

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2024.01.07

# 红霉素高产菌株选育及其发酵条件的优化

李春玲,牛莎莎,牛春,石彦鹏,张萍\*

(宁夏泰瑞制药股份有限公司,银川 750101)

[收稿日期] 2023-06-28 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2024) 01-0037-07 [中图分类号] S859.79

**[摘要]** 为选育出红霉素(Erythromycin)发酵生产的优良菌株并建立其高效发酵条件,以产红霉素的红色糖多孢菌(*Saccharopolyspora erythraea*) SE-2207 菌株作为原始菌株,利用 EMS(甲基磺酸乙酯)、UV(紫外诱变)和 ARTP(常压室温等离子体诱变)诱变的方法开展优良菌种选育,比较了三种方法的诱变效果,选育出 1 株遗传稳定、且对红霉素碱耐受性强的菌株 SEM-7,其红霉素发酵效价达到 8368 mg/L,比原始菌株提高了 25.5%。而且,SEM-7 菌株细胞酰基辅酶 A 合成酶活力显著高于原始菌株。通过对发酵培养基中添加正丙醇、豆油的浓度进行优化筛选,使 SEM-7 菌株 500 L 中试发酵效价达到 9155 mg/L。研究结果对提升红霉素工业化发酵生产水平具有重要意义。

**[关键词]** 红霉素;高产菌株;诱变;发酵条件;优化

## Breeding of High Erythromycin-producing Strains and Optimization of Fermentation Conditions

LI Chun-ling, NIU Sha-sha, NIU Chun, SHI Yan-peng, ZHANG Ping\*

(Ningxia Tairui pharmaceutical Company Limited, Yinchuan 750101, China)

Corresponding author: ZHANG Ping, E-mail: chun.niu@tairuiworld.com

**Abstract:** In order to select a good strain and optimize fermentation processes for erythromycin fermentation, *Saccharopolyspora erythraea* SE-2207 strain producing erythromycin was used as the original strain. SE-2207 strain was mutagenized by mutagenesis EMS (ethyl methanesulfonate), UV (ultraviolet) and ARTP (atmospheric pressure room temperature plasmawas), respectively. And the mutagenic effects of the three methods were compared. After mutagenesis, SEY-7 strain with good genetic stability and high erythromycin base tolerance was screened out. Its mycophenolic acid fermentation potency was up to 8368 mg/L, which was 25.5% higher than that of the original strain. Based on screening concentration of N-propanol and soybean oil in the medium, the fermentation processes were optimized and made the fermentation titer of 500 L up to 9155 mg/L. The results were of great significance to improve fermentation production level of erythromycin.

**Key words:** erythromycin; high yield strain; mutagenesis; fermentation processes; optimization

作者简介:李春玲,从事微生物发酵菌种选育研究。

通讯作者:张萍, E-mail: chun.niu@tairuiworld.com

红霉素 (Erythromycin) 是一种大环内酯类抗生素,其分子式为  $C_{37}H_{67}NO_{13}$ ,由放线菌属 (*Actinomycetes*) 红色糖多孢菌 (*Saccharopolyspora erythraea*) 通过次级代谢途径生成<sup>[1-3]</sup>。红霉素及其半合成衍生物阿奇霉素 (Azithromycin)、甲红霉素 (Clarithromycin)、地红霉素 (Dirithromycin)、罗红霉素 (Roxithromycin)、氟红霉素 (Flurithromycin) 等,对革兰氏阳性菌具有较好抗性作用,常用于对青霉素耐药的革兰氏细菌感染及对青霉素过敏的患者,是军团菌肺炎、支原体肺炎、沙眼衣原体所致的婴儿肺炎及结肠炎,皮肤软组织感染的首选药,应用较为广泛,生产前景广阔<sup>[4-7]</sup>。

