

白背毛木耳菌丝体深层发酵工艺优化

冀宏, 李智, 郑丽雪

(常熟理工学院生物与食品工程学院, 江苏 常熟 215500)

摘要: 以菌丝体干质量浓度为考察指标, 对白背毛木耳液体深层发酵的培养基及工艺条件进行优化。通过正交试验($L_9(3^4)$)确定了发酵培养基最佳配方。在此基础上, 基于三因素三水平的 Box-Behnken 设计试验, 采用响应曲面分析法对影响白背毛木耳菌丝体生长的发酵温度、摇瓶转速和发酵时间进行优化, 确定最佳的培养条件。结果表明白背毛木耳深层发酵的最佳培养基组分为: 葡萄糖 2.00g/100mL、酵母膏 0.20g/100mL、磷酸二氢钾 0.25g/100mL、硫酸镁 0.15g/100mL, 当发酵温度为 26℃、转速为 182r/min、发酵时间为 6.07d(145.7h)时发酵菌丝体干质量浓度最高, 可达 1.93g/100mL, 较优化前提高了 1.24 倍。

关键词: 白背毛木耳; 深层发酵; 菌丝体干质量; 正交试验; 响应曲面法

Optimization of Submerged-fermentation Processing of Mycelia from *Auricularia polytricha*

Ji Hong, Li Zhi, Zheng Li-xue

(College of Biology and Food Engineering, Changshu Institute of Technology, Changshu 215500, China)

Abstract: Biomass (dry weight) of mycelia was used as index to explore the optimal culture medium and processing conditions of submerged-fermentation of mycelia from *Auricularia polytricha*. The optimal fermentation broth formula was investigated by Box-Behnken and response surface analysis to be 2.00 g glucose, 0.20 g yeast extract, 0.25 g KH_2PO_4 , and 0.15 g MgSO_4 in 100 mL of culture medium. The optimal fermentation conditions were fermentation temperature of 26 °C, rotation speed of 182 r/min and fermentation time of 145.7 h. Under the optimal culture medium and fermentation conditions, the dry mycelia was up to 1.93 g in 100 mL of culture medium, which was increased by 1.24 fold compared with the conditions before optimization.

Key words: *Auricularia polytricha*; submerged-fermentation; biomass (dry weight) of mycelia; orthogonal experiment; response surface methodology

中图分类号: Q814.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2010)23-0204-06

白背毛木耳(*Auricularia polytricha*) 隶属于担子菌亚门, 层菌纲, 木耳目, 木耳科, 木耳属中的毛木耳种^[1]。按照背部绒毛层颜色不同, 毛木耳分为白背毛木耳和黄背毛木耳两个商业化栽培品种^[2]。白背毛木耳于 20 世纪末由台湾省引进, 是国际市场需求的主要毛木耳品种。

食用菌深层发酵具有时间短、效率高、成本低等优势^[3-4]。对毛木耳深层液体发酵技术的研究及其发酵产物的开发利用具有很大的潜力, 展现出诱人的应用前景: 1) 利用液态深层发酵菌丝体生产毛木耳多糖, 药理研究表明^[5-9]毛木耳多糖具有凝血、抗衰老、抗血栓、降血脂、免疫增强和抗肿瘤等作用; 2) 生产毛木耳液体

菌种, 实践证明液体菌种具有生产周期短、菌龄一致、菌丝发育点多、萌发快、成本低等优点^[3, 10-11]; 3) 利用深层发酵产物开发功能性食品、营养饮品和保健品^[12]。

目前, 国内外关于毛木耳深层发酵技术的研究报道很少。Jonathan 等^[13]研究了野生采集毛木耳菌株在液体培养基中的生长条件; Xu 等^[14]采用均匀设计和回归分析的方法对毛木耳深层发酵条件进行了优化。国内的一些研究主要是集中在毛木耳深层发酵菌丝体的营养成分研究、液体菌种的应用研究及发酵条件研究方面^[1, 10, 15-16], 暴增海等^[16]报道了关于黄背毛木耳的液体发酵培养优化, 而针对白背毛木耳深层发酵技术的系统研究尚未见报道。本实验拟以白背毛木耳发酵菌丝体干质量(生物

