结果
Table 2 Results of carbohydrate fermentation tests of strain W114

项目	结果	项目	结果
甘油	-	蔗糖	+
赤藓醇	-	海藻糖	+
D-阿拉伯糖	-	菊糖	-
L-阿拉伯糖	+	松三糖	+
D-核糖	+	棉子糖	+
D-木糖	-	淀粉	-
L-木糖	-	糖原	-
阿东醇	-	木糖醇	-
β-甲基-D-木糖甙	-	龙胆二糖	+
D-半乳糖	+	D-松二糖	+
D-葡萄糖	+	D-来苏糖	-
D-果糖	+	D-塔格糖	-
D-甘露糖	+	D-岩藻糖	-
L-山梨糖	-	L-岩藻糖	-
L-鼠李糖	-	D-阿拉伯糖醇	-
卫茅醇	-	L-阿拉伯糖醇	-
肌醇	-	葡萄糖酸盐	+
甘露醇	+	2-酮基-葡萄糖酸盐	-
山梨醇	+	七叶灵	+
α-甲基-D-甘露糖甙	+	水杨苷	+
α-甲基-D-葡萄糖甙	+	纤维二糖	+
N-乙酰-葡萄糖胺	+	麦芽糖	+
苦杏仁甙	+	乳糖	+
熊果甙	+	蜜二糖	+

根据细胞形态和生理生化特征,参考《伯杰氏细菌鉴定手册》^[9]、《乳酸菌分类鉴定及实验方法》^[9],初步判定菌株W114为植物乳植杆菌(*Lactiplantibacillus plantarum*)。

2.1.3 分子生物学鉴定结果

基于16S rDNA基因序列,菌株W114的系统发育树见图2。由图2可知,菌株W114与植物乳植杆菌(*Lactiplantibacillus plantarum*)L3处于同一个分支,同源性为100%,亲缘关系最近,结合形态观察及生理生化实验结果鉴定菌株W114为植物乳植杆菌(*Lactiplantibacillus plantarum*)。

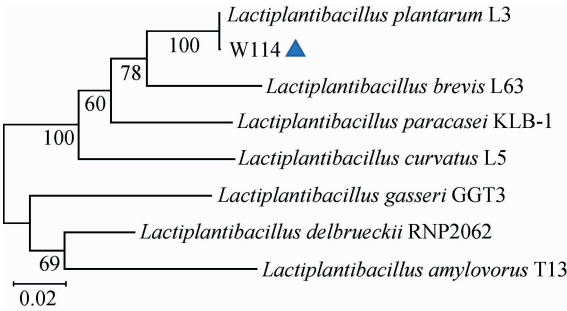


图2 基于16S rDNA基因序列菌株W114的系统发育树
Fig. 2 Phylogenetic tree of strain W114 based on 16S rDNA gene sequences

2.2 植物乳植杆菌W114的生物学特性

菌株W114生长及产酸曲线见图3。由图3可知,植物乳植杆菌W114在0~2 h处于生长适应期,生长代谢缓慢,产酸能力较弱,2~12 h时,菌株生长速度加快,进入对数生长期,同时pH值开始迅速降低;在培养12 h后进入稳定期,pH值趋于稳定,发酵12 h时 $OD_{600\text{nm}}$ 值为1.96,pH值为3.73。

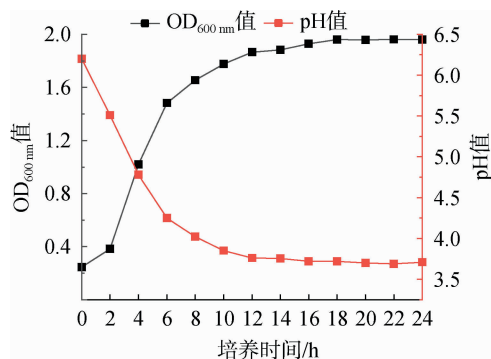


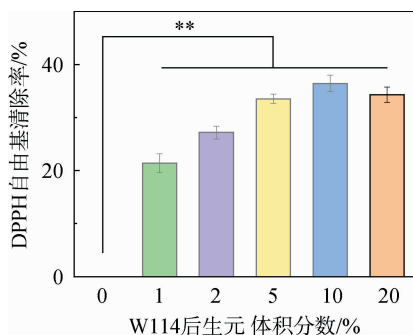
图3 植物乳植杆菌W114的生长曲线及产酸曲线
Fig. 3 Growth and acid production curves of *Lactiplantibacillus plantarum* W114

