

茯苓补料液体发酵工艺优化及不同来源茯苓所含成分比较

李 羿, 李 晨, 杨万清, 杨 胜*

成都医学院药学院, 四川 成都 610083

摘 要: **目的** 优化茯苓发酵罐补料液体发酵的发酵工艺, 比较天然茯苓、发酵茯苓、药性发酵茯苓和复合药性发酵茯苓等不同茯苓样品化学成分的差异。**方法** 分别以营养培养基、药性培养基和复合药性培养基为初始发酵培养基, 开展茯苓发酵罐补料液体发酵的研究, 筛选出最适初始发酵培养基和确定最佳发酵时间。利用茯苓化学成分的理化性质进行提取分离和定量测定。**结果** 添加薏苡仁和枸杞子的复合药性培养基为最适初始发酵培养基, 最佳发酵时间为 120 h。测定了不同来源茯苓中总糖、多糖、氨基酸、微量元素和灰分的量。**结论** 不同初始发酵培养基对茯苓液体发酵有较大影响, 不同来源茯苓间的化学成分有较大差异。

关键词: 茯苓; 补料液体发酵; 初始发酵培养基; 化学成分; 菌丝体

中图分类号: Q949.32; R931.71

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2016)09-1520-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.09.012

Optimization of technique for additional liquid fermentation of *Poria cocos* and comparison on chemical constituents from different sources of *Poria*

LI Yi, LI Chen, YANG Wan-qing, YANG Sheng

School of Pharmacy, Chengdu Medical College, Chengdu 610083, China

Abstract: Objective To optimize the technique for additional liquid fermentation of *Poria cocos* in fermentor and to compare the chemical constituents in natural *Poria*, fermented *Poria*, medicinal fermented *Poria*, and compound medicinal fermented *Poria*. **Methods** The additional liquid fermentations of *Poria cocos* in fermentor had been carried out among different initial fermentation media, such as nutrition medium, medicinal medium, and compound medicinal medium. An optimum initial fermentation medium had been screened and an optimum time of additional liquid fermentation had been determined. The chemical constituents from the different sources of *Poria* had been isolated and detected according to their physicochemical properties. **Results** The compound medicinal medium with *Coicis Semen* and *Lycii Fructus* was an optimum initial fermentation medium, and 120 h was an optimum time of additional liquid fermentation. The total saccharides, polysaccharides, amino acids, trace elements, and ashes in the different sources of *Poria* had been detected. **Conclusion** There are considerable influences on liquid fermentation of *Poria cocos* in different initial fermentation media. There are rather big differences of chemical constituents from the different sources of *Poria*.

Key words: *Poria cocos*; additional liquid fermentation; initial fermentation medium; chemical constituents; mycelium

现代发酵工程技术已广泛应用于茯苓等药用真菌的液体发酵, 茯苓高密度液体发酵有望推动其工业化生产的进程, 确保其产品质量, 对于其资源和生态环境的保护有重要意义。茯苓发酵罐补料液体发酵是实现其高密度液体发酵的有效方式。补料液中碳氮源浓度将显著地影响茯苓胞外多糖和菌丝体的产量。与营养培养基相比, 添加适量中药材的药

性培养基中的化学成分可有效调控药用真菌的生长代谢, 从而影响其液体发酵水平的高低^[1-3]。本实验分别以营养培养基、添加薏苡仁的药性培养基、添加薏苡仁和枸杞子的复合药性培养基为初始发酵培养基, 开展茯苓发酵罐补料液体发酵的研究, 优化其发酵工艺。同时, 比较了天然茯苓(野生采收)、发酵茯苓(营养培养基中液体发酵)、药性发酵茯苓

收稿日期: 2015-12-30

基金项目: 四川省人力资源和社会保障厅四川省学术和技术带头人培养资金项目(13Z004); 四川省教育厅科研项目(12ZB023)