收稿日期: 2010-08-20

基金项目: 2009 年江苏省科技厅苏北科技专项资助项目(BN2009320); 苏州市科技发展计划项目(SZS201007)

作者简介: 冀宏(1969—), 男, 研究员, 博士研究生, 研究方向为食、药用菌工程技术研究及现代农业技术经济与管理。

E-mail: jihong8848@126.com

量)为目标产物,采用正交试验和响应面分析法分别对发酵培养基组分和发酵条件进行优化,以期对白背毛木耳深层发酵技术规模应用和发酵食品开发提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株

白背毛木耳采自江苏省泗洪产区子实体,经PDA培养基组织分离、纯培养,保藏。

1.1.2 种子发酵培养基

玉米粉 1g/100mL、豆粕 1g/100mL、葡萄糖 2g/100mL、牛肉膏 0.5g/100mL、磷酸二氢钾 0.1g/100mL、硫酸镁 0.1g/100mL、VB₁ 0.01g/100mL, pH 值自然。

1.2 方法

1.2.1 菌丝体干质量测定

将发酵醪液过 80 目不锈钢标准筛,用蒸馏水冲洗 3 次,将过滤所得的菌丝体于 60℃ 电热培养箱中烘干至质量恒定,用电子天平称质量,得菌丝体细胞干质量。

1.2.2 摇瓶发酵

将白背毛木耳液体菌丝体接种到发酵培养基中,接种量为 10%,置于 25℃, 180r/min 的恒温摇床上振荡培养 6 d。

1.2.3 发酵培养基单因素试验

1.2.3.1 碳源的选择

考察葡萄糖、麦芽糖、果糖、乳糖、蔗糖、可溶性淀粉 6 种碳源对发酵产菌丝体的影响,确定出最佳碳源。培养基组成为:蛋白胨 0.15g/100mL、磷酸二氢钾 0.3g/100mL、硫酸镁 0.15g/100mL、碳源 2g/100mL、pH 值自然。之后对筛选出的最佳碳源进行浓度添加试验,以确定最佳水平范围。

1.2.3.2 氮源的选择

考察牛肉膏、蛋白胨、酵母浸出汁、玉米粉、麸皮、豆粕 6 种氮源对发酵产菌丝体的影响,确定最佳氮源。培养基组成为:葡萄糖 2g/100mL、磷酸二氢钾 0.3g/100mL、硫酸镁 0.15g/100mL、氮源 0.15g/100mL, pH 值自然。之后对筛选出的最佳氮源进行浓度添加试验,以确定最佳水平范围。

1.2.3.3 无机盐的选择

分别考察 KH_2PO_4 、 MgSO_4 两种无机盐的添加量对发酵产菌丝体的影响。 KH_2PO_4 添加量为 0.1、0.15、0.2、0.25、0.3、0.35g/100mL。 MgSO_4 添加量为 0.05、0.1、0.15、0.2、0.25、0.3g/100mL。

1.2.4 发酵条件单因素试验

1.2.4.1 发酵温度

摇床转速 180r/min,发酵时间为 6d 条件下分别考察 22、24、26、28、30、32℃ 不同发酵温度对发酵产菌丝体的影响,确定最佳发酵温度。

1.2.4.2 摇床转速

在发酵温度 25℃,发酵时间为 6d 条件下,分别考察 120、140、160、180、200、220r/min 转速条件下对发酵产菌丝体的影响,确定最佳摇床转速。

1.2.4.3 发酵时间

在温度 25℃、摇床转速 180r/min 条件下,发酵开始后每隔 24h 测定菌丝体干质量和发酵液 pH 值,确定最佳发酵时间。

1.2.5 发酵条件 Box-Behnken 中心组合试验设计及响应面分析^[17-18]

采用 Box-Behnken 中心组合试验设计,进一步进行三因素三水平的响应面分析实验。确定最佳的发酵条件。编码与因素对应关系如表 1 所示。

表 1 Box-Behnken 设计试验因素、水平及编码
Table 1 Factors, levels and codes of Box-Behnken design