2.3 植物乳植杆菌W114后生元的活性成分分析

有文献报道^[20],后生元中的多糖、黄酮、氨基酸等多种成分均有抗氧化等益生功能,这些活性成分为其功能特性奠定了物质基础。对植物乳植杆菌W114后生元的活性成分进行检测,结果表明,W114后生元中的多糖、黄酮以及氨基酸含量分别为1.386 mg/mL、95.9 $\mu\text{g/mL}$ 、197.270 mmol/L。闫雍雍等^[21]研究发现,干酪乳杆菌制备的后生元使氨基酸、黄酮得以释放,增加其抗氧化活性;蒋光阳等^[22]研究发现,戊糖片球菌多糖对DPPH、2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸(2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid), ABTS)和羟(OH)自由基均具有一定的清除能力。后生元活性成分较为丰富,这就使得后生元产品的功能价值大为提升。

2.4 植物乳植杆菌W114后生元抗氧化能力分析

不同体积分数植物乳植杆菌W114后生元对DPPH自由基清除率的影响见图4。



“**”表示差异极显著($P < 0.01$)。下同。

图4 植物乳植杆菌W114后生元体积分数对DPPH自由基清除能力的影响
Fig. 4 Effect of *Lactiplantibacillus plantarum* W114 postbiotics volume fraction on the free radicals scavenging ability of DPPH

由图4可知,不同体积分数植物乳植杆菌W114后生元均具有一定的DPPH自由基清除能力,当植物乳植杆菌W114后生元体积分数为10%(V/V)时对DPPH自由基清除率最大为36.42%。许喜林等^[23]发现鼠李糖乳杆菌发酵上清液同样具有DPPH自由基清除能力,本实验分析可能也是由于W114后生元中含有的多糖使其具有较好的抗氧化活性。

2.5 植物乳植杆菌W114后生元抑制酪氨酸酶能力

实验结果2.4中表明,W114后生元具有一定的抗氧化能力。有文献报道抗氧化剂不仅能够抑制酪氨酸酶活性,还能够阻止黑色素的产生^[24],并且对于维持健康皮肤状况也至关重要^[24],因此进一步检测了W114后生元抑制酪氨酸酶活性的能力。

酪氨酸酶是一种含铜金属酶,并且在生物体中是合成黑色素的关键限速酶^[25]。不同浓度的W114后生元对酪氨酸酶活性的抑制能力见图5。由图5可知,不同浓度的W114后生元抑制酪氨酸酶活性的能力不同,并且随着W114后生元浓度的增加,抑制率也逐渐增加,W114后生元体积分数>10%时,对酪氨酸酶活性的抑制率逐渐趋于稳定,W114后生元体积分数为10%时对酪氨酸酶抑制率为51.91%。当酪氨酸酶活性受到抑制后,皮肤中黑色素减少,因而酪氨酸酶抑制剂具有美白皮肤的作用^[13]。RONG JJ等^[26]对瑞士乳杆菌发酵上清液是否能够抑制黑色素细胞中黑色素的产生以及酪氨酸酶的活性进行研究,发现其能够抑制色素沉着过度 and 酪氨酸酶的活性。综上,W114后生元具有较好的抗氧化活性和抑制酪氨酸酶活性的能力,为其进一步减少黑色素的产生、达到美白的效果提供一定的理论基础。

