

采用近红外漫反射光谱进行牛樟芝菌丝体组分检测的研究^{*}

初秋博¹, 赵毅², 刘燕隔¹, 张元竹¹, 周毓麟^{1**}

(1. 吉林大学生命科学学院, 长春 130021; 2. 吉林大学白求恩第一医院创伤骨科, 长春 130021)

摘要 目的: 采用偏最小二乘法结合近红外光谱技术建立分析牛樟芝发酵菌丝体中多糖和三萜含量的泛化能力强且预测精度高的定量分析模型, 以满足牛樟芝原料药及其相关产品实际检测中的应用。**方法:** 通过扫描化学诱变和液体深层发酵获得的 165 个牛樟芝菌丝体样品获得近红外光谱, 采用常规方法测定样品中多糖和三萜的含量。应用蒙特卡罗偏最小二乘法识别异常样品并确定校正集样品数量为基础, 以逼近度 (Da) 为评价指标, 采用可移动窗口偏最小二乘法对特征波长变量、最佳光谱预处理方法及建立模型的重要参数进行筛选。**结果:** 最终确定牛樟芝菌丝体中多糖和三萜的校正集和预测集样品实验测定值与预测值间相关系数 (R_c 和 R_p) 分别为 $0.931\ 1\ \text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $0.995\ 9\ \text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 、 $0.927\ 9\ \text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $0.943\ 4\ \text{g} \cdot \text{g}^{-1}$; 均方根误差 (RMSEC 和 RMSEP) 分别为 $0.031\ 33\ \text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $0.010\ 72\ \text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 、 $0.031\ 34\ \text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $0.012\ 02\ \text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。**结论:** 该模型具有很好的预测性能。

关键词: 光谱学; 近红外光谱; 偏最小二乘法; 牛樟芝; 发酵菌丝体; 多糖; 三萜类化合物

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2017)09-1904-06

doi: 10.16155/j.0254-1793.2017.09.24

Determination of chemical components in mycelia of *Antrodia camphorata* by near infrared reflectance spectroscopy^{*}

CHU Qiu-bo¹, ZHAO Yi², LIU Yan-ge¹, ZHANG Yuan-zhu¹, ZHOU Yu-lin^{1**}

(1. College of Life Science, Jilin University, Changchun 130021, China;

2. Department of Orthopedic Trauma, The First Noman Bethune Hospital of Jilin University, Changchun 130021, China)

Abstract Objective: Near infrared spectroscopy combined with partial least squares was used to establish quantitative model for polysaccharide and triterpene in mycelia of *Antrodia camphorata* with strong generalization ability and high prediction precision, which could satisfy the practical test of raw materials and related products of *Antrodia camphorata*. **Methods:** NIR spectra of 165 samples treated by chemical mutagenesis and liquid fermentation were obtained and the contents of polysaccharide and triterpene were determined by conventional methods. Monte Carlo partial least squares was applied to identify abnormal samples and to define the number of calibration samples. Then the characteristic wavelengths, the spectral pretreatment methods and the key modeling

^{*} 吉林省科技重点项目 (No.20150203002NY; 20160204029YY)

^{**} 通信作者 Tel: 13756146186; E-mail: zhouyl133@jlu.edu.cn

第一作者 Tel: 18744020264; E-mail: chuqb15@mails.jlu.edu.cn

parameters were optimized based on the degree of approximation (Da) by moving window partial least square filter.

Results: The calibration and prediction correlation coefficient (R_c and R_p) for polysaccharide were $0.931\ 1\ g \cdot g^{-1}$ and $0.995\ 9\ g \cdot g^{-1}$, respectively. And those for triterpene were $0.927\ 9\ g \cdot g^{-1}$ and $0.943\ 4\ g \cdot g^{-1}$, respectively. The root mean square errors of calibration and prediction (RMSEC and RMSEP) were $0.031\ 33\ g \cdot g^{-1}$ and $0.010\ 72\ g \cdot g^{-1}$ for polysaccharide and $0.031\ 34\ g \cdot g^{-1}$ and $0.012\ 02\ g \cdot g^{-1}$ for triterpene, respectively. **Conclusion:** The models had good prediction performance.

