

## 高温和强光对蛹虫草子实体成分和酪氨酸酶抑制活性的影响

陈安徽, 邵颖\*, 陈尚龙, 郑义, 陈宏伟, 巫永华

(徐州工程学院, 江苏省食品资源开发与质量安全重点实验室, 徐州 221008)

**摘要:**以蛹虫草子实体为研究对象, 研究高温和强光对蛹虫草培养后期子实体中多糖、核苷含量和酪氨酸酶抑制活性的影响。结果表明, 在蛹虫草子实体培养后期, 提高温度和增加光照强度, 可显著提高蛹虫草子实体多糖、尿嘧啶、尿苷、腺嘌呤、腺苷和虫草素等核苷类物质的含量 ( $P < 0.05$ ), 尤其是多糖、腺苷和虫草素的含量较常规培养子实体分别提高 0.77、1.76 倍和 3.58 倍。另外发现经过高温和强光胁迫蛹虫草子实体抑制酪氨酸酶活性也有所增强, 并且从子实体甲醇提取物中分离到酪氨酸酶抑制活性纯品物质, 结果显示该物质对单酚酶活性的  $IC_{50}$  为  $27.8386 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 二酚酶活性的  $IC_{50}$  为  $38.1432 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

**关键词:** 蛹虫草; 高温; 强光; 成分; 酪氨酸酶; 抑制活性

中图分类号: Q939.9

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2016)06-1004-06

### Effects of high temperature and strong light on ingredients and tyrosinase inhibitory activity of *Cordyceps militaris*

CHEN Anhui, SHAO Ying, CHEN Shanglong, ZHENG Yi, CHEN Hongwei, WU Yonghua

(Xuzhou Institute of Technology, Jiangsu Key Construction Laboratory of Food Resource Development and Quality Safe, Xuzhou 221008)

**Abstract:** The effects of high temperature and strong light on the contents of polysaccharides and nucleoside and tyrosinase inhibitory activity of *Cordyceps militaris* in the later period of cultivation were studied. The experiment results showed that the contents of polysaccharides, uracil, uridine, adenine, adenosine and cordycepin were significantly increased with an increase of temperature and light intensity ( $P < 0.05$ ). Compared with the control group, the contents of polysaccharides, adenosine and cordycepin were increased by 0.77, 1.76 and 3.58 times, respectively. In addition, tyrosinase inhibitory activity of *Cordyceps militaris* was also increased under the stress of high temperature and strong light. A pure compound with inhibitory activity was isolated from *Cordyceps militaris* and its  $IC_{50}$  against monophenolase and diphenolase of tyrosinase was  $27.8386$  and  $38.1432 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , respectively.

**Key words:** *Cordyceps militaris*; high temperature; hard light; ingredients; tyrosinase; inhibitory activity

蛹虫草为真菌寄生于昆虫的蛹形成的虫菌复合体, 为我国传统的药用真菌。经现代研究表明蛹虫草富含虫草多糖、腺苷、虫草素、甾醇等多种活性成分, 具有提高免疫、抗疲劳、延缓衰老、镇静、抗肿瘤等多种药理活性<sup>[1-9]</sup>。近年来, 蛹虫草作为冬虫夏草的替代品, 越来越受到人们的重视, 其应用范围也越来越广泛。中华人民共和国卫生部 2009 年第 3 号公告, 批准蛹虫草为新资源食品; 随着研究的深入和对蛹虫草人工栽培子实体的需求量越

越大, 中华人民共和国卫生部 2014 年第 10 号公告变更原卫生部 2009 年第 3 号公告批准蛹虫草作为新资源食品, 增加了蛹虫草子实体的食用量、质量指标要求和应用范围。

近年来国内外学者围绕如何提高蛹虫草子实体产量和活性物质展开了研究工作, 尤其是光强度和温度对蛹虫草子实体及活性成分的影响成为研究热点。如李居宁等研究了温度对蛹虫草菌丝体和子实体生长的影响<sup>[10]</sup>; 纪晓朋等研究了光照度对蛹虫草

