

利迪链霉菌 A02 产纳他霉素补料分批发酵参数的优化

刘霆, 卢彩鸽, 花玉鹏, 刘德文, 刘伟成

北京市农林科学院植物保护环境保护研究所, 北京 100097

摘要 为建立利迪链霉菌 (*Streptomyces lydicus*) A02 生产纳他霉素的高产发酵工艺, 对其补料分批发酵的主要参数进行了优化。利用 pH 值实时监控自动补料摇床辅助优化, 筛选出利迪链霉菌 A02 产纳他霉素的适宜 pH 值范围, 以此为控制点进行 30 L 自动发酵罐补料分批发酵实验, 通过分析软件发酵之星 (Biostar) 5.0 检测分析主要发酵参数动态趋势曲线与纳他霉素产量的相关性。结果显示, 菌株 A02 最适于纳他霉素生物合成的发酵过程多参数优化组合为: 培养温度 30℃, pH 值控制在 6.25~6.29 范围内, 溶氧 (DO) 为 20%~30%, 摄氧率 (OUR) 和 CO₂ 释放率 (CER) 分别为 25~15 mmol/(L·h) 和 20~12 mmol/(L·h), 氨基氮含量 0.20~0.23 g/L, 还原糖保持 1.5% 左右, 至 88 h 后自然下降, 至 112 h 为 0.32%; 此时纳他霉素质量浓度达最高值, 发酵上清液中为 2.02 g/L, 发酵液中为 6.98 g/L, 较不控制 pH 值的对照分别提高 28.66% 和 69.83%, 为较好的发酵终点。通过优化调控主要发酵参数有效提高了利迪链霉菌 A02 生产纳他霉素的发酵水平。

关键词 利迪链霉菌; 纳他霉素; 发酵参数; 优化组合

中图分类号 TQ920.6

文献标志码 A

doi 10.3981/j.issn.1000-7857.2014.12.002

Parameter Optimization for Fed Batch Fermentation of *Streptomyces lydicus* A02 to Produce Natamycin

LIU Ting, LU Caige, HUA Yupeng, LIU Dewen, LIU Weicheng

Institute of Plant and Environment Protection, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100097, China

Abstract In order to improve the fermentation process of natamycin by *Streptomyces lydicus* A02, the main parameters for the fed batch fermentation are optimized. The range of suitable pH values is screened by an assisted optimization using a shaker with the function of automatic feeding to regulate pH values. Then the experiments in 30 L fermentor are carried out by controlling pH values within the suitable range as the main regulation point. The relationship between the natamycin yields and the fermentation parameters is obtained through the software Biostar 5.0. It is shown that the optimized parameter combination for the fed batch fermentation of natamycin by *S. lydicus* A02 is as follows: The culture temperature is 30℃, the pH value is 6.25~6.29, the DO is 20%~30%, the OUR is 25~15 mmol/(L·h), the CER is 20~12 mmol/(L·h), the amino-N is 0.20~0.23 g/L, and the reducing sugar remains at about 1.5% in 88 h then drops gradually to 0.32% at 112 h, the end of fermentation, when the natamycin yield is up to 2.02 g/L in the supernatant and 6.98 g/L in the total fermented broth. It can be concluded that the fermentation level of natamycin by *S. lydicus* A02 could be increased effectively by the optimization of the main fermentation parameters.

Keywords *Streptomyces lydicus*; natamycin; fermentation parameter; optimizing combination

利迪链霉菌 (*Streptomyces lydicus*) A02 是从京郊森林土壤中分离筛选的 1 株生防菌, 对多种果蔬作物病原真菌具有很

强的抑制活性^[1,2], 其代谢产物的主要抗菌活性成分为纳他霉素^[3]。纳他霉素 (Natamycin) 亦称匹马霉素 (Pimaricin), 是四

收稿日期: 2014-01-27; 修回日期: 2014-03-31

基金项目: 北京市科技计划课题 (Z121100001212002); 公益性行业 (农业) 科研专项 (200903049-07); 北京市农林科学院项目 (2010A006)

作者简介: 刘霆, 副研究员, 研究方向为植物病害生物防治, 电子信箱: liting11@163.com; 刘伟成 (通信作者), 研究员, 研究方向为植物真菌病害及其生物防治, 电子信箱: liuwich@163.com

引用格式: 刘霆, 卢彩鸽, 花玉鹏, 等. 利迪链霉菌 A02 产纳他霉素补料分批发酵参数的优化 [J]. 科技导报, 2014, 32(12): 19-25.

