



乳酸菌及其发酵产物 应用与开发

黄继翔

德州昂立达生物技术有限公司



内容

乳酸菌介绍

应用

产品示例与功效

作用机制

讨论

什么是乳酸菌

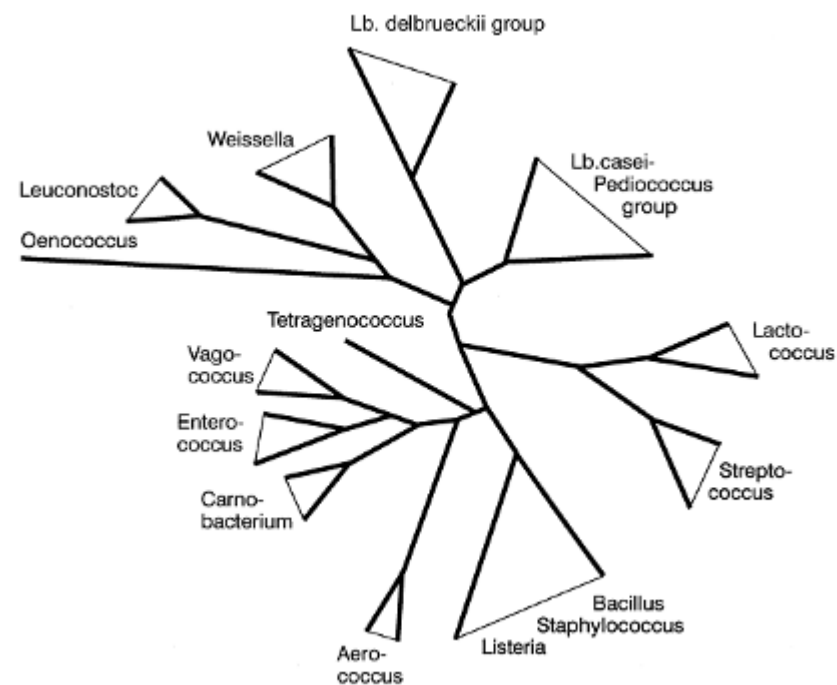


代谢糖类产生乳酸等有机酸的一类微生物

- 发酵乳制品
- 益生菌

作为益生菌（Probiotic）使用

- 乳杆菌属 *Lactobacillus*
- 双歧杆菌属 *Bifidobacterium*



Phylogenetic tree in 16S DNA
Ref: 《Lactic Acid Bacteria》

在护肤品中的应用

- 1984, US4464362 Patent, *Bifidobacterium longum* 胞溶物
- Bifida Ferment Lysate, “二裂酵母发酵产物胞溶物”



在护肤品中的应用

在www.COSDNA.com查询产品数量

Bifida Ferment Lysate :300+

Lactobacillus: 500+



在护肤品中的应用

卫生部《国际化妆品原料标准中文名称目录（2010年版）》

微生物发酵成分 **309**种，其中乳酸菌相关 **93**种

形式：菌体、胞溶物、发酵产物

用于肠道：强调产品活菌数与定殖效果

用于配方和皮肤：？

	肠道	皮肤
水分	湿润环境，水分充分	干燥
营养	丰富，食物富含糖类和蛋白质	糖类贫乏
氧气	完全厌氧环境，适宜乳酸菌生存	氧气对乳酸菌具有毒性
紫外线	无	阳光中的紫外线
pH	肠道内pH为中性至弱碱性，适宜乳酸菌生长	弱酸性，不利于生长
温度	恒定，~37℃	与环境有关
与细胞接触	与肠道上皮细胞直接接触	角质层的阻挡

乳酸菌在皮肤表面难以存活定殖

产品示例与功效

1. *Bifidobacterium longrum* 胞溶物
2. *Lactobacillus* 发酵大米提取物
3. *Bifidobacterium breve* 发酵豆乳
4. *Streptococcus thermophilus* 发酵乳上清液
5. *Lactobacillus/Pediococcus* 发酵上清
6. *Bifidobacterium lactis* 胞溶物
7. *Lactobacillus casei* 胞溶物

示例1: *Bifidobacterium longum* 胞溶物

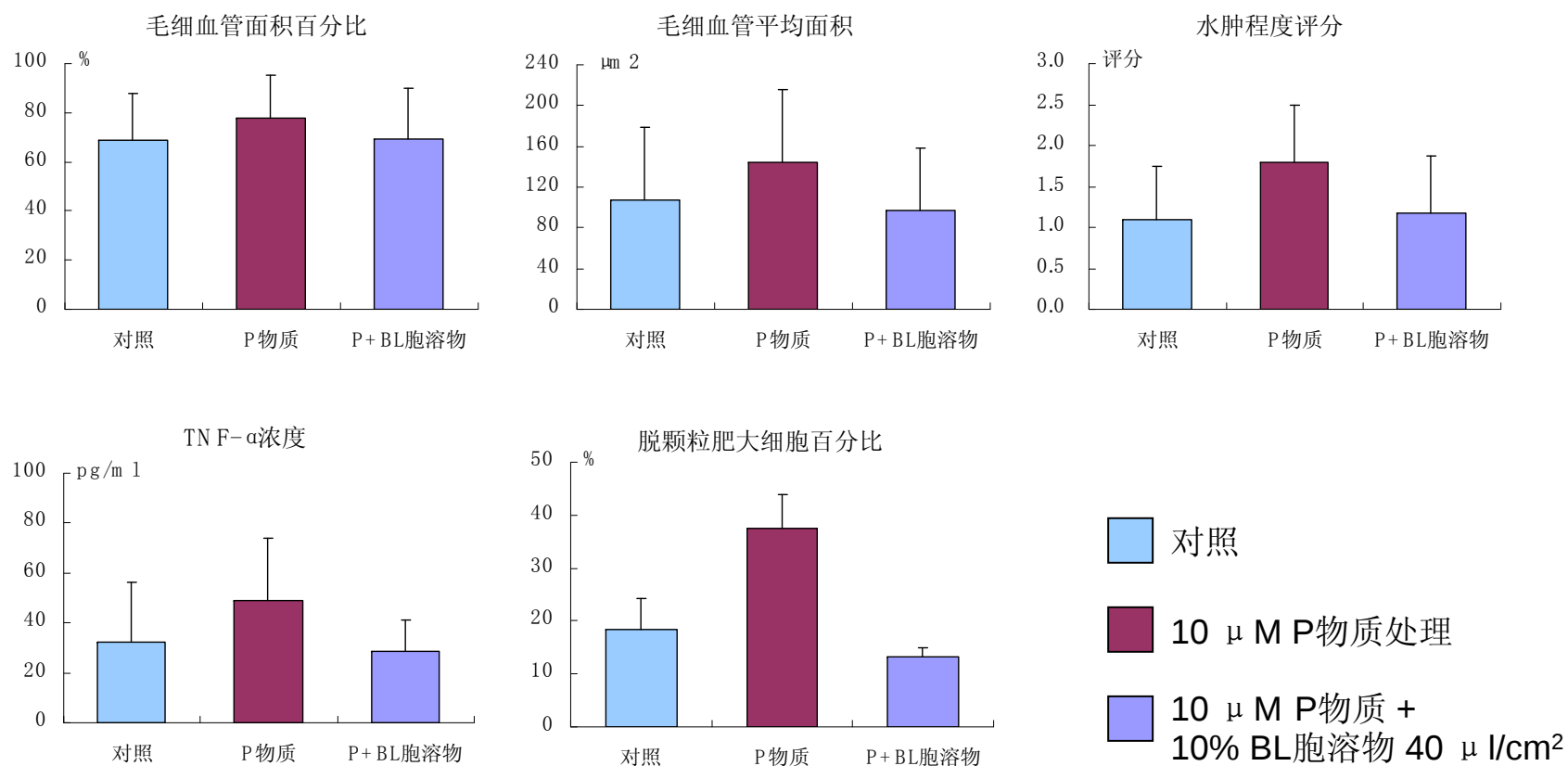
预防或处理敏感皮肤

- P物质处理下表皮和浅层真皮组织的炎症反应程度
- 脊神经节细胞在辣椒素处理下降钙素基因相关肽（CGRP）的释放
- 乳酸刺激试验
- 对皮肤屏障功能的作用：TEWL达到15g/cm²/h的胶带粘贴次数

