

解修超,贾 娇,宋 玉,等. 响应面法优化黑木耳新品种森盛 1 号液体发酵条件[J]. 江苏农业科学,2022,50(14):138–143.
doi:10.15889/j.issn.1002–1302.2022.14.019

响应面法优化黑木耳新品种森盛 1 号液体发酵条件

解修超^{1,2}, 贾 娇^{1,2}, 宋 玉^{1,2}, 谢海彬^{2,3}, 邓百万^{1,2}, 孙 娅¹, 徐易洁¹

(1. 陕西理工大学生物科学与工程学院,陕西汉中 723000; 2. 陕西省食用菌工程技术研究中心,陕西汉中 723000;
3. 汉中植物研究所,陕西汉中 723000)

摘要:为缩短黑木耳新品种森盛 1 号的液体种生产周期,提高菌丝体产量,拟为黑木耳液体种应用于生产提供技术参考,通过 Plackett – Burman 设计试验,筛选到葡萄糖含量、磷酸二氢钾含量、初始 pH 值为影响菌丝生物量的 3 个显著性因子,通过最陡爬坡试验得到其最佳相应区域,最后应用响应面 Box – Behnken 分析法和验证试验对森盛 1 号黑木耳菌株的液体发酵工艺进行优化。结果表明,森盛 1 号的最佳发酵工艺条件为马铃薯 200.0 g/L、葡萄糖 50.27 g/L、蛋白胨 4.5 g/L、麦麸 15.0 g/L、磷酸二氢钾 4.93 g/L、七水硫酸镁 1.0 g/L、初始 pH 值 5.1、接种量 4%、温度 28.0 ℃、160 r/min 摇床发酵 8 d,菌丝干质量可达到 21.57 g/L,比优化前提高了 23.53%,误差仅为 1.75%。该模型能准确地预测出菌丝体产量变化情况,证明响应面法优化黑木耳新品种森盛 1 号是有效可行的。

关键词:黑木耳;响应面;工艺优化;Plackett – Burman;Box – Behnken

中图分类号:S646.604 **文献标志码:**A **文章编号:**1002–1302(2022)14–0138–06

黑木耳(*Auricularia auricula*)作为担子菌门中重要的药食同源真菌^[1],含有丰富的氨基酸^[2]、多糖^[3]、黑色素^[4]和维生素^[5]等成分,具有增强机体免疫功能、补血、补脑、抗衰老、抗凝血和抑制肿瘤生长等保健效果和药用功效^[6],是维持人体健康的绝佳食材。近年来,随着“菌粮”等新名词的出现,黑木耳在人类健康重要性中的体现越为明显^[7]。

黑木耳作为食药两用真菌,在我国的国民经济、人类健康中展现出巨大的开发前景。从药用角度来讲,主要是黑木耳天然药物活性成分的提取^[8–9]、分离纯化以及相关药品^[10]、保健品的开发等^[11];然而,目前市场上的相关药品甚少,部分产品只是局限于动物试验测试^[12–13]。从食用角度来讲,我国是世界黑木耳产量最多、食用最多的国家^[14]。近年来,黑木耳已成为我国栽培量第二大的食用菌品种^[15],但各个产地生产的黑木耳品质参差不齐,具有优良性状的黑木耳新品种更是少见。

秦巴山区是我国黑木耳的主要产地之一,其独

特的湿润气候条件造就了当地黑木耳“质厚、肉嫩、味美”的品质^[16]。黑木耳是秦巴山区主栽食用菌之一,该地区现在的传统栽培方式相较于近年来发展的液体种栽培技术显得十分低效,在一定程度上限制了区域产业经济的发展。研究表明,食用菌液体菌种的生产周期短、菌龄整齐、接种简便、接种点多、发菌快且不易污染,是解决栽培效率低下的有效途径之一^[17]。目前,有关黑木耳液体发酵工艺的报道甚少,并且由于菌种、培养条件及其优化方法等因素的差异,所得到的液体菌种品质的差别较大。唐业刚采用单因子试验和正交试验对毛木耳 998 菌种液体发酵条件进行优化试验,所得菌丝转化量干质量为 15.17 g/L^[18]。谢意珍等利用正交试验对黑木耳 AU–5 菌种液体发酵条件进行优化试验,所得菌丝转化量干质量为 26.5 g/L^[19]。研究表明,相较于正交方法,响应面方法能真实地反映各影响因素间的交互作用,并能得到较好的试验结果^[20–21]。