作者简介: 李 羿(1969—), 男, 四川成都人, 教授, 博士, 从事发酵中药及中药品种、品质的研究。

Tel: (028)62308636 E-mail: lychengdu@aliyun.com

*通信作者 杨 胜 Tel: (028)62308610 E-mail: 3474322@qq.com

(药性培养基中液体发酵)和复合药性发酵茯苓(复合药性培养基中液体发酵)等不同茯苓的总糖、多糖、灰分、氨基酸和微量元素的差异,为茯苓等药用真菌资源的科学开发与利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Bioflo III 型发酵罐, NBS 公司; 全温振荡器, 哈尔滨东联电子技术开发有限公司; 超净工作台, 苏净集团安泰公司; GGX-9 火焰原子吸收光谱仪, 北京地质仪器厂; J2-HS 型离心机, Beckman 公司; WOS-20 型无油空气压缩机, 天津天伟医疗器械有限公司; SX2-4-10 箱式电阻炉, 沈阳市节能炉厂; L-8800 全自动氨基酸分析仪, Hitachi 公司; BP121S 型电子天平, Sartorius 公司。

蛋白胨、酵母浸膏购自 Oxoid; 葡萄糖对照品购自中国食品药品检定研究院(质量分数>99.9%, 批号 111648-200406); 苯酚(重蒸); 18.3 MΩ 高纯水, 微量元素定量测定用; 实验用其他试剂均采用国产分析纯。实验所用中药材均购自成都杏林大药房, 样品经成都医学院游元元博士鉴定为薏苡仁 *Coix lacryma-jobi* L. var. *mayuen* (Roman.) Stapf 和枸杞子 *Lycium barbarum* L.。

1.2 发酵培养基

1.2.1 种子培养基 葡萄糖 20 g, 蛋白胨 5 g, 酵母浸膏 4 g, K_2HPO_4 1 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5 g, 初始 pH 值 5.5, 蒸馏水 1 L。1.05 kg/cm², 121.3 °C 灭菌 20 min。

1.2.2 营养培养基 葡萄糖 100 g, 蛋白胨 11.25 g, 酵母浸膏 8.75 g, K_2HPO_4 5 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 2.5 g, 初始 pH 值 5.5, 蒸馏水 4.05 L。1.05 kg/cm², 121.3 °C 灭菌 20 min。

1.2.3 药性培养基 薏苡仁 37.5 g, 其余同“1.2.2”项营养培养基。

1.2.4 复合药性培养基 薏苡仁 18.75 g, 枸杞子 18.75 g, 其余同“1.2.2”项营养培养基。

1.2.5 补料培养基 A 液: 葡萄糖 100 g, 蒸馏水 300 mL。B 液: 蛋白胨 11.25 g, 酵母浸膏 8.75 g, 蒸馏水 300 mL。将 A 液和 B 液于 0.56 kg/cm², 112.6 °C 分别灭菌 30 min, 冷却至室温后, 将 A 液和 B 液无菌混和均匀。

1.3 种子液制备

将 1.75 mL 冷冻甘油菌 P6(成都医学院生药学教研室筛选保存)接种于 350 mL 种子培养基中,

25 °C 摇瓶振荡培养 2 d。

1.4 发酵罐补料液体发酵

1.4.1 以营养培养基为初始培养基的发酵罐补料液体发酵 在火焰保护下, 将 350 mL 种子液接种于发酵培养基中。设定发酵参数: 温度 26 °C, pH 值 5.5, 搅拌转速和通气量根据溶氧高低而动态调整。在茯苓发酵罐液体发酵的第 48、60、72、84 小时, 蠕动泵分 4 次将补料培养基 100、200、200、100 mL 滴加于发酵液中。第 120 小时终止茯苓液体发酵。

1.4.2 以药性培养基为初始培养基的发酵罐补料液体发酵 在火焰保护下, 将 350 mL 种子液接种于发酵罐药性培养基中, 其余同“1.4.1”项, 以营养培养基为初始培养基的发酵罐补料液体发酵。

1.4.3 以复合药性培养基为初始培养基的发酵罐补料液体发酵 在火焰保护下, 将 350 mL 种子液接种于发酵罐复合药性培养基中, 其余同“1.4.1”项, 以营养培养基为初始培养基的发酵罐补料液体发酵。

1.4.4 发酵时间对发酵罐复合药性补料液体发酵的影响 在茯苓液体发酵 108~130 h, 每隔 2 h 取样, 测定发酵液中胞外多糖和菌丝体干质量。综合考虑胞外多糖和菌丝体产量以确定发酵终点。