Reference

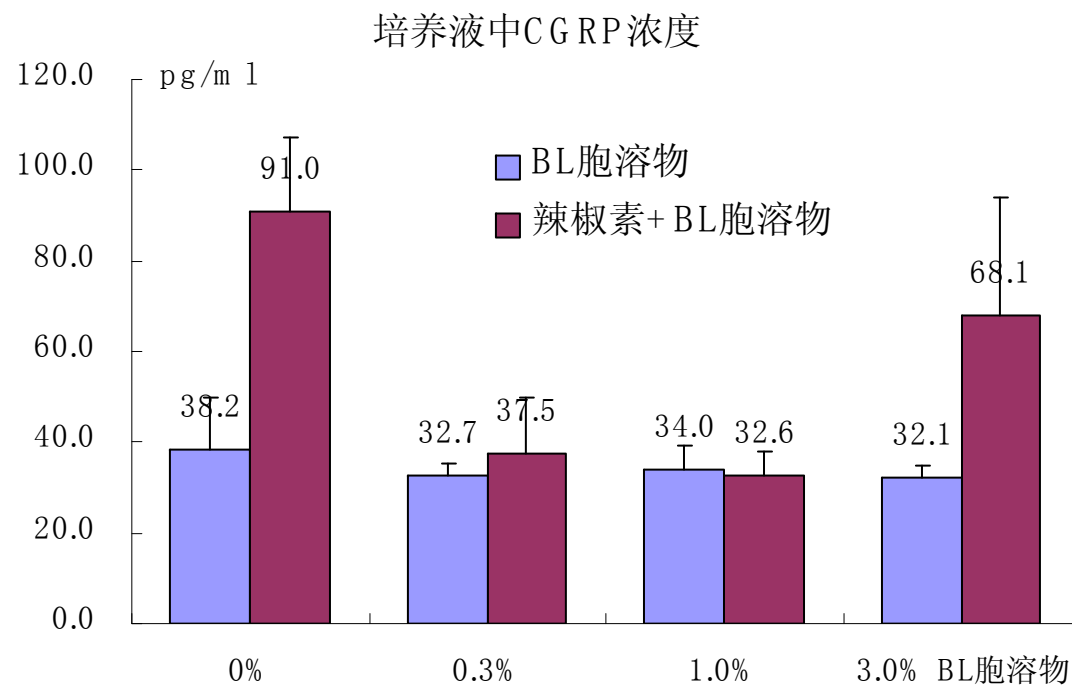
Bifidobacterium longum lysate, a new ingredient for reactive skin, DOI:10.1111/j.1600-0625.2009.00932.x
Experimental Dermatology, 2009, 19, e1–e8

P物质处理下的炎症反应程度



根据参考文献数据绘图

辣椒素处理的神经元细胞释放的CGRP浓度



根据参考文献数据绘图

人体试验：乳酸刺激试验、皮肤屏障试验

增强皮肤屏障功能

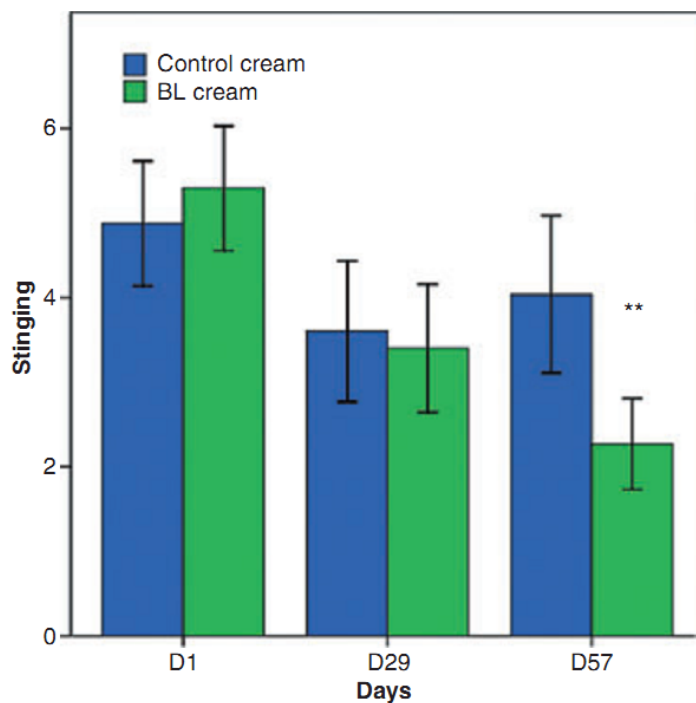


Figure 3. Influence of test cream on skin sensitivity to lactic acid: The graphic display mean values with their 95% confidence interval, ** statistically significant different at $p < 0.01$.

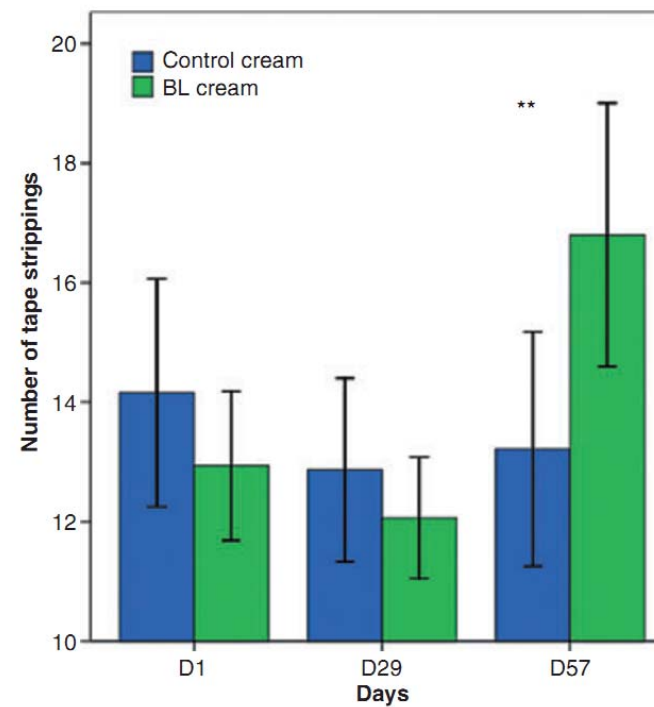


Figure 4. Influence of test cream containing *B. longum* lysate on skin barrier: The graphic display mean values with their 95% confidence interval, ** statistically significant different at $p < 0.01$.

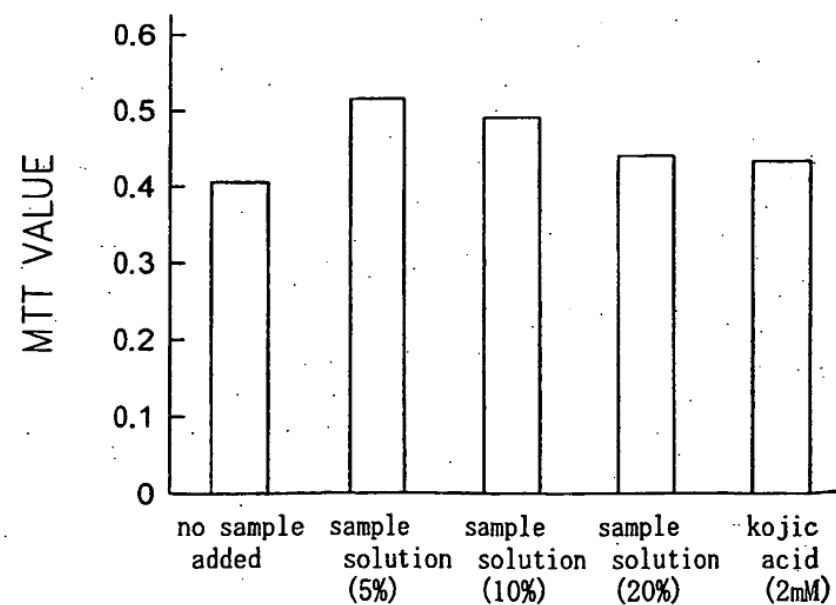
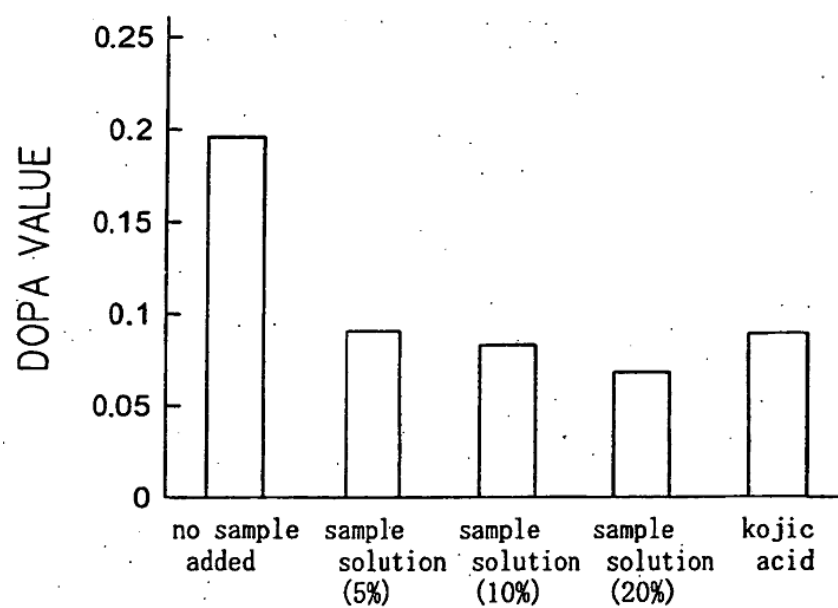
示例2: *Lactobacillus*发酵大米

