

# 生乳中豆浆、米汤掺假鉴别及其定量测定

Identification and quantitative analysis of soybean milk and rice milk in raw milk

方宣启<sup>1</sup> 杨代明<sup>2</sup> 刘岚松<sup>1</sup>

FANG Xuan-qi<sup>1</sup> YANG Dai-ming<sup>2</sup> LIU Lan-song<sup>1</sup>

周彬彬<sup>1</sup> 张娟<sup>2</sup> 张继红<sup>1</sup>

ZHOU Bin-bin<sup>1</sup> ZHANG Juan<sup>2</sup> ZHANG Ji-hong<sup>1</sup>

(1. 湖南省食品质量监督检验研究院, 湖南 长沙 410111; 2. 湖南省振华食品检测研究院, 湖南 长沙 410111)

(1. Hunan Institute of Food Quality Supervision Inspection and Research, Changsha, Hunan 410111, China;

2. Hunan Zhenhua Institute of Food Inspection and Research, Changsha, Hunan 410111, China)

**摘要:**为鉴别生乳掺假,采用非线性化学指纹图谱技术,建立基于“溴酸钠+硫酸锰+硫酸+丙酮”稳态体系的不同奶源地的纯生乳及掺入不同量豆浆、米汤的生乳的非线性化学指纹图谱,利用指纹图谱的直观特征信息能很好地将掺豆浆、米汤的生乳鉴别出来,并能对掺假物的种类进行判断。根据掺假生乳指纹图谱参数信息与掺假量的关系,可对生乳中掺入豆浆、米汤的相对含量进行评估。非线性化学指纹图谱技术为原料乳中豆浆、米汤的掺假鉴别及掺入物质的相对含量的评价提供了一种新的方法。

**关键词:**非线性化学指纹图谱;生乳;掺假鉴别;定量测定

**Abstract:** In order to identify raw milk, nonlinear chemical fingerprint of raw milk from different areas and that mixed with different content of soybean milk or rice water was established based on the steady system of “sodium bromate + manganese sulfate + Sulfate + acetone” by using nonlinear fingerprint technique. The raw milk samples that incorporated with soybean milk or rice water could be identified, and the adulterant could be judged by the characteristic information of their nonlinear chemical fingerprint. According to the relationship of parameter information and adulterant content, the relative global content of soybean milk or rice water could be measured. This may provide a new method for identification of raw milk mixed with soybean milk or rice water and evaluation of the adulterant relative content.

**Keywords:** nonlinear chemical fingerprint; raw milk; identify; quantitative analysis

**基金项目:**湖南省科技厅社会发展支撑计划(编号:2014SK2016)

**作者简介:**方宣启,男,湖南省食品质量监督检验研究院工程师,硕士。

**通信作者:**杨代明(1963—),男,湖南省振华食品检测研究院研究员级高工,硕士, E-mail: 597353489@qq.com

**收稿日期:**2016-07-28

乳及乳制品是人们生活中不可或缺的高营养价值的食品,除母乳外,奶粉是婴幼儿早期的唯一营养来源,其质量对孩子的生命安全至关重要。然而近年来,“三鹿奶粉事件”、安徽阜阳的“劣质奶粉事件”以及最近的“皮革奶”等乳品安全事件让人刻骨铭心,重创中国乳业的商业信誉。造成这些事件的一个重要原因就是生乳的质量控制不过关。一些不良商家为了牟取更多利益,常往生乳中掺入豆浆、豆饼水、米汤、淘米水等与生乳外观形状相似的物质,为掩盖酸败变质现象或提高含氮量,又常被掺入碱、尿素、食盐、植脂末、油脂粉、胺盐、水解蛋白粉、挥发性氮等物质。因此,如何能在奶源上把生乳掺假问题控制住是解决中国奶粉信任危机的当务之急。

指纹图谱是目前国际公认的中药鉴别和质量控制方法。近年来,建立中药指纹图谱所涉及的方法众多,主要包括:高效液相色谱法<sup>[1-3]</sup>、薄层色谱法<sup>[4]</sup>、气相色谱法<sup>[5-6]</sup>、高效毛细管电泳<sup>[7]</sup>、化学振荡法<sup>[8]</sup>、红外光谱法<sup>[9]</sup>、X射线衍射法<sup>[10]</sup>、DNA法<sup>[11]</sup>等。其中,色谱指纹图谱由于具有分离效能高、选择性好、检测灵敏度高、既可定性又可定量的特点,研究最为深入应用最为广泛。但也有其局限性:如色谱指纹图谱测定前必须对其有效成分进行分离、提取等预处理,操作繁琐、耗时耗力、试剂消耗量大、分析成本高。所提取的成分只是分析样本的部分化学组分,不能代表所有的有效成分且不同的提取方法获得的化学组分也不一样,因此色谱指纹图谱实际上只是部分化学成分的群集表征。如气相色谱指纹图谱表征的是分析样本的挥发性组分,液相色谱指纹图谱也仅表征溶于提取剂的化学组分。另外,色谱指纹图谱因色谱峰形变化少,直观特征性不强,一般需用主成分分析、相似度计算等数学方法处理后方能实现鉴别的目的。同时,利用色谱峰的保留时间和峰强度仅能对单一组分进行定性定量

