DOI:10.12441/spyswjs.20240902002 [文章编号] 1673-1689(2025)04-0081-07

苹果酸和对氨基苯甲酸复合强化裂殖壶菌 S31 积累二十二碳六烯酸

左 旦[1] 尹中秋[2] 曹仲文[2] 陈志炎[2*]

(1. 安徽工商职业学院旅游健康学院,安徽 合肥 231131; 2. 扬州大学旅游烹饪学院,江苏 扬州 225127)

摘要:【目的】提高二十二碳六烯酸(DHA)的得率。**【方法】**基于裂殖壶菌(*Schizochytrium* sp.)S31 的 DHA 生物合成途径,系统探究外源添加关键前体物质苹果酸和对氨基苯甲酸对 DHA 产量的影响。**【结果】**添加苹果酸和对氨基苯甲酸均能够促进裂殖壶菌生产 DHA,其最佳添加量分别为 4 g/L 和 0.2 g/L。在此基础上,在 5 L 搅拌式发酵罐规模下,通过复合添加上述 2 种物质进一步提高了裂殖壶菌发酵生产 DHA 的产量。与对照组相比,采用复合添加策略时,DHA 生物合成途径中的关键酶活性及葡萄糖消耗速率均显著增强,同时维持代谢能处于 4.1×10^{-3} g/(g·h)的较低水平。最终,采用复合添加策略后,DHA 质量浓度达到 7.7 g/L 的最高水平,与对照组相比提升了 75.0%。**【结论】**作者所提出的苹果酸与对氨基苯甲酸复合添加策略可有效强化裂殖壶菌积累 DHA,为其商业化生产提供参考。

关键词:裂殖壶菌;苹果酸;对氨基苯甲酸;发酵控制

Enhancement of Docosahexaenoic Acid Production by *Schizochytrium* sp. S31 *via* Malic Acid and *p*-Aminobenzoic Acid Co-feeding

ZUO Dan[1] *YIN Zhongqiu*[2] *CAO Zhongwen*[2] *CHEN Zhiyan*[2*]

(1. School of Travel and Health, Anhui Business and Technology College, Hefei 231131, China; 2. School of Tourism and Cuisine, Yangzhou University, Yangzhou 225127, China)

Abstract: [**Objective**] The aim of this study is to improve the yield of docosahexaenoic acid (DHA). [**Method**] Based on the synthesis pathway of DHA in *Schizochytrium* sp., the effects of addition of key precursors, malic acid and *p*-aminobenzoic acid, on the DHA production was explored. [**Result**] The addition of both malic acid and *p*-aminobenzoic acid enhanced the yield of DHA, and the optimal dosages were 4 g/L and 0.2 g/L, respectively. On this basis, the co-feeding of malic acid and *p*-aminobenzoic acid was carried out in a 5-L stirred fermenter to further enhance the yield of DHA by *Schizochytrium* sp. S31. Compared with the control group, the co-feeding strategy enhanced both the activities of the key enzymes in the DHA biosynthetic pathway and the glucose consumption rate, while maintaining the metabolic energy at a low level of 4.1×10^{-3} g/(g·h). Finally, when this co-feeding strategy was used, the mass concentration of DHA reached the highest level of 7.7 g/L, which increased by 75.0% compared with that in the control group. [**Conclusion**] The proposed co-feeding strategy of malic acid and *p*-aminobenzoic acid can enhance the accumulation of DHA by *Schizochytrium* sp. S31, which provides a reference for the commercial production and application of DHA.

Keywords: *Schizochytrium* sp.; malic acid; *p*-aminobenzoic acid; fermentation control

---

基金项目:江苏省高等学校基础科学(自然科学)研究面上项目(22KJB180008)。

通信作者:陈志炎(1982—),男,硕士,副教授,硕士研究生导师,主要从事食品(烹饪)质量与安全控制研究。E-mail: zhiyan@yzu.edu.cn

收稿日期:2024-09-02 **修回日期:**2024-12-01

DHA是一种对人体极为重要的ω-3多不饱和脂肪酸。由于其能够促进胎儿和婴幼儿的大脑与视网膜发育，DHA已成为婴幼儿奶粉中一种重要的食品添加剂[1-2]。目前，工业化生产的DHA主要从深海鱼油中提取[3]。然而，随着DHA需求量的不断增加和海洋渔业资源的日渐枯竭，传统的鱼油DHA生产方法已无法满足市场需求[4]。此外，鱼油DHA还存在腥味重和易受环境污染等严重问题[5]。因此，开发新型DHA生产方法尤为重要。