Keywords: spectroscopy; near infrared spectroscopy; partial least squares; *Antrodia camphorata*; fermentation mycelium; polysaccharides; triterpene

牛樟芝 (*Antrodia camphorata*) 是我国台湾特有的一种珍贵药用真菌。经多项研究证实牛樟芝能抑制癌细胞生长,对化学性引起的肝损伤有保护作用,并具有抗氧化,抗过敏,增强免疫力,降血压,降血脂,预防心血管疾病的功效^[1]。牛樟芝的主要活性成分包括多糖体、三萜类化合物、氨基酸、固醇类、维生素、超氧化物歧化酶 (SOD)、腺苷等,其中主要活性成分是 β -D- 葡聚糖和三萜类化合物^[2]。多糖和三萜的传统测定方法耗时费力且成本较高,因此,亟需开发一种能够满足牛樟芝样品作为原料药或保健品的质量监控的快速有效的检测技术。

近红外光谱 (near infrared spectroscopy, NIRS) 是电磁辐射波的一种,波长范围是 $780\sim 2\ 500\ nm$ ^[3],与分子中 C-H、O-H、N-H 和 S-H 基团振动的合频以及各级振频相关^[4]。NIRS 技术是一种新型的绿色分析技术,具有方便、准确、快速及非侵入式分析等优点,被广泛应用于食品和药品的定性及定量分析^[5-9]。

偏最小二乘法 (PLS) 是一种最常用的光谱多元定量校正方法,是在光谱分析中建立线性定量校正模型的通用方法^[10-11]。PLS 可有效地除去噪声,提取光谱信息,解决光谱共线问题^[12]。蒙特卡罗偏最小二乘法 (monte carlo partial least square, MCPLS) 通过大量的随机计算识别模型中异常样本并优选校正集数量^[13]。

本文应用偏最小二乘法结合近红外光谱建立牛樟芝菌丝体中有效成分含量的定量分析技术,快速地测定牛樟芝菌丝体中多糖和三萜的含量。

1 实验部分

1.1 实验材料

齐墩果酸对照品 (纯度 98%, 中国标准物质中心); 甲醇为色谱纯, 香草醛、冰醋酸、高氯酸、苯酚、

盐酸、硫酸、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 、 $KH_2PO_4 \cdot 3H_2O$ 、葡萄糖均为分析纯; 维生素 B₁、酵母浸粉、蛋白胨均为生化试剂。

1.2 样品的制备

牛樟芝菌株 (ATCC200183, 美国模式培养物集存库)。采用亚硝基胍对原始菌株进行诱变, 获得牛樟芝突变菌株共 165 株。采用液体深层发酵技术培养菌丝体, 发酵条件: 接种量 5% (v/v), 装液量 100 mL/250 mL, 发酵时间 7 d, 发酵温度 26 °C, 摇床转速 $150\ r \cdot min^{-1}$; 发酵培养基: 葡萄糖 $20\ g \cdot L^{-1}$, 酵母浸粉 $10\ g \cdot L^{-1}$, 蛋白胨 $10\ g \cdot L^{-1}$, 磷酸二氢钾 $0.1\ g \cdot L^{-1}$, 硫酸镁 $0.05\ g \cdot L^{-1}$, 维生素 B₁ $0.01\ g \cdot L^{-1}$ 。发酵结束后, 离心 ($3\ 500\ r \cdot min^{-1}$, 10 min) 处理发酵液, 菌丝体沉淀经 5 倍体积的去离子水清洗 3 次, $-40\ ^\circ C$ 冷冻干燥 24 h, 粉碎, 过 80 目筛处理, 最终获得菌丝体粉末, 即得供试样品。

1.3 仪器和收集样品光谱数据

应用日本岛津 UV-3150 型紫外可见近红外分光光度计和日本岛津 ISR-3100 积分球附件对样品 NIR 光谱进行扫描, 扫描波长的范围为 $800\sim 2\ 500\ nm$, 光谱通带密度为 12 nm, 以硫酸钡对照品作为空白对照, 光谱采样的间隔为 1 nm, 每个样品进行 3 次光谱扫描取其均值作为样品的光谱数据。牛樟芝菌丝体样品的平均近红外光谱如图 1 所示。