分析,不能对样本活性成分的整体含量及综合效能进行评价。近年来发展起来的DNA掺伪鉴别技术,虽然因具有高效、准确、稳定的优点而广受关注,也取得了较大的研究进展,但检测费用昂贵,且DNA容易降解,很多加工食品不一定能提取出DNA;另外生产者也可以故意降解掺入物质的DNA,这样就达不到鉴别的目的。

非线性化学作为一门新的交叉学科,研究化学反应体系在远离平衡条件下,由体系中非线性过程的作用,所形成的各类非线性动力学行为,包括化学多重态、化学振荡、Turing空间有序结构、化学脉冲波、螺旋波、孤波、化学混沌和化学随机共振等。其中,化学振荡作为非线性化学领域中一种典型现象研究得最为深入,其反应机理<sup>[12-14]</sup>及在单个成分分析检测中的应用<sup>[15-17]</sup>已获得了大量的理论和应用成果,但将非线性化学应用于中药、食品等复杂样本的真伪鉴别及质量控制研究,国外尚无文献报道,中国也才刚刚起步<sup>[18-20]</sup>。非线性化学指纹图谱是基于样本成分参与的整个非线性化学反应过程的动力学信息,是样本成分信息的综合表达,因而能更好地体现样本总体成分及含量和化学性质的差别。

因此,本研究拟以生乳作为反应底物和耗散物,建立纯生乳的非线性化学指纹图谱,就掺入豆浆、米汤的生乳非线性化学指纹图谱及其参数信息进行了研究和讨论。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料与试剂

金属铂电极:213型,上海精密科学仪器有限公司;  
复合甘汞电极:217型,上海精密科学仪器有限公司;  
硫酸、丙酮:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;  
溴酸钠:分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司;  
硫酸锰:分析纯,台山市粤侨试剂塑料有限公司;  
所用生乳样本:湖南优蜜乳业有限公司(常德)及湖南省长沙光明乳业有限公司(望城、武汉)。

### 1.2 仪器与设备

非线性化学指纹图谱智能分析仪:MZ-1A型,湖南尚泰科技有限公司。

### 1.3 试验方法

开启仪器电源,设置搅拌子转速为1 000 r/min,反应器内温度为37.0℃。在反应器中加入适量生乳样本、25.00 mL硫酸溶液(1.00 mol/L)、15.00 mL硫酸锰溶液(0.10 mol/L,以1.00 mol/L硫酸溶液配制)和10.00 mL丙酮溶液(10 mL/100 mL)于反应器中,盖好带注射孔和电极的反应器盖,恒温并开始计时并采集数据。恒速搅拌5.0 min时,通过注射迅速加入5.00 mL溴酸钠溶液(0.80 mol/L),记录E-t曲线至电位E不再随时间t变化为止。

### 1.4 非线性化学指纹图谱的参数信息

生乳非线性化学指纹图谱中可以提取如下参数信息用作分析:①诱导时间( $t_{诱}$ ),即加入溴酸钠至开始发生振荡反应所需的时间;②乳峰电位( $E_{乳峰}$ )和乳峰时间( $t_{乳峰}$ ),乳峰所对应的电位和时间;③振荡周期( $T_{振荡}$ );④振荡次数( $N_{振荡}$ ),即周期性反应的次数;⑤振荡寿命( $t_{振荡}$ ),即发生振荡反应的

时间;⑥起振电位( $E_{起}$ );⑦停振电位( $E_{停}$ )和停振时间( $t_{停}$ );⑧最大振幅( $M_{振幅}$ ),即振荡过程中最大的振荡幅度。

### 1.5 相似度计算

参考文献[19]。

## 2 结果与分析

### 2.1 特征参数的分析

牛奶成分复杂,为耗散底物的物质也较多,因此选择以“ $H^+ + Mn^{2+} + BrO_3^- + CH_3COCH_3$ ”稳态体系(简称丙酮振荡体系),往振荡体系中加入10.00 mL望城产的纯生乳作为耗散底物,获得纯牛乳的非线性化学指纹图谱(见图1),其中包含丰富的特征信息,主要包括:①诱导曲线,即图谱中从加入溴酸钠发生化学反应开始到化学振荡开始之间的部分;②振荡曲线,图谱中化学振荡反应发生时电压E(V)随时间t(s)呈周期性起伏变化;③乳峰,振荡曲线中首先出现的相对独立的形似奶嘴的特征小峰;④振荡波形,即振荡曲线中每个振荡周期对应的直观形状;⑤H峰段:即乳峰之后的第1、2、3个峰形成一个斜的H形状,也即没有第2个峰。对比不同批次不同产地牛乳和掺入豆浆及米汤的非线性化学指纹图谱(图2~5)分析,可见乳峰和H峰是纯牛乳的特征峰。

