

# 传统凉果盐胚中有害 和有益微生物的分离与鉴定

徐芳<sup>1,2</sup>, 肖更生<sup>1</sup>, 唐道邦<sup>1\*</sup>, 徐玉娟<sup>1</sup>, 吴继军<sup>1</sup>

(1. 广东省农科院蚕业与农产品加工研究所/广东省农产品加工公共实验室, 广东 广州 510610; 2. 江西农业大学生物科学与工程学院, 江西 南昌 330045)

**摘要:** 为从凉果盐胚中分离到有害和有益微生物菌株并进行菌种鉴定, 评价凉果盐胚食用安全性。通过采取菌株分离, 采用稀释平板法从不同食盐质量分数的 8 种凉果盐胚中分离不同类型菌株, 菌种鉴定分别采用显微观察、生理生化指标检测和 16 S rDNA 基因序列分析, 建立菌株的系统发育树。结果表明: 分离到细菌 32 株, 真菌 7 株, 并分别对其中的条件致病菌株 A 鉴定为浅绿气球菌和有益酵母菌株 B 鉴定为汉逊酵母, 供试的凉果盐胚食用存在着安全隐患。

**关键词:** 凉果; 汉逊酵母; 浅绿气球菌; 分离; 鉴定

中图分类号: TS255.3 文献标志码: A 文章编号: 1000-2286(2011)02-0369-06

## The Separation and Identification of Harmful and Beneficial Microorganisms from Traditional Preserved Fruit

XU Fang<sup>1,2</sup>, XIAO Geng-sheng<sup>1</sup>, TANG Dao-bang<sup>1\*</sup>, XU Yu-juan<sup>1</sup>, WU Ji-jun<sup>1</sup>

(1. Sericulture & Farm Produce Processing Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangdong Open Access Laboratory of Product Processing, Guangzhou 510610, China; 2. College of Bio-engineering, JAU, Nanchang 330045, China)

**Abstract:** The objective of this study is to isolate and identify the harmful and beneficial microorganisms from preserved fruits, and appraise the food security of preserved fruits. Pour plate method was used to isolate the varieties of microorganisms from eight kinds of preserved fruits. Micro-examination, physiological and biochemical tests, and 16S rDNA gene sequencing analysis were used to identify microorganisms, and built the phylogenetic trees of them. The results showed that 32 strains of bacteria and 7 strains of fungi were isolated, and the opportunistic pathogenic bacterium A was identified as *Aerococcus viridans*, the beneficial yeast B was identified as *Debaryomyces hansenii*. Therefore the conclusion is that potential safety hazard exists in the provided preserved fruits.

**Key words:** preserved fruit; *Debaryomyces hansenii*; *Aerococcus viridans*; separation; identification

广式凉果主要是以青梅、杏、三华李、山楂等为加工原料, 腌制后添加甘草、甜味剂、有机酸、蔗糖、食用色素、防腐剂等进行糖渍和调配, 然后干燥除去一定水分, 得到的干性或半干性果品。成品口味清爽, 甜咸酸各种口感交织, 含糖量低, 是一种典型的南方特色休闲食品。目前, 部分凉果还采用传统作坊工

收稿日期: 2010-10-20 修回日期: 2011-01-20

基金项目: 广东省科技计划项目(2009A020101002) 和广东省自然科学基金项目(8151064001000023)

作者简介: 徐芳(1985—), 女, 硕士生; 主要从事微生物发酵工程研究, E-mail: xufang921@163.com; \* 通讯作者: 唐道邦, E-mail: tdbang@163.com。

艺体系,整个行业的加工工艺和生产流程都没有统一的规定,不同原料的加工方式也存在差异。在整个加工过程中,主要是通过高渗透压和低水活度,还有添加少量的防腐剂来达到抑菌的效果,由于腌渍的时间比较长,大量的半成品堆积在一起,很容易造成微生物的大量繁殖。有益微生物可以直接或间接促进凉果特征风味的形成,但是也有一些有害微生物会使其腐败变质,造成食品的污染。

