DOI:10.13652/j.issn.1003-5788.2019.12.008

纳他霉素的大孔树脂原位吸附动力学研究

In-situ adsorption kinetics of macroporous resin on natamycin

郑迎莹[1] 王大红[1,2] 徐 鹏[1] 沈文浩[1] 张 颖[1]

ZHENG Ying-ying[1] *WANG Da-hong*[1,2] *XU Peng*[1] *SHEN Wen-hao*[1] *ZHANG Ying*[1]

(1. 河南科技大学食品与生物工程学院,河南 洛阳 471023;
2. 河南省食品微生物工程技术研究中心,河南 洛阳 471023)

(1. *College of Food and Bioengineering, Henan University of Science & Technology, Luoyang, Henan* 471023, *China*; 2. *Henan Engineering Research Center of Food Microbiology, Luoyang, Henan* 471023, *China*)

摘要:考察 9 种大孔树脂对纳他霉素的静态吸附行为和解析效果,探讨吸附过程中树脂静态吸附动力学和等温吸附过程,并研究大孔树脂在 *Streptomyces natalensis* HW-2 发酵液中对纳他霉素的原位吸附效果。结果表明,HPD300 和 HPD450 树脂对纳他霉素的吸附与解吸效果较好,吸附率分别为 83.47%,96.14%,解吸率分别为 95.22%,85.42%,吸附量分别达到 0.63,0.72 mg/g 干树脂,HPD450 适合对纳他霉素的吸附和解析。根据 HPD450 树脂的等温吸附动力学,HPD450 树脂对纳他霉素的吸附符合 Langmuir 方程,主要为单分子层吸附。在发酵 48 h 时添加 4 g/30 mL 的 HPD450 树脂进行原位吸附,使发酵过程中纳他霉素总产量提高了 66.27%。

关键词:纳他霉素;大孔树脂;原位吸附;发酵

Abstract: In this study, the static adsorption behavior and desorption effects of 9 kinds of macroporous resins on natamycin were investigated. The static adsorption kinetics and isothermal adsorption process of the resins were discussed. The in-situ adsorption effects of the macroporous resins on natamycin were also studied in *Streptomyces natalensis* HW-2 fermentation broth. The results showed that the adsorption and desorption effects of HPD300 and HPD450 resins on natamycin were better, the adsorption rates were 83.47% and 96.14%, respectively. The desorption rates were 95.22% and 85.42%, respectively, and the adsorption capacity was 0.63 and 0.72 mg/g dry resins, respectively. HPD450 was more suitable for the adsorption and analysis of natamycin. According to the Langmuir and Freundlich parameters of isothermal adsorption of HPD450 resin, the adsorption of HPD450 resin conformed to Langmuir equation and was mainly monolayer adsorption. With the Addition of 4 g/30 mL HPD450 resin in 48 hours of fermentation to the fermentation broth for in-situ adsorption, the total yield of natamycin was increased by 66.27%.

Keywords: natamycin; fermentation; macroporous resin; in-situ adsorption; desorption

食品在贮存中容易引起腐败变质,添加食品防腐剂是食品保藏的有效手段,近年来,天然防腐剂的研究与使用逐渐吸引了人们的注意力,并已成为食品保藏研究的热点[1-2]。纳他霉素是由纳塔尔链霉菌等链霉菌发酵产生的一种二十六元多烯大环内酯类物质,对几乎所有的霉菌和酵母菌都具有抗性,并能抑制真菌毒素的产生[3],具备高效、安全、稳定性高等优良性质,有着巨大的应用前景和生产价值,到目前为止已被全球大多数国家批准作为食品防腐剂使用[4]。纳他霉素的生产主要采用发酵法,由于纳他霉素的产量较低,工业化生产进展缓慢,导致价格较高,目前其主要集中应用于高附加值的产品中[5]。

