

# 近红外光谱法同时快速定量分析蛹虫草菌丝体中 4 种有效成分

郭伟良<sup>1,2</sup> 王丹<sup>1</sup> 宋佳<sup>1</sup> 逯家辉<sup>1</sup> 杜林娜<sup>1</sup> 滕利荣<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 吉林大学生命科学学院, 吉林 长春 130012; <sup>2</sup> 海南大学海洋学院, 海南 海口 570228)

**摘要** 建立了同时快速测定蛹虫草菌丝体中腺苷、蛋白质、多糖和虫草酸含量的近红外(NIR)光谱定量分析校正模型。收集了来自不同蛹虫草突变株在不同的发酵条件下发酵获得菌丝体并采集其 NIR 光谱,采用径向基神经网络(RBFNN)建立样品的 NIR 光谱与其腺苷、蛋白质、多糖和虫草酸含量间的相关模型。RBFNN 模型经过采用可移动窗口法提取各组分的 NIR 光谱特征波长变量、选择有效的光谱预处理方法、隐含节点数和扩展常数进行优化,获得测定腺苷、蛋白质、多糖和虫草酸含量的最优模型,其训练集样本的参考值与模型预测值间的相关系数( $R_c$ )分别达到 0.9436, 0.9884, 0.9018 和 0.8848,表明模型的拟合度很好,测试集均方根误差(RMSEP) $R_{MSEP}$  分别为 0.6225 mg/g, 0.0179 g/g, 0.0115 g/g 和 0.0102 g/g,表明模型的预测性能很好。

**关键词** 生物光学;近红外光谱;径向基函数神经网络;可移动窗口法;蛹虫草

中图分类号 O657.33; R927.2 文献标识码 A doi: 10.3788/AOS201131.0230002

## Simultaneous and Rapid Quantitative Analysis of Four Components in *Cordyceps Militaris* Mycelium Powder Using Near Infrared Spectroscopy

Guo Weiliang<sup>1,2</sup> Wang Dan<sup>1</sup> Song Jia<sup>1</sup> Lu Jiahui<sup>1</sup> Du Linna<sup>1</sup> Teng Lirong<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> College of Life Sciences, Jilin University, Changchun, Jilin 130012, China)  
(<sup>2</sup> College of Marine Sciences, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China)

**Abstract** Near infrared (NIR) spectroscopy calibration models have been developed for simultaneous and rapid determining the adenosine, protein, polysaccharide and cordyceps acid contents in cordyceps militaris mycelium powder. Cordyceps militaris mycelium powder samples are collected by culturing different cordyceps militaris mutant strains under various cultured conditions and the NIR spectra are acquired. Radial basis function neural network (RBFNN) is used for modeling the relation between the NIR spectra and the adenosine, protein, polysaccharide and cordyceps acid contents. The RBFNN models have been optimized. Firstly, movable window method is employed to select characteristic wavelength variables. And then, spectra preprocessing methods, the number of hidden nodes and the spread constant are selected. The optimum RBFNN models for determining the adenosine, protein polysaccharide and cordyceps acid contents are obtained. The correlation coefficients ( $R_c$ ) between reference values of calibration set and the predictive values are 0.9436, 0.9884, 0.9018 and 0.8848, respectively, which indicate that the fit of these models is satisfying. The root mean square error of prediction set (RMSEP)  $R_{MSEP}$  are 0.6225 mg/g, 0.0179 g/g, 0.0115 g/g, and 0.0102 g/g, respectively, which indicate that the predictive capabilities of the models are fine.

**Key words** biotechnology; near infrared spectroscopy (NIR); radial basis function neural network (RBFNN); movable windows method; cordyceps militaris

**OCIS codes** 300.6420; 070.4340; 200.4260

收稿日期: 2010-07-07; 收到修改稿日期: 2010-07-15

基金项目: 中国医学基金会新药发展基金(20061108)资助课题。

作者简介: 郭伟良(1983—),男,博士研究生,主要从事生物药物的非破坏在线质量控制的研究与应用等方面的研究。

E-mail: guowl07@mails.jlu.edu.cn

导师简介: 滕利荣(1954—),男,教授,主要从事生物技术制药方面的研究。E-mail: tenglr@jlu.edu.cn(通信联系人)

## 1 引 言

蛹虫草(*Cordyceps militaris*)是一种昆虫病原真菌,是子囊菌亚门冬虫夏草属。在很早以前东方国家就认识到蛹虫草具有营养保健的功效,是一种珍贵的中药材<sup>[1,2]</sup>。蛹虫草具有很多的生物活性和药理活性,比如免疫调节、抗肿瘤、抗炎、抗病毒、抗真菌、抗疲劳、抗氧化和抗感染等活性,据文献报道,蛹虫草菌丝体中主要活性成分有腺苷、蛋白质、多糖、虫草酸和虫草素等<sup>[3~8]</sup>。在蛹虫草菌种改良和深层发酵工艺优化过程中,采用常规的方法对蛹虫草菌丝体的各种有效成分逐个测量时比较费时、费力和费资金<sup>[9]</sup>。近红外光谱(NIRS)是近年快速发展起来定量分析技术,其可快速同时检测多组分含量,而且无样品前期预处理、无损和无污染等众多优点,非常适合蛹虫草菌丝体多种有效成分含量的同时检测。然而,NIRS是分子振动光谱,其光谱信息弱且复杂,其有效信息的提取相当困难,因此NIRS技术需结合化学计量学方法进行应用。同时NIRS是一种间接测量技术,建立稳健性和泛化能力好的校正模型是NIRS技术推广应用的关键<sup>[10~15]</sup>。

