



李琪琳,刘菲,耿在军,等.蛹虫草双向发酵组合物的抗氧化、抗皱紧致及光老化修复功效评价[J].轻工学报,2026,41(4):134-142.

LI Q L, LIU F, GENG Z J, et al. Evaluation of the antioxidant, anti-wrinkle/skin-firming and photoaging repair activities of *Cordyceps militaris* bidirectional fermentation combinations[J]. Journal of Light Industry, 2026, 41(4): 134-142. DOI: 10.12187/2026.04.013

蛹虫草双向发酵组合物的抗氧化、抗皱紧致及光老化修复功效评价

李琪琳¹, 刘菲², 耿在军¹, 何姣¹, 王倩², 李丽¹, 杨素珍²

1. 北京工商大学 北京市植物资源研究开发重点实验室, 北京 100048;

2. 山东福瑞达生物股份有限公司 基础研究部, 山东 济南 250101

摘要:【目的】开发蛹虫草组合发酵产品并探索珍稀药材高效利用的新路径。【方法】采用液态发酵法结合中药-菌种双向发酵技术制备蛹虫草单菌及分别与甘草、人参茎叶、三七茎叶、铁皮石斛组合的 5 种发酵液, 通过 DPPH 和 ABTS⁺ 自由基清除实验和弹性蛋白酶抑制实验, 结合 UVB 诱导的人包皮成纤维细胞 (HFF) 光老化模型和裸鼠皮肤光老化模型, 评价发酵液体外抗氧化、抗皱紧致及光老化修复能力。【结果】蛹虫草-甘草发酵液 (Y2) 的 DPPH 和 ABTS⁺ 自由基清除率及弹性蛋白酶抑制率均显著优于其他发酵液; 该发酵液可显著上调 UVB 损伤 HFF 细胞中 I 型胶原蛋白 (COL-I) 合成, 下调基质金属蛋白酶 1 (MMP-1) 分泌; 在裸鼠皮肤光老化模型中, Y2 能减轻皮肤组织病理损伤, 改善胶原纤维排列。【结论】蛹虫草-甘草发酵液兼具良好的抗氧化与光老化修复活性, 可为蛹虫草功能产品开发及珍稀药材的高效利用提供新方向。

关键词: 蛹虫草; 甘草; 深层双向发酵; 抗氧化; 抗皱紧致; 光老化

中图分类号: TS974.1; TQ658.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 2096-1553(2026)04-0134-09

0 引言

蛹虫草 (*Cordyceps militaris*), 又称北冬虫夏草或北虫草, 是子囊菌亚门麦角菌科的食药真菌, 其子实体及发酵产物富含虫草素、虫草腺苷、虫草多糖等多种生物活性物质^[1], 具备显著的抗氧化与延缓衰老功效^[2]。在工业化生产层面, 蛹虫草菌丝体具有生长速度快、菌球密度高且体积小的优势, 为规模化发酵生产奠定了坚实的生物学基础^[3]。凭

借优异的生物活性, 蛹虫草在天然化妆品原料开发领域极具应用潜力, 目前已有研究将其提取物应用于保湿、抗皱类化妆品配方^[4]。然而, 现有成果多聚焦于传统子实体提取物, 基于中药深层双向发酵技术制备的蛹虫草产物在皮肤光老化防护中的应用探索仍较为薄弱。

皮肤光老化是最主要的外源性皮肤衰老形式, 日光中的紫外线 (UV) 辐射是其核心诱发因素^[5]。UV 照射可诱导皮肤细胞内活性氧 (ROS) 过量蓄

收稿日期: 2025-06-09; 修回日期: 2025-10-08; 出版日期: 2026-08-15

基金项目: 山东省企业技术创新项目 (202360101036)

作者简介: 李琪琳 (2001—), 男, 山东省济南市人, 北京工商大学硕士研究生, 主要研究方向为中国特色植物资源化妆品原料开发。E-mail: lqlql575575@163.com

通信作者: 杨素珍 (1968—), 女, 山东省潍坊市人, 山东福瑞达生物股份有限公司研究员, 主要研究方向为化妆品配方与功效。E-mail: 85844202@qq.com

积,打破机体氧化与抗氧化系统的动态平衡,引发氧化应激损伤,进而介导细胞凋亡、DNA 损伤、线粒体功能障碍、炎症反应、色素异常沉积等多种病理效应^[6-8]。在分子机制层面,ROS 蓄积可通过氧化应激信号通路上调基质金属蛋白酶(MMPs)的分泌;MMPs 可特异性降解真皮层 I 型胶原蛋白及真皮表皮交界处的 VI、VII 型胶原蛋白,破坏皮肤细胞外基质的结构稳定性,最终导致皮肤出现皱纹、松弛等典型老化特征^[9]。当前天然抗光老化原料研发中,单一活性成分普遍存在作用通路有限、功效强度不足的问题,亟需通过新型生物转化技术实现多靶点协同增效。

中药深层双向发酵技术是实现药用真菌与中药材协同增效的核心技术手段,该技术以蛹虫草等真菌为发酵菌株,以中药材为复合基质开展固态或液态发酵,可有效破解传统子实体生产周期长、成本高的产业瓶颈^[10]。其核心优势在于双重增效机制:一方面,中药材可为菌丝体生长提供碳源、氮源及特异性活性成分,促进目标代谢产物的合成与富集;另一方面,菌株分泌的胞外酶系可对中药材成分进行生物转化,生成新的活性物质,最终实现珍贵药用资源的高值化利用^[11]。鉴于中药深层双向发酵技术在提升活性成分功效、可实现多成分协同方面的突出优势,结合皮肤光老化防护对高效天然原料的迫切需求,开展蛹虫草-中药双向发酵产物的光老化调控作用研究具有重要的理论与实践意义。