纳他霉素是胞内产物,在其生物合成过程中,由于菌体细胞和胞内的酶都受到高浓度产物纳他霉素的反馈抑制作用,使得生物细胞及酶的潜力不能充分发挥,导致纳他霉素的产率和原料的转化率难以提高。目前,有关纳他霉素的研究[6-7]多集中在采用菌株选育、发酵条件和工艺优化、代谢调控等方式提高发酵产量上,而在发酵产物分离和产物抑制等方面研究较少。原位分离技术是一种将生物合成与目标代谢产物分离相耦合的技术,已受到中国研究者的重视,该技术可选择性地从发酵液中连续分离有抑制性或者有毒性的代谢产物,不仅能够减弱终产物的反馈抑制作用,同时还能提高产物的回收率,减少有机溶剂的使用,其中采用大孔吸附树脂的原位分离技术应用较为广泛[8]。大孔吸附树脂是一种不溶于酸、碱及有机溶剂的有机高分子聚合物,是一种新型分离材

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:31401672);河南省高校青年骨干教师项目(编号:2016GGJS-060)

作者简介:郑迎莹,女,河南科技大学在读硕士研究生。

通信作者:王大红(1980—),男,河南科技大学副教授,博士。E-mail:wangdahong2003@163.com

收稿日期:2019-07-08

料,已广泛应用到天然产物的提取分离、药物、环境保护等方面[9]。目前,大孔吸附树脂已被用于纳他霉素的纯化中,如魏宝东等[10]采用甲醇做溶剂,从发酵液中提取纳他霉素,然后采用 D101 大孔吸附树脂进一步纯化,回收率为 82.12%,纯度为 91.2%;但到目前为止,还未见采用大孔树脂原位吸附的方法弱化或移除发酵过程中纳他霉素的反馈来提高纳他霉素产量的报道。该技术在其他微生物源代谢产物的发酵过程中已被广泛使用,如:在普那霉素发酵过程中添加 JD-1 大孔树脂能吸附发酵液中 90%的普那霉素,使普那霉素的发酵产量从 0.29 g/L 提高到 1.03 g/L[11];在琥珀酸发酵过程中加入 40 g/L D301R 树脂,至发酵终点琥珀酸产量达到 49.46 g/L,相比普通发酵过程,底物转化率提高了 21%[12]。试验采用 *Streptomyces natalensis* HW-2 为纳他霉素生产菌株,以建立纳他霉素的发酵和分离耦合体系为目的,通过筛选对纳他霉素具有良好吸附效果的大孔吸附树脂,探讨大孔吸附树脂原位分离技术发酵纳他霉素的可行性,并对这一过程的静态吸附动力学行为进行研究,获得最佳工艺参数,为纳他霉素的生产和分离提供新的思路。

1　材料与方法

1.1　材料

纳塔尔链霉菌(*Streptomyces natalensis*)HW2:实验室保藏;

HPD100、HPD300、HPD450 和 HPD600 大孔树脂:沧州宝恩公司;

D101 大孔树脂:海光化工有限公司;

AB-8 大孔树脂:天津南大树脂科技有限公司;

XAD-16HP 大孔树脂:美国罗门哈斯公司;

NKA 和 HZ816 大孔树脂:郑州和成新材料科技有限公司;

斜面培养基:葡萄糖 10 g/L,麦芽浸粉 3 g/L,蛋白胨 5 g/L,酵母粉 3 g/L,琼脂 20 g/L,pH 7.2;

种子培养基:葡萄糖 10 g/L,胰蛋白胨 5 g/L,麦芽浸粉 5 g/L,氯化钠 10 g/L,pH 7.2;

发酵培养基:葡萄糖 30 g/L,酵母浸膏 2 g/L,牛肉膏 10 g/L,pH 7.2;

甲醇:分析纯,天津德恩化学试剂有限公司;

甲醇:色谱纯,西陇科学股份有限公司;

葡萄糖:分析纯,天津科密欧化学试剂有限公司;

分析天平:ME104E /02 型,梅特勒—托利多国际贸易(上海)有限公司;

高效液相色谱仪:Agilent 1260 型,美国安捷伦科技有限公司。

1.2　方法

1.2.1　培养方法　斜面上生长成熟的孢子制成孢子悬液,按照体积分数 2%的比例接种于种子培养基中,于 28 ℃、180 r/min 振荡培养 48 h;将培养好的种子液按体积分数 6%的比例接入发酵培养基中,28 ℃、200 r/min 振荡培养 120 h。

