

DOI:10.3969/j.issn.1003-5060.2023.08.020

# 无机硒添加方式及 NADPH 或果糖添加对酵母富硒培养的影响

陈紫荆<sup>1</sup>, 孙朝阳<sup>1</sup>, 张玉英<sup>2</sup>, 杨思林<sup>2</sup>, 魏春厅<sup>2</sup>, 罗建平<sup>1</sup>

(1. 合肥工业大学 食品与生物工程学院, 安徽 合肥 230601; 2. 安徽省华信生物药业股份有限公司, 安徽 界首 236502)

**摘要:**文章以酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)诱变菌株 HXS-02 为出发菌株,以菌株的生长、总硒和有机硒质量浓度及产率为指标,考察无机硒添加方式及还原型辅酶 II (NADPH)或果糖的添加对酵母富硒培养的影响。结果显示:菌株富硒培养时加入亚硒酸钠的适宜时间和适宜质量浓度分别为 8 h 和 62.5 mg/L,在此条件下继续培养至 24 h,菌株的干质量浓度和富硒能力最好,总硒产率和有机硒产率分别达到 $(8\ 760.7 \pm 50.6)\ \mu\text{g/L}$ 和 $(8\ 573.5 \pm 46.5)\ \mu\text{g/L}$ ;NADPH 和果糖的添加可显著影响菌株的生长和富硒能力,在无机硒添加的同时向培养基中添加 NADPH 至浓度为 0.20 mmol/L 或果糖至质量浓度为 6 g/L 后,菌株的总硒产率和有机硒产率与未添加的菌株相比,分别增加了 32.6%~42.6%和 38.1%~51.5%。以上研究表明,适合的无机硒添加方式并辅以添加适量的 NADPH 或果糖,可以有效促进酵母转化无机硒为有机硒的能力,提高富硒酵母总硒和总有机硒的产率。

**关键词:**富硒酵母;亚硒酸钠;还原型辅酶 II (NADPH);果糖

中图分类号:Q935

文献标志码:A

文章编号:1003-5060(2023)08-1135-07

## Effects of inorganic selenium supplementation with NADPH or fructose on selenium-enriched culture of yeast

CHEN Zijing<sup>1</sup>, SUN Zhaoyang<sup>1</sup>, ZHANG Yuying<sup>2</sup>,  
YANG Silin<sup>2</sup>, WEI Chunting<sup>2</sup>, LUO Jianping<sup>1</sup>

(1. School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230601, China; 2. Anhui Huaxin Biopharmaceutical Co., Ltd., Jieshou 236502, China)

**Abstract:** The *Saccharomyces cerevisiae* strain HXS-02 was used as the starting strain, the supplementation of inorganic selenium with reduced coenzyme II (NADPH) or fructose was performed to investigate their effects on selenium-enriched culture by evaluating strain growth as well as contents and yields of total selenium and organic selenium of the strain. The optimized experiments showed that the optimal supplementation time and concentration of sodium selenite for the selenium-enriched culture of strain were 8 h of culture and 62.5 mg/L, respectively. Under this condition of inorganic selenium supplementation, the strain after 24 h of culture reached the highest dry weight growth and selenium enrichment ability, and the yields of total selenium and organic selenium were  $(8\ 760.7 \pm 50.6)\ \mu\text{g/L}$  and  $(8\ 573.5 \pm 46.5)\ \mu\text{g/L}$ , respectively. The supplementation of NADPH and fructose could significantly improve the growth and selenium enrichment ability of strain. When the medium was added with 0.20 mmol/L NADPH or 6 g/L fructose along with supplementation of inorganic selenium, the yields of total selenium and organic selenium in strain were increased by 32.6%~42.6% and 38.1%~

收稿日期:2021-05-10;修回日期:2021-06-21

基金项目:安徽省科技重大专项资助项目(18030801112)

作者简介:陈紫荆(1997—),女,安徽淮南人,合肥工业大学硕士生;

罗建平(1966—),男,安徽合肥人,博士,合肥工业大学教授,博士生导师,通信作者,E-mail: jianpingluo@hfut.edu.cn.

51.5%, respectively, compared with those of the strain without the addition of NADPH or fructose. The obtained results suggested that the suitable conditions for inorganic selenium supplementation with the aid of appropriate NADPH or fructose supplementation could effectively promote the conversion of inorganic selenium into organic selenium and increase the yields of total selenium and organic selenium in strain.