### 2.2 方法的重复性分析

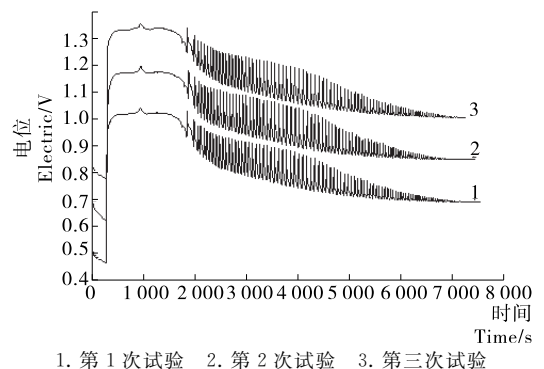
取望城产的生乳样品3份为供试品,平行测定3次考察该方法的重复性,其指纹图谱见图1。由图1可知,3份供试品在相同条件下测得的非线性化学指纹图谱直观形状相似,具有相同的起伏趋势。参数信息也基本相同,其相对标准偏差 $\leq 2.9\%$ (见表1),重现性好。

### 2.3 方法的稳定性分析

取望城产的生乳为供试品,储存在4℃冰箱中,分别在贮藏0,2,8,12,24 h时,加入振荡体系中获得其指纹图谱,以5次试验的参数的平均值为共有模式计算每个图谱的相似度,其值分别为0.998 4,0.999 1,0.998 9,0.997 2,0.998 6,结果表明该供试品24 h内稳定。

### 2.4 不同批次生乳的非线性化学指纹图谱分析

取同一奶源不同批次的生乳样品,编号为:wc20150617、wc20150618、wc20150619建立其非线性化学指纹图谱,见图2。其E-t曲线起伏变化基本一致,振幅略有变化。以3



1. 第1次试验 2. 第2次试验 3. 第三次试验

图1 望城产生乳样品重复性试验

Figure 1 Repetitive experiment of raw milk from Wangcheng

表 1 生乳非线性化学指纹图谱参数信息的重要性的重现性

Table 1 The reproducibility of raw milk nonlinear chemical fingerprint parameters information

| 样品    | $E_{\min}/V$ | $t_{\min}/s$ | $t_{\max}/s$ | $E_{\max}/V$ | $t_{\text{诱}}/s$ | $E_{\text{起}}/V$ | $T_{\text{振荡}}/s$ | $T_{\text{停}}/s$ | $E_{\text{停}}/V$ | $t_{\text{振荡}}/s$ | $M_{\text{振幅}}/V$ |
|-------|--------------|--------------|--------------|--------------|------------------|------------------|-------------------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|
| 生乳-1  | 299          | 0.470 1      | 949          | 1.046 6      | 1 851            | 0.938 4          | 66.4              | 7 032            | 0.697 2          | 5 181             | 0.133 0           |
| 生乳-2  | 294          | 0.471 0      | 960          | 1.046 2      | 1 886            | 0.924 3          | 65.7              | 6 919            | 0.698 3          | 5 034             | 0.140 6           |
| 生乳-3  | 303          | 0.470 4      | 953          | 1.046 8      | 1 855            | 0.937 9          | 66.2              | 7 005            | 0.697 8          | 5 150             | 0.134 9           |
| RSD/% | 1.51         | 0.10         | 0.58         | 0.03         | 1.03             | 0.86             | 0.55              | 0.84             | 0.08             | 1.51              | 2.90              |

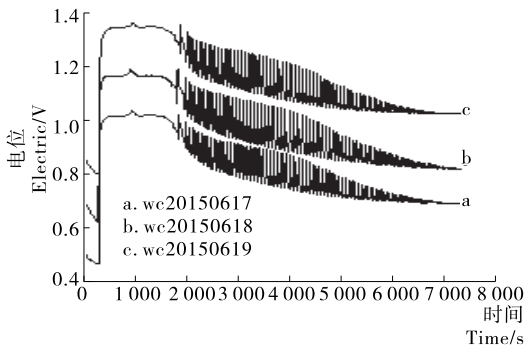


图 2 不同批次的生乳非线性化学指纹图谱

Figure 2 Nonlinear chemical fingerprint of raw milk from different baths

批次获得的指纹图谱的参数平均值为参照,每个图谱的整体相似度值分别为 0.997 2,0.998 1,0.999 4,表明该奶源的生乳质量稳定。

### 2.5 不同奶源地的生乳非线性化学指纹图谱分析

取望城、常德、武汉 3 个奶源地的生乳,分别建立其非线性化学指纹图谱,见图 3。其直观形状整体相似,乳峰出峰时间基本一致,振荡寿命也较接近。但乳峰峰形略有不同,望城产生的生乳乳峰形似标准大括号,武汉产生的生乳乳峰形似变形大括号,常德产生乳乳峰则左右半部分呈不对称状。武汉产生的生乳诱导时间明显比望城和常德产生的生乳短,其原因有待进一步考察。

