

陈方圆,焦子伟,努尔买买提,等. 蛹虫草活性物质提取技术研究进展[J]. 江苏农业科学,2017,45(6):7-13.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.06.002

蛹虫草活性物质提取技术研究进展

陈方圆¹, 焦子伟², 努尔买买提², 郭岩彬³, 马正海¹

(1. 新疆大学生命与技术学院,新疆乌鲁木齐 830046; 2. 伊犁师范学院生物与地理科学学院,新疆伊宁 835000;
3. 中国农业大学资源与环境学院,北京 100083)

摘要:蛹虫草别称北虫草、北冬虫夏草、蛹草菌等,分类学上与冬虫夏草同属,现已形成大规模人工栽培,因药理作用广泛,已被批准为冬虫夏草的替代品及新资源食品。近年来,国内外学者对蛹虫草活性物质提取技术进行了相关研究与报道,本文结合国内外相关研究技术与成果,对蛹虫草活性成分的提取技术进行归纳与总结:提取虫草素主要有水浴浸提法、超声法、超临界流体萃取法、微波法等;提取虫草酸有水提法、醇提法、超声-浸提协同提取法等;提取多糖有热水浸提法、超声提取法、微波辅助提取法等;提取超氧化物歧化酶有基酒提取法、超声波提取法、煎煮法等;提取甾醇和糖醇有超声波提取法等;提取色素有酸热法、丙酮提取法等。建议进一步优化蛹虫草活性物质的提取工艺,为实现其工业化、产业化开发提供技术依据。

关键词:蛹虫草;冬虫夏草;活性物质;提取技术;研究进展

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)06-0007-07

蛹虫草是寄生在鳞翅目昆虫体内的真菌,别称北虫草、北冬虫夏草、蛹草菌等,颜色通常为黄色、黄褐色,分类学上与冬虫夏草同属于囊菌门盘菌亚门粪壳菌纲虫草菌科虫草属^[1]。蛹虫草是世界性广布种,1978 年 Kobayasi 等报道世界各地分布虫草达 298 种^[2],随着新种与变种不断地被发现,现已共有 380 多种^[3]。蛹虫草药理作用广泛,已被国家科技部批准为冬虫夏草的替代品及新资源食品^[4]。研究发现,蛹虫草的药理作用丰富,具有抑制 DNA 与 RNA 合成的作用,以及抗菌、抗炎、抗病毒、抗肿瘤、抗疲劳、抗衰老、抗氧化、抗血管生成、镇痛、壮阳、催眠等功效,常用于强肾、治疗肺病和肝病,缓解性亢奋,降血糖、降血脂,对人体的呼吸系统、循环系统以及内分泌系统均有一定的影响^[1,5-6]。蛹虫草成分内含有大量的核苷类、虫草酸、多糖、酶、甾醇、糖醇和色素等多种活性物质^[5]。近年来,蛹虫草活性物质提取技术日趋成熟,不同物质的提取方法不尽相同,核苷类中的虫草素(cordycepin)提取方法主要有浸提法、超声法、索氏提取法、回流法、渗漉提取法等提取虫草素^[7-8]。王雅玲等采用超临界流体萃取法、醇沉法、反相高效制备液相色谱法和分步结晶、连续逆流提取法等提取虫草素^[9-10],其他核苷的提取方法相似,但最适提取条件不同;提取虫草酸有水提法、醇提法和超声-微波协同提取法等^[11-13];提取多糖有热水浸提法、超声提取法、微波辅助提取法、闪式提取法、碱提取法、煎煮法、索氏提取法、酶解法和超临界流体法等^[14-21];提取超氧化物歧化酶(SOD)有基酒提取法、超声波提取法、煎煮法等^[22-25];提取甾醇和糖醇有超声

波提取法等^[26-27];提取色素有酸热法、丙酮提取法等^[28-29]。本文对国内外蛹虫草中活性物质的提取技术进行分析与归纳总结,以期开展蛹虫草活性物质分离、提取与纯化等相关研究及产业化开发提供技术依据。

1 蛹虫草活性物质及提取技术

1.1 核苷类

1.1.1 虫草素药理性 虫草素能增加脾脏质量,加快肝脏核酸、蛋白质更新速度等,具有抗缺氧、加速心肌营养血流量及降低血清胆固醇和酯蛋白含量的作用,对激素失调引起的性功能损伤也有修复作用^[30-31]。虫草素的药理性主要包括 3 个方面。(1)在免疫方面,Zhou 等研究表明,虫草素对体液免疫有调节作用,还可抑制癌细胞,但对正常细胞分裂也有抑制作用^[32];Glazer 采用虫草素同时处理癌细胞和正常细胞,结果与 Zhou 等研究的结果相同,不过认为这种副作用较小^[33]。(2)在抗肿瘤作用方面,吴洪臻等研究表明,虫草素增强抗癌药环磷酰胺的作用,作为临床抗肿瘤药物的辅助药具有应用价值^[34];李刚等研究发现,虫草素对小鼠艾氏腹水癌、人鼻咽癌 KB 细胞、人表皮样疣、人宫颈癌 Hela 细胞和肺癌 Lewis 细胞均有明显的抑制作用^[35-36],这与虫草素抑制 DNA 和 RNA 的合成有关;Koc 等研究表明,虫草素对 TdT-positive 白血病细胞有特异的细胞毒作用,并用于治疗白血病已进入 II 期临床试验^[37-39]。(3)在抗真菌作用方面,虫草素对多种病毒、细菌具有选择性抑制作用^[40]。Sugar 等试验表明,虫草素具有非常强的抗真菌活性,用腺苷脱氨基酶抑制因子和虫草素处理小鼠的肾脏时可明显延长小鼠存活时间^[41]。

1.1.2 虫草素的提取方法 虫草素,全称 3'-脱氧腺苷,熔点 230~231℃,溶于水、热乙醇和甲醇,不溶于苯、乙醚和三氯甲烷,紫外光最大吸收波长为 259 nm^[42]。根据以上性质确定目前虫草素的提取方法主要有以下几种。

1.1.2.1 水浴法 钟艳梅等以人工蛹虫草固定培养残基为

收稿日期:2016-01-19

基金项目:新疆维吾尔自治区科技支疆项目(编号:201491153)。

作者简介:陈方圆(1990—),女,河南周口人,硕士研究生,主要从事药食两用真菌活性成分提取分析研究。

通信作者:焦子伟,博士,教授,主要从事植物促生菌促生机理、绿色有机农业病虫害综合调控研究。E-mail:7412855332@qq.com。

原料,采用索式提取法,即称取处理的样品共 4 份,各 10 g,分别加入水、75% 乙醇、95% 乙醇和无水乙醇作为提取剂,在沸水浴中抽提 8 h,收集提取液,虫草素提取率分别为 0.012 2%、0.007 8%、0.005 3%、0.005 2%。结果表明,水比乙醇更利于提取虫草素^[43]。王英娟等也采用超声波水提法、超声波醇提法、水热回流法和醇热回流法 4 种提取方法提取虫草素,结果表明,水热回流法是最优方法,最佳工艺条件为采用 10 倍量的水于 80 ℃ 热回流提取 3 次,每次 90 min^[44]。谭琪明等继续采用传统的高温溶剂水浴提取技术提取蛹虫草小麦培养基中的虫草素,提取率为 94.87%^[45],进一步说明了水作为提取剂是可行的。