**Key words:** selenium-enriched yeast; sodium selenite; reduced coenzyme II (NADPH); fructose

硒(Se)是一种人体必需的微量元素,为机体维护免疫系统稳态、延缓衰老等生理功能所必需,缺硒不仅会诱发克山病、大骨节病的发生,而且增加心血管系统、内分泌系统、神经系统、生殖系统、运动系统等疾病发生的风险<sup>[1-3]</sup>。自然界中,硒分为无机硒和有机硒 2 种形式,由于无机硒生物利用度低且对人体毒性大,因此摄取富含硒蛋白、硒氨基酸等有机硒是人体补硒的主要途径,目前富硒酵母是最易获得、使用最为安全有效的人及动物的补硒来源<sup>[4-6]</sup>。

富硒酵母是酵母细胞在含无机硒的培养基中经发酵培养所得。研究表明,酵母的富硒水平受限于发酵培养过程中酵母细胞将无机硒转化为有机硒的能力,不仅与无机硒的添加方式有关,而且与无机硒由酵母细胞外进入胞内及胞内无机硒转化为有机硒反应中辅助因子供应有关<sup>[7-9]</sup>。因此,在优化无机硒添加方式的同时促进无机硒有效进入胞内,提高酵母细胞转化无机硒为有机硒的能力,可以有效地促进高富硒酵母的生产。

无机硒的添加方式以添加时间和添加浓度最为关键<sup>[7-9]</sup>,还原型辅酶 II (NADPH) 是酵母细胞中既直接参与无机硒转化为有机硒反应的辅助因子,又是反应过程中产生的氧化产物的还原剂,果糖可促进无机硒由胞外进入胞内从而提高胞内有机硒生成反应底物浓度<sup>[10-11]</sup>,鉴于此,本文以前期经诱变筛选出的酵母菌株 HXS-02<sup>[12]</sup> 为材料,将在无机硒添加时间和添加质量浓度优化的基础上考察 NADPH 或果糖的添加对酵母富硒发酵培养的影响,以期高富硒酵母的生产提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

菌株为啤酒酵母(中国工业微生物菌种保藏管理中心馆藏号:1412)经  $\text{NaN}_3$  诱变、 $\text{H}_2\text{O}_2$  筛选所得的富硒菌株 HXS-02<sup>[12]</sup>。

化学试剂有:亚硒酸钠、甲酸、浓氨水、甲苯、氢氧化钠均购于国药集团化学试剂有限公司;乙二胺四乙酸、盐酸羟胺均购于阳光生物科技有限

公司;3,3'-二氨基联苯胺均购于华中海威(北京)基因科技有限公司。

液体培养基由麦芽膏粉 130 g/L 和氯霉素 0.1 g/L 组成(广东环凯微生物科技有限公司),使用时加入定量蒸馏水溶解、调节 pH 值至  $5.6 \pm 0.2$ ,并经  $121\text{ }^\circ\text{C}$  灭菌 20 min<sup>[13]</sup>。

### 1.2 仪器与设备

HQ45Z 恒温摇床(中国科学院(武汉)科学仪器厂);SKP-02 电热恒温培养箱(湖北省黄石市医疗器械厂);DGF30/7-I 电热鼓风干燥箱(南京实验仪器厂);V1100 可见分光光度计(上海美谱达仪器有限公司);TC-201 恒温水浴锅(上海琪特分析仪器有限公司);CT15RT 高速冷冻离心机(上海天美科学仪器有限公司);MDF-U73V SANYO 超低温冰箱、MLS-3750 SANYO 高压蒸汽灭菌锅(日本 Osaka 公司);SW-CJ-1FD 超净工作台(苏州净化设备有限公司);XSZ-3G 普通光学显微镜(重庆光电仪器有限公司);AL 104 分析天平(梅特勒-托利多公司);PHS-3E pH 台式酸度计(武汉天壹力仪器设备有限公司);LGJ-18S 原位冷冻干燥机(北京松源华兴科技发展公司)。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 酵母生长和富硒能力的变化

按照文献[12]方法,挑取 1 环菌种于装液量为 50 mL 液体培养基的摇瓶(250 mL)中, $28\text{ }^\circ\text{C}$ 、180 r/min 条件下振荡培养 24 h 作为活化的菌种。取活化的菌种以 10% 的接种量转移至新鲜的液体培养基中振荡培养 6 h,加入亚硒酸钠至终质量浓度为 25 mg/L,继续培养 48 h,期间每隔 6 h 离心收集菌体,测定菌株生物量和富硒能力的变化。

#### 1.3.2 无机硒添加方式对酵母富硒能力的影响

1) 无机硒的添加时间。活化的菌种在摇瓶振荡培养的 0、2、4、6、8、10 h 分别加入亚硒酸钠至质量浓度为 25 mg/L,继续培养至 24 h,测定无机硒添加时间对菌株生长和富硒能力的影响。