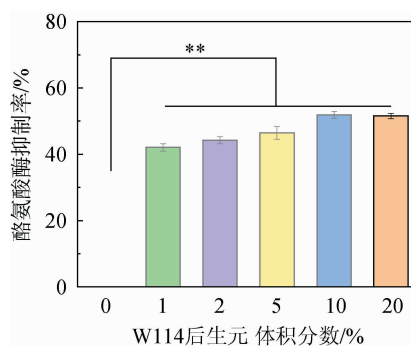


图5 植物乳植杆菌W114后生元抑制酪氨酸酶能力
Fig. 5 Tyrosinase inhibitory ability of *Lactiplantibacillus plantarum* W114 postbiotics

2.6 植物乳植杆菌W114后生元面膜对面部皮肤菌群的影响

近年来,乳酸菌及其发酵产物由于特殊的抗氧化能力,在改善皮肤屏障等领域备受关注。TSAI WH等^[27]研究发现,热灭活的副干酪乳杆菌GMNL-653通过调节头皮微生物群改善人类头皮健康。王玥等^[28]对酿酒酵母和副干酪乳杆菌发酵而得的滤液复合物进行面部细菌微生态和皮肤屏

障的调节作用研究,发现其能够有效调节并稳定面部菌群微生态平衡,巩固皮肤屏障。皮肤微生态与机体互利共生,与皮肤、免疫等细胞之间密切关联,对皮肤健康起到不可或缺的作用^[29]。CATIC T等^[30]研究发现,CLS02021作为益生菌衍生成分,对增加皮肤水分、弹性、改善深度皱纹以及缩小毛孔等方面均表现出显著的有益效果。因此,为验证W114后生元面膜对调节皮肤菌群稳态的影响,本实验将植物乳植杆菌W114后生元应用到面膜中,进行人体试敷实验,后通过16S rDNA高通量测序对皮肤菌群相关指标进行检测,分析物种多样性及其组成的变化。

2.6.1 测序统计与质控

通过16S rDNA测序后,10名受试者面部皮肤微生物样品获得CCS序列总数目为2 325 111条,单个样品CCS序列至少为40 234条,平均CCS序列为58 128条。在97%相似度聚类水平下,得到了各组面部皮肤菌群OTU,结果见图6。由图6可知,两组共获得18 241个OTUs。其中CON组特有OTUs为10 895个,W114组特有OTUs为3 845个,两组共有OTUs为3 521个。因此分析W114后生元面膜能够显著改变面部皮肤菌群OTUs数目。

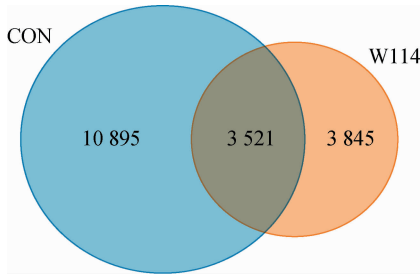


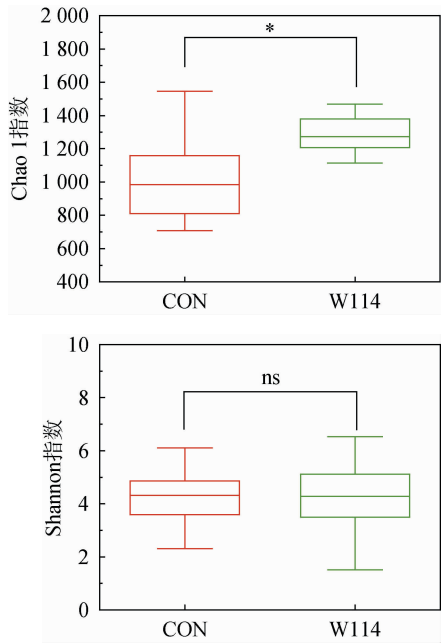
图6 CON组与W114组面部皮肤菌群操作分类单元数量韦恩图
Fig. 6 Venn diagram of operational taxonomic unit number of facial skin flora in CON group and W114 group

