

微生物发酵生产乳链菌肽的分离技术研究进展

吉玉强¹, 吴兆亮¹, 郭雅楠¹, 于广和²

(1.河北工业大学生物工程系, 天津 300130; 2.天津康益生物技术有限公司, 天津 301801)

摘 要: 乳链菌肽(nisin)是一种由乳链球菌产生的乳酸菌素, 为一种天然生物防腐剂, 广泛应用于食品工业中。目前, 文献报道中有关乳链菌肽的分离纯化方法很多, 但是否适合工业化生产有待于进一步研究。本文在评述微生物发酵生产乳链菌肽过程中分离纯化技术基础上, 分析了其难于实现工业生产的原因并提出了需要解决的问题。

关键词: 乳链菌肽; 分离; 进展

Review on Nisin Separation Technology from Fermentation Broth

Ji Yu-qiang¹, Wu Zhao-liang¹, Guo Ya-nan¹, Yu Guang-he²

(1.Department of Bioengineering, Hebei University of Technology, Tianjin 300130, China;

2.Kangyi Co. Ltd., of Biological Technique, Tianjin 301801, China)

Abstract: Nisin is a bacteriocin produced by *Lactococcus*. It is widely used as a safe and natural food preservative in food industry. At present, there are a lot of purification and separation methods about nisin in the literature, but whether they are suitable for industrialization needs to be further studied. On the basis of reviewing the present technology for extraction and purification of nisin after fermentation, this paper analysed the difficulties for industrialization of these methods, and envisaged the future development.

Key words: nisin; separation; development

中图分类号: TQ465.92

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)02-0369-04

乳链菌肽(nisin)亦称乳酸链球菌素, 是由乳酸乳球菌乳酸亚种(*Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*)菌株产生的一种肽类细菌素^[1], 由 34 个氨基酸组成, 分子量约 3500 道尔顿, 通常以二聚体的形式存在, 分子量约 7000 道尔顿^[2]。首次发现于 1928 年, 是唯一被 FDA 确认为 GRAS 的细菌素产品。由于它可用作人类食品的天然生物防腐剂, 从而引起世界许多国家重视。近年来, 对于乳链菌肽的研究, 虽然在分子水平和应用上取得很大进展, 但因其容易失活, 从微生物发酵液中分离纯化的难度较大, 造成目前分离纯化效率仍不理想, 尤其是在工业化生产中, 由于分离成本高, 从而使产品价格昂贵, 成为乳链菌肽广泛应用的限制因素。本文在评述目前文献报道的乳链菌肽分离纯化技术基础上, 分析了其难于实现工业生产的原因并提出了当前需要解决的问题。

1 乳链菌肽的分离纯化

1.1 乳链菌肽的分离提取

1.1.1 有机溶剂法

Cheseman 和 Berridge^[3]利用正丙醇和氯化钠的组合

物从发酵液中回收乳链菌肽, 包括正丙醇抽提和丙酮沉淀。首先将丙醇溶解在酸化肉汤中, 然后再加入 NaCl, 以减小丙醇和乳链菌肽的溶解性。正丙醇层含有从肉汤中分离出来的绝大部分乳链菌肽, 用虹吸管将其吸出。将这一步骤再次重复, 最后混合的丙醇层含有乳链菌肽的 85%~100%。将正丙醇层溶解在 0.1mol/L HCl 中, 再用过量的 NaCl 盐析出来, 形成相对较小体积的两层。上层富含正丙醇, 并且含有 1/2 的乳链菌肽, 而夹在上层和水溶性 NaCl 盐之间的灰色沉淀物中含有另外一半。二表面间的沉淀物用丁醇分成几部分, 再用正丙酮沉淀。得到的乳链菌肽干粉活性大约为 3.0×10^7 IU/g。对于富含丙酮层的处理步骤则是很复杂的, 包括在丁醇乙酸系统的分离和大量丙酮沉淀步骤, 这样得到的乳链菌肽活性是 2.8×10^7 IU/g。此方法的缺点主要是丙酮往往不能使乳链菌肽沉淀完全, 收率较低。

