

蛹虫草液体发酵产物冻干粉的抗氧化活性及保肝作用

侯金鑫, 张金秀, 赵晓静, 段硕楠, 刘红霞, 管振龙, 王立安*

河北师范大学 生命科学学院, 河北 石家庄 050024

摘要: 目的 研究蛹虫草液体发酵产物冻干粉的抗氧化活性及保肝作用。方法 采用真空冷冻干燥的方法将蛹虫草液体发酵产物制成干粉并对冻干粉主要成分进行分析测定, 通过 DPPH 自由基清除实验和衰老小鼠模型验证蛹虫草发酵产物冻干粉的抗氧化活性, 通过小鼠急性肝损伤实验研究冻干粉的保肝作用, 采用急性毒性试验验证冻干粉的安全性。结果 蛹虫草发酵产物冻干粉富含丰富的粗纤维、粗多糖、粗三萜及黄酮类物质。蛹虫草发酵产物冻干粉对 DPPH 自由基的半数有效浓度 (EC₅₀) 为 8.12 mg/mL, 在 16 mg/mL 时对 DPPH 自由基的清除率为 61.56%, 与 0.02 mg/mL 的维生素 C (Vc) 清除能力相当; 蛹虫草发酵产物能显著提高衰老模型小鼠血清和肝脏中的总超氧化物歧化酶 (T-SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-px) 活力水平, 降低丙二醛 (MDA) 含量, 高剂量组的抗衰老效果与阳性药 Vc 组的抗氧化能力相当。小鼠急性肝损伤试验结果显示, 冻干粉能有效降低模型组小鼠血液中门冬氨酸氨基转移酶 (AST) 与丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 水平 ($P < 0.05$)。冻干粉的半数致死量 (LD₅₀) 远大于国家无毒标准 15 g/kg, 属于无毒级别。结论 蛹虫草发酵产物具有良好的抗氧化活性和保肝作用, 且安全无毒。

关键词: 蛹虫草; 冻干粉; 抗氧化; 小鼠模型; 保肝; 急性毒性

中图分类号: R965.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2014)01-0025-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2014.01.006

Anti-oxidative activity and hepatoprotective effect of lyophilized powder of liquid fermentation products from *Cordyceps militaris*

HOU Jin-xin, ZHANG Jin-xiu, ZHAO Xiao-jing, DUAN Shuo-nan, LIU Hong-xia, GUAN Zhen-long, WANG Li-an

College of Life Science, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050024, China

Abstract: Objective To test the anti-oxidative activity of lyophilized powder of liquid fermentation products from *Cordyceps militaris*. **Methods** The lyophilized powder of liquid fermentation products from *Cordyceps militaris* was prepared by freezing and drying process, then, the anti-oxidative capacity of lyophilized powder was measured by DPPH tests *in vitro* and the aging mouse model was induced by *D*-galactose *in vivo*. **Results** The results indicated that the EC₅₀ value of the lyophilized powder on scavenging DPPH free radical activity was 8.12 mg/mL, comparing to Vitamin C (Vc), and the scavenging DPPH activity of the lyophilized powder with the concentration of 16 mg/mL was equal to that of 0.02 mg/mL Vc; The aging mice model tests indicated the lyophilized powder could effectively improve the levels of total superoxide dismutase (T-SOD) and glutathione peroxidase (GSH-px), reduce the level of malondialdehyde (MDA) in serum and liver of aging mice ($P < 0.05$). The acute liver injury test results showed that the lyophilized powder could effectively reduce the contents of aspartate transaminase (GOT) and glutamic-pyruvic transaminase (GPT) in serum of mice with acute liver injury ($P < 0.05$). Toxic tests indicated that the lyophilized belonged to the Non-toxic level. **Conclusion** The *Cordyceps militaris* liquid fermentation products as a safety food have strong anti-oxidative activity and hepatoprotective effect.