1.2.2　纳他霉素的提取　取发酵液与甲醇按体积比 1∶9 比例混合,28 ℃、180 r/min 振荡解吸 2 h,10 000 r/min 离心 10 min,吸取上清液,过 0.22 μm 微孔滤膜,得待测液;取出树脂,洗涤过滤,晾干,放入发酵液等体积的甲醇中,解吸(方法同上),10 000 r/min 离心 10 min,得到待测样品。

1.2.3　纳他霉素含量的测定　采用高效液相色谱法,液相条件为:YMC-Pack ODS C_{18} 柱(250 mm×4.6 mm,粒径 5 μm),流动相为甲醇—水(体积比 75∶25),进样量 10 μL,流速 0.8 mL/min,检测波长 304 nm。

1.2.4　大孔树脂预处理　参照文献[13]。

1.2.5　大孔树脂含水量测定　试验用树脂为干树脂,称取预处理过的大孔树脂 10 g,60 ℃烘至恒重,并按照文献[13]的方法计算各树脂的含水量。不同树脂的物理性质及含水量见表 1。

表 1　不同树脂的性质和含水量

Table 1　Properties and moisture content of different macroporous adsorbents

树脂类型	表面性质	比表面积/($m^2 \cdot g^{-1}$)	平均孔径/nm	含水量/%
HPD600	极性	550～600	8	63.23
HPD100	非极性	550～650	9～10	52.10
HPD300	非极性	850～1 000	5～6	52.36
D101	非极性	550～600	10～11	64.30
HPD450	非极性	800	15	50.04
NKA	非极性	570～590	50～55	54.70
XAD-16HP	非极性	800	15	52.30
AB-8	弱极性	480～520	13～14	61.20
HZ816	弱极性	850	57	49.60

1.2.6　静态吸附试验　根据文献[14]修改如下:取预处理过的干树脂各 2 g,分别加入装有 30 mL 50 mg/L 纳他霉素水溶液的三角瓶中,28 ℃、180 r/min 振荡吸附 12 h。取 0.2 mL 上清液加 1.8 mL 甲醇,0.22 μm 微孔滤膜过滤,测定纳他霉素的含量,分别根据式(1)、(2)计算树脂吸附量及吸附率。

$$Q=\frac{(C_0-C_1)V}{m}, \tag{1}$$

$$\eta=\frac{C_0-C_1}{C_0}\times 100\%, \tag{2}$$

式中:

Q——吸附量,mg/g 干树脂;

C_0——纳他霉素初始质量浓度,g/L;

C_1——吸附后溶液中纳他霉素质量浓度，g/L；

V——溶液体积，mL；

m——大孔树脂质量，g；

η——吸附率，%。

1.2.7　静态解吸试验　根据文献[15]修改如下：选用甲醇作为纳他霉素的解吸剂，将充分吸附的大孔树脂过滤，用去蒸馏水冲洗后滤干置于装有 30 mL 甲醇的 150 mL 三角瓶中，28 ℃、180 r/min 振荡 12 h，取样并测定解吸液中纳他霉素含量，根据式(3)计算解吸率。

$$\eta' = \frac{W \times V}{Q} \times 100\%, \tag{3}$$

式中：

W——解吸液中纳他霉素质量浓度，mg/L；

Q——吸附总量，mg；

V——解吸液总体积，L；

η'——解吸率，%。

1.2.8　静态吸附等温曲线的测定　根据文献[16]修改如下：配置浓度为 30，50，70，90，110，130，150 mg/L 的纳他霉素溶液各 30 mL，分别置于装有 2 g 大孔树脂的 250 mL 三角瓶中，25 ℃、120 r/min 振荡吸附 2 h。取出充分吸附的大孔树脂置于装有 30 mL 甲醇的 250 mL 三角瓶中 180 r/min、25 ℃解吸 2 h，测定纳他霉素含量，以初始浓度(mg/L)对平衡后吸附量(mg/g 干树脂)做图，可得到纳他霉素的吸附等温线。