收稿日期: 2016-06-28

基金项目: 江苏省科技计划项目(BN2015012, BN2016003), 江苏省高校自然科学研究重大专项(15KJA180008)和江苏省前瞻性联合研究项目(BY2015024-04)共同资助。

作者简介: 陈安徽, 博士, 副教授。E-mail: chenah201@163.com

\* 通信作者: 邵颖, 博士, 副教授。E-mail: shyzhbo2005@126.com

生长发育的影响<sup>[1]</sup>。为此, 本试验通过考察蛹虫草子实体中多糖、核苷、微量元素含量及酪氨酸酶抑制活性等指标的变化, 研究高温和强光对蛹虫草子实体成分和酪氨酸酶抑制活性研究, 期望为蛹虫草资源的进一步开发利用提供研究基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

蛹虫草菌株保存于徐州工程学院江苏省高校食品资源开发与质量安全重点实验室。

甲醇(色谱纯), 美国 Tedia 公司; 核苷标样, 美国 Sigma 公司; 酪氨酸酶, 美国 Worthington 公司; 左旋多巴(L-dopa), 美国 MedChem Express, 其余试剂均为均为国产分析纯。

### 1.2 仪器与设备

分析型高效液相色谱仪 LC3100, 安徽皖仪科技股份有限公司; 半制备型 HPLC, LC-20A, 日本岛津公司; ContrAA 700 高分辨-连续光源原子吸收光谱仪 (HR-CS AAS), 德国 Analytik Jena 公司; HPLC-DAD-TOF/MS 6210, 美国 Agilent 公司。

### 1.3 方法

**1.3.1 蛹虫草栽培方法** 固体培养基: 固体原料采用蚕蛹粉、糙米(质量比 1:6)混合物, 固体原料和营养液质量比为 1:1.5。

营养液配方: 蔗糖 10 g·L<sup>-1</sup>, 蛋白胨 10 g·L<sup>-1</sup>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1 g·L<sup>-1</sup>, MgSO<sub>4</sub> 1.5 g·L<sup>-1</sup>, 维生素 B<sub>1</sub> 0.05 g·L<sup>-1</sup>, H6.5~7。

将固体原料加上营养液后, 灭菌后冷却至室温, 接入液体种子, 接种量为每 30 g 固体原料接入 5 mL 液体种子, 正常对照组设置为 18℃暗培养 7 d 后,

移入 21℃培养室, 100 lx 条件下培养, 培养至第 60 d 时采收子实体, 60℃热风干燥后标记为样品 1; 实验组自接种后培养至第 50 天期间培养条件同对照组, 自第 50 天后开始对实验组进行高温强光胁迫, 温度设置为 25℃, 光照强度设为 1000 lx, 继续培养 10 d 后采收子实体, 60℃热风干燥后标记为样品 2。

**1.3.2 虫草多糖的分析** 将干燥的蛹虫草子实体, 参照纪晓朋的方法<sup>[11]</sup>进行处理, 以无水葡萄糖为标准品, 采用分光光度法进行蛹虫草子实体中多糖含量的分析。

**1.3.3 核苷类成分的分析** 蛹虫草子实体样品采用 60%乙醇经超声浸提后过滤收集滤液, 进行 HPLC 分析。

**1.3.4 酪氨酸酶抑制活性** 参考文献[12-13]的实验方法并修正实验方案。将经过高温和强光处理的蛹虫草子实体样品各 5 g(粉度过 40 目筛)加入 100 mL 甲醇震荡浸提 48 h 后, 过滤收集滤液, 滤液 40℃旋转蒸发仪浓缩脱除甲醇后, 分别得到 0.37 g 提取物样品 1(高温处理蛹虫草子实体提取物)和提取物 0.38 g 样品 2(强光处理蛹虫草子实体提取物)。将各提取物加水溶解, 稀释成 0.5 mg·mL<sup>-1</sup>的提取物样品液, 进行酪氨酸酶抑制活性实验。