烯大环内酯类抗真菌天然产物,通过与真菌细胞质膜上的麦角甾醇结合,破坏膜结构起到抑菌作用^[4-5];其溶解性低,人畜服用后易于随粪便排出,几乎不被肠胃吸收,因而安全性极高,对人畜无毒,也无诱变、致畸、致癌作用和过敏反应^[6,7],作为一种高效、安全的天然生物性食品防腐抗菌剂,已在30多个国家广泛应用,近年在果品保鲜及设施果蔬病害防治中也见诸报道^[8,9]。

文献已报道的纳他霉素产生菌有3种:恰塔努加链霉菌(*S. chattanovgensis*)、纳塔尔链霉菌(*S. natalensis*)、褐黄孢链霉菌(*S. gilvosporeus*),在工业生产中常用的生产菌种为后两种,国内外关于纳他霉素的研究多集中于这两个菌种。利迪链霉菌A02为本研究组首次发现的纳他霉素新产生菌,对其进行发酵工艺的优化研究,可以建立全新的利迪链霉菌生产纳他霉素的发酵工艺,对于扩大纳他霉素的生产途径,丰富安全、绿色的食品防腐剂及果蔬保鲜和真菌病害防治剂的供给,保障食品安全具有重要意义。本研究组在前期研究中优化了其发酵培养基^[10],并通过摇瓶发酵确定了种子培养条件及其最适接种量。鉴于pH值是微生物生长和产物合成的重要状态参数,其在发酵过程中的变化会影响各种酶活、基质利用速率和产物合成速率,可作为代谢活动的综合指标,本文在前期研究基础上以pH值的优化为控制点,对其补料分批发酵过程主要参数的动态变化进行分析与调控,确定其优化组合,以期建立高产发酵工艺及其过程放大奠定基础。

1 材料和方法

1.1 供试菌株和培养基

利迪链霉菌A02:由本研究组自北京远郊天然次生林土壤中分离筛选,已获得发明专利授权,在本室和中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心保藏编号分别为JZB130002和CGMCC1654。

液体种子培养基(g/L):可溶性淀粉 10.0,葡萄糖 20.0,黄豆饼粉 20.0,蛋白胨 5.0, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1.0, KH_2PO_4 0.2, NaCl 4.0, $CaCO_3$ 10.0; pH值 7.0~7.4。

发酵培养基(g/L)^[10]:玉米淀粉 52.7,棉籽精粉 31.7,葡萄糖 11.7,豆粕粉 10.0,蛋白胨 7.5, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 2.0, KH_2PO_4 0.4, NaCl 5.0, $(NH_4)_2SO_4$ 2.5, $CaCO_3$ 4.0,高温淀粉酶 0.05, pH值 7.0~7.4。

1.2 主要仪器设备

FUS-30L(A)新概念高级自控发酵罐、发酵过程分析软件发酵之星(Biostar)5.0和SHpH-6型pH可控补料摇床,由国家生化工程技术研究中心(上海)国强生化工程装备有限公司生产;PS5100型生物发酵尾气分析仪,由重庆哈特曼测量仪器有限公司生产;DU-800紫外/可见分光光度计,由美国贝克曼(BECKMAN)公司生产;3K30型台式高速冷冻离心机,由德国Sigma公司生产。

1.3 发酵培养方式

摇瓶和发酵罐均采用补料分批发酵的方式,主要通过加

50%葡萄糖溶液补充培养液中的营养供给并控制pH值变化。

1.4 摇瓶发酵在线参数的设置与检测

1.4.1 培养温度

设置25、28、30、34℃4个温度梯度,500 mL摇瓶装100 mL发酵培养基,按5%(体积分数)接种量接种A02液体种子,220 r/min振荡培养192 h,测定不同温度条件下纳他霉素的产量。

1.4.2 培养液pH值

利用pH值可控摇床通过补料分别控制pH值在5.5、6.0、6.5、7.0和7.5共5个梯度,以不控制pH值为对照,检测不同pH值条件对发酵水平的影响。

1.5 发酵罐在线参数的检测与调控

1.5.1 溶氧及相关参数

空气流量初始值按每分钟通量与培养基等体积设定,发酵过程中根据维持溶氧水平的需要调整;搅拌转速初始值为200~300 r/min,随着溶氧变化的调整,最高控制在600 r/min;调节空气流量和搅拌转速,使溶氧控制在20%~40%。

1.5.2 尾气

利用尾气分析仪自动检测记录尾氧、尾碳,并在线计算摄氧率(OUR)和 CO_2 释放率(CER)的值。

1.5.3 温度和pH值

根据摇瓶发酵的结果择优设定,自动控制和记录。

1.6 离线参数的检测与控制

1.6.1 样品采集与处理

发酵过程中,每12 h采集摇瓶或发酵罐内的发酵液样品10~50 mL,4000 r/min离心20 min得发酵上清液,4℃保存,用于离线参数的检测。

1.6.2 培养液中糖含量的测定

采用3,5-二硝基水杨酸法(DNS法)^[11]绘制葡萄糖标准曲线,回归分析后所得回归方程为: $y=0.7949x+0.0029$, $R^2=0.9927$ 。

