

# 蛹虫草栽培基质的模型优化研究

金凌云<sup>a</sup>, 杜双田<sup>b</sup>, 马璐<sup>b</sup>, 荆留萍<sup>b</sup>, 李惠君<sup>a</sup>

(西北农林科技大学 a. 资源环境学院, b. 生命科学学院, 陕西 杨凌 712100)

**【摘要】**【目的】对蛹虫草人工栽培的栽培基质进行优化。【方法】以蛹虫草菌株 CDM-003 为供试材料, 采用 400 mL 玻璃罐头瓶为栽培容器, 研究了蚕蛹粉、基质含水率、葡萄糖、蛋白胨和微量元素添加剂对蛹虫草子座生物学效率的影响。通过建立数学模型, 确定蛹虫草人工栽培中上述几种常用基本基质用量与子座生物学效率之间的函数关系。【结果】确定了基质中各主要成分的最佳用量为: 蚕蛹粉 0.156 g/g, 葡萄糖 12.19 g/L, 蛋白胨 10 g/L, 基质含水率 66.75%, 微量元素添加剂 25 g/L。【结论】蚕蛹粉用量、基质含水率及栽培营养液中葡萄糖、蛋白胨、微量元素添加剂的含量对蛹虫草的生物学效率具有显著的影响。

**【关键词】** 蛹虫草; 培养基质; 数学模型; 正交多项式回归

**【中图分类号】** Q935; S567.3<sup>+</sup>5

**【文献标识码】** A

**【文章编号】** 1671-9387(2009)11-0175-05

## Optimization on mathematical model of basic medium of *Cordyceps militaris* cultivation

JIN Ling-yun<sup>a</sup>, DU Shuang-tian<sup>b</sup>, MA-Lu<sup>b</sup>, JING Liu-ping<sup>b</sup>, LI Hui-jun<sup>a</sup>

(a. College of Resources and Environment, b. College of Life Sciences, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

**Abstract:** 【Objective】 The study was to optimize the cultivated medium of *Cordyceps militaris*.

【Method】 The effects of silkworm chrysalis powder, glucose, peptone, water and trace element additive on stroma biological efficiency of *Cordyceps militaris* were studied with *Cordyceps militaris* CDM-003 as the test material, which was cultivated in 400 mL cans in this study. The functional relationship between these several kinds of common medium components and the stroma biological efficiency was fitted by mathematic model. 【Result】 The optimum medium was: 0.156 g/g silkworm chrysalis powder, 12.19 g/L glucose, 10 g/L peptone, 66.75 % water and 25 g/L trace element additive. 【Conclusion】 The effects of silkworm chrysalis powder, glucose, peptone, water and trace element additive on stroma biological efficiency of *Cordyceps militaris* were significant and the key to increase the yield of stroma of *Cordyceps militaris* was the optimum combination of all the above factors.

**Key words:** *Cordyceps militaris*; cultivation medium; mathematical model; orthogonal polynomial regression

冬虫夏草 [*Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc.] 是我国传统的名贵中药材, 它与人参、鹿茸并誉为三大补药。中医认为其药性甘、温, 归肾、肺经, 有补肾填精, 滋阴益气之功效。蛹虫草 [*Cordyceps milita-*

*ris* (Lex. Fr.) Link], 又称北冬虫夏草, 为子囊菌亚门 (Ascomycotina), 核菌纲 (Pyrenomycetes), 麦角菌目 (Clavicipitales), 麦角菌科 (Clavicipitaceae), 虫草属 (*Cordyceps*) 真菌<sup>[1]</sup>, 与冬虫夏草同属异种。蛹

\* [收稿日期] 2009-02-26

[基金项目] 陕西杨凌示范区农业科技专项基金项目 (YLTG2006-2-23)