2) 无机硒的添加质量浓度。活化的菌种摇瓶振荡培养 8 h,分别加入亚硒酸钠至质量浓度

为 12.5、25.0、37.5、50.0、62.5、75.0 mg/L,继续培养至 24 h,测定无机硒添加质量浓度对菌株生长和富硒能力的影响。

3) 无机硒添加后酵母富硒能力的变化。活化的菌种摇瓶振荡培养 8 h 时,加入亚硒酸钠至质量浓度为 62.5 mg/L,继续培养,共培养至 72 h,期间每隔 8 h 离心收集菌体,测定菌株生物量和富硒能力的变化。

4) NADPH 对酵母富硒能力的影响。取活化的菌种,摇瓶振荡培养 8 h 时,加入亚硒酸钠至质量浓度为 62.5 mg/L 的同时分别加入 NADPH 至浓度为 0.10、0.15、0.20、0.25、0.30 mmol/L,继续培养,共培养至 24 h,测定 NADPH 对菌株生长和富硒能力的影响。

5) 果糖对富铬酵母富硒能力的影响。取活化的菌种,摇瓶振荡培养 8 h,加入终质量浓度为 62.5 mg/L 亚硒酸钠的同时分别加入果糖至质量浓度为 2、4、6、8、10 g/L,继续培养至 24 h,测定果糖对菌株生长和富硒能力的影响。

### 1.3.3 菌体生物量与富硒能力的测定

1) 菌体生物量。培养结束后,8 000 r/min,离心 10 min 收集菌体,经去离子水离心洗涤 2~3 次后,于 60 °C 下烘干至恒重,测定菌体的质量浓度。

2) 富硒能力。烘干的菌体中总硒质量分数( $w_{\text{总硒}}$ )及产率(用  $\rho_{\text{总硒}}$  表示)、有机硒质量分数( $w_{\text{有机硒}}$ )及产率(用  $\rho_{\text{有机硒}}$  表示)、有机硒占比的测定按文献[12]方法进行。

### 1.3.4 数据统计与分析

每个单独实验至少重复 3 次,所有实验数据均以(平均值±标准差)表示,并利用 SPASS 17.0 软件进行数据统计处理,采用 ANOVA 进行不同实验组间的邓肯氏差异分析( $P < 0.05$ ),采用 Origin 8.0 软件绘制数据图。

## 2 结果与分析

### 2.1 菌种培养时间对酵母富硒能力的影响

菌种培养时间对酵母富硒能力的影响如图 1 所示,图 1 中,不同字母表示差异显著( $P < 0.05$ ),下同。由图 1 可知:菌株 HXS-02 在摇瓶培养 12~24 h 内快速生长, $\rho_{\text{菌株}}$  在 24 h 时达到最高,为(3.52±0.15) g/L,且显著高于其他时间点( $P < 0.05$ );菌体的  $w_{\text{总硒}}$  随着培养时间的增加而快速增加,在 24 h 后逐渐减缓,但  $\rho_{\text{总硒}}$  随时间的变化呈现先增加后降低的趋势,且在 24 h 达到峰

值,为(7 664.9±361.17)  $\mu\text{g/L}$ ;相应地,菌体的  $w_{\text{有机硒}}$ 、 $\rho_{\text{有机硒}}$  在 24 h 前也呈现快速增长的趋势,随后趋于稳定;期间有机硒占总硒的质量分数从 12 h 的 89% 上升到 24 h 后的 97%。由以上分析可知,24 h 为菌株无机硒添加方式优化时的最佳培养时间。