陈秀珠等^[4]也是利用正丙醇从 NaCl 饱和的发酵液中提取 2 次, 再用丙酮沉淀得到乳链菌肽粗制品, 然后将粗制品溶于 0.05mol/L HAC-NaAc(pH3.6)缓冲液, 并用缓冲液透析 24h, 离心分离, 再经 CM-SephadexC-25 柱层

收稿日期: 2005-11-16

作者简介: 吉玉强(1981-), 男, 硕士研究生, 研究方向为生物分离工程与工艺。

析, 得到聚丙烯酰胺凝胶电泳纯的乳链菌肽组分。最终比活力提高 1.63 倍, 活率回收为 41.7%。

尽管从产量和纯化上来看, 这样得到的乳链菌肽具有很高的纯度, 但对于大规模的回收和纯化却是不实用的。它需要使用大量的正丙醇、丙酮等有机溶剂, 存在着有机溶剂的后处理及对环境的污染问题。

1.1.2 菌体吸附法

一般来说, 细菌素产生菌的细胞都能吸附它所产生的细菌素分子^[5], 1991 年 Bhunia 等首次发现这种吸附是 pH 依赖性的^[6]。Yang 等^[7]利用这个特性建立了菌体吸附法提取乳链菌肽的方法。他们发现乳链菌肽对产生菌细胞的最大吸附出现在 pH6.5, 完全解吸出现于 pH < 3.0。将 *L. lactis* ATCC11454 稳定期早期细胞调至 pH6.5 吸附乳链菌肽, 然后 70℃ 加热 25min 杀死细胞和使蛋白水解酶失活, 离心回收细胞, 洗涤, 将菌体重新悬浮于 pH2.5 的冷 NaCl 中释放乳链菌肽, 离心出去细胞碎片, 将含有乳链菌肽的上清液放入截流相对分子质量为 1000 透析袋透析, 收率将达 93.3%。Van't Hul 和 Gibbons^[8]研究发现, 如果上述过程不经 70℃ 加热处理, 直接离心, 可提高乳链菌肽的回收率。国内, 吴琼等^[9]和叶嗣颖等^[10]也对乳酸乳球菌随 pH 的改变吸附乳链菌肽的规律进行了研究, 通过调整 pH, 使乳酸乳球菌选择性地吸附、释放乳链菌肽, 并达到了较好的分离效果。虽然此法为工业化高效、简便、无污染地分离乳链菌肽提供了理论依据, 但同时也存在着损失率偏高的问题, 并且上述吸附率的测定是专门制备的吸附细胞及乳链菌肽标准品得出的结论, 与发酵液的真实情况是否相符也还有待于进一步研究, 具体应用到大规模工业生产中, 是否仍能适用, 也存在疑问。

1.1.3 其他吸附法

由于乳链菌肽为一种阳离子型的疏水肽类, 所以可以通过离子交换和吸附/解吸的方法对发酵液中的乳链菌肽进行分离纯化。

刘稳等^[11]主要利用树脂吸附法来进行乳链菌肽的提取纯化, 包括超滤, 大孔树脂 XAD-2 吸附, CM-Sephadex C-25 层析和 Sephadex G-50 层析。具体步骤为先将发酵液调至 pH2.0 左右, 离心去除细胞, 上清液经中空纤维超滤器超滤, 收集 Mr30000 以下的滤液, 然后用非极性大孔树脂 XAD-2 吸附, CM-Sephadex C-25 柱层析和 Sephadex G-50 柱层析, 最后得到乳链菌肽。虽然这种方法没有使用有机溶剂, 得到的产品纯度也很高, 但去除细胞以后的发酵液成分很复杂, 有培养基的降解物、细菌的各种代谢产物等等, 须经多个步骤才能分离纯化乳链菌肽, 因而使该项工作变得非常繁琐, 乳链菌肽的回收率难以提高。