[作者简介] 金凌云 (1985-), 女, 山东淄博人, 在读硕士, 主要从事资源微生物研究。E-mail: jinlingyun@163.com

[通信作者] 杜双田 (1961-), 男, 陕西扶风人, 副教授, 主要从事食用与药用真菌研究。E-mail: dst6107@126.com

虫草以其较好的抗肿瘤<sup>[2-3]</sup>、抗病毒<sup>[4]</sup>、抗菌消炎<sup>[5]</sup>、抗疲劳及增强机体免疫力<sup>[6]</sup>等作用愈来愈受到人们的关注。大量的药物化学、物理及临床研究表明,蛹虫草的药效与冬虫夏草极为相似<sup>[7]</sup>,其主要药用成分虫草素、虫草酸、虫草多糖含量及 SOD 活性等均高于冬虫夏草<sup>[8-10]</sup>,因此其可用作冬虫夏草的替代品。但由于蛹虫草野生资源极少,天然药材来源十分有限,价格昂贵,因此人工栽培蛹虫草具有特殊的意义。关于蛹虫草的栽培研究虽有 20 余年历史,但由于种种原因,栽培技术发展缓慢,生物学效率低且不稳。为了提高人工栽培条件下蛹虫草的子座产量,本试验采用正交多项式回归方法,对蛹虫草几种常用基质进行了研究,探明各基质用量与子座产量的函数关系,寻求蛹虫草栽培基本基质的最佳用量,旨在为蛹虫草的规模化生产提供参考依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

1.1.1 菌 种 蛹虫草菌种 CDM-003,由西北农林科技大学生命科学院提供。

1.1.2 材 料 大米、玉米粗粉、蚕蛹粉、蛋白胨、微量元素添加剂(此添加剂为自行研制产品)等;栽培容器为 400 mL 的玻璃罐头瓶。

### 1.2 方 法

1.2.1 基础培养基<sup>[11]</sup> 蛋白胨 10 g,葡萄糖 10 g,磷酸二氢钾 2 g,硫酸镁 1 g,蒸馏水 1 000 mL (pH=6.5)。

1.2.2 栽培方法 采用常规熟料瓶栽方法进行<sup>[11]</sup>。发菌条件:温度 15~18 ℃,空气相对湿度 70%~80%,光照强度 300~400 lx;转色与原基形成条件:温度 18~21 ℃,空气相对湿度 85%~95%,光照强度 800~1 000 lx;子座生长条件:温度 15~18 ℃,空气相对湿度 85%~95%,光照强度 800~1 000 lx;所有栽培瓶随机堆放,并定期调换堆放位置,保持温度、光照均匀,整个培养过程保持栽培室内空气新鲜。

1.2.3 不同试验因素对蛹虫草子座产量的影响

(1)蚕蛹粉用量。以基础培养基为栽培营养液,大米、玉米粗粉、蚕蛹粉为固体栽培料,按常规方法栽培。每栽培瓶(400 mL)分装大米 30 g、玉米粗粉 2 g,并用不同水平的蚕蛹粉用量替换相同质量的大米,蚕蛹粉用量分别为 0.031,0.063,0.094,0.125 和 0.156 g/g,每瓶添加栽培营养液 45 mL。子座成熟后采集称质量,并计算子座生物学效率。子座生

物学效率/%=(子座产量/培养料干质量)×100%。每个试验水平重复 50 瓶。

(2)栽培基质含水率。每瓶添加固体栽培料 32 g(大米 27 g,蚕蛹粉 3 g,玉米粗粉 2 g,下同),栽培营养液用量分别为 36,42,48,54 和 60 mL/瓶,即含水率分别为 57.65%,61.08%,64.00%,66.51%和 68.70%,子座成熟后采集称质量,并计算子座生物学效率。每个试验水平重复 50 瓶。

(3)葡萄糖用量。以不含葡萄糖的基础培养基作为栽培营养液,分别添加一定量的葡萄糖,使其质量浓度分别为 0,5,10,15 和 20 g/L,每栽培瓶分装固体栽培料 32 g,栽培营养液用量为 45 mL,子座成熟后采集称质量,并计算子座生物学效率。每个试验水平重复 50 瓶。

(4)蛋白胨用量。以不含蛋白胨的基础培养基作为栽培营养液,分别添加蛋白胨,使其含量分别为 0,5,10,15 和 20 g/L,每栽培瓶分装固体栽培料 32 g,栽培营养液 45 mL,子座成熟后采集称质量,并计算子座生物学效率。每个试验水平重复 50 瓶。