以 0.5 mmol·L<sup>-1</sup> L-酪氨酸为底物进行酪氨酸酶的单酚酶活力测定, 而二酚酶活力的测定则以 0.5 mmol·L<sup>-1</sup> L-多巴(L-DOPA)为底物。测定时分别按照表 1 和表 2 的反应体系进行单酚酶和二酚酶的活力测定, 酶的最终浓度分别为 25.0 和 5.0 μg·mL<sup>-1</sup>。酪氨酸溶液、酶溶液、多巴溶液及样品溶液均以 pH 6.8 的磷酸缓冲液(50 mmol·L<sup>-1</sup>)配制。

表 1 单酚酶检测反应液组成

Table 1 The reaction solution system of monophenolase

项目 Item	第 1 组 The 1 <sup>st</sup> group	第 2 组 The 2 <sup>nd</sup> group	第 3 组 The 3 <sup>rd</sup> group	第 4 组 The 4 <sup>th</sup> group
底物/mL Substrate	1	0	1	0
样品/mL Sample	0	0	0.5	0.5
PBS(pH=6.8)/mL	0.5	1.5	0	1
酪氨酸酶溶液/mL Tyrosinase solution	0.5	0.5	0.5	0.5
合计/mL Total	2.0	2.0	2.0	2.0

按表 1 和表 2 准确吸取各组反应液, 充分震荡混匀后温水(37℃)孵育 30 min, 迅速转移至反应体系容量为 2 mL 的比色皿中, 采用分光光度计于 475 nm 处测吸光度 A, 按下列公式计算抑制率。  
抑制率=[1-(A<sub>3</sub>-A<sub>4</sub>)/(A<sub>1</sub>-A<sub>2</sub>)]×100%

式中 A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub>、A<sub>3</sub>、A<sub>4</sub> 分别表示相对应第 1 组、第 2 组、第 3 组和第 4 组反应液的吸光度。

**1.3.5 酪氨酸酶抑制活性组分分离纯化** (1) 色谱条件。流动相: 0~3 min 纯水洗脱; 3~20 min 甲醇上升到 75%; 20~25 min 甲醇上升到 100%; 25~

30 min, 100%甲醇洗脱; 30~40 min 甲醇下降到0。用作流动相的水和甲醇相均含有 5%的甲酸铵; 制备时采用 Venusil XBP C18 半制备柱 (10×250 mm,

5 μm); 分析时为 C18 分析型色谱柱 (3.9×150 mm, 5 μm); 分析时流速为 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 制备时流速 5 mL·min<sup>-1</sup>; UV 检测波长为 220 nm。

表 2 二酚酶检测反应液组成  
Table 2 The reaction solution system of diphenolase

项目 Item	第 1 组 The 1 <sup>st</sup> group	第 2 组 The 2 <sup>nd</sup> group	第 3 组 The 3 <sup>rd</sup> group	第 4 组 The 4 <sup>th</sup> group
底物/mL Substrate	1.4	0	1.4	0
样品/mL Sample	0	0	0.5	0.5
PBS(pH=6.8)/mL	0.5	1.9	0	1.4
酪氨酸酶溶液/mL Tyrosinase solution	0.1	0.1	0.1	0.1
合计/mL Total	2.0	2.0	2.0	2.0

(2) 质谱条件。电喷雾电离质谱(electrospray ionisation, ESI)离子源; 雾化气压采用 35 PSI; 氮气流速为 12 L·min<sup>-1</sup>; 雾化温度为 325℃; 阳离子模式时采用 4000 V 离子化电压, 碎片电压为 250 V, 阴离子模式时离子化电压采用 3500 V, 碎片电压为 175 V。

## 2 结果与分析

### 2.1 虫草多糖的分析

将干燥的蛹虫草子实体进行处理后, 以无水葡萄糖为标准品, 采用分光光度法进行蛹虫草子实体中多糖含量的分析 (图 1)。

将样品的吸光度代入标准曲线方程 (表 1) 计算多糖的含量, 实验结果发现正常对照组蛹虫草每 100 g 子实体中多糖的百分含量为 (2.36±0.08) g, 高温和强光胁迫组蛹虫草每 100 g 子实体中多糖含量为 (4.17±0.11) g, 经统计分析差异显著 ( $P < 0.05$ )。实验结果表明蛹虫草子实体栽培后期提高温度和增加光照强度可显著提高蛹虫草子实体中多糖

