

超高压提取蛹虫草鲜汁中虫草素工艺优化

Optimization on improving dissolved quantity of cordycepin from *Cordyceps militari* juice by ultra-high pressure processing

朱双杰¹ 董丽丽² 潘见³ 杜庆飞¹ 罗侠¹ 张维柱¹

ZHU Shuang-jie¹ DONG Li-li² PAN Jian³ DU Qing-fei¹ LUO Xia¹ ZHANG Wei-zhu¹

(1. 滁州学院生物与食品工程学院, 安徽 滁州 239012; 2. 安徽农业大学园艺学院, 安徽 合肥 230036;

3. 合肥工业大学农产品生物化工教育部工程研究中心, 安徽 合肥 230009)

(1. School of Biotechnology and Food Engineering, Chuzhou University, Chuzhou, Anhui 239012, China;

2. College of Horticulture, Anhui Agricultural University, Hefei, Anhui 230036, China;

3. Institute of Fresh Medicine, Hefei University of Technology, Hefei, Anhui 230009, China)

摘要:为了优化超高压提取蛹虫草汁中虫草素溶出量工艺,以压力、时间、料液比和循环次数为自变量,虫草素溶出量为响应值,进行响应面试验设计与优化,并建立预测数学模型。结果表明:虫草素超高压提取的最佳工艺为压力 418 MPa、时间 33 min、料液比 1:2($m:V$)、循环 1 次,该条件下虫草素溶出量为 (84.69 ± 1.65) mg/g·提取物,与预测值 (84.03) mg/g·提取物的相对标准偏差为 0.61%,获得的数学模型能够用于预测超高压提高蛹虫草汁中虫草素溶出量的过程。

关键词:超高压;蛹虫草;鲜汁;虫草素;溶出量;鲜药

Abstract: In order to study the ultra-high pressure extraction of cordycepin from *Cordyceps militaris* fresh juice, the effect of operation conditions such as pressure, time, solid-liquid ratio and cycle number were analyzed. On the basis of single-factor test, the optimum extraction technology of cordycepin and mathematical regression model were established by response surface methodology. The result showed that the optimal extraction conditions were as followed: extraction pressure of 418 MPa, extraction time of 33 min, solid-liquid ratio of 1:2 ($m:V$), cycle number of 1. Under these conditions, the measured value of dissolved quantity of cordycepin was 84.69 mg/g of extract, to which the relative standard deviation of predicted value (84.03 mg/g of extract) was 0.61%. The standardized regression equation can be used to predict the extraction yield of cordycepin from *C. militaris* fresh juice.

Keywords: ultra-high pressure processing; *Cordyceps militari*; fresh

juice; cordycepin; fresh medicine

鲜药是新鲜中药的简称,指用新鲜植物或动物的整体或部分组织,或取其汁液加工而成的药物^[1]。蛹虫草(*Cordyceps militari*),又名北冬虫夏草、北虫草、蛹草等,具有增强免疫、抗氧化、抗衰老、抗肿瘤、抗炎等药理作用^[2-3]。现代药理学研究^[4]表明,蛹虫草药理作用强弱与其虫草素(cordycepin)溶出量高低密切相关。虫草素,即 3'-脱氧腺苷(3'-deoxyadenosine),为核苷类抗生素,具有极强的抗炎、抗真菌、抗 HIV-I 型病毒、增强免疫、抗氧化、抑制肿瘤细胞分裂、保护生命体的遗传密码等特殊功效^[5-6]。本课题组^[7]前期研究发现鲜蛹虫草的免疫促进作用强于其干品,并证明虫草素是鲜、干蛹虫草免疫促活性差异的物质基础之一。基于此开展对鲜蛹虫草的深加工技术研究,旨在提高其鲜汁中虫草素的溶出量,增强蛹虫草鲜药的药理作用。鲜药的加工方法有发汗法、低温阴干法、润、蒸、闷法、硫磺法、红外干燥、微波干燥和喷雾干燥等,但研究显示这些加工方法均会造成鲜药中的活性成分的损失,从而降低鲜药的药性^[1,8]。

超高压提取技术是近年来发展较快的一种新型的提取技术,其原理是提取溶剂在超高压下推动下迅速渗透到植物内部维管束和腺细胞内,引起体系的体积变化,推动了化学平衡的移动,溶剂的渗透、溶质的溶解快速达到平衡,卸压一般在几秒钟之内完成,组织细胞的压力从几百兆帕迅速减小为常压,在反方向压力作用下,发生流体以及药物基质体积的爆破膨胀,对细胞壁、细胞膜等形成强烈的冲击致使发生变形,细胞内部已经溶解了有效成分的溶剂在高渗透压差下快速转移到细胞外,从而达到提取的目的^[9-10]。近年来,超高压技术已广泛应用于多糖^[11]、多酚^[12]、皂苷^[13]等活性成分的提取研究中,并证实该技术具有操作简单、提取率高、时