红霉素主要通过工业发酵进行生产,但目前国内发酵效价一般为 4000 ~ 5000 mg/mL,与国外水平 8000 ~ 12000 mg/mL 相比,还存在较大差距,究其原因主要在于缺少优良的发菌菌株和适宜发酵条件。因此,优良菌株选育以及配套发酵条件优化是解决这一问题的有效途径。刘峰等<sup>[8]</sup>通过 UV (紫外诱变) 诱变,选育出一株发酵效价增加 10% 的菌株 F1-57,并通过添加前体物等措施优化了发酵条件,大幅提高了发酵水平。杨雪清<sup>[9]</sup>利用红霉素碱作为诱变剂筛选出红霉素耐受性突变株 LJ-12-2,其发酵效价增加 10.8%。孟祥学等<sup>[10]</sup>运用 UV (紫外诱变) 诱变选育出一株效价增加 20% 的菌株。赵宏图<sup>[11]</sup>综合运用离子注入技术、UV 诱变、盐酸轻胺诱变开展红霉素发酵生产菌株的选育,并对发酵条件系统优化,使发酵效价达到 8500 mg/mL。另外,卞晨光等<sup>[12]</sup>、刘晓宏等<sup>[13]</sup>、Zou 等<sup>[14]</sup>开展了发酵条件优化研究,大幅提高了红霉素发酵效价。但是,整体而言当前国内红霉素发酵生产还处于较低水平,亟待提升。鉴于此,本研究以引进保存的产红霉素的红色糖多孢菌 (*Saccharopolyspora erythraea*) SE-2207 菌株作为原始菌株,利用 EMS (甲基磺酸乙酯)、UV 以及 ARTP (常压室温等离子体诱变) 诱变的方法,对菌株进行诱变处理,选育出优良发酵菌株,并从发酵培养基组成方面优化发酵条件,以期提高发酵水平,推动红霉素规模化发酵生产。

## 1 材料与方法

1.1 菌种 原始菌株为产红霉素 (Erythromycin) 的红色糖多孢菌 (*Saccharopolyspora erythraea*) SE-2207 菌株,由本实验室低温保藏。

1.2 仪器及耗材 恒温振荡摇床 (武汉科学仪器厂,编号:HQL150C)、恒温恒湿培养箱 (江苏杰瑞尔电器有限公司,LHP160)、ARTP 等离子体生物育种机 (北京思清源生物科技有限公司,ARTP-II 型)、紫外分光光度计 (德国耶拿,SPECORD S600)、高效液相色谱仪 (Waters 公司,E2695)、显微镜 (Leica DM500)。Erythromycin 对照品购自 Sigma 公司,其他化学试剂为国产分析纯。

1.3 培养基及培养条件 斜面 and 分离培养基 (g/L): 淀粉 1,玉米浆 1,氯化钠 0.3,硫酸铵 0.3,碳酸钙 0.5,琼脂 20, pH 7.0, 32 °C, 培养 7 d。种瓶培养基 (g/L): 蔗糖 6,硝酸钾 1.0,硫酸铵 0.2,磷酸二氢钾 0.3,七水硫酸镁 0.1, pH 7.0。斜面培养基挖块约 1 cm<sup>3</sup>,接种于种子培养基中 (250 mL 容积的锥形瓶装量 40 mL),置于 32 °C 摇床,220 rpm,培养 32 h。发酵瓶培养基 (M/V): 黄豆饼粉 3%,玉米浆 3%,葡萄糖 6%,硫酸铵 0.1%,磷酸氢二钾 0.1%,碳酸钙 0.4%,pH 自然,接种量 8% (500 mL 容积的锥形瓶装量 80 mL),32 °C,220 rpm 振荡培养,培养 7 d。中试 (500 L) 培养基 (g/L): 淀粉 20,蔗糖 53,玉米浆 98,酵母粉 10,硫酸铵 4,磷酸二氢钾 1,氯化钙 2,碳酸钙 0.5,pH 自然,温度 32 °C,时间 7 d。