1.1.2.2 超声波提取法 郭澄等比较了水提法和超声法对提取虫草素的影响,总趋势是采用 20% 乙醇作溶剂的效果优于水,常温下的提取又优于加热条件,结果发现,超声法不仅缩短了提取时间,有助于虫草素的释放与溶出,且提高了原料的利用率和虫草素的提出率^[46]。张嘉等通过比较不同提取方法也得出,超声波提取法的提取效果最好^[47]。邓黎等优化了超声提取人工蛹虫草子实体中虫草素的工艺,通过响应曲面法考察超声提取时间、提取温度以及液料比对虫草素提取率的影响,并对超声波提取工艺进行最佳优化,即超声温度 50 ℃,超声提取时间 47 min,液料比 30 mL:1 g,提取 3 次时最佳,在此工艺条件下,虫草素提取率的理论值为 1.057%^[48]。许晓炜也进行了超声波提取优化试验,确定采用 75% 乙醇超声波提取 3 次,40 min/次,料液比 1 g:20 mL 为最佳工艺条件^[49]。

1.1.2.3 微波提取法 黄子琪等探讨利用微波提取法和超声波提取法,从蛹虫草菌丝体中提取虫草素的操作方法,结果表明,微波提取法优于超声波提取法,但应注意采用微波法提取虫草素时,提取时间不宜过长,所选微波功率应小,不宜过高^[7,44,50,54-55]。梁晨比较研究了水浴法、超声波法、微波法和超临界法提取培养基中虫草素的提取率,结果表明,微波法的虫草素提取率较高^[31]。曹庆穗等以人工蛹虫草为原料,通过微波辅助工艺提取虫草素,结果表明,微波辅助提取人工蛹虫草中虫草素的提取率是传统提取法的 1.14 倍^[53]。夏敏等对蛹虫草固体培养物中的虫草素进行微波提取并优化了最佳提取条件,测定虫草素含量达 12.16 mg/g^[50]。翁梁等在前人研究基础上考虑了 pH 值对微波法提取率的影响,进一步优化了试验的工艺条件^[56]。王陶等在研究蛹虫草菌丝体中虫草素的提取工艺及检测方法中,确定微波-超声波协同提取法为虫草素提取的最佳方法^[57]。殷东林等研究了虫草素的提取工艺,确定用微波助提法并加以优化^[58]。李辰等利用微波辅助提取法从蛹虫草子实体或大米培养残基中提取虫草素后,比较利用混合大孔树脂和离子交换树脂分离纯化虫草素的效果,最终确定了最佳工艺吸附条件^[59-60]。

采用浸提法、索氏提取法、水热回流法或醇热回流法操作简单,但耗时过长。超声波法快速、操作简单、提取效果好,且受试验环境、仪器人员条件等因素限制少。微波法与超声波法提取虫草素相比,具有提取时间较短、效果好、噪声小、设备简单易得等优点。但以上方法都有不易大型化的缺陷,多数生产企业提取虫草素仍以溶剂提取为主。吴勇等采用 6 种不同的方法提取蛹虫草固体培养基中虫草素,提取物的得率由

高到低为渗漉法>微波法>水热回流法>醇热回流法>超声波水法>超声波醇法,并认为渗漉法和微波法均明显高于其他工艺法^[8]。

1.1.2.4 超临界流体萃取法 近年来,随着超临界流体萃取技术(supercritical fluid extraction,简称 SFE)的快速发展,人们称之为“绿色分离”的新型分离技术^[61]。CO₂ 作为最常用的超临界流体,具有无毒、无溶剂残留、无二次污染、操作温度低、分离效率高等优点,与传统提取法相比,此法克服了提取时间长、温度高、系统开放等缺点,同时萃取出多种极性组分,有利于提取与分离生物资源的有效成分。陈顺志以食用真菌虫草或北虫草人工培养后的发酵物为原料,采用超临界技术萃取有效成分,同时结合一般方法除杂、浓缩、结晶,结果表明,虫草素结晶纯度大于 98%^[62]。Ling 等利用超临界流体技术萃取九州虫草中的虫草素和腺苷,并利用反相高效液相色谱法进行分离纯化,也取得了理想的效果^[63]。

1.1.2.5 生物酶辅助提取技术 近年来,生物酶辅助提取技术应用于天然药物活性成分提取^[64],具有专一、高效、成本低等特点^[65-66]。谢红旗等选择纤维素酶、中性蛋白酶、酸性蛋白酶及果胶酶辅助热水提取蛹虫草子实体中虫草素,得到中性蛋白酶辅助提取虫草素的最佳条件为中性蛋白酶用量 1.5%^[64],预处理料液比 1 g:10 mL,pH 值 5.5,温度 50 ℃,酶处理时间 60 min;与普通热水浸提相比,虫草素提取得率提高 6.2 倍,相对乙醇回流提取的提取率也有轻微提高。

1.1.2.6 连续逆流提取 连续逆流提取(continuous counter-current extraction,简称 CCE)是从天然药物中提取活性成分的重要方法^[67]。韦会平等采用 CCE 法从大米培养基中提取虫草素,通过 5 因素 4 水平的正交试验确定最佳的提取工艺参数,结果表明:以 70% 乙醇作为溶剂,溶剂、大米培养基体积质量比为 5 mL:1 g,提取 3 次,每次浸泡 12 h,振荡提取 2 h 虫草素提取效果最佳^[68-69]。

1.1.3 其他核苷类 腺苷具有抑制中枢神经递质的释放、改善心脑血管循环等作用^[70-71]。此外,其他核苷类成分也具有抗惊厥、抗焦虑等作用^[72-73]。目前有关核苷类提取方法的研究比关于虫草素的研究相对较少,且提取方法与虫草素基本相同。楚玉南等通过超声波提取虫草总苷,以甲醇为提取溶剂时提取率达到 8.994%^[3]。裴轶琨采用超声波辅助提取高效液相色谱结合紫外(HPLC-UV)检测法,对人工蛹虫草中的尿嘧啶、鸟嘌呤、肌苷、鸟苷、次黄嘌呤、胸腺嘧啶、腺苷和虫草素等 8 种化合物进行了测定,结果表明,超声波提取法的最优条件为以甲醇溶液作为提取剂,温度为 25 ℃,时间为 15 min,超声功率为 100 W,料液比 1 g:100 mL^[74]。汪宇等试验中比较了加热回流、超声振荡和水浴温浸 3 种方法提取腺苷的效果,结果表明,加热回流效果较差,其他 2 种方法效果相似^[75],这与郭澄等研究结果^[46]一致,推测可能是因为腺苷的热稳定性较差,且加热回流提取物中杂质含量较多,对高效液相测定的结果有不少影响,因此选择水浴温浸法提取,但是此法耗时长,在大规模生产中会延长生产周期。