基金项目: 高校省级优秀青年基金重点项目(编号:2013SQRL094 ZD)

作者简介: 朱双杰(1978—),男,滁州学院副教授,博士。

E-mail: zhushuangjie@163.com

收稿日期: 2015-11-27

间短、能耗低,以及可避免热效应引起的有效成分损失和生理活性降低等优点,基于此本研究拟采用超高压技术对蛹虫草鲜榨汁进行加工,探讨压力、时间、料液比及加压次数等因素对蛹虫草鲜汁中虫草素溶出量的影响,并采用响应面法对各因素进行优化,旨为蛹虫草鲜药的加工提供依据,并为其它鲜药的开发提供参考和思路。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

1.1.1 试验材料

鲜蛹虫草:辽宁丹东虫草合作社提供,由辽东学院刘晓红教授鉴定;

虫草素:标准品($\geq 98\%$),国药集团化学试剂有限公司;

乙腈、甲醇:色谱纯,国药集团化学试剂有限公司;

其余试剂均为分析纯。

1.1.2 试验仪器

高效液相色谱仪:Waters 2487型,杭州尔首科学仪器有限公司;

高速分散均质机:FJ-200型,上海标本模型厂;

超高压设备:L2实验型,天津华泰森森生物工程有限公司;

离心机:LG10-2.4A型,北京医用离心机厂。

1.2 试验方法

1.2.1 提取工艺

蛹虫草鲜品(或经 $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ 漂烫 15 s 的蛹虫草鲜品) \rightarrow 榨汁(榨汁机榨汁 1 min) \rightarrow 真空包装(20 mL/包) \rightarrow 超高压提取 \rightarrow 过滤(4层纱布过滤,滤渣用等体积的无菌水过滤2次) \rightarrow 合并滤液 \rightarrow 浓缩(采用旋转蒸发器在 $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下将滤液浓缩至 10 mL) \rightarrow 真空冷冻干燥(物料升温程序: $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 2 h , $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ 2 h , $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 2 h) \rightarrow 提取物冻干粉(未经灭酶处理的命名为HFCM,经灭酶处理的命名为MFCM)

1.2.2 单因素试验设计 超高压提取的影响因素有溶剂、压力、时间、温度、料液比、循环次数^[10]。因虫草素提取时一般以水为溶剂,为此,本研究仅考察压力、时间、循环次数及料液比4个因素对蛹虫草鲜汁中虫草素溶出量的影响。

(1) 压力的影响:在保压时间为 30 min 、料液比为 $1:1.5(m:V)$ 、循环1次的条件下,考察压力($100, 200, 300, 400, 500, 600\text{ MPa}$)对虫草素溶出率的影响。

(2) 时间对虫草素溶出量的影响:在压力为 400 MPa 、料液比为 $1:2(m:V)$ 、循环1次的条件下,考察时间($0, 10, 20, 30, 40, 50\text{ min}$)对虫草素溶出量的影响。

(3) 料液比对虫草素溶出量的影响:在压力为 400 MPa 、时间为 30 min 、循环1次的条件下。考察料液比($1:1, 1:1.5, 1:2, 1:2.5, 1:3, m:V$)对虫草素溶出量的影响。

(4) 循环次数对虫草素溶出量的影响:在压力为 400 MPa 、时间为 30 min 、料液为 $1:2(m:V)$ 的条件下,考察压次数($0, 1, 2, 3, 4$)对虫草素溶出量的影响。

1.2.3 响应面优化试验 在单因素试验基础上选择对虫草素溶出量影响显著的因素,采用 Design Expert 8.0 版软件,

根据 Box-Behnken 试验设计原理,以虫草素溶出量为响应值,进行响应面试验并对试验数据进行回归分析优化提高虫草素溶出量的条件。

1.2.4 虫草素溶出量的测定 参照文献^[14],略作调整。色谱条件为: C_{18} 柱 $250\text{ mm}\times 4.6\text{ mm}$ (i.d),流动相:乙腈:水= $5:95$,流速 1.0 mL/min ,柱温 $35\text{ }^{\circ}\text{C}$,检测波长 260 nm ,进样量 $20\text{ }\mu\text{L}$ 。以虫草素质量浓度($\mu\text{g/mL}$)为横坐标,峰面积为纵坐标,制订标准曲线,进行线性回归。得回归方程为 $y=6\ 840.79x-190.98$ ($R^2=0.999\ 8$),在虫草素质量浓度为 $30\sim 1\ 000\ \mu\text{g/g}$ 时呈良好的线性关系。