神经网络(ANN)是模拟生物神经网络的计算模型,它采用数学方法,模拟人脑学习程序<sup>[16]</sup>。一般ANN的计算量很大,计算速度很慢<sup>[17]</sup>,而径向基神经网络(RBFNN)结构简单、计算速度快,推广能力强,已经广泛应用于许多领域,特别是模式识别和函数逼近领域<sup>[18]</sup>,RBFNN的性能主要受其隐含节点数,隐含层基函数中心值和扩展常数(Spread constant)的影响,目前这几个参数的选择无规律可循,只能根据经验或多次尝试进行选择<sup>[19]</sup>,可移动窗口方法根据NIRS相邻的波长通道一般具有高的相关性的性质来选择有效的光谱波长变量<sup>[20]</sup>,由于其计算量比较大,因此其与ANN结合应用比较少见,由于RBFNN具有计算速度快的特点,因此本文将这两者有效结合,有效的提取蛹虫草菌丝体各有效成分的特征NIRS的波长变量。

本文采用可移动窗口方法提取各组分的NIRS有效信息和建立RBFNN非线性校正模型,建立同时测定蛹虫草菌丝体中腺苷、蛋白质、多糖和虫草酸含量的新方法,可应用于蛹虫草诱变筛选和条件优化。

## 2 实 验

### 2.1 试剂与仪器

蛹虫草菌种(CGMCC 5.0699),购于中国科学

院微生物研究所;采用亚硝基胍(NTG)诱变方法获得不同的蛹虫草突变株。

乙腈和甲醇(Fisher ChemAlertGuide公司,色谱纯),超纯水,腺苷标准品(Sigma公司,美国),萘酚,浓硫酸,3,5-二硝基水杨酸、盐酸、冰醋酸、乙酰丙酮、高碘酸钠、醋酸铵、NTG、硫酸铜、葡萄糖、磷酸二氢钾、磷酸氢二钠、氢氧化钠和硫酸钾均为分析纯,蛋白胨和酵母膏为生化试剂。

HZQ-F160全温振荡培养箱(哈尔滨东联电子技术开发有限公司,中国),高效液相色谱仪(岛津公司,日本);Shimadzu SCL-10A vp高效液相色谱仪系统(岛津公司,日本),包括LC-6AD vp泵,SPD-A vp紫外可见检测器,AT-330柱温箱(天津奥特塞恩斯仪器有限公司,中国),色谱柱Agilent ZORBAX SB C-18(3.9 mm×250 mm; 4 μm)。

### 2.2 蛹虫草菌丝体样品的制备

采用NTG对蛹虫草CGMCC 5.0699进行诱变,获得不同的突变株,在不同的发酵条件下进行液体深层发酵,获得527个蛹虫草菌丝体样品,粉碎过60目(0.3 mm)筛制备供试样品。

### 2.3 NIRS的采集

将1 g左右的供试样品放入样品槽中,压片,置于ISR-3100积分球附件(岛津公司,日本)的光路对位位置,使用UV-3150紫外可见近红外分光光度计(岛津公司,日本)扫描样品的NIR光谱,扫描波长范围为800~2498 nm,光谱通带密度为12 nm,以BaSO<sub>4</sub>标准品为空白,光谱采样间隔为3 nm,每个样品扫描3次光谱取其平均光谱为样品光谱。

### 2.4 有效成分含量的分析

根据2005版《中华人民共和国药典》规定采用高效液相色谱法进行测定蛹虫草菌丝体中腺苷含量<sup>[21]</sup>;采用凯氏定氮法测定其蛋白质含量<sup>[22]</sup>;萘酚硫酸法测定其胞内多糖含量<sup>[23]</sup>;比色法测定虫草酸含量<sup>[24]</sup>。

### 2.5 RBFNN模型的建立及优化

以下程序编写均采用Matlab 2008Ra(Mathwork公司,美国)进行编写。

经过剔出测量异常的样本后,用于建立测定蛹虫草菌丝体中腺苷、蛋白质、多糖和虫草酸含量RBFNN模型的样本数分别为524,492,506和495,分别随机选择314,295,304和347作为训练集样本,用于建立RBFNN模型,余下样本作为测试集样本,用于检验模型预测性能,各样品的腺苷、蛋白质、多糖和虫草酸统计含量如表1所示。

表1 蛹虫草中腺苷、蛋白质、多糖和虫草酸统计含量

Table 1 Statistical contents of adenosine, protein polysaccharide and cordyceps acid in cordyceps militaris mycelium powder

Components	Samples sets	Number of samples	Average contents	Ranges contents
Adenosine /(mg/g)	Calibration set	305	2.97010	0.26857~7.25491
Protein /(g/g)		295	0.51705	0.14251~0.76862
Polysaccharide /(g/g)		303	0.06705	0.03054~0.20131
Cordyceps acid /(g/g)		347	0.08488	0.03183~0.14855
Adenosine /(mg/g)	Prediction set	217	2.75663	0.32604~6.34974
Protein /(g/g)		197	0.52843	0.15306~0.75841
Polysaccharide /(g/g)		203	0.06707	0.03323~0.19515
Cordyceps acid /(g/g)		148	0.08289	0.04024~0.13620