含量, 提高了 0.77 倍。

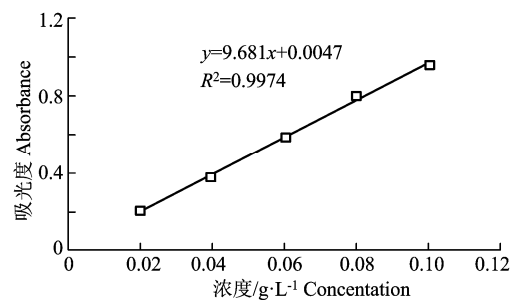


图 1 葡萄糖标准曲线

Figure 1 The standard curve of glucose

### 2.2 核苷类成分的分析

蛹虫草子实体样品采用 60%乙醇经超声浸提后过滤收集滤液, 参照文献的方法进行 HPLC 分析。以标准品浓度对洗脱峰面积进行回归计算, 等回归方程结果如表 3、样品检测结果如表 4 所示。

根据出峰时间和样品中加标样确定峰位, 依据峰面积进行计算, 样品中核苷类物质含量如表 4 所示。

表 3 核苷标准品回归方程  
Table 3 The equation regression of nucleoside standard substance

洗脱峰顺序 No. of eluting peak	核苷 Nucleoside	保留时间/min Retention time	回归方程 Regression equation
1	胞嘧啶 Cytosine	3.6333	$y = 13.145x - 28.09$
2	尿嘧啶 Uracil	4.9333	$y = 20.057x - 111.38$
3	尿苷 Uridine	7.2500	$y = 10.397x - 58.339$
4	胸腺嘧啶 Thymine	9.5000	$y = 16.049x - 104.36$
5	腺嘌呤 Adenine	12.9500	$y = 27.335x - 157.91$
6	肌苷 Inosine	14.7500	$y = 6.463x - 43.259$
7	鸟苷 Guanosine	16.2000	$y = 9.3908x - 52.795$
8	胸腺嘧啶核苷 Thymidine	20.7667	$y = 10.505x - 59.249$
9	腺苷 Adenosine	27.1667	$y = 13.711x - 72.794$
10	虫草素 Cordycepin	30.9000	$y = 24.601x - 43.868$

由表 4 的实验结果可以看出, 经过高温和强光的刺激蛹虫草子实体中胞嘧啶、胸腺嘧啶、鸟苷和胸腺嘧啶核苷的含量无显著性变化 ( $P>0.05$ ), 蛹虫草子实体发育后期经过高温和强光的刺激导致肌苷的含量显著下降 ( $P<0.05$ ), 另外发现经过光和热胁迫作用后蛹虫草子实体中尿嘧啶、尿苷、腺嘌呤、腺苷和虫草素的含量有显著性提高 ( $P<0.05$ ), 尤其是腺苷和虫草素的含量较常规培养子实体分别提高 1.76 倍和 3.58 倍。以上实验结果表明, 一定的高温 and 强光处理, 可提高蛹虫草子实体中总核苷类物质的含量。

腺嘌呤、腺苷和虫草素的含量有显著性提高 ( $P<0.05$ ), 尤其是腺苷和虫草素的含量较常规培养子实体分别提高 1.76 倍和 3.58 倍。以上实验结果表明, 一定的高温 and 强光处理, 可提高蛹虫草子实体中总核苷类物质的含量。