1.2 虫草酸

1.2.1 虫草酸药理性 1957 年 Chatterjee 等从虫草中分离到甘露醇(D-mannitol),分子式为 C₆H₁₄O₆,具有抗自由基、抗氧化作用,是医药工业的重要原料,也是药品中常用的赋形

剂,临床上主要使用的渗透性利尿药就含有此成分^[76-77]。渗透性利尿药常用于治疗脑水肿及青光眼,是用于降低颅内压的首选安全有效药物,在治疗脑栓塞、脑血栓、脑溢血、血管痉挛等,以及利尿、排毒、肾功能衰竭、促进新陈代谢等方面具有疗效^[78]。虫草酸易溶于水,微溶于醇,不溶于酯、醚。提取方法常用水提法、醇提法和超声-微波协同提取法等^[79-80]。

1.2.2 虫草酸提取方法

1.2.2.1 水提法 蔡仲军等精确称取 5 份 0.5 g 虫草粉,置于 80 ℃ 水浴锅中浸提 1.0 h,浸提液经离心沉淀,最终得到的平均含量是 13.27%。水提法成本低、安全、工艺设备简单、适合工业大生产,但有提取杂质多、收率较低、提取液过滤和浓缩操作困难、费时等缺点^[81]。

1.2.2.2 醇提法 有机溶剂提取法是国内外工业化生产从海带中提取生产甘露醇使用最广的方法,常用的有机溶剂有甲醇、乙醇。闫文娟等采用不同预处理测定广东虫草 3 种样品^[82]。醇提取法提取的虫草酸含量均高于水提取法,可能是乙醇提取时破坏了未破碎细胞的半透性细胞膜,增大了细胞中甘露醇的浸出能力。该法对设备要求简单、产品得率高,但是成本较高、杂质含量高、提取时间较长^[83]。

1.2.2.3 超声波-浸提结合法 钟艳梅等采用超声波-浸提结合法对蛹虫草培养残基虫草酸提取工艺进行研究,确定了超声波-浸提结合法提取人工蛹虫草虫草酸最佳工艺条件,即料液比为 1 g : 35 mL、超声功率 99 W、超声时间 20 min、浸提时间 2.0 h、浸提温度 30 ℃,虫草酸得率达到 0.67%^[83]。此方法较为简单,可为大规模工业化生产提供参考。超声波-浸提结合法比纯浸提法或纯超声波提取法的提取效果好,提取剂以蒸馏水为佳。

1.2.2.4 微波提取法 微波技术具有特殊的促进化学反应的特性,有利于加速提取植物中的有效成分,并提高提取率^[84]。邓黎等进行人工培养蛹虫草子实体中虫草酸微波提取试验,结果表明,最佳优化工艺条件为微波功率 555 W,料液比 1 g : 35 mL,提取时间 4 min,提取 2 次,虫草酸提取率的理论值可达到 84.45%^[85]。邵颖等通过微波提取法得到蛹拟青霉发酵菌丝体中虫草酸,最佳提取条件乙醇浓度 70%,料液比 1 g : 100 mL,微波功率 200 W,微波时间 80 s^[86]。

1.3 多糖

1.3.1 多糖药理性 虫草多糖是蛹虫草中生理活性物质之一,具有抗疲劳、抗氧化、抗炎、抗肿瘤、降血糖和降血脂等功效^[87-92];虫草多糖还能促进淋巴细胞转化,提升机体的免疫功能,主要是通过激活 T、B 淋巴细胞、自然杀伤细胞和巨噬细胞,活化补体,促进细胞因子包括肿瘤坏死因子和白细胞介素生成。此外,虫草多糖还对补肺肾、益精气有明显功效,已应用于医药与保健食品的生产与研究^[93-95]。

1.3.2 多糖提取方法

1.3.2.1 水提法 水提法是提取多糖的常用方法之一,研究人员对蛹虫草多糖的水提法工艺进行了研究^[96-99],并对水提法进行了优化^[97-100]。祁波分别采用超声波水提法、超声波醇提法、水热回流法和醇热回流法选择虫草素和虫草多糖的最佳提取工艺,结果表明,水热回流提取法对蛹虫草中虫草素和虫草多糖综合提取的提取效率要更高,更省时、节能^[101]。Yu 等研究采用碱法确定虫草多糖的最佳工艺条件^[102]。陈小

丽等对煎煮法、碱法和水热回流提取法提取蛹虫草子实体多糖工艺进行了优化,发现采用水热回流法和煎煮法提取多糖的得率相近,煎煮法的提取条件易达到,在工业应用上可节省成本,但在蛹虫草煎煮中会加大成本,不太实用;水热回流法操作简便,温度易控,且水分损失少,便于试验研究;采用碱法提取多糖得率较低,但水热回流后会产生大量蛹虫草子实体的残渣^[19]。周国海等对超声波辅助提取法、水提法、酶解法和超临界流体法提取多糖进行比较,结果表明,水提法效果最佳,优化工艺后多糖提取率为 8.97%,纯度高达 68.9%,有望进入工业化生产中^[103-104]。

1.3.2.2 超声波提取法 梁晨等利用超声波提取蛹虫草多糖,结果表明,提取率较高,且工艺稳定可靠,具有实际价值^[31,105-106]。吴琼英等通过扫描电子显微镜观察提取多糖后的蛹虫草子实体残渣颗粒,证明采用超声波辅助提取法更有利于蛹虫草子实体多糖的溶出^[107]。董媛等对超声提取蛹虫草菌丝体多糖工艺进行优化^[88,90,108]。张杰等分别采用碱提取法、热水提取法、微波提取法和超声提取法这 4 种方法提取蛹虫草多糖,以多糖提取率为指标进行比较得出,超声提取法不仅效率高、提取率高,而且可防止提取物在长时间、高温条件下发生降解、褪色等不利变化,在此工艺条件下,多糖的提取率为 8.15%,比传统热水浸提法的提取率上升了 1.08 百分点^[18]。孙军德等通过试验也曾取得了相似的结果^[109]。赵丰丽比较了微波法、水浸提法、超声波等方法对从蛹虫草发酵液中提取虫草多糖的影响,得出 3 种预处理方法均促进虫草多糖的提取,但超声波法的效果更明显^[110]。