### 2.6 掺豆浆生乳的检验

牛奶和豆浆外观相近,均为乳白色液体,均为成分复杂、营养丰富的食品,但化学成分的种类、分子结构及含量有明显差异。按九阳豆浆机操作说明量取 1 杯黄豆,1.1 L 水,磨成豆浆并用滤网过滤。取滤液配置成豆浆含量为 10%,

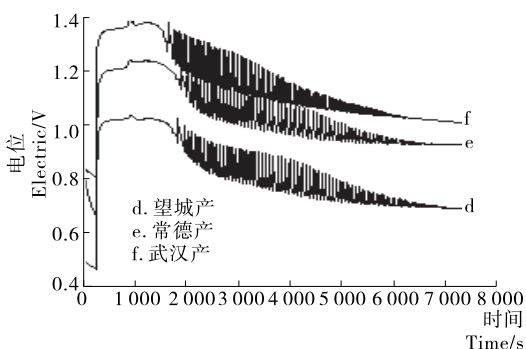


图 3 不同产地的生乳非线性化学指纹图谱

Figure 3 Nonlinear chemical fingerprint of raw milk from different areas

30%,40%,50%,60%,70%,80%的豆浆-生乳溶液建立其非线性化学指纹图谱(图 4)。结果表明,掺入豆浆的生乳溶液指纹图谱有其特征性,并随着掺入量的增加呈现规律性的变化。掺入豆浆的生乳样本非线性化学指纹图谱在加入溴酸钠后无 H 峰段,会出现一个尖锐的乳峰,且出峰时间随豆浆掺入量的增加而减小,最后与起振时间重合(见图 5),根据此特征峰,可判断生乳中掺假物质是豆浆,无需采用模式识别等数学处理方法,直接利用其直观信息就可以实现掺假鉴别。

由图 6~8 可知,在 0%~70% 范围内,随掺入豆浆量的增大以振荡曲线中前 15 次振荡的平均周期计图谱的振荡周期增大(见图 7),诱导时间随之增长(见图 6),振荡次数也随之减少(见图 8),且线性关系好,乳峰时间和振荡次数的回归方程分别为: $t_{\text{乳峰}}=42.89X+1\ 312.89$  和  $N_{\text{振荡}}=-0.827\ 9X+98.8$ ,相关系数  $R$  分别为 0.995 6 和 0.998 3;这些良好的线性关系为预测生乳中掺入豆浆的含量提供了必要条件。当豆浆含量大于 80% 时,体系不发生振荡。考虑到不同产地生乳的诱导时间有些差异而振荡次数相对稳定,因此,在豆浆掺入量小于 70% 时,选择振荡次数( $N_{\text{振荡}}$ )作为计算豆浆掺入量的数学公式。

### 2.7 掺米汤生乳的检验

米汤或淘米水呈白色浑浊状,掺入生乳中仅从外观上不易鉴别。按 1:1.2 比例将大米放入水中,煮 20 min 熬制米汤。取滤液配置成米汤含量为 10%,30%,40%,50%,60%,70%的米汤-生乳溶液建立其非线性化学指纹图谱(图 9)。与生乳指纹图谱比较,掺入米汤的生乳溶液的指纹图谱有明显的差异。加入溴酸钠溶液时无 H 峰段,电位在急剧上升期出现小乳峰,且形状发生变化。当米汤掺入量大于 60% 时,电位迅速上升,无乳峰出现。与掺入豆浆的生乳溶液指纹图谱比较,乳峰出峰时间不同,乳峰形状有特征性差异。据此,可判断生乳中掺入物是豆浆还是米汤。

由图 10、11 可知,振荡周期在 10%~60% 范围内随掺入米汤量的增大而增大,诱导时间也随之增长;振荡次数随豆浆掺入量的增加而减小(见图 12);乳峰时间随米汤掺入量的增加而减小,且有线性关系,乳峰时间的回归方程为: $t_{\text{乳峰}}=1\ 020.03-8.978\ 9X$ ,相关系数  $R$  为 0.995 2(见图 13)。加入 70%~100% 米汤至体系中,反应杯内颜色变为红色, $E-t$  曲线呈直线状,无振荡反应发生。因此,在米汤掺入量 10%~70% 时,选择峰值时间( $t_{\text{乳峰}}$ )作为计算米汤掺入量的数学公式。

