



林可霉素生产中三级种子罐的发酵工艺优化

谢婷 刘守强* 张宏周 刘俭国 谢书琴 王雪洁 刘建超

天方药业有限公司 河南 驻马店 463000

摘要:【背景】林可霉素是一种在临床应用上占有重要地位的林可酰胺类抗生素，关于调控发酵生产中三级种子罐相关参数优化林可霉素发酵工艺的研究较少。【目的】优化林可霉素发酵工艺，提高林可霉素发酵效价及市场竞争力。【方法】对林可霉素生产中三级种子罐的培养基和接种量及三级种子移种菌龄进行优化。【结果】在三级种子罐培养基中葡萄糖、淀粉、玉米浆、黄豆饼粉和硫酸铵浓度分别为 64.0、5.0、15.0、14.5 和 3.5 g/L，三级种子罐接种量为 25%及三级种子移种菌龄为 60 h 的优化条件下，林可霉素四级发酵效价高达 7 883 U/mL，比优化前效价提高了 10%。【结论】对林可霉素生产中三级种子罐相关参数进行调控，初步优化了林可霉素发酵工艺，提高了发酵效价，为优化林可霉素发酵工艺提供了新思路。

关键词: 林肯链霉菌，林可霉素，发酵工艺，优化

Optimization of fermentation process of the third-stage seed fermenter in lincomycin production

XIE Ting LIU Shou-Qiang* ZHANG Hong-Zhou LIU Jian-Guo XIE Shu-Qin
WANG Xue-Jie LIU Jian-Chao

Topfond pharmaceutical Company Limited, Zhumadian, Henan 463000, China

Abstract: [Background] Lincomycin is a lincomamide antibiotic that plays an important role in clinical application, few studies can be found on regulating the parameters of third-stage seed fermenter to optimize the lincomycin fermentation process. [Objective] The fermentation process of lincomycin was optimized in order to improve the fermentation titer and market competitiveness. [Methods] The medium and inoculation amount of the third-stage seed fermenter and the transplanting age of third-stage seeds in lincomycin production were optimized. [Results] The concentrations of glucose, starch, corn pulp, soybean meal and ammonium sulfate in the third-stage seed fermenter's medium were 64.0, 5.0, 15.0, 14.5 and 3.5 g/L, respectively. The inoculation amount of third-stage seed fermenter and the transplanting age of third-stage seeds were 25% and 60 h, respectively. Under the optimized conditions, the fourth-stage fermenter's titer of lincomycin was up to 7 883 U/mL, which was 10% higher than that of the before optimization. [Conclusion] Regulating the parameters of third-stage seed fermenter in lincomycin production, the fermentation process was preliminary optimized and the fermentation titer was improved. It provides a new idea for optimization of lincomycin fermentation process.

Keywords: *Streptomyces lincolnensis*, Lincomycin, Fermentation process, Optimization

*Corresponding author: Tel: 86-396-2822543; E-mail: liushouqiang@topfond.com

Received: 25-12-2019; Accepted: 27-02-2020; Published online: 09-04-2020

*通信作者: Tel: 0396-2822543; E-mail: liushouqiang@topfond.com

收稿日期: 2019-12-25; 接受日期: 2020-02-27; 网络首发日期: 2020-04-09

林可霉素(lincomycin)属于林可酰胺类抗生素^[1-2],能够明显抑制革兰氏阳性细菌,是一种生物活性良好、副作用较小的广谱抗生素,具有重要的临床应用价值^[3-7]。林可霉素由一分子 4-甲基-脯氨酸和一分子含硫辛糖通过肽键缩合而成,化学结构见图 1^[8-9]。