1.3.2.3 微波提取法 姚志伟等以微波辅助法提取蛹虫草菌种中的虫草多糖,不同功率、料液比、提取时间下的提取率分别是 3.78%、3.93%、10.97%、5.78%、15.20%,表明此法利于提取多糖^[111-115]。殷东林等探讨了超声波助提法、热水浸提法、索氏提取法和微波助提法 4 种提取方法的效果,结果发现,微波助提法是虫草多糖的最佳提取方法,并建立了提取虫草多糖的最佳工艺,即微波功率 420 W、料液比 1 g : 40 mL、微波处理时间 4 min、提取次数 3 次^[20]。翁梁等曾用超声波、沸水浴、微波提取法提取蛹虫草多糖,结果发现,通过微波提取的蛹虫草多糖的抗氧化性(由清除率计算得到)高达 97.11%,提取率为 2.23%,且提取时间少^[116]。

1.3.2.4 闪式提取法 闪式提取法是应用于提取天然产物有效成分的一种新技术,此法是在室温和适当溶剂的情况下,在高速剪切力和搅拌力下将植物原料粉碎成细微颗粒,使有效成分在局部负压渗透作用下迅速分散达到溶解平衡^[117]。与一般浸提方法相比,闪式提取法具有快速、完全、高效、节能等优点^[118]。陈丽冰等采用闪式提取技术从蛹虫草培养基中提取多糖,得到最佳提取工艺为液料比 35 mL : 1 g,提取时间 12 min,转速 8 000 r/min,提取多糖得率为 3.52%,相比传统热水回流提取的得率略高,且在室温下进行,提取时间较短^[117]。

1.3.2.5 超高压辅助提取法 陈忠杰等研究了超高压辅助提取蛹虫草多糖的工艺,比较了加压时间、压力、料液比和温度等几个方面对蛹虫草多糖得率的影响,确定其最佳工艺条件为保压时间 2 min,压力 300 MPa,料液比 1 g : 40 mL,温度 70 ℃,多糖得率达 9.33%^[119]。通过与其他蛹虫草多糖提取

方法比较,证明了超高压提取法具有提取时间短、温度条件温和、提取率高的特点^[120]。但超高压技术在生物有效成分提取方面的应用研究仍处于起步阶段,还需要更多的研究才有可能被应用推广。

1.4 超氧化物歧化酶(SOD)

1.4.1 SOD 药理性 SOD 是普遍存在于生物体内的金属酶,钟艳梅等发现,SOD 与生物体抗衰老、营养状况、抗肿瘤、免疫性疾病及炎症有关^[24,121]。SOD 不仅能清除生物体内超氧阴离子自由基、降低机体内过氧化脂质的生成速度,且具有消炎及防辐射等功能,因而在医药、化妆品、食品和农业等方面应用广泛^[122-123]。

1.4.2 SOD 提取方法

1.4.2.1 盐析提取法 目前关于 SOD 提取方法成为研究重点之一。钟艳梅等根据酶活力大小的影响对蛹虫草培养残基中 SOD 的提取条件进行考察,具体做法是先超声后对粗提液进行盐析制取 SOD 粗酶液,SOD 粗酶液的制取方法包括有机溶剂的分级沉淀法、盐析法等^[24]。分级沉淀法是利用待测物质在不同浓度的有机溶剂中溶解度不同进行分离的方法,常用的有机溶剂有三氯甲烷-乙醇和丙酮,但三氯甲烷具有毒性,且经过该处理后的酶液含有三氯甲烷和乙醇残留;丙酮在使用时须在低温下进行才能最大程度保持酶活性^[124]。相比而言,盐析方法更有利于试验,优点是一般的酶在高浓度盐溶液中稳定、重复性好^[125]、简便安全。钟艳梅等对不同固体 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 饱和度下酶总活力的测定表明,最佳提取条件为 40% 饱和度,此时含有大部分 SOD 酶蛋白^[126]。杜琳等先利用煎煮法再用 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 盐析法,发现当其饱和度达到 70% 时 SOD 几乎全部析出,硫酸铵最佳添加量为 340 g/L^[25]。

1.4.2.2 基酒提取法 周荣芬等用基酒法提取 SOD,测定 SOD 活力是利用邻苯三酚/二巯基苏糖醇(DTT)终止法,邻苯三酚/DTT 终止法测定 SOD 活性的过程是自氧化反应,并在 $(25 \pm 0.2)^\circ\text{C}$ 恒温水浴中进行^[22]。具体步骤是按顺序加入缓冲液、蛹虫草提取液和邻苯三酚,水浴预热 15 min,加入邻苯三酚后计时 3 min(精确至秒),迅速加入 100 μL DTT 溶液终止自氧化反应,室温下放置 5 min。以缓冲液作空白对照,测定 420 nm 波长处的吸光度,即得到酶活性。通过以上方法测定发现最佳工艺:蛹虫草粉碎,料液比 1 g : 100 mL,用乙醇体积分数 60% 的基酒提取 1 d,氮吹搅动 20 min/d。

1.5 麦角甾醇类

1.5.1 麦角甾醇药理性 麦角甾醇(ergosterol)是真菌类的特征甾醇,是脂溶性维生素 D₂ 的前体^[127],在蛹虫草中含量相对恒定,蛹虫草中麦角甾醇以游离和结合 2 种形式存在,功能是抗癌、防衰老、排毒等^[128]。

1.5.2 麦角甾醇提取方法 对麦角甾醇的提取目前一般是选择超声波提取法。段韶军等报道,将样品皂化后提取麦角甾醇,此方法虽可促使结合型的麦角甾醇游离,但是操作复杂繁琐,测定结果也不理想,并且皂化引入很多杂质使皂化液中成分复杂,还须净化处理^[129]。王瑞华等进行麦角甾醇提取,其间对回流、超声、索氏等 3 种提取方法进行了比较,提取的麦角甾醇含量表明,这 3 种方法制备能力基本相同^[26]。但鉴于超声提取法较完全、方法简便、提取时间短,故最终选用此法。李万芳等在研究蛹虫草提取工艺时,加甲醇并置于 40 $^\circ\text{C}$