使用*Lactobacillus* spp., 特别是*Lactobacillus plantarum*, 对大米进行发酵1~7 day, 粉碎干燥为粉末。

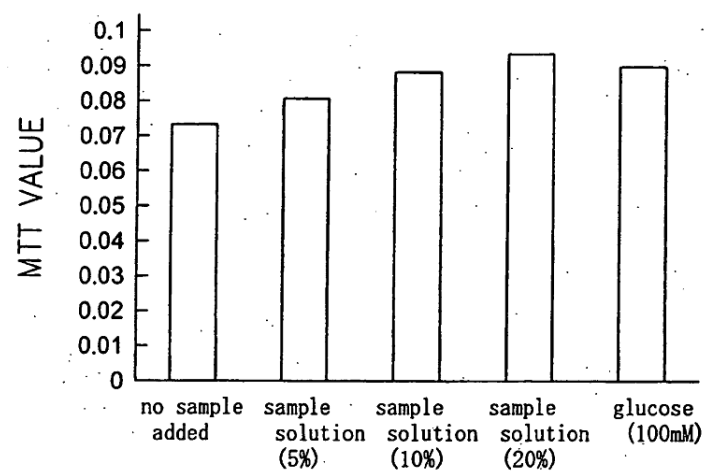
产物具有良好的乳化能力、美白、美肤、改善发质

- B16黑色素瘤细胞: 抑制黑色素生成
- 真皮成纤维细胞: 提高细胞活力
- 豚鼠UVB照射的色素沉着试验
- 人体试验: 色素沉着和红斑的改善

B16黑色素瘤细胞的活性和黑色素的合成

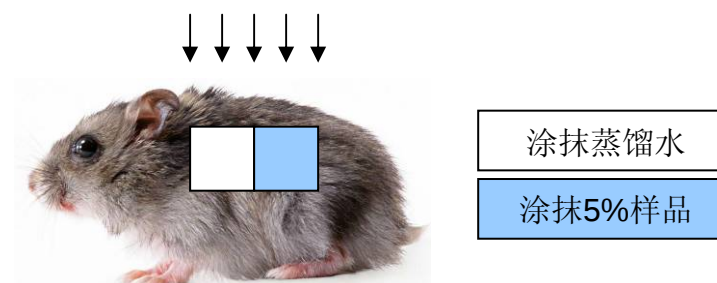


真皮成纤维细胞（NB1RGB） 活力



豚鼠UVB色素沉着试验

UVB, 500 mJ/cm², 每天一次



6d后观察色素沉着情况:

空白: 重度色素沉着

5%样品: 轻微色素沉着

n=6

人体试验

20名18-50岁女性，在左上臂部，每日早晚使用2次，使用1个月。目视观察皮肤色素沉着状态和红斑，评分。

本发明例：发酵米粉末 5%，比较例：曲酸 2%，对照例：空白
色素沉着

A：消失，B：明显减少，C：有所减少，D：无变化，E：增多

红斑（与对照组相比）

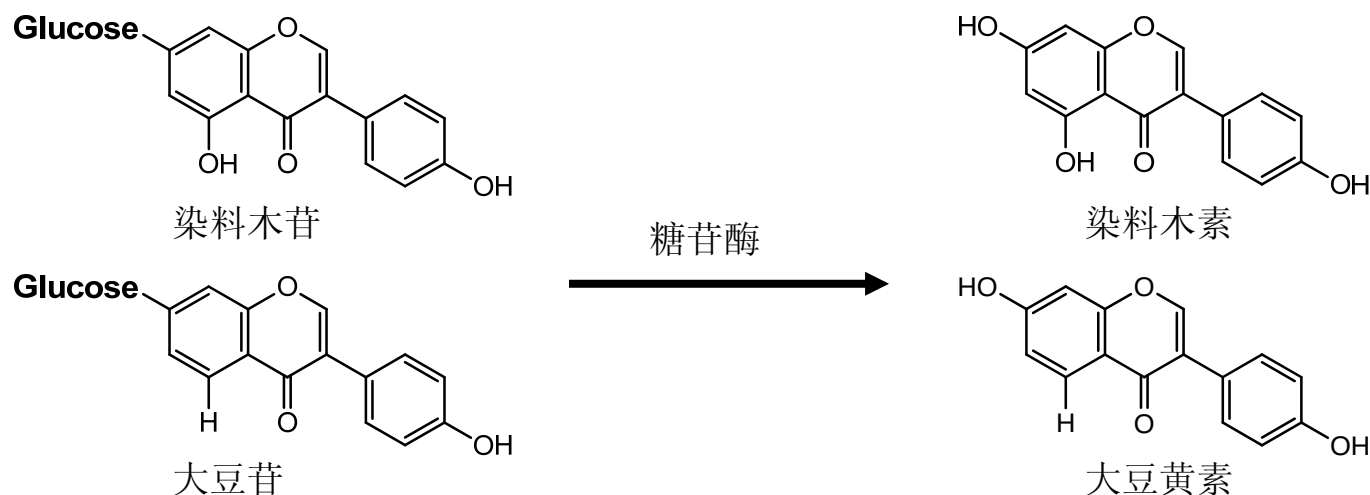
A：无差别，B：基本无差别，C：一些红斑，D：相当多的红斑，E：明显红斑

评价项目	色素沉着状态的评价					红斑的状态的评价				
	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E
本发明例	2	7	9	2	0	20	0	0	0	0
比较例	0	6	9	5	0	10	5	4	1	0
对照例	0	0	5	13	2	-	-	-	-	-

示例3: *Bifidobacterium breve* 发酵豆乳

使用*Bifidobacterium breve* YIT4065 菌株发酵豆乳（BE），将大豆中的异黄酮从无活性的糖苷状态水解为有活性的苷元状态

提高皮肤中透明质酸含量，提高皮肤弹性



Reference: Topical application of *Bifidobacterium*-fermented soy milk extract containing genistein and daidzein improves rheological and physiological properties of skin. J. Cosmet. Sci., 55,473-479 (September/October 2004)

无毛小鼠皮肤弹性和HA浓度的改善

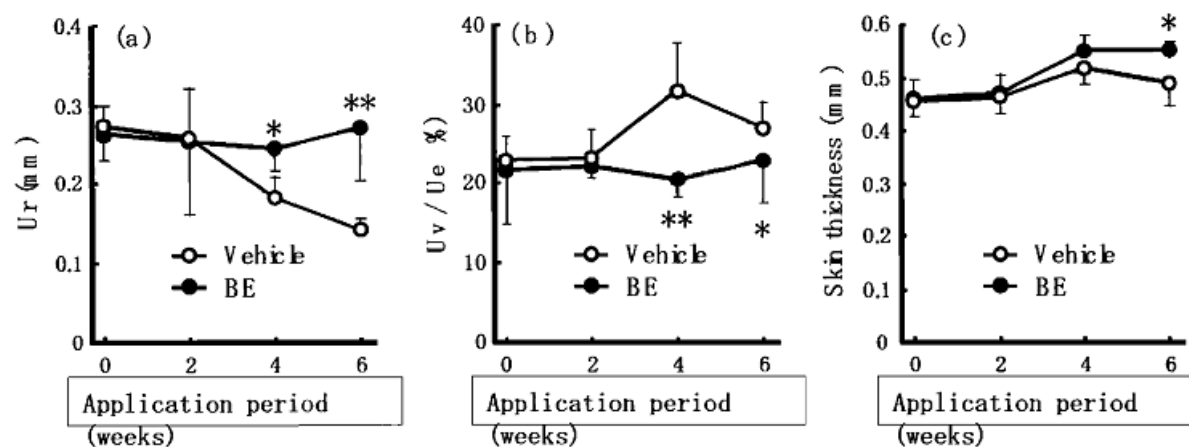


Figure 3. Effects of topical application of *Bifidobacterium*-fermented soy milk extract (BE) on elasticity (a), viscoelasticity (b), and thickness (c) of hairless mouse skin. Values are mean $\pm$ SD ($n = 5$). **($p < 0.01$) and *($p < 0.05$) show a significant difference from vehicle.