裂殖壶菌因具有易实现高密度培养、发酵周期短以及油脂含量高等优点，被认为是理想的DHA生产菌株[6-8]。相比传统的鱼油DHA生产方法，利用裂殖壶菌发酵生产DHA的方法，具有绿色环保、原料来源不受限制、产品无腥味等优势[9-10]。近年来，为提高裂殖壶菌发酵生产DHA的产量，诱变筛选、发酵过程优化和控制技术得到了广泛关注。例如，龚定芳等[11]采用常压室温等离子体诱变技术选育了一株高产DHA的菌株，在相同培养条件下，该诱变菌株的DHA产量比原始菌株提高了46.12%。Yin等[12]开发了一种两阶段pH控制策略并将其应用于裂殖壶菌生产DHA的过程，采用该控制策略后，DHA产量达到了32.75 g/L，相比对照组提高了51.67%。

此外，采用代谢调控方法、增大流向目标产物的代谢流也是增强裂殖壶菌生产DHA的有效途径。通常，利用裂殖壶菌生物合成DHA的过程可分为2个阶段：1）碳源（葡萄糖）经柠檬酸裂解途径及三羧酸循环（TCA）途径生成脂肪酸合成所需的还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸（NADPH）和乙酰辅酶A；2）NADPH和乙酰辅酶A再经过脂肪酸合成酶（FAS）或聚酮合成酶（PKS）等酶的催化作用，最终生成目标产物DHA等多元脂肪酸[13]。基于上述代谢途径，作者拟通过外源添加前体物质调控代谢途径，增加流向目标产物的代谢流，从而实现高效生产DHA的目标。

1 材料与方法

1.1 菌株和培养基

裂殖壶菌（*Schizochytrium* sp.）S31：美国菌种保藏中心（ATCC），于−80 ℃保藏。

种子培养基（组分单位g/L）：葡萄糖30、酵母浸粉6、鱼粉蛋白胨6、海盐40，pH 7.0。

发酵培养基（除特殊标注外，组分单位均为g/L）：葡萄糖100、酵母浸粉10、$(NH_4)_2SO_4$ 1、Na_2SO_4 1.2、K_2SO_4 7、$MgSO_4$ 5、KCl 2、K_2HPO_4 3、维生素混合液10 mL/L，pH 7.0。

葡萄糖流加培养基（组分单位g/L）：葡萄糖500。

1.2 裂殖壶菌S31生产DHA的发酵流程

将28 ℃、220 r/min振荡培养36 h的菌液，按照体积分数13%接种至含100 mL发酵培养基的500 mL摇瓶或含2 L发酵培养基的5 L机械搅拌式发酵罐中进行培养。其中，摇瓶发酵条件为28 ℃、220 r/min，培养时间为100 h。苹果酸和对氨基苯甲酸的添加量分别为0、2、4、6 g/L以及0、0.1、0.2、0.3 g/L。在5 L发酵罐规模下，裂殖壶菌发酵过程中温度、搅拌速度和通气量分别维持在28 ℃、500 r/min和4 L/min。以磷酸和NaOH为酸度调节剂，全程控制pH在7.0左右。当发酵液中葡萄糖质量浓度消耗至40 g/L时，开始进行葡萄糖流加培养，全程通过脉冲式流加方法将葡萄糖质量浓度控制在30~50 g/L。外源前体物质苹果酸和对氨基苯甲酸的添加量详见结果与讨论部分。