(5)微量元素添加剂用量。在基础培养基中加入微量元素添加剂作为栽培营养液,并使其含量分别为 5,10,15,20 和 25 g/L,每栽培瓶分装固体栽培料及栽培营养液分别为 32 g、45 mL,子座成熟后采集称质量,并计算子座生物学效率。每个试验水平重复 50 瓶。

### 1.3 数 据 分 析

试验数据采用正交多项式回归法<sup>[12]</sup>及 DPS 数据统计分析软件进行统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 蚕蛹粉用量对蛹虫草子座生物学效率的影响

培养基中蚕蛹粉用量对蛹虫草子座生物学效率的影响见表 1。

采用 DPS 数据处理得蚕蛹粉用量( $x_1$ )与子座生物学效率( $\hat{y}_1$ )之间的函数关系如下:

$$\hat{y}_1 = 63.0109 - \frac{0.688929}{x_1} \quad (1)$$

经检验,方程(1)达到极显著水平。由方程(1)可得试验条件下子座生物学效率的预测值(表 1)。

由表 1 可见,随着蚕蛹粉用量的增加,子座生物学效率的增加幅度较大,表明在蛹虫草栽培基质中添加蚕蛹粉是非常必要的。在生产实践中发现,如果栽培基质中蚕蛹粉的用量过大,蛹虫草子座的腥味也较大,另外由于市售蚕蛹中僵蚕较多,如果粉碎

的颗粒较大,会影响灭菌效果,粉碎的颗粒较小又会影响栽培基质的透气性。因此,在不影响基质通气

性及子座质量的情况下,栽培时可以适当增加蚕蛹粉的用量,以 0.156 g/g 为其最佳用量。

表 1 蚕蛹粉用量对蛹虫草子座生物学效率的影响

Table 1 Effect of silkworm chrysalia content in medium on stroma biological efficiency of *Cordyceps militaris*

试验编号 Treatment code	蚕蛹粉用量/(g·g <sup>-1</sup> ) Silkworm chrysalia content	子座生物学效率/% Stroma biological efficiency	
		实测值 Tested value	预测值 Predicted value
1	0.031	40.81	43.42
2	0.063	50.46	48.08
3	0.094	51.37	51.04
4	0.125	58.24	53.25
5	0.156	58.33	55.02

## 2.2 栽培基质含水率对蛹虫草子座生物学效率的影响

栽培基质含水率对蛹虫草子座生物学效率的影响见表 2。

借助多项式回归查表计算<sup>[12]</sup>得栽培基质含水率( $x_2$ )与蛹虫草子座生物学效率( $y_2$ )之间的函数关系为:

$$\hat{y}_2 = -106.26154 + 33.5207x_2 - 0.251096x_2^2 \quad (2)$$

通过检验可知该方程拟合程度较好,置信度达 95% 以上。

对方程(2)求导得: $x_{2\max} = 66.75\%$ 。由方程(2)可得试验条件下子座生物学效率的预测值(表 2)。

由表 2 和方程(2)可知,随着基质水分含量的增加,子座生物学效率迅速增加,当基质含水率达到 64.00% 以后,子座的生物学效率增加幅度趋于缓慢;基质含水率为 66.75% 时,子座生物学效率最高;基质含水率大于 66.75% 时,子座生物学效率逐渐下降。结果表明,基质含水率对蛹虫草子座的生长具有较大的影响,在试验条件下进行蛹虫草栽培时,基质含水率以 66.75% 为最佳。

表 2 基质含水率对蛹虫草子座生物学效率的影响

Table 2 Effect of water content on stroma biological efficiency of *Cordyceps militaris*

试验编号 Treatment code	基质含水率/% Water content	子座生物学效率/% Stroma biological efficiency	
		实测值 Tested value	预测值 Predicted value
1	57.65	36.07	35.33
2	61.08	46.38	48.06
3	64.00	53.92	54.21
4	66.51	58.81	56.10
5	68.70	53.68	55.17

## 2.3 葡萄糖用量对蛹虫草子座生物学效率的影响

栽培培养液中葡萄糖用量对蛹虫草子座生物学效率的影响见表 3。

采用正交多项式计算得到葡萄糖用量( $x_3$ )与子座生物学效率( $y_3$ )的回归方程为:

$$\hat{y}_3 = 26.1057 + 3.6291x_3 - 0.148886x_3^2 \quad (3)$$

表 3 葡萄糖用量对蛹虫草子座生物学效率的影响

Table 3 Effect of glucose content in medium on stroma biological efficiency of *Cordyceps militaris*

