

灵芝胞外多糖分批发酵动力学模型

Kinetic Model for Exopolysaccharides (EPS) of *Ganoderma lucidum* in Batch Fermentation

张建国* 陈晓明 贺新生

ZHANG Jian-Guo* ,CHEN Xiao-Ming and HE Xin-Sheng

西南科技大学生命科学与工程学院,绵阳 621010

School of Life Science and Engineering, Southwest University of Science and Technology, Mianyang 621010, China

摘 要 利用分批发酵研究了灵芝(*Ganoderma lucidum*)胞外多糖的合成特性,结果表明 *Ganoderma lucidum* 多糖合成和菌体生长呈部分生长关联型。菌体干重、胞外多糖分别达到 $15.56\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $3.02\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,胞外多糖对细胞干重得率系数($Y_{p/x}$)为 0.19。根据分批发酵试验结果采用 Logistic 方程、Luedeking-Piret 方程和类似 Luedeking-Piret 方程,得到了描述灵芝生长、胞外多糖以及葡萄糖底物消耗分批发酵动力学模型。同时在初始葡萄糖变化较大范围内,试验数据与模型预测值进行了比较拟合,平均相对误差小于 5%,表现出很好的适用性。表明该动力学模型对指导灵芝胞外多糖的发酵生产具有实际意义。

关键词 灵芝菌,胞外多糖,分批发酵,动力学模型

中图分类号 TQ920.8 ;TQ929+.2 文献标识码 A 文章编号 1000-3061(2007)06-1065-06

Abstract The synthetic characteristic of extracellular polysaccharide (EPS) of *Ganoderma lucidum* performed in batch fermentation was studied. The result showed that the production EPS was partially growth-associated. The cell dry weight (CDW) and EPS reached $15.56\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ $3.02\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ respectively. The yield of EPS to cell dry weight ($Y_{p/x}$) was 0.19. Based on the test result of batch fermentation, a kinetic model was proposed by using the Logistic equation for cell growth, the Luedeking Piret equation for EPS production and the Luedeking-piret-like equation for consumption of glucose as substrate. The calculated results of models were compared satisfactorily with experimental data under various glucose concentrations, the average relative error was no more than 5%. The kinetic model had practically guiding producing PES in fermentation of *Ganoderma lucidum*.

Key words *Ganoderma lucidum*, extracellular polysaccharide, fermentation kinetics model

灵芝(*Ganoderma lucidum*)属于担子菌门,非褶菌目,灵芝科,灵芝属真菌,具有极高的营养、保健、医疗价值。其中灵芝多糖(*Ganoderma lucidum* polysaccharide)是重要有效的活性成分之一^[1]。研究证实灵芝发酵过程中产生的胞外多糖也是有效多糖,可以提高机体免疫力,提高机体耐缺氧能力,消除自由基,抑肿瘤,抗辐射,提高肝脏、骨髓、血液合成 DNA、RNA、蛋白质的能力等,因而成了研究的热点^[2,3]。天然灵芝的生长周期长,人工培养不但费时、费力而且通过灵芝子实体提取多糖工艺复杂,人力、动力消耗大。灵芝深层液态发酵,可以有效的解决人工栽培的不足,满足日益增长的需求。根据灵芝菌丝发酵的特点,分批发酵是大规模发酵培养的最有效方式之一^[4]。目前灵芝菌丝培养研究报道多在培养条件的优化与多糖提取方面^[4],对其分批发酵动力学模型研究还未见报道。本研究通过对贺新

点^[2,3]。天然灵芝的生长周期长,人工培养不但费时、费力而且通过灵芝子实体提取多糖工艺复杂,人力、动力消耗大。灵芝深层液态发酵,可以有效的解决人工栽培的不足,满足日益增长的需求。根据灵芝菌丝发酵的特点,分批发酵是大规模发酵培养的最有效方式之一^[4]。目前灵芝菌丝培养研究报道多在培养条件的优化与多糖提取方面^[4],对其分批发酵动力学模型研究还未见报道。本研究通过对贺新