目前林可霉素国内生产水平约在 6 500–7 500 U/mL,而国外已达 10 000 U/mL 左右,差距巨大,因此,提高林可霉素产量等问题亟需解决,以增强林可霉素国际市场竞争力^[6,10-11]。由于国内林可霉素工业发酵周期较长,发酵过程控制复杂,发酵后期易出现菌丝断裂、自溶等现象,导致林可霉素处于较低的生产水平^[6]。为了防止菌体过快老化、自溶,提高发酵效价,国内外对选育优良菌株^[12-15]、优化培养基配方^[16-18]、过程工艺优化控制和代谢流程调控等^[19-22]进行了研究。研究发现,培养基的组成对林肯链霉菌的菌体生长及林可霉素的生物合成有重要影响^[17]。葡萄糖属于快速利用碳源,随着菌体的利用会分解为有机酸等产物,对发酵过程影响很大,还会出现葡萄糖效应等问题^[23]。林可霉素发酵生产中的氮源主要有玉米浆、黄豆饼粉和硫酸铵等,林可霉素对氮源的利用,一部分是直接利用其中的某些物质本身,另一部分是利用其分解之后的物质,经过降解、转化之后形成可以直接利用的前体等^[6,10,23]。

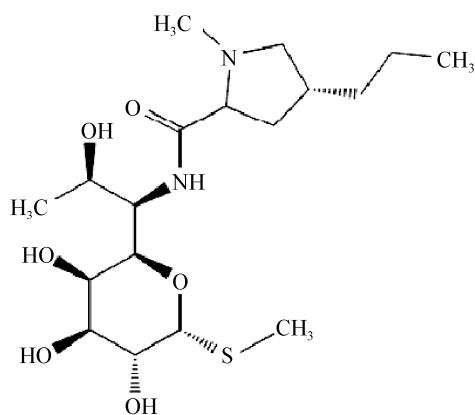


图 1 林可霉素的化学结构

Figure 1 Chemical structure of lincomycin

目前通过调控林可霉素四级发酵生产中三级种子罐相关参数优化林可霉素发酵工艺的研究较少,本文通过考察三级种子罐培养基中碳源(葡萄糖和淀粉)的浓度、主要氮源(玉米浆、黄豆饼粉和硫酸铵)的浓度、三级种子罐接种量和三级种子移种菌龄对林可霉素发酵效价的影响,调控发酵生产过程,以期能提高林可霉素的发酵效价和产量。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

1.1.1 菌种

林肯链霉菌(*Streptomyces lincolnensis*),菌株编号: Js1918-37F₃,由天方药业有限公司提供。

1.1.2 培养基

二级种子罐培养基(g/L): 淀粉 9.7, 黄豆饼粉 14.3, 葡萄糖 38.0, 玉米浆 13.3, (NH₄)₂SO₄ 4.0, NaNO₃ 6.3, KH₂PO₄ 0.3, CaCO₃ 7.5, NaCl 7.1, NaOH 1.0, NH₄NO₃ 4.0, 泡敌 0.4 mL, 有机硅消泡剂 0.6 mL, pH 为 7.0。

三级种子罐培养基(g/L): 淀粉 5.0, 黄豆饼粉 13.5, 葡萄糖 63.0, 玉米浆 15.0, (NH₄)₂SO₄ 4.5, NaNO₃ 5.0, KH₂PO₄ 0.3, CaCO₃ 8.0, NaCl 8.8, NaOH 1.0, NH₄NO₃ 4.5, 泡敌 0.4 mL, 有机硅消泡剂 0.3 mL, pH 为 7.0。

斜面培养基、液体培养基、一级种子罐培养基、四级发酵罐培养基、稀料培养基和液化糖等,参照参考文献[3]配制。

1.1.3 主要试剂和仪器

葡萄糖,河南飞天农业开发股份有限公司;玉米浆,河南鑫洋实业有限责任公司;淀粉,河南巨龙生物工程股份有限公司;黄豆饼粉,河南西洋生物技术有限公司;硫酸铵,西陇科学股份有限公司。

酸度计,北京哈纳仪器厂;中型压力灭菌器,山东新华医疗器械厂;台式低速离心机,上海安亭科学仪器厂;一级种子罐(基础体积 1.5 m³)、二级种子罐(基础体积 20 m³)、三级种子罐(基础体积 70 m³)和四级(基础体积 100 m³)发酵罐,武汉同创工程设备有限公司;显微镜,南京庚辰科学仪器有