2.6.2 多样性分析

Chao1指数与物种数量相关,指数越大表示群落丰富度越高;Shannon指数与物种丰度和均匀度相关,指数越大物种多样性越高^[31]。Beta多样性反映不同样品在物种多样性方面的相似程度,用主坐标分析(principal co-ordinates analysis,PCoA)表示,坐标图上距离越近的样品,相似性越大。CON组与W114组面部皮肤菌群多样性分析见图7。由图7可知,W114实验组Chao1指数为(1 289.74±161.35)显著高于CON组(1 072.58±348.78)($P<0.05$)。Shannon指数结果显示,与CON组(4.32±1.05)相比,W114组Shannon指数(4.25±1.28)相对降低,但差异不显著($P>0.05$)。

CON组与W114组面部皮肤菌群PCoA聚类分析见图8。由图8可知,样品PCoA聚类结果显示CON组和W114组被明显的区分,与CON组相比,W114组样品分布更为聚集,表明使用W114后生元面膜后的面部皮肤细菌种类及相

对丰度较为相近,表明两组整体菌群结构差异有统计学意义。



“*”表示差异显著($P<0.05$)。“ns”表示差异不显著($P>0.05$)。下同。
图7 CON组与W114组面部皮肤菌群Alpha多样性分析
Fig. 7 Alpha diversity analysis of facial skin flora in CON group and W114 group

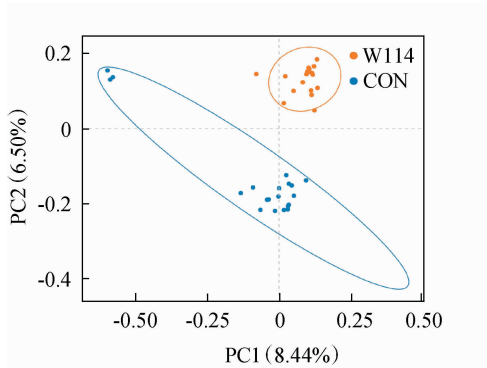


图8 CON组与W114组面部皮肤菌群主坐标分析结果
Fig. 8 Principal co-ordinates analysis results of facial skin flora in CON group and W114 group

2.6.3 W114后生元对面部皮肤菌群门水平的影响

为进一步分析门、属、种水平上两组面部皮肤菌群的物种丰度及差异,参考SILVA数据库^[7]并使用Naive Bayes Classifiers软件进行比对,对16S rDNA测序结果进行物种分类学注释,获得对应的物种分类信息,进而分析门、属、种三个水平上各样品群落组成。

基于门水平CON组与W114组对面部皮肤菌群丰度的影响见图9。由图9可知,CON组和W114组的放线菌门(Actinobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)、变形菌门(Proteobacteria)和拟杆菌门(Bacteroidetes)组成占据了门水平

整个丰度的80%以上。其中W114组放线菌门(Actinobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)、变形菌门(Proteobacteria)总相对丰度明显高于CON组。有研究表明^[2],与健康人类皮肤微生物组相比,银屑病皮肤损伤和其他皮肤炎性疾病(如特应性皮炎)中放线菌门、厚壁菌门的丰度低。W114组放线菌门(Actinobacteria) (36.62 ± 0.93)%、厚壁菌门(Firmicutes) (28.11 ± 1.74)%的丰度均显著高于CON组 [(30.61 ± 1.75) %、 (23.19 ± 3.83) %] ($P < 0.05$),表明使用W114后生元面膜能够改变人体面部微生物群落变化。因此,综合上述内容,W114后生元面膜对正常人面部皮肤菌群在门水平上的主要菌群有一定的影响。

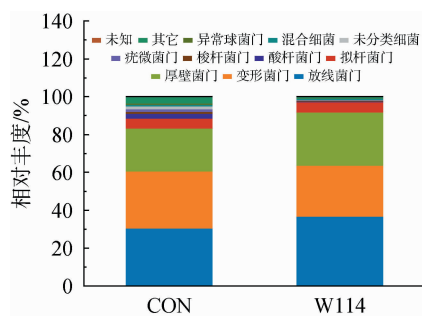


图9 基于门水平CON组与W114组面部皮肤菌群相对丰度
Fig. 9 Relative abundance of facial skin flora in CON group and W114 group based on phylum level