Key words: *Cordyceps militaris*; lyophilized powder; anti-oxidation; mouse model; hepatoprotection; acute toxicity

蛹虫草 *Cordyceps militaris* L. Link 是一种优质的食药两用真菌, 其子实体不仅营养成分丰富, 还含有虫草素^[1]、虫草多糖^[2]、腺苷^[3]等天然活性成分,

具有抗氧化、抗衰老、益肾、抗癌等功效^[4-6], 与冬虫夏草的药效相当, 是冬虫夏草良好的替代品^[7]。随着液体发酵技术在食用菌领域的应用, 通过液体

收稿日期: 2013-07-16

基金项目: 河北省科技计划项目 (11230908D); 河北省教育厅重点项目 (ZH2011231) 资助

作者简介: 侯金鑫 (1986—), 男, 硕士研究生, 研究方向为真菌生化。E-mail: houjx2008@qq.com。

*通信作者 王立安 (1965—), 男, 教授, 博士, 主要从事食用菌应用开发研究。

发酵蛹虫草可以在短时间内获得大量的蛹虫草液体发酵产物。研究表明,蛹虫草发酵液、菌丝体中含有多种功能性成分,如虫草多糖、虫草素、腺苷等^[8-10]。如用液体发酵产物作原料开发保健产品,不仅可克服子实体原料来源复杂、产品质量难以保证的不足,而且生产成本更低。本文参照保健食品注册管理办法^[13],以蛹虫草液体发酵产物冻干粉为材料,通过DPPH 自由基清除试验和衰老小鼠模型试验检测了冻干粉的抗氧化活性;通过CCl₄致小鼠急性肝损伤实验检测了冻干粉的保肝作用;通过小鼠急性毒理实验检测了冻干粉的食用安全性。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试小鼠与菌种 蛹虫草 *Cordyceps militaris* 菌种由河北师范大学真菌生化与分子生物学实验室保藏。

昆明种小鼠购自河北医科大学动物中心,合格证编号:1310064。体质量18~20 g,健康、雄性。

1.1.2 试剂 大豆蛋白粉(食品级,镇江市尚谷食品有限公司提供);葡萄糖、DPPH、CCl₄、无水乙醇、无水乙醇、D-半乳糖、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠、苯酚、浓硫酸均为国产分析纯;芦丁(≥91.7%,中药固体制剂研究中心)、齐墩果酸(≥98%,中药固体制剂研究中心)、T-SOD、GSH-px、MDA、GOT、GPT 试剂盒购于南京建成生物工程研究所。

1.1.3 仪器 FA1104型电子天平(上海精密科学仪器有限公司),ZHQ-100型100 L气升式发酵罐(镇江中恒生物工程设备有限公司),JM-L50型胶体磨(浙江惠合机械设备有限公司),GJJ型均质机(浙江惠合机械设备有限公司),ALPHA I-6型真空冷冻干燥机(西德CHRIST公司),B-260型恒温水浴锅(上海亚荣生化仪器厂)。MK3酶标仪(美国Thermo),756MC型紫外可见分光光度计(上海菁华科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 蛹虫草液体发酵产物冻干粉的制备

(1) 蛹虫草液体发酵产物制备 按常规方法获得液体菌种后,以3.5%接种量接种于100 L发酵罐中发酵培养。发酵培养基为:葡萄糖20 g/L、大豆蛋白粉8 g/L。发酵参数为:装料系数0.7,温度25℃,通气量1:0.4,培养5 d。

(2) 发酵产物破碎条件 获得的含菌丝体发酵

产物经胶体研磨处理(2 900 r/min, 0.3 L/min),再经高压均质机处理(40 MPa, 体积流量0.5 L/min),得发酵产物匀浆。

(3) 冻干粉的制备 将发酵产物匀浆离心(5 000 r/min, 10 min)处理后,上清液经减压蒸馏(45℃)浓缩获得蒸馏产物。与离心获取的沉淀混合后,于真空冷冻干燥机中冻干处理(-50℃, 72 h)。冻干物研磨后即得冻干粉。