自变量	未编码	编码	编码水平		
			-1	0	1
温度/℃	X_1	x_1	24	26	28
摇床转速/(r/min)	X_2	x_2	160	180	200
发酵时间/d	X_3	x_3	5	6	7

2 结果与分析

2.1 发酵培养基单因素试验结果

2.1.1 碳源对发酵产菌丝体的影响

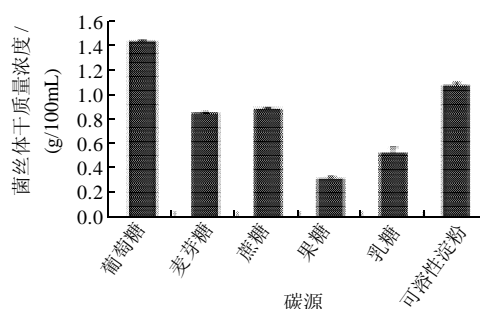


图 1 碳源对白背毛木耳菌丝体深层发酵的影响
Fig.1 Effect of carbon source on submerged-fermentation of mycelia from *Auricularia polytricha*

由图 1 可见,发酵培养基最佳碳源为葡萄糖,菌丝体干质量浓度可达 1.45g/100mL。其次为可溶性淀粉,果糖对菌丝体生长作用最小,菌丝体干质量浓度

仅为 0.32g/100mL。由图 2 可见, 葡萄糖质量浓度为 2g/100mL 时, 菌丝体干质量浓度达最大值, 为 1.53g/100mL。

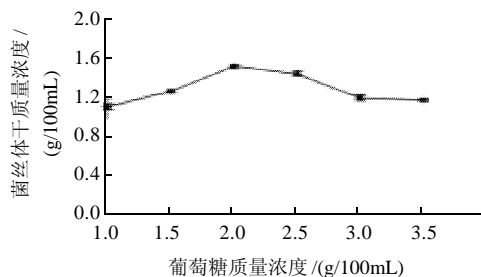


图 2 葡萄糖质量浓度对白背毛木耳菌丝体深层发酵的影响
Fig.2 Effect of glucose concentration on submerged-fermentation of mycelia from *Auricularia polytricha*

2.1.2 氮源对发酵产菌丝体的影响

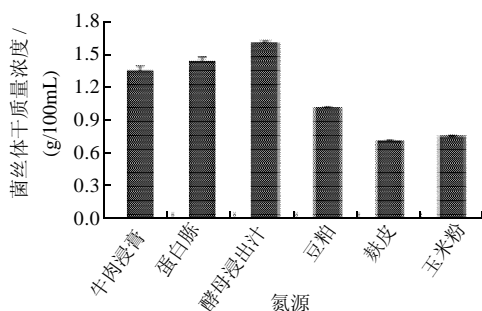


图 3 氮源对白背毛木耳菌丝体深层发酵的影响
Fig.3 Effect of nitrogen source on submerged-fermentation of mycelia from *Auricularia polytricha*

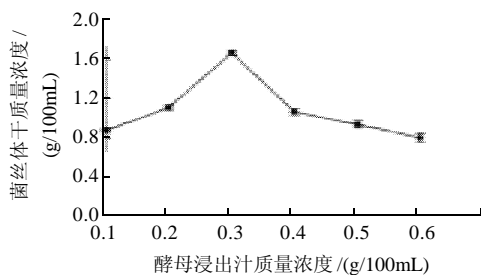


图 4 酵母浸出汁质量浓度对白背毛木耳菌丝体深层发酵的影响
Fig.4 Effect of yeast extract concentration on submerged-fermentation of mycelia from *Auricularia polytricha*

由图 3 可见, 最佳氮源为酵母浸出汁, 菌丝体干质量浓度达到 1.61g/100mL, 其次为蛋白胨, 麸皮对菌丝体生长作用最小。可能是酵母浸出汁中丰富的生长因子促进了白背毛木耳菌丝体的生长。由图 4 可知, 当酵母浸出汁质量浓度为 0.3g/mL 时, 菌丝体干质量浓度达