表 4 样品中核苷物质含量  
Table 4 The content of nucleoside in tested samples

核苷 Nucleoside	样品 1 Sample 1	样品 2 Sample 2
胞嘧啶 Cytosine	16.8833±1.1856	17.9233±1.0455
尿嘧啶 Uracil	27.4067±0.7961 <sup>b</sup>	38.8100±1.4315 <sup>a</sup>
尿苷 Uridine	9.9967±0.4007 <sup>b</sup>	14.2433±0.2483 <sup>a</sup>
胸腺嘧啶 Thymine	1.7104±0.0337	1.7689±0.0590
腺嘌呤 Adenine	22.9167±0.2499 <sup>b</sup>	31.0633±0.5001 <sup>a</sup>
肌苷 Inosine	1.07±0.0455 <sup>a</sup>	0.6±0.0356 <sup>b</sup>
鸟苷 Guanosine	10.59±0.1818	10.3333±0.2748
胸腺嘧啶核苷 Thymidine	9.3867±0.3450	9.6333±0.2073
腺苷 Adenosine	10.5267±0.0287 <sup>b</sup>	29.06±0.6359 <sup>a</sup>
虫草素 Cordycepin	22.9133±0.1974 <sup>b</sup>	105.5033±0.995 <sup>a</sup>

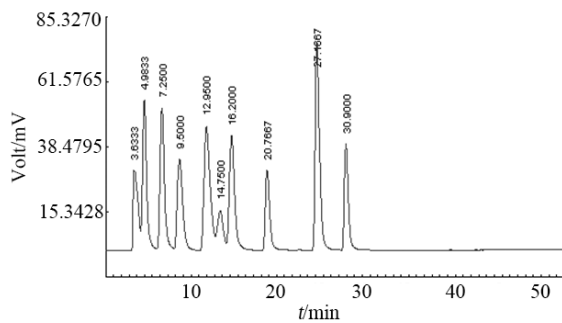


图 2 核苷标准品 HPLC 色谱图

Figure 2 The HPLC chromatogram of nucleoside standard

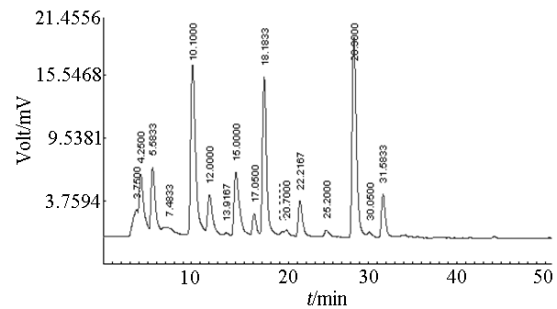


图 4 样品 2 的 HPLC 色谱图

Figure 4 The HPLC chromatogram of sample 2

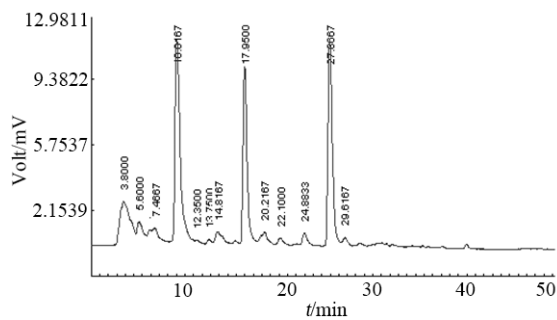


图 3 样品 1 的 HPLC 色谱图

Figure 3 The HPLC chromatogram of sample 1

表 5 不同样品的酪氨酸酶抑制率

项目 Item	样品 1	样品 2
单酚酶抑制率/% Inhibition of monophenol	44.52±1.45 <sup>b</sup>	61.69±1.56 <sup>a</sup>
二酚酶抑制率/% Inhibition of diphenolase	39.12±1.12 <sup>b</sup>	54.68±1.53 <sup>a</sup>

由表 5 实验结果可以看出样品 2 的单酚酶和二酚酶抑制率均显著高于样品 1 ( $P<0.05$ ), 这说明蛹虫草子实体在培养第 50 天后, 采用高温和强光刺激能够显著提高蛹虫草子实体酪氨酸酶抑制活性物质的积累。