生教授分离获得的一株具有良好胞外多糖生产性能的灵芝菌株进行动力学模型研究,旨在实现 EPS 的发酵过程优化控制,降低生产成本,为进行连续发酵和放大试验提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株 :灵芝 (*Ganoderma lucidum*), 生命科学与工程学院贺新生教授提供。

1.1.2 培养基 (1) 斜面种子培养基 :马铃薯汁 $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 葡萄糖 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 琼脂 $18 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

(2) 种子摇瓶培养基 :葡萄糖 $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; 蛋白胨 $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; KH_2PO_4 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; 酵母粉 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 5.0。

(3) 发酵培养基 :蛋白胨 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; KH_2PO_4 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; 酵母粉 $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; 维生素 B_1 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 5.0, 葡萄糖浓度根据需要配置。

1.1.3 主要仪器与设备 :HZQ-F 全温振荡培养箱, 哈尔滨市东联电子技术开发有限公司; BIOF-2010 型生物发酵罐, 上海理工大学高机实业总公司; WFJ7200 型可见分光光度计, 尤尼柯(上海)仪器有限公司; 恒温培养箱, 中国上海科析实验仪器厂。

1.2 方法

1.2.1 种子活化 :将灵芝菌丝块接种于 PDA 斜面培养基上 28°C 下培养 6 d。共活化 2 次。

1.2.2 种子扩大培养 :取活化的灵芝斜面菌丝块 (约 1 cm^2) 接入摇瓶种子培养基中 (100 mL 培养基, 250 mL 三角瓶)。 28°C , $120 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 振荡培养 6 d, 再以 10% 的接种量接入下一级种子摇瓶培养基中进行相同条件振荡培养 4 d。

1.2.3 分批发酵 :采用 10 L 自控发酵罐进行条件优化下的液态深层分批发酵, 发酵培养基装料系数为 0.7, 接种量为 14%, 培养温度为 $(28 \pm 1)^\circ\text{C}$, pH 为 5.5 ± 0.5 , 通气量为 1:1, 溶氧控制在饱和度 10% 以上。在发酵过程中, 每隔 6 h 取样, 测定葡萄糖、生物量和胞外多糖的浓度, 与此同时观察菌丝形态。

1.2.4 分析方法 (1) 生物量测定 :取一定量发酵液 $4000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 下, 离心 8 min, 沉淀菌丝体用蒸馏水清洗 2 至 3 次后于 68°C 真空干燥箱中烘干至恒重, 称重换算为菌体干重浓度。

(2) 葡萄糖浓度 3,5-二硝基水杨酸法^[5]。

(3) 胞外多糖浓度测定 :取一定量去菌丝的灵芝发酵液加入 3 倍体积无水乙醇, 于 4°C 下沉淀 24 h, 然后于 $4000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 条件下离心 8 min。沉淀物加少量无水乙醇洗涤数次后, 将沉淀物用蒸馏水溶解并定容, 利用苯酚-硫酸法测定多糖含量^[6]。

1.2.5 试验数据的获得 :每隔一定时间, 测定该时间下的葡萄糖浓度、菌丝干重浓度和胞外多糖浓度。每次做三次平行试验, 取其平均值 (相对误差小于 10%)。

2 结果与讨论

2.1 灵芝菌丝发酵过程代谢变化

为了解灵芝分批发酵菌丝体生长代谢规律, 进行了分批发酵。菌丝形态和发酵过程有关联^[7], 结合菌丝形态变化与图 1 所示的各种代谢指标变化情况可以看出, 在 0~48 h 发酵处于延迟期, 菌丝球 (直径 4 mm 左右) 在剪切力作用下由球状逐渐变为半球状, 葡萄糖消耗与菌体浓度增长缓慢; 48~84 h 处于对数期, 不规则的菌丝球碎片逐渐形成大量菌丝体包裹且松散的菌丝小球 (直径 2 mm 左右), 葡萄糖浓度迅速下降, 菌体生长加速, 菌体浓度增加; 84~126 h 处于稳定期, 菌丝球逐渐变大 (直径 3 mm 左右) 且球体密度增大, 有些菌体发生了自溶成为空心球, 葡萄糖浓度下降缓慢, 菌丝生长减速; 126 h 后处于衰亡期, 菌丝球密实且多数出现自溶空心, 菌体浓度几乎没有变化, 菌体自溶导致葡萄糖浓度有缓慢上升的趋势。多糖在对数期开始大量合成在稳定期多糖浓度高达 $3.02 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 根据多糖合成和菌体生长的关系可以判断多糖的合成与菌体生长呈部分生长关联型。