(4) 计算冻干粉的产率。

冻干粉产率=冻干粉质量/发酵液体积

1.2.2 DPPH 自由基清除能力实验^[14] 用D₂O将冻干粉配制成16 mg/mL的母液,超声20 min后离心(10 000 r/min, 10 min),取上清液进行检测。

在96孔板内分为:样品空白组加100 μL不同浓度的样品液和100 μL无水乙醇;药品空白组加100 μL纯水和100 μL DPPH溶液。实验组每组设置5个梯度(1、2、4、8、16 mg/mL)分别加入100 μL不同浓度的样品溶液和100 μL浓度为2×10⁻⁴ mol/L的DPPH溶液,混合均匀,暗反应30 min,517 nm下测定各组吸光度(A)值。每组做3个重复。同时以Vc(0.01、0.02、0.04、0.08、0.16 mg/mL)做阳性对照,按以下公式计算清除率。

$$\text{清除率} = (A_0 - A_i - A_j) / A_0$$

式中:A₀为DPPH对照组吸光度值;A_i为实验组吸光度值;A_j为样品空白组吸光度值。

1.2.3 小鼠抗衰老实验^[15] 选用18~22 g雄性昆明小鼠60只,适应性饲养一周后随机分为空白对照组、模型组、阳性对照组(Vc)和蛹虫草冻干粉高、中、低剂量(400、200、100 mg/kg)组,每组6只。空白对照组每日sc等量生理盐水;模型组和给药组sc剂量为300 mg/(kg·d)的D-半乳糖。Vc组给予100 mg/kg,小鼠每天ig 1次。空白对照组和模型组每日ig等量生理盐水,连续4周。摘眼球取血,生理盐水灌流后取肝脏。按照试剂盒的方法检测小鼠血清和肝脏组织中的T-SOD、GSH-pX和MDA的量。

1.2.4 CCl₄致小鼠急性肝损伤实验^[16] 取健康小鼠60只,适应性饲养一周后随机分为空白对照组、模型组、阳性对照组(联苯双酯)和高、中、低剂量组,每组10只。空白对照组和CCl₄模型组每天ig等量的生理盐水溶液;阳性对照组每天ig联苯双酯滴丸150 mg/kg,高、中、低剂量组ig样品剂量分别为400、200、100 mg/kg,每日ig给药1次,连续7 d,末次给药1 h后,CCl₄组ip 0.1% CCl₄油

溶液 0.1 mL/10 g, 20 h 后摘眼球取血。微板法检测血清中的 ALT 和 AST。

1.2.5 急性毒性试验 取体质量在 18~20 g 雄性小鼠 30 只, 随机分为 10、15、20 g/kg 3 个剂量组, 每组 10 只, 适应性饲养 1 周后。分两次 ig 给药, 间隔 0.5 h, 观察两周, 记录中毒和死亡情况。

1.3 统计学处理

采用 SPSS17.0 软件进行统计学分析。

2 结果与分析

2.1 蛹虫草液体发酵产物冻干粉得率

获得的蛹虫草液体发酵产物冻干粉得率为 18.481 g/L。

2.2 DPPH 自由基清除率实验结果

采用 DPPH 自由基清除实验验证蛹虫草液体发酵产物冻干粉体外抗氧化活性, 结果见表 1。随着冻干粉的浓度增大清除自由基能力越来越强, 并呈现一定的量效关系。说明冻干粉在较高浓度下具有较强的清除自由基能力。在实验浓度范围内, 冻干粉在浓度为 16 mg/mL 时, 自由基清除率高达 61.56%, 相当于阳性对照 Vc 剂量 0.02 mg/mL 的清除作用。冻干粉清除 DPPH 自由基的 EC₅₀ 为 8.12 mg/mL。

2.3 蛹虫草液体发酵产物冻干粉体内抗氧化活性

蛹虫草液体发酵产物冻干粉 ig 给予 D-半乳糖模型小鼠后, 小鼠血清、肝脏中 T-SOD、GSH-px 活力以及 MDA 水平变化测定结果分别见表 2、3。

表 1 蛹虫草发酵产物冻干粉对 DPPH 自由基的清除率 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 DPPH· scavenging activity of lyophilized powder of *C. militaris* liquid fermentation product ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

| 组别 | 质量浓度/ (mg·mL ⁻¹) | 清除率/% | EC ₅₀ /(mg·mL ⁻¹) |
|------------|---------------------------------|------------|--|
| 蛹虫草冻 干粉 | 1 | 28.69±1.18 | 8.120 |
| | 2 | 30.89±1.41 | |
| | 4 | 34.80±3.49 | |
| | 8 | 50.81±2.00 | |
| | 16 | 61.56±2.95 | |
| Vc | 0.01 | 49.79±1.46 | 0.007 |
| | 0.02 | 73.52±1.94 | |
| | 0.04 | 82.63±1.20 | |
| | 0.08 | 86.33±0.32 | |
| | 0.16 | 88.67±1.20 | |