吸取 1 mL 提取物,溶于 1 mL 蒸馏水中,于 $8\ 000\text{ r/min}$ 离心 10 min ,上清液过 $0.45\ \mu\text{m}$ 的微孔滤膜。精密吸取 $20\ \mu\text{L}$,注入液相色谱仪中,测定虫草素含量。溶出量按式(1)计算:

$$D = \frac{m_2}{m_1} \quad (1)$$

式中:

D ——虫草素溶出量, $\text{mg/g}\cdot\text{提取物}$;

m_1 ——超高压蛹虫草提取物的含量(干基), g ;

m_2 ——超高压蛹虫草提取物中虫草素的含量(干基), mg 。

1.2.5 数据处理与分析 以上试验做3个平行,取平均值,试验结果采用平均值 \pm 标准差表示,采用 SPSS 8.0 版软件进行显著性分析,Origin 8.0 版软件作图。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果与分析

2.1.1 压力对虫草素溶出量的影响 由图1可知,在 $100\sim 400\text{ MPa}$ 时,虫草素的溶出量随着压力的升高而增加,这是因为提高压力有利于加快溶剂浸润过程以及有效成分的传质速率,同时超高压对流体密度、活度、蛹虫草碎片结构都会有不同程度的影响,从而有利于以后溶质的扩散^[10]。大于 400 MPa 时,虫草素溶出量迅速下降,这可能是压力超过 400 MPa 时,酶活性中心的空间变小,阻碍了底物进入活性中心,或使活性中心的色氨酸从羧基或咪唑基的附近离开,酶与底物结合力降低,酶促反应降低,减弱了腺苷合成虫草素的能力^[15]。图1还显示,HFCM中的虫草素溶出量明显高于MFCM,推测 $100\sim 400\text{ MPa}$ 压力可能提高了细胞中的纤维素酶、果胶酶以及催化腺苷合成虫草素相关酶的催化活

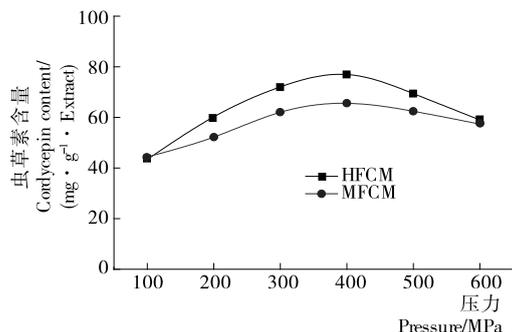


图1 压力对虫草素溶出量的影响

Figure 1 Effect of pressure on cordycepin dissolved quantity

性,且酶催化活性随着压力的升高而增加,使得部分腺苷转化为虫草素。综合考虑,后续试验选择未经灭酶处理的蛹虫草鲜品为鲜药原料,以及后续试验选择压力范围为 300~500 MPa。

2.1.2 时间对虫草素溶出量的影响 由图 2 可知,在 0~30 min 时,随着保压时间的延长,虫草素溶出量显著增加($P < 0.05$);超过 30 min 后,虫草素溶出量增加不明显($P > 0.05$)。推测在 0~30 min 内,随着保压时间的延长,受压细胞在压力与酶解的双重作用使得细胞破损度持续增加,降低了有效成分的传质阻力^[16],有利于细胞内虫草素不断溶出。此外,HFCM 中虫草素的溶出量显著高于 MFCM ($P < 0.05$),表明该处理条件增强了纤维素酶、果胶酶或催化腺苷合成虫草素相关酶系等相关酶的活性。30 min 后,虫草素溶出量的增加不明显,可能是破损细胞内的虫草素溶出较为充分,以及酶活性中心的腺苷浓度的降低导致虫草素的合成减弱;之后再延长保压时间,虫草素含量也很难再增加。因此,后续试验选择保压时间范围为 20~40 min,处理原料为蛹虫草鲜品。