本研究以黑木耳新品种森盛 1 号为试验材料,在前期研究的基础上,拟先通过 Plackett – Burman 试验从可能影响其菌丝生物量的 9 个因素[马铃薯含量、葡萄糖含量、麦麸含量、蛋白胨含量、磷酸二氢钾(KH_2PO_4)含量、七水硫酸镁($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)含量、初始 pH 值、接种量、温度]中筛选出显著性因素;再通过最陡爬坡试验得到最佳响应区域;最后

收稿日期:2021–09–10

基金项目:陕西省重点研发计划(编号:2020NY–062);陕西省科技创新基地建设项目(编号:2021ZY2–JD–09)。

作者简介:解修超(1978—),男,山东临沂人,博士,副教授,主要从事微生物资源开发与利用研究。E–mail:xiexiuchao@126.com。

通信作者:谢海彬,副研究员,主要从事食用菌品种选育及栽培技术研究。E–mail:770335223@qq.com。

采用 Box - Behnken 设计对显著性因素做响应面试验,并通过分析和验证得到最优的液体发酵工艺条件,为黑木耳或其他食用菌的液体菌种生产提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验材料 森盛 1 号黑木耳菌株由陕西省食药菌工程技术研究中心选育。

1.1.2 主要试剂 葡萄糖、 KH_2PO_4 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 等均为分析纯,马铃薯和麦麸(均为食品级)市购,蛋白胨和琼脂购自北京百奥莱博科技有限公司,试验用水为纯化水。

1.1.3 主要仪器 LS - B50L 型高压蒸汽灭菌锅(上海医用核子仪器厂)、ZHWY - 2102C 型数显式恒温摇床(上海志成有限公司)、TB - 214 型电子分析天平(北京赛得利斯仪器系统有限公司)、LRH - 250 - GS 型数显式恒温培养箱(广东省医疗器械厂)、101A - 3E 型电热鼓风干燥箱(上海试验仪器厂有限公司)、SW - CJ - 1F 型超净工作台(苏州安泰空气技术有限公司)、SHB - III 型循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司)。

1.1.4 培养基 固体培养基(CPDA):液体母种培养基,为不添加琼脂的 CPDA 培养基;基础发酵培养基:马铃薯(去皮)200.0 g/L、蛋白胨 3.0 g/L、麦麸 10.0 g/L、葡萄糖 20.0 g/L、 KH_2PO_4 2.0 g/L、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.0 g/L,初始 pH 值自然。

1.2 试验方法

1.2.1 菌株活化及其液体母种的制备 将森盛 1 号黑木耳菌株接种于 PDA 斜面,28 ℃ 培养至满管,备用。取 0.5 cm² 大小的斜面菌块接种于液体母种培养基,静置 24 h 后于 28 ℃、170 r/min 振荡培养 6 d 备用。

1.2.2 菌丝干质量的测定 抽滤收集菌丝体,纯化水洗涤 3 ~ 5 次后,60 ℃ 烘干至恒质量,电子分析天平称质量。

1.2.3 Plackett - Burman 试验 根据前期预试验选定适合森盛 1 号菌株生长的基础发酵培养基,并根据培养基组成和发酵条件选取 9 个因素(马铃薯含量、葡萄糖含量、麦麸含量、蛋白胨含量、 KH_2PO_4 含量、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 含量、初始 pH 值、接种量、温度)作为研究对象,设计 Plackett - Burman 试验,各因素取值见表 1。根据各试验组中不同因素组合配制培