### 2.3 酪氨酸酶抑制活性

将经过高温和强光处理的蛹虫草子实体样品酪氨酸酶抑制活性实验结果如表 5 所示。

### 2.4 酪氨酸酶抑制活性组分的分离纯化

甲醇提取物样品 2 进行高分辨 HPLC-MS 分析, 分析的 HPLC-MS 图谱如图 5 所示。

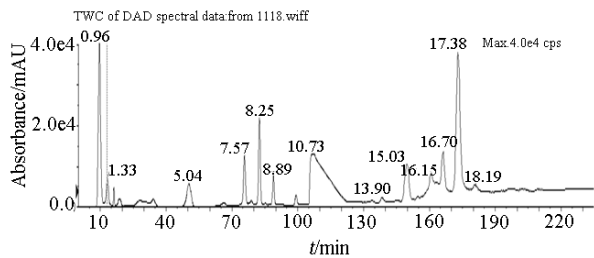


图 5 样品 2 的 HPLC-MS 图谱

Figure 5 The HPLC-MS chromatogram and spectral date of sample 2

将 10 mg·mL<sup>-1</sup>的蛹虫草子实体甲醇提取物进行进一步分离纯化。根据光谱数据图上时间进行收集样品, 收集同一时间处洗脱液浓缩蒸干, 然后用纯水进行溶解, 充分溶解后进行酪氨酸酶抑制率的测定, 找出活性组份。

表 6 甲醇提取物的 HPLC 流分对酶的抑制率

Table 6 Inhibition rate of the HPLC eluates of methanol extracts against tyrosinase

样品保留时间/min Retention time of samples	单酚酶抑制率/% Inhibition of monophenol	二酚酶抑制率/% Inhibition of diphenolase
1.33	-	-
5.04	-	-
7.57	-	-
8.25	19.22	18.11
8.89	-	-
10.73	-	-
13.90	-	-
15.03	26.73	17.98
16.15	-	-
16.70	-	-
17.38	68.77	55.44
18.19	-	-

表 7 不同浓度样品的酪氨酸酶抑制率

Table 7 Inhibition rates of different sample concentration against tyrosinase

样品浓度/μg·mL <sup>-1</sup> Sample concentration	单酚酶抑制率/% Inhibition of monophenol	二酚酶抑制率/% Inhibition of diphenolase
5	11.12	7.43
10	19.87	12.17
25	35.33	29.35
50	64.88	56.55
100	89.44	83.19

从表 6 可以看出, 其中保留时间为 17.38 min 的洗脱峰为蛹虫草子实体中酪氨酸酶活性抑制主成

分, 故对蛹虫草甲醇提取物多次进行 HPLC 制备, 合并收集保留时间 17.38 min 处洗脱峰的洗脱液, 标记为样品 2-1。甲醇提取物 0.2 g 共制备获得 3.8 mg 的样品 2-1。进一步对样品 2-1 进行 IC<sub>50</sub> 验证和质谱分析。

2.5 酪氨酸酶活性 IC<sub>50</sub> 计算

将经 HPLC 制备得到的样品 2-1, 配成不同浓度进行酪氨酸酶抑制活性实验, 结果如表 7 所示。

由表中的实验结果可以看出, 样品 2-1 对酪氨酸单酚酶和二酚酶的抑制率均随着样品浓度的增加而增加。经统计分析结果显示单酚酶活性的 IC<sub>50</sub> 为 27.8386 μg·mL<sup>-1</sup>, 二酚酶活性的 IC<sub>50</sub> 为 38.1432 μg·mL<sup>-1</sup>。