表 1 发酵工艺要点

Table 1 Key points of fermentation process

发酵罐种类	接种量	培养温度	培养周期	移种 pH
Fermentation type	Inoculation amount (%)	Culture temperature (°C)	Culture time (h)	Transplanting pH
First-stage seed fermenter	0.10	30	40–50	7.0–7.4
Second-stage seed fermenter	10–15	30	20–50	7.0–7.4
Third-stage seed fermenter	15–30	30	45–70	7.0–7.4
Fourth-stage fermenter	30–50	30	150–180	

限公司。

1.2 方法

1.2.1 林可霉素发酵工艺流程^[3]

(1) 林可霉素的发酵工艺为四级发酵, 其工艺流程如下:

种子斜面→种子瓶→一级种子罐→二级种子罐→三级种子罐→四级发酵罐。

(2) 林可霉素发酵工艺要点:

种子摇瓶培养: 挖取斜面培养基上 1 cm² 左右的菌块, 接种于装有 100 mL 种子培养基的 1 000 mL 三角瓶中, 30 °C、220 r/min 培养 40–50 h, 接种到一级种子罐, pH 为 7.0–7.4。

一级、二级和三级种子罐及四级发酵罐的操作要点见表 1。

实际生产中, 一级种子罐培养基灭菌后体积约 1 m³, 接种后体积约 1 m³; 二级种子罐培养基灭菌后体积约 9 m³, 接种后体积约 10 m³; 三级种子罐培养基灭菌后体积约 40 m³, 接种后体积约 50 m³; 四级发酵罐培养基灭菌后体积约 20 m³, 接种后体积约 50 m³, 通常一个三级种子罐移种时种子量约为 60 m³, 均分给两个四级罐各 30 m³。

四级发酵罐补料: 30 h 后每 8 h 补一次, 每次 1–3 m³; 补糖: 接种后至放罐, 整个发酵体系中还原糖控制在 0.2%–1.8%, pH 值控制在 6.4–7.0。

1.2.2 培养方法

(1) 三级种子罐培养基中碳源的优化

三级种子罐培养基中的葡萄糖和淀粉是林可霉素发酵的主要碳源, 对二者进行组合优化, 以得到培养基中较优的碳源浓度。通过比较葡萄糖

浓度分别为 62.0、63.0、64.0 和 65.0 g/L 及淀粉浓度分别为 4.0、5.0、6.0 和 7.0 g/L 得到不同葡萄糖和淀粉浓度组合形成的三级种子罐培养基对四级发酵效价的影响, 其中以原三级种子罐培养基为对照, 确定三级种子罐培养基中碳源的最佳浓度。

(2) 三级种子罐培养基中氮源的优化

利用正交试验优化三级种子罐培养基中主要氮源(玉米浆、黄豆饼粉和硫酸铵), 采用 3 因素 3 水平(表 2)正交试验表 L₉(3³)设计实验组。通过比较三级种子罐培养基中氮源不同浓度组合对四级发酵效价的影响, 以原三级种子罐培养基为对照, 确定三级种子罐培养基中氮源的最佳浓度。

(3) 三级种子罐接种量的确定

根据林可霉素发酵工艺要求及其二级种子罐的实际可能供种量, 采用管道压差法对三级种子罐接种, 考察 15% (培养基灭菌后体积约 42.5 m³, 接种后体积约 50 m³)、20% (培养基灭菌后体积约 40 m³, 接种后体积约 50 m³)、25% (培养基灭菌后体积约 37.5 m³, 接种后体积约 50 m³) 和 30% (培养基灭菌后体积约 35 m³, 接种后体积约 50 m³) 接种

表 2 影响因素及水平取值

Table 2 Influencing factors and level value

水平	因素		
Level	Factor		
	A 玉米浆	B 黄豆饼粉	C 硫酸铵
	Corn pulp (g/L)	Soybean meal (g/L)	Ammonium sulfate (g/L)
1	14.0	12.5	3.5
2	15.0	13.5	4.5
3	16.0	14.5	5.5