Coventry 等^[12]利用商品名为“Micro-Cel”的硅酸

钙抗粘剂, 从乳酸乳球菌的发酵液中吸附乳链菌肽, 但是, 使用该方法得到的吸附复合物。欲解吸附非常困难, 因为在 pH1.0~12.0 的范围内都不能使吸附的乳链菌肽被解吸附, 经过反复地实验, 加入约 1% 十二烷基磺酸钠(SDS)可以解吸附。但是 SDS 是一种去垢剂, 用此法制备的乳链菌肽不宜在食品中使用。

还连栋等^[13]筛选出了一种廉价的吸附剂, 利用它从乳酸乳球菌的发酵液中分离提取乳链菌肽。具体步骤为释放乳链菌肽、吸附、解吸附和喷雾干燥, 最后得到乳链菌肽产品。最终收率在 60% 左右。但在这个专利中, 没有明确指出采用何种吸附剂和解吸剂, 因此有待于进一步对其进行研究。

Cheigh Chan-Ick^[14]等采用离子交换层析来一步纯化 nisin Z。他们在表面速率为 367cm/h 时获得了最高动态吸附率(0.92), 浓缩倍数为 2.7 倍。获得最大吸附的 pH 范围为 pH3~4, 然后利用 0.15mol/L 的 NaCl 进行等度洗脱。最终, 纯化倍数为 31 倍, 收率为 90%。

总之, 虽然吸附法可以使 Nisin 达到很高的纯度, 并且还有很好的脱色作用, 但相对来说处理时间比较长, 并且成本较高, 能否应用到工业化有待于进一步研究。

1.1.4 蒸发浓缩法

由乳链菌肽的理化性质^[15]知道乳链菌肽的活性在室温及酸性加热条件下均稳定, 如它溶于 pH3.0 的 HCl 中经 121℃、15min 高温灭菌仍能保持 100% 的活性。对于发酵结束后, 经过预处理的发酵液, 其 pH 在 3.0 左右。故可利用此性质将经过膜分离除去菌体及残留培养基后得到的膜清液, 采取减压薄膜蒸发的方法进行浓缩。此方法在实验室进行了初步实验, 结果证明具有可行性, 可以达到很高的浓缩比和收率, 但具体扩大到大规模工业生产中, 由于水的蒸发潜热较大, 还需要维持较高真空度, 能耗必定很大, 并且发酵液微酸性, 这就对设备有很高的要求。这时此种方法从成本考虑必然很高, 是否仍实用, 需要进一步研究。

1.1.5 膜分离法

膜分离技术具有设备简单, 常温操作, 无相变及化学变化, 选择性高及能耗低等优点, 日益受到人们的重视, 选择适当的分离膜、操作参数和操作模式, 即可实现蛋白质的浓缩、分离、纯化^[16]。而乳链菌肽为一种多肽物质, 也可以通过膜分离的方法达到分离浓缩的目的。Daoudi L. 等^[17]利用分子截流量为 1000 道尔顿的中空纤维膜对经过离心处理除过菌体的发酵液进行了超滤, 最终浓缩率达到 5, 收率达到 74.2%, 纯化程度为 1.3。利用膜分离的方法对乳链菌肽进行浓缩具有非常广阔的应用前景, 并向工业化发展。当然, 它也存在一定的问题, 如在操作中膜面会发生污染, 使膜性

能降低。故又必须采用与工艺相适应的膜面清洗方法,而且单采用膜分离技术效果有限,因此有时需将膜分离工艺与其他分离工艺组合起来应用。

1.1.6 盐析法

Daoudi L.等^[17]在4℃将通过超滤浓缩的发酵液中加入60%饱和度的硫酸铵,恒速搅拌,然后在10000xg离心力离心,收集沉淀得到乳链菌肽粗制品。此法收率达到60%,纯化程度为20.0。此法简便安全,而且所得的蛋白质并不丧失活性,是分离纯化中较佳的一种方法,并且也容易实现大规模的生产。但使用该方法培养基中的杂蛋白也随之沉淀,所得产品不尽如人意。另外硫酸铵用量大,废水中含盐量高,对环境造成严重的污染。