1.2.9　大孔树脂原位发酵工艺的优化　根据以上优化得到的最佳大孔吸附树脂，固定发酵条件，选择树脂添加量和添加时间作为影响纳他霉素产量的主要因素，进行纳他霉素发酵和大孔树脂原位吸附过程耦合，根据大孔树脂中纳他霉素的质量浓度选取最佳工艺条件。

(1) 树脂添加量：按照初始发酵条件，将培养好的种子液按体积分数 6%的比例接入发酵培养基中，28 ℃、200 r/min 振荡培养 120 h，树脂添加量分别设为 0.5，1.0，2.0，3.0，4.0，5.0 g/30 mL，树脂在发酵开始时加入，进行发酵，发酵结束后，取出大孔树脂，将大孔树脂解吸 12 h，测定纳他霉素质量浓度。

(2) 树脂添加时间：按照初始发酵条件，将培养好的种子液按体积分数 6%的比例接入发酵培养基中，28 ℃、200 r/min 振荡培养 120 h，选用最佳树脂添加量，树脂添加时间分别设为 24，36，48，60，72 h 进行发酵，发酵结束后，取出大孔树脂，将大孔树脂解吸 12 h，测定纳他霉素质量浓度。

1.3　数据处理

数据分析和图表绘制均采用 Origin 2017 软件处理。

2　结果与分析

2.1　树脂的静态吸附与解吸

大孔吸附树脂主要靠其大孔网状结构和较大的比表面积对溶液中的溶质进行吸附。在模拟发酵过程，对9 种大孔吸附树脂进行模拟原位吸附分离，通过测定树脂吸附和解吸前后溶液中纳他霉素的浓度，计算各树脂的吸附量、吸附率和解吸率。如表 2 所示，9 种树脂对纳他霉素均具有吸附作用，其中 HPD600、HZ816 和 AB-8 对纳他霉素的吸附量、吸附率和解吸率较低；HPD100、HPD450 和 XAD-16HP 树脂对纳他霉素的吸附量均达到了 0.71 mg/g 干树脂以上，但 HPD100 和 XAD-16HP 树脂的解吸率相对较低；弱极性树脂 HPD300 吸附率较 HPD450 低，但解吸率最高达到了 95.22%，说明 HPD300 和 HPD450 树脂与纳他霉素的极性相似。综合考虑树脂的吸附率、解吸率和吸附量，选用 HPD300 和 HPD450 两种树脂进行下一步研究。

表 2　不同树脂对纳他霉素的吸附率、解吸率及吸附量

Table 2　Adsorption rate, desorption rate and adsorption capacity of natamycin by different resins

树脂名称	吸附量/(mg·g^{-1} Dry Resins)	吸附率/%	解吸率/%
HPD100	0.72	95.71	73.01
HPD300	0.63	83.47	95.22
HPD600	0.55	73.82	82.56
D101	0.69	91.93	86.45
HPD450	0.72	96.14	85.42
AB-8	0.54	71.85	88.09
NKA	0.69	92.32	75.59
HZ816	0.63	84.38	72.85
XAD-16HP	0.71	94.50	81.75

2.2　树脂的静态吸附动力学曲线

以吸附率为纵坐标，吸附时间为横坐标作图，得到 HPD300 和 HPD450 两种树脂的静态吸附动力学曲线。从图 1 可以看出，HPD300 和 HPD450 两种树脂在 0.5～2.0 h 时吸附率逐渐增大，2 h 后树脂对溶液中纳他霉素的吸附率变化不大，4 h 以后吸附率随时间变化基本上达到吸附平衡，HPD450 型树脂吸附率较大，达到了 96.14%，而 HPD300 树脂吸附率为 85.42%，表明这两种树脂对纳他霉素的吸附是快速平衡型。

2.3　树脂的静态解吸动力学曲线

采用甲醇对上述两种达到吸附平衡的树脂进行解吸，每 20 min 测定解吸液中纳他霉素的浓度，连续测定 160 min，以树脂的解吸率为纵坐标，解析时间为横坐标，得到 HPD300 和 HPD450 树脂的静态解吸动力学曲线。从图 2 中可以看出，HPD300 和 HPD450 树脂都在起始阶段对纳他霉素的解吸率变化幅度较大，2.0 h 后解析率变化幅度较小，HPD450树脂在 4.5 h 时达到最大87.25%，