量对三级种子罐菌浓及四级发酵效价的影响,以生产常用接种量 20%为对照,确定三级种子罐的接种量。

(4) 三级种子移种菌龄的确定

种子质量的好坏在很大程度上会决定发酵效价的高低,考察三级种子移种菌龄分别为 40、50、60 和 70 h 时对四级发酵效价的影响,以生产常用移种菌龄 50 h 为对照,其中,培养基灭菌后体积约 37.5 m³,接种后体积约 50 m³。确定三级种子的最佳移种菌龄。

1.2.3 测定方法

(1) 菌体浓度的测定^[3]

取 10 mL 发酵液倒入 10 mL 离心试管中,2 500 r/min 离心 5 min,取上清液的体积,记作 A,计算菌体的湿菌浓度(简称菌浓),本研究用菌浓表示菌体的生长量,菌浓计算公式如下:

菌浓=(10-A)/10×100%。

(2) 发酵液效价的测定

发酵液效价的测定采用管碟法^[23]。用微生物法测定林可霉素的生物活性单位,用 U 表示,林可霉素中所含的抗菌活性部分的质量与生物活性单位的关系为 1 μg 相当于 1 U,即林可霉素发酵单位的测定,μg/mL 为 U/mL,本研究中林可霉素的效价单位采用 U/mL。

2 结果与讨论

2.1 三级种子罐培养基中碳源的优化

考察了三级种子罐培养基中碳源(葡萄糖和淀粉)对四级发酵效价的影响,以效价作为评价指标,结果如表 3 和表 4 所示。

从表 3 可以看出:三级种子罐培养基中同一葡

萄糖浓度条件下,四级发酵效价随着淀粉浓度的增大先提高后下降,但是变化幅度很小;而同一淀粉浓度条件下,四级发酵效价均随着葡萄糖浓度的增大先明显提高而后下降。最优组合方案是:葡萄糖和淀粉的浓度分别为 64.0 g/L 和 5.0 g/L,此条件下,四级发酵效价最高为 7 378 U/mL,比对照组的效价(7 156 U/mL)提高了 222 U/mL。

如表 4 所示,运用 Excel 双因素方差分析,当 $\alpha=0.05$ 时,葡萄糖对四级发酵效价的影响极为显著。葡萄糖作为速效碳源,为三级种子罐中的菌体生长提供了足够的碳源,为四级发酵罐提供了足够的种子力,但是葡萄糖浓度过高反而不利于发酵效价的提高,可能是产生了葡萄糖效应所致;淀粉作为迟效碳源,为菌体生长提供了一定碳源,但当培养体系中葡萄糖的可获得性不足时,淀粉并不能为菌体生长提供足够的碳源,因而其对四级发酵效价的影响并不明显。

2.2 三级种子罐培养基中主要氮源的优化

采用正交试验考察了三级种子罐培养基中主要氮源(玉米浆、黄豆饼粉和硫酸铵)对四级发酵效价的影响,以效价作为评价指标,结果如表 5 所示。

表 3 不同浓度葡萄糖和淀粉对效价的影响

Table 3 Influence of different concentrations of glucose and starch on titer (U/mL)

葡萄糖 Glucose (g/L)	淀粉 Starch (g/L)			
	4.0	5.0	6.0	7.0
62.0	7 007	7 037	7 100	7 090
63.0	7 098	7 156	7 183	7 134
64.0	7 198	7 378	7 207	7 195
65.0	7 067	7 300	7 197	7 117

表 4 双因素方差分析($\alpha=0.05$)

Table 4 Two factor analysis of variance ($\alpha=0.05$)

方差来源	离均差平方和	自由度	均方	F 值	P 值	F 临界值
Source of variance	SS	DF	MS	F value	P value	F crit-value
Glucose	70 804.50	3	23 601.50	7.00	0.01	3.86
Starch	34 245.50	3	11 415.17	3.39	0.07	3.86
Error	30 346	9	3 371.78			
Sum total	135 396	15				

表 5 正交试验优化氮源的结果与分析

Table 5 Results and analysis of orthogonal experiments for nitrogen sources optimization