1.1.7 泡沫分离法

泡沫分离技术是二十世纪新开发的一种分离技术,1977年被引入生物分离领域,并应用于多种具有表面活性的蛋白质及酶的分离纯化,在实验室阶段取得良好的分离效果^[18-19]。乳链菌肽是一种由34种氨基酸组成的多肽^[2],它的结构由亲水端和疏水端组成,是一个名副其实的表面活性剂,因此理论上能够采用泡沫分离技术将乳链菌肽由发酵液中提取出来。Hirsh^[20]提出利用泡沫技术回收乳酸菌肽,其将含5%CO₂的氮气被鼓入培养液中,所形成的泡沫微微地移动到30°角置于培养基表面直径1英寸的玻璃管中,最终收集到这个容器中的泡沫含有90%的乳链菌肽,而这些泡沫含有生长培养基体积的1/10。在Hauley和Hall^[21]的专利阐述中Aplin和Barrett认为,通过Hirsh在1951年提出的泡沫技术可以回收乳链菌肽。目前我们与天津康益生物工程有限公司合作对此技术进行了深入研究,并且已经完成了从小试到中试的实验。实验结果表明此法能很好的分离发酵液中的乳链菌肽,收率在80%左右,富集率达到10以上。此法效率高,能耗少,操作简便,无污染,并且易于扩大到大规模的工业生产中,是一种很有前景的提取工艺。

1.1.8 其它方法

近几年,一些利用新技术进行的提纯工艺也发展起来,如Suarez等^[22]采用免疫亲和层析法分离纯化乳链菌肽,其可以一步提纯乳链菌肽。而Guénolé等^[23]则是采用免疫磁珠分离法来分离纯化乳链菌肽。

1.2 乳链菌肽的纯化

对于乳链菌肽的纯化,一般采用CM-Sephadex C-25层析和Sephadex G-50层析的方法,这样可以得到聚丙烯酰胺凝胶电泳纯的乳链菌肽组分。对于近几年来研究的一些采用新技术进行的分离方法,如免疫亲和层析和免疫磁珠分离等同时可以达到分离和提纯的目的,是研究的热点。李孱等^[24]采用PEG/Salt双水相体系提取发

酵液中的乳链菌肽,通过此法也可以同时达到分离和纯化的目的。

2 研究展望

对于乳链菌肽的分离纯化,主要存在下面一些问题亟待解决:一是分离过程中,如何减少乳链菌肽活性损失的问题。由于乳链菌肽是一种具有生物活性的物质,随着时间的延长,存在失活的现象。这就要求对于大规模的工业生产,分离工艺要尽可能简单,分离时间短;二是解决分离过程中乳链菌肽收率和富集率之间的矛盾。在最后的乳链菌肽产品喷雾干燥单元操作中,希望富集率尽可能高,但富集率越高,相应乳链菌肽收率越低,特别是不同的分离工艺之间的差别很大。因此不仅需要研究合适的分离工艺,而且要确定最佳的富集率;三是尽可能减小对环境的污染,以至对环境无污染。目前有的分离工艺对环境污染大,比如盐析产生大量的高浓度废盐水很难处理;四是有利乳链菌产品的质量。比如产品颜色等指标,当然要保证乳链菌产品的颜色达到要求,可以进行脱色,但在分离过程中增加分离单元操作,必然降低乳链菌产品收率,因此应研究在最简单的分离工艺中,完成分离任务,使乳链菌产品达到质量要求。总之,乳链菌肽的分离纯化是目前的一个瓶颈。应寻找到一种工艺简单、收率高并且无污染的分离纯化方法,是提高产率,降低成本的关键。

参考文献:

- [1] BRANEN J K, DAVIDSON P M. Enhancement of nisin, lysozyme, and monolaurin antimicrobial activities by ethylenediamine tetraacetic acid and Isctoferrin[J]. International Journal of Food Microbiology, 2004, 90: 63-74.
- [2] 汤凤霞, 蔡慧农. 微生物防腐剂Nisin的研究与应用[J]. 食品科技, 2002(11): 46-48.
- [3] CHEESEMAN G C, BERRIDGE N J. An improved method of preparing nisin[J]. Biochemistry Journal, 1957, 65: 603-608.
- [4] 陈秀珠, 何松, 龙力红, 等. 乳酸乳球菌AL2产生的乳链菌肽的提纯和性质[J]. 微生物学通报, 1996, 36(4): 269-275.
- [5] GONZALEZ C F, KUNKA B S. Plasmid-associated bacteriocin production and sucrose fermentation in *Pediococcus acidilactici*[J]. Appl Environ Microbiol, 1987, 53: 2534-2538.
- [6] BHUNIA A K, JOHNSON M C, RAY B, et al. Mode of action of pediocin ACh from *Pediococcus acidilactici* on sensitive bacteria strains[J]. J Appl Bacteriol, 1991, 70: 25-30.
- [7] YANG R, JOHNSON M C, RAY B. Novel method to extract large amounts of bacteriocins from lactic acid bacteria[J]. Applied and Environment Microbiology, 1992, 58: 3335-3359.
- [8] VAN't H J, GIBBONS W R. Concentration and recovery of the bacteriocin nisin from *Lactococcus Lactis*[J]. Biotechnology and Applied Biochemistry, 1996, 24: 251-256.
- [9] 吴琼, 生英涛, 唐名山, 等. 乳酸乳球菌发酵液中乳链菌肽的分离纯化[J]. 食品科学, 2003, 24(9): 103-106.

高速逆流色谱在保健食品功能成分纯化中的应用

毛立新¹, 刘 诚^{2,*}, 杨小兰¹

(1. 山西大学生命科学与技术学院, 山西 太原 030006 2. 北京市食品研究所, 北京 100076)

摘 要 高速逆流色谱(high speed countercurrent chromatography, 简称HSCCC)是一种快速、高效、连续的液-液色谱分离技术, 在中药、生化、保健食品、天然产物化学、环境分析等领域有着广泛的应用, 本文综述了高速逆流色谱在食品功能成分分离纯化领域的应用, 并对高速逆流色谱今后的研究方向提出了一些建议。

关键词: 高速逆流色谱; 液-液色谱; 功能成分

Application Review for High-speed Counter-current Chromatography for Purification of Functional Ingredients from Chinese Herb Medicines and Foodstuffs

MAO Li-xin¹, LIU Cheng^{2,*}, YANG Xiao-lan¹

(1. Institute of Life Science and Technology, Shanxi University, Taiyuan 030006, China
2. Beijing Food Research Institute, Beijing 100076, China)

Abstract: High-speed counter-current chromatography (HSCCC) is a kind of liquid-liquid partition chromatography, which has the unique features of high speed, high efficiency and continuous processing capability. It has been widely used in the separation and purification of Chinese herbal medicines, natural products and healthy foods, as in biochemistry, in environmental chemistry analysis as well. In this paper, the application of high-speed counter-current chromatography for purification of functional ingredients from healthy foodstuffs has been reviewed. Some suggestions to the further use of HSCCC in the future have also