1.4 孢子液的制备 参考李春玲等<sup>[15]</sup>的方法,取成熟斜面孢子,用 4.5 mL 无菌水冲洗,将冲洗的孢子液用研磨器研磨,然后将菌液用滤纸过滤,离心管收集滤液,稀释至  $1 \times 10^{-6}$  浓度备用。

1.5 甲基磺酸乙酯 (EMS) 诱变 取一定量的孢子液于无菌三角瓶中,加入 EMS (终浓度为 0.2%),放在摇床上振荡培养,诱变处理时间分别为 1、2、3、4、5 h,然后将孢子液均匀涂布于分离培养基上,以未经 EMS 处理的孢子液作为对照,于 32 °C 培养箱培养 7 d。

1.6 紫外线 (UV) 诱变 取 2 mL 制备好的孢子液

放入置有圆形磁片的培养皿中(直径为 9 cm),打开预热 15 W 紫外灯(波长 253.7 nm)30 min,将离紫外灯管置于培养皿垂直高度 35 cm 处,然后打开皿盖,分别采用照射 20、40、60、80 s 进行处理,盖上皿盖,诱变处理过程在黑暗条件下进行。诱变结束后,再将培养皿在黑暗处条件下放置 2 h,然后吸取孢子液,均匀涂布于分离培养基上,于 32 °C 培养箱中培养 7 d,统计致死率。

**1.7 常压室温等离子体(ARTP)诱变** ARTP 的工作气体为纯度为 99.99% 的氦气,处理功率为 80 W,等离子体发生器待处理样品与出口之间的距离为 4 mm,气体的流量 9.0 L/min。将准备好的 50  $\mu$ L 孢子液均匀涂布于载片上,然后进行照射,照射的时间分别为 0(对照)、20、40、60、80 s,用 50  $\mu$ L 无菌水冲洗,将照射后的菌液洗脱倒入平皿中,反复洗脱 4 次,均匀涂布在平皿中,在 32 °C 培养箱中培养 7 d,统计致死率。

**1.8 致死率和正突变率** 每个诱变处理 36 培养皿,重复 3 次,以未经诱变处理的孢子液为对照,致死率等于(对照处理平皿菌落 - 诱变处理平皿菌落)/对照处理平皿菌落  $\times$  100%;正突变率等于诱变处理效价高于对照 3% 的菌株数/诱变处理的菌株总数  $\times$  100%。

**1.9 菌株遗传稳定性测定** 将选育出的高产菌株以斜面形式保存,产生孢子后取少许孢子转入另一斜面,此为一代,连续传代 3 次,使用摇瓶检测法测定每一代菌株的红霉素效价,分析其遗传的稳定性。

**1.10 红霉素碱耐受性的检测** 将孢子液稀释后,分别均匀涂布在含有 500、1000、1500 mg/L 红霉素碱的培养基上,于 32 °C 培养箱培养 7 d,观察菌株的红霉素碱耐受性。

**1.11 红霉素含量测定** 参考张立军等<sup>[16]</sup>的方法测定。

**1.12 酰基辅酶 A 合成酶活力测定** 参考卞晨光等<sup>[12]</sup>的方法测定。

**1.13 正丙醇对发酵的影响** 分别向发酵培养基中添加 0.5%、1%、1.5% 浓度的正丙醇,分析不同浓度正丙醇对发酵效价的影响。

**1.14 豆油对发酵的影响** 分别向发酵培养基中添加 0.05%、0.1%、0.15% 浓度的豆油,分析不同浓度豆油对发酵效价的影响。

**1.15 中试发酵培养基优化** 在中试发酵培养基中分别添加 1% 正丙醇、0.1% 豆油,以及同时加入 1% 正丙醇和 0.1% 豆油,分析不同添加物对发酵效价的影响。

**1.16 数据分析** 所有处理数据采用 SPSS 26.0 软件进行分析,以 *t*-检验检测差异显著性。

## 2 结果与分析

**2.1 原始菌株的复壮筛选** 将引进保存的 7 株产红霉素的红色糖多孢菌菌株进行复壮,经过传代 3 次,结果发现编号 SE-2207 菌株发酵效价较高,为 6668 mg/L,且该菌株遗传稳定性较好,作为后续诱变处理的原始菌株(表 1)。