本试验目的是从传统凉果盐胚中筛选出具有耐酸耐盐等优良特征的有益微生物,分离鉴定然后添加到半加工成品中,通过微生物发酵来改善产品的风味和质构,同时对一些有害微生物进行鉴定,根据其生理特征来寻找抑制其生长的有效途径,从而确保凉果加工过程中的安全。

## 1 材料与方法

### 1.1 盐胚原料

自制3种不同食盐添加量三华李盐胚;购买于广东佳宝集团有限公司的香蕉李、桃、陈皮、杨梅、芒果5种盐胚;共8种盐胚晒干后均用塑料袋密封贮藏1个月以上。

### 1.2 实验药品

营养琼脂、孟加拉红培养基、麦芽汁琼脂培养基、MRS培养基、葡萄糖、蔗糖、乳糖、半乳糖、棉籽糖、蜜二糖、无水乙酸钠、酵母浸膏、琼脂粉、那他霉素、氯化钠。

### 1.3 仪器与设备

试管、三角瓶、培养皿、无菌操作台、棉花、纱布、吸管、玻璃珠、灭菌锅、恒温培养箱、恒温水浴锅、离心机、紫外灯等。

## 2 实验方法

### 2.1 微生物的分离

2.1.1 初筛 称取10 g凉果样品,剪碎后放入盛有100 mL无菌生理盐水和放有玻璃珠的三角瓶中,振摇约10 min,使凉果表面的微生物细胞充分分散,然后用移液枪吸取上述混和液0.2 mL置于营养琼脂、孟加拉红培养基、麦芽汁琼脂培养基、MRS培养基中,用无菌玻璃涂棒涂布均匀后,孟加拉红培养基、麦芽汁琼脂培养基平板放在28 ℃恒温培养箱中培养48 h,营养琼脂、MRS培养基平板放在35 ℃恒温培养箱中培养24 h。在MRS培养基中添加10 mg/mL的那他霉素以抑制真菌和霉菌的生长。

2.1.2 细筛 将平板上各不同菌落在平板上划线分离,得到单菌落。选取麦芽汁琼脂平板和MRS平板上的菌株进行分离纯化,接种到斜面上,用于进一步鉴定<sup>[1-2]</sup>。

### 2.2 细菌鉴定方法

2.2.1 菌落形态观察 MRS培养基平板上在35 ℃恒温培养箱中培养24 h后进行菌落形态观察。

2.2.2 生理生化检测 检测项目见表1。

表1 细菌A镜检、生理生化指标检测

Tab.1 The Indicators of Microscopic, physiological and biochemical tests for bacterium A

检测内容 Testing contents	细菌A Bacterium A	检测内容 Testing contents	细菌A Bacterium A
平板菌落形态 Macroscopic Features	圆形、白色、湿润、边缘整齐、 隆起、不透明	明胶液化试验 Gelatin liquefaction test	-
显微镜检形态 Microscopic features	G+球菌	硝酸盐反应 Nitrates reaction	+
运动性 Motility	不运动	接触酶试验 Contact enzyme	-
氧利用情况 Use of oxygen	兼性厌氧	血琼脂反应 Blood agar reaction	显绿

### 2.3 酵母菌鉴定

2.3.1 菌落形态观察 麦芽汁琼脂培养基平板在28 ℃恒温培养箱中培养48 h后进行菌落形态观察。

2.3.2 酵母菌对单糖与二糖的发酵试验 首先制作糖发酵管,在麦氏无碳基础培养基中添加2%待测

糖,内含倒置杜氏小管。取各种糖发酵管各 1 支,在无菌超净台下接入酵母菌,塞好试管塞,将试管轻轻摇晃,使菌体充分分散(不可剧烈振荡,以免将气泡摇入杜氏小管)。然后将上述接种好的各试管置于 28 ℃ 恒温培养箱中培养 5~7 d 后,观察各管的杜氏小管中是否有气泡形成。若有气泡形成,说明能发酵该糖;反之,说明不能发酵该糖。记录实验结果。