1.4 分析方法

1.4.1 样品中胞内多糖含量的测定^[14] 采用蒽酮硫酸法测定胞内多糖的含量。料液比 1:40, 90 °C 提取 4 h, $3\ 500\ r \cdot min^{-1}$ 离心 5 min, 取上清, 制得样品溶液; 取样品溶液用去离子水稀释 100 倍, 分别加入蒽酮试剂 4.00 mL 后一起浸于沸水浴中, 煮沸 10 min 取出, 用自来水冷却, 室温放置 10 min 左右, 于 620 nm 比色测定。

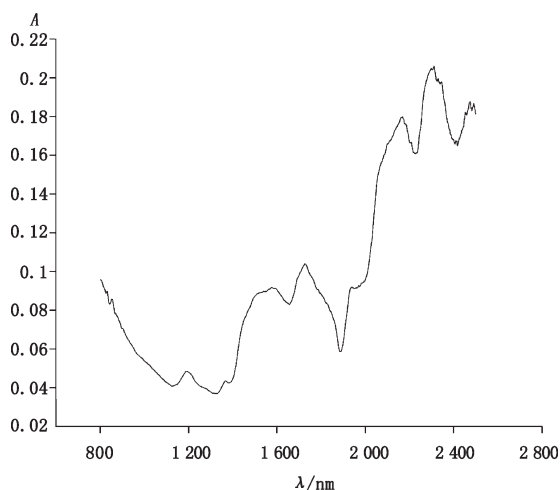


图1 牛樟芝样品平均近红外光谱

Fig. 1 The average NIR spectra of *Antrodia camphorata*

1.4.2 样品中三萜含量的测定^[15] 采用香草醛-高氯酸法测定提取液中三萜类化合物的含量。取样品溶液 100 μL , 置于 EP 管中蒸干, 再加入新鲜配制的 5% 香草醛-冰醋酸溶液 0.1 mL, 高氯酸 0.4 mL, 60 $^{\circ}\text{C}$ 反应 20 min, 冰水冷却, 随后加入冰醋酸 5 mL, 摇匀, 550 nm 处测定吸光度值。

1.5 建立 PLS 分析模型

采用 Matlab2010Ra (美国 MathWorks) 软件进行程序脚本的编写。

1.5.1 MCPLS 识别异常样品 按照交互验证均方根误差为评价指标来进行留一交互验证, 以筛选各组分数据的初始隐变量数 (hidden variables, nLV), 同公式 (1) 所示, 当代表校正集时, 结果即为校正集均方根误差 (root mean square errors of calibration, RMSEC), 同公式 (2) 所示; 当代表预测集时, 结果显示为预测集均方根误差 (root mean square errors of prediction, RMSEP), 同公式 (3) 所示。

$$\text{RMSE} = \sqrt{\frac{\sum (\gamma_p - \gamma_r)^2}{n}} \quad (1)$$

式中 n 为样品数量, γ_p 为计算值或者预测值, γ_r 为参考值或真实值。

$$\text{RMSC} = \sqrt{\frac{\sum (C_{Ni} - C_{Ri})^2}{n}} \quad (2)$$

$$\text{RMSEP} = \sqrt{\frac{\sum (C_N - C_R)^2}{n}} \quad (3)$$

公式 (2)、(3) 两式中, n 、 m 为用于建模的样品数, C_{Ni} 和 C_{Ri} 分别表示用于校正和预测模型预测样

品的含量和用标准分析方法测定样品的真实含量。RMSEC 用来优化模型的稳定性, RMSEP 用来对模型的预测性能进行优化。

预测集和校正集按照数量比 1:1 在总体样品中进行随机选择并建立 PLS 定量分析模型, 重复 10 000 次以保证每个样品都至少充当 1 次预测集。记录每次计算过程中预测集样品的预测残差 (predictive residual error, PRE), 如公式 (4) 所示, 计算平均值 (the mean of the PRE, MPRE) 和标准偏差 (standard deviation of PRE, SDPRE), 以筛选出偏离主体样品的异常值。