试验编号 Treatment code	葡萄糖用量/(g·L <sup>-1</sup> ) Glucose content	子座生物学效率/% Stroma biological efficiency	
		实测值 Tested value	预测值 Predicted value
1	0	24.80	26.11
2	5	42.58	40.53
3	10	49.19	47.51
4	15	42.75	47.04
5	20	41.00	39.13

## 2.4 蛋白胨用量对蛹虫草子座生物学效率的影响

栽培培养液中蛋白胨用量对蛹虫草子座生物学效率的影响见表 4。

对方程(3)求导得: $x_{3\max} = 12.19(\text{g/L})$ 。

由表 3 和方程(3)可知,随着葡萄糖用量的增加,子座生物学效率增加幅度较大,当葡萄糖添加量为 12.19 g/L 时,子座生物学效率最高;葡萄糖添加量大于 12.19 g/L 时,子座生物学效率逐渐下降。因此,葡萄糖的最佳用量为 12.19 g/L。

计算蛹虫草栽培培养液中蛋白胨用量( $x_4$ )与子座生物学效率( $y_4$ )之间的回归方程为:

$$\hat{y}_4 = \frac{48.579}{1 + e^{1.0789 - 0.3922457x_4}} \quad (4)$$

由方程(4)可得子座生物学效率的预测值(表4)。由表4可见,在试验条件下栽培蛹虫草时,基质

中适当加入蛋白胨能迅速提高蛹虫草子座生物学效率,当蛋白胨用量 $\geq 10$  g/L时,子座生物学效率增加缓慢且趋于稳定。因此,基质中蛋白胨的最佳用量为10 g/L。

表 4 蛋白胨用量对蛹虫草子座生物学效率的影响

Table 4 Effect of peptone content in medium on stroma biological efficiency of *Cordyceps militaris*

试验编号 Treatment code	蛋白胨用量/(g·L <sup>-1</sup> ) Peptone content	子座生物学效率/% Stroma biological efficiency	
		实测值 Tested value	预测值 Predicted value
1	0	12.77	12.32
2	5	33.53	34.37
3	10	47.74	45.91
4	15	47.68	48.19
5	20	47.78	48.52

## 2.5 微量元素添加剂用量对蛹虫草子座生物学效率的影响

微量元素添加剂用量对蛹虫草子座生物学效率的影响见表5。

经计算,微量元素添加剂( $x_5$ )与子座生物学效率( $y_5$ )之间呈指数函数关系:

$$\hat{y}_5 = 15.148 1x_5^{0.632268} \quad (5)$$

经检验该方程达到极显著水平,由方程(5)得子

座生物学效率的预测值(表5)。由表5和方程(5)可知,随着微量元素添加剂用量的增加,蛹虫草子座生物学效率逐渐升高,且二者之间呈指数函数关系,但子座生物学效率仍在持续上升,尚未达最大值,还有增产潜力,说明该微量元素添加剂对蛹虫草子座生物学效率的提高影响较大,在生产中有重要的应用价值。因此,基质中微量元素添加剂最佳用量初步定为25 g/L。

表 5 微量元素添加剂用量对蛹虫草子座生物学效率的影响

Table 5 Effect of trace element additive content in medium on stroma biological efficiency of *Cordyceps militaris*

试验编号 Treatment code	微量元素添加剂用量/(g·L <sup>-1</sup> ) Trace element additive	子座生物学效率/% Stroma biological efficiency	
		实测值 Tested value	预测值 Predicted value
1	5	44.50	49.43
2	10	60.62	61.24
3	15	79.50	75.89
4	20	112.86	94.03
5	25	110.07	116.50