基于此,本研究拟以蛹虫草为发酵菌种,分别配伍甘草(*Glycyrrhiza uralensis*)、人参茎叶、三七茎叶及铁皮石斛(*Dendrobium officinale*) 4 种代表性中药材,采用液态双向发酵技术制备复合发酵液,利用 DPPH 自由基清除率、ABTS⁺ 自由基清除率、弹性蛋白酶抑制率等体外抗氧化指标,系统评价蛹虫草双向发酵液的抗皱紧致功效。在此基础上,通过建立中波紫外线(UVB)诱导的人包皮成纤维细胞(HFF)光老化模型,系统分析 5 种发酵液(Y1—Y5)对 I 型胶原蛋白(COL-I)合成的促进作用及基质金属蛋白酶 1(MMP-1)分泌的抑制效应,以期阐明蛹虫草与中药协同发酵的功效物质基础、实现中药资源的高

值化利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

主要材料:蛹虫草菌株,编号 CICC14013,中国工业微生物菌种保藏管理中心;甘草,北京同仁堂中药饮片有限公司;人参茎叶(五加科、人参属人参(*Panax ginseng*)的地上茎叶干燥品),三七茎叶(五加科、人参属三七(*Panax notoginseng*)的地上茎叶干燥品),上善若水中药材有限公司;铁皮石斛,中国云南省中宛供应链管理云南有限公司。

主要试剂:KH₂PO₄、MgSO₄、CuSO₄,佛山西陇化工有限公司;无水葡萄糖(生化试剂级)、蛋白胨(生化技术级),北京博奥拓达科技有限公司;MMP-1 ELISA 试剂盒、细胞计数试剂盒-8(CCK-8),上海碧云天生物技术有限公司;COL-I ELISA 试剂盒、弹性蛋白酶试剂盒,上海酶联生物科技有限公司;无水乙醇,天津福晨化学试剂有限公司;ABTS,上海麦克林生化科技有限公司;DPPH,梯希爱(上海)化成工业发展有限公司;HFF,浙江美森细胞科技有限公司;磷酸盐(PBS)缓冲液,武汉博士德生物工程有限公司;DMEM 培养基、胎牛血清(FBS)、青霉素-链霉素混合液(PS),上海欲立生物科技有限公司。除特别标注外,其余试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器与设备

HeracellTM 型 150 L CO₂ 培养箱,美国 Thermo 公司;SW-CJ-1F 型超净工作台,苏州安泰空气技术有限公司;Biostat[®] A 型生物反应器,德国赛多利斯公司;SB-1200 型水浴锅,上海爱朗仪器有限公司;CKX41 型倒置显微镜,日本 Olympus 公司;infiniteM-200PRO 型酶标仪,德国 TECAN 公司;MH-1 型微量振荡器,海门市其林贝尔仪器制造有限公司;MPA580 CK 型皮肤测试仪,Courage+Khazaka electronic GmbH(CK)公司;ZLWY-100D 型台式恒温摇床,上海助蓝科技有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 蛹虫草发酵液制备 蛹虫草种子液培养:从蛹虫草菌株平板培养基中挑取约 1 cm²、菌丝长势饱满均匀的菌落,接种至经 121 ℃ 高压蒸汽灭菌

20 min 的液体基础培养基(葡萄糖 20 g/L、蛋白胨 30 g/L、 KH_2PO_4 0.5 g/L、 MgSO_4 1.5 g/L),于 28 ℃、150 r/min 恒温摇床中振荡培养 96 h,即得蛹虫草种子液。

蛹虫草双向发酵培养基制备:在 5 组(Y1—Y5)发酵罐中分别加入基础培养基,其中第 1 组作为空白对照,第 2—5 组分别添加 2 g 甘草、人参茎叶、三七茎叶和铁皮石斛粉末,5 组发酵罐均置于 121 ℃ 下灭菌 20 min,得到添加不同药材的蛹虫草双向发酵培养基。

发酵培养:待蛹虫草双向发酵培养基冷却至室温后,以 10%(若无特指,百分数均指体积分数)接种量接入蛹虫草种子液,于 28 ℃、150 r/min 条件下发酵培养 5 d。

发酵液制备:将上述发酵液在 8000 r/min 条件下离心 20 min 去除菌丝体,上清液经 121 ℃ 灭菌 20 min 后,于 4 ℃ 低温静置 1~2 d 后,抽滤获得澄清滤液,即为 Y1—Y5 5 种蛹虫草发酵液。

1.3.2 抗氧化活性测定 1) DPPH 自由基清除率测定。参考薛燕等^[12]的方法测定蛹虫草发酵液对 DPPH 自由基的清除效果。取经无水乙醇稀释的 1%、3%、5%、10% Y1—Y5 样品液,与等体积无水乙醇混合,作为 A 组;无水乙醇与等体积 0.2 mmol/L DPPH-乙醇溶液混匀,作为 B 组;将上述不同体积分数的 Y1—Y5 无水乙醇稀释液分别与等体积 0.2 mmol/L DPPH-乙醇溶液混匀,作为 C 组。将各组置于避光环境中反应 30 min,于波长 517 nm 处测定吸光度(平行实验 3 次,取平均值),并以维生素 C 为阳性对照。DPPH·清除率计算公式为:

$\text{DPPH 自由基清除率} = [(B' + A' - C')/B'] \times 100\%$
式中, A' 、 B' 、 C' 分别为各对应组的吸光度。