还原糖的测定:取发酵上清液稀释至还原糖浓度为0.1~1.0 mg/mL后,取1 mL按上述葡萄糖标准溶液的步骤测定OD值,根据回归方程计算其浓度。

总糖的测定:取稀释后的发酵液上清液1 mL,加3 mol/L盐酸1.5 mL,沸水浴20 min水解碳水化合物,冷却至室温后,加入3 mol/L NaOH约1.5 mL中和至微碱性,取该溶液1 mL按上述还原糖测定步骤操作。

1.6.3 氨基氮的测定

采用甲醛滴定法^[12]测定培养液中的可溶性氨基氮。

1.6.4 菌体浓度的测定

采用菌体离心压缩体积(packed mycelia volume, PMV)计数法^[13]测定。

1.6.5 纳他霉素浓度的测定

采用紫外分光光度法。参照文献[14],以甲醇为溶剂和空白对照,绘制标准曲线,回归分析后求得回归方程为: $y=10.229x-0.0894$, $R^2=0.9997$ 。

发酵上清液中纳他霉素质量浓度的测定:取1 mL发酵上清液,加入甲醇29 mL,在震荡器上充分震荡后10000 r/min离心20 min,取上清液在303 nm处测定其吸收峰值,通过回归方程计算纳他霉素质量浓度。

发酵液中纳他霉素质量浓度的测定:取1 mL发酵液,加入9 mL甲醇作为提取剂,充分振荡抽提30 min,4000 r/min离心20 min,取1 mL上清液按上述步骤测定纳他霉素质量浓度。

1.7 主要参数曲线的相关性分析

所得离线参数输入分析软件Biostar 5.0,合并在线参数,形成多参数趋势曲线图。分析各参数变化与纳他霉素产量相关性,通过多次重复的调控实验,确定优化的参数组合。

1.8 数据统计分析

对比实验的结果利用统计分析软件SPSS 13.0,选择Duncan法进行方差分析和多重比较。

2 结果与分析

2.1 摇瓶发酵参数的优化

2.1.1 温度对纳他霉素产量的影响

在4种温度条件下摇瓶发酵96 h后,发酵上清液中纳他霉素产量的动态变化如表1。由表1可知,发酵120 h时培养温度30℃条件下的纳他霉素产量最高;其后,随着发酵时间的延长,较低温度条件下的产量显示出超越较高温度的趋

势;发酵144 h时28℃下产量最高,168 h时25℃下产量最高,之后都随温度上升呈下降趋势;34℃高温条件下的纳他霉素产量始终最低。据此分析,30℃有利于菌株A02提前产素而缩短发酵周期;144和168 h时,虽然28℃和25℃纳他霉素产量较高,但对二者及120 h 30℃条件下的纳他霉素产量进行差异显著性分析表明,三者无显著性差异,而发酵周期延长不利于提高生产效率,因此选择30℃作为最适温度进行后续发酵实验。

表1 A02在不同发酵温度下的纳他霉素产量

Table 1 Yield of natamycin produced by strain A02 under different temperatures

温度/ °C	纳他霉素质量浓度/(g·L ⁻¹)				
	96 h	120 h	144 h	168 h	192 h
25	0.8313 ^c	1.0080 ^c	1.1848 ^b	1.2834 ^a	1.2454 ^a
28	1.0121 ^b	1.2463 ^b	1.2773 ^a	1.2298 ^b	1.2218 ^a
30	1.0983 ^a	1.2812 ^a	1.1985 ^b	1.1718 ^c	1.1229 ^b
34	0.7121 ^d	0.6965 ^d	0.6687 ^c	0.6133 ^d	0.5431 ^c