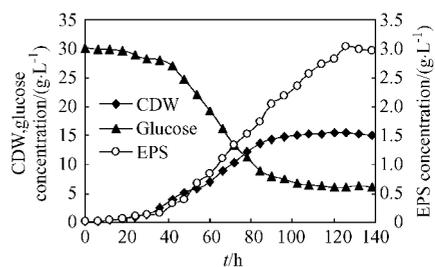


图 1 灵芝分批发酵曲线

Fig. 1 Profile of CDW, glucose concentration and EPS concentration during *Ganoderma lucidum* cultured in batch fermentation

2.2 *Ganoderma lucidum* 菌体生长动力学模型

描述菌体生长最常用的模型之一为 Monod 方程^[8]。该模型基于以下假设建立: ① 菌体生长为均

衡型非结构式生长,描述细胞生长的唯一变量是细胞的浓度;②培养基中只有一种基质是生长限制性基质,其它营养成分过量不影响细胞生长;③将微生物生长视为简单反应,菌体得率为常数,没有动态滞后。显然②、③不符合 *Ganoderma lucidum* 发酵的特征,采用 Monod 方程有偏差。由于 *Ganoderma lucidum* 菌丝体细胞生长曲线为 S 形,而 Logistic 模型是一个典型的 S 型曲线,通常被看作是一个表现细胞生长与营养物质之间的非线性关系的经验方程,能很好地反映该过程中菌体浓度增加对自身生长的抑制作用,用于拟合菌体生长过程具有一定的适用性^[9],因此,应用该模型来描述 *Ganoderma lucidum* 生长动力学特性。

Logistic 方程:

$$\frac{dC_x}{dt} = \mu_{\max} \left(1 - \frac{dC_x}{dC_{x,\max}} \right) C_x \quad (1)$$

初始条件为 $t = 0$ 时 $C_x = C_0$; μ_{\max} 为最大比生长速率; t 为发酵时间; C_x 为菌丝体浓度。

将(1)式积分得:

$$\mu_{\max} t = \ln \left(\frac{C_{x,\max}}{C_{x,0}} - 1 \right) + \ln \left[\frac{C_x}{C_{x,\max}} - C_x \right] \quad (2)$$

或

$$C_x(t) = \frac{C_{x,0} \exp(\mu_{\max} t)}{\left(1 - \frac{C_{x,0}}{C_{x,\max}} \right) \left[1 - \exp(\mu_{\max} t) \right]} \quad (3)$$

根据(2)式,以 $\ln \left[\frac{C_x}{C_{x,\max}} - C_x \right]$ 对 t 作图,直线斜率为 μ_{\max} ,截距为 $-\ln \left(\frac{C_{x,\max}}{C_{x,0}} - 1 \right)$,结果如图 2。由图可知, $\mu_{\max} = 0.074 \text{ h}^{-1}$, $C_{x,0} = 0.196 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

将 $C_{x,0}$, μ_{\max} , $C_{x,\max}$ 代入(3)式整理得:

$$C_x(t) = \frac{0.196 \exp(0.074t)}{0.987 + 0.013 \exp(0.074t)} \quad (4)$$

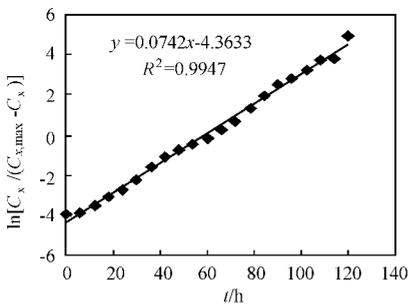


图 2 求取 μ_{\max} 值

Fig.2 Evaluation of μ_{\max}

由式(5)拟合的菌体生长曲线和试验测得值相比较,结果见图 3。从图 3 可以看出试验值与模型值平均误差为 6%,所选的模型基本反映了

Ganoderma lucidum 液态分批发酵生长情况。在稳定期试验值要高于拟合值。一方面,与菌丝细胞的可利用率有关;另一方面,因为 Logistic 方程主要反映菌体浓度的增加和营养物质的消耗对自身生长的抑制作用,在延滞期和加速生长期,菌体浓度不高,营养物质丰富,对自身生长的抑制作用不明显,因此拟合情况不如稳定期理想^[10]。

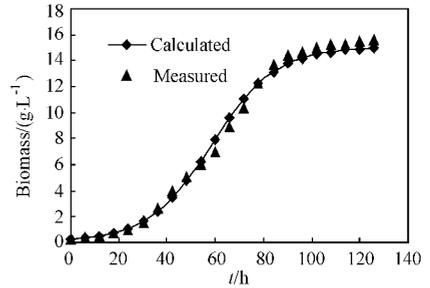


图 3 灵芝菌体生长动力学模型值与试验数据拟合曲线

Fig.3 Comparison of kinetic model with biomass data for *Ganoderma lucidum*

2.3 *Ganoderma lucidum* 胞外多糖合成模型

Gaden 根据产物形成与菌体生长的关系将产物的合成分为 3 类:(1)产物生产与菌体生长相耦联;(2)产物生产与菌体生长部分耦联;(3)产物的形成与菌体的生长没有关系^[11]。在大多数真菌合成胞外多糖动力学研究中,均表现是部分生长耦联型^[12]。图 1 可以看出 *Ganoderma lucidum* 胞外多糖与菌丝细胞生长也为部分生长关联型。采用 Luedeking-Piret 方程描述胞外多糖的比生成速率与菌丝体比生成速率之间关系为:

$$\frac{dC_p}{dt} = \alpha \left(\frac{dC_x}{dt} \right) C_x + \beta C \quad (5)$$

当 $t = 0$ 时, $C_p = C_{p,0}$; 方程中 α 、 β 为模型参数,随发酵条件的变化而不同;

把方程(1)代入方程(5)得:

$$\frac{dC_p}{dt} = \alpha \mu_{\max} \left(1 - \frac{C_x}{C_{x,\max}} \right) C_x + \beta C_x \quad (6)$$

积分得:

$$C_p(t) = C_{p,0} + \alpha \left[C_x(t) - C_0 \right] + \beta \frac{C_{x,\max}}{\mu_{x,\max}} \ln \left(1 - \frac{C_{x,0}}{C_{x,\max}} \right) \left[1 - \exp(\mu_{\max} t) \right] \quad (7)$$

稳态时 $dC_x/dt = 0$, $C_x = C_{x,\max}$, 则由方程(5)得:

$$\beta = \frac{\left(\frac{dC_p}{dt} \right)_{st}}{C_{x,\max}} \quad (8)$$

$$C_p(t) = C_{p,0} + \alpha A(t) + \beta B(t) \quad (9)$$

式中 $A(t) = C_x(t) - C_{x,0}$; $B(t) = (C_{x,max}/\mu_{max}) \ln \{1 - (C_{x,0}/C_{x,max}) [1 - \exp(-\mu_{max} t)]\}$, 其中 $C_{x,max}$, $C_{x,0}$, μ_{max} 为已知, 通过式(8)求解可得 $\beta = 0.002$ 。以 $[C_p(t) - C_{p,0} - \beta B(t)]$ 对 $\alpha A(t)$ 作图斜率为 α , 由图4可知 $\alpha = 0.072$ 。