2) ABTS⁺自由基清除率测定。参考秦令祥等^[13]的方法测定蛹虫草发酵液对 ABTS⁺自由基的清除效果。预先将 7 mmol/L ABTS 溶液与 2.45 mmol/L $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 溶液等体积混合,室温避光反应 12 h,使用前用去离子水稀释至 734 nm 波长处吸光度为 0.70 ± 0.02 ,即为 ABTS 工作液。分别取 0.2 mL 不同体积分数的 Y1—Y5 发酵液,与 0.8 mL ABTS 工作液充分混匀,在室温条件下避光反应 30 min,用

酶标仪测定其在 734 nm 处的吸光度 A_1 。使用 0.2 mL 蒸馏水代替样品溶液,其他条件不变,测定其吸光度 A_0 ,并以维生素 C 为阳性对照。ABTS⁺自由基清除率计算公式为:

$\text{ABTS}^+ \text{ 自由基清除率} = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100\%$

1.3.3 弹性蛋白酶抑制率测定 按照弹性蛋白酶试剂盒说明书进行实验操作。分别配制 2 mmol/L Tris-HCl 缓冲液、1 U/mL 弹性蛋白酶溶液、0.5 mg/mL 底物溶液,用缓冲液稀释待测样品。设置 3 组体系,总体积均为 150 μL :样品组(酶液+待测液+底物+缓冲液)、样品空白组(酶液+待测液+缓冲液)、酶对照组(酶液+缓冲液+底物)。先加入酶液与待测液或对应缓冲液孵育 15 min,再加入底物与剩余缓冲液,继续孵育 50 min。用酶标仪在 410 nm 波长处测定各孔吸光度。

弹性蛋白酶抑制率 = $[1 - (D - E)/F] \times 100\%$
式中, D 、 E 、 F 分别指样品组、样品空白组和酶对照组的吸光度。

1.3.4 UVB 诱导的 HFF 细胞光老化模型建构及光老化修复能力测定 1) CCK-8 安全浓度检测与 UVB 安全剂量筛选。将 HFF 细胞以 1×10^5 个/mL 的密度接种于 96 孔板,每孔 100 μL ,边缘孔用无菌 PBS 填充,于 5% CO_2 、37 ℃ 培养箱中孵育 24 h。吸出完全培养基(DMEM 培养基+10% FBS+1% PS),用 PBS 缓冲液冲洗 2 次后,空白组与实验组均加入 100 μL 基础培养基,继续孵育 6 h。随后,实验组接受不同剂量的 UVB 照射,空白组不予照射,2 组均返回培养箱孵育 18 h。弃去基础培养基,用 PBS 缓冲液冲洗 2 次,每孔加入 110 μL 含 10 μL CCK-8 的基础培养基,孵育 1 h 后,于 450 nm 波长处测定 OD,据此筛选 UVB 安全剂量。细胞存活率计算公式为:

$\text{细胞存活率} = (\text{OD}_{\text{实验组}} / \text{OD}_{\text{空白组}}) \times 100\%$

Y1—Y5 样品的安全浓度检测参照上述 CCK-8 方法进行。

2) 光老化模型构建与样品处理。取 HFF 细胞以 2.0×10^5 个/mL 密度接种于 24 孔板,每孔 1 mL,孵育 12 h 至细胞贴壁。弃去完全培养基,用 PBS 缓冲液清洗 2 次,空白组(BC)和模型组(MG)各加入 1 mL

基础培养基,孵育 6 h。模型组照射 UVB 安全剂量,空白组不照射,继续孵育 18 h。收集细胞上清液,于-80 ℃ 冻存,待测 COL- I 和 MMP-1 含量。由此筛选出 UVB 模型剂量,构建光老化模型。

随后增设样品组,空白组(不含样品的 DMEM 培养基+不照射 UVB)、模型组(不含样品的 DMEM 培养基+照射 UVB 模型剂量)、样品组(含样品的 DMEM 培养基+照射 UVB 模型剂量)。收集细胞上清液,按照 COL- I 及 MMP-1 ELISA 试剂盒说明书,对各组的细胞上清液进行检测,分析各组细胞外基质代谢相关蛋白的表达水平,以评估样品的光老化修复能力。

1.3.5 UV 诱导的裸鼠皮肤损伤模型构建及表征测试 1) 建模方法及实验条件。所有动物实验均已通过北京联合大学应用文理学院保健食品功能检测中心伦理委员会批准(批准编号:JCZX11-2310-7),实验操作严格遵循《中国实验动物管理条例》及美国国立卫生研究院《实验动物饲养与使用指南》的相关规范。

动物分组:选取体重在 18~22 g 之间的 SPF 级 2~4 周龄 Balb/c 裸鼠,分为空白对照(Ctrl)组、模型(UV)组、空白基质(NC)组、蛹虫草-甘草发酵液(YCC)组,每组各 6 只。各组裸鼠的处理方式见表 1。

实验条件:环境温度为 22~24 ℃,相对湿度为 40%~50%,明暗交替各 12 h。每日上午 9:00~11:00 间,消毒后同时照射长波紫外线(UVA)和 UVB, UVA 照射剂量为 100.8 J/cm² 左右,UVB 照射剂量为 10.8 J/cm² 左右,共照射 4 周。

涂抹方式:使用 1 mL 针孔注射器,按照 0.04~0.05 mL/cm² 使用量,均匀涂抹 NC 组和 YCC 组每只裸鼠背部所有皮肤。

表 1 各组裸鼠的处理方式

Table 1 Grouping and treatment methods for Balb/c nude mice

组别	处理方式
Ctrl 组	不做特殊处理
UV 组	进行 UV 刺激,不涂抹任何基质
NC 组	进行 UV 刺激,涂抹未添加蛹虫草-甘草发酵液的基础配方
YCC 组	进行 UV 刺激,涂抹添加 5%(质量分数)蛹虫草-甘草发酵液的基础配方