按以下程序选择光谱预处理方法、波长变量、隐含节点数和扩展常数：由于采集的 NIR 原始光谱含有杂噪音和基线漂移的干扰，分别考察了采用二次项卷积平滑(Savitzky-Golay smoothing)、快速傅里叶变换(FFT)、一阶导数(1st derivative)、二阶导数(2nd derivative)、标准正态转换(SNV)和小波变换方法(WT)对光谱进行预处理时除噪效果，其中在进行卷积平滑、FFT、一阶导数和二阶导数预处理时，考察了处理窗口为 11, 21 和 31 时对除噪效果的影响，在进行 WT 时，分别考察了采用 db1, db2 和 db3 的小波基分解，分解水平为 2、3 和 4 时对除噪效果的影响。

在采用原始光谱和预处理后的光谱进行 RBFNN 建模时，均采用可移动窗口法选择各组分的特征波长变量，其基本程序如下：

1) 将相邻波长的  $W$  个光谱波长变量划入一个窗口( $W$  为窗口大小)，采用处于该窗口的波长变量建立 RBFNN 模型。采用多次尝试法，赋予不同光谱预处理方法处理后的光谱所建立的测定不同组分的 RBFNN 模型的扩展常数初始值。以逼近度( $D_a$ )为评价指标，考察了不同隐含节点数的影响，其考察范围因  $W$  大小变化而变化， $D_a$  计算公式

为<sup>[25]</sup>

$$D_a = \frac{c}{(n_v/n_t)R_{MSEC} + (n_p/n_t)R_{MSEP} + |R_{MSEC} - R_{MSEP}|}$$

式中  $n_c$ ,  $n_p$  和  $n_t$  分别为训练集样本数、测试集样本数和总样本数， $R_{MSEC}$  和  $R_{MSEP}$  分别为训练集均方根误差和测试集均方根误差， $c$  是根据作图需要进行调整的常数，在本文测定腺苷、蛋白质、多糖和虫草酸含量的 RBFNN 模型的  $c$  值分别为 0.5, 0.02, 0.01 和 0.01；

2) 去掉窗口内最前端的一个波长变量，并在紧邻窗口后的位置上增加一个波长变量，计算新窗口的光谱区域的 RBFNN 最优模型；

3) 重复步骤 2)，直到最后一个波长点进入窗口中。

4) 比较各个窗口的 RBFNN 模型的逼近度值，选择  $D_a$  值最高的前  $n_w$  个窗口波长变量进行组合建模，所建立的模型均经过选择最适的隐含节点数和扩展常数，隐含节点数和扩展常数的考察范围如表 2 所示。程序中， $W$  的大小和  $n_w$  对波长变量的筛选最为关键，本文分别考察  $W$  为 20, 30, 40, ..., 100 时对  $D_a$  值的影响，同时考察了  $n_w$  为 50, 60, 70, ..., 150 时对  $D_a$  值的影响， $D_a$  值最高时， $W$  和  $n_w$  值最合适。

表2 RBFNN 建模参数考察范围

Table 2 Investigated ranges of the modeling parameters of RBFNN

Components	Adenosine			Protein			Polysaccharide			Cordyceps acid		
	$N_H$	Spread	$n_w$	$N_H$	Spread	$n_w$	$N_H$	Spread	$n_w$	$N_H$	Spread	$n_w$
Minimum	20	0.4	50	30	0.2	50	5	0.4	50	5	0.4	50
Maximum	80	4.4	150	60	2.2	150	45	4.4	150	45	4.4	150
Interval	2	0.4	10	1	0.2	10	2	0.4	10	2	0.4	10

$N_H$ : the number of hidden nodes;  $n_w$ : the number of selected windows

## 3 实验结果与分析

隐含节点数和扩展常数,各光谱所建立的最优模型参数列于表 3 所示。

按照第 2.5 节选择光谱预处理方法、波长变量、

表 3 光谱预处理方法、波长变量、隐含节点数和扩展常数的选择结果

Table 3 Results of selecting suitable spectra preprocessing methods, efficacious wavelengths, the number of hidden nodes and spread constant