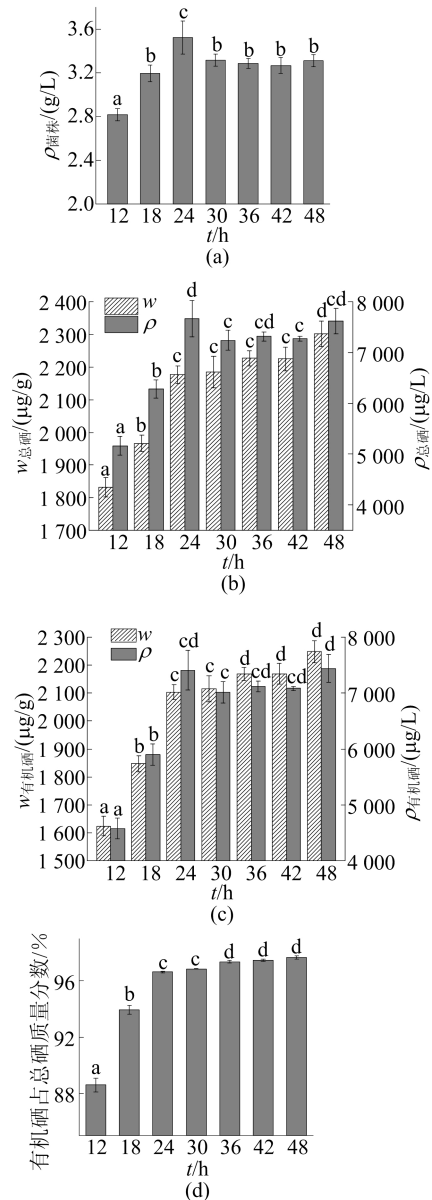


图 1 菌种培养时间对酵母富硒能力的影响

### 2.2 硒添加时间对酵母富硒能力的影响

无机硒的添加时间不仅影响酵母的生长,而且影响有机硒的积累[14]。亚硒酸钠添加时间对菌株 HXS-02 生长和富硒能力的影响如图 2 所示。由图 2 可知,随着亚硒酸钠添加时间的延迟,酵母培养 24 h 后菌株的质量浓度逐渐增加, $w_{\text{总硒}}$ 、 $w_{\text{有机硒}}$  在添加时间为 6 h 达到最高, $\rho_{\text{总硒}}$ 、

$\rho_{\text{有机硒}}$  在添加时间为 8 h 时达到最高, 有机硒占总硒质量分数在添加时间为 6 h 时超过 95%, 随后稳定。酵母富硒发酵既要使收获的菌体有机硒质量浓度高, 也要使收获的富硒酵母产率高, 虽然亚硒酸钠在培养 6 h 时添加比在培养 8 h 时添加所收获的菌体有机硒质量浓度高, 但  $\rho_{\text{有机硒}}$  只有 8 h 的 87%, 因此选择摇瓶培养 8 h 为亚硒酸钠的最适添加时间。

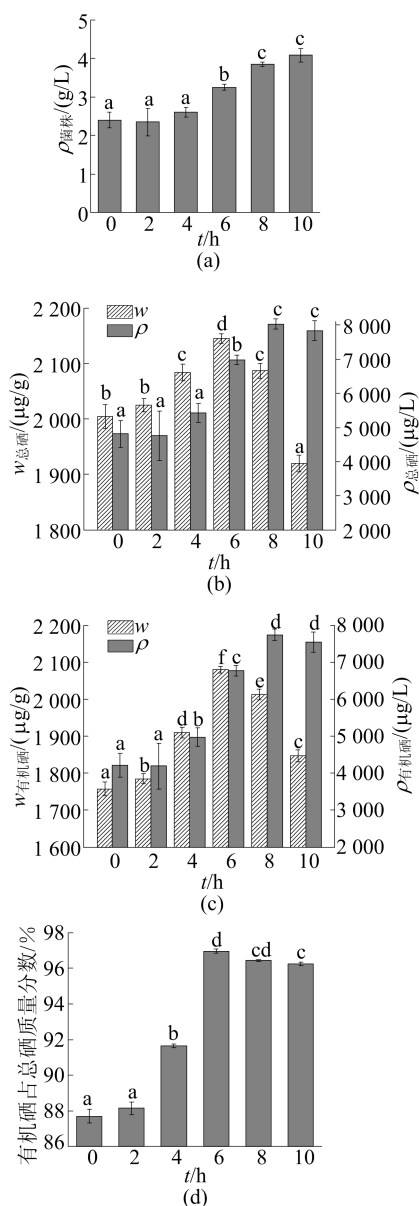


图 2 硒添加时间对菌株 HXS-02 生长和富硒能力的影响

### 2.3 硒添加质量浓度对酵母富硒能力的影响

培养基中的无机硒质量浓度会影响酵母对硒的转化吸收和酵母生物量的积累, 当培养基中无机硒的质量浓度过高时, 酵母的生物量和有机硒转化率会受到抑制<sup>[14]</sup>。因此适宜的无机硒质量浓度是酵母富硒的重要条件。亚硒酸钠添加质量