## 3 讨论

由于蛹虫草的寄主以鳞翅目昆虫为主,家蚕也隶属鳞翅目,且蛹虫草能在人工接种的家蚕蛹上正常生长,完成自己的生活史,表明蚕体的营养完全能满足蛹虫草生长的需要,因此在人工栽培蛹虫草时,蚕蛹是不可缺少的基本原料。然而规模化生产的蚕蛹中含有大量僵蚕,所以直接添加蚕蛹会导致培养基灭菌困难,造成培养基灭菌不彻底或培养基变成糊状而影响其透气性,所以在生产中,一般使用蚕蛹粉。刘华晶等<sup>[13]</sup>的研究结果表明,北虫草在添加了少量蚕蛹粉等营养物质的培养料中生长较好。在规模化生产中,蚕蛹粉的用量太大会影响基质的透气性,增加子座的腥味,影响产品的商品价值,增加生产成本,因此蚕蛹粉用量的选择应严格控制。本研究中,蚕蛹粉添加量以0.156 g/g为宜,这与陈德育等<sup>[14]</sup>的研究结果相似。但从本试验的结果看,增加

蚕蛹粉的用量对子座的增产潜力较大。因此,可考虑对蚕蛹粉进行脱腥处理后添加。

在蛹虫草生长过程中水分容易散失,从而影响子座的形成与生长;但基质含水率过大又会导致培养基灭菌时变成糊状,影响基质的透气性,从而影响菌丝生长及子座产量。本试验结果表明,在蛹虫草的栽培中,基质含水率以64%~69%为宜,以66.75%最佳。郑树生等<sup>[15]</sup>的研究表明,北虫草在料水比为1:1.35(即含水率为57.45%)的培养料中生长最好;刘华晶等<sup>[13]</sup>指出,北虫草基质的适宜含水量为培养基料水比为1:1.4(含水率为58.33%)。

葡萄糖虽然是蛹虫草生长的最适碳源<sup>[16]</sup>,但栽培基质中葡萄糖的用量不宜太大,适量添加对提高子座生物学效率的效果非常明显。本研究中,当葡萄糖用量超过12.19 g/L时,反而会降低子座生物学效率,其原因为:(1)葡萄糖质量浓度较大时,在灭菌过程中产生的酸量大,导致基质的pH下降幅度较大,

从而影响发菌及子座的分化与生长;(2)葡萄糖质量浓度较大时,易引起杂菌污染,影响产量;(3)葡萄糖质量浓度较大时,菌丝生长快,气生菌丝旺盛而浓密,不易转色而影响子座的形成。

蛹虫草属嗜蛋白真菌,在栽培基质中添加少量蛋白胨能迅速提高子座的产量,随着蛋白胨用量的增加,逐渐满足蛹虫草生长繁殖需要时,其增产效应逐渐减弱。由本试验结果可见,在培养基中添加 0~10 g/L 蛋白胨,能迅速提高子座生物学效率,当蛋白胨添加量 $\geq 10$  g/L 时,子座生物学效率的增加幅度很小,所以蛋白胨的适宜用量为 10 g/L。

为了提高蛹虫草的子座产量及个体体积,人工栽培时需要添加多种微量矿物元素、维生素等物质,将这些微量物质通过合理的配比制成营养添加剂,加入培养基中,既可以避免多种微量元素逐个添加时的不便,又能补充基本基质中营养的不足,最大限度地满足了蛹虫草生长发育的需求。本研究中,微量元素添加剂可以较大幅度地提高蛹虫草子座产量,也说明该添加剂符合蛹虫草的营养需求。关于该添加剂的最佳用量还有待于进一步研究。