1.5 胞外多糖纯化与称量

胞外多糖纯化与称量参照文献方法^[4]。

1.6 菌丝体干质量的称量

用离心机 6 000 r/min 离心发酵液 15 min, 收集菌丝体沉淀, 60 °C 烘干至恒定质量, 用电子天平精确称量。

1.7 不同来源茯苓所含成分量的比较

1.7.1 总糖测定 参照文献方法^[5]测定茯苓样品中总糖。

1.7.2 水溶性多糖和碱溶性多糖测定 参照文献方法^[6]进行茯苓水溶性多糖和碱溶性多糖的提取分离及测定。

1.7.3 氨基酸测定 按中华人民共和国国家标准 GB/T 5009.124-2003 测定样品氨基酸。

1.7.4 微量元素测定 参照文献方法^[7]测定样品微量元素。

1.7.5 灰分测定 按中华人民共和国国家标准 GB/T 8306-2002 测定样品总灰分, 按中华人民共和国国家标准 GB/T 8307-2002 测定样品水溶性灰分, 按中华人民共和国国家标准 GB/T 8308-2002 测定样品酸不溶性灰分。

1.8 统计学分析

实验数据分析均采用统计学软件 SPSS 13.0。实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 为统计学意义上具有显著差异性。

2 结果与分析

2.1 不同初始发酵培养基对茯苓发酵罐补料液体发酵的影响

不同初始发酵培养基对茯苓发酵罐补料液体发酵的影响见表 1。以复合药性培养基为初始发酵培养基的发酵罐复合药性补料液体发酵的胞外多糖产量最高, 达 8.33 g/L; 以药性培养基为初始发酵培养基的发酵罐药性补料液体发酵的菌丝体干质量最高, 达 15.03 g/L。综合考虑胞外多糖和菌丝体产量, 认为以复合药性培养基为初始发酵培养基的发酵罐补料液体发酵是一种较优的发酵方式。

表 1 不同初始发酵培养基对茯苓发酵罐补料液体发酵的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Effects of different initial fermentation media on additional liquid fermentation of *P. cocos* in fermentor ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

种类	胞外多糖/(g·L ⁻¹)	菌丝体干质量/(g·L ⁻¹)
营养培养基	5.56 ± 0.08	12.53 ± 0.11
药性培养基	7.45 ± 0.08*	15.03 ± 0.16*
复合药性培养基	8.33 ± 0.12*	14.75 ± 0.08*

与营养培养基组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs nutrition medium group

2.2 发酵时间对发酵罐复合药性补料液体发酵的影响

发酵时间对发酵罐复合药性补料液体发酵的影响见表 2。发酵第 124 小时, 胞外多糖产量最高, 达 8.47 g/L; 发酵第 116 小时, 菌丝体干质量最高, 达 14.85 g/L。以胞外多糖和菌丝体产量为评价指标, 综合考虑发酵成本, 认为 120 h 是发酵罐复合药性补料液体发酵的最佳发酵终点, 胞外多糖产量

表 2 发酵时间对茯苓发酵罐复合药性补料液体发酵的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Effects of different fermentation time on compound medicinal additional liquid fermentation of *P. cocos* in fermentor ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

发酵时间/h	胞外多糖/(g·L ⁻¹)	菌丝体干质量/(g·L ⁻¹)
108	5.37 ± 0.06	13.62 ± 0.14
110	5.74 ± 0.07	14.11 ± 0.11
112	6.22 ± 0.08	14.40 ± 0.12
114	6.77 ± 0.08	14.64 ± 0.10
116	7.34 ± 0.09	14.85 ± 0.11
118	7.83 ± 0.05	14.75 ± 0.11
120	8.37 ± 0.07	14.70 ± 0.11
122	8.43 ± 0.08	14.66 ± 0.06
124	8.47 ± 0.10	14.49 ± 0.10
126	8.38 ± 0.06	14.29 ± 0.08
128	8.28 ± 0.08	13.99 ± 0.15
130	8.23 ± 0.10	13.59 ± 0.14

达 8.37 g/L, 菌丝体干质量达 14.70 g/L。

2.3 总糖和多糖测定

不同来源茯苓中总糖和多糖测定结果见表 3。天然茯苓总糖质量分数 85.76% 和总多糖质量分数 82.25% 均远高于发酵茯苓、药性发酵茯苓和复合药性发酵茯苓, 而茯苓总糖和总多糖质量分数在发酵茯苓、药性发酵茯苓和复合药性发酵茯苓之间的差别却不大。另外, 虽然发酵茯苓、药性发酵茯苓和复合药性发酵茯苓中碱溶性茯苓多糖的比例远低于天然茯苓, 但其水溶性茯苓多糖的比例却远高于天然茯苓。