养基(每组设置 3 个重复),接液体母种并静置 24 h,振荡培养 8 d 后测定菌丝干质量,取平均值,结果借助 Minitab 19 软件进行统计分析。

表 1 Plackett - Burman 试验设计各因素及水平

因素	水平	
	-1	1
马铃薯含量(X_1 , g/L)	200.0	300.0
葡萄糖含量(X_2 , g/L)	20.0	30.0
蛋白胨含量(X_3 , g/L)	3.0	4.5
麦麸含量(X_4 , g/L)	10.0	15.0
KH_2PO_4 含量(X_5 , g/L)	2.0	3.0
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 含量(X_6 , g/L)	1.0	1.5
初始 pH 值(X_7)	6.0	8.0
温度(X_8 , ℃)	26.0	28.0
接种量(X_9 , %)	4.0	8.0

1.2.4 最陡爬坡试验 根据 Plackett - Burman 试验设计中各个显著影响因素效应的大小,确定对菌丝干质量影响显著的因素。其中,影响显著的正效应因素的值逐渐增加,影响显著的负效应因素的值逐渐减小,设计最陡爬坡试验方案,使结果逼近最佳响应区域。

1.2.5 Box - Behnken 试验及回归模型分析 在最陡爬坡试验基础上,根据 Box - Behnken 的中心组合试验设计原理,采用 A(葡萄糖含量 X_2)、B(KH_2PO_4 含量 X_5)、C(初始 pH 值 X_7) 进行 3 因素 3 水平的响应面试验。试验因素水平编码见表 2。采用 Design - Expert 12.0 软件对 Box - Behnken 试验结果进行分析并建立回归模型,根据模型预测其最佳工艺条件组合。

表 2 3 因素 3 水平 Box - Behnken 试验设计

水平	因素		
	A:葡萄糖含量(g/L)	B: KH_2PO_4 含量(g/L)	C:初始 pH 值
-1	30.0	3.0	3.0
0	45.0	4.5	4.5
1	60.0	6.0	6.0

2 结果与分析

2.1 Plackett - Burman 试验结果

选用试验次数 $N = 12$ 的 Plackett - Burman 试验设计方案,考察 X_1 、 X_2 等 9 个因素(每个因素取 2 个水平)对菌丝干质量的影响,结果见表 3 和表 4。

表 3 Plackett – Burman 试验设计及响应值

试验 编号	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	X_6	X_7	X_8	X_9	Y (g/L)
1	1	-1	1	-1	-1	-1	1	1	1	7.0
2	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1	1	10.7
3	-1	1	1	1	-1	1	1	-1	1	9.2
4	-1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1	12.6
5	1	1	1	-1	1	1	-1	1	-1	13.0
6	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	8.5
7	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1	1	11.0
8	-1	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	8.5
9	1	1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	10.7
10	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1	7.7
11	1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	8.5
12	-1	-1	1	1	1	-1	1	1	-1	12.0

表 4 Plackett – Burman 试验分析结果(已编码单位)

项目	效应	系数	系数标准误	t 值	P 值	显著性
常量		9.982 5	0.165 4	60.34	0.000	**
马铃薯含量(X_1)	-0.781 3	-0.390 7	0.165 4	-2.36	0.142	
葡萄糖含量(X_2)	1.738 0	0.869 0	0.165 4	5.25	0.034	*
蛋白胨含量(X_3)	0.906 7	0.453 3	0.165 4	2.74	0.111	
麦麸含量(X_4)	0.731 7	0.365 8	0.165 4	2.21	0.158	
KH ₂ PO ₄ 含量(X_5)	2.521 0	1.260 5	0.165 4	7.62	0.017	*
MgSO ₄ · 7H ₂ O 含量(X_6)	-0.660 3	-0.330 2	0.165 4	-2.00	0.184	
初始 pH 值(X_7)	-1.626 0	-0.813 0	0.165 4	-4.91	0.039	*
温度(X_8)	0.740 0	0.370 0	0.165 4	2.24	0.155	
接种量(X_9)	-0.470 0	-0.235 0	0.165 4	-1.42	0.291	