注:各处理均值后的字母表示方差分析结果,同一列内标有不同小写字母的均值在 $\alpha=0.05$ 水平上具显著性差异。下同。

2.1.2 pH值对发酵水平的影响

5种pH值梯度处理及不控制pH值对照的主要发酵参数曲线如图1所示,各pH值条件下纳他霉素最高产量列于表2。

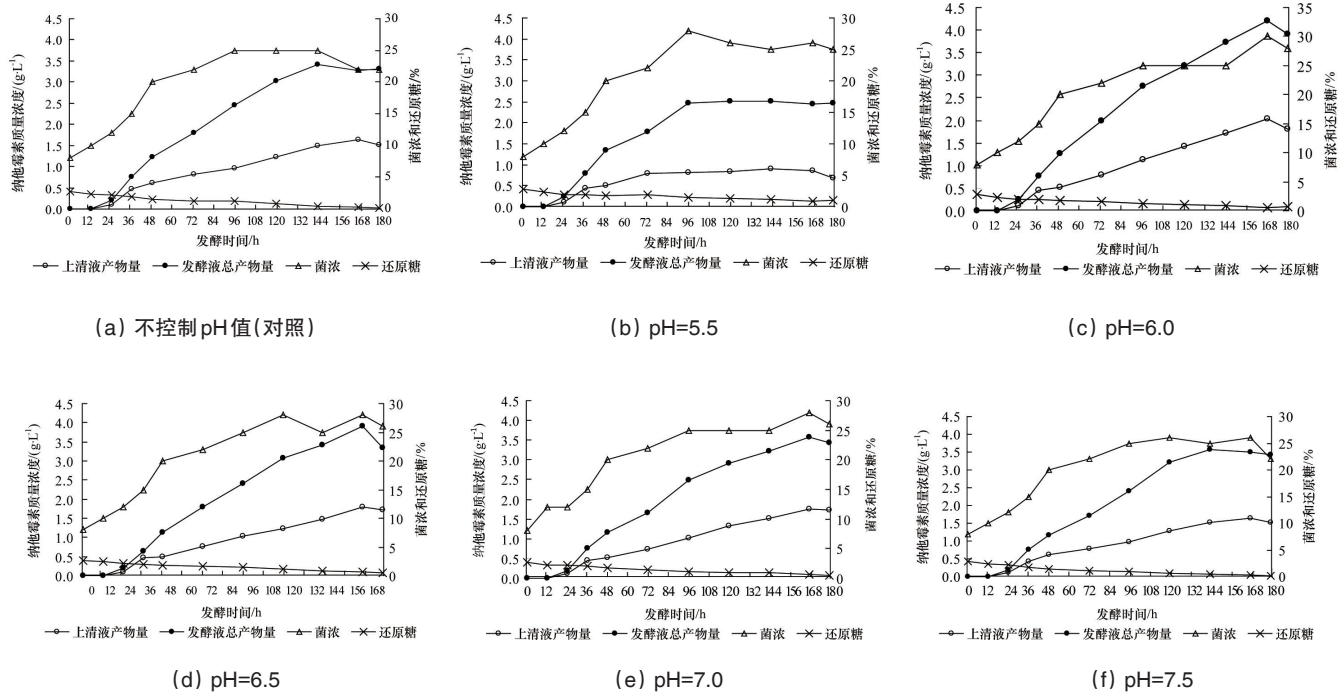


图1 控制不同pH值的主要发酵参数动态变化

Fig. 1 Dynamic changes of the main fermentation parameters for A02 at different pH values

表2 控制不同pH值发酵纳他霉素最高产量比较

Fig. 2 Yield comparison of natamycin from fermentations under different pH values

pH值	纳他霉素最高产量/(g·L ⁻¹)		出现 时间/h	增产率/%	
	发酵上清液	总发酵液		发酵上清液	总发酵液
5.5	0.91 ^d	2.51 ^e	144	-44.17	-26.39
6.0	2.04 ^a	4.20 ^a	168	25.15	23.17
6.5	1.80 ^b	3.91 ^b	168	10.43	14.66
7.0	1.75 ^{bc}	3.58 ^c	168	7.36	4.99
7.5	1.65 ^{bc}	3.57 ^c	144~168	1.23	4.69
CK	1.63 ^c	3.41 ^d	144~168		

由图1和表2可见,纳他霉素产量高峰出现在发酵144~168 h。不控制pH值的对照处理发酵初期pH值由初始的7.0左右开始下降,至12 h时达最低点5.96,然后开始逐渐反弹,168 h时pH值达7.65,此时上清液中纳他霉素质量浓度达最高点,为1.63 g/L(图1(a))。控制pH值为5.5时(图1(b)),产量大幅低于不控制pH值的对照;其他几种条件下产量均有一定程度的提高,其中控制pH值6.0左右时(图1(c))产量明显高于其他处理,168 h时发酵上清液和发酵液中纳他霉素质量浓度均达最高值,分别为2.04和4.20 g/L,较对照分别提高25.15%和23.17%,此时还原糖含量较低,为0.57%;pH值控制在6.5时(图1(d)),纳他霉素产量较pH值6.0时有所下降,但仍高于其他处理。因摇瓶内发酵液体积较小,其pH值的变化对补料过于敏感,发酵过程中pH值较难准确控制在同一水平,据此分析纳他霉素发酵的最适pH值应在6.0~6.5

之间,可作为后续进一步优化实验的取值范围。

2.2 发酵罐发酵参数分析

2.2.1 不控制pH值的对照发酵参数动态变化

如图2所示,pH值在接种后10 h降至最低点5.91,然后随还原糖的消耗开始反弹,至24 h达阶段性高点7.38,此时还原糖质量分数达相对低点1.03%;随后淀粉开始被水解利用,还原糖含量增加,pH值逐渐下降,至56 h达最低点6.23,此时还原糖质量分数为1.6%,菌体浓度为18%;此后菌体浓度维持在18%~20%的水平,还原糖逐渐消耗,pH值小幅反弹,至96 h纳他霉素质量浓度达最高点,发酵上清液中为1.57 g/L,发酵液中总质量浓度为4.11 g/L,此时还原糖质量分数为0.36%,pH值为6.52;此后pH值大幅反弹,至112 h达7.58,发酵上清液和发酵液中纳他霉素质量浓度也分别下降至1.37和3.87 g/L。