测试项目:每周一进行经皮水分散失量(TEWL、g/(h·m²))、角质层水分含量(SCH,a.u.)和皮肤弹性指标(R2,总弹性率/%)检测。

2) 皮肤生理参数测定。在为期 4 周的 UV 光老化建模期间,周一使用皮肤测试仪检测裸鼠皮肤 SCH、TEWL 和 R2,对比各组间皮肤数据差异。

1.4 数据处理

采用 Excel 2021 及 Graphpad Prism 10.1.2 软件分析数据并绘图。每组实验均设置 3 次平行实验,实验数据均以(平均值±标准差)表示。采用 t 检验分析 2 组数据之间的差异,*($P<0.05$)、**($P<0.01$)、***($P<0.001$)、****($P<0.0001$)表示在不同置信区间内差异具有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 发酵液抗氧化活性分析

皮肤氧化应激是由于体内 ROS 过度累积,引发脂质过氧化、蛋白质交联及 DNA 损伤,进而破坏皮肤细胞外基质(如胶原蛋白、弹性蛋白)的合成与降解平衡,是诱发皱纹形成与弹性下降的核心诱因^[14-15]。而抗氧化物质可通过清除过量 ROS,缓解氧化应激对皮肤的损伤,进而介导抗皱紧致效应^[16]。因此,为筛选具有抗皱紧致潜力的蛹虫草-中药组合发酵液,本研究考查了 5 组发酵液样品对 DPPH 和 ABTS⁺自由基的清除效果,结果见图 1 和图 2。由图 1 和图 2 可知,发酵液样品的抗氧化活性呈浓度依赖性,且不同样品的抗氧化活性存在明显差异,其中,Y2 的抗氧化活性最突出,在 10% 体积分数下对 DPPH 和 ABTS⁺自由基的清除率均在 90% 以上,显著高于其他样品,说明 Y2 能同时高效清除体内脂溶性与水溶性过剩自由基,更充分地降低氧化应激水平。这与文献^[17]报道的结果较一致。当甘草与蛹虫草配伍时,二者的代谢产物可能发生交互作用,如蛹虫草的核苷类物质与甘草的黄酮类物质协同增效,进而提升发酵液的抗氧化活性。这一发现为后续探究其抗皱紧致功效的物质基础与作用机制提供了方向。

2.2 发酵液弹性蛋白酶抑制活性分析

皮肤弹性依赖弹性蛋白的完整结构,弹性蛋白

酶可特异性降解弹性蛋白,是诱发皮肤松弛、皱纹形成的核心酶学机制^[18]。因此,弹性蛋白酶抑制率是评估样品抗皱潜能的关键指标。蛹虫草-中药组合发酵液样品对弹性蛋白酶抑制率的影响见图 3,其中 * 表示与 Y1 对比, $P<0.05$; ** 表示与 Y1 对比, $P<0.01$ 。由图 3 可知,各样品对弹性蛋白酶的抑制活性差异显著,组合发酵液(Y2—Y5)的弹性蛋白酶抑制率显著高于单一发酵液(Y1),其中 Y2 的弹性蛋白酶抑制率最高,达 69%。已有研究^[19]表明,蛹虫草在发酵过程中可产生多糖、活性肽等多种具有生物活性的代谢产物,其中部分成分能够通过竞争结合酶活性位点或改变酶构象等方式抑制蛋白酶活性,而蛹虫草与中药的组合发酵可能通过底物互补、代谢调控等协同作用,进一步促进这类活性成分的合成与释放^[20],因此 Y2 的组合方式可能更有利于产生高活性的弹性蛋白酶抑制成分。

2.3 UVB 诱导 HFF 光老化模型实验结果分析

2.3.1 CCK-8 安全浓度检测结果 通过 CCK-8 法筛选 UVB 对 HFF 的安全剂量,选择细胞存活率大

于 80% 的 UVB 辐射剂量用于后续细胞建模,结果见图 4。由图 4 可知,UVB 辐射剂量在 0.13 J 以下时,对 HFF 基本无细胞毒性,因此本文选择 UVB 安全剂量 0.10 J 和 0.13 J 进行后续实验。

2.3.2 COL- I 及 MMP-1 含量检测结果 COL- I 作为皮肤细胞外基质(ECM)的核心结构蛋白,其含量稳态是维持皮肤结构完整性与弹性韧性的关键基础;MMP-1 可特异性降解 COL- I 等胶原蛋白,打破 ECM 合成与降解的动态平衡,加速皱纹形成^[21]。因此,COL- I 合成与 MMP-1 分泌变化是评估皮肤光老化损伤及抗皱紧致功效的关键指标。UVB 诱导 HFF 光老化模型的 COL- I 和 MMP-1 含量检测结果见表 2。由表 2 可知,与空白组相比,当 UVB 辐射剂量为 0.10 J 或 0.13 J 时,COL- I 含量降低,MMP-1 含量升高,说明 UVB 可以对 HFF 造成损伤,且当辐射剂量为 0.13 J 时,COL-I 和 MMP-1 含量变化较明显。因此,后续实验选择 0.13 J 作为 UVB 模型剂量。