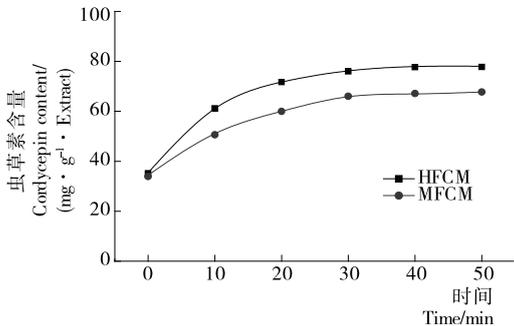


图 2 时间对虫草素溶出量的影响

Figure 2 Effect of pressure time on cordycepin dissolved quantity

2.1.3 料液比对虫草素溶出量的影响 图 3 显示,料液比在 1:1~1:2 ($m:V$) 时,随着溶剂量增大,HFCM 和 MFCM 中虫草素的含量明显提高,大于 1:2 ($m:V$) 时,HFCM 中虫草素的含量呈减小趋势,而 MFCM 中虫草素含量变化不明显。这可能是酶的催化活性与处理液中的金属离子及 pH 值变化密切相关。料液比为 1:1~1:2 ($m:V$) 时,受压破损的细胞释放金属离子,并改变料液的 pH 值,改变了酶催化中心的微环境,增加了腺苷合成虫草素相关酶系、纤维素酶以及果胶酶的酶促反应,从而促进了虫草素的合成及溶出;但当溶剂的量进一步增加时,金属离子的浓度被稀释,pH 值进一步改变,影响酶蛋白分子的解离状态,不利于酶蛋白与底物的结合,使得相关酶的催化活性减弱,导致虫草素合成及细胞的破损程度降低^[17-18]。一般情况下,在提取过程中,提取溶剂与原料的比值越大,提取效率越高,但是当提取溶剂过大时,会降低提取液中有效成分的浓度,给后续浓缩、冻干过程带来困难。考虑到后处理的工作量以及经济性,后续试验选择液料比的范围为 1:1.5~1:2.5 ($m:V$)。

2.1.4 循环次数对虫草素溶出量的影响 图 4 显示,循环

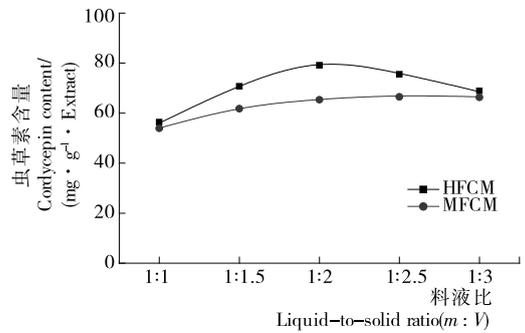


图 3 料液比对虫草素溶出量的影响

Figure 3 Effect of the liquid-to-solid ratio on cordycepin dissolved quantity

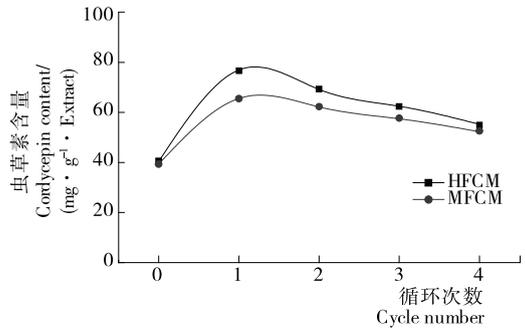


图 4 循环次数对虫草素溶出量的影响

Figure 4 Effect of cycle number on cordycepin dissolved quantity

1 次时,虫草素的溶出量显著增加($P < 0.05$),且 HFCM 中虫草素溶出量的增加明显高于 MFCM。但再次循环时,HFCM 和 MFCM 中虫草素的溶出量均呈下降趋势。这可能是循环 1 次时,蛹虫草内相关酶的酶促反应使得细胞壁的结构破损严重,腺苷合成虫草素增多,导致虫草素的溶出量迅速增加;但多次循环不仅导致酶的催化活性减弱或不可逆地丧失^[16],也可能引起虫草素的降解,导致虫草素的溶出量减少。此外,超高压提取溶剂的渗透、溶质的扩散,不仅是靠浓度梯度提供传质动力,而且还靠压力差提供传质动力,因此,超高压提取的循环次数较小。本研究后续试验选择循环 1 次,处理原料为蛹虫草鲜品。

2.2 响应面优化试验

2.2.1 响应面试验设计与结果 在单因素试验的基础上,选择压力、时间、料液比 3 个因素,根据 Box-Behnken 中心组合的试验原理设计试验。各因素及水平见表 1,试验设计及结果见表 2。

以虫草素溶出率为响应值,采用 Design-Expert 8.0 软件对表 2 中数据进行二次多元回归拟合。得到响应值对自变量的多元回归方程:

表 1 响应面设计因素水平表

Table 1 Levels and codes of variables chosen for design

编码	X_1 压力/MPa	X_2 时间/min	X_3 料液比($m:V$)
-1	300	20	1:1.5
0	400	30	1:2.0
1	500	40	1:2.5