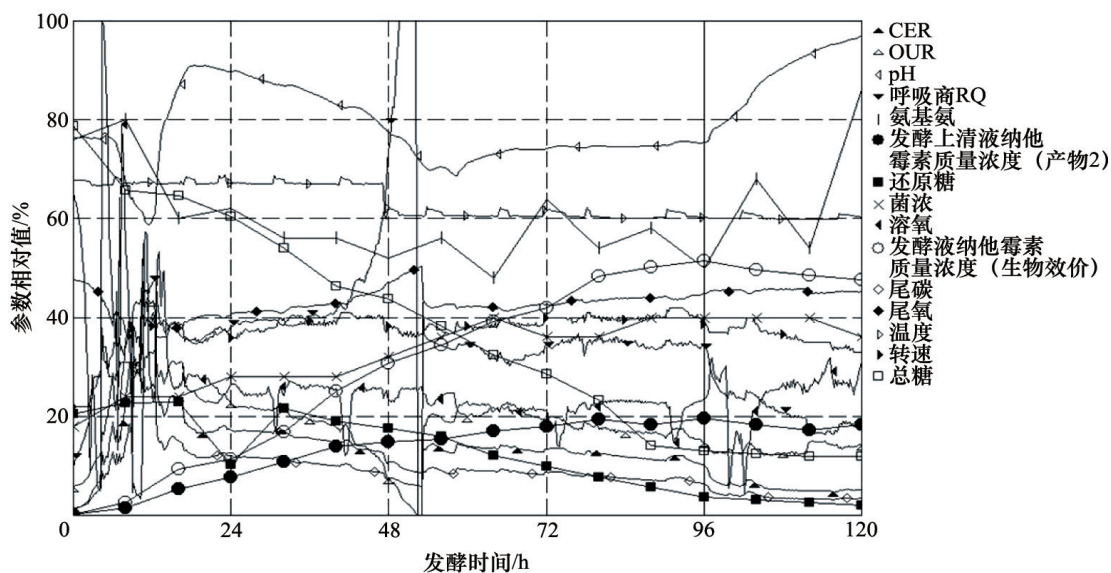


图2 不控制pH值时30 L发酵罐A02纳他霉素补料分批发酵参数曲线

Fig. 2 Dynamic curves of main fermentation parameters for 30 L fed batch fermentation of strain A02 to produce natamycin with natural change in pH values

2.2.2 控制pH值6.0的发酵参数动态变化

接种12 h后通过补料将pH值控制在6.0左右,菌体离心压缩体积24 h时达相对高值20%,进入稳定期,发酵液中纳他霉素产量也逐渐增加;60 h后菌体出现二次生长,72~132 h时菌体浓度达24%~28%,此期间纳他霉素总质量浓度在108 h

时达最高值6.16 g/L,此后随着菌体浓度下降而开始回落;还原糖质量分数在36~72 h间维持在2.29%~2.03%范围内,至108 h时仍在1.54%的较高水平上,说明发酵过程中还原糖供给过量(图3)。

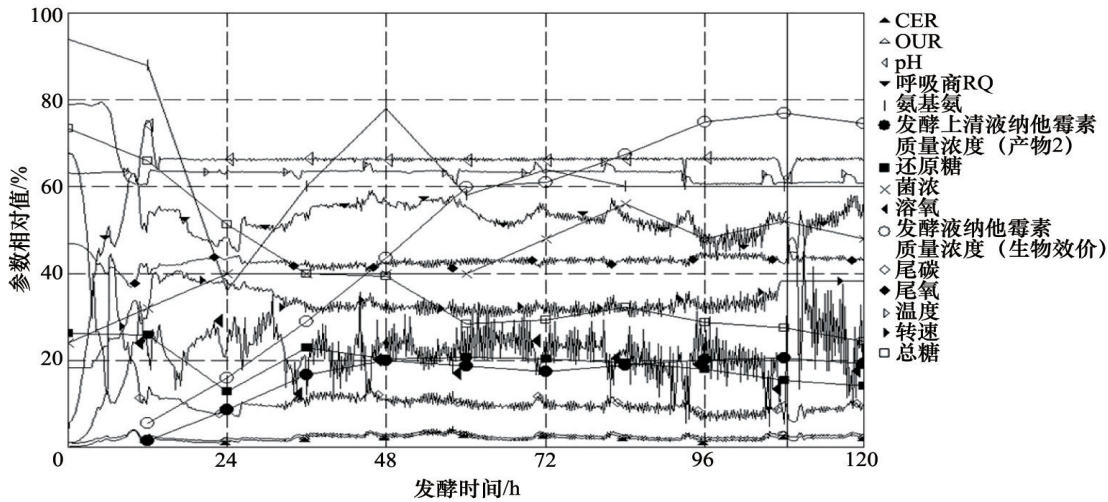


图3 控制pH值为6.0时30 L发酵罐A02纳他霉素补料分批发酵参数曲线

Fig. 3 Dynamic curves of main fermentation parameters for 30 L fed batch fermentation of strain A02 to produce natamycin under pH 6.0