表 2 对小鼠血清中 T-SOD、GSH-px 活力及 MDA 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Activities of T-SOD and GSH-px and content of MDA in serum of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 组别 | 剂量/(mg·kg ⁻¹) | T-SOD/(U·L ⁻¹) | GSH-px/(U·L ⁻¹) | MDA/(nmol·mL ⁻¹) |
|------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| 对照 | — | 104.31±5.06 | 360.70±34.32 [#] | 2.68±0.51 |
| 模型 | — | 49.45±16.09 [*] | 204.11±27.78 | 4.49±0.61 [*] |
| 阳性对照 | 100 | 108.92±12.99 [#] | 438.56±64.60 [#] | 2.81±0.70 [#] |
| 冻干粉 | 400 | 109.36±18.36 [#] | 413.20±35.57 ^{*#} | 2.95±0.42 [#] |
| | 200 | 95.98±13.62 [#] | 346.39±52.52 ^{#Δ} | 3.45±0.56 [#] |
| | 100 | 75.56±8.18 ^{*#Δ} | 259.17±34.37 ^{#Δ} | 3.90±0.48 ^{*#} |

与对照组比较: *P<0.05; 与模型组比较: #P<0.05; 与高剂量组比较: ΔP<0.05, 下表同

*P<0.05 vs control group; #P<0.05 vs model group; ΔP<0.05 vs high dose group, same as below

表 3 对小鼠肝脏中 T-SOD、GSH-px 酶活力及 MDA 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Activities of T-SOD and GSH-px and content of MDA in liver of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 组别 | 剂量/(mg·kg ⁻¹) | T-SOD/(U·mgprot ⁻¹) | GSH-px/(U·mgprot ⁻¹) | MDA/(nmol·mgprot ⁻¹) |
|------|---------------------------|---------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| 对照 | — | 402.80±38.36 | 263.84±15.79 | 2.75±0.74 |
| 模型 | — | 238.83±25.46 [*] | 206.31±8.03 [*] | 4.88±1.04 [*] |
| 阳性对照 | 100 | 389.68±37.18 [#] | 323.56±58.11 ^{*#} | 3.83±0.66 [#] |
| 冻干粉 | 400 | 406.81±44.84 [#] | 325.12±45.94 ^{*#} | 3.67±0.61 [#] |
| | 200 | 351.02±49.48 ^{*#} | 287.72±68.68 [#] | 3.93±0.83 ^{*#} |
| | 100 | 291.38±36.07 ^{*#Δ} | 273.62±37.31 ^{#Δ} | 4.55±0.87 ^{*#Δ} |

模型组与空白对照组相比,小鼠血清、肝脏中的 T-SOD、GSH-px 的酶活力均显著下降,MDA 水平显著上升,且差异显著 ($P < 0.05$),说明造模成功。模型组与 Vc 组相比,差异显著 ($P < 0.05$),说明 Vc 能抵抗由 D-半乳糖引起的衰老现象。由表 2 可知,与模型组相比,冻干粉中、高剂量组均能使血清中 T-SOD 的酶活力显著提高;冻干粉 3 个剂量组均能使血清中 GSH-px 的酶活力显著提高,使 MDA 含量显著降低。高、中、低 3 个剂量组组间相比,高剂量组在提升小鼠血清中 T-SOD 方面显著高于低剂量组 ($P < 0.05$),GSH-px 酶活力显著高于中、低剂量组 ($P < 0.05$);降低小鼠血清中 MDA 水平方面,高、中、低剂量组之间无显著差异。由表 3 可知,冻干粉高、中、低 3 个剂量组均能使肝脏中的 T-SOD、GSH-px 活力显著提高,使 MDA 水平明显降低 ($P < 0.05$)。3 个剂量组相比,高剂量小鼠肝脏中 T-SOD、GSH-px 酶活力显著高于低剂量组;MDA 含量高剂量组显著低于低剂量组 ($P < 0.05$)。