无毛小鼠皮肤弹性和HA浓度的改善

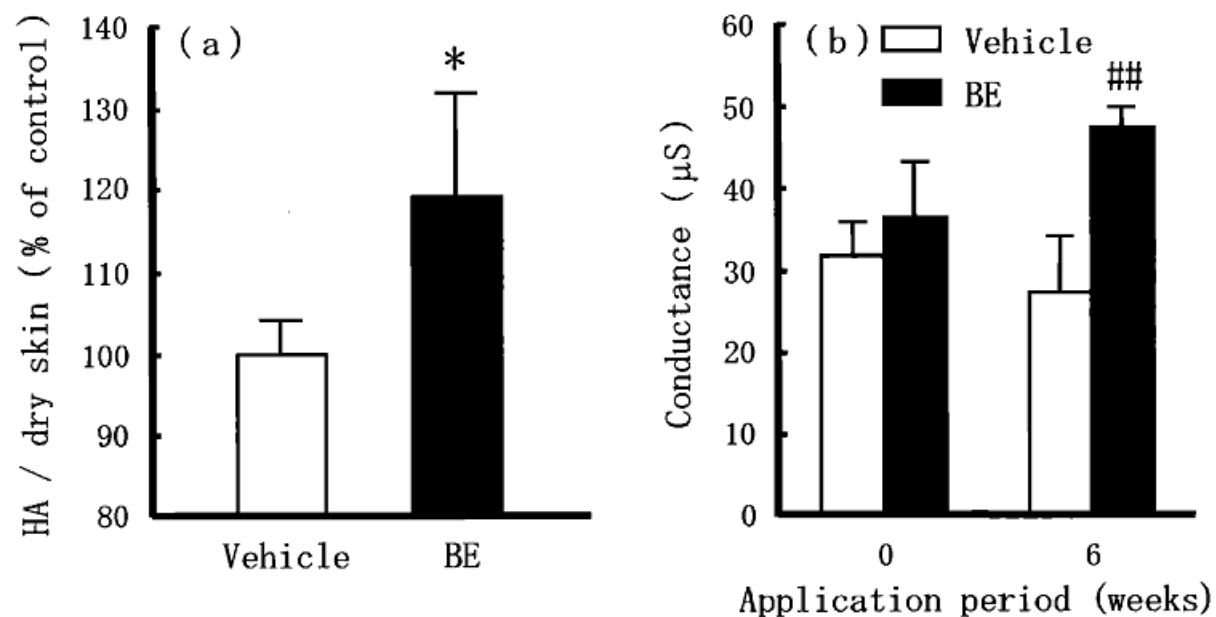


Figure 4. Effects of topical application of *Bifidobacterium*-fermented soy milk extract (BE) on HA content (a) and surface conductance (b) of hairless mouse skin. HA content was expressed as a percentage of control (vehicle-treated skin), containing 1.03 ± 0.04 mg HA/g dry skin. Values are mean $\pm$ SD (n = 5). ##($p < 0.01$) and *($p < 0.05$) are significantly different from vehicle at week 6 and BE at week 0, respectively.

人体试验: n=3

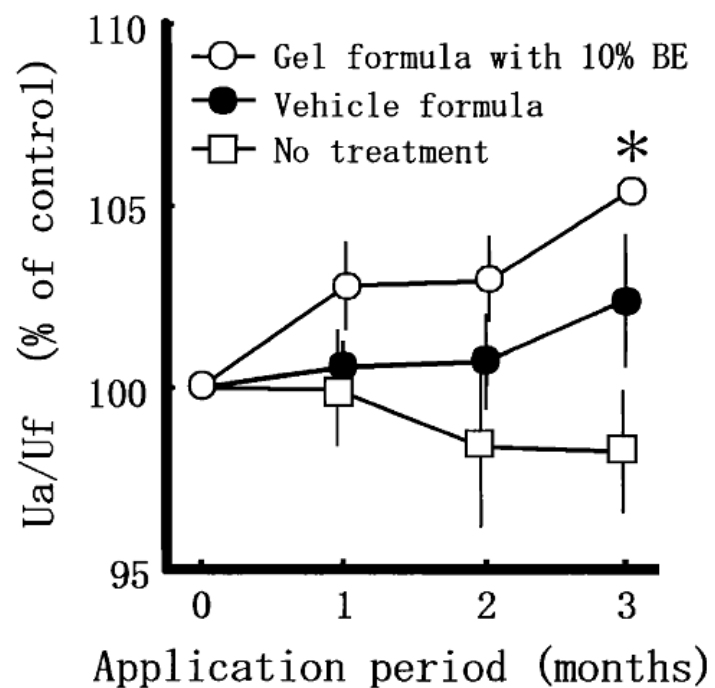
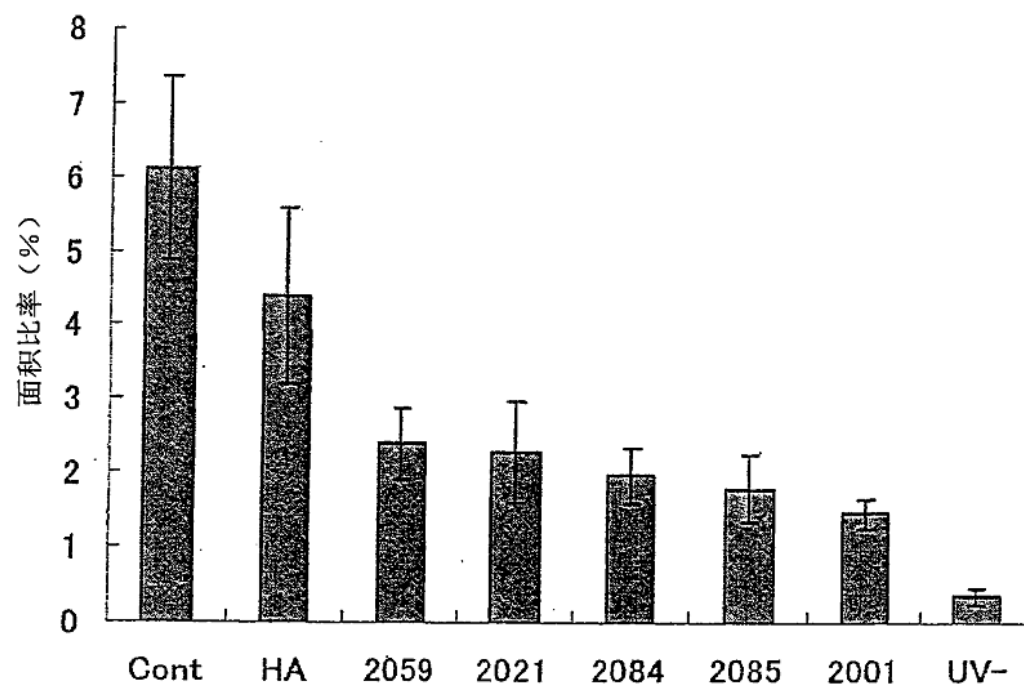


Figure 5. Effect of topical application of gel formula containing *Bifidobacterium*-fermented soy milk extract (BE) on elasticity of human forearm skin. Values are mean $\pm$ SE (n = 3). * $(p < 0.05)$ indicates a significant difference from no treatment.