$$\text{PRE} = |y_p - y_r| \quad (4)$$

式中 y_p 为模型预测的浓度值, y_r 为参考方法测定的浓度值。

1.5.2 选择校正集样品数 本研究随机选择总体样品数量的 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80% 和 90% 作为校正集, 其余则作为预测集, 建立 PLS 定量分析模型, 计算拟合度 (degree of fitting, D_f), 如公式 (5) 所示。重复计算 50 000 次, 并计算其平均值 (mean of D_f , MD_f), 当 MD_f 达到最高时, 即选择该比例的样品数作为校正集样品数。校正集的选择可以有效防止模型出现过拟合。

$$D_f = \frac{c}{\frac{\text{RMSEC}}{n_c} + \frac{\text{RMSEP}}{n_p} + |\text{RMSEC} - \text{RMSEP}|} \quad (5)$$

式中, n_c 校正集样品数; n_p 为预测集样品数, 常数 c 在测定多糖和三萜中为 0.1。

1.5.3 建立 PLS 定量分析模型 采用快傅立叶变换 (fast Fourier transform, FFT)、卷积平滑 (savitzky-golay smoothing)、一阶导数 (first derivative, 1st) 和二阶导数 (second derivative, 2nd) 对原始光谱进行除噪处理, 选择窗口为 5、7、9、11、13 和 15 时的除噪效果, 利用可移动偏最小二乘法 (moving window partial least square, MWPLS) 优选 PLS 模型建立中的窗口大小 (W)、隐变量数 (nLV) 和波长变量 (nw), 获得 PLS 定量分析模型。模型筛选中以逼近度 (degree of approach, D_a ; 如公式 (6) 所示) 为评价指标, 最高值则模型参数最优。其中 nLV 值范围为 1~20, 间隔为 1; W 值分别为 17、34、51、68、85、102、119、136、153、170、187、204、221、238 和 255 (所有波长点数 1%~15%); nw 范围值为 5~75, 间隔为 5。

$$D_a = \frac{c}{\frac{n_c}{n_t} \times \text{RMSEC} + \frac{n_p}{n_t} \text{RMSEP} + |\text{RMSEC} - \text{RMSEP}|} \quad (6)$$

式中, n_t 为所有样品数; n_c 为校正集样品数; n_p 为预测集样品数; 常数 c 在测定多糖和三萜中分别为 1 和 0.025。

1.5.4 最优模型的比较筛选 以 Da 值为评价指标, 同时综合评价 RMSEC 和 RMSEP, 筛选最优的 PLS 模型, 以确定牛樟芝菌丝体样品中多糖和三萜的最佳定量分析模型。

2 结果与讨论

2.1 异常值剔除及校正集样品数选择

利用 MCPLS 法进行样品的筛选, 将 MPRE 和

SDPRE 值均较高的样品作为异常值剔除。结果显示在建立牛樟芝菌丝体中多糖和腺苷的定量分析模型的过程中, 分别剔除了 16 和 40 个异常样本。

按照“1.5.2”项所述, 以 MDf 为评价指标, 采用 MCPLS 法来选择建立牛樟芝菌丝体样品中多糖和三萜的 NIRS 定量分析模型的校正集样品数。通过计算可知, 建立的牛樟芝菌丝体多糖和三萜分析模型中校正集所占比率分别为 80% 和 70%, 此时, MDf 值达到最高。校正集与预测集样品中多糖和三萜含量的统计结果如表 1 所示。

表 1 牛樟芝样本多糖和三萜含量统计

Tab. 1 The statistical data of polysaccharides and triterpene contents in *Antrodia camphorata*

成分 (analyte)	样品数 (sample number)	含量 (content) / (g · g ⁻¹)			
		最大值 (Max)	最小值 (Min)	平均值 (mean) ± SD	
多糖 (polysaccharides)	校正集 (calibration)	119	0.323 9	0.059 48	0.197 9 ± 0.055 83
	预测集 (validation)	30	0.273 9	0.110 5	0.204 1 ± 0.045 43
三萜 (triterpene)	校正集 (calibration)	88	0.225	0.071 89	0.115 5 ± 0.026 88
	预测集 (validation)	37	0.162 8	0.078 44	0.117 4 ± 0.025 25