高剂量组与 Vc 组比较,试验组小鼠血清中 T-SOD,肝脏中 T-SOD、GSH-px 酶活力水平高于

Vc 组,肝脏中 MDA 含量低于 Vc 组,说明蛹虫草高剂量组在提高体内抗氧化活力方面优于 Vc 剂量在 100 mg/kg 时的抗氧化能力。

2.4 冻干粉的保肝作用

表 4 结果表明,不同剂量蛹虫草液体发酵产物冻干粉对 CCl₄ 致急性肝损伤小鼠的保护作用。小鼠经过注射 CCl₄ 后,血清中的 AST 和 ALT 的量明显升高,与空白对照组比较差异显著 ($P < 0.05$),说明小鼠急性肝损伤模型造模成功。模型组与阳性对照组(联苯双酯滴丸)相比,联苯双酯滴丸能明显的降低小鼠血清中 AST 和 ALT 水平 ($P < 0.05$),说明联苯双酯滴丸具有较好的保肝作用,但各实验组与空白组相比,小鼠血清中 AST 和 ALT 水平均高于空白组,说明由 CCl₄ 造成的肝损伤很难恢复原状。实验组与模型组相比,高、中、低 3 个剂量组均能有效降低小鼠血清中 AST 和 ALT 水平 ($P < 0.05$),并且随着剂量的增加作用逐渐加强,呈现一定的量效关系。与阳性对照组对比,AST 冻干粉各个剂量组与阳性组相比,差异显著,说明蛹虫草液体发酵产物的保肝效果没有联苯双酯的效果好。

表 4 对小鼠血清中 AST 与 ALP 酶活力的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Activities of AST and ALT in serum of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 组别 | 剂量/(mg·kg ⁻¹) | AST/(U·L ⁻¹) | ALT/(U·L ⁻¹) |
|--------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 对照 | — | 33.03 ± 8.62 | 15.62 ± 7.50 |
| 模型 | — | 198.05 ± 55.71* | 167.54 ± 47.87* |
| 联苯双酯滴丸 | 150 | 48.69 ± 16.09*# | 48.60 ± 7.123* |
| 冻干粉 | 400 | 53.10 ± 27.81*# | 82.48 ± 15.06*#Δ |
| | 200 | 93.61 ± 31.85*#Δ▲ | 109.92 ± 32.63*#Δ |
| | 100 | 184.59 ± 59.49*#▲▼ | 149.31 ± 6.70*#Δ▲ |

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$; 与阳性对照组比较: Δ $P < 0.05$ 。与高剂量组比▲ $P < 0.05$; 与中剂量组比▼ $P < 0.05$
* $P < 0.05$ vs control; # $P < 0.05$ vs model; Δ $P < 0.05$ vs Vc. ▲ $P < 0.05$ vs high dose group; ▼ $P < 0.05$ vs middle dose group

2.5 急性毒性试验结果

3 个剂量组小鼠均无中毒、死亡现象,蛹虫草发酵产物的 LD₅₀ 大于国家无毒标准 15 g/kg,属于无毒级别,说明蛹虫草液体发酵产物安全可食用。

3 讨论

此前有报道蛹虫草子实体能有效提高 D-半乳糖衰老小鼠脑组织中 SOD、GSH-px 酶活性的作用从而验证了蛹虫草子实体的抗氧化作用^[17]。本研究通过体外实验和衰老小鼠实验证明了蛹虫草液体发酵产物具有较强的抗氧化活性,冻干粉质量浓度在 16 mg/mL 时对 DPPH 自由基的清除率为 61.65%,

与 Vc 浓度在 0.02 mg/mL 时的清除能力相当;青年小鼠长期注射 D-半乳糖能够导致小鼠代谢紊乱,器官、系统功能减退从而导致小鼠产生衰老现象^[18],当衰老小鼠 ig 蛹虫草液体发酵产物冻干粉后,能有效提高衰老小鼠血清及肝脏中的 T-SOD 和 GSH-px 活力水平,降低 MDA 含量,从而达到抗衰老的作用。

本研究还证实了蛹虫草液体发酵产物冻干粉具有抵抗 CCl₄ 致小鼠急性肝损伤的作用。冻干粉剂量在 400 mg/kg 时能有效抵抗 CCl₄ 致小鼠的肝损伤,降低小鼠血清中的 ASP 和 ALT 的量,且与阳性组