示例4: *Streptococcus thermophilus* 发酵乳上清液

特定菌株的脱脂乳发酵上清提取物，为胞外多糖（EPS）

无毛小鼠模型：减少紫外照射诱导皱纹的数量和深度

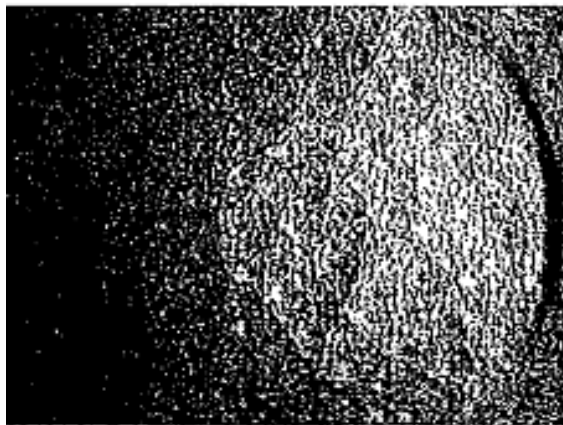


每组n=6

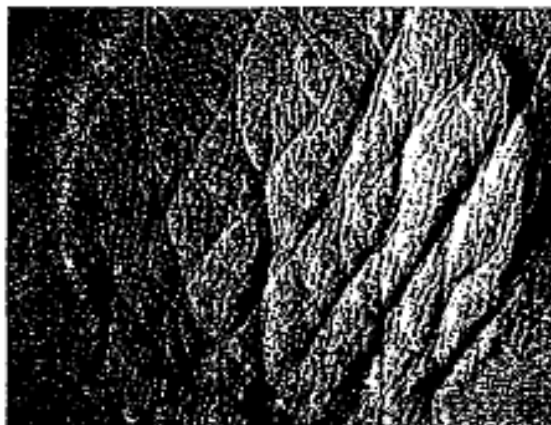
照射30 mJ/cm² UVB, 4d

每日涂抹100 μl 1% EPS溶液

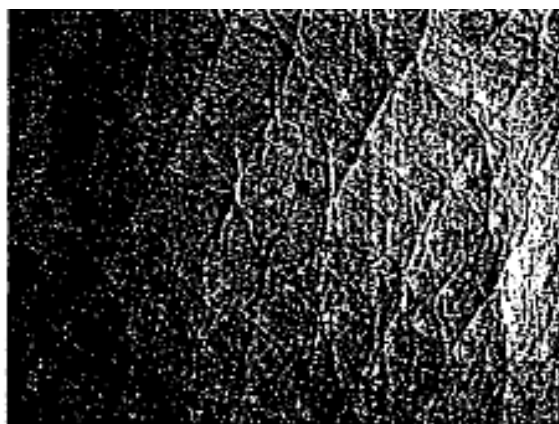
硅胶转模后拍照，图像分析



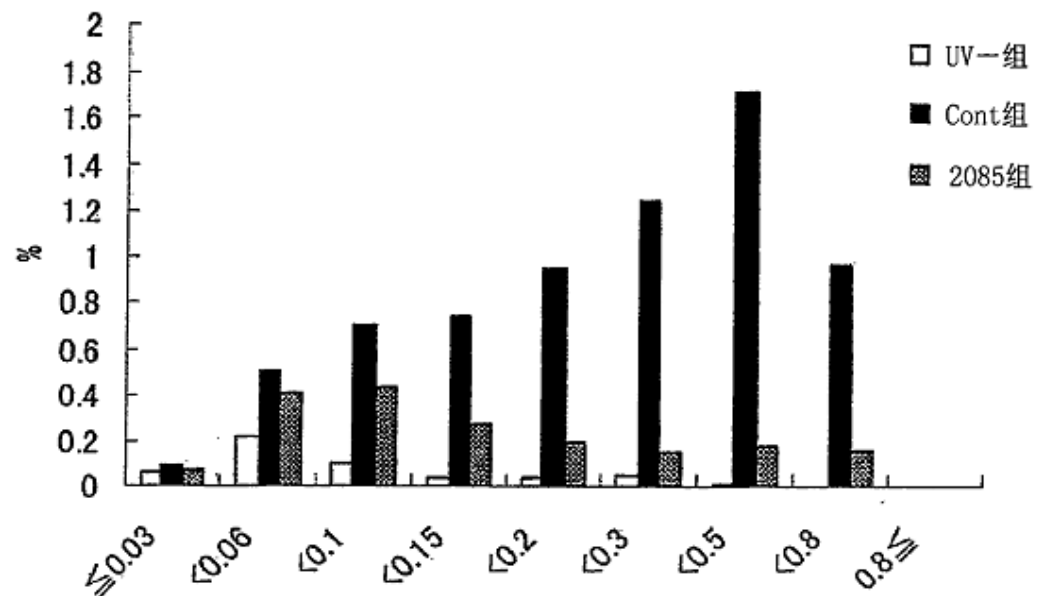
正常 (UV—组)



UV + (Cont组)



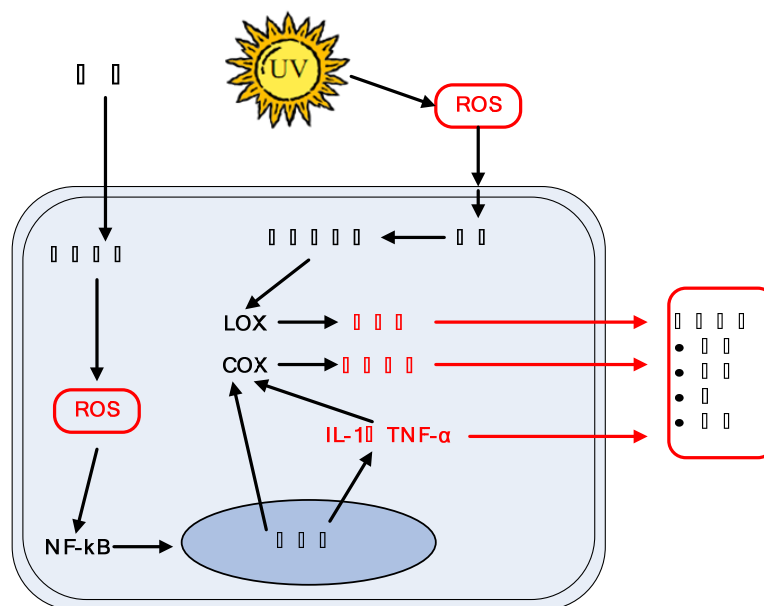
UV +, 2085 EPS (2085组)

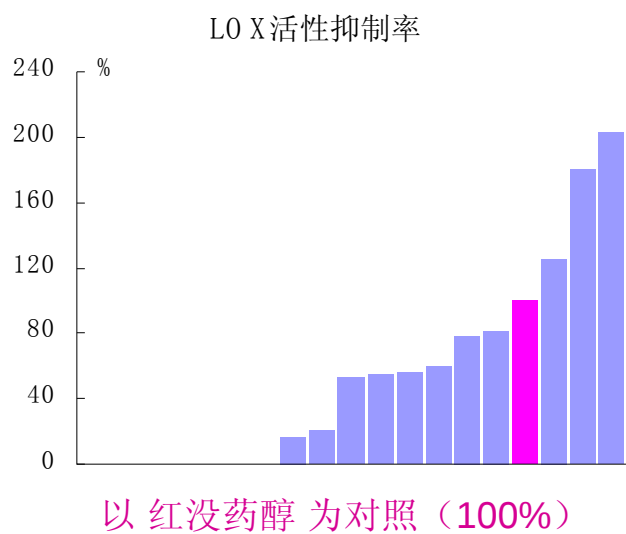
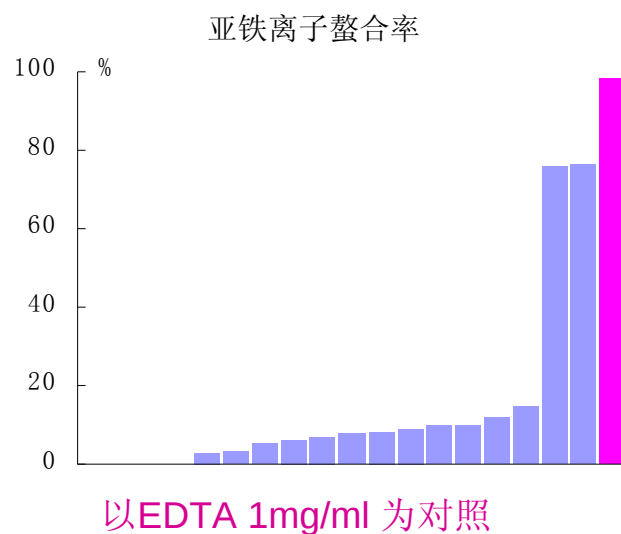
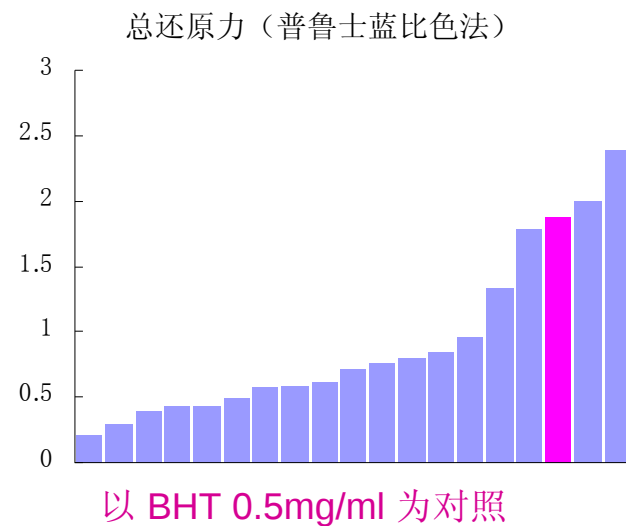
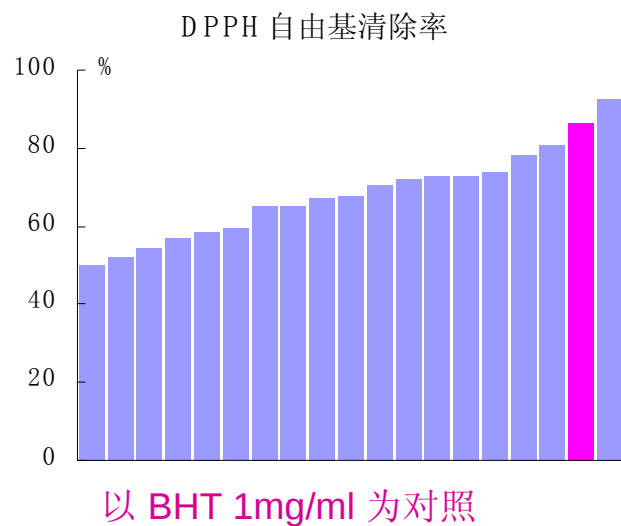