表2 响应面试验设计及试验结果

Table 2 The experimental design and results of RSM

序号	X ₁	X ₂	X ₃	Y 虫草素溶出量/ (mg·g ⁻¹ ·提取物)
1	-1	-1	0	72.12
2	1	-1	0	73.28
3	-1	1	0	73.53
4	1	1	0	78.94
5	-1	0	-1	70.25
6	1	0	-1	72.35
7	-1	0	1	70.16
8	1	0	1	75.43
9	0	-1	-1	72.74
10	0	1	-1	74.62
11	0	-1	1	73.04
12	0	1	1	78.11
13	0	0	0	83.58
14	0	0	0	82.36
15	0	0	0	83.82
16	0	0	0	84.43
17	0	0	0	83.55

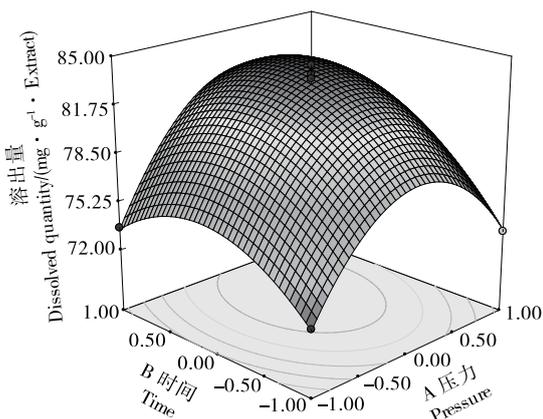
$$Y = 83.55 + 1.74X_1 + 1.75X_2 + 0.85X_3 + 1.06X_1X_2 - 0.79X_1X_3 + 0.80X_2X_3 - 5.83X_1^2 - 3.25X_2^2 - 5.67X_3^2$$

(2)

由表3可知, $F_{model} = 135.36, P < 0.0001$, 表明模型(2)极显著; 模型失拟 $P = 0.9587 > 0.05$, 说明模型(2)拟合程度良好, 能较好地描述各因素与响应值之间的真实关系; $R_{adj}^2 = 0.9869$, 表明模型(2)有98.69%响应值来源于所选变量; 变异系数 $C.V. \% = 0.77$, 表明该模型(2)稳定性高, 该模型可用于分析和预测蛹虫草汁中虫草素的超高压增溶效果。

模型(2)中一次项 X_1, X_2, X_3 极显著, 交互项 X_1X_2 极显著, 交互项 X_1X_3, X_2X_3 显著, 二次项 X_1^2, X_2^2, X_3^2 极显著。根据一次项系数, 各自变量对响应值影响的大小次序: X_2 (保压时间) $> X_1$ (压力) $> X_3$ (料液比)。

图5~7为自变量对响应值影响的响应曲面和等高线图,



(a) 响应面

图5 $Y = f(X_1, X_2)$ 的响应面和等高线

表3 试验结果方差分析表[†]

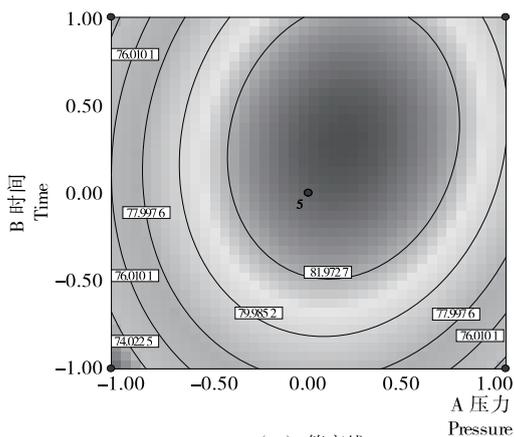
Table 3 Variance analysis for experimental results of cordycepin

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	Pr>F	显著性
模型	422.21	9	46.91	135.36	<0.0001	***
X ₁	24.29	1	24.29	70.09	<0.0001	***
X ₂	24.57	1	24.57	70.89	<0.0001	***
X ₃	5.75	1	5.75	16.58	0.0047	**
X ₁ X ₂	4.52	1	4.52	13.03	0.0086	**
X ₁ X ₃	2.51	1	2.52	7.25	0.0310	*
X ₂ X ₃	2.54	1	2.55	7.35	0.0302	*
X ₁ ²	143.12	1	143.12	412.96	<0.0001	***
X ₂ ²	44.48	1	44.48	128.34	<0.0001	***
X ₃ ²	135.36	1	135.34	390.60	<0.0001	***
残差	2.43	7	0.35			
失拟	0.16	3	0.054	0.095	0.9587	
误差	2.26	4	0.57			
总和	424.63	16				

[†] * 在 $P < 0.05$ 水平显著; ** 在 $P < 0.01$ 水平显著; *** 在 $P < 0.001$ 水平显著; $R^2 = 0.9943; R_{adj}^2 = 0.9869; C.V. \% = 0.77$ 。