1.67g/100mL。

2.1.3 无机盐对发酵产菌丝体的影响

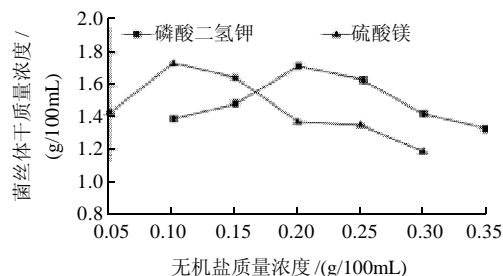


图 5 无机盐质量浓度对白背毛木耳菌丝体深层发酵的影响
Fig.5 Effect of inorganic salt concentration on submerged-fermentation of mycelia from *Auricularia polytricha*

由图 5 可见, KH_2PO_4 最佳质量浓度为 0.2g/100mL, MgSO_4 最佳质量浓度为 0.1g/100mL。

2.2 发酵培养基正交试验优化

基于发酵培养基单因素试验结果, 进行 $L_9(3^4)$ 正交试验设计, 以菌丝体干质量浓度为指标, 正交试验结果及分析见表 2, 方差分析见表 3。

表 2 $L_9(3^4)$ 正交试验结果与极差分析
Table 2 Results and range analysis of orthogonal experiments

试验号	A 葡萄糖质量浓度/(g/100mL)	B 酵母浸出汁质量浓度/(g/100mL)	C 磷酸二氢钾质量浓度/(g/100mL)	D 硫酸镁质量浓度/(g/100mL)	菌丝体干质量浓度/(g/100mL)
1	1(1.5)	1(0.2)	1(0.15)	1(0.05)	1.15
2	1	2(0.3)	2(0.20)	2(0.10)	1.31
3	1	3(0.4)	3(0.25)	3(0.15)	1.66
4	2(2.0)	1	2	3	1.86
5	2	2	3	1	1.79
6	2	3	1	2	1.56
7	3(2.5)	1	3	2	1.46
8	3	2	1	3	1.54
9	3	3	2	1	1.64
K_1	4.12	4.47	4.25	4.58	
K_2	5.21	4.64	4.81	4.33	
K_3	4.64	4.86	4.91	5.06	
k_1	1.37	1.49	1.42	1.53	
k_2	1.74	1.55	1.60	1.44	
k_3	1.55	1.62	1.64	1.69	
R	0.37	0.13	0.22	0.25	

表 3 正交试验结果方差分析
Table 3 Variance analysis of orthogonal experiments

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
A	0.198	2	0.099	7.62	> 0.05
B	0.025	2	0.013	1.00	> 0.05
C	0.084	2	0.042	3.23	> 0.05
D	0.092	2	0.046	3.54	> 0.05

注: $F_{0.01(2,2)}=99.0$; $F_{0.05(2,2)}=19.0$ 。

表2直观反映,第4号试验组 $A_2B_1C_2D_3$ 的菌丝体干质量浓度最大(1.86g/100mL),是各试验组中效果最好的;极差分析显示,影响菌丝体发酵的因素主次顺序为: $A > D > C > B$ 。理论最优条件组合为 $A_2B_3C_3D_3$,即发酵培养基中葡萄糖、酵母浸出汁、磷酸二氢钾和硫酸镁质量浓度分别为2.0、0.4、0.25g/100mL和0.15g/100mL时,发酵产白背毛木耳菌丝体干质量浓度最高。然而方差分析表明,每一个因素对菌丝体干质量浓度都无显著性影响(表3),加之酵母浸出汁为最次要影响因素,考虑到实际生产过程中降低成本的需要,酵母浸出汁的质量浓度可选取水平1,即0.2g/100mL,从而形成新的组合方案,即 $A_2B_1C_3D_3$ 。对此进行验证实验,结果表明,在相同工艺条件下得发酵菌丝体干质量浓度1.91g/100mL,高于 $A_2B_1C_2D_3$ 条件下菌丝体干质量浓度1.86g/100mL,故发酵培养基优化方案确定为 $A_2B_1C_3D_3$ 。