2.3.3 酵母菌对碳源的利用试验 首先碳源利用培养基,即麦氏无碳基础培养基中添加 0.5% 待测碳源。取各种碳源利用培养基各 1 支,在无菌超净台下,用接种环刮出少许酵母菌伸入各培养管中,在斜面上自下而上轻轻划线。将上述接种好的各试管置于 28 ℃ 培养 5~7 d。观察各管中酵母菌的生长情况,若生长良好说明能够同化此碳源,若不见生长,说明不能同化此碳源。记录实验结果。

## 2.4 细菌的 16 S rDNA 和酵母菌 18 S rDNA 测序和序列分析

测序交由广东省微生物分析检测中心完成。

## 2.5 酵母菌培养条件

2.5.1 耐盐试验 将筛选出来的酵母以 0.1% 的接种量分别接种到盐质量分数为 0%,5%,10%,15%,20% 的麦芽汁琼脂培养基上在 28 ℃ 条件下培养 24 h 后,用透光度检测菌液浓度。

2.5.2 耐酸试验 将筛选出来的酵母以 0.1% 的接种量分别接种到 pH 值为 2,3,3.5,4,4.5,5,5.5,6,7,8,9 的麦芽汁培养基中,在 28 ℃ 条件下培养 24 h 后,用透光度检测菌液浓度。

## 3 结果与分析

(1) 从这 8 种凉果盐胚中共分离出细菌 32 株,真菌 7 株,与相关研究<sup>[3]</sup> 所得结果基本一致。

(2) MRS 平板上得到 1 株细菌 A,圆形、白色、湿润、边缘整齐、隆起、不透明。其中有 1 株酵母 B 具有浓郁的芳香气味,平板中观察呈乳白色,菌落光滑、圆形、粘稠、湿润、隆起、不透明<sup>[4-5]</sup>。本试验以这 2 株菌作为凉果盐胚中的代表微生物进行进一步的鉴定。

(3) 细菌 A 鉴定。①细菌形态学和生理生化指标检测结果如表 3。

②细菌 A16 S r DNA 序列分析。细菌 A 经过总 DNA 的提取,16 S rDNA 序列的 PCR 扩增,扩增产物的测序,测序结果为:

```
TACCGTATACTGCAGCTCGAGCGACGTAGAAGTGATTGGCTTCCGACGATACGGCGAACGTTTGAGT
TTTCATGCTTAACGGCCTATGTGCTTTTGGTGACATTCCGAAACGGGTGCTAATACCGCATAATATCTTCATC
CGCATGGAAGAAGATTGAAAGACGGCTCTGCTGTCACTTATAGATGACCTTGGCGTGCATTAGTTAGTTGGT
GGGGTAACGGCCTACCAAGACGATGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACATTGGGACTGAG
ACACGGCCCAAACCTCTACGGGAGGCAGCAGTAGGAATCTTCCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCA
ATGCCCGGTGAGTGAAGAAGGCCCTTCGGGTCGTAAAACCTCTGTTATAAGAGAAGAACAATTGTAGAGTAA
CTGCTACAGTCTTGACGGTATCTTATCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGT
AGGTGGCAAGCGTTGTCGGATTTATTGGGCGTAAAGGGAGCGCAGGTGCTTTCTTAAGTCTGATGTGAAA
GCCCACGGCTTAACCGTGGAGGGTCATTGGAACTGGGAACTTGAGTACAGAAGAGGAATGTGGAACCTC
CATGTGTAGCGGTGGAATGCCGTAGATATATGGAAGAACCAGTGGCGAAGGGCAGCATTCTGCTCTGTTAC
TGACACTGAGGCTCGAAAGCGTGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGCTAGTCCACGCCGTAACGAT
GAGTGCTAGGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCACTGCCGAGTTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAG
TACGACCGCAAGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATT
CGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAAGTCTTGACATCCTTTGACACCCTAGAGATAGGGCTTTCCCTTCGG
GACAAGTGAC。
```

建立细菌 A 的系统发育树<sup>[6-8]</sup>,鉴定结果表明此菌最大可能是浅绿气球菌(*Aerococcus viridans*),基因序列同源率为 99%。