2.6 酪氨酸酶活性抑制组分的质谱分析

经过 HPLC 制备的样品 2-1 按照 1.3.5 所述的方法采用液质联用仪进行质谱分析。

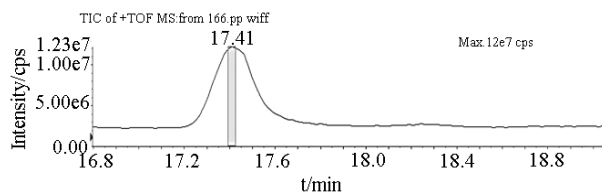


图 6 酪氨酸酶抑制活性成分的 HPLC-MS 图谱

Figure 6 The HPLC-MS chromatogram of inhibitory compound on tyrosinase

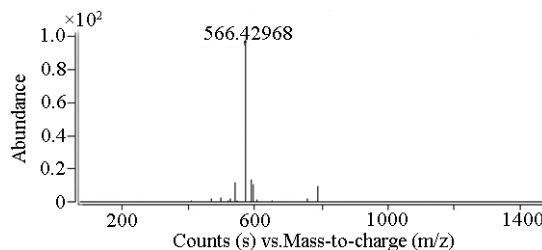


图 7 样品 2-1 阳离子质谱图谱

Figure 7 MS Chromatogram and spectra of compound 2-1 positive model

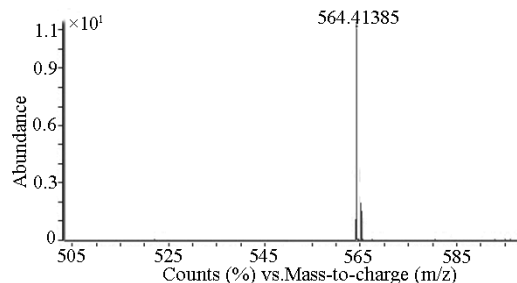


图 8 样品 2-1 阴离子质谱图谱

Figure 8 MS Chromatogram and spectra of compound 2-1 negative model

阳离子质谱显示, 其阳离子的质荷比 ( $m/z$ ) 为 566.42968, 计算结果显示, 其对应的离子式为  $C_{30}H_{56}N_5O_5^+$ , 根据 ESI 离子源的离子化特征可知它应该为  $[M+H]^+$  峰, 因此其对应的分子式为  $C_{30}H_{55}N_5O_5$ 。

阴离子质谱图显示, 其阴离子质荷比为 564.41385, 其对应的离子式应为  $C_{30}H_{54}N_5O_5^-$ , 根据离子化特征可知它应该为  $[M-H]^-$  峰, 因此其对应的分子式为  $C_{30}H_{55}N_5O_5$ 。

从阴阳离子图谱的结果可确认分子式应为  $C_{30}H_{55}N_5O_5$ 。查询天然产物数据库可判断该分子对应的可能化合物为槲寄生酰胺 (viscumamide)。

### 3 讨论

近年来研究结果表明光照和温度对蛹虫草子实体的生长及活性积累会产生显著的影响<sup>[14-18]</sup>。本研究结果发现蛹虫草栽培后期提高培养温度和光照强度能显著提高子实体中多糖的含量 ( $P < 0.05$ ), 也能显著提高子实体中尿嘧啶、尿苷、腺嘌呤、腺苷和虫草素的含量 ( $P < 0.05$ ), 尤其是虫草素的含量较常规培养子实体提高了 3.58 倍。本试验结果也表明, 一定的高温 and 强光处理, 可提高蛹虫草子实体中多糖、总核苷类物质的积累。

食物保鲜及皮肤美白与人体或食物中黑色素的积累有关, 黑色素的过多表达与积累会引起人的皮肤变黑、出现色斑, 在食物中也会引起褐变。酪氨酸酶将底物酪氨酸催化转化为多巴色素, 进一步转化即可形成黑色素, 由于酪氨酸酶是黑色素形成的关键酶类, 因而降低酪氨酸酶的活性直接关系到黑色素的形成。许多学者围绕植物中酪氨酸酶抑制成分展开了系列研究<sup>[19-20]</sup>。抑制酪氨酸酶的活性成为防止食品褐变、美白皮肤或治疗色素类相关疾病的一种流行思路。寻找低毒、高效、稳定的酪氨酸酶抑制剂已经成为国内外学者研究的热点之一。本试验初步探索了该类化合物的组成, 为寻找出更加高效的酪氨酸酶抑制剂奠定了一定的研究基础。