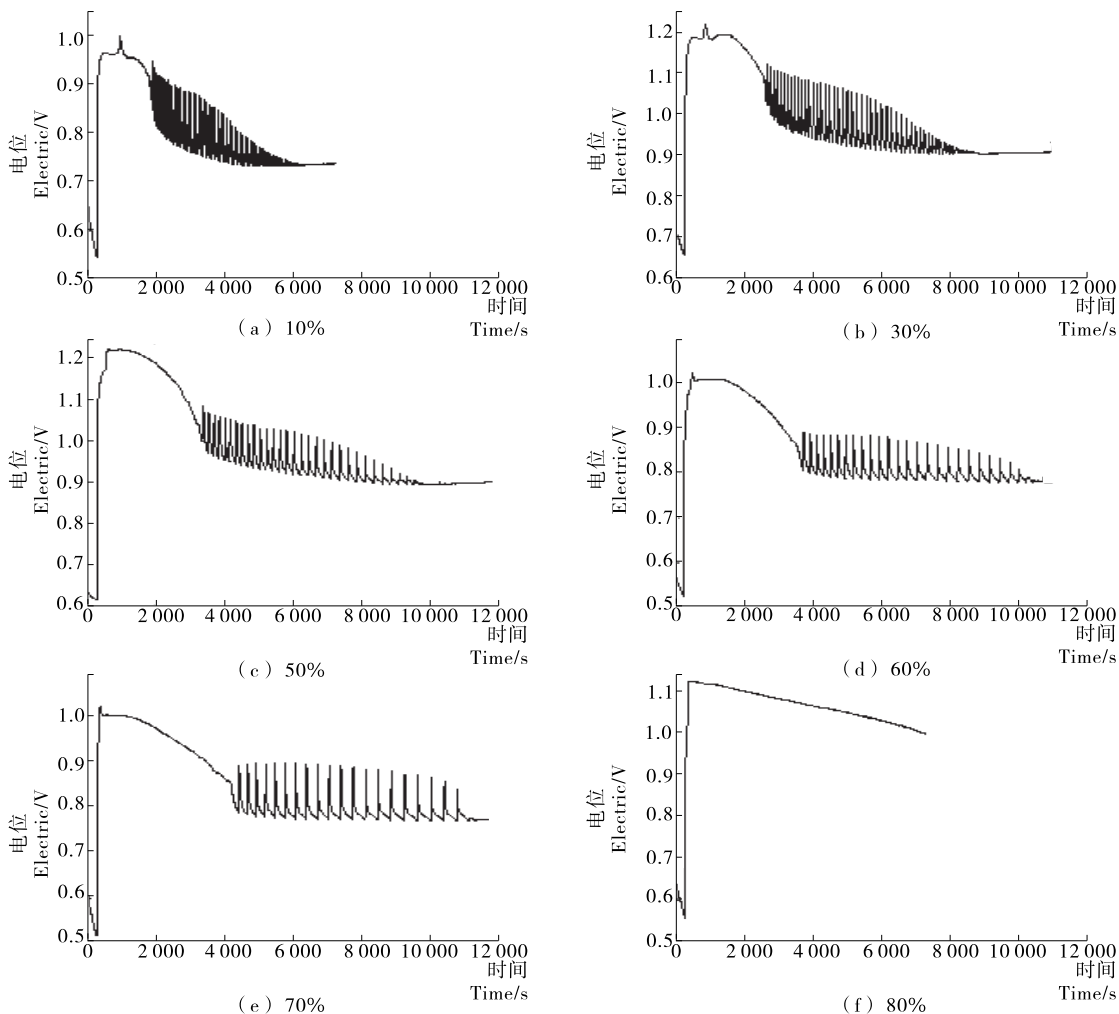


图4 不同掺豆浆量的生乳非线性化学指纹图谱

Figure 4 Nonlinear chemical fingerprint of raw milk with different amount of soybean milk

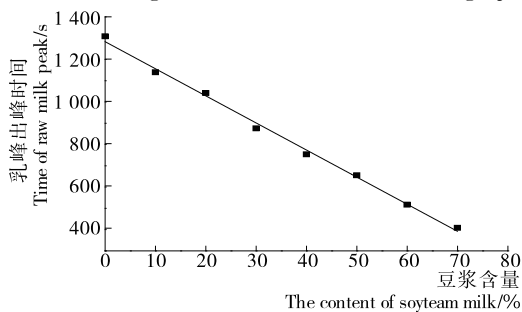


图5 乳峰时间与豆浆含量的关系

Figure 5 The relationship between the maximum value time and soybean milk content