(4) 酵母 B 鉴定。①发酵糖试验。此酵母菌对不同糖发酵的结果如表 2,此酵母都能利用葡萄糖、半乳糖、麦芽糖、蔗糖、棉籽糖,但是不能利用乳糖和蜜二糖进行发酵<sup>[9-11]</sup>。

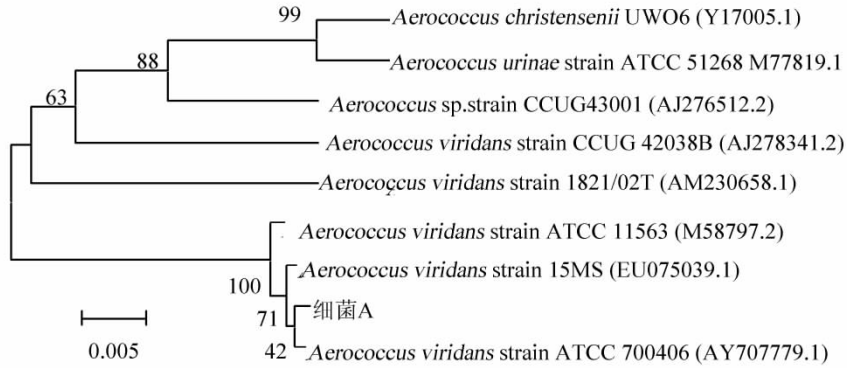


图 1 细菌 A 系统发育树

Fig.1 The phylogenetic tree of bacterium A

表 2 糖发酵实验情况

Tab.2 The experiment of fermentation of sugars

糖类 Saccharide	葡萄糖 Glucose	乳糖 Lactose	半乳糖 Galactose	麦芽糖 Maltose	蔗糖 Sucrose	棉籽糖 Raffinose	蜜二糖 Melibiose
酵母 B Yeast B	+	-	+	+	+	+	-

“+”表示可以发酵 “-”表示不能发酵。

“+” represent can fermentation “-” represent can not fermentation.

②同化碳试验。此酵母菌对碳源的同化能力结果如表 3,结果酵母 B 能利用葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、棉籽糖、乳糖,但不能利用蜜二糖和半乳糖。

表 3 碳源同化实验情况

Tab.3 The experiment of carbohydrates assimilation

碳源 Source of carbon	葡萄糖 Glucose	蔗糖 Sucrose	麦芽糖 Maltose	棉籽糖 Raffinose	乳糖 Lactose	蜜二糖 Melibiose	半乳糖 Galactose
酵母 B Yeast B	+	+	+	+	+	-	-

“+”表示可以同化 “-”表示不能同化。

“+” represent can assimilation “-” represent can not assimilation.

③酵母菌 B 18 S rDNA 序列分析。酵母 B 经过总 DNA 的提取,18 S rDNA 序列的 PCR 扩增,扩增产物的测序,测序结果为:

TTGGCGTCGATTCTTTTTGCGAGCGCTTATTGCGCGGCGAAAAACCTTACACACAGTGTTTTTTGTATT  
 ACAAGAACTCTTGCTTTGGTCTGGACTAGAAATAGTTGGGCCAGAGGTTACTAAACTAAACTCAATATT  
 TATAATTGAATTGTTATTTATTTAATTGCAATTTGTTGATTAATTCAAAAATCTTCAAACTTCAACAAC  
 GGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATATGAATTGCAGATTTTCGT  
 GAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCTTTGGTATTCCAAAGGGCATGCCTGTTTGAGCGTCATTT  
 CTCTCTCAAACCTTCGGGTTTGGTATTGAGTGATACTCTTAGTCGAACTAGGCGTTTGCTTCAAATGTATTGG  
 CATGAGTGGTACTGGATAGTCTATATGACTTTCAATGTATTAGGTTTATCCAACCTCGTTGAATAGTTTAATG  
 GTATATTTCTCGGTATTTCTAGGCTCGGCCCTTACAATATAACAAACAAGTTTGACCTCAAATCAGGTAGGACT  
 ACCCGCTGAACTTAAGCATATCAAAAGGCCGGAG。