2.6.4 W114后生元对面部皮肤菌群属水平的影响

基于属水平W114后生元面膜对面部皮肤菌群的相对丰度的影响见图10。

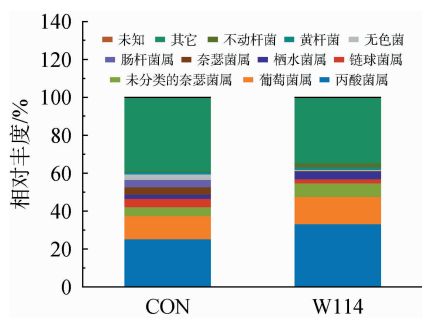


图10 基于属水平CON组与W114组面部皮肤菌群相对丰度
Fig. 10 Relative abundance of facial skin flora in CON group and W114 group based on genera level

由图10可知,面部皮肤中主要微生物为丙酸菌属(*Cutibacterium*)、葡萄球菌属(*Staphylococcus*)、未分类的奈瑟菌属(*unclassified_Neisseriaceae*)和链球菌属(*Streptococcus*)等。经试用W114后生元面膜的测试者中丙酸菌属(33.32 ± 6.19)%相对丰度较CON组(25.38 ± 2.85)%明显增多,链球菌属(2.15 ± 0.44)%相对丰度较CON组(4.46 ± 0.69)%减少,且有文献报道随着年龄的增长,链球菌属丰

度增加,易变为条件致病菌导致老年人抵抗病原体侵袭能力下降^[10]。因此,结合2.4章节W114后生元抗氧化能力的测定,分析W114后生元面膜未来在减缓衰老、免受病原体的侵害方面进行深入的研究。

2.6.5 W114后生元对面部皮肤菌群种水平的影响

基于种水平CON组与W114组对面部皮肤菌群丰度的影见图11。由图11可知,在种水平上,绘制了相对丰度前10的菌种,分别为丙酸杆菌科细菌(*Propionibacteriaceae bacterium*)、表面葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)、未分类的奈瑟菌科(*unclassified Neisseriaceae*)、气囊栖水菌(*Enhydrobacter aerosaccus*)、人葡萄球菌(*Staphylococcus hominis*)、奥斯陆莫拉菌(*Moraxella osloensis*)、头状葡萄球菌(*Staphylococcus capitis*)、粘液奈瑟球菌(*Neisseria mucosa*)、拉氏无色杆菌(*Achromobacter arsenitoxydans*)、路氏肠杆菌(*Enterobacter ludwigii*)。CON组表面葡萄球菌(7.75%)和人葡萄球菌(1.21%)相对丰度均低于W114组(17.43%、3.90%)。表面葡萄球菌在调节皮肤免疫、保护皮肤屏障、防御有害菌及促进伤口愈合等功能方面具有重要作用^[33]。人葡萄球菌是一种普遍存在的共生微生物,在维持人类健康和皮肤完整性方面具有潜在的保护作用^[34]。综合上述内容,W114后生元面膜能够改变物种多样性,增加放线菌门、厚壁菌门和变形菌门的总丰度,减少链球菌属的数量以及增加表面葡萄球菌和人葡萄球菌的丰度,显著改善了皮肤的微生态系统,表明W114后生元面膜能够维持面部皮肤状态的稳定,增强皮肤屏障功能等方面发挥一定的作用。

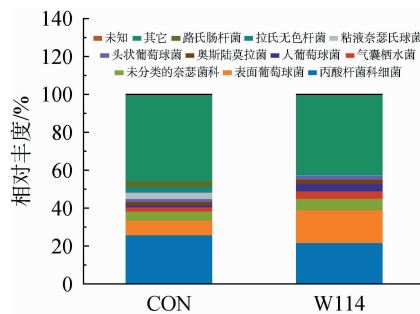


图11 基于种水平CON组与W114组对面部皮肤菌群相对丰度
Fig. 11 Relative abundance of facial skin flora in CON group and W114 group based on species level