注: ** 表示差异极显著($P<0.01$), * 表示差异显著($P<0.05$)。下表同。

2.2 最陡爬坡试验结果

响应面拟合只有先逼近最佳响应区域才能最好地反映真实情况,将 X_2 、 X_5 逐步增加, X_7 逐步减小,最陡爬坡试验结果详见表 5。

表 5 最陡爬坡试验设计及结果

编号	X_2 (g/L)	X_5 (g/L)	X_7	Y (g/L)
1	30.0	3.0	6.0	9.2
2	35.0	3.5	5.5	10.0
3	40.0	4.0	5.0	12.6
4	45.0	4.5	4.5	13.1
5	50.0	5.0	4.0	12.4
6	55.0	5.5	3.5	8.3

从表 5 可以看出,随着 X_2 、 X_5 逐步增加,以及 X_7 逐步减小,森盛 1 号菌丝干质量呈现先增大后减

从表 3 和表 4 可以看出,对森盛 1 号菌丝干质量影响的显著因素分别是葡萄糖含量(X_2)、KH₂PO₄ 含量(X_5)、初始 pH 值(X_7)。其中, X_2 、 X_5 增加时,菌丝干质量显著增加($P<0.05$),为正效应因素;而 X_7 增加时,菌丝生物量显著降低,为负效应因素。另外,蛋白胨含量、温度、麦麸含量增加时,菌丝干质量有一定增加,其取值应为高水平(表 1);接种量、马铃薯含量、MgSO₄ · 7H₂O 含量增加时,菌丝干质量量反而减少($P>0.05$),其取值应为低水平(表 1)。因此,选取不显著因素(马铃薯 200.0 g/L、蛋白胨 4.5 g/L、麦麸 15.0 g/L、MgSO₄ · 7H₂O 1.0 g/L、温度 28.0 ℃、接种量 4%)为发酵工艺的基本参数,将显著性因素(葡萄糖含量、KH₂PO₄ 含量和初始 pH 值)作为最陡爬坡试验的考察对象。

少趋势。当葡萄糖含量 45.0 g/L、KH₂PO₄ 含量 4.5 g/L、pH 值 4.5 时,森盛 1 号菌丝干质量达到最大(13.1 g/L)。因此,第 4 组为最佳响应区域,可作为 Box – Behnken 试验的考察对象。

2.3 Box – Behnken 试验结果

以 A(葡萄糖含量 X_2)、B(KH₂PO₄ 含量 X_5)和 C 初始(初始 pH 值 X_7)为考察对象,根据 Box – Behnken 原理和表 2,设计 3 因素 3 水平的响应面试验,考虑各因素间的交互作用对森盛 1 号菌丝干质量的影响,试验及分析结果见表 6 和表 7。

采用 Design Expert 12.0 软件对 17 个试验点的菌丝干质量(Y)进行回归统计分析,得出二次模型回归统计分析表(表 7)。

从表 7 可以看出,模型 P 值小于 0.000 1,可信度水平大于 99.99%,该模型有意义。回归模型的

表 6 Box - Behnken 试验结果

试验编号	水平			Y (g/L)
	A	B	C	
1	0	-1	1	13.05
2	0	0	0	20.01
3	-1	0	1	14.09
4	0	0	0	19.91
5	0	1	1	18.93
6	1	0	-1	13.12
7	0	-1	-1	7.35
8	0	0	0	20.79
9	0	0	0	21.02
10	0	0	0	19.55
11	-1	-1	0	9.55
12	0	1	-1	11.89
13	-1	1	0	11.66
14	1	-1	0	10.56
15	1	0	1	15.35
16	-1	0	-1	7.55
17	1	1	0	17.36