发酵液样品中 COL- I 和 MMP-1 含量检测结果

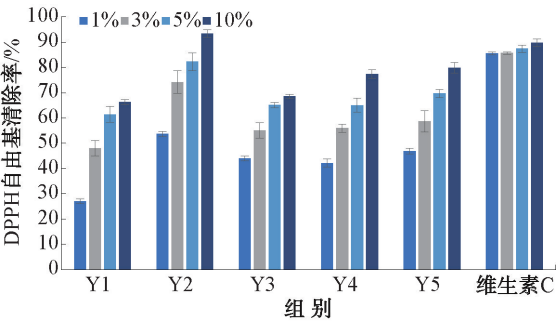


图 1 蛹虫草-中药组合发酵液样品对 DPPH 自由基清除率的影响
Fig. 1 DPPH free radical scavenging rate of *Cordyceps militaris*-Chinese herbal combination fermented broth

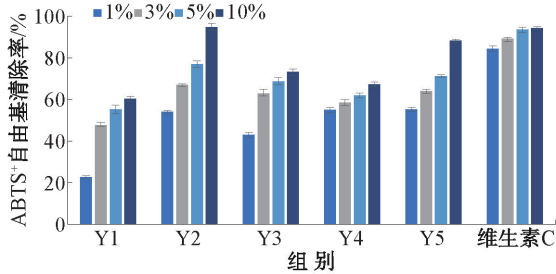


图 2 蛹虫草-中药组合发酵液样品对 ABTS⁺ 自由基清除率的影响
Fig. 2 ABTS⁺ free radical scavenging rate of *Cordyceps militaris*-Chinese herbal combination fermented broth

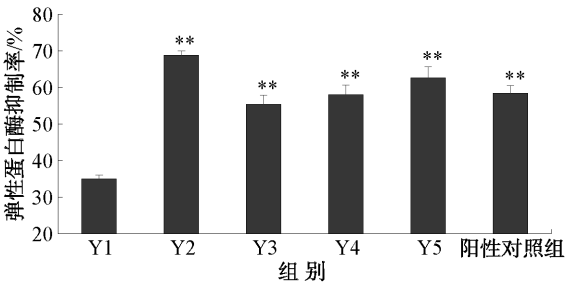


图 3 蛹虫草-中药组合发酵液样品对弹性蛋白酶抑制率的影响
Fig. 3 Elastase inhibition rate of *Cordyceps militaris*-Chinese medicinal combination fermentation broth

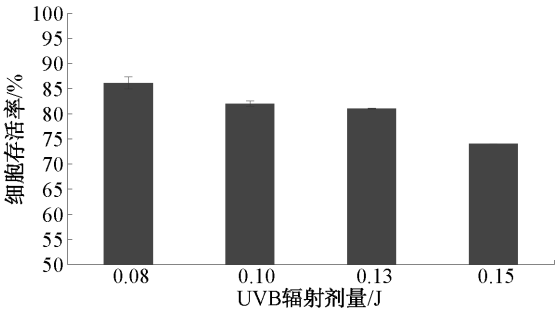


图 4 UVB 诱导 HFF 光老化模型的 CCK-8 安全浓度检测结果
Fig. 4 Results of CCK-8 safety concentration assay for UVB-induced HFF photoaging model

表2 UVB 诱导 HFF 光老化模型的 COL- I 和 MMP-1 含量检测结果

组别	COL- I 含量/ (ng · mL ⁻¹)	MMP-1 含量/ (ng · mL ⁻¹)
空白组	15. 62±2. 24	0. 14±0. 04
UVB 辐射剂量 0. 10 J	10. 88±0. 75	0. 27±0. 10
UVB 辐射剂量 0. 13 J	7. 34±1. 34	0. 45±0. 09

见图 5 和图 6,其中 * 表示与 MG 对比, $P<0.05$; ** 表示与 MG 对比, $P<0.01$ 。与 BC 相比,MG 细胞中 COL- I 含量降低,MMP-1 含量升高,说明建模成功。与 MG 相比,样品组细胞中 COL- I 含量显著升高,MMP-1 含量显著降低,这表明蛹虫草-中药双向发酵液可通过双重调控 COL-I合成与 MMP-1 分泌,即促进 COL- I 合成并抑制 MMP-1 过度分泌,恢复 ECM 的合成-降解平衡,进而发挥抗皱紧致作用,这与天然产物可通过调节胶原代谢、抑制 MMPs 活性、发挥抗皱效应的研究规律相符^[22]。样品组中,Y2 表现出最优调节效果,这可能与 Y2 中甘草酸、甘草黄酮等甘草活性成分与虫草多糖、腺苷等蛹虫草代谢产物的协同作用有关。甘草西定可通过清除 ROS,抑制 MMP-1 分泌发挥抗氧化作用^[23];虫草多糖则能通过干预 NF- κ B 通路来抑制 UVB 诱导的基质金属蛋白酶表达,促进 COL- I 的合成与分泌^[24]。二者交互作用能强化对胶原代谢的调控,为 Y2 的抗皱潜能提供细胞层面的实验证据。

2.4 UV 诱导的裸鼠皮肤损伤模型表征测试结果分析

TEWL 是反映皮肤屏障完整性的核心指标。皮肤屏障由角质层脂质双层-角质细胞结构构成,光老化通过诱导角质层脂质过氧化、破坏细胞间脂质排列秩序,使水分经表皮异常散失,导致 TEWL 升高。SCH 代表角质层保水能力,依赖皮肤天然保湿因子(NMF,如氨基酸、尿素)与脂质屏障的协同作用,而光老化会通过氧化应激减少 NMF 合成,并破坏脂质屏障的锁水功能,进而降低 SCH。皮肤弹性与弹性纤维网络及胶原交联程度直接相关。光老化通过激活基质金属蛋白酶(如 MMP-1、MMP-9)降解弹性纤维与胶原,同时阻碍胶原交联过程,最终导致皮肤弹性下降^[25]。