实验编号 Experiment No.	A 玉米浆 Corn pulp (g/L)	B 黄豆饼粉 Soybean meal (g/L)	C 硫酸铵 Ammonium sulfate (g/L)	效价 Titer (U/mL)
1	14.0	12.5	3.5	7 277
2	14.0	13.5	4.5	7 304
3	14.0	14.5	5.5	7 186
4	15.0	12.5	4.5	7 339
5	15.0	13.5	5.5	7 417
6	15.0	14.5	3.5	7 511
7	16.0	12.5	5.5	7 325
8	16.0	13.5	3.5	7 363
9	16.0	14.5	4.5	7 421
K ₁	21 767	21 941	22 209	
K ₂	22 267	22 084	22 064	
K ₃	22 109	22 118	21 928	
K ₁ '	7 256	7 314	7 403	
K ₂ '	7 422	7 361	7 355	
K ₃ '	7 370	7 373	7 309	
R	167	59	94	

由表 5 可知, 采用极差分析法发现, 三级种子罐培养基主要氮源对四级发酵效价的影响为玉米浆>硫酸铵>黄豆饼粉, 最佳组合方案为 A₂B₃C₁, 即实验 6, 此组合中玉米浆、黄豆饼粉和硫酸铵浓度分别为 15.0、14.5 和 3.5 g/L, 在此条件下四级发酵效价为 7 511 U/mL, 比对照的效价(7 370 U/mL)提高了 141 U/mL。3 种氮源中玉米浆对四级发酵效价的影响最显著, 表明玉米浆是一种很容易被林肯

链霉菌利用的氮源^[24]; 铵离子能够调节林肯链霉菌的生长和林肯霉素的合成, 合适浓度的铵离子更有助于林肯霉素发酵的进行; 黄豆饼粉为较难分解消化的迟效氮源, 调整其在三级种子罐培养基中的浓度对四级发酵效价的影响不显著。

2.3 三级种子罐接种量的确定

考察了三级种子罐接种量对三级种子罐菌浓及对四级发酵效价的影响, 结果如图 2 所示。

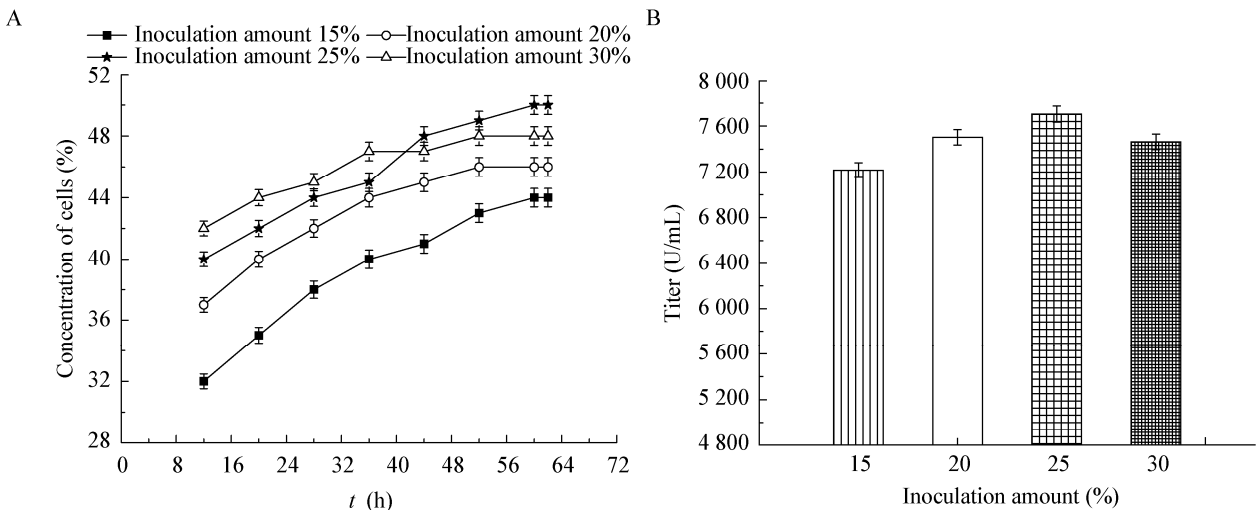


图 2 接种量对林可霉素发酵的影响

Figure 2 Influence of inoculation amount on lincomycin fermentation

注: A: 接种量对三级种子罐菌浓的影响; B: 接种量对四级发酵效价的影响。

Note: A: Influence of inoculation amount on concentration of cells of third-stage seed fermenter; B: Influence of inoculation amount on titer of fourth-stage fermenter.