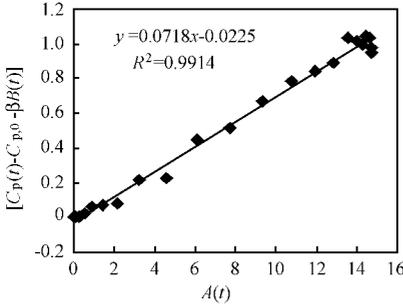


图4 求 α 值

Fig.4 Evaluation of α

将模型参数值 α , β , μ_{max} , $C_{x,max}$ 和 $C_{x,0}$ 值代入(7)整理得 *Ganoderma lucidum* 胞外多糖合成动力学模型为:

$$C_p(t) = 0.010 + 0.072 C_x(t) + 0.405 \ln \times [0.987 + 0.013 \exp(0.074)] \quad (10)$$

根据(10)式绘制 *Ganoderma lucidum* 胞外多糖生成动力学曲线并与试验值比较, 结果如图5。在0~126 h之间, 试验值与计算值的平均相对误差为3.18%, 说明该动力学模型能很好地描述 *Ganoderma lucidum* 胞外多糖的生成随时间变化的行为。虽然在132 h后, 多糖的浓度比预测值低不能很好的拟合, 但在菌体合成多糖的最大浓度值在模型预测范围内不会影响模型的准确性和有效性。

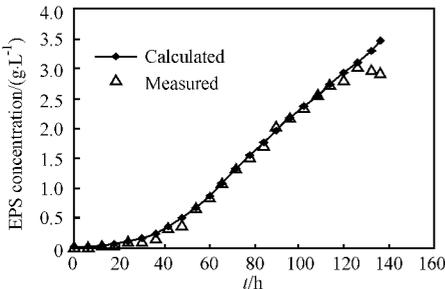


图5 灵芝胞外多糖合成动力学模型与试验数据的拟合曲线

Fig.5 Comparison of kinetic model extrapolyssaccharide production date for *Ganoderma lucidum*

造成132 h后不能较好拟合的原因, 一方面由于底物葡萄糖浓度比较低小于 $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 不利于合成多糖; 另一方面由于多糖对菌体合成多糖有反馈抑制作用, 这与有关资料研究表明灵芝胞外多糖对菌

体多糖合成有反馈抑制作用^[13]是相吻合的。

2.4 *Ganoderma lucidum* 基质消耗动力学模型

在分批发酵过程中, 碳源作为底物, 一部分底物用于细胞生长, 一部分合成产物, 一部分用于能量消耗以维持细胞生命之用。由于胞外多糖的合成与菌体生长呈部分生长关联型, 则基质消耗方程式可用与 Luedeking-Piret 相似的方程式来表示^[14]。

$$-\frac{dC_s}{dt} = \frac{1}{Y_{x/s}} \frac{dC_x}{dt} + \frac{1}{Y_{p/s}} \frac{dC_p}{dt} + K_e C_x \quad (11)$$

其中: $Y_{x/s}$ 为消耗 1g 基质所得菌体量 (g); $Y_{p/s}$ 为消耗 1g 基质所得胞外多糖量 (g); C_s 为底物浓度 ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$); K_e 为细胞维持系数 (h^{-1})。

将(5)式代入(11)可得:

$$-\frac{dC_s}{dt} = \left(\frac{\beta}{Y_{p/s}} + K_e\right) C_x + \left(\frac{1}{Y_{x/s}} + \frac{\alpha}{Y_{p/s}}\right) \frac{dC_x}{dt} \quad (12)$$

或

$$\frac{dC_s}{dt} = -b_1 C_x - b_2 \frac{dC_x}{dt} \quad (13)$$

当 $t = 0$ 时, $C_s = C_{s,0}$ 。式中 $b_1 = \beta/Y_{p/s} + K_e$; $b_2 = 1/Y_{x/s} + \alpha/Y_{p/s}$ 。

当菌体生长处于稳态时, $dC_x/dt = 0$, 可利用(13)式求得:

$$b_1 = \left(\frac{dC_s}{C_{x,max} dt}\right)_{st} \quad (14)$$

根据试验值求得 $b_1 = 0.0008$ 。

对(13)式积分得:

$$C_s(t) = C_{s,0} - b_2 A(t) - b_1 B(t) \quad (15)$$

以 $[C_{s,0} - C_s(t) - b_1 B(t)]$ 对 $A(t)$ 做图, 直线斜率为 b_2 。已知 $C_{s,0} = 30.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 得到图6求得 $b_2 = 1.624$ 。