示例5: *Lactobacillus/Pediococcus* 发酵上清

Lactobacillus spp. , *Pediococcus* spp. ,18个菌株的发酵上清液

针对抗氧化能力和抑制脂氧合酶活性, 用于抗过敏产品开发的基础研究





示例6: *Bifidobacterium lactis* 胞溶物

Bifidobacterium lactis 0207菌株，昂立达公司产品Sooth-BA

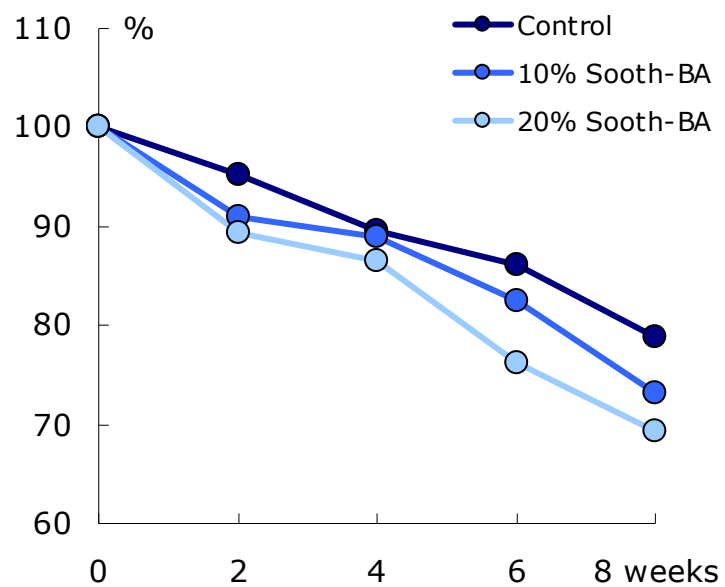
人体试验：空白对照（n=13），10% 膏霜（n=27），20%膏霜（n=18），每日使用两次。VISIA全脸分析，MPA580皮肤测试仪

- 提亮肤色
- 减少色斑
- 抚平皱纹
- 提高平滑度
- 降低敏感度

商品名	INCI Name	% W/W
MONTANOV 68	CETEARYL ALCOHOL & CETEARYL GLUCOSIDE	2
SIMULSOL 165	PEG-100 STEARATE & GLYCERYL STEARATE	1
混合醇	CETEARYL ALCOHOL	3
A GTCC	CAPRYLIC/CAPRIC TRIGLYCERIDE	2
Cegesoft C24	ETHYLHEXYL PALMITATE	4
白油	PARAFFINUM LIQUIDUM	2
PMX-200	DIMETHICONE	1
水	WATER	-100
甘油	GLYCERIN	3
丙二醇	PROPYLENE GLYCOL	3
B 汉生胶	XANTHAN GUM	0.1
CARBOPOL ULTREZ 21	ACRYLATES/C10-30 ALKYL ACRYLATE CROSSPOLYMER	0.1
NMF-50	BETAINE	3
C TEA	TRIETHANOLAMINE	q.s.
Sooth-BA	BIFIDA FERMENT LYSATE	10~20
D 防腐剂		q.s.
香精		q.s.