下超声提取 1 h,对蛹虫草中麦角甾醇提取率的影响试验表明,这 2 种提取方法无显著差异^[27]。

1.6 类胡萝卜素

1.6.1 类胡萝卜素药理性 类胡萝卜素是一类多烯类化合物,呈黄色、橙红色或红色。类胡萝卜素主要分布于多数真菌中,常见的有酸性类胡萝卜素和 β -胡萝卜素^[130],在蛹虫草菌丝和子实体阶段,可以合成类胡萝卜素,合成的类胡萝卜素大部分是由稀有的水溶性类胡萝卜素及北虫草黄素组成^[131],产量最高可达 472.3 $\mu\text{g/g}$ 以上^[132]。因类胡萝卜素色泽自然、安全性较好,并兼有营养和保健作用而受到人们的青睐^[133],现已应用于化妆品、食品和饲料添加剂中。此外类胡萝卜素还具有抗心血管疾病、抗肿瘤、抗白内障等功能,市场供不应求^[134]。但应注意该色素须避光保存且保存时间不宜过长,且抗还原能力很差,还原剂 H_2O_2 和 NaHSO_3 对蛹虫草色素溶液的稳定性有显著影响, Fe^{3+} 会使其褪色,这些特点与酮类色素性质类似^[135-136],柠檬酸对其有增色作用,而麦芽糖、蔗糖会降低其吸光度,从而在实际应用中应谨慎挑选食品添加剂。

1.6.2 类胡萝卜素提取方法 关于蛹虫草类胡萝卜素提取工艺的相关研究报道很少,张志军等对酸热法、研磨法、超声波法、微波法提取类胡萝卜素方法进行了比较^[28];酸热法参照王岁楼等的方法,通过比较分析,蛹虫草中提取类胡萝卜素最有效的方法是酸热法,丙酮是良好的浸提溶剂^[137]。根据正交试验及方差分析,热处理时间和盐酸浓度对蛹虫草中类胡萝卜素提取具有显著影响。在此浸提条件下,蛹虫草中类胡萝卜素含量可达 2 158 $\mu\text{g/g}$,比优化前提高了 42.4%。张杰等发现,也可用 80% 乙醇提取,色素提取液最大吸收波长为 452 nm,对温度和 pH 值较稳定^[133]。

2 展望

目前,蛹虫草已经实现规模生产,大大推动了资源的开发与利用^[138-139]。蛹虫草提取物不仅用于医药和保健品中,而且在化妆品、食品、饲料添加剂中应用,随着蛹虫草活性物质医学价值被挖掘,优化蛹虫草活性物质的提取方法成为研究热门,但国内外相关研究与实践生产相结合紧密度不足。通过对现有技术工艺中的提取率、技术复杂程度、原料浪费程度和成本等方面进行对比分析,应进一步加强对已成熟的蛹虫草活性物质,尤其是在虫草素和多糖的提取工艺向工业应用方面的研究与示范。同时也有不少研究者对其他类核苷、SOD、麦角甾醇、类胡萝卜素等活性物质提取方法及优化措施进行试验,但在工业化大生产与应用方面仍是空白,迫切需要对现有的提取技术工艺的凝练与产业化开发。此外,综合提取方法的操作难易程度、成本、减少环境污染、安全、绿色等几个方面考虑分析,逐步开展对蛹虫草新的活性物质分析、生理生化与功能研究,以及新提取技术工艺研究与开发探索,随着研究的不断深入,技术与工艺将会更加成熟与完善。

参考文献:

- [1] Zhou X W, Gong Z H, Su Y, et al. *Cordyceps* fungi: natural products, pharmacological functions and developmental products[J]. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2009, 61(3): 279-291.