Components	$W$	Preprocessing methods	Windows	$W_n$	$n_w$	$R_{MSEC}/$ (g/g)	$R_{MSEP}/$ (g/g)	$D_a/$ (g/g)	$N_H$	Spread constant
Adenosine	20	Original spectra	--	256	140	0.5952	0.6813	0.6970	38	1.2
		<b>Smoothing</b>	<b>21</b>	<b>205</b>	<b>130</b>	<b>0.5287</b>	<b>0.6225</b>	<b>0.7557</b>	<b>66</b>	<b>3.2</b>
		FFT	31	179	110	0.6196	0.6972	0.6853	40	3.6
		1st derivative	21	230	140	0.6268	0.7211	0.6575	50	4.0
		2nd derivative	11	297	130	0.7369	0.7946	0.6107	26	2.0
		SNV	--	269	110	0.5780	0.6615	0.7180	30	1.2
		WT db2 level	2	0.5654	0.6552	0.7218	0.65515	0.72184	60	3.6
Protein	50	Original spectra	--	309	120	0.0167	0.0187	1.0267	36	1.6
		Smoothing	31	305	80	0.0171	0.0190	1.0093	36	1.4
		<b>FFT</b>	<b>21</b>	<b>220</b>	<b>60</b>	<b>0.0173</b>	<b>0.0179</b>	<b>1.1007</b>	<b>45</b>	<b>1.8</b>
		1st derivative	31	323	140	0.0167	0.0202	0.9277	44	0.2
		2nd derivative	31	208	70	0.0207	0.0217	0.9025	34	1.6
		SNV	--	250	50	0.0418	0.0419	0.4769	62	0.2
		WT db1 level	2	0.0248	0.0267	0.7266	0.02673	0.72659	38	2.2
Polysaccharide	50	Original spectra	--	210	80	0.0112	0.0117	0.8419	15	3.6
		Smoothing	11	263	120	0.0120	0.0120	0.8363	11	0.8
		FFT	11	228	110	0.0119	0.0142	0.8314	11	0.8
		1st derivative	31	236	120	0.0110	0.0119	0.8516	19	0.4
		<b>2nd derivative</b>	<b>31</b>	<b>239</b>	<b>60</b>	<b>0.0114</b>	<b>0.0115</b>	<b>0.8690</b>	<b>13</b>	<b>4.0</b>
		SNV	--	210	80	0.0114	0.0117	0.8433	13	1.6
		WT db3 level	2	0.0114	0.0118	0.8405	0.01175	0.84054	13	1.6
Cordyceps acid	50	<b>Original spectra</b>	<b>--</b>	<b>253</b>	<b>70</b>	<b>0.0102</b>	<b>0.0102</b>	<b>0.9762</b>	<b>39</b>	<b>1.2</b>
		Smoothing	31	284	120	0.0099	0.0114	0.9493	45	2.0
		FFT	21	263	130	0.0104	0.0106	0.9405	39	1.6
		1st derivative	21	250	80	0.0115	0.0116	0.8648	21	1.6
		2nd derivative	31	227	50	0.0123	0.0127	0.7775	21	4.4
		SNV	--	117	60	0.0159	0.0187	0.5137	7	1.6
		WT db2 level	2	0.0100	0.0103	0.9569	0.01034	0.95691	43	1.2

Units of  $R_{MSEC}$ ,  $R_{MSEP}$  and  $D_a$  of adenosine are mg/g, mg/g and g/mg respectively.

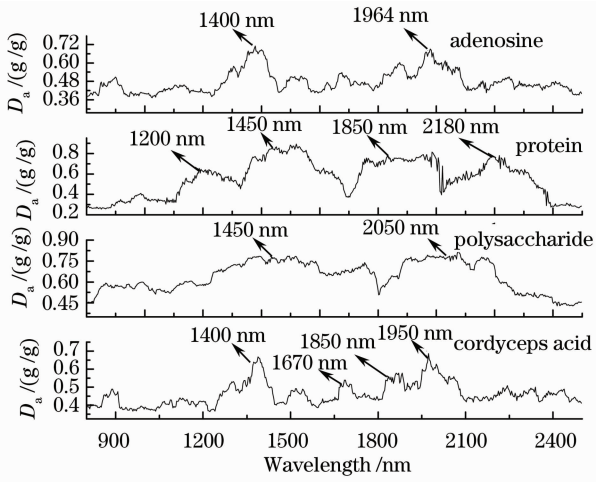
## 3.1 光谱预处理方法的影响

由表 3 可以看出,在建立测定腺苷和蛋白质含量的 RBFNN 模型时,采用卷积平滑、SNV 和 WT 预处理方法处理过后的光谱所建立的模型的  $D_a$  值较原始光谱所建立的模型高,表明该种预处理方法除噪效果比较好,采用卷积平滑方法进行预处理时效果最好,采用导数处理过后的光谱所建立的模型  $D_a$  值低,二阶导数比一阶导数光谱还低,表明采用导数进行预处理时会引进一些杂噪音,降低数学模型的性能。在建立测定多糖含量的 RBFNN 模型时,光滑预处理方法预处理过后的光谱所建立的模型  $D_a$  值比原始光谱所建立的模型低,可能是由于

光滑处理方法将一些细节有效信息当作噪音除去引起模型性能下降,而采用导数方法处理后的光谱所建立的模型的  $D_a$  比原始光谱高,二阶导数的效果比一阶导数效果好,表明导数预处理方法能增加其有效波长变量的辨析能力<sup>[26]</sup>。建立测定虫草酸含量的 RBFNN 模型时,采用原始光谱所建立的模型性能最好。

## 3.2 波长变量的选择

采用可移动窗口法筛选蛹虫草菌丝体中腺苷、蛋白质、多糖和虫草酸的 NIRS 特征波长变量,光谱预处理方法及其处理窗口大小、移动窗口的大小如表 3 所示,波长变量与  $D_a$  值关系如图 1 所示,由图 1 可以