2.4 氨基酸测定

不同来源茯苓中氨基酸测定结果见表 4。发酵茯苓、药性发酵茯苓和复合药性发酵茯苓中所含有的蛋氨酸、组氨酸和精氨酸在天然茯苓中未检测出。天然茯苓总氨基酸较低, 仅为 1.48%; 而发酵茯苓、

表 3 不同来源茯苓样品中总糖和总多糖测定结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Determination of polysaccharides and total saccharides in different sources of *Poria* ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品	总糖/%	水溶性茯苓多糖/%	碱溶性茯苓多糖/%	总多糖/%
天然茯苓	85.76 ± 0.54	2.41 ± 0.09	79.79 ± 0.36	82.25 ± 0.50
发酵茯苓	44.83 ± 0.36*	6.86 ± 0.10*	17.68 ± 0.18*	24.55 ± 0.13*
药性发酵茯苓	45.66 ± 0.48*	7.25 ± 0.07*	18.73 ± 0.19*	25.94 ± 0.20*
复合药性发酵茯苓	45.95 ± 0.36*	7.11 ± 0.07*	18.76 ± 0.13*	25.88 ± 0.20*

与天然茯苓组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs natural *Poria* group

表 4 不同来源茯苓样品中氨基酸测定结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 4 Determination of amino acids in different sources of Poria ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品	总氨基酸/%	丙氨酸/%	缬氨酸/%	亮氨酸/%	异亮氨酸/%	蛋氨酸/%	天冬氨酸/%	谷氨酸/%	赖氨酸/%
天然茯苓	1.48±0.03	0.05±0.00	0.54±0.03	0.13±0.00	0.10±0.00	0.00±0.00	0.07±0.00	0.07±0.00	0.00±0.00
发酵茯苓	25.54±0.59	1.77±0.09*	2.52±0.19*	1.64±0.14*	1.07±0.06*	0.63±0.02	2.17±0.12	2.80±0.17*	1.91±0.23*
药性发酵茯苓	21.34±0.78	1.40±0.14*	2.13±0.10*	1.27±0.12*	1.01±0.04*	0.58±0.02	1.78±0.14*	2.31±0.16*	1.32±0.08*
复合药性发酵茯苓	21.32±0.19	1.49±0.07*	2.14±0.16*	1.32±0.10*	0.92±0.05*	0.59±0.04	1.83±0.14*	2.27±0.16*	1.29±0.12*

样品	精氨酸/%	甘氨酸/%	丝氨酸/%	苏氨酸/%	脯氨酸/%	苯丙氨酸/%	酪氨酸/%	组氨酸/%	脯氨酸/%
天然茯苓	0.00±0.00	0.03±0.00	0.06±0.01	0.04±0.00	0.04±0.00	0.10±0.00	0.09±0.00	0.00±0.00	0.04±0.00
发酵茯苓	1.47±0.09*	1.39±0.09*	0.95±0.04	1.13±0.08*	2.54±0.22*	1.19±0.11*	0.83±0.06*	0.81±0.02	2.54±0.22*
药性发酵茯苓	1.22±0.04	0.96±0.06*	0.80±0.05	1.11±0.08*	2.27±0.16*	1.13±0.05*	0.71±0.04*	0.62±0.02*	2.27±0.16*
复合药性发酵茯苓	1.14±0.06*	1.00±0.04*	0.83±0.03	1.17±0.08*	2.13±0.18*	1.14±0.05*	0.67±0.02*	0.63±0.02*	2.13±0.18

与天然茯苓组比较: * $P < 0.05$; 天然茯苓中赖氨酸的量为 0.002 3%* $P < 0.05$ vs natural Poria group; lysine in natural Poria was 0.002 3%

药性发酵茯苓和复合药性发酵茯苓总氨基酸却分别高达 25.54%、21.34%和 21.32%。认为这可能与发酵茯苓、药性发酵茯苓和复合药性发酵茯苓的培养基中氮源浓度远高于天然茯苓的培养基中氮源浓度及发酵方式的差异有关。