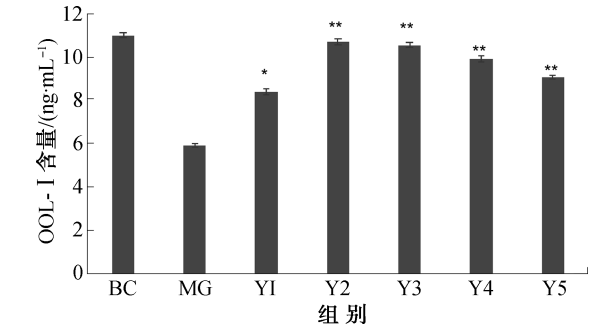


图5 发酵液样品中 COL- I 含量
Fig. 5 COL- I content in the fermentation broth samples

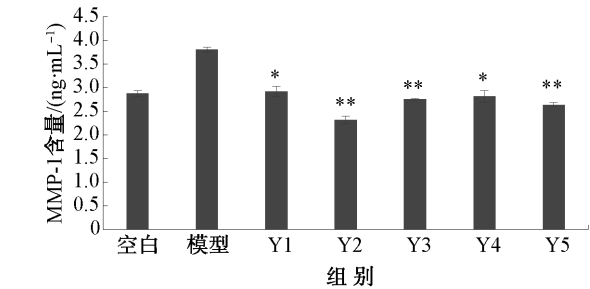


图6 发酵液样品中 MMP-1 含量
Fig. 6 MMP-1 content in the fermentation broth samples

UV 处理对小鼠 TEWL、SCH 和皮肤弹性的影响见图 7—图 9。由图 7—图 9 可知,Ctrl 组在 4 周内 TEWL、SCH 和皮肤弹性均基本维持稳定,体现正常皮肤的屏障功能、保水能力和弹性稳态。而 UV 组、NC 组和 YCC 组随 UV 照射时间延长,TEWL 呈梯度上升,组间差异为 UV 组>NC 组>YCC 组,SCH 持续降低,皮肤弹性显著下降,这与 UV 光老化可通过触发氧化应激、炎症反应,破坏皮肤屏障结构与 ECM 稳态,进而引发 TEWL 升高、SCH 下降、弹性降低的经典机制一致^[26],验证了 UV 光老化模型构建成功。YCC 组的 TEWL 升高幅度明显低于 UV 组和 NC 组,说明 Y2 可通过抑制光老化诱导的角质层脂质过氧化,维持脂质屏障的完整性与有序排列,减少皮肤水分的异常散失,具有修复皮肤屏障功能;SCH 下降幅度明显弱于 NC 组,说明 Y2 能促进天然保湿因子的合成或减少其流失,维持角质层的水分储存能力,减轻保水功能损伤;皮肤弹性较 NC 组有明显改善,结合前期体外实验中 Y2 对 MMP-1 分泌的抑制及 COL-I合成的促进作用,推测其可能在体外通过抑制 MMPs 活性,促进胶原与弹性纤维的合成及交联,从而改善皮肤弹性。

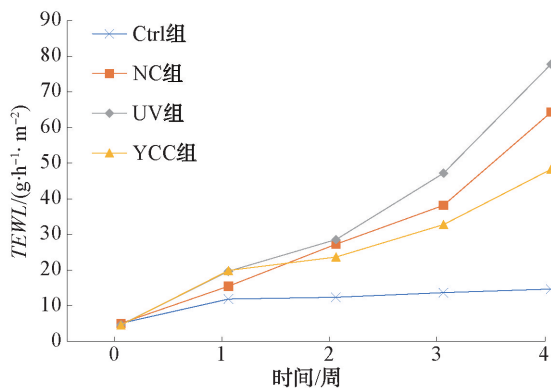


图7 UV刺激对小鼠TEWL的影响

Fig. 7 Effects of UV stimulation on TEWL in mice

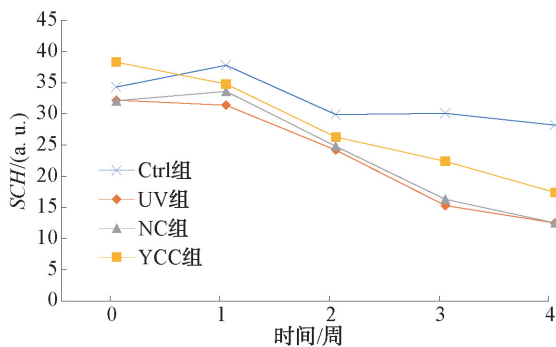


图8 UV刺激对小鼠SCH的影响

Fig. 8 Effects of UV stimulation on SCH in mice

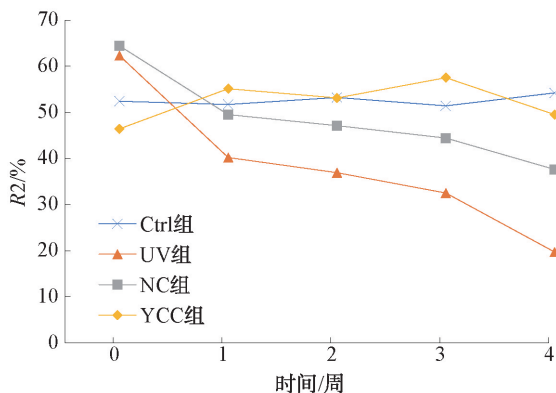


图9 UV刺激对小鼠皮肤弹性指标的影响

Fig. 9 Effects of UV stimulation on mice skin elasticity parameters

3 结论

本研究以蛹虫草为发酵菌种,分别配伍甘草、人参茎叶、三七茎叶、铁皮石斛4种中药材,采用液态双向发酵技术制备得到5种蛹虫草发酵液(Y1—Y5),并依次通过DPPH和ABTS⁺自由基清除实验、弹性蛋白酶抑制实验、UVB诱导HFF光老化模型及裸鼠皮肤光老化模型,系统评价5种蛹虫草发酵液