由图 2A 可知, 三级种子罐菌浓的整体趋势均是随着发酵周期的延长而增加, 且随着接种量的增加而增加(接种量 30% 后期除外), 在 52 h 左右达到平稳, 其中接种量为 25% 时的菌浓最高达 50%, 比对照(接种量 20%) 高了 9%, 而接种量为 15% 和 30% 时的菌浓分别比对照降低和提高了 5% 和 4%; 由图 2B 可知, 四级发酵效价随着三级种子罐接种量的增加先提高后下降, 接种量为 25% 时的效价最高达 7 705 U/mL, 比对照(7 503 U/mL) 提高了 202 U/mL, 而接种量为 15% 和 30% 时的效价均低于对照。可见, 接种量增加会加快菌体生长, 但是接种量过大也可能导致菌丝过早成熟、断裂、菌浓下降, 进而影响四级发酵效价。三级种子罐合适的接种量, 不仅可以提高三级种子发酵液的菌浓, 为四级发酵提供足够的种子力, 还可以提高种子质量、缩短菌种适应期、提高四级发酵效价, 因此, 三级种子罐接种量为 25% 时最佳。

2.4 三级种子移种菌龄的确定

考察三级种子移种菌龄对四级发酵效价的影响, 结果如图 3 所示。

由图 3 可知, 四级发酵效价随着三级种子移种菌龄的增加先提高后下降, 移种菌龄为 60 h 时的效价最高达 7 883 U/mL, 比对照(50 h 时) 效价 7 700 U/mL) 提高了 183 U/mL, 而移种菌龄为 40 h 和 70 h 时的

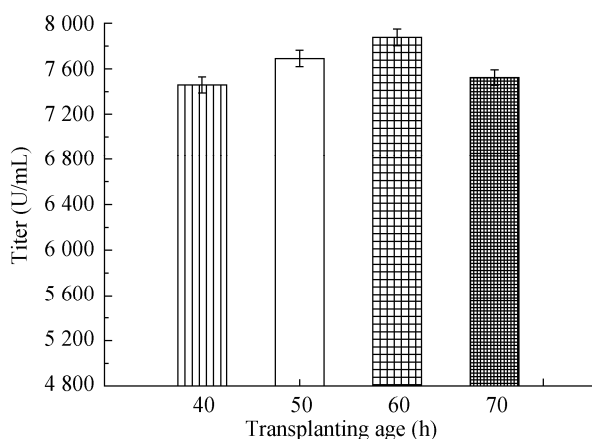


图 3 移种菌龄对林可霉素发酵效价的影响

Figure 3 Influence of transplanting ages on fermentation titer of lincomycin

效价均低于对照。可见, 随着移种菌龄的增加菌丝质量会越好(粗壮、伸展), 但是菌龄过大时部分菌丝断裂也会影响种子质量。合适的三级种子移种菌龄不仅可以为四级发酵提供高质量的种子, 还可以缩短菌种适应期, 进而提高四级发酵效价, 因此, 三级种子移种菌龄为 60 h 时最佳。

3 结论

在林可霉素发酵工艺的基础上, 通过对生产中三级种子罐相关参数进行调控, 得到了优化的发酵工艺, 即三级种子罐培养基中的碳源-葡萄糖和淀粉分别为 64.0 g/L 和 5.0 g/L, 主要的氮源-玉米浆、黄豆饼粉和硫酸铵浓度分别为 15.0、14.5 和 3.5 g/L, 三级种子罐接种量为 25% 及三级种子移种菌龄为 60 h, 在此优化条件下, 林可霉素四级发酵效价高达 7 883 U/mL, 比优化前发酵效价提高了 10%。