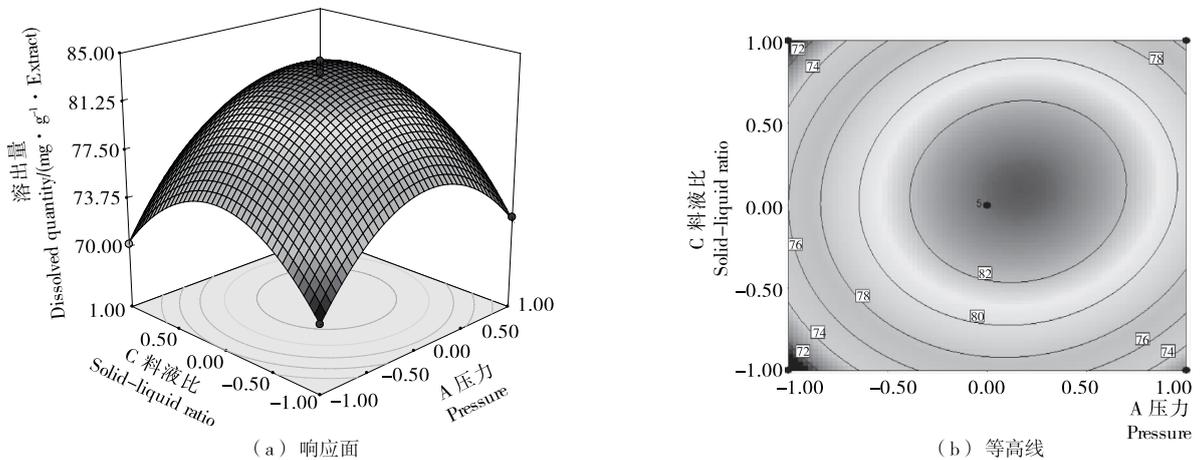
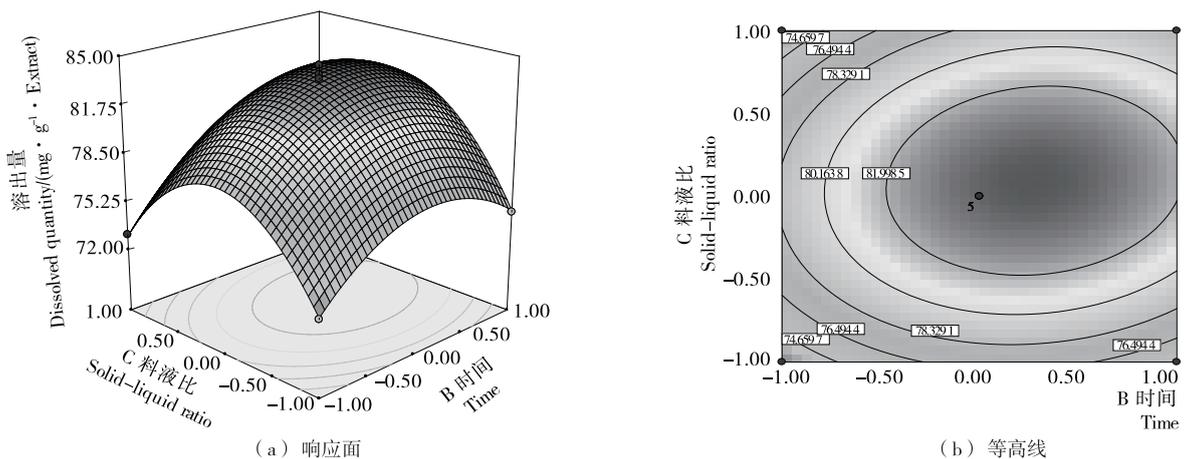
直观地反应了各因素的交互作用对虫草素溶出量的影响。等高线呈圆形表示因素之间交互作用不显著, 呈椭圆形表示因素之间交互作用显著, 且椭圆形越明显, 因素之间的交互作用越显著, 对虫草素溶出量的影响也越显著; 响应曲面的坡度是因素之间交互作用程度的反映, 坡度越陡, 因素间交互作用越显著, 对虫草素溶出量的影响也越显著^[19]。由图5~7可知, 压力与时间交互作用、压力与料液比交互作用、时间与料液比交互作用的高线均为椭圆形, 其响应面的坡度均很陡, 说明压力与时间交互作用、压力与料液比交互作用、时间与料液比交互作用对虫草素溶出量影响显著。

此外, 图6中等高线比图5和图7圆, 说明料液比与压力交互作用比时间与压力交互作用和时间与料液比交互作用弱, 这是因为超高压提取不仅是靠溶剂提供传质动力, 而且还靠在升压和卸压过程中, 细胞壁和细胞膜的破坏使有效物质充分暴露, 虫草素溶出更加迅速完全, 且在压力与料液比交互作用中, 压力对虫草素溶出的影响比溶剂对虫草素溶出量的影响大^[10]。