- [2] Kobayasi Y, Shimizu D. *Corcllyceps* species from Japan [J]. Bulletin of the National Science Museum, 1978, 4(2): 43–63.
- [3] 楚玉南, 于才, 王冒云, 等. 蛹虫草总苷提取的研究[J]. 中国林副特产, 2009(2): 19–20.
- [4] 孟泽彬, 文庭池, 姜金仲. 富硒虫草的研究进展[J]. 微生物学通报, 2014, 41(11): 2339–2348.
- [5] 孟泽彬, 陈林会, 朝近雨, 等. 蛹虫草化学活性成分的研究[J]. 分子植物育种, 2015(9): 2147–2154.
- [6] 屈燕, 区智. 蛹虫草的研究进展[J]. 现代农业科技, 2012(12): 74–79.
- [7] 黄子琪, 贡松彬, 桑育黎, 等. 微波法与超声破碎法提取蛹虫草菌丝体中虫草素的比较研究[J]. 食品科学, 2009, 30(18): 176–180.
- [8] 吴勇, 陈卫东, 王利, 等. 蛹虫草培养基中虫草素的几种提取方法比较[J]. 安徽药业, 2010, 14(3): 284–285.
- [9] 王雅玲, 孙力军, 赵铁男, 等. 蛹虫草大米培养基残基中虫草素提取方法的优化研究[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(8): 3364–3366.
- [10] Ni H, Zhou X H, Li H H, et al. Column chromatographic extraction and preparation of cordycepin from *Cordyceps militaris* waster medium [J]. Journal of Chromatography B, 2009, 877(22): 2135–2141.
- [11] 蔡仲军, 尹定华, 秦松云. 水提取法测定冬虫夏草甘露醇含量[J]. 重庆中草药研究, 2006(1): 19–21.
- [12] 刘志平, 陈淑贤, 崔建国. 从茉莉花根中快捷提取 D-甘露醇的方法研究[J]. 中药材, 2008, 31(11): 1747–1748.
- [13] 蔡友华, 范文霞, 刘学铭, 等. 超声-微波协同萃取巴西虫草菌丝体中甘露醇的研究[J]. 江西农业大学学报, 2008, 30(2): 348–353.
- [14] Yang L Q, Qu H Y, Mao G H, et al. Optimization of subcritical water extraction of polysaccharides from *Grifola frondosa* using response surface methodology [J]. Pharmacognosy Magazine, 2013, 9(34): 120–129.
- [15] Chen R Z, Li Y, Dong H, et al. Optimization of ultra-sonic extraction process of polysaccharides from *Ornithogalum caudatum* ait and evaluation of its biological activities [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2012, 19(6): 1160–1168.
- [16] Chen X Q, Liu Q, Jiang X Y, et al. Microwave-assisted extraction of polysaccharides from *Solanum nigrum* [J]. Journal of Central South University of Technology, 2005, 12(5): 556–560.
- [17] 陈丽冰, 程薇, 高虹, 等. 北虫草培养中多糖的闪式提取工艺研究[J]. 湖北农业科学, 2014, 53(19): 4670–4674.
- [18] 张杰, 孙源. 蛹虫草菌丝体多糖提取工艺研究[J]. 农产品加工(学刊), 2013, 313(4): 14–17.
- [19] 陈小丽, 巫光宏, 古青霞, 等. 正交法优化蛹虫草子实体多糖的提取工艺[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(28): 15583–15585.
- [20] 殷东林, 王锐丽, 段鸿宾, 等. 蛹虫草子实体虫草多糖提取工艺的优化[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(7): 277–279.
- [21] 周国海, 张泳, 赵力超, 等. 蛹虫草多糖提取纯化工艺研究[J]. 食品与机械, 2014, 30(5): 220–224.
- [22] 周荣芬, 朱婧, 黄磊, 等. 蛹虫草中超氧化物歧化酶提取工艺的研究[J]. 现代预防医学, 2015, 42(20): 3770–3773.
- [23] 李聪, 龚利媚, 张兆霞, 等. 新鲜蛹虫草中 SOD 的提取工艺优化[J]. 化学与生物工程, 2015, 32(4): 48–50.
- [24] 钟艳梅, 胡敏伦. 蛹虫草固体培养基中 SOD 的提取研究[J]. 食品研究与开发, 2010, 31(1): 142–146.
- [25] 杜琳, 邱芳萍, 邢燕, 等. 蛹虫草菌丝体中 SOD 的提纯工艺及鉴定[J]. 食用菌学报, 2013, 20(4): 49–54.
- [26] 王瑞华, 杨昕, 杨仁锐, 等. 人工蛹虫草子实体中游离麦角甾醇的提取及含量测定[J]. 中国药师, 2008, 11(4): 412–414.
- [27] 李万芳, 刘敬民, 石俊英. 山东不同产地北虫草中麦角甾醇的提取工艺与含量测定的研究[J]. 抗感染药学, 2014, 11(4): 302–305.
- [28] 张志军, 江晓路, 牟海津, 等. 蛹虫草中类胡萝卜素提取工艺的研究[J]. 食品科技, 2007, 31(4): 99–103.
- [29] Yang T, Sun J, Lian T, et al. Process optimization for extraction of carotenoids from medicinal caterpillar fungus, *Cordyceps militaris* (Ascomycetes) [J]. International Journal of Medicinal Mushrooms, 2014, 16(2): 125–135.
- [30] 丁凤平, 姜文昌, 陈宗娟. 冬虫夏草的研究现状[J]. 中国生化药物杂志, 1994, 15(4): 297–299.
- [31] 梁晨. 蛹虫草培养基中多糖和虫草素的提取和纯化研究[D]. 广州: 广东工业大学, 2010.
- [32] Zhou X, Meyer C U, Schmidtk P, et al. Effect of cordycepin on interleukin-10 production of human peripheral blood mononuclear cells [J]. European Journal of Pharmacology, 2002, 453(2): 309–317.
- [33] Glazer R I. The action of cordycepin on nascent nuclear RNA and poly (A) synthesis in regenerating liver [J]. Biochimica et Biophysica Acta – Nucleic Acids and Protein Synthesis, 1976, 418(2): 160–166.
- [34] 吴洪臻, 江伟, 马德恩. 虫草菌素对小鼠 S180 瘤抑制作用研究[J]. 时珍国医国药, 2000, 11(10): 873–874.
- [35] 李刚, 朱华李, 毛先兵, 等. 蛹虫草中虫草素分离纯化研究进展[J]. 重庆中草药研究, 2006, 53(1): 51–54.
- [36] 谢其明, 王恕蓉. 核苷类抗菌素 [M]. 北京: 科学出版社, 1982.
- [37] Koc Y, Urbano A G, Sweeney E B, et al. Induction of apoptosis by cordycepin in ADA-inhibited TdT-positive leukemia cells [J]. Leukemia, 1996, 10(6): 1019–1024.
- [38] Seldin D C, Urbano A, Lahey S, et al. Phase I trial of cordycepin and deoxycorymycin in TdT-positive acute leukemia [J]. Blood, 1997, 90(10): 38–47.
- [39] Kodama E N, McCaffrey R P, Yusa K, et al. Antileukemic activity and mechanism of action of cordycepin against terminal deoxynucleotidyl transferase-positive (TdT⁺) leukemic cells [J]. Biochemical pharmacology, 2000, 59(3): 273–281.
- [40] Ahny J, Park S J, Lee S G, et al. Cordycepin: selective growth inhibitor derived from liquid culture of *Cordyceps militaris* against *Clostridium* spp. [J]. Journal of Agricultural Food Chemistry, 2000, 48(7): 2744–2748.
- [41] Sugar A M, McCaffrey R P. Antifungal activity of 3'-deoxyadenosine (cordycepin) [J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1998, 42(6): 1424–1427.
- [42] 陈毓荃. 生物化学实验方法和技术 [M]. 北京: 科学出版社, 2003: 102–106.
- [43] 钟艳梅, 黄志全, 温凯. 人工蛹虫草固体培养残基中虫草素的提取分离研究[J]. 现代食品科技, 2007, 23(2): 40–42.
- [44] 王英娟, 李多伟, 王义潮, 等. 蛹虫草中虫草素、虫草多糖综合提取工艺研究[J]. 西北植物学报, 2005, 25(9): 1863–1867.
- [45] 谭琪明, 何珺, 文庭池, 等. 蛹虫草小麦培养基中虫草素提取工艺的研究[J]. 山地农业生物学报, 2011, 30(4): 357–361.