2.3 发酵条件单因素试验

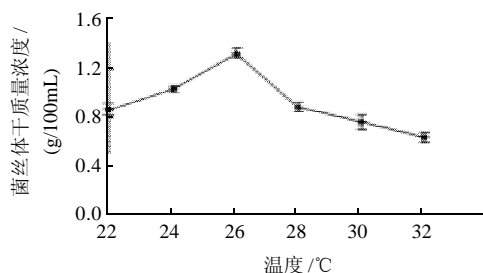


图6 温度对发酵产菌丝体的影响

Fig.6 Effect of fermentation temperature on submerged-fermentation of mycelia from *Auricularia polytricha*

由图6可见,温度从22℃上升到26℃,菌丝体干质量浓度逐渐升高,增加趋势明显,高于26℃时,菌丝体干质量浓度迅速下降,故发酵温度以26℃为适宜。

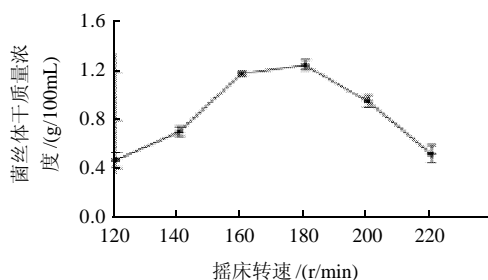


图7 摇床转速对发酵产菌丝体的影响

Fig.7 Effect of rotation speed on submerged-fermentation of mycelia from *Auricularia polytricha*

由图7可见,当摇床转速为180r/min时,菌丝体干质量浓度最高,转速过高或过低均不利于白背毛木耳菌丝体的生长。

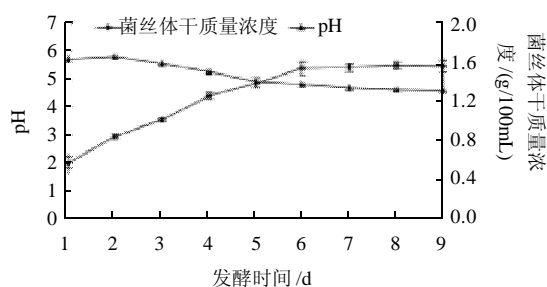


图8 发酵时间对发酵产菌丝体的影响及发酵过程pH值变化

Fig.8 Effect of fermentation time on submerged-fermentation of mycelia from *Auricularia polytricha* and pH change during fermentation

由图8可见,发酵前6d,随着发酵时间延长,菌丝体干质量浓度呈快速上升趋势,发酵液的pH值呈现逐渐下降趋势;6d之后菌丝体干质量浓度缓慢上升直至基本稳定,同时,发酵液pH值下降趋缓至基本稳定,考虑到成本因素,将发酵时间确定为6d(144h)。

2.4 响应面试验结果与优化分析

2.4.1 Box-Behnken 中心组合试验设计及响应面分析

采用Box-Behnken试验设计对白背毛木耳菌丝体发酵条件进行三因素三水平响应面分析试验,包括12个析因试验和3个中心试验。并运用SAS软件的RSREG(Response surface regression)程序对15个试验点的响应值进行回归分析。经回归拟合后,确定函数表达式,结果见表4。

表4 Box-Behnken 中心组合试验设计及结果

Table 4 Design of Box-Behnken central composite experiments and biomass of mycelia

试验号	X_1	X_2	X_3	Y 菌丝体干质量浓度/(g/100mL)
1	-1	-1	0	1.12
2	-1	1	0	1.29
3	1	-1	0	1.33
4	1	1	0	1.35
5	0	-1	-1	1.44
6	0	-1	1	1.41
7	0	1	-1	1.51
8	0	1	1	1.53
9	-1	0	-1	1.11
10	1	0	-1	1.17
11	-1	0	1	1.22
12	1	0	1	1.36
13	0	0	0	1.93
14	0	0	0	1.94
15	0	0	0	2.01

采用SAS RSREG程序对表5进行分析,可知各因素影响程度主次顺序为: $X_1 > X_2 > X_3$; X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_1^2 、

X_2^2 、 X_3^2 项对菌丝体干质量浓度影响极为显著, X_1X_2 项影响显著, X_1X_3 、 X_2X_3 项影响不显著。

表5 响应曲面分析试验二次回归模型参数

Table 5 Quadratic regression model parameters of response surface analysis experiments