浓度对菌株 HXS-02 生长和富硒能力的影响如图 3 所示。

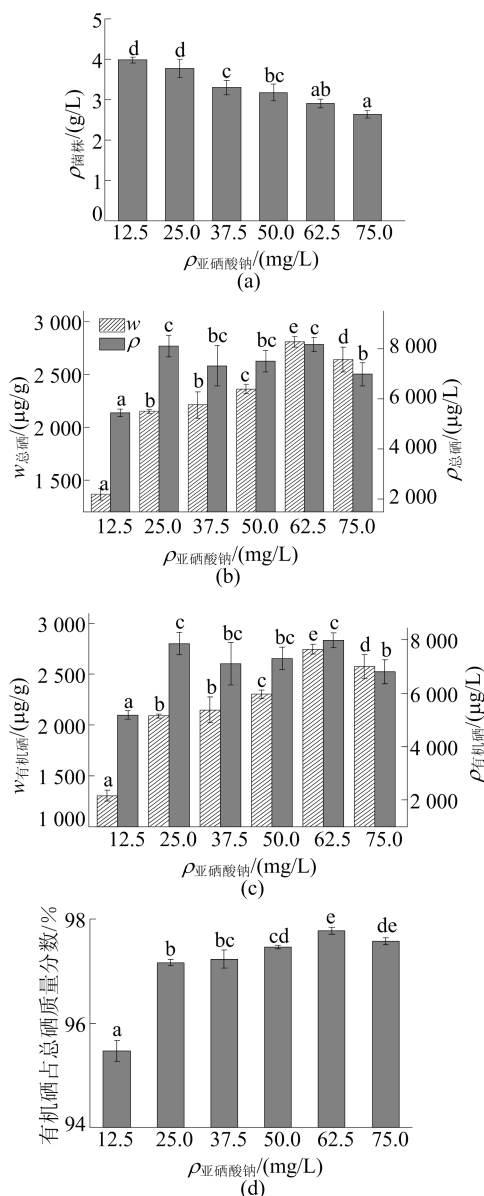


图 3 亚硒酸钠质量浓度对菌株 HXS-02 生长和富硒能力的影响

由图 3 可知, 随着  $\rho_{\text{亚硒酸钠}}$  的增加, 富硒酵母的  $\rho_{\text{菌株}}$  逐渐下降,  $w_{\text{总硒}}$ 、 $w_{\text{有机硒}}$  和有机硒占比逐渐上升至亚硒酸钠质量浓度为 62.5 mg/L 时达到最高, 其中  $w_{\text{总硒}}$ 、 $w_{\text{有机硒}}$  均比亚硒酸钠质量浓度为 25.0 mg/L 时的值高 30% 以上, 而  $\rho_{\text{总硒}}$ 、 $\rho_{\text{有机硒}}$  在亚硒酸钠质量浓度为 25.0 mg/L 时分别达到  $(8\ 099.7 \pm 430.9)$ 、 $(7\ 869.7 \pm 412.7)$   $\mu\text{g/L}$ , 随后下降, 至亚硒酸钠质量浓度为 62.5 mg/L 时重新达到峰值。考虑到菌体在亚硒酸钠质量浓度为 25.0 mg/L 时的  $w_{\text{总硒}}$ , 特别是  $w_{\text{有机硒}}$  低于亚硒酸钠质量浓度为 6.25 mg/L 时的值, 且有利于后续有机硒产率的优化提高, 因此选择 62.5 mg/L 为亚硒酸钠的

最适添加质量浓度。

### 2.4 发酵时间对酵母富硒能力的影响

以培养时间 8 h 时加入质量浓度为 62.5 mg/L 的亚硒酸钠作为优化的无机硒添加方式,考察酵母生长和富硒能力在培养过程中的变化,结果如图 4 所示。

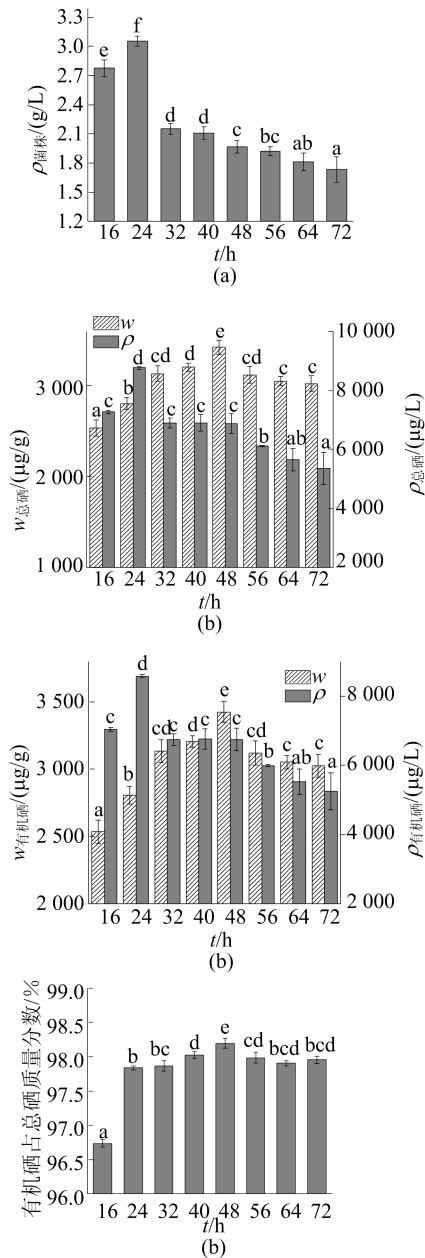


图 4 硒添加方式优化后对菌株 HXS-02 生长和富硒能力的影响

由图 4 可知:  $\rho_{\text{菌株}}$  在亚硒酸钠添加后呈先上升后降低的趋势,培养 24 h 达到生长峰值;  $w_{\text{总硒}}$ 、 $w_{\text{有机硒}}$  随培养时间的延长而增加,在培养的 48 h 均达到峰值,随后迅速下降,有机硒占总硒的质量分数在培养 24 h 后均维持在 97% 以上,虽然  $\rho_{\text{总硒}}$ 、 $\rho_{\text{有机硒}}$  也呈先上升后降低的趋势,但两者的峰