研究结果表明培养基配方及种子质量对林可霉素发酵效价有显著影响, 通过对相关参数的调控可以优化林可霉素发酵工艺, 进而提高发酵效价, 为工厂带来一定的经济效益。本研究为调控林可霉素发酵生产过程其他各级罐相关参数奠定了实验基础, 为林可霉素发酵工艺优化提供了新思路。

REFERENCES

- [1] Lee Y, Lee MJ, Choi YE, et al. Optimization of cultivation medium and fermentation parameters for lincomycin production by *Streptomyces lincolnensis*[J]. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 2014, 19(6): 1014-1021
- [2] Mason DJ, Dietz A, DeBoer C. Lincomycin, a new antibiotic. I. Discovery and biological properties[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1962, 115: 554-559
- [3] Xie T, Wu P, Han DQ, et al. Optimization of fermentation process of lincomycin industrial production[J]. China Brewing, 2017, 36(9): 60-63 (in Chinese)
谢婷, 武培, 韩德全, 等. 林可霉素工业生产发酵工艺优化[J]. 中国酿造, 2017, 36(9): 60-63
- [4] Koběřská M, Kopecký J, Olšovská J, et al. Sequence analysis and heterologous expression of the lincomycin biosynthetic cluster of the type strain *Streptomyces lincolnensis* ATCC 25466[J]. Folia Microbiologica, 2008, 53(5): 394-401
- [5] Li X, Zhang J, Tan YL, et al. Effects of flow field on the metabolic characteristics of *Streptomyces lincolnensis* in the industrial fermentation of lincomycin[J]. Journal of