(b) 等高线

Figure 5 Response surface and contours of $Y = f(X_1, X_2)$

图 6 $Y=f(X_1, X_3)$ 的响应面和等高线Figure 6 Response surface and contours of $Y=f(X_1, X_3)$ 图 7 $Y=f(X_2, X_3)$ 的响应面和等高线Figure 7 Response surface and contours of $Y=f(X_2, X_3)$

2.2.2 验证实验结果 利用软件,取虫草素溶出量最大值,对模型进行优化,并考虑实际操作的方便,获得最佳工艺条件为:压力 418 MPa、时间 33 min、料液比 1:2($m:V$)、循环 1 次。在该工艺条件下,蛹虫草提取物中虫草素溶出量的理论值为 84.03 mg/g·提取物。为了验证该模型的可靠性,以最佳工艺条件对蛹虫草鲜榨汁中虫草素进行超高压提取,并以 NY/T 2116—2012 的提取方法作对照。结果显示:超高压提取虫草素实测值为(84.69±1.65) mg/g·提取物,相对标准偏差(RSD)为 0.61%,比 NY/T 2116—2012 法实测值(71.23 mg/g·提取物±2.03 mg/g·提取物)高 18.9%,表明该模型是有效的。由于虫草素的药理效应呈量效关系^[5],所以本研究的结论表明超高压处理能显著提高蛹虫草鲜药的药理效应。

3 结论

本试验在单因素的基础上,通过响应面优化了超高压提取蛹虫草汁中虫草素溶出量的最佳工艺为:压力 418 MPa、时间 33 min、料液比 1:2($m:V$)、加压 1 次。在此工艺条件下,虫草素的实际溶出量为(84.69±1.65) mg/g·提取物,相对标准偏差为 0.61%,与预测值吻合良好,模型有效。本

研究的不足之处在于未对超高压条件下虫草素的传质机理及其动力学进行深入研究,下一步需针对上述问题进行深入探讨。

参考文献

- [1] 陈斌,贾晓斌. 鲜药物质基础的研究进展与研究策略[J]. 中草药, 2012, 43(3): 592-597.
- [2] Wang Mi, Meng Xin-yu, Yang Rui-lei, et al. *Cordyceps militaris* polysaccharides can enhance the immunity and antioxidation activity in immunosuppressed mice[J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 89(2): 461-466.
- [3] Yu Hui-mei, Wang Bor-sen, Huang Shioh-Chyn, et al. Comparison of protective effects between cultured *Cordyceps militaris* and natural *Cordyceps sinensis* against oxidative damage[J]. Journal of Agriculture Food Chemistry, 2006, 54(8): 3 132-3 138.
- [4] Won Soyoun, Park Eunhee. Anti-inflammatory and related pharmacological activities of cultured mycelia and fruiting bodies of *Cordyceps militaris* [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2005, 96(2): 555-561.

(下转第 200 页)

最大, b^* 值最小, 黄色素含量最低, 由小麦粉中的 2.80 mg/kg 降为 1.05 mg/kg, 总黄色素降解了 62.5%, 增白效果最好。控制和面过程的条件: 加水量、加水温度、和面时间, 得出采用加水量 50%, 加水温度 30 °C, 和面时间 17 min, 可使高酶活豆粉对馒头的增白效果达到最好。