值均出现在培养的 24 h,约是培养 48 h 的 1.3 倍。综合以上结果,以  $\rho_{\text{总硒}}$ 、 $\rho_{\text{有机硒}}$  计,酵母菌株 HXS-02 富硒培养时加入亚硒酸钠的适宜时间和适宜质量浓度分别为 8 h 和 62.5 mg/L,适宜的富硒发酵时间为 24 h。

### 2.5 NADPH 或果糖的添加对富硒能力的影响

NADPH 的浓度对菌株 HXS-02 生长和富硒能力的影响如图 5 所示。

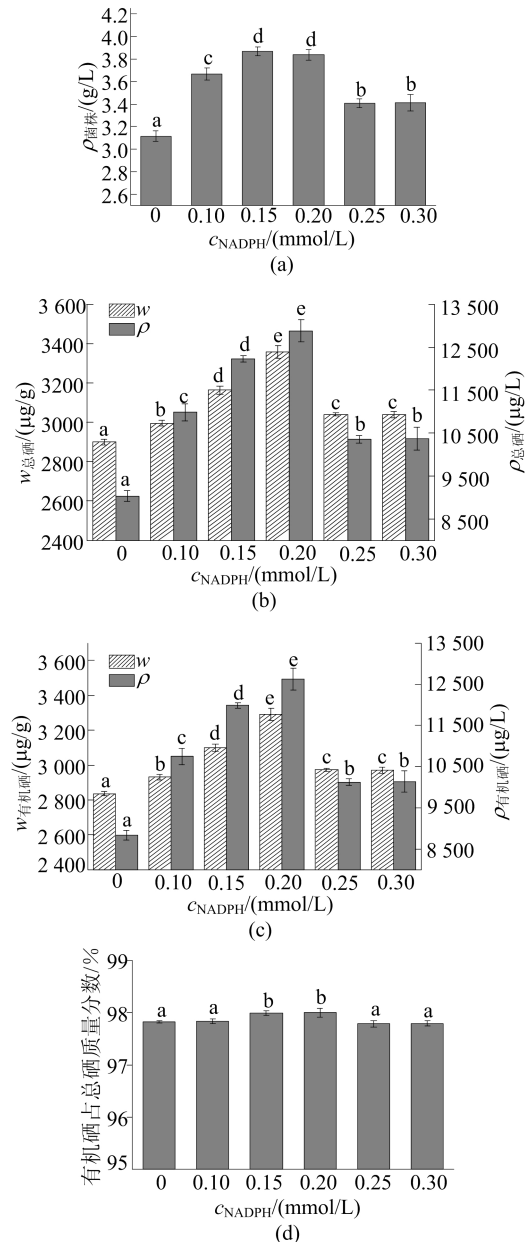


图 5 NADPH 浓度对菌株 HXS-02 生长和富硒能力的影响

由图 5 可知,NADPH 的添加可以显著影响菌株的生长,随着 NADPH 添加浓度的提高,菌株的生长干重呈现先增加后降低的趋势,当  $C_{\text{NADPH}}$  在 0.15~0.20 mmol/L 时,  $w_{\text{菌株}}$  最高,比未

添加 NADPH 菌株的质量分数高 23% 以上;  $w_{\text{总硒}}$ 、 $w_{\text{有机硒}}$  以及  $\rho_{\text{总硒}}$ 、 $\rho_{\text{有机硒}}$  也随 NADPH 添加浓度的增加呈现先增加后减缓的趋势, 并均在  $C_{\text{NADPH}}$  为 0.20 mmol/L 时达到峰值, 有机硒占总硒的质量分数均保持在 97% 以上。结果表明, 在无机硒添加的同时, 在培养基中加入适量的 NADPH 不仅有效促进菌株的生长, 而且可明显提高酵母细胞转化无机硒为有机硒的能力, 与未添加 NADPH 的培养相比, 0.20 mmol/L NADPH 的添加可使菌株的  $w_{\text{总硒}}$ 、 $\rho_{\text{总硒}}$ 、 $w_{\text{有机硒}}$ 、 $\rho_{\text{有机硒}}$  分别提高 15.8%、42.6%、16.1%、42.9%。