$R^2 = 0.989\ 5, R^2_{Adj} = 0.975\ 3$, 说明试验值和预测值之间具有良好的拟合度。失拟项 P 值 $= 0.264\ 2 > 0.05$ (差异不显著), 说明试验操作可信, 试验理论可用。由拟合方程可知, 所选取的 3 个因素 (A、B、C) 方程列均为正值, 对黑木耳菌丝生物量呈极显著正相关, 交互因素 AB、AC、BC 项影响极显著。二次项 A^2 、 B^2 与响应值有显著影响, 说明葡萄糖含量和 KH_2PO_4 含量及葡萄糖含量和初始 pH 值的交互响应起到较大作用。另外, 基于 F 值的大小可知, 各因素对 Y (菌丝干质量) 的影响顺序为 $C > B > A$, 即初始 pH 值 $> KH_2PO_4$ 含量 $>$ 葡萄糖含量。

利用该模型得到的回归方程如下:

$$Y = 20.26 + 1.69A + 2.42B + 2.69C + 1.1725AB - 1.08AC + 0.335BC - 4.125A^2 - 3.848B^2 - 3.603C^2。$$

2.4 响应曲面分析

根据回归方程绘制 Y 随各因素 (葡萄糖含量、 KH_2PO_4 含量和初始 pH 值) 变化的响应曲面图, 当响应面图的坡度越陡峭时, 等高线越密集, 等高线呈扁圆形时, 两因素交互作用较显著^[22]。由此分

表 7 回归分析结果

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	348.82	9	38.76	71.31	$<0.000\ 1$	**
$A - X_2$	22.92	1	22.92	42.16	0.000 3	**
$B - X_5$	46.71	1	46.70	85.93	$<0.000\ 1$	**
$C - X_7$	57.84	1	57.83	106.41	$<0.000\ 1$	**
A^2	5.50	1	5.45	10.11	0.015 5	*
B^2	4.64	1	4.64	8.54	0.022 2	*
C^2	0.45	1	0.45	0.83	0.393 7	
AB	71.67	1	71.66	131.85	$<0.000\ 1$	**
AC	62.34	1	62.35	114.71	$<0.000\ 1$	**
BC	54.66	1	54.66	100.57	$<0.000\ 1$	**
残差	3.80	7	0.54			
失拟项	2.26	3	0.75	1.94	0.264 2	
纯误差	1.54	4	0.37			
总离差	352.62	16				

注: $R^2 = 0.989\ 5; R^2_{Adj} = 0.975\ 3$ 。

析, 葡萄糖含量、 KH_2PO_4 含量和初始 pH 值等 3 个因素对菌丝干质量的影响 (图 1、图 2、图 3)。每个响应曲面分别代表着 2 个独立因素间的相互作用, 其余因素均保持在编码水平的 0 水平。

由图 1 可知, A 和 B 的交互作用较显著; Y 会随着 A 和 B 的增加先增加后降低, 其中葡萄糖含量起着主要作用。

由图 2 可知, A 和 C 的交互作用较显著; A 和 C

的值在低水平时, Y 基本不变; A 在一定的水平下, 随 C 的增加, Y 呈缓慢增加趋势; 相比较于 C 在低水平时, C 在高水平时随 A 的增加, Y 增加迅速, 但最终的 Y 仍然比 C 在高水平时要小。可见, 大量葡萄糖的存在在一定程度减少了较高初始 pH 值对黑木耳菌丝生长的抑制作用。