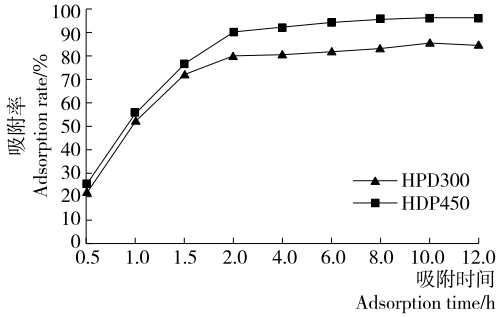

图 1　静态吸附动力学曲线

Figure 1　Static adsorption kinetics curve

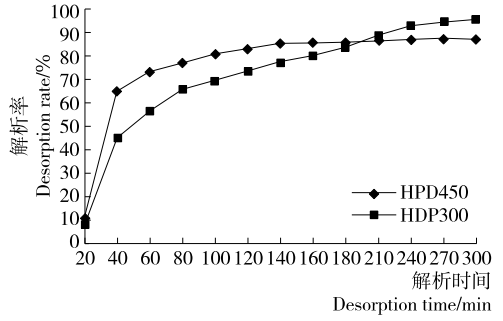

图 2　静态解吸动力学曲线

Figure 2　Dynamic curve of static desorption

而 HPD300 树脂在 5.0 h 时达到最大 95.36%，解吸液中纳他霉素的质量浓度基本不变，但是由于树脂物理性质各方面的差异，HPD300 树脂解吸率比 HPD450 树脂高出 8.11%。综合以上研究结果，HPD450 树脂的吸附率和解吸附率的整体效果比 HPD300 更佳，为最优选择树脂，进行后续研究。

2.4　树脂的静态吸附等温线

以 HPD450 树脂为研究对象，以纳他霉素的起始质量浓度对平衡后的吸附量作图，可得到纳他霉素的质量浓度＜150 mg/L 时的吸附等温线。如图 3 所示，温度为 25 ℃时，随着纳他霉素初始浓度的增加，HPD450 树脂的吸附量也随之增加。吸附过程是溶质分子在吸附剂与溶剂两相界面上进行分配的过程，在一定温度下，当吸附过程达到平衡时，溶质分子在液相和固相中的浓度关系可用吸附等温方程式来表示，常用的是 Langmuir 模型和 Freundlich 模型。Langmuir 模型是假设大孔树脂表面为单层吸附、被吸附物质均匀分布、物质在大孔树脂的表面没有分子相互作用；Freundlich 模型为非理想状态的吸附模型，该模型为单分子层吸附和非单层吸附行为，被用于化学吸附和物理吸附的过程中[17]。HPD450 树脂的静态吸附等温线的 Langmuir 和 Freundlich 拟合曲线中相关系数(R^2)的值分别为 0.996 和 0.957，两者 R^2 差别不大，但是 Freundlich 曲线的吸附强度≪1，说明 HPD450 树脂的吸附更符合 Langmuir 模型，是单分子层吸附，最大吸附量为 10.03 mg/g 干树脂。