2.5 茯苓微量元素测定

不同来源茯苓中微量元素测定结果见表 5。除 Cr 和 Cd 外,天然茯苓中其他微量元素的量均高于发酵茯苓、药性发酵茯苓和复合药性发酵茯苓,但不同来源茯苓间微量元素的量差异不大,且不同来

源茯苓间元素的量从高到低的次序(K>Mg>Ca>Fe>Mn>Cu>Zn>Pb>Cr>Cd)也一致。不同来源茯苓中 K 的量最高,天然茯苓、发酵茯苓、药性发酵茯苓和复合药性发酵茯苓间微量元素的量分别为 660.5、572.4、634.3、621.9 $\mu\text{g/g}$;不同来源茯苓中 Cr 的量较低,均为 0.2 $\mu\text{g/g}$ 。

2.6 灰分测定

不同来源茯苓中灰分测定结果见表 6。不同茯苓间水溶性灰分差异较小,而酸不溶性灰分差异却较大。天然茯苓的总灰分远低于发酵茯苓、药性发

表 5 不同来源茯苓样品中微量元素测定结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 5 Determination of trace elements in different sources of Poria ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品	质量分数/($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)									
	K	Mg	Ca	Fe	Mn	Cu	Zn	Pb	Cr	Cd
天然茯苓	660.5±18.2	104.5±3.8	58.3±1.1	41.9±0.6	12.7±0.2	5.7±0.0	2.8±0.0	0.6±0.0	0.2±0.0	0.0±0.0
发酵茯苓	572.4±13.6	98.1±1.8	51.8±0.8	38.7±0.6	10.2±0.2	5.4±0.0	1.7±0.0	0.5±0.0	0.2±0.0	0.0±0.0
药性发酵茯苓	634.3±11.4	103.6±2.2	53.7±0.3	40.9±0.6	11.4±0.2	5.6±0.1	2.3±0.0	0.5±0.0	0.2±0.0	0.0±0.0
复合药性发酵茯苓	621.9±16.3	102.4±2.2	55.4±0.8	40.6±0.4	11.3±0.2	5.5±0.0	2.3±0.0	0.5±0.0	0.2±0.0	0.0±0.0

不同茯苓中 Cd 元素为 0.01 mg/g

The contents of Cd in different sources of Poria were 0.01 mg/g

表 6 不同来源茯苓样品中灰分测定结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 6 Determination of ashes in different sources of Poria ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品	总灰分/%	水溶性灰分/%	酸不溶性灰分/%
天然茯苓	0.233±0.008	0.089±0.006	0.101±0.008
发酵茯苓	5.900±0.181*	0.041±0.006*	0.823±0.014*
药性发酵茯苓	4.833±0.185*	0.059±0.005*	0.622±0.008*
复合药性发酵茯苓	4.720±0.015*	0.063±0.005*	0.615±0.007*

与天然茯苓组比较: * $P < 0.05$ * $P < 0.05$ vs natural Poria group

酵茯苓和复合药性发酵的总灰分。导致天然茯苓和发酵茯苓、药性发酵茯苓和复合药性发酵间酸不溶性灰分和总灰分测量值间偏差较大原因可能是发酵方式的不同。

3 讨论

3.1 茯苓液体发酵的讨论

茯苓液体发酵中碳氮源浓度过高或过低都将抑制茯苓的生长,根据液体发酵中碳氮源消耗速率来动态补充碳氮源是一个好的策略。不同中药材所含化学成分不同,对茯苓生长代谢有促进或抑制作用。筛选适宜的中药材添加到营养培养基组成药性培养基,所添加中药材中的化学成分可提高茯苓液体发酵的水平。研究发现薏苡仁、枸杞子薏苡仁、枸杞子、灵芝、甘草、桑叶和淡竹叶等 6 味中药材对茯苓生长有促进作用^[8]。复合药性培养基较药性培养基的化学成分更加复杂,在将发酵培养基高温灭菌的过程中还可能产生新的化学成分,通过其多种化学成分间协同作用来提高茯苓液体发酵水平的作用机理尚难以阐明。笔者研究发现,将薏苡仁和枸杞子粉末(薏苡仁-枸杞子 1:1)按 0.75% 比例加入营养培养基中组成复合药性培养基,可较大地提高胞外多糖和菌丝体的产量^[9]。