的抗氧化、抗皱紧致及光老化修复功效。结果表明,蛹虫草-甘草发酵液(Y2)在各评价体系中均表现出最优活性,对DPPH和ABTS⁺自由基的清除率显著高于其余4组样品;对弹性蛋白酶的抑制作用最为突出;可显著上调UVB损伤HFF细胞中COL-I的合成水平,下调MMP-1的分泌量;在裸鼠光老化模型中可降低TEWL、提升SCH并改善皮肤弹性,有效缓解UV诱导的皮肤屏障损伤与老化。该发酵液可作为天然功能组分应用于抗皱修护、抗光老化类功能性化妆品的配方开发,为护肤产品提供多功效的新型天然原料选择。中药深层双向发酵技术实现了蛹虫草与中药材的活性协同提升,拓展了蛹虫草在护肤领域的应用形式,为珍稀食药真菌及中药材的高值化利用提供了可行的技术路径,也为同类发酵护肤原料的产业化开发提供了参考。

参考文献:

- [1] 臧运芳,李越,金锋,等. 蛹虫草生物活性成分及其生理功能的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2025, 46(13): 211-217.
ZANG Y F, LI Y, JIN F, et al. Advances in research on bioactive components and physiological functions of *Cordyceps militaris* [J]. Food Research and Development, 2025, 46(13): 211-217.
- [2] 左锦辉,贡晓燕,董银卯,等. 蛹虫草的活性成分和药理作用及其应用研究进展[J]. 食品科学, 2018, 39(21): 330-339.
ZUO J H, GONG X Y, DONG Y M, et al. Research achievements in bioactive components, pharmacological effects and applications of *Cordyceps militaris* [J]. Food Science, 2018, 39(21): 330-339.
- [3] 童奇伟,周吉亮,罗珊珊,等. 响应面法优化蛹虫草液体发酵配方及条件的研究[J]. 食药菌, 2024, 32(1): 52-59.
TONG Q W, ZHOU J L, LUO S S, et al. Optimization of formula and conditions for liquid fermentation of *Cordyceps militaris* by response surface method [J]. Edible and Medicinal Mushrooms, 2024, 32(1): 52-59.
- [4] 李丽. 珍稀中草药铁皮石斛和蛹虫草提取物护肤品的开发研究[D]. 杭州: 浙江理工大学, 2023.
Li L. Development research of skincare products with extracts from rare Chinese medicinal herbs *Dendrobium officinale* and *Cordyceps militaris* [D]. Hangzhou: Zhejiang Sci-Tech University, 2023.
- [5] PAPACCIO F, D'ARINO A, CAPUTO S, et al. Focus on

the contribution of oxidative stress in skin aging [J]. *Antioxidants*, 2022, 11(6):1121.

[6] GAO F, SUN Y J, GAN H H. Atractylodin mitigates UVB radiation-induced oxidative stress and photoaging responses by enhancing Nrf2 signaling in human epidermal keratinocytes [J]. *Archives of Dermatological Research*, 2024, 317(1):160.

[7] LEI X X. Mechanisms and therapeutic roles of medicinal plants in skin photoaging [J]. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 2025, 18:1709–1726.

[8] KALTCHENKO M V, CHIEN A L. Photoaging: current concepts on molecular mechanisms, prevention, and treatment [J]. *American Journal of Clinical Dermatology*, 2025, 26(3):321–344.

[9] LEPHART E D. Skin aging and oxidative stress: equol's anti-aging effects *via* biochemical and molecular mechanisms [J]. *Ageing Research Reviews*, 2016, 31:36–54.

[10] 吴瑞麒, 窦博, 马小来, 等. 发酵技术在化妆品原料生产中的应用及研究进展 [J]. *发酵科技通讯*, 2025, 54(3):142–146.

WU R Q, DOU B, MA X L, et al. Research progress of fermentation technology applied to plant raw materials in cosmetics [J]. *Bulletin of Fermentation Science and Technology*, 2025, 54(3):142–146.

[11] 徐晨, 苏娟. 生物技术在中药制药工程中的应用研究 [J]. *产业创新研究*, 2025(18):87–89.

XU C, SU J. Application of biotechnology in pharmaceutical engineering of traditional Chinese medicine [J]. *Industrial Innovation*, 2025(18):87–89.

[12] 薛燕, 李丽, 刘光荣, 等. 铁皮石斛多糖液态发酵工艺及其抗氧化活性研究 [J]. *食品工业科技*, 2017, 38(9):155–159.

XUE Y, LI L, LIU G R, et al. Study on polysaccharides submerged fermentation from *Dendrobium officinale* and its antioxidant activity [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2017, 38(9):155–159.

[13] 秦令祥, 丁昱婵, 赵俊芳, 等. 蛹虫草多糖提取工艺优化及其抗菌、抗氧化活性 [J]. *食品研究与开发*, 2023, 44(11):159–165.

QIN L X, DING Y C, ZHAO J F, et al. Optimization of extraction process of *Cordyceps militaris* polysaccharides and its antibacterial and antioxidant activities [J]. *Food Research and Development*, 2023, 44(11):159–165.