3 结论

以西藏开菲尔粒中的菌株W114为研究对象,经过形态学鉴定、生理生化鉴定和16S rDNA基因序列分析,鉴定该菌株为植物乳植杆菌(*Lactiplantibacillus plantarum*),并发现当植物乳植杆菌W114后生元体积分数为10%时,DPPH自由基清除率最大为36.42%,酪氨酸酶抑制率为51.91%,表明植物乳植杆菌W114后生元具有抗氧化和抑制酪氨酸酶活性的能力。以其为原料制成面膜进行42 d的

人体试敷实验,经微生物多样性结果分析表明,W114后生元面膜能够改变物种多样性,增加放线菌门、厚壁菌门和变形菌门的总丰度,减少链球菌属的数量以及增加表面葡萄球菌和人葡萄球菌的丰度,显著改善了皮肤的微生态系统,为后生元在抗炎、减缓衰老、抵御病原体和改善皮肤菌群等产品的研发及应用提供了一定的理论基础。

参考文献:

- [1] 向雪松,杨瑞馥. 益生菌、益生元、后生元与健康[J]. 营养学报, 2023, 45(2): 105-106.
- [2] 刘真真,彭楠. 益生菌的应用现状和发展前景[J]. 微生物学报, 2023, 63(5): 1863-1887.
- [3] 刘颖,张欢,牛超杰,等. 后生元的开发与应用研究新趋势[J]. 武汉轻工大学学报, 2021, 40(5): 14-20, 60.
- [4] LEE W J, IM H C, LEE Y B, et al. Protective effect of soy germ-fermented postbiotics derived from *Lactocaseibacillus paracasei* DCF0429 (SGPB-DCF0429) in human reconstituted skin[J]. **J Funct Foods**, 2024, 113: 106023.
- [5] 袁会敏,刘银辉. 后生元在皮肤健康与美容领域的开发与应用[J]. 中国微生态学杂志, 2023, 35(12): 1475-1482.
- [6] DOU J X, FENG N, GUO F Y, et al. Applications of probiotic constituents in cosmetics[J]. **Molecules**, 2023, 28(19): 6765.
- [7] 严婷,王鑫磊,朱海霞,等. 乳酸菌BC299的鉴定及其对免疫抑制小鼠肠道菌群的影响[J]. 中国酿造, 2021, 40(5): 157-162.
- [8] BUCHANAN R E, GIBBONS N E. 伯杰细菌鉴定手册[M]. 北京: 北京科学出版社, 1984: 797-807.
- [9] 陈坤,杜丽敏,陈玲云,等. 基于中药提取物的美白抗衰老面膜的制备[J]. 广东化工, 2023, 50(7): 73-77.
- [10] 马来记,张欢,陈慧丹,等. 上海地区310名女性皮肤生理参数和皮肤菌群随年龄的变化特征[J]. 日用化学工业(中英文), 2023, 53(4): 414-422.
- [11] LEE S W, LIM J M, MOHAN H, et al. Enhanced bioactivity of *Zanthoxylum schinifolium* fermented extract: Anti-inflammatory, anti-bacterial, and anti-melanogenic activity[J]. **J Biosci Bioeng**, 2020, 129(5): 638-645.
- [12] 张雪,李雪峰,胡瑞峰,等. 具有抑制酪氨酸酶活性乳酸菌的筛选及其成分分析[J]. 食品科学, 2023, 44(18): 193-199.
- [13] 郭聪,高姗,佟长青,等. 牡丹肤-富勒烯复合物抗氧化活性及抑制酪氨酸酶活性的研究[J]. 精细与专用化学品, 2022, 30(7): 5-9.
- [14] BOLGER A M, LOHSE M, USADEL B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data[J]. **Bioinformatics**, 2014, 30(15): 2114-2120.
- [15] EDGAR R C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads[J]. **Nat Methods**, 2013, 10(10): 996-998.
- [16] EDGAR R C, HAAS B J, CLEMENTE J C, et al. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection[J]. **Bioinformatics**, 2011, 27(16): 2194-2200.
- [17] QUAST C, PRUESSE E, YILMAZ P, et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools[J]. **Nucleic Acids Res**, 2013, 41: 590-596.