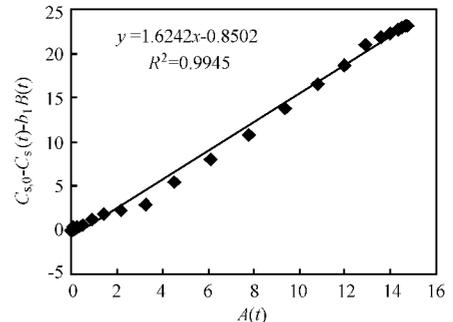


图6 求取 b_2 值

Fig.6 Evaluation of b_2

将模型参数代入(15)式中得:

$$C_s(t) = 30.1 - 1.624 A(t) - 0.0008 B(t)$$

整理得：

$$C_s(t) = 30.418 - 1.624C_x(t) - 0.162\ln [0.987 + 0.013\exp(0.074t)] \quad (16)$$

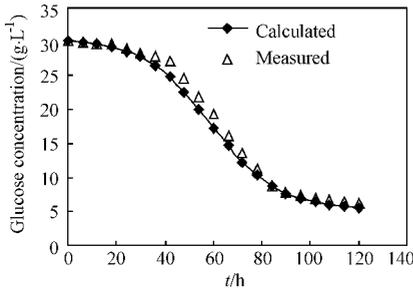


图7 灵芝菌底物消耗动力学模型与试验数据的拟合曲线
Fig.7 Comparison of kinetic model with glucose consumption data for *Ganoderma lucidum*

根据式(16)绘制 *Ganoderma lucidum* 底物消耗动力学曲线并与试验值比较,结果如图7。相对误差为6.8%,说明该曲线能够很好地描述 *Ganoderma lucidum* 培养过程中,底物消耗和时间的关系。图7测量值多数比模型预测值高是由于没有考虑菌丝结构和菌丝生长的不均一性对底物消耗的影响。

2.5 模型准确性和适用性验证

为了检验模型的准确性,在相同发酵条件下进行分批发酵的重复实验,将试验数据与灵芝菌的动力学模型预测值进行比较。结果由图8(C)可以看

出模型预测值与实测值的相对误差都低于10%,菌体浓度模型预测值与实测值的相对误差平均为3.31%;产物多糖合成模型预测值与实测值的相对误差平均为3.64%;底物葡萄糖消耗模型预测值与实测值的相对误差平均为4.16%。

在建立分批发酵动力学模型的过程中,模型参数的求解是基于初始葡萄糖浓度为 $30\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 条件下的发酵数据。为了提高模型的适用性,在不同初始葡萄糖浓度条件下对模型进行了进一步的考察^[16],实验值与计算值的比较见图8。从图8可以看出,当初始葡萄糖浓度在 $20\text{g}\cdot\text{L}^{-1} \sim 30\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时模型值与实验值拟合较好,表现出良好的适用性。但是超过 $35\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的拟合有很大的偏差,不能很好描述,这与菌体的耐渗透压特性有关。

在稳定期多糖合成的过程中,残糖浓度要保持在一定水平。若低于该水平多糖合成速度就要下降见图8(B),不能与多糖合成模型较好拟合。这是由于胞外多糖是以碳元素为骨架的次级代谢产物,它的合成直接受到残糖浓度的影响。

从图8(C、D)可以看出,多糖的合成还要受到多糖的抑制作用。当多糖浓度达到一定浓度时,虽然残糖维持在一定水平,但多糖也停止积累。这与胞外多糖反馈抑制合成途径中有关酶的活性以及多糖