果糖的质量浓度对菌株 HXS-02 生长和富硒能力的影响如图 6 所示。

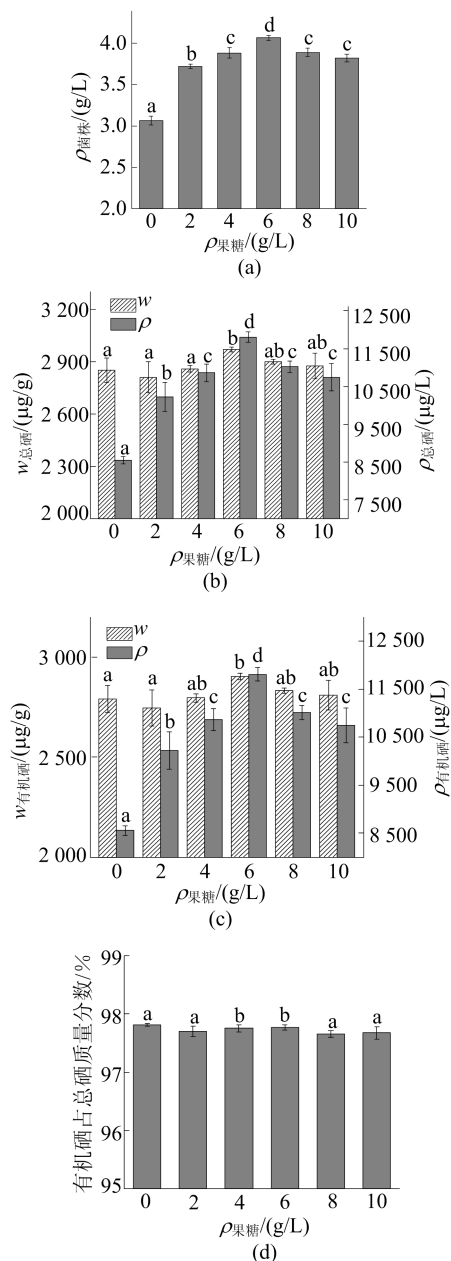


图 6 果糖质量浓度对菌株 HXS-02 生长和富硒能力的影响

由图 6 可知, 果糖的添加可显著促进菌株的生长, 促进作用随果糖质量浓度增加至 6 g/L 时呈现快速上升趋势, 继续增加  $\rho_{\text{果糖}}$  则促进作用开始下降, 与未添加果糖的培养相比, 添加 6 g/L 的果糖可使  $\rho_{\text{菌株}}$  提高 32.6%; 果糖添加后菌株的总硒及有机硒的质量浓度和产率表现出与菌株生长相似的变化趋势, 当培养基中果糖添加至质量浓度为 6 g/L 时, 它们的值均达到最高; 与未添加果糖的培养相比, 果糖的添加不改变菌株中有机硒占总硒的质量分数, 添加 6 g/L 的果糖虽然仅使  $w_{\text{总硒}}$  从  $(2851.9 \pm 69.3) \mu\text{g/g}$  提高到  $(2969.2 \pm 15.0) \mu\text{g/g}$ 、 $w_{\text{有机硒}}$  从  $(2789.5 \pm 67.7) \mu\text{g/g}$  提高到  $(2903.0 \pm 15.7) \mu\text{g/g}$ , 但可使  $\rho_{\text{菌株}}$ 、 $\rho_{\text{总硒}}$ 、 $\rho_{\text{有机硒}}$  分别提高 32.6%、38.1%、38.0%。结果表明, 果糖的添加可通过促进酵母细胞生物量的增加, 从而提高富硒酵母的产率。

### 3 结 论

本文以前期筛选出的酿酒酵母菌株 HXS-02 为起始菌株, 以有机硒的转化能力为指标, 经酵母富硒培养过程中无机硒添加时间和添加质量浓度的优化, 确定了无机硒的最佳添加方式为菌株摇瓶培养 8 h 时添加  $\rho_{\text{亚硒酸钠}}$  为 62.5 mg/L。在此添加方式下菌株经 24 h 培养后总硒和有机硒的产率最高, 分别比优化前提高了 14.3%、15.8%。

NADPH 作为细胞代谢的一种还原力, 果糖作为细胞代谢的一种能量物质, 在亚硒酸钠添加的同时, 适当添加 NADPH 或果糖可进一步提高菌株的富集有机硒能力, 其中 NADPH 可通过促进菌株生长和转化无机硒为有机硒能力实现有机硒的高水平富集, 而果糖则是通过促进菌株的生长实现有机硒的高水平富集。结果表明, 酵母在富硒培养过程中采取适合的无机硒添加方式并辅以添加适量的 NADPH 或果糖, 将可有效地提高酵母富硒培养的产率。NADPH 和果糖是否对酵母富硒培养具有协同作用尚有待研究。

### [参 考 文 献]

- [1] 张俊杰. 硒的生理功能及富硒强化食品的研究进展[J]. 微量元素与健康研究, 2006, 23(3): 58-60.
- [2] 曾静, 罗海吉. 微量元素硒的研究进展[J]. 微量元素与健康研究, 2003, 20(2): 52-56.
- [3] 宁婵娟, 吴国良. 微量元素硒与人体健康及我国富硒食品的开发状况[J]. 山西农业科学, 2009, 37(5): 88-90.
- [4] 姚莉, 段玉峰. 微量元素硒与生物体健康[J]. 广东微量元素