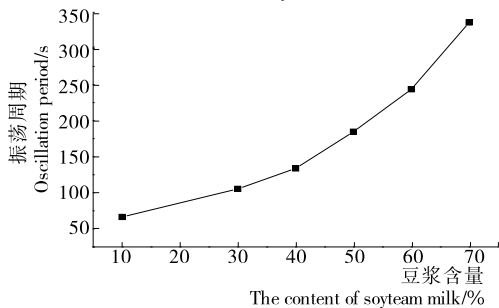


图7 振荡周期与豆浆含量的关系

Figure 7 The relationship between oscillation period of and soybean milk content

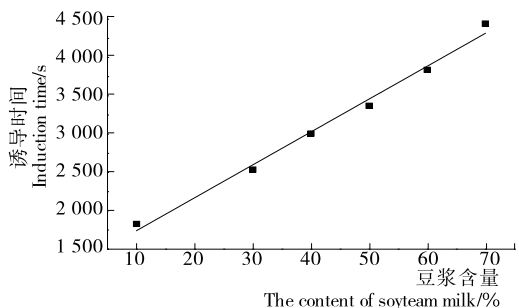


图6 诱导时间与豆浆含量的关系

Figure 6 The relationship between induction time and soybean milk content

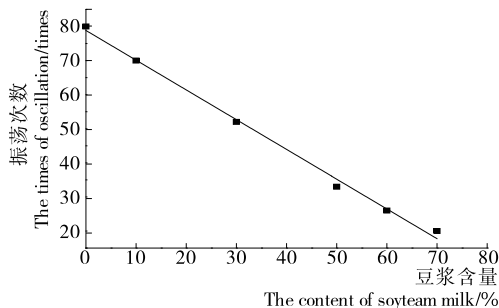


图8 振荡次数与豆浆含量的关系

Figure 8 The relationship between number oscillation and soybean milk content

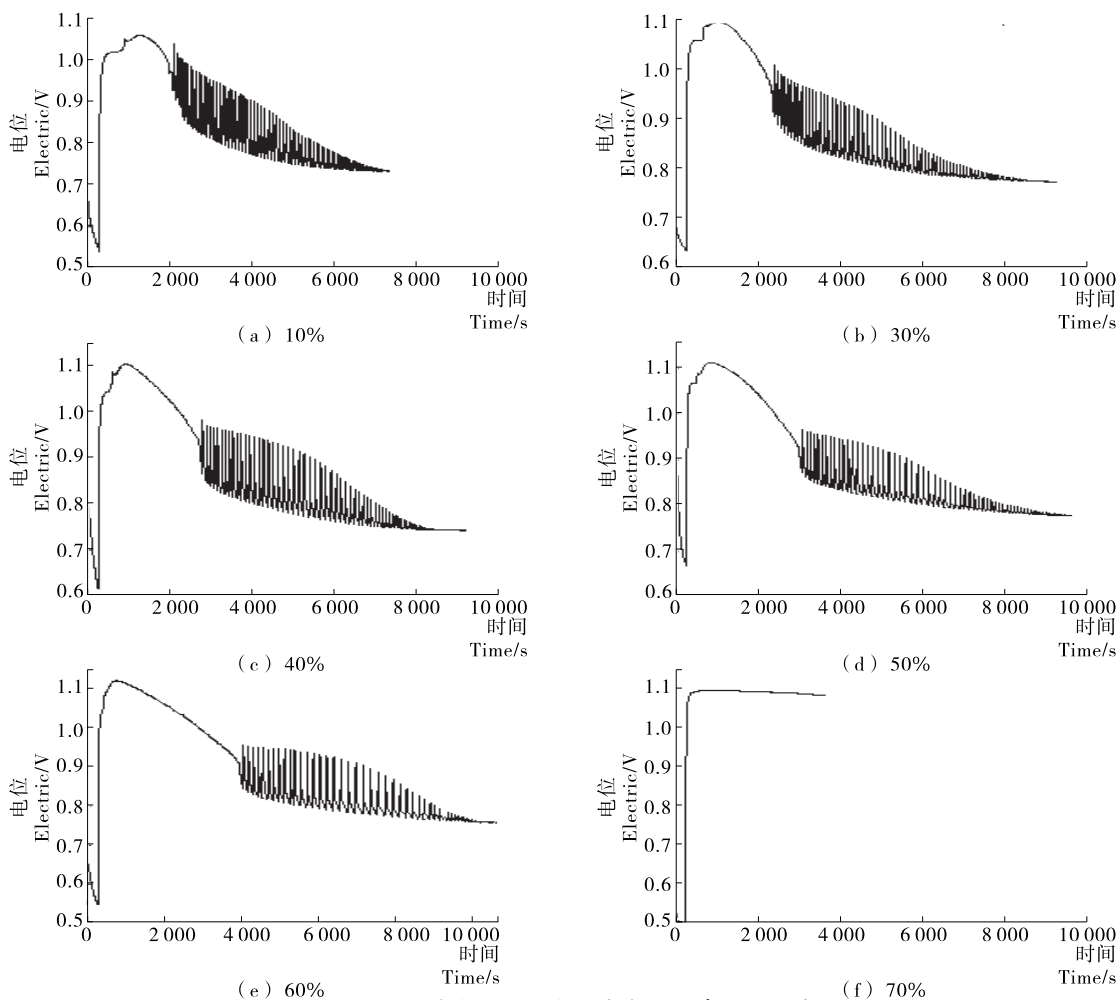


图 9 不同掺米汤量的生乳非线性化学指纹图谱

Figure 9 Nonlinear chemical fingerprint of raw milk with different amount of rice water