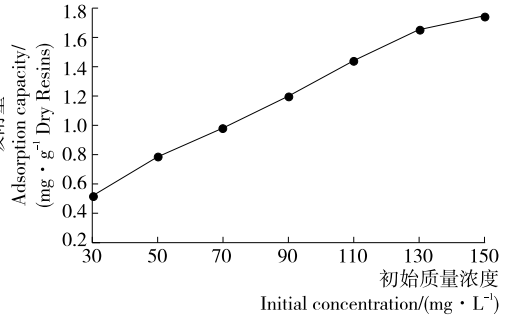

图 3　HPD450 树脂的吸附等温线

Figure 3　Adsorption isotherm of HPD450 resin

2.5　原位分离条件优化

2.5.1　树脂的添加量　比较了不同树脂添加量的发酵—分离耦合工艺，HPD450 树脂在发酵开始时加入发酵液中，结果如图 4 所示。在树脂添加量为 0.5～4.0 g/30 mL 时，纳他霉素的产量随着树脂添加量的增加而提高，当树脂的添加量为 4.0 g/30 mL 时，纳他霉素的产量最高达 1.15 g/L，比对照(0.83 g/L)提高了 38.56%，随着树脂添加量的进一步增加到 5.0 g/30 mL 时，而纳他霉素的产量却没有明显变化。从结果可以看出，在发酵—吸附分离耦合过程中，HPD450 树脂的添加可以有效提高纳他霉素的发酵水平，并且使菌体内的纳他霉素维持在较低水平，降低了纳他霉素的产物抑制作用，为底物的高效转化提供了良好的基础。王卫等[18]报道在赤霉素发酵过程中，最佳 D100 树脂的加入量为 2%，过多的树脂加入后，会影响菌丝生长，导致目标产物的产量下降。

2.5.2　树脂添加时间　在 HPD450 树脂添加量为 4 g/30 mL 的条件下，考察加入时间对纳他霉素原位吸附的影响。由图 5 可知，在发酵后 48 h 添加时，纳他霉素的发酵产量最高，达到 1.38 g/L，与初始添加的相比，纳他霉素的产量提高了 27.78%，比不添加树脂时提高了 66.27%；发酵后 60，72 h 添加时，纳他霉素的产量却在下降。分析原因，在发酵前期以菌体生长为主，大孔树脂的过早加入可能对纳塔尔链霉菌的生长有一定的影响，进而影响纳他

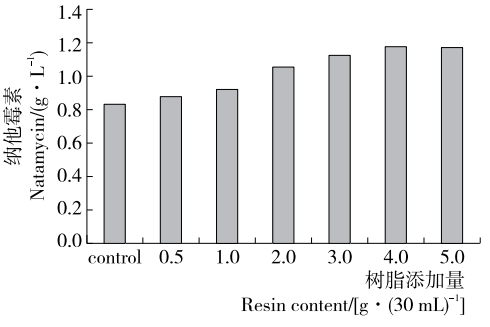

图 4　发酵液中树脂添加量对纳他霉素合成的影响

Figure 4　Effect of resin addition content in fermentation broth on synthesis of natamycin

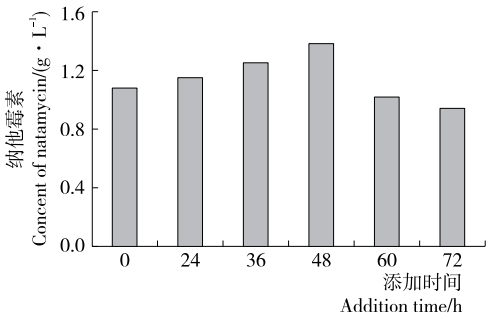

图 5　添加时间对纳他霉素合成的影响

Figure 5　Effect of different addition time on synthesis of natamycin

霉素的产生；加入过晚，产物抑制已经形成，而且发酵液中的其他成分可能被大孔树脂吸附，使其吸附容量变小，从而减少了纳他霉素产量。徐浩等[19]报道在 Nisin 发酵过程中，D113 树脂加入过早在一定程度上影响细胞生长；而加入过晚，产物抑制已经在一定程度上形成，从而导致 Nisin 产率也偏低。

3　结论

研究结果表明，HPD450 型大孔树脂为纳他霉素的最佳吸附剂，采用该大孔树脂原位吸附分离耦合纳他霉素的发酵，纳他霉素产量提高明显，优化后比不添加树脂时提高了 66.27%，该结果也证实在纳他霉素的发酵过程中存在产物反馈抑制现象；利用该大孔树脂优良的富集和解吸性能，可以大量减少在纳他霉素提取过程中甲醇的使用，简化发酵液预处理流程，从而提高纳他霉素的得率。但目前纳他霉素的发酵与树脂吸附的耦合技术仅处于摇瓶试验阶段，而且 *Streptomyces natalensis* HW-2 在发酵过程中菌丝容易缠绕形成小球，导致大孔树脂与菌丝无法有效分离，同时，HPD450 型大孔树脂还存在非特异性吸附现象，从而影响纳他霉素的发酵和树脂的使用效率，进而导致该方法在纳他霉素工业化应用困难。因此，如何减少发酵过程中菌丝球的形成和开发易于从发酵体系中回收的新型大孔树脂，提高耦合发酵中大孔树脂的利用率，将是纳他霉素生物合成与树脂分离相耦合技术的进一步研究方向。

参考文献

[1] CROWLEY S, MAHONY J, SINDEREN D. Current perspectives on antifungal lactic acid bacteria as natural bio-preservatives[J]. Trends in Food Science & Technology, 2013, 33(2): 93-109.