模型	非标准化参数	<i>t</i>	<i>P</i>
常数项	-108.679	-14.8	< 0.0001
X_1	6.280625	15.04	< 0.0001
X_2	0.2165	6.4	0.0014
X_3	2.93375	5.08	0.0038
X_1^2	-0.11813	-15.84	< 0.0001
X_1X_2	-0.00094	-1.31	0.2476
X_1X_3	0.01	0.7	0.5164
X_2^2	-0.00054	-7.21	0.0008
X_2X_3	0.000625	0.44	0.6809
X_3^2	-0.2725	-9.14	0.0003

运用 SAS 程序进行回归拟合删除不显著项, 简化后的回归方程如下:

$$Y = -108.678750 + 6.280625X_1 + 0.216500X_2 + 2.933750X_3 - 0.118125X_1^2 - 0.000938X_1X_2 - 0.000537X_2^2 - 0.272500X_3^2$$

对该方程的显著性分析得 $F_1=40.36$, 相应的概率值为 0.0004; 失拟项检验分析得 $F_2=2.21$, $P=0.3261$, $R^2=0.9864$ 。表明方程的模型达到极其显著; 失拟性分析显示该回归方程无失拟因素存在, 回归模型与实测值能较好地拟合。当发酵温度、摇床转速和发酵时间分别为: 26.118831℃、182.147041r/min、6.071156d(即 145.7h) 时, 得到的菌丝体干质量浓度理论预测最大值为 1.965585g/100mL(表 6)。

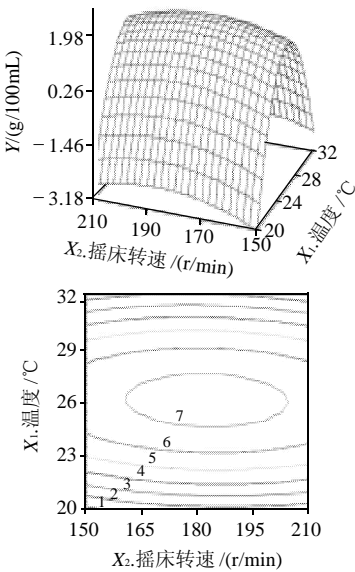
表6 响应曲面分析试验优化值及在最优条件下的菌丝体干质量浓度

Table 6 Optimal values of response surface experiments and mycelium biomass under the optimal conditions

因素	标准化	非标准化	菌丝体干质量浓度/(g/100mL)
X_1	0.059415	26.11883	
X_2	0.107352	182.147	1.965585
X_3	0.071156	6.071156	

2.4.2 响应面直观分析

为观察某两个因素对发酵产菌丝体的交互影响, 还需进行降维分析^[17]。根据回归方程所做的响应曲面图及其等高线图(图 9~11)即可对任何两因素交互影响效应进行分析与评价, 并从中确定最佳因素水平范围。从响应面的最高点和等值线可以看出, 在所选的范围内存在极值, 既是响应面的最高点, 同时也是等值线最小椭圆

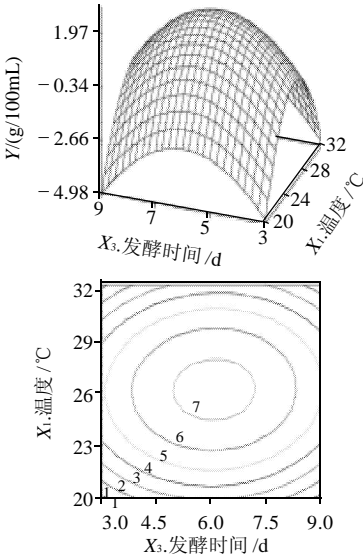


1~7. 分别为 -2.925、-2.131、-1.377、-0.603、0.171、0.945、1.719。

图9 温度和摇床转速对发酵产菌丝体交互效应的响应面及其等高线图

Fig.9 Response surface and contour plots for the effect of cross-interaction between fermentation temperature and rotation speed on submerged-fermentation of mycelia from *Auricularia polytricha*