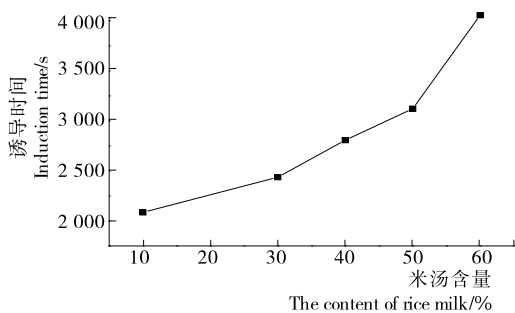


图 10 诱导时间与米汤含量的关系

Figure 10 The relationship between induction time and rice water content

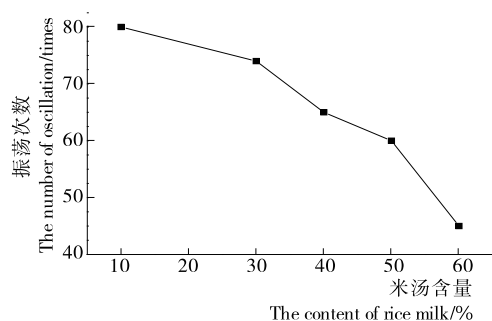


图 12 振荡次数与米汤含量的关系

Figure 12 The relationship between oscillation number and rice water content

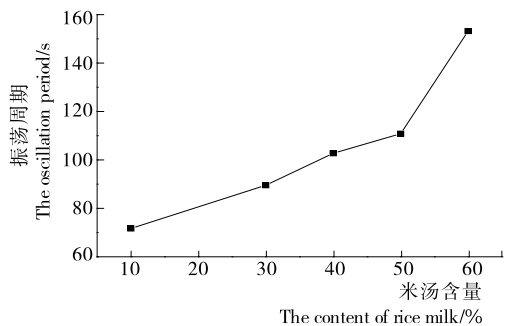


图 11 振荡周期与米汤含量的关系

Figure 11 The relationship between oscillation period and rice water content

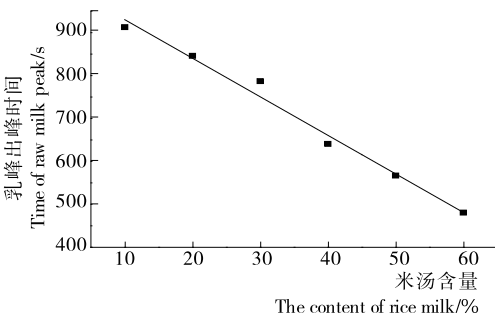


图 13 乳峰出峰时间与米汤含量的关系

Figure 13 The relationship between the maximum value time and rice water content

### 3 结论

非线性化学指纹图谱表征的是包括待测样本参与的振荡体系的一系列非线性化学分样过程中电位随时间的变化情况。掺入豆浆或米汤的生乳样本因其化学成分种类及含量与正常生乳有差异,从乳峰的形状、时间及H峰段的有无即可判断是否掺入了豆浆或米汤,从而能够很好地将掺假生乳鉴别出来。在适当的豆浆或米汤掺入量范围内,样本指纹图谱中的振荡次数(或乳峰时间)与样本掺入豆浆或米汤含量呈正比例关系,可计算出样本中掺假物的含量。传统的色谱、光谱指纹图谱一般不直接涉及化学反应,而非线性化学指纹图谱是一种包含几十个甚至上百个基元反应的动力学指纹图谱,具有优越的特征性,且含有丰富的定性定量信息,为生乳等复杂样本的掺假鉴别及掺假物相对整体含量的评价提供了一种简单快捷的新方法。

#### 参考文献

- [1] JIN Yu, LIANG Tu, FU Qing, et al. Fingerprint analysis of *Ligusticum chuanxiong* using hydrophilic interaction chromatography and reversed-phase liquid chromatography[J]. *Journal of Chromatography A*, 2009, 1 216 (11): 2 136-2 141.
- [2] 曾庆方, 赵春杰, 王颜红. HPLC-MS 指纹图谱用于牛奶中部分有害药物的筛查研究[J]. *中南药学*, 2010, 8(2): 412-416.
- [3] 王颜红, 张红, 林桂凤, 等. 原料奶的高效液相色谱指纹图的建立[J]. *色谱*, 2010(10): 935-939.
- [4] 高晓霞, 严寒静, 梁从庆, 等. 何首乌药材的薄层色谱指纹图谱质量评价初步研究[J]. *中药材*, 2007, 30(4): 407-409.
- [5] TAMBORR P, ESTI M. Authenticity markers in Aglianico, Uva di Troia, Negroamaro and Primitivo grapes[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2010, 660(1/2): 221-226.
- [6] VAZ-FREIRE L, GOMES DA SILVA M, COSTA FREITAS A. Comprehensive two-dimensional gas chromatography for fingerprint pattern recognition in olive oils produced by two different techniques in Portuguese olive varieties Galega Vulgar, Cobrançosa e Carrasquenha[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2009, 633: 263-270.
- [7] SUN Guo-xiang, SHI Cun-yi. The overall quality control of