- 科学,2004,11(2):8-13.
- [5] 吴永尧,彭振坤,罗泽民. 硒的多重生物学功能及对人和动物健康的影响[J]. 湖南农业大学学报,1997,23(3):294-300.
- [6] 全宗喜,康世良,武瑞. 硒及硒蛋白生物学作用的研究进展[J]. 动物医学进展,2002,23(6):17-19.
- [7] 陈福生,杨清华. 不同添加时间和添加量组合对酵母富硒效果的影响[J]. 中国酿造,2004,138(9):14-16.
- [8] 李淑敏. 酵母作为微量元素载体的研究及应用前景[J]. 微生物学通报,1999,26(3):220-222.
- [9] YIN H, CHEN Z, GU Z, et al. Optimization of natural fermentative medium for selenium-enriched yeast by d-optimal mixture design[J]. LWT-Food Science and Technology, 2009,42(1):327-331.
- [10] BNSZKY L, SIMONICS T, MARZ A. Sulphate metabolism-selenate-resistant *Schizosaccharomyces pombe* mutants[J]. The Journal of General and Applied Microbiology, 2003,49(5):271-278.
- [11] KIELISZEK M, BLAZEJAK S, GIENKA I, et al. Accumulation and metabolism of selenium by yeast cells[J]. Applied Microbiology Biotechnology, 2015, 99(13):5373-5382.
- [12] 孙朝阳,张玉英,潘利华,等. 高富硒酵母菌株的筛选及其富硒特性分析[J]. 中国酿造,2020,39(9):116-120.
- [13] 杨波,刘志奎,卫功元,等. 培养方式对富硒产朊假丝酵母性能的影响[J]. 生物加工过程,2012,10(4):7-11.
- [14] 周洋枝,苏蒙蒙,路栋,等. 酵母富硒培养条件研究进展[J]. 农产品加工,2019,21(1):74-76.

(责任编辑 张 镛)

## (上接第 1141 页)

- [12] 高聪,罗俊,刘霞,等. 炭角菌属真菌化学成分与生物活性研究进展[J]. 菌物学报,2016,35(7):767-781.
- [13] LUO Z Q, MA X Y, LIU Y, et al. An approach to characterizing the complicated sequential metabolism of salidroside in rats[J]. Molecules, 2016,21(6):706.
- [14] 王兴娜,黄午阳,刘吉开,等. 大炭角菌子实体化学成分的研究[J]. 中草药,2012,43(12):2327-2332.
- [15] 胡峻,张权,齐梦蝶,等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术的川西吊石苣苔中化学成分分析[J]. 中国中药杂志,2016,41(9):1658-1669.
- [16] FRANCESCA M, ERIKA R, MARIA P C. Chemical study of triterpenoid resinous materials in archaeological findings by means of direct exposure electron ionisation mass spectrometry and gas chromatography/mass spectrometry[J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2010,20(11):1787-1800.
- [17] ANGN, MALKE D, LIU H. Simultaneous determination of main bioactive components in *Rosa multiflora* Thunb. and their fragmentation study by LC-MS[J]. Chromatographia, 2009,70(7):1253-1257.
- [18] 肖军霞,张声华. 大豆皂苷的高效液相色谱电喷雾串联质谱研究[J]. 中药材,2006,29(3):229-232.
- [19] SORGI C A, PETI A P F, PETTA T, et al. Comprehensive high-resolution multiple-reaction monitoring mass spectrometry for targeted eicosanoid assays[J]. Scientific Data, 2018,5(1):433-465.
- [20] YANG L, LIU R H, HE J W. Rapid analysis of the Chemical compositions in *semiliquidambar cathayensis* roots by ultra-high-performance liquid chromatography and quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry[J]. Molecules, 2019,24(22):1-17.
- [21] YANG L, FANG Y, LIU R, et al. Phytochemical analysis, anti-inflammatory and antioxidant activities of *Dendropanax dentiger* roots[J]. BioMed Research International, 2020,2020:5084057.
- [22] YI P C, WEI J H, FENG L H, et al. Synthesis and evaluation of antibacterial activities of 5,7-Dihydroxycoumarin derivatives[J]. Archiv der Pharmazie, 2011,344(6):386-393.
- [23] CAPRIOLI G, NAVARINI L, CORTESE M. Quantification of isoflavones in coffee by using solid phase extraction (SPE) and high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS)[J]. Journal of Mass Spectrometry, 2016,51(9):698-703.
- [24] 罗静,杨伟,袁小红,等. 纵条纹炭角菌子实体的化学成分研究[J]. 中药材,2017,40(8):1853-1857.

(责任编辑 闫杏丽)