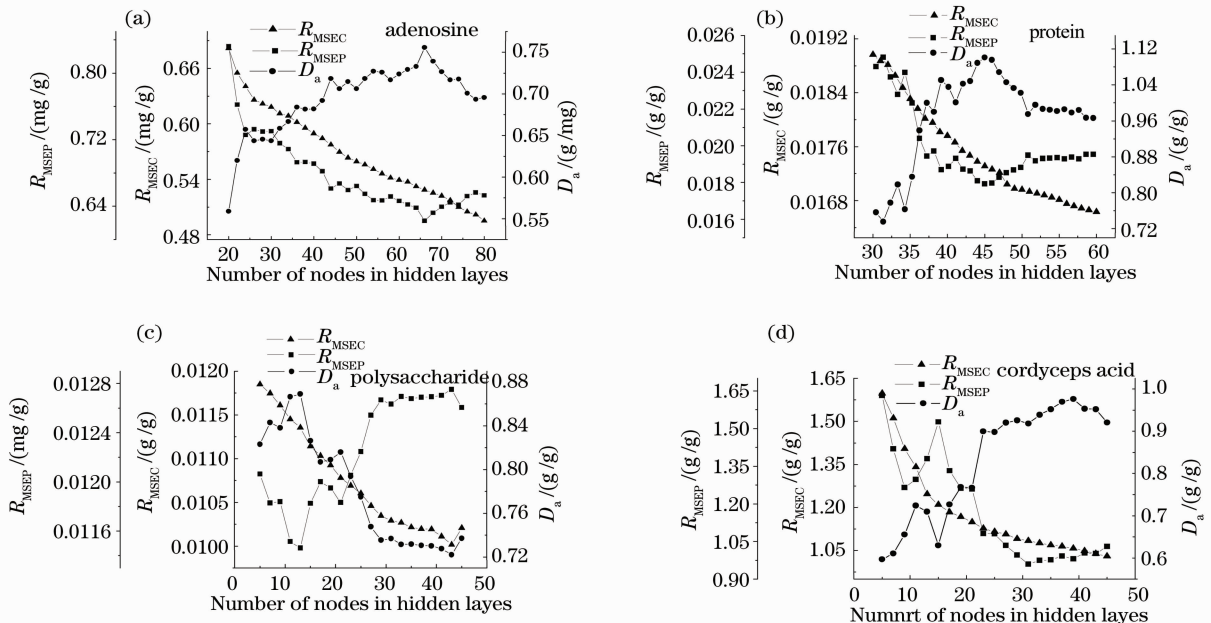
图1 波长变量与  $D_a$  间关系图Fig. 1 Relation between wavelengths and  $D_a$ 

看出,腺苷存在 1400 nm 和 1964 nm 两个主要特征吸收峰,分别是 O—H 的伸缩振动二级倍频(1009.7~1533.3 nm)和三级倍频(1499.9~2200 nm)。蛋白质存在 1200,1450,1850 和 2180 nm 4 个特征吸收峰,分别为羧羟基伸缩振动的二级倍频(1144.3~1277.7 nm)、碳酸伸缩振动一级倍频(1699.8~1833.2 nm)与胺相连的-CH<sub>2</sub> 的一级倍频(1786~2025.7 nm)和伯胺二级倍频(2047.4~2410.8 nm)。与腺苷相似,多糖存在 1450 nm 和 2050 nm 附近的特征吸收峰分别为 O—H 的伸缩振动二级倍频(1009.7~1533.3 nm)和三级倍频(1499.9~2200 nm),多糖的谱带较腺苷更宽,这可能是由于多

糖的羟基种类较腺苷更多引起的。而虫草酸存在伯醇一级倍频(1397.4~1507.0 nm)、甲基 C—H 不对称伸缩振动一级倍频(1716.2~1863.4 nm)和甲基 C—H 的不对称弯曲振动三级倍频(1768.8~2069.1 nm)3 个特征吸收峰<sup>[27]</sup>。根据  $D_a$  值,选择特征波长变量,腺苷、蛋白质、多糖和虫草酸分别选择了 326,220,239 和 253 个波长变量,既提高了模型的性能,除去无贡献波长变量和杂噪音,同时也大大减少了计算量,提高运算速度。

### 3.3 隐含层节点数的影响

RBFNN 通过增加隐含节点数来提高模型的拟合度,不断地减小预测值与参考值之间的误差,但过多地增加隐含节点数将出现过拟合的现象,即模型的拟合度很好,但是模型对未知样本(测试集)样本的预测能力却不断降低的现象,为了避免出现过拟合的现象,本文采用  $D_a$  为指标,选择合适的隐含节点数,其它建模参数如表 3 所示,隐含节点数对  $D_a$ ,  $R_{MSEC}$  和  $R_{MSEP}$  的影响如图 2 所示,随着隐含节点数的增加,测定四个有效组分的 RBFNN 模型的  $R_{MSEC}$  都持续下降,而  $R_{MSEP}$  开始时随着隐含节点数的增加而下降,而在达到一定数目后达到最低,之后隐含节点数继续增加,  $R_{MSEP}$  反而上升,出现过拟合的现象,采用  $D_a$  为指标,综合考虑  $R_{MSEC}$  和  $R_{MSEP}$ ,选择最合适的隐含节点数,如图 2 所示,测定腺苷、蛋白质、多糖和虫草酸含量的四个 RBFNN 模型的隐含节点数分别为 66,45,13 和 39 时,  $D_a$  值最高,即为模型的最适隐含节点数。

图2 隐含节点数对  $D_a$ ,  $R_{MSEC}$  和  $R_{MSEP}$  的影响Fig. 2 Effect of the number of hidden nodes on  $D_a$ ,  $R_{MSEC}$  and  $R_{MSEP}$