由图 3 可知, B 和 C 的交互作用不显著, 但 Y 随 2 因素值的增加呈先升高后降低趋势。

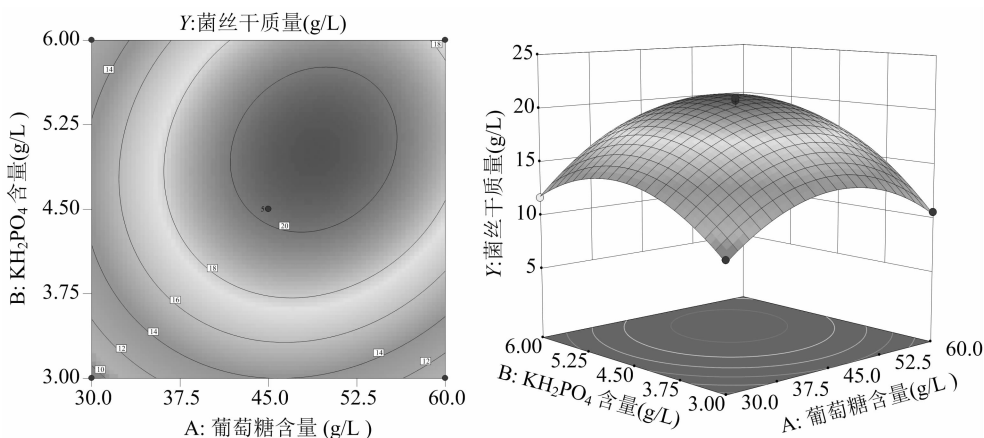
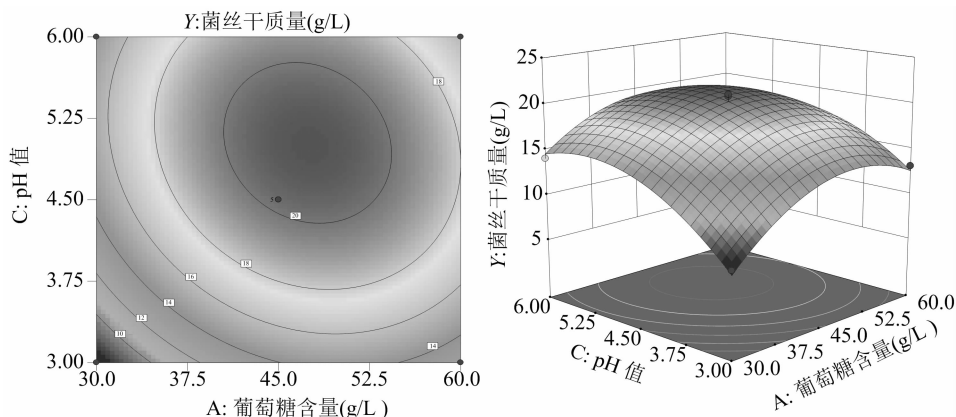
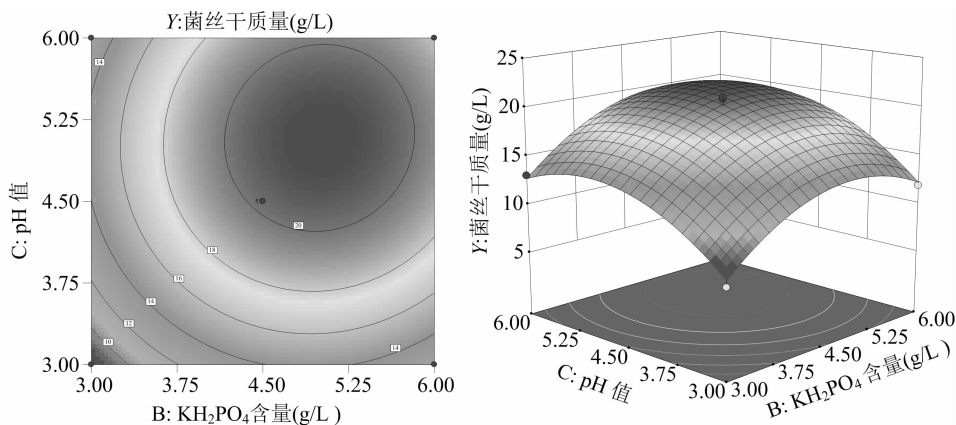
图1 葡萄糖含量与 KH_2PO_4 含量交互作用的响应曲面图