2.2 PLS-NIRS 定量分析模型建立

通过比较卷积光滑、一阶导数、二阶导数和快速傅里叶变换在各组分定量分析模型建立过程中起到

的降噪作用, 快速傅立叶变换和近红外原始光谱中的噪音及基线漂移的干扰最低 (表 2), 为模型进一步优化奠定基础。

表 2 多糖和三萜含量分析偏最小二乘法模型最佳结果

Tab. 2 Results of optimized quantitative PLS models for polysaccharides and triterpene

成分 (analyte)		窗口宽度 (Window)	窗口 大小 (W _n)	波长 变量 (nw)	校正集均 方根误差 (RMSEC)/ (g · g ⁻¹)	预测集均 方根误差 (RMSEP)/ (g · g ⁻¹)	逼近度 (Da)	隐变量数 (NLV)
多糖 (ploysaccharides)	原始光谱 (original spectra)		238	5	0.031 33	0.031 34	0.791 8	6
	卷 积 平 滑 处 理 (savitzky-Golay Smoothing)	9	153	5	0.031 98	0.031 98	0.791 4	7
	快速傅里叶变换处理 (FFT)	5	238	5	0.031 33	0.031 34	0.791 8	6
	一阶导数光谱 (first order derivative)	15	238	15	0.028 43	0.034 23	0.755 7	9
	二 阶 导 数 光 谱 (second order derivative)	15	170	5	0.045 5	0.048 2	0.561 3	2
三萜 (triterpene)	原始光谱 (original spectra)		255	45	0.010 72	0.012 02	0.772 7	5
	卷 积 平 滑 处 理 (savitzky-Golay Smoothing)	5	255	60	0.010 9	0.012015	0.766 1	5
	快速傅里叶变换处理 (FFT)	5	255	45	0.01072	0.01202	0.7727	5
	一 阶 导 数 光 谱 (first order derivative)	13	136	10	0.0145	0.01526	0.6602	11
	二 阶 导 数 光 谱 (second order derivative)	15	85	15	0.01653	0.01892	0.5817	7

在进一步优选建模参数 W 、 nw 和 nLV 的基础上,获得牛樟芝菌丝体中多糖和三萜组分的 PLS-NIRS 定量分析模型。当 W 为 238 和 255, nw 为 5 和 45, nLV 为 6 和 5 时, Da 值最大,模型效果最好(表 2,图 2、3)。

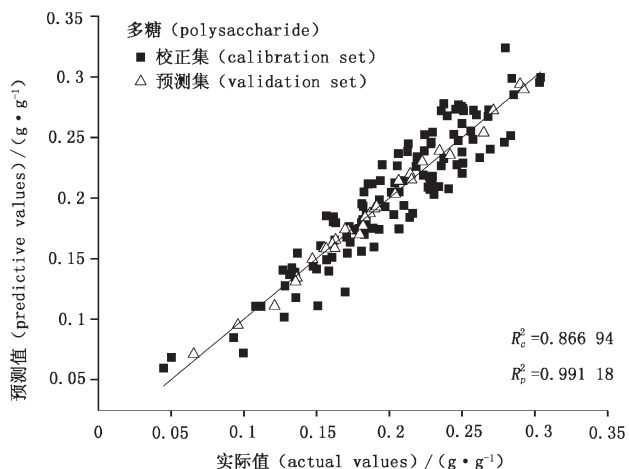


图 2 多糖的最佳 PLS-NIRS 分析模型中校正集和预测集样本实际值和预测值的相关性

Fig. 2 The correlation between actual and predicting values of polysaccharides in both calibration set and validation set of optimum PLS-NIRS models