### 3.4 扩展常数的影响

扩展常数与隐含节点数共同对 RBFNN 模型的稳健性和预测能力有很大的影响, 本文采用多次尝试法, 设定扩展常数的考察范围(表 2 所示), 在其它建模参数都设定为表 3 所示参数时, 考察不同的扩展常数大小对  $R_{MSEC}$ ,  $R_{MSEP}$  和  $D_a$  的影响, 结果如

图 3 所示, 由图可以看出, 扩展常数大小对 RBFNN 模型的  $R_{MSEC}$  和  $R_{MSEP}$  的影响规律性不是很明显, 故以  $D_a$  为标准, 选择合适的扩展常数, 当  $D_a$  值最高时, 扩展常数大小值最合适, 由图可以看出, 测定腺苷、蛋白质、多糖和虫草酸含量的 RBFNN 模型的最适扩展常数分别为 3.2, 1.8, 4.0 和 1.2。

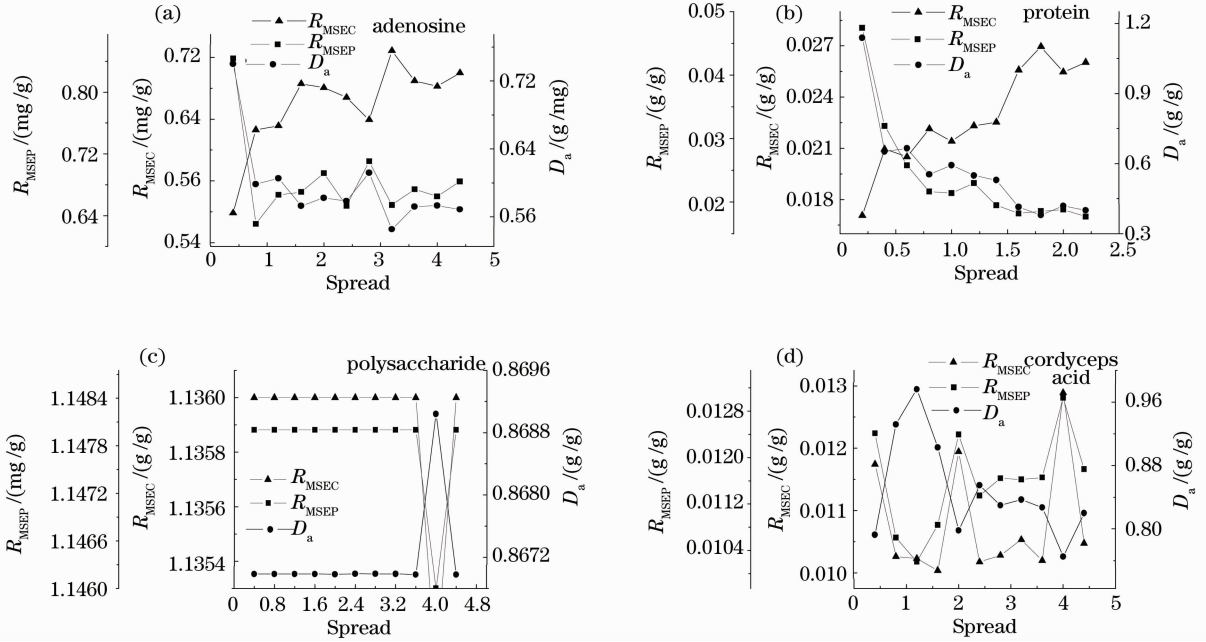


图 3 扩展常数对  $D_a$ ,  $R_{MSEC}$  和  $R_{MSEP}$  的影响

Fig. 3 Effect of spread constant on  $D_a$ ,  $R_{MSEC}$  and  $R_{MSEP}$

### 3.5 最优 RBFNN 模型的建立

建立测定蛹虫草菌丝体中腺苷、蛋白质、多糖和

虫草酸含量的 RBFNN 模型, 模型经过选择有效光谱预处理方法、各组分的特征波长变量、隐含节点数和

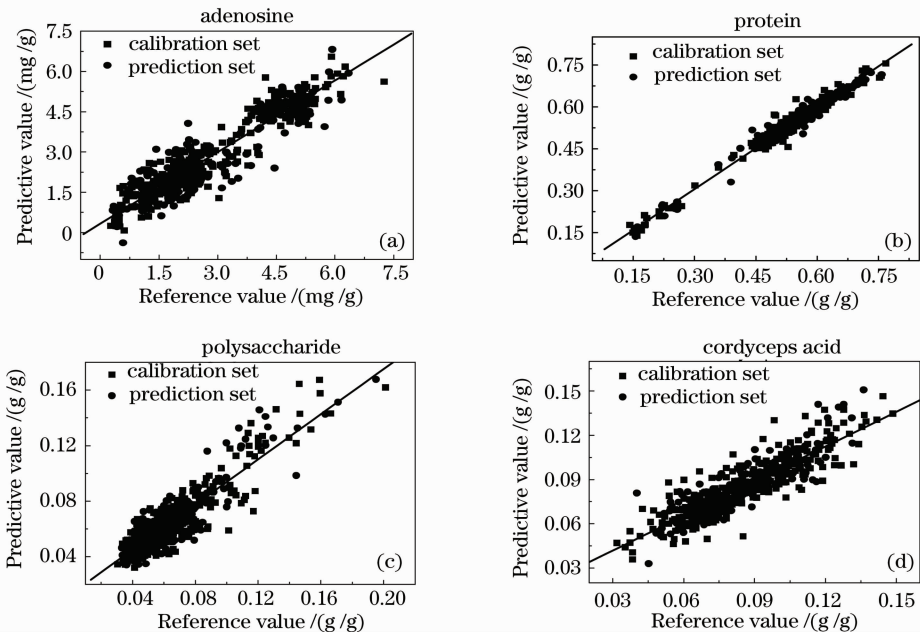


图 4 预测值与参考值间的相关图

Fig. 4 Correlation between reference values and predictive values

扩展常数的优化,其优化后参数如表3所示,由表可以看出测定蛋白质、多糖和虫草酸含量的RBFNN模型的 $R_{MSECF}$ 和 $R_{MSECF}$ 数值均比较小,而测定腺苷含量的RBFNN模型的 $R_{MSECF}$ 和 $R_{MSECF}$ 数值相对较大,这是由于腺苷含量单位仅为mg/g,较其它3个组分含量要低引起的。采用最优的RBFNN模型对所有样品的4个组分含量进行预测,预测值与参考值间的相关性如图4所示,由图可以看出,模型预测值与参考值之间的吻合性良好,可应用于蛹虫草菌丝体质量品质的快速检定、蛹虫草诱变筛选和蛹虫草发酵工艺优化等方面。

## 4 结 论

1) 采用RBFNN方法建立蛹虫草菌丝体样品中腺苷、蛋白质、多糖和虫草酸的含量与其NIR光谱间的相关模型,模型经过选择有效光谱预处理方法、各组分的特征波长变量、隐含节点数和扩展常数的优化,结果显示,所建的模型具有很好的稳健性、拟合度和预测能力,表明采用NIR光谱法同时测定蛹虫草菌丝体中腺苷、蛋白质、多糖和虫草酸的含量是可行的。