A相搅拌下加热到85℃，溶解混合均匀。B相充分溶胀搅拌加热至85℃，与A相混合均质。待温度降至40℃，加入C相调节pH到6.0。加入D相，混合均匀。

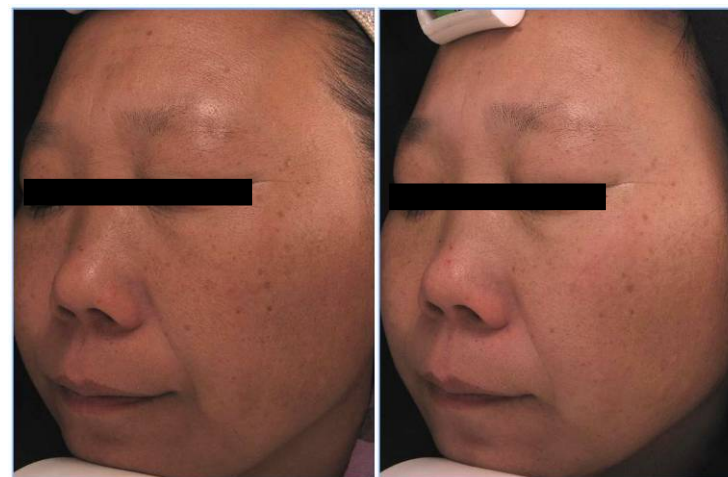
提亮肤色



黑色素数值的降低

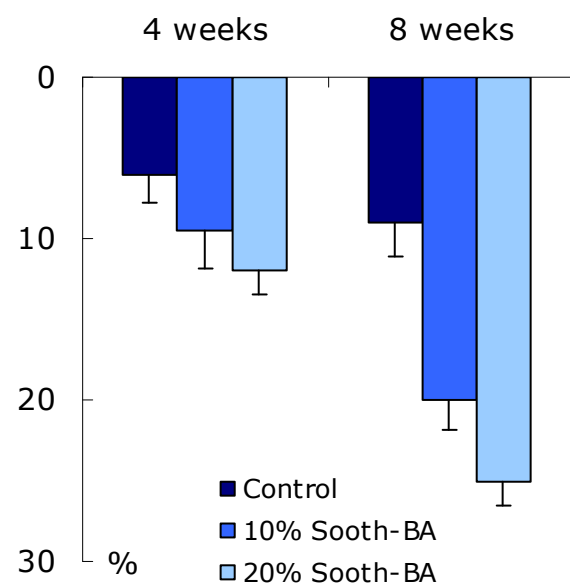


10% Sooth-BA, 左: 0周, 右: 8周

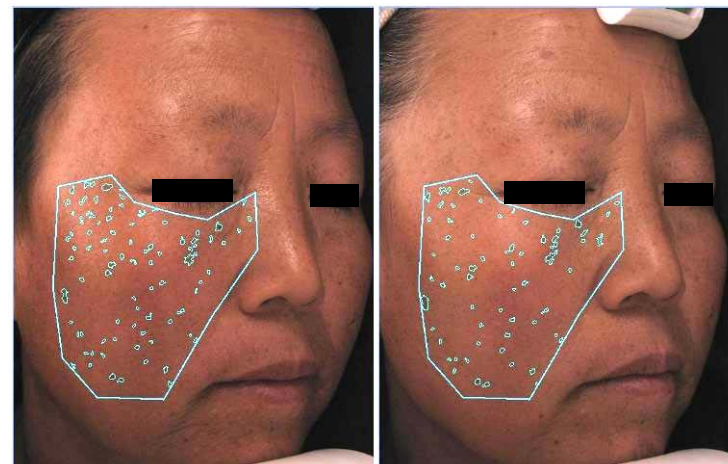


20% Sooth-BA, 左: 0周, 右: 8周

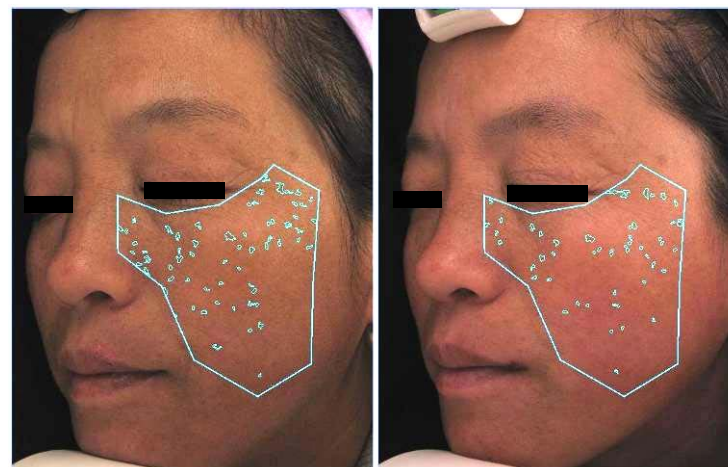
减少色斑



色斑数量的降低

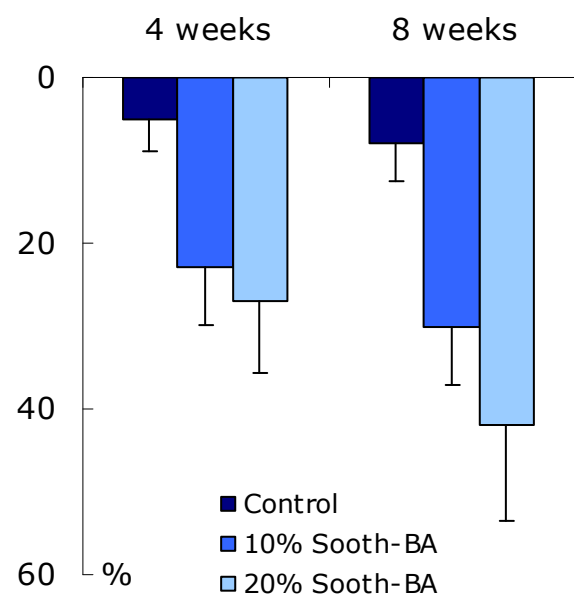


10% Sooth-BA, 左: 0周, 右: 4周



10% Sooth-BA, 左: 0周, 右: 6周

抚平皱纹



皱纹数量的降低

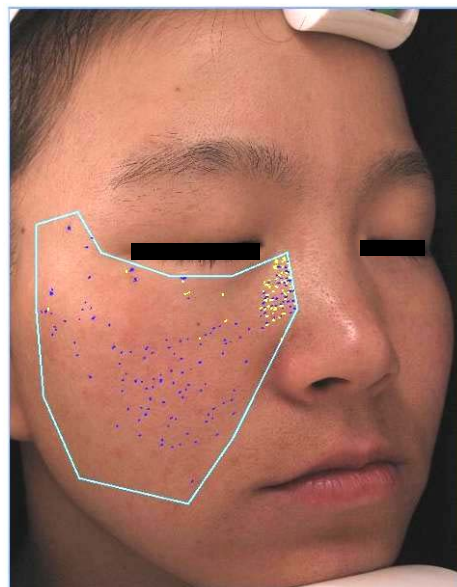


10% Sooth-BA, 左: 0周, 右: 4周

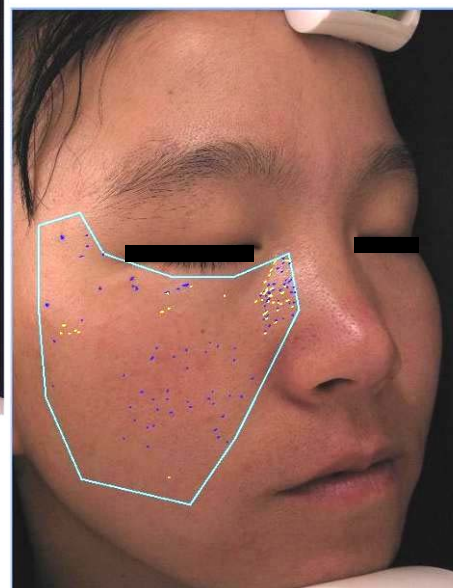


10% Sooth-BA, 左: 0周, 右: 8周

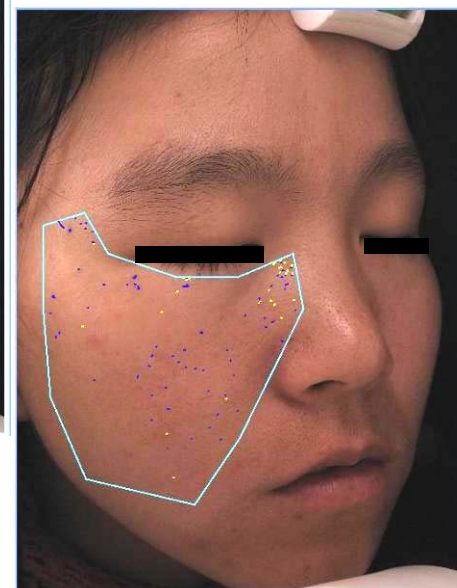
提高平滑度



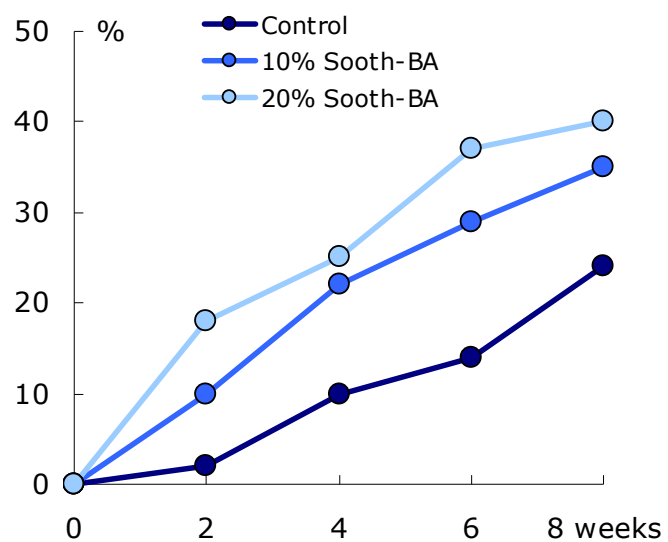
使用前，非平滑点198



20% Sooth-BA, 4周, 非平滑点122



20% Sooth-BA, 8周, 非平滑点89



平滑度的提高

Onlystar®
actives for cosmetic

降低敏感度

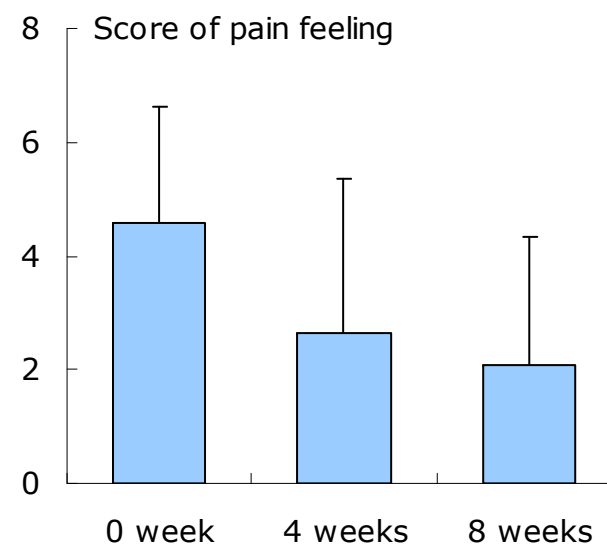
10% Sooth-BA

n=23

0、4、8 周

10% lactic acid, 50 μ l

25 $\pm$ 2 $^{\circ}$ C, RH 40 $\pm$ 5% ,
30min



刺痛感程度的降低

示例7: *Lactobacillus casei* 胞溶物

Lactobacillus casei 0357菌株，昂立达公司研发中产品

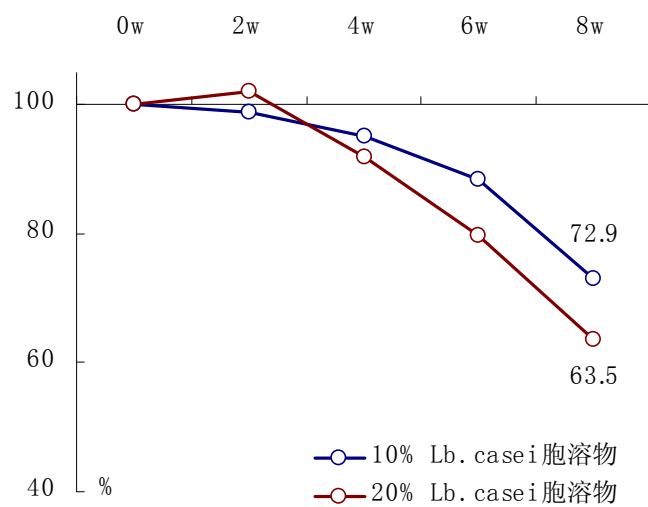
人体试验：10% 配方（n=31），20% 配方（n=13），每日使用2次。VISIA & MPA580。

- 抚平皱纹
- 提亮肤色
- 提高水合度

	商品名	INCI Name	% W/W
A	甘油	GLYCERIN	3
	汉生胶	XANTHAN GUM	0.08
	CARBOPOLULTREZ 21	ACRYLATES/C10-30 ALKYL ACRYLATE CROSSPOLYMER	0.05
	水	WATER	-100
B	丙二醇	PROPYLENE GLYCOL	3
	CM-Glucan	SODIUM CARBOXYMETHYL BETA-GLUCAN	0.1
	水	WATER	10
C	TEA	TRIETHANOLAMINE	q.s.
D	<i>Lactobacillus casei</i> 0357	Lactobacillus Ferment Lysate	10~20
	NMF-50	BETAINE	3
	防腐剂		q.s.
	香精		q.s.