2.2.3 控制pH值6.3的发酵参数动态变化

控制pH值在6.3左右的发酵过程参数变化曲线如图4。pH值在前期的变化趋势与不控制pH值的对照类似,至16 h达最高点7.35,通过补料降低pH值,使24 h后pH值始终控制在6.25~6.29范围内,氨基氮质量浓度在0.20~0.23 g/L,还原糖质量分数控制在1.5%左右,至88 h后使还原糖浓度逐渐回落;pH值反弹过程中OUR和CER迅速上升,18 h时分别达最高点39.75和34.24 mmol/(L·h),然后略有回落,分别稳定

在25~15 mmol/(L·h)和20~12 mmol/(L·h)之间;相应地溶氧也在pH值反弹时急骤下降至18.4%的最低点,通过调整搅拌转速使溶氧稳定在20%~30%之间;菌体浓度40 h后稳定在18%~20%,至80 h后菌体出现二次生长,96~120 h时菌体浓度维持在26%~28%,108 h左右停止补料,纳他霉素质量浓度在112 h时达最高值,发酵上清液中为2.02 g/L,发酵液中总质量浓度为6.98 g/L,此时pH值反弹至6.63,还原糖质量分数为0.32%,可视为最佳的发酵终点。

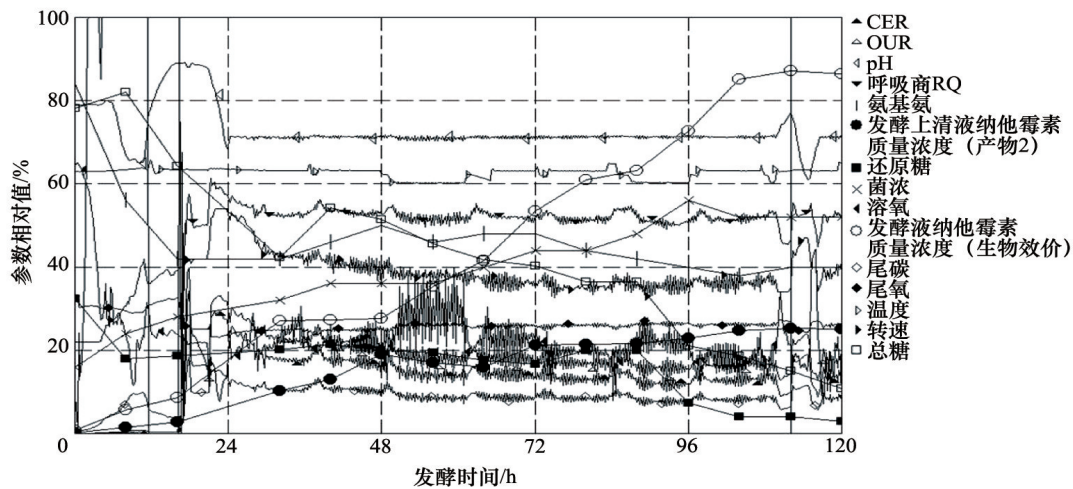


图4 控制pH值为6.3时30 L发酵罐A02纳他霉素补料分批发酵参数曲线

Fig. 4 Dynamic curves of main fermentation parameters for 30 L fed batch fermentation of strain A02 to produce natamycin under pH 6.3

此发酵过程各主要参数曲线均在较理想的控制范围内,发酵上清液和发酵液中纳他霉素产量较不控制pH值的对照分别提高28.66%和69.83%,可作为优化组合进行后续的一步优化和放大实验。

3 讨论

关于纳他霉素的发酵工艺,对纳塔尔链霉菌和褐黄孢链霉菌研究较多^[15],且以摇瓶发酵条件的优化为主^[16,17];魏宝东等^[18]对纳塔尔链霉菌SY-4795的7 L发酵罐发酵条件进行了优化,获得最适pH值为5.2~5.4,郝晓兵等^[19]报道了典型生产菌株褐黄孢链霉菌ATCC 13326的10 L发酵罐发酵工艺,采用了前体添加策略,上述研究均大幅提高了产量。利迪链霉菌是本研究组近年发现的纳他霉素新产生菌,对其发酵工艺尚无前人研究报道。本研究根据微生物发酵的原理和方法,以主要发酵参数的调控为目标,选择对菌株生长和产物合成等代谢活动具有重大影响和指示作用的pH值为控制点,通过pH值实时监控自动补料摇床的辅助性优化,分析了不同pH值水平和培养温度对利迪链霉菌A02发酵纳他霉素的影响,筛选出了适宜的pH值和温度范围;进而利用30 L新概念全自动高级发酵罐进行补料分批发酵实验,监测分析发酵过程主要参数的动态变化及其与纳他霉素产量的相关性,优化了发酵工艺,纳他霉素总产量较不控制pH值的对照提高了69.83%。由于微生物发酵是复杂的生化过程,涉及诸多因素,本研究仅仅是对利迪链霉菌野生型菌株A02发酵纳他霉素过程的主要物理和化学参数的初步优化,对这些参数之外的因素,如菌种的生产性能、培养基原料的质量、生物合成代谢和过程控制、前体添加等对其发酵的影响尚需进一步研究,因此,该菌的发酵水平还有巨大的上升空间。