2) 采用可移动窗口的方法筛选各组分的特征波长变量,取得较好的效果,大大减少模型的输入数据,缩短模型运行时间。

3) 建立校正模型所采用的样品是不同的蛹虫草诱变菌株在不同的发酵条件下进行发酵收集所得样品,所建模型具有很好的泛化能力,可应用于蛹虫草菌丝体质量品质的快速检定、蛹虫草诱变筛选和蛹虫草发酵工艺优化等方面。

## 参 考 文 献

- 1 R. R. M. Paterson. Cordyceps-A traditional Chinese medicine and another fungal therapeutic biofactory[J]. *Phytochemistry*, 2008, **69**(7): 1469~1495
- 2 T. B. Ng, H. X. Wang. Pharmacological actions of cordyceps, a prized folk medicine [J]. *J. Pharm. Pharmacol.*, 2005, **57**(12): 1509~1519
- 3 Yang Byung-keun, Gu Young-Ah, Jeong Yong-The *et al.*. Anti-complementary activity of exo- and endo-polymer produced by sub-merged mycelial cultures of eight different mushrooms[J]. *Mycobiology*, 2007, **35**(3): 145~149
- 4 S. Y. Won, E. H. J. Park. Anti-inflammatory and related pharmacological activities of cultured mycelia and fruiting bodies of Cordyceps militaris [J]. *Ethnopharmacol.*, 2005, **96**(3): 555~561
- 5 H. Yamada, N. Kawaguchi, T. Ohmori *et al.*. Structure and antitumor activity of an alkali-soluble polysaccharide from Cordyceps ophioglossoides [J]. *Carbohydrate Research*, 1984, **125**(1): 107~115
- 6 Lin Qunying, Song Bin, Li Taihui. Advances in the studies on