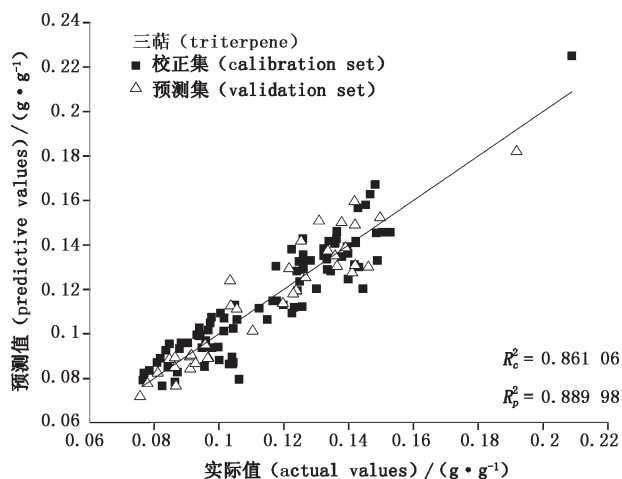


图 3 三萜的最佳 PLS-NIRS 分析模型中校正集和预测集样本实际值和预测值的相关性

Fig. 3 The correlation between actual and predicting values of triterpene in both calibration set and validation set of optimum PLS-NIRS models

在得到最优 PLS 的模型基础上,进行预测值与真实值之间的相关性考察。结果显示,模型预测效果较好,未出现过拟合现象,牛樟芝菌丝体中多糖和三萜含量的最优定量分析模型的校正集和预测集样品实验测定值与预测值间相关系数 R_c 和 R_p 分别为

0.931 1 $g \cdot g^{-1}$ 和 0.995 9 $g \cdot g^{-1}$ 、0.927 9 $g \cdot g^{-1}$ 和 0.943 4 $g \cdot g^{-1}$; RMSEC 及 RMSEP 分别为 0.031 33 $g \cdot g^{-1}$ 和 0.010 72 $g \cdot g^{-1}$ 、0.031 34 $g \cdot g^{-1}$ 和 0.012 02 $g \cdot g^{-1}$,表明该模型的预测结果准确,可靠性高。

3 结论

本研究以牛樟芝菌丝体中 2 种有效活性成分为研究对象,采用 PLS 结合 NIRS 建立牛樟芝菌丝体样品中多糖和三萜组分的定量分析模型,经过一系列优化筛选,牛樟芝菌丝体中多糖含量的最优定量模型的 R_c 和 R_p 分别为 0.931 1 $g \cdot g^{-1}$ 和 0.927 9 $g \cdot g^{-1}$; RMSEC 及 RMSEP 值分别为 0.031 33 $g \cdot g^{-1}$ 和 0.031 34 $g \cdot g^{-1}$,牛樟芝菌丝体中多糖含量的最优定量模型的 R_c 和 R_p 分别为 0.995 9 $g \cdot g^{-1}$ 和 0.943 4 $g \cdot g^{-1}$; RMSEC 及 RMSEP 值分别为 0.010 72 $g \cdot g^{-1}$ 和 0.012 02 $g \cdot g^{-1}$,优化模型的预测能力良好。

本研究证明,应用近红外光谱结合化学计量学方法建立牛樟芝菌丝体样品中多糖和三萜组分的定量分析模型,能够快速、准确和无损地对牛樟芝及其诱变菌株的菌丝体样品的有效成分进行定量分析,模型的预测精度良好,能够满足牛樟芝原料药及相关产品中多糖和三萜含量在实际检测中的分析精度。

参考文献

- [1] 战林华,董云,蒋丽芹. 樟芝的药用保健价值及市场研究分析[J]. 中外企业家, 2013(5):63
ZHAN LH, DONG Y, JIANG LQ. Analysis on the value of *Antrodia camphorata*'s medical value and market research[J]. Chin Foreign Entrepreneurs, 2013(5):63
- [2] 徐蔚,王瑾,王宫. 牛樟芝胶囊的毒性实验研究[J]. 海峡药学, 2011, 23(5):41
XU W, WANG J, WANG G. Study on toxicity of *Antrodia camphorata* capsules[J]. Strait Pharm J, 2011, 23(5):41
- [3] 张鸿富,李耀翔. 近红外光谱技术在木材无损检测中应用研究综述[J]. 森林工程, 2009, 25(5):26
ZHANG HF, LI YX. Literature review on application of near-infrared spectroscopy in wood non-destructive testing[J]. Forest Eng, 2009, 25(5):26
- [4] 王亚敏,张卓勇,汤彦丰,等. 近红外光谱技术在中药鉴别及分析中的应用[J]. 首都师范大学学报(自然科学版), 2004, 25(3):41
WANG YM, ZHANG ZY, TANG YF, et al. The application of near infrared spectroscopy to identification and analysis of herbal medicine[J]. J Cap Norm Univ (Nat Sci Ed), 2004, 25(3):41
- [5] 赵杰文,毕夏坤,林颢,等. 鸡蛋新鲜度的可见-近红外透射光谱快速识别[J]. 激光与光电子学进展, 2013(5):213
ZHAO JW, BI XK, LIN H, et al. Visible-near-infrared transmission