收稿日期 2005-11-20

*通讯作者

作者简介: 毛立新(1963-), 男, 高级工程师, 博士研究生, 研究方向为食品生物技术。

- [10] 叶嗣颖, 谢昕, 黄庆华, 等. 乳链菌肽nisinZ的pH吸附法分离纯化技术研究[J]. 同济医科大学学报, 2000, 29 (2): 124-126.
- [11] 刘稳, 朱文, 马贵荣. 乳链菌肽的分离纯化和部分生物学性质[J]. 生物化学杂志, 1996, 12(5): 588-592.
- [12] COVENTRY M J, Gordon J B, Alexander M, et al. A food-grade process for isolation and partial purification of bacteriocins of lactic acid bacteria that uses diatomite calcium silicate[J]. J Applied and Environment Microbiology, 1996, 62: 1764-1769.
- [13] 还连栋, 陈秀珠, 王明华, 等. 从发酵液中提取乳链菌肽的方法: 中国, CN 00129928. X[P]. 2001-05-02.
- [14] CHEIGH C I, KOOK M C, KIM S B, et al. Simple one-step purification of nisin Z from unclarified culture broth of *Lactococcus Lactis* Subsp. *Lactis* A164 using expanded bed ion exchange chromatography[J]. Biotechnology Letters, 2004, 26: 1341-1345.
- [15] 郭本恒. Nisin的物理化学性质[J]. 农牧产品开发, 2001(2): 4-6.
- [16] 姚红娟, 王晓彬, 丁宁. 膜分离在蛋白质分离纯化中的应用[J]. 食品科学, 2003, 24(1): 167-171.
- [17] DAOUDI L, TURCOTTE C, LACROIX C, et al. Production and characterization of anti-nisin monoclonal antibodies: suitability for distinguishing active from inactive forms through a competitive enzyme immunoassay[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2001, 56: 114-119.
- [18] 殷钢, 周蕊, 李琛, 等. 糖-蛋白质混合体系泡沫分离过程研究[J]. 化学工程, 2002, 28(6): 34-37.
- [19] 杨博, 王永华, 姚汝华. 蛋白质的泡沫分离[J]. 食品与发酵工业, 2001, 27(2): 76-78.
- [20] HIRSCH A. The assay of the antibiotic nisin[J]. Gen Microbiol, 1950 (4): 70-74.
- [21] HAWLEY H, HALL R. UK, 844782[P]. 1957.
- [22] SUAREZ A M, AZCONA J I, RODRIGUEZ J M, et al. One-step purification of nisin A by immunoaffinity chromatography[J]. Applied and Environment Microbiology, 1997, 63: 4990-4992.
- [23] GUENOLEE P, CARL T, LYND A L, et al. Rapid purification of nisin Z using specific monoclonal antibody-coated magnetic beads[J]. International Dairy Journal, 2000(10): 627-633.
- [24] LI Chan, BAI Jing-hua, LI Wei, et al. Optimization of condition for bacteriocin extraction in PEG/salt aqueous two-phase system using statistical experimental designs[J]. Biotechnol Prog, 2001, 17: 266-368.

作者: 吉玉强, 吴兆亮, 郭雅楠, 于广和, [JI Yu-qiang](#), [WU Zhao-liang](#), [GUO Ya-nan](#), [YU Guang-he](#)
 作者单位: 吉玉强, 吴兆亮, 郭雅楠, [JI Yu-qiang](#), [WU Zhao-liang](#), [GUO Ya-nan](#) (河北工业大学生物工程系, 天津, 300130),
 , 于广和, [YU Guang-he](#) (天津康益生物技术有限公司, 天津, 301801)
 刊名: [食品科学](#) [ISTIC](#) [PKU](#)
 英文刊名: [FOOD SCIENCE](#)
 年, 卷(期): 2007, 28 (2)
 被引用次数: 2次

参考文献(24条)