图2 葡萄糖含量与初始 pH 值交互作用的响应曲面图

图3 KH_2PO_4 含量与初始 pH 值交互作用的响应曲面图

2.5 最佳工艺条件的验证

综合以上研究,由回归模型得到,影响 Y 的各因素最优值:葡萄糖 50.27 g/L、 KH_2PO_4 4.93 g/L、初始 pH 值 5.1,此时 Y 的最大预测值为 21.2 g/L。为了检验该工艺的可靠性,采用上述最优条件进行验证试验,得到 Y 的验证值为 21.57 g/L,与最大预测值(21.2 g/L)非常接近,相对误差仅为 1.75%,小于 5%。因此,Box - Behnken 响应面法在森盛 1 号黑木耳液体发酵工艺优化中的应用是成功的。

3 结论与讨论

本研究采用 Plackett - Burman、最陡爬坡、Box - Behnken 响应面以及验证试验对森盛 1 号黑木耳新品种的液体发酵工艺进行了优化,得到了最优的发酵工艺条件:马铃薯 200.0 g/L、葡萄糖 50.27 g/L、蛋白胨 4.5 g/L、麦麸 15.0 g/L、 KH_2PO_4 4.93 g/L、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.0 g/L、初始 pH 值 5.1、接种量 4%、温度 28.0 °C、160 r/min 摇床发酵 8 d,菌丝干

质量可达到 21.57 g/L,比优化前提高了 23.53%。

响应面相较于其他优化方法,可以反映碳氮源等因素间的交互作用^[23]。与钱雪婷等的研究结论^[24]进行比较,与“葡萄糖是影响黑木耳菌丝生物量的显著性因素”的结论相同,这是由于在发酵初期黑木耳菌株不能产生分解复杂有机物的酶系,而单糖更容易得到吸收利用;与结论“影响黑木耳菌株神农 A8 干质量顺序为 KH_2PO_4 含量 > 葡萄糖含量 > 牛肉粉含量”不同,影响菌丝干质量的顺序是初始 pH 值 > KH_2PO_4 含量 > 葡萄糖含量,可能是由菌种的差异导致;从液体菌种的实际生产来看,较高的菌丝生物量是判断液体菌种质量的一个重要标准,森盛 1 号在最优发酵工艺条件下的菌丝干质量比神农 A8 多 94%,可见新品种森盛 1 号具有更大优势。

另外,响应面分析得到的二次回归模型可以较好地反映试验的真实结果。本研究得到的菌丝干质量验证值(21.57 g/L)与最大预测值(21.2 g/L)较接近,相对误差仅为 1.75% (<5%)。因此,优化得到的森盛 1 号黑木耳液体发酵工艺是有效可行的,可为森盛 1 号新品种及其他黑木耳菌株的液体菌种生产提供科学依据。

参考文献:

- [1]姚方杰,张友民,陈影. 我国黑木耳产业发展形势[J]. 北方园艺,2010(18):209-211.
- [2]曲航,王振宇,伊娟娟,等. 黑木耳蛋白的高压均质提取及其纯化组分氨基酸组成研究[J]. 中国甜菜糖业,2016(4):19-24.
- [3]Bao H H, You S G, Cao L K, et al. Chemical and rheological properties of polysaccharides from fruit body of *Auricularia auricular-judae*[J]. Food Hydrocolloids,2016,57:30-37.
- [4]Sun S J, Zhang X J, Chen W X, et al. Production of natural edible melanin by *Auricularia auricular* and its physicochemical properties[J]. Food Chemistry,2016,196:486-492.
- [5]Afukwa C A, Okechukwu P C, Okoli S O, et al. Contents of some vitamins in five edible mushroom varieties consumed in Abakaliki Metropolis, Nigeria[J]. Research Journal of Pharmaceutical Biological & Chemical Sciences,2013,4(2):805-812.
- [6]于海洋,王延锋,史磊,等. 黑木耳液体深层发酵培养基的筛选[J]. 安徽农业科学,2019,47(8):46-48.
- [7]王相刚,张宝君,李贺,等. 论“菌菜”向“菌粮”转变的必要性[J]. 绥化学院学报,2013,33(6):154-157.
- [8]Machida K, Matsumoto T, Fusetani N, et al. Dolabellol A, a new halogenated diterpene isolated from the opisthobranch *Dolabella auricularia*[J]. Chemistry Letters,2017,46(11):1676-1678.
- [9]汤波,史娟. 秦巴山区黑木耳黑色素的提取及抗氧化能力研究[J]. 食品工业科技,2014,35(13):85-89.
- [10]何静仁,李玉保. 治疗糖尿病及高脂血症的植物药品及制备方法:CN110694046A[P]. 2020-01-17.
- [11]秦丹丹,曹慧馨,白洋,等. 黑木耳黑枸杞复合饮料研制及其体外抗氧化性[J]. 食品研究与开发,2020,41(3):108-116.
- [12]Lu A X, Yu M G, Shen M, et al. Preparation of the *Auricularia auricular* polysaccharides simulated hydrolysates and their hypoglycaemic effect[J]. International Journal of Biological Macromolecules,2018,106:1139-1145.
- [13]Xiong W, Li L, Wang Y Y, et al. Design and evaluation of a novel potential carrier for a hydrophilic antitumor drug: *Auricularia auricular* polysaccharide-chitosan nanoparticles as a delivery system for doxorubicin hydrochloride[J]. International Journal of Pharmaceutics,2016,511(1):267-275.
- [14]张介驰,戴肖东. 黑木耳产业和应用技术分析[J]. 黑龙江科学,2012,3(1):23-25.
- [15]马欣欣,王晨,杨林英,等. 河北省黑木耳主产区 5 种黑木耳的功能性成分及抗氧化性研究[J]. 食品研究与开发,2021,42(9):37-42.
- [16]钱雪婷. 秦巴山区黑木耳种质资源遗传多样性及液体发酵条件的研究[D]. 汉中:陕西理工学院,2016.
- [17]陈文强,乔艳明. 响应面法在香菇液体种生产工艺优化中的应用[J]. 食品工业科技,2015,36(18):290-294,319.
- [18]唐业刚. 毛木耳 988 菌种液体发酵条件的优化[J]. 贵州农业科学,2014,42(3):136-139.
- [19]谢意珍,周静文,李崇. 黑木耳液体发酵条件的优化及发酵物的降血脂功能[J]. 食用菌学报,2008,15(2):47-50.
- [20]Qiu J Q, Zhang H, Wang Z Y, et al. Response surface methodology for the synthesis of an *Auricularia auricularjudae* polysaccharides-CDDP complex[J]. International Journal of Biological Macromolecules,2016,93:333-343.
- [21]Chmiel T, Kupka M, Wardencki W, et al. Application of response surface methodology to optimize solid-phase microextraction procedure for chromatographic determination of aroma-active monoterpenes in berries[J]. Food Chemistry,2017,221:1041-1056.
- [22]罗春艳,方旭波,孙海燕,等. 南太平洋鱿鱼船上蒸煮加工工艺优化与品质特性[J]. 食品科学,2017,38(20):176-184.
- [23]李翠丽,陈文强,乔艳明. 秦巴山区低温型香菇的耐受力及富硒液体培养基优化[J]. 食品工业科技,2017,38(10):189-193,199.
- [24]钱雪婷,陈文强,邓百万,等. 秦巴山区黑木耳液体种培养基的响应面优化[J]. 北方园艺,2015(18):157-162.