- spectra for rapid analysis of the freshness of eggs[J]. Laser Optoelectron Prog, 2013(5):213
- [6] 吴春阳, 卢启鹏, 丁海泉, 等. 利用人体组织液进行近红外无创血糖测量[J]. 光学学报, 2013, 33(11): 189
WU CY, LU QP, DING HQ, *et al.* Noninvasive blood glucose sensing with near-infrared spectroscopy based on interstitial fluid[J]. Acta Opt Sin, 2013, 33(11): 189
- [7] 张益波, 何欢, 孟庆繁, 等. 近红外光谱结合径向基神经网络在云芝菌丝体无损分析中的应用[J]. 光学学报, 2010, 30(12):3552
ZHANG YB, HE H, MENG QF, *et al.* Application of near infrared reflectance spectroscopy-radial basis function neural network for non-destructive determination of coriolus versicolor[J]. Acta Opt Sin, 2010, 30(12):3552
- [8] 刘沐华, 张学工, 孙素琴. 中药材产地的近红外光谱自动鉴别和特征谱段选择[J]. 科学通报, 2005, 50(4):393
LIU MH, ZHANG XG, SUN SQ. Identification of the origin of Chinese medicinal materials by near infrared spectroscopy and selection of characteristic spectral bands[J]. Chin Sci Bull, 2005, 50(4):393
- [9] 周旻, 王天志, 叶利明, 等. 近红外漫反射光谱法测定川产黄柏中小檗碱含量[J]. 光谱学与光谱分析, 2007, 27(8):1527
ZHOU M, WANG TZ, YE LM, *et al.* Determination of berberine in *Phellodendron chinense* Schneid. from Sichuan using near infrared diffuse reflectance spectroscopy[J]. Spectrosc Spect Anal, 2007, 27(8):1527
- [10] ILDIKO E, FRANK JH, KALIVAS BR, *et al.* Partial least squares solutions formulticomponent analysis[J]. Anal Chem, 1983, 55(11):1800
- [11] RICHARD GB. Chemometrics: Data Analysis for the Laboratory and Chemical Plant[M]. Chichester: John Wiley & Sons Ltd, 2003
- [12] 刘燕德, 应义斌. 傅里叶近红外光谱的雪青梨酸度偏最小二乘法定量分析[J]. 光谱学与光谱分析, 2006, 26(8):1454
LIU YD, YING YB. The pear acidity quantified analysis using PLS methods and fourier transform near infrared spectroscopy[J]. Spectrosc Spect Anal, 2006, 26(8):1454
- [13] 郭伟良, 张卓勇, 逯家辉, 等. 近红外光谱法在蛹虫草诱变筛选及其发酵条件优化中应用[J]. 光谱学与光谱分析, 2010, 30(8):2077
GUO WL, ZHANG ZY, LU JH, *et al.* Application of near infrared spectroscopy in screening *Cordyceps militaris* mutatioh strains and optimizing their fermentation process[J]. Spectrosc Spect Anal, 2010, 30(8):2077
- [14] 王黎明, 夏文水. 蒽酮-硫酸法测定茶多糖含量的研究[J]. 食品科学, 2005, 26(7):185
WANG LM, XIA WS. Determination of TPS by improvement of anthrone-sulfuric acid method[J]. Food Sci, 2005, 26(7):185
- [15] 刘海霞, 赵雁武, 王峰, 等. 植物甾醇中三萜类化合物的含量测定[J]. 食品工业科技, 2008, 29(6):280
LIU HX, ZHAO YW, WANG F, *et al.* Determination of triterpernioid in phytocholesterol by spectrophotometric[J]. Sci Technol Food Ind, 2008, 29(6):280

(本文于2017年2月21日收到)