根据实验结果,可确定适于利迪链霉菌纳他霉素发酵的多参数优化组合为:培养温度28~30℃,接种后17~20 h补料控制pH值;24 h后保持pH值稳定在6.2~6.3,搅拌转速340~400 r/min,配合适宜通气量控制溶氧为20%~30%,OUR和CER分别为25~15 mmol/(L·h)和20~12 mmol/(L·h),氨基氮质量浓度0.20~0.25 g/L,还原糖保持1.5%左右至88 h后逐渐下降,至112 h达0.3%左右;菌体浓度自40 h后稳定在18%~28%;发酵周期104~120 h,发酵水平可达6~7 g/L。此发酵过程的最适pH值与文献^[18]报道的纳塔尔链霉菌SY-4795的最适pH值相差较大,说明不同的菌种合成同一产物过程中可能有自己独特的代谢特性。

4 结论

通过对利迪链霉菌A02产纳他霉素发酵过程主要参数的优化组合,建立了以pH值6.3为主要调控目标的30 L发酵罐补料分批发酵工艺,发酵液中纳他霉素总质量浓度达6.98 g/L,较不控制pH值的对照提高69.83%,为其后续的发酵过程规模化放大提供了可靠的依据。

参考文献(References)

- [1] 隋勤,刘伟成,裘季燕,等.利迪链霉菌A02的抑菌谱及其抑菌活性的稳定性[J].植物保护,2007,33(5):67-71.
Sui Qin, Liu Weicheng, Qiu Jiyan, et al. Determination on the antimicrobial spectrum and the stability of the antagonistic activity of *Streptomyces lydicus* A02[J]. Plant Protection, 2007, 33(5): 67-71.
- [2] 刘霆,陶万强,王合,等.拮抗菌A02代谢产物对几种果树病害的活性[J].北方园艺,2011(17):13-16.
Liu Ting, Tao Wanqiang, Wang He, et al. The antifungal activity of the metabolite of biocontrol strain A02 against some fruit tree diseases[J]. Northern Horticulture, 2011(17): 13-16.
- [3] 隋勤,刘伟成,卢彩鸽,等.利迪链霉菌A02抗真菌活性产物的分离和结构鉴定[J].生物工程学报,2009,25(6):840-846.
Sui Qin, Liu Weicheng, Lu Caige, et al. Extraction and structural identification of the antifungal metabolite of *Streptomyces lydicus* A02 [J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2009, 25(6): 840-846.
- [4] Gill J A, Martin J F. Biotechnology of antibiotics[M]. 2nd ed. New York: Marcel Dekker, 1997: 551-576.
- [5] 卢彩鸽,刘伟成,杨剑芳,等.利迪链霉菌A01活性产物对甘蓝枯萎病菌麦角甾醇含量的影响[J].植物病理学报,2011,41(S1):43-49.
Lu Caige, Liu Weicheng, Yang Jianfang, et al. Effect of bioactive metabolite of *Streptomyces lydicus* A01 on the content of ergosterol of *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans*[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2011, 41(S1): 43-49.
- [6] Oostendorp J G. Natamycin[J]. Antonie van Leeuwenhoek, 1981, 47(2): 170-171.
- [7] 魏宝东,孟宪军.天然生物性食品防腐剂纳他霉素的特性及其应用[J].辽宁农业科学,2004(2):24-26.
Wei Baodong, Meng Xianjun. The characteristics and applications of natamycin—the natural food preservative[J]. Liaoning Agricultural Sciences, 2004(2): 24-26.
- [8] 孙远功,乎玉侠,冯晰.纳他霉素在柑桔防腐保鲜中的应用[J].食品研究与开发,2006,27(7):190-192.
Sun Yuangong, Hu Yuxia, Feng Xi. The application of natamycin in the antiseptic and freshness of orange[J]. Food Research and Development, 2006, 27(7): 190-192.
- [9] 张鹏,姜兴印,房锋,等.纳他霉素对灰葡萄孢不同生育阶段菌体的毒力及其生物学性状的影响[J].农药学报,2008,10(2):205-210.
Zhang Peng, Jiang Xingyin, Fang Feng, et al. Toxicity of natamycin to *Botrytis cinerea* at different growth stages and its effect on biological characteristics[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2008, 10(2): 205-210.
- [10] 花玉鹏,文才艺,刘伟成,等.响应曲面法优化利迪链霉菌A02发酵培养基[J].中国生物防治学报,2011,27(4):520-527.
Hua Yupeng, Wen Caiyi, Liu Weicheng, et al. Optimization of medium components for production of natamycin by *Streptomyces lydicus* A02 with response surface methodology[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2011, 27(4): 520-527.
- [11] 张龙翔,张婷芳,李令媛.生化实验方法和技术[M].第2版.北京:高等教育出版社,1997:1-3.
Zhang Longxiang, Zhang Tingfang, Li Lingyuan. Methods and techniques of biochemistry experiments[M]. 2nd ed. Beijing: Higher Education Press, 1997: 1-3.