表 1 原始菌株的效价及遗传稳定性

Tab 1 Potency and inheritance stability of the rejuvenation strains

菌株编号	代数及效价/(mg · L <sup>-1</sup> )		
	第一代	第二代	第三代
SE-2201	5210	4456	3329
SE-2202	4840	4624	4923
SE-2203	7614	5581	5429
SE-2204	6699	5447	5657
SE-2205	4350	4421	4469
SE-2206	6258	5851	4657
SE-2207	6592	6714	6668

**2.2 EMS 诱变处理** SE-2207 菌株经 EMS 诱变处理,结果发现随着处理时间的增加,菌体致死率呈现升高的趋势,处理时间为 3 h 时,致死率为 72.5%,正突变率为 16.6%;处理时间为 5 h 时,致死率最高,达到 95.2%,正突变率为 11.2%,见表 2。综合考虑,确定诱变处理适宜时间为 3 h。采用 EMS 诱变处理 3 h,初筛出 18 株正突变菌株,经摇瓶效价检测复筛,得到 3 株效价升高的菌株(编号为 SEM-1、SEM-2、SEM-3),其效价分别为 7422、7192、7127 mg/L。

2.3 UV 诱变处理 SE-2207 菌株经 UV 诱变处理,结果发现随着处理时间增加,菌体致死率呈现升高的趋势,处理时间 60 s 时,致死率为 69.3%,正突变率为 22.7%;处理时间为 80 s 时,致死率最高,达到 82.1%,正突变率为 10.3%。综合考虑,确定诱变处理适宜时间为 60 s,见表 2。采用 UV 诱变处理 60 s,初筛出 21 株正突变菌株,经摇瓶效价检测复筛,得到 3 株效价升高的菌株(编号为 SEM-4、SEM-5、SEM-6),其效价分别为 7376、7356、7287 mg/L。

2.4 ARTP 诱变处理 SE-2207 菌株经 ARTP 诱变处理,结果发现随着处理时间增加,菌体致死率呈现升高的趋势,处理时间 60 s 时,致死率为 71.5%,正突变率为 19.5%;处理时间为 80 s 时,致死率最高,达到 82.1%,正突变率为 10.3%。综合考虑,确定诱变处理适宜时间为 60 s,见表 2。采用 ARTP 诱变处理 60 s,初筛出 16 株正突变菌株,经摇瓶效价检测复筛,得到 2 株效价升高的菌株(编号为 SEM-7、SEM-8),其效价分别为 7656 mg/L、7731 mg/L。

表 2 不同诱变方法诱变效果的比较

Tab 2 Comparison of mutagenic effects of different mutagenic methods

诱变方法	处理时间	致死率/%	正突变率/%	最高效价/(mg·L <sup>-1</sup> )
CK	-	-	-	6514
	1 h	16.5	5.3	6877
	2 h	43.3	6.6	7184
EMS	3 h	72.5	16.6	7337
	4 h	85.2	9.3	7032
	5 h	95.2	11.2	6866
	20 s	24.7	4.3	5324
	40 s	35.3	8.9	6954
UV	60 s	69.3	22.7	7298
	80 s	82.1	10.3	6874
	20 s	11.6	6.6	6788
	40 s	47.8	12.7	6780
ARTP	60 s	71.5	19.5	7620
	80 s	82.1	10.3	6978

2.5 优良菌株遗传稳定性的检测 对获得的效价升高菌株的遗传稳定性进行检测,结果发现菌株 SEM-1、SEM-3、SEM-4、SEM-7 的遗传稳定性较好,其中,SEM-7 效价最高,达到 8368 mg/L,较原始菌株 SE-2207 提高了 25.5%(表 3)。