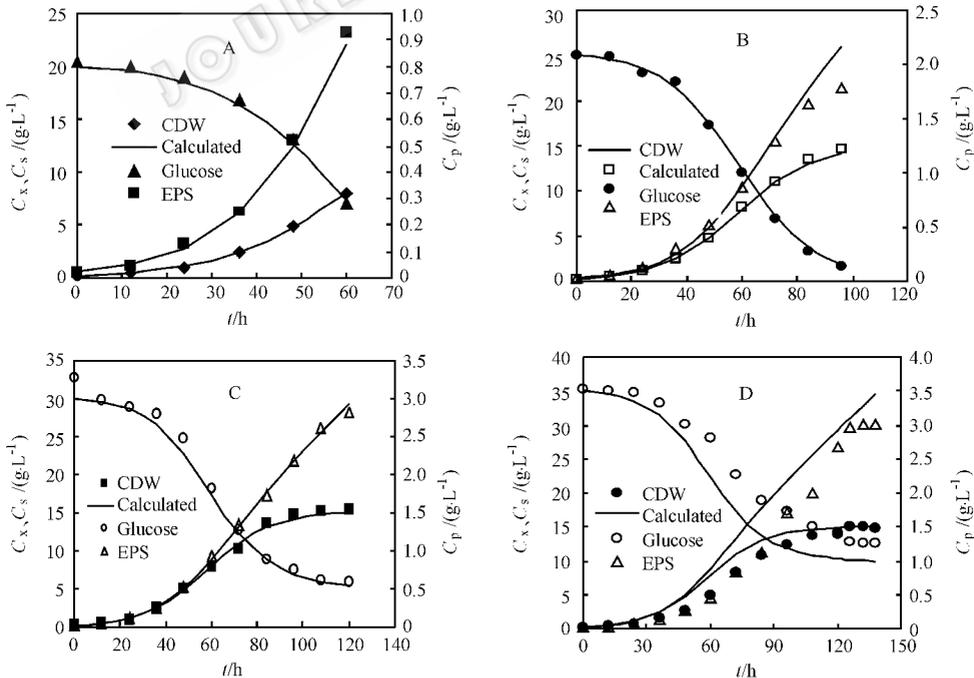


图8 试验值与模型值比较

Fig.8 Comparison between the experimental data and the model prediction under different initial glucose concentration

A : initial glucose 20g/L ; B : initial glucose 25g/L ; C : initial glucose 30g/L ; D : initial glucose 35g/L

浓度提高增加了发酵液黏度,影响到溶氧相关^[15]。

3 结论

(1) 基于灵芝多糖的发酵生产过程与菌体生长呈部分生长关联型,采用 Logistic 方程、Luedeking-Piret 方程与 Luedeking-Piret 类似方程,建立的灵芝多糖发酵模型能够较好的描述 *Ganoderma lucidum* 分批发酵过程中菌体生长、产物形成和基质消耗随时间变化的数学模型。

(2) 该模型在起始葡萄糖浓度为 $20\text{g}\cdot\text{L}^{-1} \sim 30\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 具有良好适用,但起始葡萄糖浓度高于 $35\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,菌体生长受到底物抑制,不能很好拟合。

(3) 为提高多糖产量可以通过补料或连续发酵的方式,以延长多糖的合成期以及有效的解决多糖浓度高对菌体合成的反馈抑制作用,补料时机选择在葡萄糖浓度在 $5\text{g}\cdot\text{L}^{-1} \sim 10\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间。

(4) 灵芝多糖产物的合成不仅受到外因的影响也受到代谢机制的调节控制。为进一步提高多糖产量,需要对其代谢机制进行研究。

符号说明

C_p	—	EPS 浓度/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
$C_{p,0}$	—	起始 EPS 浓度/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
C_s	—	葡萄糖浓度/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
$C_{s,0}$	—	起始葡萄糖浓度/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
C_x	—	菌丝体浓度/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
$C_{x,0}, C_{x,max}$	—	起始菌体浓度和最大菌体浓度/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
Ke	—	细胞维持系数/ h^{-1}
t	—	发酵时间/h
$Y_{x/s}$	—	菌体相对葡萄糖得率系数
$Y_{p/s}$	—	EPS 相对葡萄糖得率系数
$Y_{p/x}$	—	EPS 相对菌体得率系数
α	—	EPS 与菌体生长相关系数
β	—	EPS 和菌体浓度相关合成系数/ h^{-1}
μ_{max}	—	最大比生长速率/ h^{-1}

REFERENCES (参考文献)

[1] Qiao Y (乔英), Dong XC (董学畅), Qiu MH (邱明华). Studies on polysaccharides from *Ganoderma lucidum*. *Journal of Yunnan Nationalities University* (Natural Sciences Edition) (云南民族大学学报, 自然科学版) 2006, 15(2): 134 - 137.