- [12] 李巧枝, 程绎南. 生物化学实验技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2011: 83-85.
Li Qiaozhi, Cheng Yinan. Biochemistry experiment techniques[M]. Beijing: China Light Industry Press, 2011: 83-85.
- [13] 熊智强. 还原型谷胱甘肽高产菌的胁迫生理特性与高密度发酵过程优化技术[D]. 上海: 华东理工大学, 2010: 27.
Xiong Zhiqiang. Cell physiology and process optimization in high-cell-density cultivation of GSH high-yield strain[D]. Shanghai: East China University of Science and Technology, 2010: 27.
- [14] 魏宝东, 郑凤娥, 孟宪军, 等. 发酵液中纳他霉素含量快速检测方法研究[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(2): 132-136.
Wei Baodong, Zheng Fenge, Meng Xianjun, et al. The research of rapid determination methods of natamycin in fermentation solution[J]. Food Research and Development, 2007, 28(2): 132-136.
- [15] 胡海洋, 乔春明, 葛菁萍, 等. 纳他霉素的特性和生产研究状况[J]. 中国现代药物应用, 2009, 3(2): 200-201.
Hu Haiyang, Qiao Chunming, Ge Jingping, et al. The characteristic and production research condition of a new polyene macrolide antimycotics-Natamycin[J]. Chinese Journal of Modern Drug Application, 2009, 3(2): 200-201.
- [16] 李卫宁, 李宁, 魏昭, 等. 褐黄孢链霉菌 WZ-18 产纳他霉素发酵条件的优化[J]. 食品科技, 2010, 35(8): 18-22.
Li Weining, Li Ning, Wei Zhao, et al. Optimization of fermentation conditions of natamycin from *Streptomyces gilvosporeus* WZ-18[J]. Food Science and Technology, 2010, 35(8): 18-22.
- [17] 骆健美, 金志华, 岑沛霖. 褐黄孢链霉菌纳他霉素发酵条件优化[J]. 高校化学工程学报, 2006, 20(1): 68-73.
Luo Jianmei, Jin Zhihua, Cen Peilin. Optimizing the fermentation conditions for producing natamycin by *Streptomyces gilvosporeus*[J]. Journal of Chemical Engineering of Chinese Universities, 2006, 20(1): 68-73.
- [18] 魏宝东, 林雨舒. 纳他霉素高产菌株发酵罐发酵条件研究[J]. 食品与生物技术学报, 2010, 29(3): 448-452.
Wei Baodong, Lin Yushu. Study of natamycin high-yield strains fermenter fermentation condition[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2010, 29(3): 448-452.
- [19] 郝晓兵, 卢英华, 凌雪萍. 褐黄孢链霉菌生产纳他霉素工艺条件研究[J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 2009, 48(6): 866-870.
Hao Xiaobing, Lu Yinghua, Ling Xueping, et al. Study of cultivation conditions for natamycin production by *Streptomyces gilvosporeus*[J]. Journal of Xiamen University: Natural Science, 2009, 48(6): 866-870.

(责任编辑 王媛媛)

·学术动态·



中国科学技术协会

《科技导报》反诈骗声明

各位作者、读者:

有作者、读者利用百度搜索“科技导报”、“科技导报社”时,发现并登录了“科技导报杂志社——官方网站”(http://kxdb.qikann.com)。作者给这个网站投稿时,被要求向开户行为中国工商银行、户主为蒋权、卡号为6222 0240 0007 1766 188的账户,汇寄200元审稿费。

科技导报社郑重声明:

“科技导报杂志社——官方网站”(http://kxdb.qikann.com)不是科技导报社的网站。蒋权不是科技导报社成员。

对这一冒充诈骗行为,科技导报社已经报警。请作者注意保留相关证据,并向当地公安机关报案。

为免作者、读者上当受骗,特提醒如下:

1) 《科技导报》的正规网站是“科技导报”,网址为www.kjdb.org。

2) 投稿时,《科技导报》不向作者收取任何费用;研究论文、综述文章录用后才收取一定版面费。

3) 《科技导报》收取的版面费,通过银行转账汇款时,开户名称为“科技导报社”;通过邮局汇款时,汇款地址为“北京市海淀区学院南路86号:《科技导报》编辑部”。

4) 《科技导报》的联系方式如下:

在线投稿: http://www.kjdb.org/journalx_kjdb/authorLogOn.action?mag_Id=1;

E-mail投稿: kjdbbjb@cast.org.cn;

电话: 010-62138113(稿件查询);

地址: 北京市海淀区学院南路86号,100081。

非常感谢广大作者、读者对《科技导报》的支持和帮助!