- [46]郭澄,朱杰,张纯,等. 高效液相色谱法测定人工虫草菌丝中腺苷和虫草菌素的含量[J]. 中国中药杂志,1998,23(4): 236-237.
- [47]张嘉,李多伟,任静. 正交试验提取虫草素的工艺研究[J]. 中国新医药,2004,3(2):34-35.
- [48]邓黎,周同永,皮里,等. 用响应面优化人工蛹虫草子实体中虫草素的超声提取工艺[J]. 江苏农业科学,2012,40(5): 225-228.
- [49]许晓辉. 蛹虫草固体培养基中虫草多糖、虫草素提取工艺研究[D]. 天津:天津大学,2006.
- [50]夏敏,温鲁. 微波法提取虫草素研究[J]. 食品科学,2006, 27(10):248-251.
- [51]喻志标,杨明,李进进. 微波辅助萃取虫草菌粉的研究[J]. 江西化工,2005(4):135-136.
- [52]周枝凤,梁逸曾,胡芸,等. 均匀设计在蚕蛹虫草和冬虫夏草活性成分分析中的应用[J]. 分析测试学报,2004,23(2):35-37.
- [53]曹庆穗,严俊文,褚芳,等. 均匀设计优选虫草素微波辅助提取工艺的研究[J]. 江苏农业科学,2008(6):234-236.
- [54]黎海彬,王邕,李俊芳,等. 微波辅助提取技术在天然产物提取中的应用[J]. 现代食品科技,2005,21(3):148-150.
- [55]候淑丽,赵凤阁. 十年来蛹草的成分及药理研究概述[J]. 长春中医药大学学报,1997,13(6):64-66.
- [56]翁梁,温鲁. 不同pH值提取液浸提虫草素研究[J]. 食品科学,2006,27(11):274-276.
- [57]王陶,李文,陈宏伟,等. 虫草素的微波-超声波协同提取[J]. 食品科学,2010,30(10):86-90.
- [58]殷东林,陈琼,孙伟,等. 蛹虫草虫草素提取工艺的研究[J]. 湖北农业科学,2015,54(18):4560-4562.
- [59]李辰,赵燕,巫莹柱,等. 应用混合树脂技术从蛹虫草中提取纯化虫草素[J]. 安徽农业科学,2015,43(1):266-269.
- [60]原晋波,赵琳,董超,等. 采用离子交换吸附对蛹虫草中虫草素的提取研究[J]. 中国酿造,2014,33(8):115-119.
- [61]Lang Q, Wai C M. Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies — a practical review[J]. Talanta,2001,53(4): 771-782.
- [62]陈顺志. 一种超临界萃取虫草脱氧核苷的生产方法:CN 1339440[P]. 2002-03-13.
- [63]Ling J Y, Zhang G Y, Lin J Q, et al. Supercritical fluid extraction of cordycepin and adenosine from *Cordyceps kyushuensis* and purification by high-speed counter-current chromatography[J]. Separation and Purification Technology,2009,66(3):625-629.
- [64]谢红旗,胡瑕,罗巍,等. 酶法提取蛹虫草中虫草素的研究[J]. 时珍国医国药,2011,22(9):2145-2147.
- [65]余洪波,张晓昱. 酶法在中药提取中的研究进展[J]. 中成药, 2005,27(5):591-593.
- [66]程俊文,吴学谦,贺亮,等. 香菇子实体多糖分步酶解法提取研究[J]. 食用菌学报,2009,16(2):67-71.
- [67]刘森. 中草药成分提取分离与制剂加工新技术新工艺新标准实用手册[M]. 北京:中国教育出版社,2004,23-27.
- [68]韦会平,叶小利,张华英. 从废弃蛹虫草大米培养基中高效提取纯化虫草素工艺条件研究[J]. 菌物学报,2009,28(2):220-225.
- [69]卯诗松. 回归分析及其试验设计[M]. 上海:华东师范大学出版社,1981:58-64.
- [70]Pelleg A, Porter R S. The pharmacology of adenosine[J]. Pharmacotherapy the Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy, 1990,10(3):157-174.
- [71]Kitakaze M, Hori M. Adenosine therapy: a new approach to chronic heart failure[J]. Expert Opinon on Investigational Drugs,2009,9 (11):2519-2535.
- [72]Vinadé E R, Schmidt A P, Frizzo M E, et al. Chronically administered guanosine is anticonvulsant, amnesic and anxiolytic in mice [J]. Brain Research,2003,977(1):97-102.
- [73]Connolly G P, Duley J A. Uridine and its nucleotides; biological actions, therapeutic potentials [J]. Trends in Pharmacological Sciences,1999,20(5):218-225.
- [74]裴铁银. 超声波提取 HPLC-UV 法测定人工蛹虫草中 8 种核苷类物质[J]. 中国酿造,2012,31(11):163-166.
- [75]汪宇,于荣敏,杨光照,等. 人工培养蛹虫草子座中核苷类化合物的提取工艺研究[J]. 中国药师,2004,7(12):929-939.
- [76]廖春丽,方改霞,王莲哲,等. 蛹虫草主要有效成分分析[J]. 安徽农业科学,2008,36(12):5050-5052.
- [77]柴建萍,白兴荣,谢道燕. 蛹虫草主要有效成分及其药理功效[J]. 云南农业科技,2003(4):22-23.
- [78]王建芳,杨春清. 蛹虫草有效成分及药理作用研究进展[J]. 中医药信息,2005,22(5):30-32.
- [79]钟裕容,崔淑莲,杨智,等. 蛹虫草菌丝与冬虫夏草中氨基酸、甘露醇的含量[J]. 中国中药杂志,1990,15(4):39.
- [80]李雪芹,包天桐,王雁. 比色法测定冬虫夏草中甘露醇的含量[J]. 中草药,1999,30(1):19-21.
- [81]蔡仲军,尹定华,秦松云. 使用不同溶剂处理样品对虫草甘露醇测定结果的影响[J]. 重庆中草药研究,2001(44):22-24.
- [82]闫文娟,李泰辉,姜子德. 比色法测定广东虫草酸含量[J]. 食用菌,2010,32(5):73-74.
- [83]钟艳梅,高榆亮,曾宪录. 超声波-浸提结合法提取蛹虫草培养残基甘露醇[J]. 广东农业科学,2011,38(15):70-72.
- [84]朱明伟,温鲁,魏鹏,等. 不同培养液对蛹虫草多糖及虫草酸含量的影响[J]. 安徽农业科学,2008,36(2):573-574.
- [85]邓黎,韩涛,王晓虹,等. 响应面法优化人工蛹虫草子实体中虫草酸微波提取工艺[J]. 天然产物研究与开发,2013,25 (9):1249-1254.
- [86]邵颖,李文,王陶. 蛹拟青霉发酵菌丝体中虫草酸的提取和测定[J]. 食品工业科技,2012,33(1):262-264.
- [87]张杰,孙源. 超声提取蛹虫草多糖及其抗氧化活性分析[J]. 食品科技,2013,38(5):203-207.
- [88]董媛,朱靖宇,王虎义,等. 响应面法优化蛹虫草菌丝体多糖超声提取工艺的研究[J]. 时珍国医国药,2009,20(4):880-883.
- [89]王根维,唐仕川. 冬虫夏草水提取物对巨噬细胞吞噬功能的实验研究[J]. 山西医科大学学报,2003,31(1):20-21.
- [90]徐廷万,王丽波,段文健,等. 人工蛹虫草胞外多糖对受抑制的免疫功能的影响及抗疲劳作用[J]. 中药药理与临床,2002,18 (6):17-18.
- [91]姚思宇,赵鹏,刘荣珍,等. 虫草多糖降血脂作用的动物试验研究[J]. 中国热带医学,2004,4(2):197-198.
- [92]汤新强,杨彤,李传勋,等. 人工蛹虫草胞外多糖对卡铂抗癌和骨髓抑制作用的影响[J]. 中华中医药学刊,2004,22(3): 403-406.
- [93]吴光旻,王旻. 蛹虫草多糖的分离及免疫活性的研究[J]. 中