- Bioscience and Bioengineering, 2013, 115(1): 27-31
- [6] Zhuang ZH. Optimization of lincomycin fermentation process and metabolic analysis by *Streptomyces lincolnensis*[D]. Shanghai: Master's Thesis of East China University of Science and Technology, 2018 (in Chinese)
庄智慧. 林可霉素发酵工艺优化及代谢分析[D]. 上海: 华东理工大学硕士学位论文, 2018
- [7] Zhang R, Liu H, Liu JG, et al. In mid and late fermentation metabolic regulation by lincomycin[J]. Guangdong Chemical Industry, 2016, 43(5): 67-68 (in Chinese)
张锐, 刘虹, 刘俭国, 等. 林可霉素发酵中后期代谢的调控[J]. 广东化工, 2016, 43(5): 67-68
- [8] Kagan F, Grostic MF. Mass spectra of lincomycin, lincomycin analogs and degradation products[J]. Journal of Mass Spectrometry, 1972, 6(11): 1217-1223
- [9] Čermák L, Novotná J, Ságová-marečková M, et al. Hybridization analysis and mapping of the celesticetin gene cluster revealed genes shared with lincomycin biosynthesis[J]. Folia Microbiologica, 2007, 52(5): 457-462
- [10] Hu BQ. Research on lincomycin fermentation process and membrane separation technology[D]. Nanchang: Master's Thesis of Jiangxi Normal University, 2015 (in Chinese)
胡彪群. 林可霉素发酵工艺及膜分离技术的研究[D]. 南昌: 江西师范大学硕士学位论文, 2015
- [11] Lin HM, Li JA, Mao QG, et al. Effects of a complex protein powder on lincomycin fermentation[J]. Chinese Journal of Pharmaceuticals, 2012, 43(7): 549-552 (in Chinese)
林惠敏, 李继安, 毛全贵, 等. 一种复合蛋白粉对林可霉素发酵的影响[J]. 中国医药工业杂志, 2012, 43(7): 549-552
- [12] Li JR. Breeding of high lincomycin-producing strain[J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2013, 38(11): 815-818,830 (in Chinese)
李静仁. 林可霉素高产菌株的选育[J]. 中国抗生素杂志, 2013, 38(11): 815-818,830
- [13] Qiao XT. The screening of lincomycin producing strain with high yield and the regulating of metabolic pathway[D]. Shanghai: Master's Thesis of East China University of Science and Technology, 2012 (in Chinese)
乔现婷. 林可霉素高产菌株的选育及代谢过程的调控[D]. 上海: 华东理工大学硕士学位论文, 2012
- [14] Meng N, Wu DZ, Li WZ, et al. Rational screening high-producing lincomycin strain[J]. Bulletin of Fermentation Science and Technology, 2013, 42(4): 9-12 (in Chinese)
孟娜, 吴丁柱, 李婉珍, 等. 林可霉素高产菌株的定向选育[J]. 发酵科技通讯, 2013, 42(4): 9-12
- [15] Xue ZL, Zhang XM, Wang Z, et al. He-Ne laser and UV compound mutation breeding high-yielding strains of lincomycin[J]. Applied Laser, 2009, 29(3): 256-259 (in Chinese)
薛正莲, 张相美, 王洲, 等. He-Ne 激光与紫外复合诱变选育林可霉素高产菌株[J]. 应用激光, 2009, 29(3): 256-259
- [16] Xue ZL, Zhu Y, Zhang XM, et al. Optimization of culture medium for lincomycin production by response surface methodology[J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2009, 34(5): 277-280 (in Chinese)
薛正莲, 朱艳, 张相美, 等. 响应面法优化林可霉素发酵培养基[J]. 中国抗生素杂志, 2009, 34(5): 277-280
- [17] Liu RH, Yu F, Qin YF, et al. Optimization of fermentation medium in 24-well microplates of *Streptomyces lincolnensis*[J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2018, 43(7): 837-840 (in Chinese)
刘瑞华, 余飞, 秦艳飞, 等. 24 孔板优化林肯链霉菌发酵培养基[J]. 中国抗生素杂志, 2018, 43(7): 837-840
- [18] Zhou XR, Yao SG. Improvement of lincomycin fermentation medium[J]. Anhui Medical and Pharmaceutical Journal, 2003, 7(5): 332 (in Chinese)
周晓荣, 姚曙光. 林可霉素发酵培养基的改进[J]. 安徽医药, 2003, 7(5): 332
- [19] Deng JC, Shi XR, Zeng DX, et al. Screening of *Streptomyces* sp. with high-yield lincomycin and its fermentation condition optimization[J]. China Brewing, 2015, 34(11): 99-102 (in Chinese)
邓加聪, 施潇蕊, 曾德祥, 等. 高产林可霉素链霉菌的筛选及发酵条件的优化[J]. 中国酿造, 2015, 34(11): 99-102
- [20] Zhong YQ. Optimization of lincomycin fermentation process in pilot plant test[D]. Nanchang: Master's Thesis of Jiangxi Normal University, 2013 (in Chinese)
钟益清. 林可霉素中试发酵工艺的优化[D]. 南昌: 江西师范大学硕士学位论文, 2013
- [21] Zhuang ZH, Gao SH, He XF, et al. Optimization of lincomycin production and component by response surface methodology[J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2018, 43(8): 1049-1054 (in Chinese)
庄智慧, 高淑红, 何岫峰, 等. 响应面法优化林可霉素产量与组分[J]. 中国抗生素杂志, 2018, 43(8): 1049-1054
- [22] Zhuang ZH, Zhang LW, Yang CC, et al. Enhanced lincomycin a production by calcium gluconate feeding in fermentation of *Streptomyces lincolnensis*[J]. Bioresources and Bioprocessing, 2019, 6(1): 31
- [23] Zhang HD. The research on lincomycin biosynthesis of and fermentation process optimization[D]. Shanghai: Master's Thesis of East China University of Science and Technology, 2014 (in Chinese)
张海丹. 林可霉素的生物合成及发酵工艺的调控[D]. 上海: 华东理工大学硕士学位论文, 2014
- [24] Li X, Chu J, Zhang SL, et al. Dynamic effects of corn steep liquor on metabolic characteristics and mycelium morphology of *Streptomyces lincolnensis*[J]. Industrial Microbiology, 2009, 39(6): 16-19 (in Chinese)
李啸, 储炬, 张嗣良, 等. 玉米浆对林可链霉菌的代谢特性及形态的动态影响[J]. 工业微生物, 2009, 39(6): 16-19