并建立酵母 B 的系统发育树,鉴定结果表明此菌最大可能是汉逊德巴利酵母(Debaryomyces hanse-*nii*),ITS 序列同源率为 99%。

(5) 汉逊德巴利酵母培养条件。①耐盐试验。将筛选出来的汉逊德巴利酵母接种到盐质量分数为 0%,5%,10%,15%,20%的麦芽汁琼脂培养基上培养。结果在 0%,5%,10%的培养基上生长良好,在 15%培养基上能生长,在 20%的培养基上不见酵母菌的生长。将 0.1%的各酵母菌接种于盐质量分数

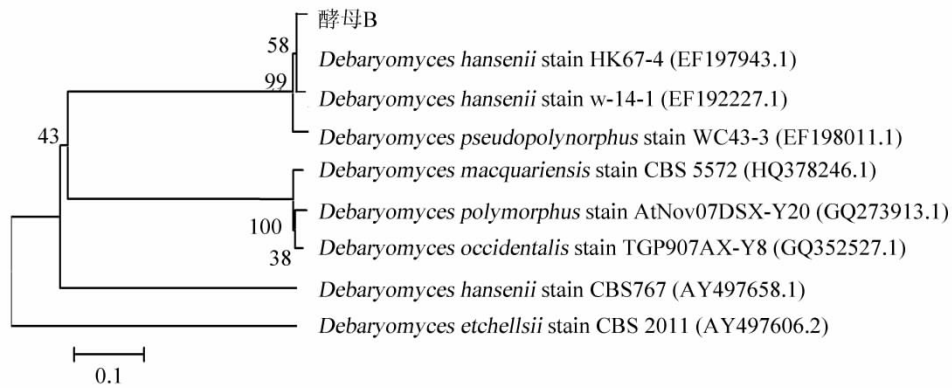


图2 酵母B系统发育树

Fig.2 The phylogenetic tree of Yeast B

分别为0%、2%、4%、6%、8%、10%、12%、14%、16%、18%、20%的麦芽汁培养基,在28℃条件下培养24 h后测定发酵液的OD值,检测结果见图3。

图3试验结果表明:汉逊德巴利酵母在盐质量分数从0%至20%培养液中随盐质量分数增大而菌体生长迅速下降。汉逊德巴利酵母能够耐受一定的盐度。

②耐酸试验。将筛选出来的汉逊德巴利酵母以0.1%的接种量分别接种到pH值为2,3,3.5,4,4.5,5,5.5,6,7,8,9的麦芽汁培养基中,在28℃条件下培养24 h后测定发酵液的OD值,结果见图4。