- Radix scutellariae by capillary electrophoresis fingerprint[J]. *Journal of Chromatographic Science*, 2008, 46(5): 454-460.
- [8] 李宗孝, 原春兰. 用振荡指纹图谱辨识中草药[J]. *中药材*, 2004, 27(1): 10-11.
- [9] 董彬, 孙周胡. 红外光谱和聚类分析法无损快速鉴别赤芍[J]. *光谱学与光谱分析*, 2002, 22(2): 232-234.
- [10] 高夏红, 郭灵虹, 李晖. 天麻 X 射线衍射指纹图谱及数字化特征[J]. *天然产物研究与开发*, 2005, 17(1): 42-46.
- [11] TIKHONOVA L, ZAKREVSKEYA L, YATISIMIRSKII K. Catalytic determination of ruthenium based on an oscillating chemical reaction [J]. *The USSR Journal of analytical chemistry*, 1978, 33(3): 1 991-1 996.
- [12] FIELD R, KOROS E, NOYES R. Oscillation in chemical system. II Thorough analysis of temporal oscillation in the bromate-cerium-malonic acid system [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1972, 94(25): 8 649-8 664.
- [13] PRJMAN J, EPSTEIN I, MCMANUS T. et al. Convective effects on chemical waves. 2 Simple convection in the Iodate-Arsenous acid system [J]. *The Journal of Physical Chemistry*, 1991, 95: 1 299-1 306.
- [14] TAYLOR A. Mechanism and phenomenology of an oscillating chemical reaction[J]. *Chaos*, 2002, 27(4): 247-325.
- [15] 梁逸曾, 俞汝勤. 化学振荡反应应用于分析测试[J]. *高等学校化学学报*, 1988, 9(9): 881-885.
- [16] GAN Nan-qin, CAI Ru-xiu, LIN Zhi-xin. Determination of ascorbic acid based on a peroxidase oscillator reaction [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2002, 466(2): 257-260.
- [17] GAN Jin-zhang, LI Zhi-qi, YANG Wu, et al. Determination of valine based on an oscillating chemical reaction[J]. *Electroanalysis*, 2002, 36(4): 41-46.
- [18] 方宣启, 张泰铭, 赵哲, 等. 非线性化学指纹图谱技术在鉴别和评价甘草及其临床[J]. *科学通报*, 2010, 17(1): 1 661-1 669.
- [19] 张泰铭, 赵哲, 方宣启, 等. 利用样本成分耗散物的非线性化学指纹图谱原理及相似度计算与评价[J]. *中国科学: 化学*, 2011, 41(10): 1 604-1 621.
- [20] 杨代明, 方宣启. 非线性化学指纹图谱技术在食醋鉴别中的应用研究[J]. *食品与机械*, 2014, 30(5): 68-71.

(上接第 28 页)

- [16] XU Xiao-bao, WU Tian-xiang, WANG Feng. The effect of exopolysaccharide biosynthesis and related enzyme activities of *Griifola frondosa* by the addition of ethanol extracts from traditional Chinese medicine, *Gastrodia tuber* [J]. *African Journal of Biotechnology*, 2012, 11(15): 3 656-3 662.
- [17] ZHONG Yong, WANG Na, WU Tiang-xiang. Effect of the extracts from *Gastrodia elata* BL. on mycelial growth and polysaccharide biosynthesis by *Griifola frondosa* [J]. *African Journal of Microbiology Research*, 2012, 6(2): 379-384.
- [18] 张勇, 吴天祥. 天麻提取物的制备及其对灰树花发酵的影响[J]. *食品与机械*, 2012, 28(1): 150-153.
- [19] BRADFORD M M. A Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72 (7): 248-254.

- [20] SALOHEIMO M, PAKULA T M. The cargo and the transport system: secreted proteins and protein secretion in *Trichoderma reesei* (*Hypocrea jecorina*) [J]. *Microbiology*, 2012, 158(1): 46-57.
- [21] 钟耀华, 王晓利, 汪天虹. 丝状真菌高效表达异源蛋白研究进展[J]. *生物工程学报*, 2008, 24(4): 531-540.
- [22] 周娜娜, 王禄山, 公维丽, 等. 丝状真菌胞外蛋白高效分泌机制的研究进展[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2016, 43(1): 44-54.
- [23] 汪天虹. 微生物分子育种原理与技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2005: 249-309.
- [24] 王莉. 天麻化学物质基础及质量控制方法研究[D]. 大连: 中国科学院, 2007.
- [25] NEVALAINEN H, TEO V, PENTTILÄ M, et al. Heterologous gene expression in filamentous fungi: a holistic view[J]. *Applied Mycology and Biotechnology*, 2005, 5: 211-237.