图 9 显示, 当发酵时间位于中心水平(即 X_3 为 6d) 时, 摇床转速轴向等高线变化密集, 而培养温度轴向等高线的变化相对稀疏, 故培养温度对响应值峰值的影响较摇床转速影响大, 发酵温度和摇床转速的交互作用较强。在摇床转速为 160.5~204r/min, 培养温度在 24.5~27.5℃ 的范围内, 发酵液所能获得的最大菌丝体干质量浓度为 1.719g/100mL。

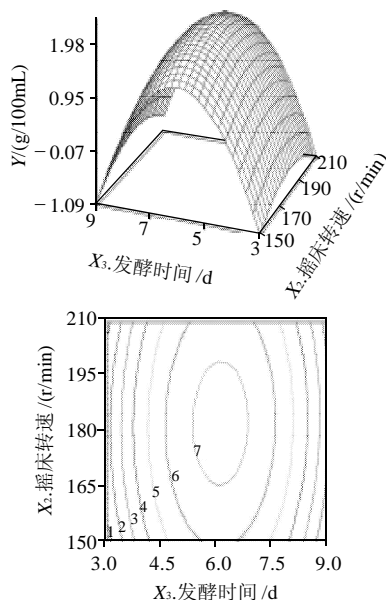


1~7 分别为 -4.63、-3.59、-2.54、-1.50、-0.45、0.58、1.63。

图10 温度和发酵时间对发酵产菌丝体交互效应的响应面及其等高线图

Fig.10 Response surface and contour plots for the effect of cross-interaction between fermentation temperature and fermentation time on submerged-fermentation of mycelia from *Auricularia polytricha*

图 10 显示, 当摇床转速位于中心水平(即 X_2 为 180r/min)时, 发酵温度和发酵时间的轴向等高线疏密程度相似, 故两者间的交互作用不大。发酵时间为 5.1~7.2d, 温度为 24.5~27.5℃ 范围内, 发酵液所能获得的最大菌丝体干质量浓度为 1.63g/100mL。



1~7. -0.937、-0.477、-0.017、0.443、0.903、1.363、1.323。

图 11 摇床转速和发酵时间对发酵产菌丝体交互效应的响应面及其等高线图

Fig.11 Response surface and contour plots for the effect of cross-interaction between rotation speed and fermentation time on submerged-fermentation of mycelia from *Auricularia polytricha*

图 11 显示, 当培养温度位于中心水平(即 X_1 为 26℃)时, 摇床转速和发酵时间的交互作用也不大。在发酵温度 25~27.5℃、发酵时间 5.1~7.2d 的最佳条件下, 发酵液所能获得的最大菌丝体干质量为 1.823g/100mL。

2.4.3 验证实验

为了检验响应曲面法结果的可靠性, 对分析得到的白背毛木耳深层发酵优化条件: 培养温度 26℃、摇床转速 182r/min、发酵时间 6.07d(即 145.7h)进行验证实验, 3 次实验结果发酵菌丝体干质量平均值为 1.93g/100mL, 与预测值误差为 ±1.82%, 说明模型与预测值拟合较好, 回归方程为白背毛木耳深层发酵工艺提供了一个合适的模型。

3 结论与讨论

3.1 通过正交试验、Box-Behnken 试验设计及响应面分析, 实现了白背毛木耳菌丝体深层发酵工艺的优化。确定的最佳发酵培养基组分为: 葡萄糖 2.00g/100mL、酵母浸出汁 0.20g/100mL、磷酸二氢钾 0.25g/100mL、硫酸镁 0.15g/100mL; 优化发酵条件为: 温度 26℃、摇床转

速 182r/min、发酵时间 6.07d(145.7h)。此条件下发酵菌丝体干质量浓度可达到 1.93g/100mL, 比优化前的产量提高了 1.24 倍。

3.2 用响应面分析研究的因素一般为 2~3 个, 而对于 3 个以上的研究结果比较复杂^[18], 所以对于培养基的优化选用 $L_9(3^4)$ 的正交试验。响应面分析求得的回归方程精度高, 能研究几种因素的交互作用的回归分析, 所以本实验对于发酵条件的优化选用了响应面分析方法。结果表明, 响应面分析法不仅规模小, 而且效果显著, 而正交试验则更具可比性与直观性。二者结合进行发酵工艺优化研究在降低实验成本的同时, 提高了实验效率。