- [18] BOLYEN E, RIDEOUT J R, DILLON M R, et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2[J]. **Nat Biotechnol**, 2019, 37(8): 852-857.
- [19] 凌代文,东秀珠.《乳酸细菌分类鉴定及实验方法》[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999: 4-37.
- [20] 李韩,宇光海,潘龙,等. 后生元的功能成分及生物活性研究进展[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2024, 45(3): 132-142.
- [21] 闫雍雍,卞倩,焦心语,等. 干酪乳杆菌发酵芡实上清液的活性成分及抗氧化活性分析[J]. 食品工业科技, 2022, 43(24): 145-152.
- [22] 蒋光阳,田永强. 乳酸菌产胞外多糖的发酵条件优化及其抗氧化活性研究[J]. 中国酿造, 2023, 42(4): 187-195.
- [23] 许喜林,周晓莉,郑柳青,等. 鼠李糖乳杆菌LR ZB1107-01的体外抗氧化活性[J]. 华南理工大学学报(自然科学版), 2021, 49(3): 88-94.
- [24] 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.
- [25] 邓阳阳,陈丙年,王芳,等. Na₂PMoO₄·FeO₄对小鼠黑色素瘤B16细胞内黑色素合成抑制及抑菌活性研究[J]. 分子科学学报, 2017, 33(2): 108-113.
- [26] RONG J J, SHAN C, LIU S Z, et al. Skin resistance to UVB-induced oxidative stress and hyperpigmentation by the topical use of *Lactobacillus helveticus* NS8-fermented milk supernatant[J]. **J Appl Microbiol**, 2017, 123(1): 511-523.
- [27] TSAI W H, FANG Y T, HUANG T Y, et al. Heat-killed *Lactocaseibacillus paracasei* GMNL-653 ameliorates human scalp health by regulating scalp microbiome[J]. **BMC Microbiol**, 2023, 23(1): 121.
- [28] 王玥,李俊,顾仕红,等. 一种酿酒酵母和副干酪乳杆菌发酵产物滤液复合物对面部微生态的影响(英文)[J]. 日用化学工业(中英文), 2023, 53(11): 1241-1249.
- [29] 闫昌誉,李晓敏,叶健文,等. 二裂酵母(双歧杆菌)发酵产物在皮肤健康领域中的应用研究进展[J]. 今日药学, 2023, 33(8): 566-578.
- [30] CATIC T, PEHLIVANOVIC B, PLJAKIC N, et al. The moisturizing efficacy of a proprietary dermo-cosmetic product (CLS02021) versus placebo in a 4-week application period[J]. **Med Arch**, 2022, 76(2): 108-114.
- [31] 强化四周抗结核药物治疗对结核病患者肠道微生态影响分析[A]. 达能营养中心2020年论文汇编: 结核病与营养[C]. 北京: 中国疾病预防控制中心达能营养中心, 2020: 45-52.
- [32] SHARMA S, KUMARI M, VAKHLU J. Metatranscriptomic insight into the possible role of clay microbiome in skin disease management[J]. **Int J Biometeorol**, 2023, 67(11): 1803-1811.
- [33] 胡新月,王德娴,宋丽雅. 表皮葡萄球菌对皮肤健康的作用研究进展[J]. 微生物学通报, 2023, 50(1): 368-376.
- [34] SEVERN M M, WILLIAMS M R, SHANHBANDI A, et al. The ubiquitous human skin commensal *Staphylococcus hominis* protects against opportunistic pathogens[J]. **mBio**, 2022, 13(3): e0093022.