差异不显著。这一结果与朱雅红等^[19]研究的蛹虫草多糖对 CCl_4 诱导大鼠原代肝细胞损伤具有直接保护作用基本相同。

研究结果证实了以大豆蛋白粉为培养基发酵的蛹虫草液体发酵产物是安全无毒可食用的,符合保健品注册管理办法的要求。蛹虫草液体发酵产物可以作为抗氧化保健品的原料,在功能性饮料和保健胶囊方面具有较好的应用前景。

参考文献

- [1] Masuda M, Urabe E, Sakurai A, *et al.* Production of cordycepin by surface culture using the medicinal mushroom *Cordyceps militaris* [J]. *Enz Microb Technol*, 2006, 39(4): 641-646.
- [2] Jong S L, Jeong S K, Jong E Y, *et al.* Structural characterization of immunostimulating polysaccharide from cultured mycelia of *Cordyceps militaris* [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2010, 80(4): 1011-1017.
- [3] Jiang Y, Wong J H, Fu M, *et al.* Isolation of adenosine, iso-sinensetin and dimethylguanosine with antioxidant and HIV-1 protease inhibiting activities from fruiting bodies of *Cordyceps militaris* [J]. *Phytomedicine*, 2011, 18(2/3): 189-193.
- [4] 桂仲争, 滕国琴, 贾俊强, 等. 蛹虫草食药开发价值 [J]. *中国食物与营养*, 2012, 18(3): 70-73.
- [5] 叶晶晶, 曹宁宁, 殷浩, 等. 蛹虫草药理作用及化学成分研究进展 [J]. *安徽农业科学*, 2011, 39(32): 19761-19762.
- [6] 蒋宁, 刘红锦, 刘芳, 等. 虫草研究与开发的现状与前景 [J]. *江西农业学报*, 2011, 23(1): 121-123.
- [7] 都兴范, 李军, 米锐, 等. 蛹虫草和冬虫夏草主要活性成分含量比较 [J]. *食用菌*, 2010, (6): 61-62.
- [8] Jong S L, Jeong S K, Dong P W, *et al.* Study on mcarophage activation and structural characteristics of purified polysaccharide from the liquid culture broth of *Cordyceps militaris* [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2010, 82(3, 15): 982-988.
- [9] 周广麒, 万晓星, 侯友松, 等. 蛹虫草液态深层发酵的研究 [J]. *食品与发酵工业*, 2004, 30(8): 39-43.
- [10] Gu Y X, Wang Z S, Li S X, *et al.* Effect of multiple factors on accumulation of nucleosides and bases in *Cordyceps militaris* [J]. *Food Chem*, 2007, 102(4): 1304-1309.
- [11] 刘阳, 王雅玲, 孙力军, 等. 虫草蜜汁保健饮料的研制 [J]. *食品工业科技*, 2009, 30(6): 204-206.
- [12] 黄小丹, 韩珍, 洗玉成, 等. 蛹虫草保健饮料的研制 [J]. *食品工业*, 2010, (4): 29-31.
- [13] 国家食品药品监督管理局保健食品注册管理办法行政许可法 [S]. 2004.
- [14] Cheung L M, Cheung P C K. Mushroom extracts with antioxidant activity against lipid peroxidation [J]. *Food Chem*, 2005, 89: 403-409.
- [15] 余强, 聂少平, 李文娟, 等. 黑灵芝多糖对 D-半乳糖致衰老小鼠的作用研究 [J]. *食品科学*, 2009, 30(17): 305-307.
- [16] 路朋, 曾阳, 郭凤霞, 等. 丝毛飞廉总黄酮对 CCl_4 肝损伤的保护作用 [J]. *青海师范大学学报*, 2010, (2): 42-45.
- [17] 朱越, 藏颖, 谷海, 等. 蛹虫草对 D-半乳糖致小鼠衰老模型的影响 [J]. *中老年学杂志*, 2011, 31(23): 4636-4637.
- [18] 龚国清, 徐赓本. 小鼠衰老模型研究 [J]. *中国药科大学学报*, 1991, 22(2): 101-103.
- [19] 朱雅红, 颜辉, 桂仲争. 蛹虫草多糖对四氯化碳诱导大鼠原代肝细胞损伤的保护作用研究 [J]. *蚕业科学*, 2009, 35(1): 106-110.