3.3 对于复杂的发酵代谢过程而言, 发酵效果可以体现在生物量的增多和有效代谢产物的生成两个方面^[19]。所以, 当采用不同的考察指标时, 工艺优化的结论可能是不同的。由于本实验选择发酵生物量作为惟一的指标, 研究结论仅是在此指标下的优化结果, 而针对某一具体代谢产物如多糖的产生却不一定条件最优, 需要在今后的实验中作进一步探讨。

参考文献:

- [1] 张丹, 郑有良. 毛木耳的研究进展[J]. 西南农业学报, 2004(5): 668-673.
- [2] 卯晓岚. 中国大型真菌[M]. 郑州: 河南科学技术出版社, 2000.
- [3] 刘梅森, 陈海晏, 孙红斌. 液态发酵技术培养食用菌的研究概况[J]. 江西科学, 1997, 15(3): 193-198.
- [4] TANG Yajie, ZHU Liwen, LI Hongmei, et al. Submerged culture of mushrooms in bioreactors: Challenges, current state-of-the-art, and future prospects[J]. Food Technol Biotechnol, 2007, 45(3): 221-229.
- [5] YANG B K, HA J Y, JEONG S C, et al. Hypolipidemic effect of an exo-biopolymer produced from submerged mycelial culture of *Auricularia polytricha* in rats[J]. Biotechnology Letters, 2002, 24(16): 1319-1325.
- [6] SHEU F, CHIEN P J, CHIEN A L, et al. Isolation and characterization of an immunomodulatory protein (APP) from the Jew's Ear mushroom *Auricularia polytricha*[J]. Food Chemistry, 2004, 87(4): 593-600.
- [7] 钟韩, 杨振湖, 李惠英, 等. 毛木耳多糖诱导血小板聚集作用研究[J]. 广东药学院学报, 2002, 18(1): 27-28.
- [8] 周学君, 俞发. 毛木耳多糖的抗氧化作用[J]. 中国医院药杂志, 2000, 20(9): 610-611.
- [9] 吴春敏, 陈琼华. 毛木耳多糖的抗凝血和降血脂作用[J]. 中国药科大学学报, 1991, 22(3): 164-166.
- [10] 万兰英, 张超礼, 孙卫, 等. 毛木耳液体菌种的应用研究[J]. 中国食用菌, 1997, 16(3): 15-16.
- [11] 李玉梅, 陈艳秋. 黑木耳液体菌种应用于生产应注意的几个问题[J]. 食用菌, 2006(5): 34-35.
- [12] 金艳梅, 孙立梅, 徐济则. 黑木耳液体发酵花生乳饮料的研制[J]. 食用菌, 2009(3): 60-62.
- [13] JONATHAN S G, BAWO D D S, ADEJOYE D O, et al. Studies on biomass production in *Auricularia polytricha* collected from wilberforce island, bayelsa state, nigeria[J]. American Journal of Applied Sciences, 2009, 6(1): 182-186.
- [14] XU C P, YUN J W. Optimization of submerged-culture conditions for mycelial growth and exo-biopolymer production by *Auricularia polytricha* (wood ears fungus) using the methods of uniform design and regression analysis[J]. Biotechnol Appl Biochem, 2003, 38(2): 193-199.
- [15] 高峰, 谢凌慧, 卢伟, 等. 毛木耳液体菌种的研究及栽培实验[J]. 中国食用菌, 2009, 28(3): 32-34.
- [16] 暴增海, 合强. 黄背木耳液体发酵培养基的优化研究[J]. 食用菌, 2009(1): 4-6.
- [17] 潘丽军, 陈锦权. 试验设计与数据处理[M]. 南京: 东南大学出版社, 2008: 297-298.
- [18] 郝学财, 余晓斌, 刘志钰, 等. 响应面方法在优化微生物培养基中的应用[J]. 食品研究与开发, 2006, 27(1): 38-40.
- [19] 曲音波. 微生物技术开发原理[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 95-121.