表 3 优良菌种遗传稳定性分析

Tab 3 Inheritance stability analysis of the excellent strains

菌株编号	代数及效价/(mg·L <sup>-1</sup> )		
	第一代	第二代	第三代
SEM-1	7422	7566	7444
SEM-2	7192	5789	4009
SEM-3	7127	7321	7167
SEM-4	7376	7214	7254
SEM-5	7356	6609	6421
SEM-6	7287	6342	6387
SEM-7	8274	8316	8368
SEM-8	7731	6456	6357

2.6 优良菌株红霉素耐受性检测 对菌株 SEM-1、SEM-3、SEM-4、SEM-7 的红霉素耐受性进行检测,结果发现,与原始菌株相比,SEM-7 在含 500、1000、1500 mg/L 红霉素碱的培养基上均能较好生长,表明 SEM-7 菌株具有较好的红霉素耐受性(表 4)。

表 4 优良菌种红霉素耐受性检测

Tab 4 Erythromycin tolerance test of excellent strain

红霉素碱浓度/(mg·L <sup>-1</sup> )	菌株的编号及其菌落形态				
	SE-2207	SEM-1	SEM-3	SEM-4	SEM-7
500	+	++	++	++	+++
1000	-	+	-	+	++
1500	-	-	-	-	++

+++ 表示菌落生长非常好,++ 表示菌落生长的较好,+ 表示菌落生长的一般,- 表示未见菌落生长。

2.7 SEM-7 菌株酰基辅酶 A 合成酶活力检测 以原始菌株 SE-2207 为对照,对菌株 SEM-7 的酰基辅酶 A 合成酶活力进行检测,结果发现菌株 SEM-7 酰基辅酶 A 合成酶活力为 31.6 U/mg,较原始菌株提高了 19.6%(表 5)。

表 5 SEM-7 菌株酰基辅酶 A 合成酶活力检测

Tab 5 Activity of acyl-CoA synthetase in excellent strain

菌株编号	酶活力(U/mg)
SEM-7	31.6
SE-2207	25.4

2.8 正丙醇对 SEM-7 菌株发酵效价的影响 测定添加不同浓度正丙醇发酵液的效价, 结果发现, 添加 1% 正丙醇的效价最高, 为 8757 mg/L, 添加 0.5%、1.5% 正丙醇的效价分别为 8421、8322 mg/L, 而未添加正丙醇(无正丙醇)的效价为 8298 mg/L, 添加 1% 正丙醇的效价显著高于其他三者 ( $P < 0.05$ ), 且其他三者之间无显著差异 ( $P > 0.05$ ) (图 1)。

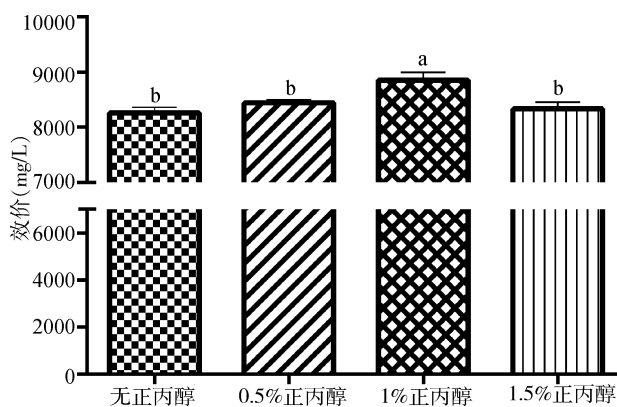


图 1 添加不同浓度正丙醇 SEM-7 发酵效价

(不同小写字母表示效价存在显著差异 ( $P < 0.05$ ), 下同)