[2] Liu GQ (刘高强), Wang XL (王晓玲). Structure-activity relationship and anticancer mechanisms of *Ganoderma lucidum* polysaccharides. *Mycosystema* (菌物学报, 英文版), 2006, 25(3): 430 - 438.

[3] Leung YK, Liu C, Koon JCM. Polysaccharide biological response modifiers. *Immunology Letters* 2006, 105: 101 - 114.

[4] Li XQ (李续全), Yang XT (杨晓彤). Recent progress in *Ganoderma lucidum* polysaccharide research. *China New Medicine* (中国新医药) 2004, 3(9): 57 - 59.

[5] Zhang LX (张龙翔). Biochemical Experimental Methods and Technology (生化实验方法和技术). Beijing: Higher Education Press, 1981, pp. 23.

[6] Lu XY (鲁晓岩). The research of phenol-sulphate acid inspect method of *Cordyceps militaris* exopolysaccharide. *Science and Technology of Food Industry* (食品工业科技) 2002, 22(4): 69 - 70.

[7] Li PZ (李平作), Xu R (徐柔), Zhang KC (章克昌). Relationship between mycelia morphology and yield of extrapolsaccharide in the culture of *G. lucidum*. *Industrial Microbiology* (工业微生物) 2000, 30(3): 20 - 23.

[8] Bailey JE, Ollis DF. Biochemical Engineering Fundamentals. New York: McGraw-Hill Book Company, 1986, pp. 421 - 440.

[9] Wu ZF (吴祖芳), Du GC (堵国成), Chen J (陈坚). Metabolic characters and fermentation kinetics of batch cultures to produce CoQ10 by *Rhizobium radiobacter*. *Journal of Chemical Engineering of Chinese Universities* (高校化学工程学报) 2004, 18(2): 191 - 194.

[10] Wu QL (武秋立), An JY (安家彦). Kinetic models for exopolysaccharides of *Morchella esculenta* by fermentation. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Nankaiensis* (南开大学学报), 2005, 38(1): 43 - 48.

[11] Chen J (陈坚), Du GC (堵国成), Li Y (李寅), Hua ZZ (华兆哲). Fermentation Engineering Experimental Technology (发酵工程实验技术). Beijing: Chemical Industry Press (化学工业出版社) 2003, pp. 281 - 284.

[12] Jia WL (贾万利), Feng T (冯涛), Zhao LQ (赵良启). Research of liquid fermentation for *Ganoderma* polysaccharide. *Shanxi Chemical Industry* (山西化工) 2004, 22(1): 24 - 26.

[13] Song PR (宋频然), Chang JD (常继东). A preliminary study on feedback inhibition of extracellular polysaccharide on *Ganoderma lucidum*. *Journal of East China University of Science and Technology* (华东理工大学学报) 2003, 29(3): 311 - 314.

[14] Yang JS (杨金水), Huang JX (黄建新). Mathematical modeling of *Zoogloea* sp. Batch fermentation for PHAs synthesis. *Journal of Chemical Industry and Engineering* (化工学报) 2006, 57: 1656 - 1658.

[15] Li X (李信), Xu L (许雷), Cai ZL (蔡昭铃). Studies on kinetics of *Cordyceps militaris* fermentation for production of exopolysaccharide. *Chinese Journal of Biotechnology* (生物工程学报) 1999, 15(4): 507 - 511.

[16] Wei GY (卫功元), Li Y (李寅), Du GC (堵国成), et al. Kinetic models for the effect of temperature on batch glutathione fermentation by *Candida utilis*. *Chinese Journal of Biotechnology* (生物工程学报) 2003, 19(3): 358 - 363.