1. 汤凤霞;蔡慧农 [微生物防腐剂Nisin的研究与应用](#) [期刊论文]-[食品科技](#) 2002 (11)
2. 吴琼;生英涛;唐名山 [乳酸乳球菌发酵液中乳链菌肽的分离纯化](#) [期刊论文]-[食品科学](#) 2003 (09)
3. [VAN' t H J](#); [GIBBONS W R](#) [Concentration and recovery of the bacteriocin nisin from Lactococcus Lactis](#) [外文期刊] 1996 (part 3)
4. [YANG R](#); [JOHNSON M C](#); [RAY B](#) [Novel method to extract large amounts of bacteriocins from lactic acid bacteria](#) 1992
5. [BHUNIA A K](#); [JOHNSON M C](#); [RAY B](#) [Mode of action of pediocin AcH from pediococcus acidilactict hon sensitive bacteria strains](#) 1991
6. [GONZALEZ C F](#); [KUNKA B S](#) [Plasmid-assosiated bacteriocin production and sucrose fermentation in pediococcus acidilactict](#) 1987
7. 陈秀珠;何松;龙力红 [乳酸乳球菌AL2产生的乳链菌肽的提纯和性质](#) 1996 (04)
8. [LI Chan](#); [BAI Jing-hua](#); [LI Wei](#) [Optimization of condition for bacteriocin extraction in PEG/salt aqueous two-phase system using statistical experimental designs](#) 2001
9. [GUENOLEE P](#); [CARL T](#); [LYNDA L](#) [Rapid purification of nisin Z using specific monoclonal antibody-coated magnetic beads](#) [外文期刊] 2000 (10)
10. [SUAREZ A M](#); [AZCONA J I](#); [RODRIGUEZ J M](#) [One-step purification of nisin A by immunoaffinity chromatography](#) [外文期刊] 1997
11. [HAWLEY H](#); [HALL R](#) [查看详情](#) 1957
12. [HIRSCH A](#) [The assay of the antibiotic nisin](#) 1950 (04)
13. 杨博;王永华;姚汝华 [蛋白质的泡沫分离](#) [期刊论文]-[食品与发酵工业](#) 2001 (02)
14. 殷钢;周蕊;李琛 [糖-蛋白质混合体系泡沫分离过程研究](#) [期刊论文]-[化学工程](#) 2002 (06)
15. [DAOUDI L](#); [TURCOTTE C](#); [LACROIX C](#) [Production and characterization of anti-nisin zmonoclonal antibodies:suitability for distinguishing active from inactive forms through a compretitive enzymeimmunoassay](#) [外文期刊] 2001
16. 姚红娟;王晓彬;丁宁 [膜分离在蛋白质分离纯化中的应用](#) [期刊论文]-[食品科学](#) 2003 (01)
17. 郭本恒 [Nisin的物理化学性质](#) [期刊论文]-[农牧产品开发](#) 2001 (02)
18. [CHEIGH C I](#); [KOOK M C](#); [KIM S B](#) [Simple one-step purification of nisin Z from unclarified culture broth of Lactococcus Lactis Subsp.Lactis A164 using expanded bed ion exchange chromatography](#) [外文期刊] 2004 (17)
19. 还连栋;陈秀珠;王明华 [从发酵液中提取乳链菌肽的方法](#) 2001
20. [COVENTRY M J](#); [Gordon J B](#); [Alexander M A](#) [A food-grade process for isolation and partial purification of bacteriocins of lactic acid bacteria that uses diatomite calcium silicate](#) [外文期刊] 1996 (5)
21. 刘稳;朱文;马贵荣 [乳链菌肽的分离纯化和部分生物学性质](#) 1996 (05)
22. 叶嗣颖;谢昕;黄庆华 [乳链菌肽nisinZ的pH吸附法分离纯化技术研究](#) [期刊论文]-[同济医科大学学报](#) 2000 (02)
23. [CHEESEMAN G C](#); [BERRIDGE N J](#) [An improved method of preparing nisin](#) 1957
24. [BRANEN J K](#); [DAVIDSON P M](#) [Enhancement of nisin, lysozyme, and monolaurin antimicrobial activities by ethylenediaminetetraacetic acid and lsctoferrin](#) [外文期刊] 2004 (1)

引证文献(2条)

1. 周华敏, 裘建平, 王洪龙, 张会展, 任俊华 [乳酸链球菌素生产废水处理工艺分析](#) [期刊论文]-[中国给水排水](#) 2009 (22)
2. 石慧, 郑辉杰, 赵东胜, 吴兆亮 [生化法处理乳链菌肽发酵废水研究](#) [期刊论文]-[环境工程学报](#) 2008 (10)

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_spkx200702094.aspx