Fig 1 Fermentation potency of SEM-7 with different concentrations of n-propanol

2.9 豆油对 SEM-7 发酵效价的影响 测定添加不同浓度豆油发酵液的效价, 结果发现, 添加 0.1% 豆油的效价最高, 为 8893 mg/L, 添加 0.05%、0.15% 豆油的效价分别为 8631、7922 mg/L, 而未添加正丙醇的效价为 8311 mg/L, 添加 0.05%、0.1% 浓度正丙醇的效价显著高于未添加的(无豆油) ( $P < 0.05$ ), 但添加 0.15% 的效价有所降低(图 2)。

2.10 SEM-7 中试发酵条件优化 综合上述结果, 在中试发酵培养基中分别添加 1% 正丙醇、0.1% 豆油, 以及同时加入 1% 正丙醇和 0.1% 豆油, 结果发现, 同时添加正丙醇和豆油的效价最高, 为 9155 mg/L, 只添加正丙醇或豆油的效价分别为 8734、8792 mg/L, 而未添加正丙醇和豆油(无豆油与正丙醇)的效价为 8486 mg/L, 同时添加 1% 正丙醇和 0.1% 豆油的效价显著高于其他三者 ( $P < 0.05$ ) (图 3)。

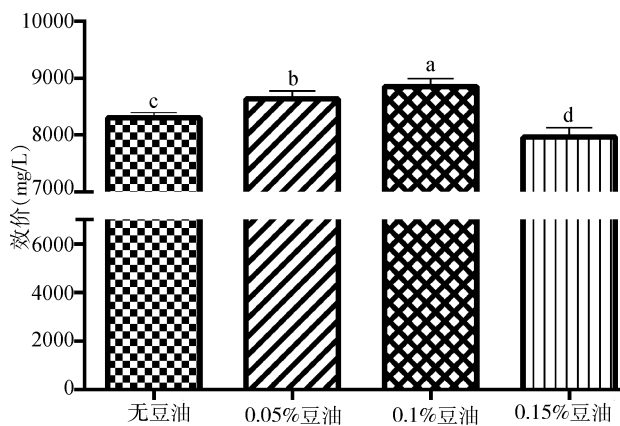


图 2 添加不同浓度豆油 SEM-7 发酵效价

Fig 2 Fermentation potency of SEM-7 with different concentrations of soybean oil

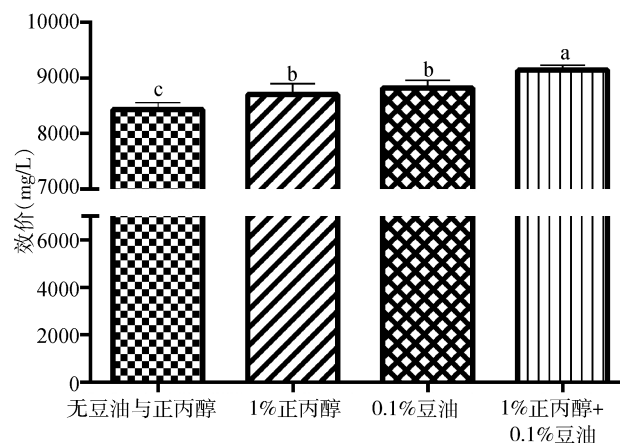


图 3 不同添加物条件下中试发酵效价

Fig 3 The pilot fermentation potency of SEM-7 with different concentrations of additives

### 3 讨论

发酵菌种性能对红霉素生产起着极其重要的作用, 而诱变选育是获得优良性能菌种的必由途径, EMS、UV 和 ARTP 等诱变方法是常用且行之有效菌种诱变选育手段<sup>[17]</sup>。本研究采用 EMS、UV、ARTP, 选育出了高产红霉素的红色糖多孢菌 SEM-7。这与刘峰等<sup>[8]</sup>、赵宏图<sup>[11]</sup>所采用的诱变方法相一致。在发酵过程中, 红色糖多孢菌易受发酵产物红霉素反馈抑制, 因此菌株对红霉素的耐受性高低是评价其性能的重要指标。本研究将红霉素耐受性作为菌株选育的前置筛选指标, 选育出的