[14] CHEN J J, LIU Y, ZHAO Z, et al. Oxidative stress in the skin: Impact and related protection [J]. *International Journal of Cosmetic Science*, 2021, 43(5):495–509.

[15] KIM E, TOLLENAERE M, SENNELIER B, et al. Analysis of active components and transcriptome of *Freesia refracta* callus extract and its effects against oxidative stress and wrinkles in skin [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2024, 25(15):8150.

[16] WANG G X, FEI W C, ZHI L L, et al. Fermented tea leave extract against oxidative stress and ageing of skin *in vitro* and *in vivo* [J]. *International Journal of Cosmetic Science*, 2025, 47(1):1–17.

[17] KUCHARSKA E, ZAGÓRSKA-DZIOK M, BILEWICZ P, et al. Use of *Syzygium aromaticum* L. fermented plant extract to enhance antioxidant potential: fermentation kinetics [J]. *Applied Sciences*, 2024, 14(11):4900.

[18] 王玲, 王刚, 廖知恒, 等. 大米多肽在抗皱/修护护肤品中的应用及功效 [J]. *香料香精化妆品*, 2024(2):112–119.

WANG L, WANG G, LIAO Z H, et al. Application and efficacy of rice polypeptides in anti wrinkle/repair skincare products [J]. *Flavour Fragrance Cosmetics*, 2024(2):112–119.

[19] VANJARE B D, SEOK EOM Y, RAZA H, et al. Elastase inhibitory activity of quinoline Analogues: synthesis, kinetic mechanism, cytotoxicity, chemoinformatics and molecular docking studies [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2022, 63:116745.

[20] ZHAO Y S, EWEYS A S, ZHANG J Y, et al. Fermentation affects the antioxidant activity of plant-based food material through the release and production of bioactive components [J]. *Antioxidants*, 2021, 10(12):2004.

[21] 胡楚涓, 王璐璐, 蒋建东, 等. 天然活性成分抑制皮肤胶原蛋白流失的研究进展 [J]. *药学报*, 2025, 60(2):269–279.

HU C J, WANG L L, JIANG J D, et al. Research progress of natural bioactive products in resisting loss of skin collagen [J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 2025, 60(2):269–279.

[22] 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.

[23] KIM K J, XUAN S H, PARK S N. Licoricidin, an isoflavonoid isolated from *Glycyrrhiza uralensis* fisher, prevents UVA-induced photoaging of human dermal fibroblasts [J]. *International Journal of Cosmetic Science*, 2017, 39(2):133–140.

[24] LEE Y R, NOH E M, JEONG E Y, et al. Cordycepin inhibits UVB-induced matrix metalloproteinase expression by suppressing the NF- κ B pathway in human dermal fibroblasts [J]. *Experimental & Molecular Medicine*, 2009, 41(8):548–554.

[25] LEE H Y, KIM E J, CHO D Y, et al. Photoprotective effect of fermented and aged mountain-cultivated ginseng sprout (*Panax ginseng*) on ultraviolet radiation-induced skin aging in a hairless mouse model [J]. *Nutrients*, 2023, 15(7):1715.

[26] KRUTMANN J, SCHALKA S, WATSON R E B, et al. Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine, 2021, 37(6):482-489.

Daily photoprotection to prevent photoaging [J].

Evaluation of the antioxidant ,anti-wrinkle/skin-firming and photoaging repair activities of *Cordyceps militaris* bidirectional fermentation combinations

LI Qilin¹, LIU Fei², GENG Zaijun¹, HE Jiao¹, WANG Qian², LI Li¹, YANG Suzhen²

1. Beijing Key Laboratory of Plant Resources Research and Development ,Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China;
2. Department of Basic Research, Shandong Freda Biotech Co., Ltd., Jinan 250101, China

Abstract: **【 Objective 】** To develop fermented combinatorial products of *Cordyceps militaris* and explore a novel strategy for the efficient utilization of rare Chinese medicinal herbs. **【 Methods 】** Five fermentation broths were prepared by submerged liquid fermentation combined with the bidirectional fermentation technique of Chinese herbal medicines and fungal strains. These included a *C. militaris* monoculture broth and its combinatorial broths with *Glycyrrhiza uralensis*, *Panax ginseng* stems and leaves, *Panax notoginseng* stems and leaves, and *Dendrobium officinale*. The antioxidant, anti-wrinkle/firming, and photoaging repair capacities of these broths were evaluated using DPPH and ABTS⁺ free scavenging assays, an elastase inhibition assay, a UVB-induced human skin fibroblast (HFF) photoaging model, and a nude mouse skin photoaging model. **【 Results 】** The *C. militaris*-*G. uralensis* fermentation broth (Y2) significantly outperformed the other broths in DPPH and ABTS⁺ free scavenging activities and elastase inhibition rate. This broth significantly upregulated the synthesis of type I collagen (COL- I) and downregulated the secretion of matrix metalloproteinase-1 (MMP-1) in UVB-damaged HFF cells. In the nude mouse skin photoaging model, Y2 alleviated skin tissue pathological damage and improved the arrangement of collagen fibers. **【 Conclusion 】** The *C. militaris*-*G. uralensis* fermentation broth exhibits excellent antioxidant and photoaging repair activities, thus providing a new direction for the development of functional *C. militaris* products and the efficient utilization of rare medicinal herbs.

Key words: *Cordyceps militaris*; *Glycyrrhiza uralensis*; submerged bidirectional fermentation; antioxidant; anti-wrinkle and skin-firming; photoaging

[责任编辑:王晓波]