## [参考文献]

- [1] 黄年来. 中国大型真菌原色图谱 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.  
Huang N L. Edible fungi cyclopedia [M]. Beijing: China Agricultural Press, 1998. (in Chinese)
- [2] Yoshida J. Antitumor activity of an extract of *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc. against murine tumor cell lines [J]. Japan J Exp Med, 1989, 59(4): 157.
- [3] Ionnidis P, Courtis N, Havredaki M, et al. The polyadenylation inhibitor cordycepin cause a decline in c-MYC mRNA levels without effecting c-MYC protein level [J]. Oncogene, 1999, 18(1): 117-125.
- [4] Yuh-Chi K. *Cordyceps sinensis* [J]. American Journal of Chinese Medicine, 1996, 24(2): 111-125.
- [5] 焦彦朝, 梁宗琦, 刘爱英, 等. 虫草生物活性物质研究概况 [J]. 贵州农业科学, 1990(3): 53-54.  
Jiao Y C, Liang Z Q, Liu A Y, et al. Metabolites with biological activity in the genus *Cordyceps* and its anamorph [J]. Guizhou Agricultural Sciences, 1990(3): 53-54. (in Chinese)
- [6] Zhou X X, Claudius U, Schmidtke P, et al. Effect of cordycepin on interleukin-10 productions of human peripheral blood mononuclear cells [J]. European Journal of Pharmacology, 2002, 453: 309-317.
- [7] 韦会平, 肖波, 胡开治. 蛹虫草药用价值考 [J]. 中药材, 2004, 27(3): 215-217.  
Wei H P, Xiao B, Hu K Z. Medicinal value of *Cordyceps militaris* [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2004, 27(3): 215-217. (in Chinese)
- [8] 张显科, 王玉柱, 刘文霞. 蛹虫草与冬虫夏草化学成分比较 [J]. 辽宁大学学报, 1996, 23(4): 20-23.  
Zhang X K, Wang Y Z, Liu W X. A Comparative on chemical constituents in *Cordyceps militaris* (L. EX FR.) Link and *Cordyceps sinensis* (BERK.) Sacc. [J]. Journal of Liaoning University, 1996, 23(4): 20-23. (in Chinese)
- [9] 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.  
Zhang P, Zhu S J, Qian D S, et al. Functional and health action analysis of *Cordyceps militaris* [J]. Jiangsu Agricultural Science, 2003(6): 105-107. (in Chinese)
- [10] 张绪璋, 周以飞, 吴忠伟, 等. 北冬虫夏草 C-58 菌株的生物学特性 [J]. 福建农林大学学报: 自然科学版, 2005, 34(1): 56-58.  
Zhang X Z, Zhou Y F, Wu Z W, et al. Biological character of *Cordyceps militaris* C-58 [J]. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University: Natural Science Edition, 2005, 34(1): 56-58. (in Chinese)
- [11] 杜双田, 贾探民. 蛹虫草、灰树花、天麻高产栽培技术 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2002.  
Du S T, Jia T M. High-yielding cultivation techniques of *Cordyceps militaris*, *Grifola frondosa* and *Gastrodia elata* [M]. Beijing: China Agricultural Press, 2002. (in Chinese)
- [12] 任露泉. 试验优化技术 [M]. 2 版. 北京: 机械工业出版社, 1987.  
Ren L Q. Experimental optimization technique [M]. 2nd ed. Beijing: Machine Press, 1987. (in Chinese)
- [13] 刘华晶, 许修宏, 高士刚. 不同培养基对北虫草生长的影响 [J]. 东北农业大学学报, 2004, 35(3): 325-328.  
Liu H J, Xu X H, Gao S G. The effect of different media on the growth of *Cordyceps militaris* [J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2004, 35(3): 325-328. (in Chinese)
- [14] 陈德育, 雷怀玉, 来航线. 蚕蛹粉与  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  不同添加量对北虫草商品性状及转化率影响试验 [J]. 陕西农业科学, 2006(6): 95.  
Chen D Y, Lei H Y, Lai H X. Effect on commodity character and conversion with different adding amount of pupa powder and  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  [J]. Shanxi Agricultural Science, 2006(6): 95. (in Chinese)
- [15] 郝树生, 徐冲, 韩宁宁, 等. 北虫草人工栽培培养基最佳碳源筛选 [J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2008, 20(1): 8-11.  
Zheng S S, Xu C, Han N N, et al. Optimum carbon source screening of *Cordyceps militaris* medium in artificial condition [J]. Journal of Heilongjiang August First Land Reclamation University, 2008, 20(1): 8-11. (in Chinese)
- [16] 陈俐彤, 曹红峰, 黄文芳. 蛹虫草的化学成分、药效及应用 [J]. 现代食品科技, 2005, 21(3): 192-197.  
Chen L T, Cao H F, Huang W F. Chemical composition, pharmacological effect and application of *Cordyceps militaris* [J]. Guangzhou Food Science and Technology, 2005, 21(3): 192-197. (in Chinese)