优良菌株 SEM-7 具有较强红霉素耐受性,这与杨雪清等<sup>[9]</sup>所采用的选育思路及结论类似。红霉素的生物合成起始于丙酰辅酶 A,而丙酰辅酶 A 受酰基辅酶 A 合成酶活力的调控,有学者的研究结论表明菌株酰基辅酶 A 合成酶活力可能与红霉素发酵效价存在一定关联<sup>[12]</sup>。本研究发现菌株 SEM-7 的酰基辅酶 A 合成酶活力高于原始菌株,推测这一特性可能对其发酵效价的提高存在一定作用。

刘峰等<sup>[8]</sup>研究发现,在培养基中补加正丙醇可以大幅提高红霉素发酵效价;沈兆兵等<sup>[18]</sup>研究发现,在红色糖多孢菌发酵过程中补加豆油可显著提高红霉素产量。本研究也发现,补加正丙醇、豆油可显著提高红霉素产量,且提高作用与补加正丙醇、豆油的浓度相关。本研究还进一步探究了分别补加正丙醇、豆油,以及同时补加正丙醇、豆油对中试发酵的影响,发现同时补加正丙醇、豆油对发酵效价的提高作用更为显著。刘峰等<sup>[8]</sup>认为正丙醇是内酯环生物合成前体,而红霉素来源于内酯环生物合成途径,在发酵过程中补加正丙醇提高了合成前体物质的浓度,进而提高了红霉素效价。卞晨光等<sup>[12]</sup>、沈兆兵等<sup>[18]</sup>分析推测,豆油对红色糖多孢菌产红霉素促进机制是,豆油通过进入菌体的三羧酸循环,生成红霉素另一前体物质 2-甲基丙二酰辅酶 A,继而提高了红霉素效价。本研究同时补加正丙醇和豆油,对红霉素效价提高作用更强,推测可能是两者的叠加作用所致。

本研究选育出产红霉素的红色糖多孢菌优良菌株 SEM-7,并对菌株中试发酵条件进行了初步优化,后续还需对该菌株的性能、生成应用开展更深入的探索。

## 参考文献:

- [1] Minas W, Brunker P, Kallio P T, et al. Improved erythromycins production in genetically engineered industrial strain of *Saccharopolyspora erythraea* [J]. *Biotechnol Progr*, 1998, 14(4): 561-566.
- [2] Mironov V, Sergienko O V, Nastasyak I N, et al. Biogenesis and regulation of biosynthesis of erythromycins in *Saccharopolyspora erythraea* [J]. *Appl Biochem Micro*, 2004, 40(6): 531-541.
- [3] Wang Y, Wang Y G, Chu J. Improved production of erythromycin a by expression of a heterologous gene encoding S-adenosylmethionine synthetase [J]. *Appl Microbiol Biot*, 2007, 75(4): 837-42.
- [4] 徐雪香, 黄文莺. 新一代大环内酯类药应用研究进展 [J]. *海峡药学*, 1998, 10(1): 68-70.  
Xu X X, Huang H Y. Research progress in the application of new generation macrolides [J]. *Strait Pharmaceutical Journal*, 1998, 10(1): 68-70.
- [5] 孙俊, 王展, 张为革. 抗菌活性红霉素衍生物研究进展 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2014, 31(6): 493-503.  
Sun J, Wang ZH, Zhang W G. Recent developments in erythromycin derivatives with antibacterial activity [J]. *Journal of Shenyang Pharmaceutical University*, 2014, 31(6): 493-503.
- [6] 林杰勋. 红霉素的临床应用进展 [J]. *安徽医药*, 2005, 9(3): 224.  
Lin J X. Progress in clinical application of erythromycin [J]. *Anhui Medical and Pharmaceutical Journal*, 2005, 9(3): 224.
- [7] 田亚军. 红霉素类抗生素的临床应用 [J]. *中国现代药物应用*, 2009, 3(8): 125.  
Tian L J. Clinical application of erythromycin antibiotics [J]. *Chinese Journal of Modern Drug Application*, 2009, 3(8): 125.
- [8] 刘峰, 陈浦云, 陈祥明. 红霉素高产菌株 F1-57 的选育及发酵工艺研究 [J]. *福建师范大学学报(自然科学版)*, 2003, 19(2): 62-64.  
Liu F, Chen P Y, Chen X M. Screening and culturing of erythromycin productive strain F1-57 and its fermentation [J]. *Journal of Fujian Normal University (Natural Science)*, 2003, 19(2): 62-64.
- [9] 杨雪清. 耐红霉素的红霉素菌种选育 [J]. *医药工程设计*, 2012, 33(5): 29-30.  
Yang X Q. Selection and cultivation of erythromycin tolerant erythromycin bacterium Strain [J]. *Pharmaceutical & Engineering Design*, 2012, 33(5): 29-30.
- [10] 孟祥学, 王凤山. 糖多孢红霉菌红霉素高产菌种的诱变选育 [J]. *食品与药品*, 2009, 11(07): 35-37.  
Meng X X, Wang F SH. Breeding of erythromycin high-yielding *Saccharopolyspora erythraea* strain [J]. *Food and Drug*, 2009, 11(07): 35-37.
- [11] 赵宏图. 红霉素高产菌株诱变育种与发酵过程优化 [D]. 华东理工大学, 2015.  
Zhao H T. Breeding of high-yield erythromycin producer *Saccharopolyspora erythraea* and optimization of erythromycin production processes [D]. East China University of Science and