[2] ILKNUR C, ARZU C M. Determination of antifungal effect of edible coatings containing Williopsis saturnus var. saturnus against Yeast and Mold growth on kashar cheese[J]. J Food Sci, 2019, 84(2): 311-318.

[3] MARTÍN J F, APARICIO J F. Enzymology of the polyenes pimaricin and candicidin biosynthesis[J]. Methods Enzymol, 2009, 459: 215-242.

[4] JUNEJA V K, DWIVEDI H P, YAN Xiang-he, et al. Novel natural food antimicrobials[J]. Annu Rev Food Sci Technol, 2012, 3: 381-403.

[5] ZENG Xin, MIAO Wen-yun, ZENG Hua-wei, et al. Production of natamycin by *Streptomyces gilvosporeus* Z28 through solid-state fermentation using agro-industrial residues[J]. Bioresource Technol, 2019, 273: 377-385.

[6] APARICIO J F, BARREALES E G, PAYERO T D, et al. Biotechnological production and application of the antibiotic pimaricin: Biosynthesis and its regulation[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2016, 100: 61-78.

[7] 张艳敏. 褐黄孢链霉菌生产纳他霉素的研究[M]. 济南：齐鲁工业大学，2016：6-7.

[8] STARK D, VONSTPOCKAR U. In situ product removal (ISPR) in whole cell biotechnology during the last twenty years[J]. Advances in Biochemical Engineering, 2003, 80: 149-175.

[9] SUN Rui, FU Kusng, FU Yu-jie, et al. Preparative separation and enrichment of four taxoids from Taxus chinensis needles extracts by macroporous resin column chromatography[J]. Journal of Separation Science, 2015, 32(9): 1 284-1 293.

[10] 魏宝东，林雨舒. 发酵液分离提取条件对纳他霉素提取效果的影响[J]. 食品科技，2010，35(4)：204-207.

[11] 郑喜，金志华，梅乐和，等. 普那霉素发酵与吸附分离耦合过程动力学[J]. 化工学报，2010，61(3)：668-675.

[12] 杨冰，许颖，季君晖，等. 琥珀酸发酵过程中的产物抑制特征及树脂吸附原位分离的研究[J]. 食品与发酵工业，2011，37(4)：12-16.

[13] 王大红，原江锋. 大孔树脂对喹乐霉素的静态吸附研究[J]. 精细化工，2012，29(7)：670-672.

[14] 姜喜成，秦培勇，谭天伟. 大孔树脂对丹参酮ⅡA 的静态吸附研究[J]. 北京化工大学学报：自然科学版，2009，36(3)：79-82.

[15] 李园园，邹少华，李洪娟，等. 梨多酚在大孔树脂上的吸附性能研究[J]. 山东化工，2018，47(2)：30-32，34.

[16] 赵丽娟，李倩，李晨阳，等. 天山堇菜秦皮乙素大孔树脂分离纯化工艺优化[J]. 食品与机械，2019，35(5)：178-184.

[17] LIU Yong-feng, LIU Jun-xi, CHEN Xiao-feng, et al. Preparative separation and purification of lycopene from tomato skins extracts by macroporous adsorption resins[J]. Food Chemistry, 2010, 123(4): 1 027-1 034.

[18] 徐浩，吴兆亮，殷昊，等. 发酵吸附分离耦合生产乳酸链球菌素工艺[J]. 高分子材料科学与工程，2010，26(10)：155-158.

[19] 王卫，李忠海，黎继烈，等. 赤霉素发酵与大孔树脂吸附过程耦合工艺优化[J]. 中国生物工程杂志，2012，32(11)：70-74.