- 国天然药物,2007,5(1):73-76.
- [94] 宾文,宋丽艳,于荣敏,等. 人工培养蛹虫草多糖的抗炎及免疫作用研究[J]. 时珍国医国药,2003,14(1):1-2.
- [95] 张平,朱述钧,钱大顺,等. 北冬虫夏草功能成分及保健作用分析[J]. 江苏农业科学,2003(6):105-107.
- [96] 刘苏萌,王丽娟,司艳红,等. 蛹虫草基质粗多糖提取及抗氧化活性测定[J]. 食品科技,2009,34(7):179-181.
- [97] 刘红锦,蒋宁,李建军,等. 蛹虫草多糖提取及纯化工艺研究[J]. 江西农业学报,2007,19(12):80-82.
- [98] 娄虹,金莉莉,王洋洋,等. 蛹虫草大米培养基中活性多糖的提取及免疫调节功能研究[J]. 特产研究,2006,28(4):46-48.
- [99] 任蜀豫,赵春燕,宋慧一,等. 北虫草废弃培养料多糖提取条件优化研究[J]. 中药材,2008,31(3):342-344.
- [100] 邹超,张永刚,崔荣敏,等. 蛹虫草菌丝体胞内多糖最佳提取工艺研究[J]. 现代农业科技,2012(11):277-280.
- [101] 祁波. 蛹虫草虫草素和虫草多糖综合提取工艺的研究[J]. 科技信息,2009,20:709-711.
- [102] Yu R M, Yang W, Song L Y, et al. Structural characterization and antio-xidant activity of a polysaccharide from the fruiting bodies of cultured *Cordyceps militaris* [J]. Carbohydrate Polymers, 2007, 70(4):430-436.
- [103] 周国海,张泳,赵力超,等. 蛹虫草多糖提取纯化工艺研究[J]. 食品与机械,2014,30(5):220-224.
- [104] 尹艳,高文宏,于淑娟. 多糖提取技术的研究进展[J]. 食品工业科技,2007,28(2):248-250.
- [105] 颜辉,朱冬吉,吴杰. 超声波辅助提取蛹虫草多糖的研究[J]. 江苏农业科学,2009(1):255-257.
- [106] 秦秀丽,李凤林. 超声波法提取蛹虫草多糖的工艺研究[J]. 江苏农业科学,2011,39(5):378-380.
- [107] 吴琼英,陈炼,屈红森,等. 超声波辅助提取家蚕蛹虫草子实体多糖的工艺条件优化[J]. 蚕业科学,2013,39(3):587-592.
- [108] 董媛,朱靖宇,王虎义,等. 响应面法优化蛹虫草菌丝体多糖超声波提取工艺的研究[J]. 时珍国医国药,2009,20(4):880-883.
- [109] 孙军德,邹超. 蛹虫草液体发酵与胞内多糖提取研究[J]. 农业科技与装备,2012(4):5-7.
- [110] 赵丰丽. 预处理对水提醇沉法提取虫草多糖效果的影响研究[J]. 食品工业科技,2008(1):140-142.
- [111] 姚志伟,镇黎,闫鹿. 微波法从蛹虫草中提取虫草多糖的技术研究[J]. 武汉生物工程学院学报,2010,6(4):257-260.
- [112] 白霞,尹莲花,冯艳伟. 微波法在蛹虫草多糖提取中的应用[J]. 大连民族学院学报,2005,7(3):96.
- [113] 施英,吴娱明,廖森泰,等. 微波辅助提取蚕蛹虫草多糖的研究[J]. 广东农业科学,2006(11):41-42.
- [114] 谭放,张妍妍,王伟骁,等. 蛹虫草多糖提取研究[J]. 中国林副特产,2009(4):14-16.
- [115] 宋江峰,李大婧,刘春泉. 响应曲面法优选人工蛹虫草多糖微波提取工艺[J]. 江苏农业学报,2009,25(5):1143-1150.
- [116] 翁梁,温鲁,杨芳,等. 不同提取方法对蛹虫草多糖抗氧化性的影响[J]. 食品科技,2008,33(11):180-182.
- [117] 刘延泽. 植物组织破碎提取法及闪式提取器的创制与实践[J]. 中国天然药物,2007,5(6):401-407.
- [118] 谢捷,周萍萍,朱兴一,等. 竹叶黄酮的闪式提取及抗氧化活性研究[J]. 食品科技,2010,35(5):194-198.
- [119] 陈忠杰,胡燕. 超高压辅助提取蛹虫草多糖工艺的研究[J]. 郑州牧业工程高等专科学校学报,2015,35(1):8-11.
- [120] 常双艳,蓝炎阳,王少峰. 多糖提取纯化方法及其生物活性研究进展[J]. 福建热作科技,2013,38(4):34-38.
- [121] 刁治民. 超氧化物歧化酶的研究及应用前景[J]. 青海科技,1995,2(1):1-7.
- [122] 张显科,刘文霞. 蛹虫草化学成分测定[J]. 菌物系统,1997,16(1):78-80.
- [123] 黄维嘉,陈宏础,黄天禄. 邻苯三酚自氧化抑制法测定人红细胞超氧化物歧化酶[J]. 中华医学检验杂志,1989,12(4):206-208.
- [124] 俞纯方,吴建生,张荣强,等. 兔血 SOD 的提取及活性研究[J]. 西南农业大学学报(自然科学版),1995,17(5):478-480.
- [125] 苏拔贤. 生物化学制备技术[M]. 北京:科学出版社,1998.
- [126] 钟艳梅,胡敏伦. 蛹虫草固体培养残基中 SOD 的提取研究[J]. 食品研究与开发,2010,31(1):142-146.
- [127] Manila P, Lampi A M, Ronkainen R, et al. Sterol and vitamin D₂ contents in some wild and cultivated mushrooms[J]. Food Chemistry, 2002, 76(3):293-298.
- [128] 韦会平,肖波,胡开治. 蛹虫草药用价值考[J]. 中药材,2014,27(3):215-217.
- [129] 段韶军,张忠鹏,李菲菲,等. 高效液相色谱法测定人工虫草中麦角甾醇的含量[J]. 山西医科大学学报,2006,37(6):611-612.
- [130] 张建法,蒋鹏举,黄为一. 真菌菌丝中类胡萝卜素的提取方法[J]. 生物技术,2002,12(4):25-26.
- [131] 简锦辉,郭丽琼,叶志伟,等. 蛹虫草新型色素的研究进展[J]. 中国食品添加剂,2015(11):137-140.
- [132] 付鸣佳. 蛹虫草产类胡萝卜素的研究[J]. 食品与生物技术学报,2005,24(5):107-110.
- [133] 张杰,范志微,王滨松,等. 蛹虫草培养基色素的提取与稳定性[J]. 食用菌学报,2012,19(4):17-20.
- [134] 陈丽筠. 代谢(三)脂质生物化学[M]. 北京:科学出版社,1988.
- [135] 于智峰. 苦荞黄酮大孔树脂精制工艺及抗氧化特性研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2007.
- [136] 李凌智. 新疆紫茉莉黄酮类化合物及色素的初步研究[D]. 新疆:新疆大学,2010.
- [137] 王岁楼,张鑫,张平之. 红酵母类胡萝卜素提取方法研究[J]. 食品与机械,2006(6):30-31.
- [138] 努尔买买提,焦子伟,孙清花. 蛹虫草子实体人工栽培技术[J]. 现代农业科技,2015(15):91,95.
- [139] 姜明兰,钟文田. 北冬虫夏草人工栽培技术研究[J]. 辽宁农业科学,1995(1):54-56.