- Technology, 2015.
- [12] 卞晨光, 宫衡, 陈长华, 等. 豆油对红霉素生物合成的影响及作用机制分析[J]. 华东理工大学学报, 2004, 30(2): 139 - 152.
- Bian Ch G, Gong H, Chen Ch H *et al.* Effect of soybean oil on the biosynthesis of erythromycin and its mechanism[J]. Journal of East China University of Science and Technology, 2004, 30(2): 139 - 152.
- [13] 刘晓宏, 宋合强, 孙健敏, 等. 生物氮素在红霉素发酵中的应用[J]. 医药工程设计杂志, 2005, 26(5): 19 - 20.
- Liu X H, Song H Q, Sun J M, *et al.* Application of biological nitrogen in erythromycin fermentation [J]. Pharmaceutical & Engineering Design, 26(5): 19 - 20.
- [14] Zou X, Hang H F, Chu J, *et al.* Enhancement of erythromycin a production with feeding available nitrogen sources in erythromycin biosynthesis phase[J]. Bioresource Technol, 2009, 100(13): 3358 - 3365.
- [15] 李春玲, 丁亚莲, 谢文静, 等. 螺旋霉素高产菌株的选育[J]. 中国兽药杂志, 2018, 52(3): 31 - 37.
- Li Ch L, Ding Y L, Xie W J, *et al.* Screening of high yield strain for spiramycin[J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2018, 52(3): 31 - 37.
- [16] 张立军. 红霉素含量的 HPLC 测定[J]. 山东医药工业, 2000, 19(6): 13 - 15.
- Zhang L J. HPLC determination of erythromycin Content [J]. Shandong Medical Industry, 2000, 19(6): 13 - 15.
- [17] Rokem J S, Lantz A E, Nielsen J. Systems biology of antibiotic production by microorganisms[J]. Nat Prod Rep, 2007, 24(6): 1262 - 1287.
- [18] 沈兆兵, 陈国豪, 陈长华. 豆油在红霉素发酵中的作用及作用机制的研究[J]. 中国抗生素杂志, 2006, 31(11): 657 - 660.
- Shen ZH B, Chen G H, Chen CH H. Study on effect of soybean oil on fermentation of erythromycin and its mechanism [J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2006, 31(11): 657 - 660.

(编辑:侯向辉)