图4试验结果表明:汉逊德巴利酵母最适pH值为6.0的弱酸性环境。

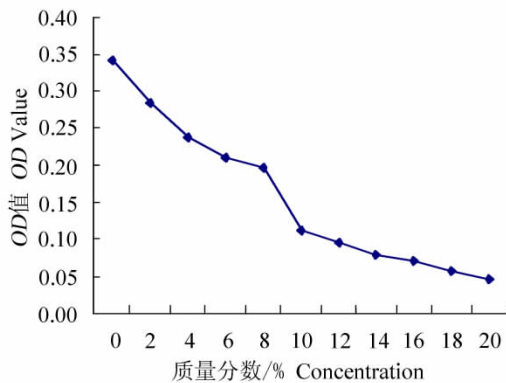


图3 OD值随质量分数变化曲线

Fig.3 The curve of OD value with the change of salinities

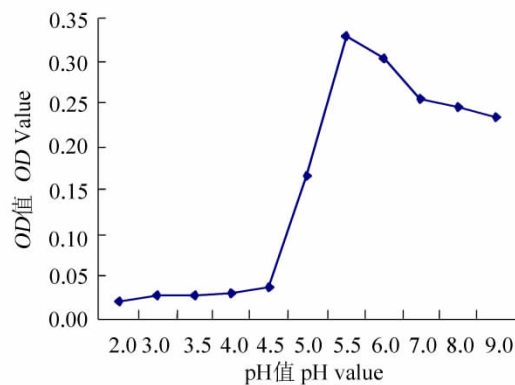


图4 OD值随pH值变化曲线

Fig.4 The curve of OD value with the change of pH value

## 4 讨论与结论

从8种不同凉果盐胚中分离筛选出1株汉逊德巴利酵母(*Debaryomyces hansenii*),这类酵母在腊肠和奶酪等发酵食品中被广泛应用。此酵母发酵能产生乙酸乙酯,从而增加产品香味,耐盐性高并能在低温条件的生长,能代谢有机酸和氨基酸,调节发酵产品的酸度和味道<sup>[12]</sup>。艾方等<sup>[13]</sup>从发酵柑桔汁筛选到产香的异常汉逊酵母可以耐受较高的盐和糖质量分数,适合用作浓缩果汁酿造或是低醇果酒的增香。许慧卿等<sup>[14]</sup>研究表明德汉逊氏酵母可促进肌浆蛋白和肌原纤维蛋白的降解。Chalutz E和Wilson C L研究表明汉逊德巴利酵母可以防治产后柑桔青绿霉病和酸腐病<sup>[15]</sup>。徐军等<sup>[16]</sup>对大曲中酵母菌进行鉴定,也分离到2株汉逊酵母。本试验测定此汉逊德巴利酵母的最适生长条件,为后期接种到凉果腌制加工过程中能加快优势菌群的形成和独特风味的添加具有重要意义。

在MRS平板上主要是为了筛选出乳酸菌,但是经鉴定为浅绿气球菌,为微球菌科气球菌属,是介于葡萄球菌和链球菌之间的一类细菌,而这种菌是一种条件治病菌,能够导致新生儿患败血症<sup>[17]</sup>。这8种凉果盐胚的盐度都比较高(大于20%)<sup>[18]</sup>,而浅绿气球菌能够生长,可见在凉果的加工过程中存在一些安全隐患,为了更好的使食品安全,有必要寻找一种有效抑制浅绿气球菌生长的方法和途径。

## 参考文献:

- [1] 魏景超. 真菌鉴定手册 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979: 102 - 113.
- [2] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册 [M]. 北京: 科学出版社, 2001: 660 - 667.
- [3] 余元善. 广凉果成品中的微生物种群调查 [J]. 广东农业科学, 2008(2): 68 - 70.
- [4] 陶贤清, 陶能国. 一株异常汉逊酵母的分离与鉴定 [J]. 生产与科研经验, 2010, 265(36): 101 - 104.
- [5] Martin C, Galbe M, Wahlbom C F, et al. Ethanol production from enzymatic hydrolysates of sugarcane bagasse using recombinant xylose - utilising *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Enzyme and Microbial Technology, 2002, 31(3): 274 - 282.
- [6] Niu Chao, Wang Yuelan, Yue Junjie. Identification of exotoxin - specific motifs / domains in bacterial exotoxin sequences and corresponding gene ontology analysis [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2010, 50(9): 1150 - 1151.
- [7] 关艳丽, 李莉, 陈飞, 等. 1 株产漆酶白腐真菌的筛选和鉴定 [J]. 微生物学杂志, 2010(3): 74 - 77.
- [8] Solov'eva V, Okunev O N, Vel'kov V V. The selection and properties of *Penicillium verrucosum* mutants with enhanced production of cellulases and xylanases [J]. Microbiology, 2005, 74(2): 276 - 279.
- [9] Pratt P L, Bryce J H, Stewart G G. The effects of osmotic pressure and ethanol on yeast viability and morphology [J]. Journal of the Institute of Brewing, 2003, 109(3): 218 - 228.
- [10] Wihmann C, Hans M, Bluemke W. Metabolic physiology of aroma - producing *Kluyveromyces marxianus* yeast [J]. 2002, 19(15): 1351 - 1363.
- [11] 曾爽, 黄振家, 景志忠, 等. 一株马克斯克鲁维酵母菌株的分离鉴定与形态观察 [J]. 甘肃科技, 2009, 25(10): 50 - 54.
- [12] Sanchez J, Cardona C. AI trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feed stocks [J]. Biore Source Technology, 2008, 99(13): 5270 - 5295.
- [13] 艾方, 胡慧磊, 彭丽桃. 发酵柑桔汁中产香酵母的筛选及生长特性研究 [J]. 中国酿造, 2010, 217(4): 67 - 69.
- [14] 许慧卿, 汪志君, 王畏畏, 等. 德汉逊氏酵母对风鸭肌肉蛋白降解的影响 [J]. 扬州大学学报, 2008, 29(2): 82 - 84.
- [15] Renouf V, Falcou M, Miot - Sertier C, et al. Interactions between *Brettanomyces bruxellensis* and other yeast species during the initial stages of winemaking [J]. Appl Microbiol, 2006, 100(6): 1208 - 1219.
- [16] 徐军, 罗惠波, 崔德宝, 等. 大曲中酵母菌的分离及其鉴定 [J]. 酿酒, 2008, 25(8): 95 - 96.
- [17] 周秀珍, 孙继梅. 浅绿气球菌致新生儿败血症一例 [J]. 小儿急救医学, 2001, 8(4): 200 - 201.
- [18] 徐芳, 唐道邦, 肖更生, 等. 凉果盐胚中菌落总数与盐度酸度等指标间的相关性分析 [J]. 食品科技, 2010, 35(9): 321 - 324.