### 参考文献:

- [1] YANG Q, YIN Y, YU G, et al. A novel protein with anti-metastasis activity on 4T1 carcinoma from medicinal fungus *Cordyceps militaris*[J]. Int J Biol Macromol, 2015, 80: 385-391.
- [2] UEDA Y, MORI K, SATOH S, et al. Anti-HCV activity of the Chinese medicinal fungus *Cordyceps militaris*[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2014, 447(2): 341-345.
- [3] WANG L, XU N, ZHANG J, et al. Antihyperlipidemic and hepatoprotective activities of residue polysaccharide from *Cordyceps militaris* SU-12[J]. Carbohydr Polym, 2015, 131: 355-362.
- [4] WU D T, XIE J, WANG L Y, et al. Characterization of bioactive polysaccharides from *Cordyceps militaris* produced in China using saccharide mapping[J]. J Funct Foods, 2014, 9: 315-323.
- [5] MA L, ZHANG S, DU M. Cordycepin from *Cordyceps militaris* prevents hyperglycemia in alloxan-induced diabetic mice[J]. Nutr Res, 2015, 35(5): 431-439.
- [6] XIAO Y, XING G, RUI X, et al. Effect of solid-state fermentation with *Cordyceps militaris* SN-18 on physicochemical and functional properties of chickpea (*Cicer arietinum* L.) flour[J]. LWT- Food Sci Technol, 2015, 63(2): 1317-1324.
- [7] SUN Y, SHAO Y, ZHANG Z, et al. Regulation of human cytokines by *Cordyceps militaris*[J]. J Food Drug Anal, 2014, 22(4): 463-467.
- [8] CHEN R, JIN C, LI H, et al. Ultrahigh pressure extraction of polysaccharides from *Cordyceps militaris* and evaluation of antioxidant activity[J]. Sep Purif Technol, 2014, 134: 90-99.
- [9] XIAO Y, RUI X, XING G, et al. Solid state fermentation with *Cordyceps militaris* SN-18 enhanced antioxidant capacity and DNA damage protective effect of oats (*Avena sativa* L.)[J]. J Funct Foods, 2015, 16: 58-73.
- [10] 李居宁, 方华舟. 温度对蛹虫草菌丝及子实体生长的影响[J]. 湖北农业科学, 2016, 55(2): 385-389.
- [11] 纪晓朋, 杜双田, 房海珍, 等. 光照度对蛹虫草生长发育的影响[J]. 西北农业学报, 2014, 23(11): 173-179.
- [12] WU D T, XIE J, WANG L Y, et al. Characterization of bioactive polysaccharides from *Cordyceps militaris* produced in China using saccharide mapping[J]. J Funct Foods, 2014, 9: 315-323.
- [13] 赵清, 霍利琴, 贾天柱. 不同炮制方法对僵蚕体外抗氧化活性及其对酪氨酸酶抑制能力的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(3): 17-23.
- [14] YI Z L, HUANG W F, REN Y, et al. LED lights increase bioactive substances at low energy costs in culturing fruiting bodies of *Cordyceps militaris*[J]. Sci Hortic, 2014, 175: 139-143.
- [15] 简利茹, 纪晓鹏, 杜双田. 光条件对人工培养蛹虫草子座产量及虫草素和腺苷的影响[J]. 西北农业学报, 2015, 24(4): 163-167.
- [16] CHOU S M, LAI W J, HONG T W, et al. Synergistic property of cordycepin in cultivated *Cordyceps militaris*-mediated apoptosis in human leukemia cells[J]. Phytomedicine, 2014, 21(12): 1516-1524.
- [17] RUKACHAISIRIKUL V, PRAMJIT S, PAKAWATCHAI C, et al. 10-Membered macrolides from the insect pathogenic fungus *Cordyceps militaris* BCC 2816[J]. J Nat Prod, 2004, 67(11): 1953-1955.
- [18] 廉添添, 董彩虹, 杨涛, 等. 蓝光光照对蛹虫草子实体生长和主要活性成分的影响[J]. 菌物学报, 2014, 33(4): 838-846.
- [19] 王芳. 桑叶中酪氨酸酶抑制成分的研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2008.
- [20] 穆燕. 千日红酪氨酸酶抑制剂的分离纯化及其抑制机理研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2012.