3.2 茯苓所含成分量的比较

由于生产天然茯苓、发酵茯苓、药性发酵茯苓和复合药性发酵茯苓的培养基所含营养成分的差异,特别是碳氮源种类和浓度的差异,加之培养基中所含药性成分的不同和发酵方式的差异,使不同茯苓中的化学成分(如茯苓胞外多糖、胞内多糖、氨基酸、微量元素)有较大差异性。天然茯苓中总糖和总多糖远高于发酵茯苓、药性发酵茯苓和复合药性发酵茯苓中总糖和总多糖,而天然茯苓中总氨基酸却远低于发酵茯苓、药性发酵茯苓和复合药性发酵茯苓中总氨基酸。茯苓多糖和三萜类化合物是茯苓的主要活性化合物,具有显著的抗肿瘤、提高免疫功能等药理作用^[10-12]。

另外,茯苓中氨基酸、微量元素对于发挥其健脾宁心、利水渗湿的功效可能起着重要作用。例如,K 对调节人体组织及细胞中的酸碱平衡,降低人体血压有益;Mg 对调节神经肌肉的兴奋,维持人体骨骼和牙齿的正常生长和体温调节都有重要作用;Mn 是人体内多种酶的组成成分和激活物,有抗衰老和预防癌症作用;锌对部分细菌和病毒有抑制作用,能增强人体免疫力。今后,应加强茯苓液体发

酵的发酵动力学研究^[13-14],有效实现茯苓补料高密度液体发酵的动态调控,从而大幅度地提高其液体发酵水平和质量。另外,积极开展茯苓多糖和三萜类化合物等活性成分的结构鉴定和药效学评价的研究,以进一步揭示其药效的物质作用基础,并不断完善茯苓的质量评价标准,实现茯苓资源的高效开发与有效利用。

参考文献

- [1] 杨海龙,章克昌.以薏苡仁为基质的灵芝液体发酵—I.培养基优化[J].中国食品学报,2006,6(4):6-10.
- [2] 刘媛,丁重阳,章克昌,等.10种中药对灵芝液体发酵的影响[J].食品与生物技术学报,2008,27(2):123-126.
- [3] 陈丽华,章克昌.8味中药对黑木耳发酵的影响[J].食品与生物技术学报,2007,26(5):104-109.
- [4] 李羿,万德光,杨胜.茯苓发酵液中多糖的提取分离[J].化学研究与应用,2006,18(9):1099-1101.
- [5] 李俊,韩向晖,李仲洪,等.茯苓多糖的提取及含量测定[J].中国现代应用药学,2000,17(1):49-50.
- [6] 李羿,万德光,刘忠荣,等.发酵茯苓菌丝体和天然茯苓多糖的研究[J].天然产物研究与开发,2006,18(4):667-669.
- [7] 李羿,杨万清.火焰原子吸收光谱法测定茯苓中微量元素[J].化学研究与应用,2011,23(9):1278-1280.
- [8] 李羿,李晨,游元元,等.不同药性培养基对茯苓液体发酵的影响[J].药物生物技术,2011,18(2):129-132.
- [9] 李羿,杨胜,李晨,等.茯苓摇瓶液体发酵复合药性培养基及其化学成分研究[J].中草药,2012,43(8):1519-1522.
- [10] Ríos J L. Chemical constituents and pharmacological properties of *Poria cocos* [J]. *Planta Med*, 2011, 77(7): 681-691.
- [11] Jin Y, Zhang L N, Zhang M, et al. Antitumor activities of heteropolysaccharides of *Poria cocos* mycelia from different strains and culture media [J]. *Carbohydr Res*, 2003, 338(14): 1517-1521.
- [12] Akihisa T, Nakamura Y, Tokuda H, et al. Triterpene acids from *Poria cocos* and their anti-tumor-promoting effects [J]. *J Nat Prod*, 2007, 70(6): 948-953.
- [13] 郑毅,张志国,关雄.苏云金芽孢杆菌蛋白酶发酵动力学模型的构建[J].生物数学学报,2008,23(4):727-734.
- [14] 王兰青,高玉千,戚元成,等.平菇液体菌种摇瓶和发酵罐生长动力学模型的比较[J].食品与生物技术学报,2010,29(6):927-930.