## (上接第363页)

- [7] 莫小路, 黄学林, 孟辰. 银杏悬浮细胞叶绿体的分化与黄酮类产物的积累 [J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2003, 42(6): 94 - 97.
- [8] 江静, 尚富德, 高清雨. 银杏细胞悬浮培养及其黄酮类物质生产 [J]. 河南大学学报: 自然科学版, 2002, 32(3): 20 - 24.
- [9] 胡燕梅, 张治华, 周骏江. 正交试验优化银杏胚愈伤组织继代培养及黄酮积累 [J]. 北方园艺, 2009, 22(12): 34 - 37.
- [10] 刘佳佳, 江文辉, 赵国玲, 等. 银杏致密细胞聚集体颗粒悬浮培养生产银杏内酯研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2001, 13(4): 16 - 19.
- [11] Chen S Y, Chen K S, Liu W H, et al. Regulation and expression of the PAL in plant and its outlook [J]. J Fruit Sci, 2003, 20(5): 351 - 357.
- [12] 潘瑞焱. 植物生理学 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2002: 133.
- [13] 吕东平, 赵德修, 黄艳, 等. 前体物对水母雪莲悬浮培养细胞黄酮合成的影响 [J]. 云南植物研究, 2001, 23(4): 497.
- [14] 王梦亮, 任振兴, 刘滇生. 前体和诱导子饲喂黄芩愈伤组织强化黄芩苷生产研究 [J]. 中草药, 2007, 38(1): 128 - 130.
- [15] 翟雪霞, 李友勇. 几种氨基酸前体物对红豆杉愈伤组织的生长和紫杉醇含量的影响 [J]. 湖北农业科学, 2009, 48(10): 2494 - 2497.
- [16] 姜玲, 章文才, 马湘涛. 生长素对银杏愈伤组织细胞生长和黄酮含量的影响 [J]. 果树科学, 1999, 8(4): 378 - 382.
- [17] 姜玲, 章文才. 银杏悬浮细胞系的建立及黄酮苷的产生 [J]. 果树科学, 1999, 16(2): 131 - 134.
- [18] 杨林, 周吉源. 银杏愈伤组织培养形成及其黄酮的产生 [J]. 天然产物研究与开发, 2001, 10(3): 48 - 51.
- [19] 杨林, 周吉源. 银杏细胞悬浮培养及黄酮的产生 [J]. 中央民族大学学报: 自然科学版, 2002, 11(3): 43 - 45.