A相加热搅拌至完全溶解，B相搅拌完全溶解，A相降温至45℃，加入C相调节pH到6.0。将B、D两项依次加入A相，混合均匀。

抚平皱纹

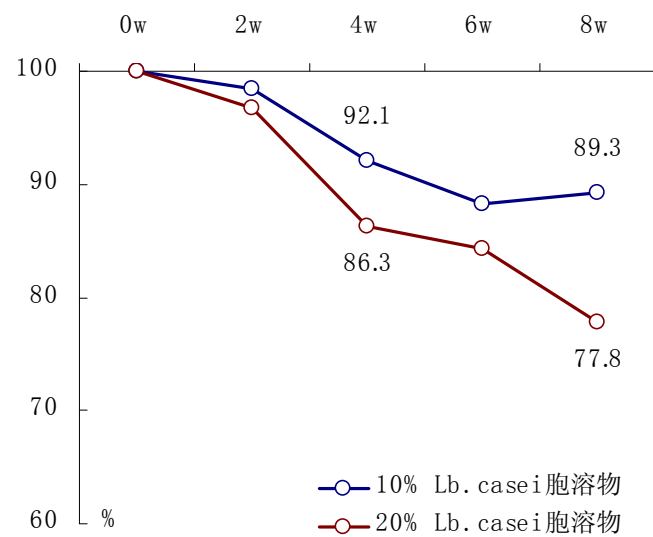


皱纹数量的降低



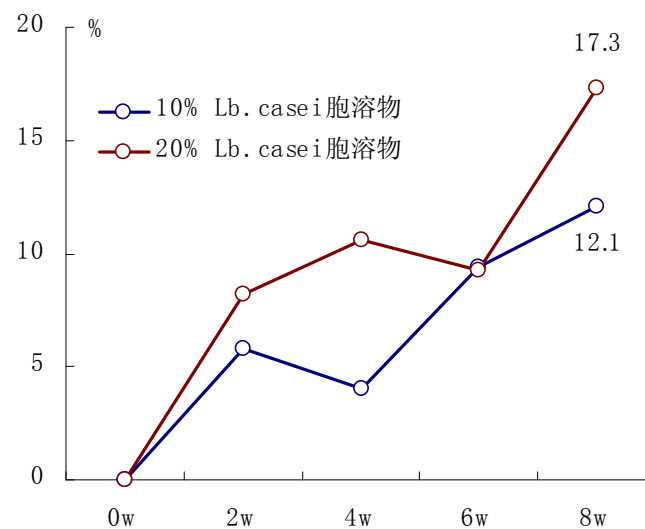
10% *Lb. casei* 胞溶物，依次为0w、4w、8w

提亮肤色



黑色素数值的降低

提高水合度



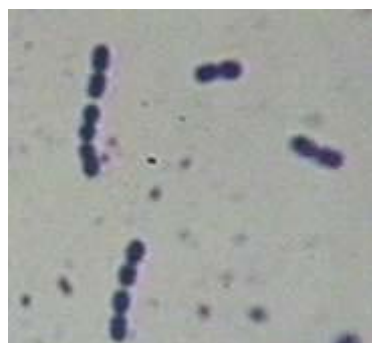
皮肤水合度的提高

不同菌株胞溶物的效果比较

	<i>Bifidobacterium lactis</i> 0207	<i>Lactobacillus casei</i> 0357
提亮肤色	Yes	Yes
减少色斑	Yes	No
抚平皱纹	Yes	Yes
提高平滑度	Yes	No
降低敏感度	Yes	未测试
提高水合度	未测试	Yes

总结

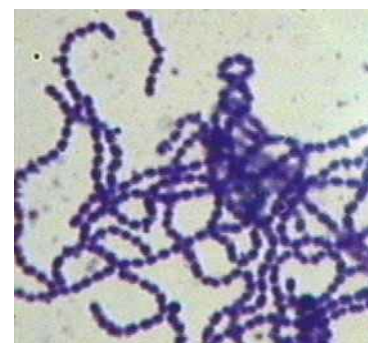
- 确切的功能
- 高度多样性：种类、功能
- 安全性高：无致病性、免疫耐受
- 在效果上存在菌株特异性
 - 菌体组成的差异
 - 代谢能力的差异
 - 示例： *Streptococcus thermophilus* 菌株产多糖能力的差异： 37个菌株中6个高产EPS



不产EPS



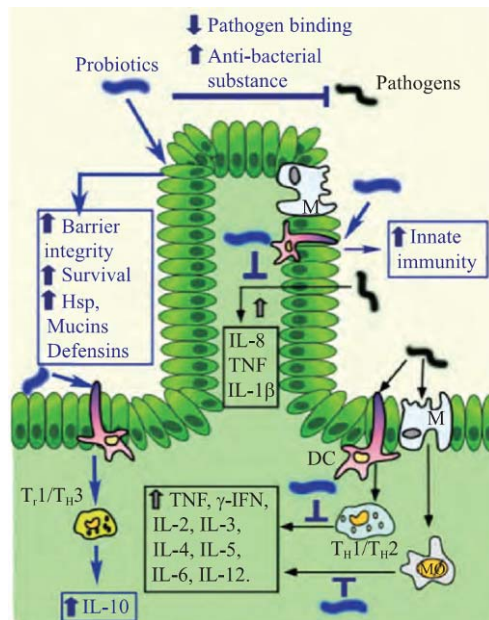
产生EPS



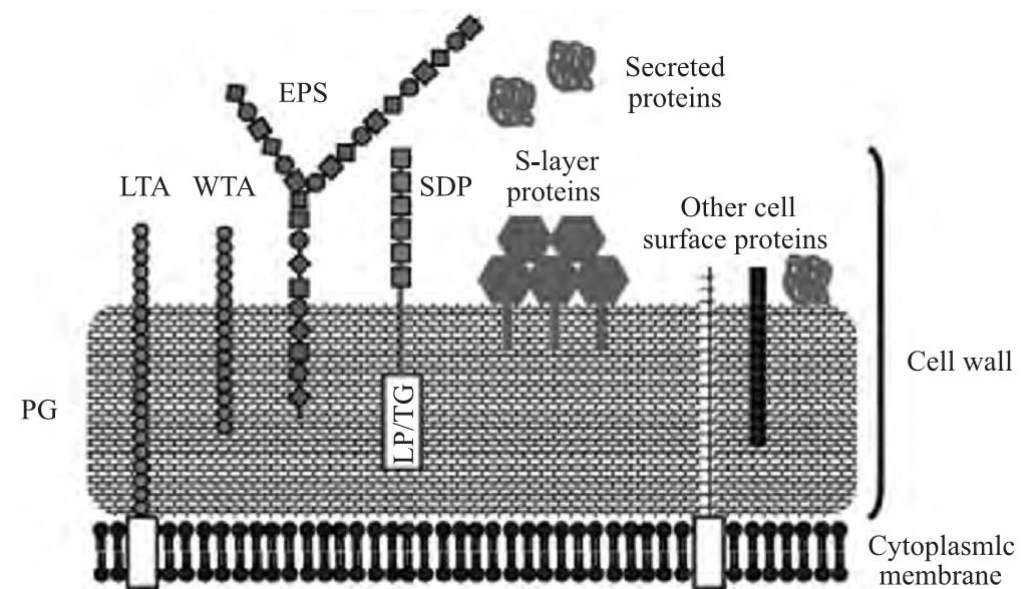
高产EPS

作用机制

菌体成分可发挥作用，具体的分子机制仍不明确



Vanderpool C, Yan F, Polk DB. Mechanisms of probiotic action: implications for therapeutic applications in inflammatory bowel diseases[J]. Inflammatory Bowel Diseases, 2008, 14(11): 1585-1596.



Lebeer S, Vanderleyden J, De Keersmaecker SCJ. Genes and molecules of lactobacilli supporting probiotic action[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2008, 72(4): 728-764.

讨论

基于乳酸菌的活性成分的开发

- 菌株资源与筛选、高密度培养、处理与纯化、功能验证
- 个体定制化菌株

为产品带来的特点

- 皮肤上的益生菌

Thank You



黄继翔 Senior Engineer of R&D Center
huangjixiang@onlystar.com 135 7346 4921
programan9527@163.com