参考文献

- [1] Panfili G, Fratianni A, Irano M. Improved normal-phase high-performance liquid chromatography procedure for the determination of carotenoids in cereals[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(21): 6 373-6 377.
- [2] 张芳芳. 酶制剂对发酵面团和馒头色度的影响研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2013: 5-6.
- [3] 丁玲. 面粉生物增白剂的研究与应用[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2010.
- [4] Junqueira R M, Cocato M L, Colli C, et al. Synergism between lipoxygenase-active soybean flour and ascorbic acid on rheological and sensory properties of wheat bread[J]. Journal of the Science of Food & Agriculture, 2007, 88(2): 194-198.
- [5] 朱乐平. 结合亚临界萃取技术制备功能性大豆蛋白的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2015.
- [6] 钟芳, 王璋, 许时婴. 3种脂肪氧合酶酶活测定方法[J]. 食品与生物技术, 2001, 20(1): 77-80.
- [7] 查如璧, 国淑惠, 赵中民, 等. 我国硬粒小麦品质性状及质量分级标准研究[J]. 中国农业科学, 1995(2): 8-14.
- [8] 洪乔获, 邹同华, 郭雪, 等. 不同冷却方法对馒头贮藏过程品质的影响[J]. 食品与机械, 2014, 30(1): 176-178.
- [9] Junqueira R M, Cocato M L, Colli C, et al. Synergism between lipoxygenase-active soybean flour and ascorbic acid on rheological and sensory properties of wheat bread[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2007, 88(2): 194-198.
- [10] 张国营, 高地方, 宋晓亚. 影响馒头白度的因素[J]. 粮食加工, 2004(4): 61-62.
- [11] 邓瑾, 李志建, 李海峰, 等. 脱脂大豆蛋白粉对馒头白度的影响研究[J]. 食品科技, 2015, 40(3): 182-184.
- [12] Gardner H W. Recent investigations into the lipoxygenase pathway of plants[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 1991, 1 084(3): 221-239.
- [13] 蔡琨, 方云, 夏咏梅, 等. 大豆脂肪氧合酶的提取及影响酶活因素的研究[J]. 林产化学与工业, 2004, 24(2): 52-56.
- [14] 裴艳花. 馒头白度的研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2013: 17-18.
- [5] Zhou Xiao-xia, Luo Li-ping, Dressel Waike, et al. Cordycepin is an immunoregulatory active ingredient of *Cordyceps sinensis*[J]. The American Journal of Chinese Medicine, 2008, 36(5): 967-980.
- [6] Lee Hongjue, Burger Petra, Vogel Marianne, et al. The nucleoside antagonist cordycepin causes DNA double strand breaks in breast cancer cells[J]. Investigational New Drugs, 2012, 30(1): 1 917-1 925.
- [7] Zhu Shang-jie, Pan Jian, Liang Juan, et al. Comparisons on enhancing the immunity of fresh and dry *Cordyceps militaris* in vivo and in vitro [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2013, 149(2): 713-719.
- [8] 苗明三, 马霄. 中药鲜药加工方法探讨[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(5): 1 208-1 209.
- [9] 陆怡, 颜慧庚, 沈士明. 超高压生物处理技术及装备研究进展[J]. 食品与机械, 2007, 23(5): 109-111.
- [10] 陈瑞战, 张守勤, 刘志强. 超高压技术在中药有效成分提取中的应用[J]. 中草药, 2007, 38(12): 1 905-1 908.
- [11] 陈瑞战. 超高压提取人参皂苷工艺及机理研究[D]. 长春: 吉林大学, 2005: 5-9.
- [12] 凌枝庆, 李晓, 魏兆军, 等. 桑叶多糖超高压提取工艺研究[J]. 食品与机械, 2008, 24(2): 50-52.
- [13] 宋丽军, 侯旭杰, 李雅雯, 等. 核桃青皮中多酚的超高压提取工艺优化[J]. 食品与机械, 2015, 31(4): 178-182.
- [14] 陈尚卫, 虞锐鹏, 朱松, 等. 高效液相色谱法同时测定蛹虫草中四种核苷类活性成分[J]. 食品与机械, 2006, 22(6): 107-109.
- [15] 曾庆梅, 潘见, 谢慧明, 等. 超高压处理对辣根过氧化物酶二级结构及其活性的影响[J]. 食品科学, 2005, 26(5): 29-33.
- [16] 陈井旺, 木泰华. 超高压技术对食品中酶的作用研究进展[J]. 食品研究与开发, 2010, 31(1): 178-182.
- [17] 张洪鑫, 陈小泉, 蒋玲玲. 金属离子对纤维素酶内切酶和外切酶活性的影响[J]. 纤维素科学与技术, 2011, 9(4): 6-13.
- [18] 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.
- [19] 张泽志, 韩春亮, 李成未. 响应面法在试验设计与优化中的应用[J]. 河南教育学院学报: 自然科学版, 2011, 20(4): 34-37.

(上接第 191 页)

信息窗

德国研究发现关闭一种基因或有助延年益寿

据新华社电 德国莱布尼茨老龄研究所研究人员在英国《自然·细胞生物学》杂志上报告说, 在关闭老年实验鼠的 Per2 基因后, 实验鼠的造血干细胞可以更长久地维持其功能, 血液中免疫细胞的数量得以保持稳定。这样, 老年实验鼠的免疫力依然较强, 更不易受到感染而患病, 其平均寿命可延长 15%。

通常, 伴随动物年龄增长, 造血干细胞的功能会逐渐

下降, 血液中免疫细胞的数量也会下降, 免疫力随之降低。

研究人员表示, 这一发现是否同样适用于人类还有待进一步研究。研究人员还发现, 有的人 Per2 基因会发生突变, 这种突变会导致睡眠障碍。有这种基因突变的人晚上很早就发困, 无法熬夜。研究人员下一步将研究这种突变是否有积极的一面, 如提高老年人的免疫力。

(来源: www.foodmate.net)