- cordyceps militaris [J]. *Microbiology*, 2006, **33**(4): 154~157
- 林群英, 宋 斌, 李泰辉. 蛹虫草研究进展[J]. *微生物通报*, 2006, **33**(4): 154~157
- 7 T. Mizuno. Medicinal effects and utilization of cordyceps (Fr.) link (ascomycetes) and isaria Fr. [J]. *Int. J. Med. Mushr.*, 1999, **1**(3): 251~261
- 8 Lin Yuwei, Chiang Beenhuang. Anti-tumor activity of the fermentation broth of cordyceps militaris cultured in the medium of radix astragalii[J]. *Process Biochem*, 2008, **43**(3): 244~250
- 9 M. Blanco. NIR spectroscopy: a rapid-response analytical tool [J]. *Trends. Analyt. Chem.*, 2002, **21**(4): 240~250
- 10 Cao Fang, Wu Di, He Yong *et al.*. Variety discrimination of grapes based on visible-near reflection infrared spectroscopy [J]. *Acta Optica Sinica*, 2009, **29**(2): 537~561
- 曹 芳, 吴 迪, 何 勇等. 基于可见近红外反射光谱技术的葡萄品种鉴别方法的研究 [J]. *光学学报*, 2009, **29**(2): 537~561
- 11 Nie Lixing, Wang Gangli, Li Zhimeng *et al.*. Application of near infrared spectroscopy in process analysis of TCM manufacturing [J]. *Acta Optica Sinica*, 2009, **29**(2): 541~547
- 聂黎行, 王钢力, 李志猛等. 近红外光谱法在中药生产过程分析中的应用[J]. *光学学报*, 2009, **29**(2): 541~547
- 12 Du Linna, Wu Lihang, Lu Jiahui *et al.*. Application of near infrared diffuse reflectance spectroscopy with radial basis function neural network to determination of rifampicin isoniazide and pyrazinamide tablets [J]. *Chem. Res. Chinese U.*, 2007, **23**(5): 518~523
- 13 Zhao Jianhua, Zhao Chongwen, Wei Zhoujun *et al.*. Study on monitoring multi-component toxic gases based on near-infrared spectroscopic method [J]. *Acta Optica Sinica*, 2010, **30**(2): 567~575
- 赵建华, 赵崇文, 魏周君等. 基于近红外光谱技术的多组分毒性气体检测研究[J]. *光学学报*, 2010, **30**(2): 567~575
- 14 Zhang Haihong, Zhang Shujuan, Wang Fenghua *et al.*. Study on fast discrimination of seabuckthorn juice varieties using visible-nir spectroscopy [J]. *Acta Optica Sinica*, 2010, **30**(2): 574~578
- 张海红, 张淑娟, 王凤花. 应用可见-近红外光谱快速识别沙棘汁品牌[J]. *光学学报*, 2010, **30**(2): 574~578
- 15 Lu Jiahui, Wang Di, Shen Wei *et al.*. The radial basis function neural network quantitative analysis model for determination of anti-tuberculosis tablets using near infrared spectroscopy [J]. *Acta Optica Sinica*, 2009, **29**(2): 459~463
- 逯家辉, 王 迪, 沈 畏等. 基于径向神经网络的测定抗结核药物主成分质量分数的近红外光谱定量分析模型[J]. *光学学报*, 2009, **29**(2): 459~463
- 16 J. D. F. Philip, R. T. John. Artificial neural networks[J]. *Surgery*, 2000, **127**(1): 3~11
- 17 I. A. Basheer, M. Hajmeer. Artificial neural networks: fundamentals, computing, design, and application [J]. *J. Microbiological Methods*, 2000, **43**(1): 3~31
- 18 H. B. Celikoglu. Application of radial basis function and generalized regression neural networks in nonlinear utility function specification for travel mode choice modelling [J]. *Math. Comput. Model.*, 2006, **44**(7-8): 640~658
- 19 E. Z. Panagou, V. Kodogiannis, G. J. E. Nychas. Modelling fungal growth using radial basis function neural networks; the case of the ascomycetous fungus *Monascus ruber* van Tieghem [J]. *Int. J. Food Microbiol.*, 2007, **117**(3): 276~286
- 20 Du Yiping, Liang Yizeng, K. Murayama *et al.*. Spectral regions selection to improve prediction ability of PLS models by changeable size moving window partial least squares and searching combination moving window partial least squares [J]. *Anal. Chim. Acta*, 2004, **501**: 183~189
- 21 Pharmacopoeia Commission of PRC (2005). Pharmacopoeia of the People's Republic of China, Part I. [S]. (2005th ed.). Beijing: Chemical Industry Press, 75

- 中华人民共和国药典编委会 (2005). 中华人民共和国药典 [S]. (2005 版). 北京: 化学工业出版社, 第一部, 75
- 22 Wang Jiazhen, Fan Ming. Handbook of Protein Technology [M]. Beijing: Press of Science, 2000. 49~52
- 汪家政, 范明. 蛋白质技术手册 [M]. 北京: 科学出版社, 2000. 49~52
- 23 Wang Liming, Xia Wenshui. Determination of TPS by improvement of anthrone-sulfuric acid method[J]. *Food Science*, 2005, **26**(7): 185~188
- 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): 185~188
- 24 Cai Youhua, Fan Wenxia, Liu Xueming *et al.*. Determination of cordycepic acid content in the mycelia of *cordyceps brasiliensis henn* by colorimetry [J]. *Modern Food Sci. and Technol.*, 2008, **24**(1): 76~79
- 蔡友华, 范文霞, 刘学铭 等. 比色法测定巴西虫草菌丝体中虫草酸的含量 [J]. *现代食品科技*, 2008, **24**(1): 76~79
- 25 Guo Weiliang, Meng Qingfan, Lu Jiahui *et al.*. Rapid determination of compound rifampicin tablets using near infrared spectroscopy with artificial neural network [J]. ICCSA 2006, LNCS, 3980: 938~945
- 26 Chu Xiaoli, Yuan Hongfu, Lu Wanzhen. Progress and application of spectral data pretreatment and wavelength selection methods in NIR analytical [J]. *Progress in Chemistry*, 2004, **16**(4): 528~542
- 褚小立, 袁洪福, 陆婉珍. 近红外分析中光谱预处理及波长选择方法进展与应用 [J]. *化学进展*, 2004, **16**(4): 528~542
- 27 Lu Wanzhen, Yuan Hongfu, Xu Guangtong. Modern Near Infrared Spectroscopy Analysis Technology [M]. Beijing: Chinese Shihua Press, 2000. 14~26
- 陆婉珍, 袁洪福, 徐广通. 现代近红外光谱分析技术 [M]. 北京: 中国石化出版社, 2000. 14~26