1.3 分析方法

采用DNS法测定发酵液中的葡萄糖质量浓度[14]。参考范学宁等[1]的方法测定发酵液中菌体质量浓度。量取10 mL发酵液样品置于50 mL的离心管中，并于8 000 r/min条件下离心10 min，随后用质量分数1%的NaCl溶液离心洗涤2次，经冻干后称量；通过超声波破碎和离心获得样品上清液，随后采用Ren等[15]的方法测定DHA合成路径中的关键酶苹果酸脱氢酶（ME）、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶（G6PDH）以及ATP-柠檬酸裂解酶（ACL）的酶活力。参考李俊[16]的方法，采用购自美国Sigma公司的NADP/NADPH定量检测试剂盒测定发酵样品中NADPH的含量。参考Li等[17]的方法，采用酶联免疫吸附检测技术测定发酵样品中乙酰辅酶A的含量。参考张朵朵等[18]和孙佼文等[19]的方法，提取发酵样品中的油脂并进行甲酯化处理，选用十九烷酸作为内标，通过气相色谱法以及内标法计算DHA的质量浓度。

1.4 数据处理

所有数据的平均值和标准差均来自3次独立的重复试验。采用SPSS 26.0软件进行统计学分析，显著性差异水平为$P<0.05$。

2　结果与讨论

2.1　外源添加前体物质的选择及其对裂殖壶菌生产DHA的影响

裂殖壶菌生物合成脂肪酸（包括DHA）以NADPH和乙酰辅酶A为底物，经过一系列的脱水、缩合和还原反应最终生成目标产物[13,19]。裂殖壶菌合成DHA的过程中，NADPH和乙酰辅酶A的生物合成途径及其涉及的关键酶见图1。在裂殖壶菌代谢过程中，细胞质中NADPH的主要来源为苹果酸代谢途径和磷酸戊糖途径（PPP途径）。据此，作者首先选择苹果酸作为外源添加物质，以增强苹果酸代谢途径的代谢流通量，强化NADPH的生成速率，从而实现DHA的高效生产。作者前期预试验发现外源添加对氨基苯甲酸可增强裂殖壶菌发酵过程中的PPP途径，因此，对氨基苯甲酸可作为另一有效的外源添加前体物质，进一步提高NADPH的生成速率，强化DHA的产生。

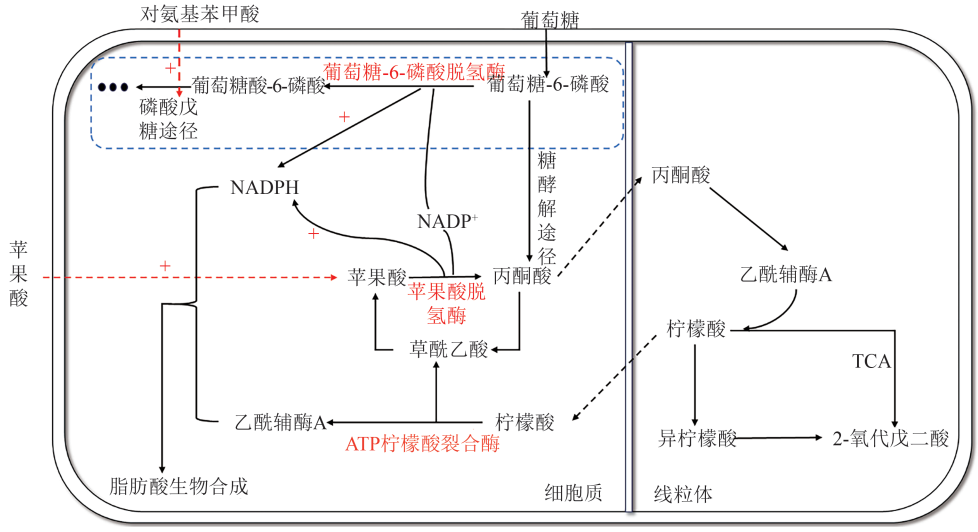


图1　裂殖壶菌生产脂肪酸的生物合成途径及相关的关键酶

Fig. 1　DHA production pathway of *Schizochytrium* sp. and related key enzymes

作者以合成DHA的裂殖壶菌S31为模式菌株，在摇瓶培养条件下分别探究了不同质量浓度的苹果酸和对氨基苯甲酸对裂殖壶菌生产DHA的影响。如图2所示，在裂殖壶菌生产DHA的过程中，随着外源苹果酸质量浓度的增加，裂殖壶菌的生长速率以及葡萄糖利用能力均得到显著提升，在苹果酸最优添加量4 g/L时，菌体质量浓度、葡萄糖消耗速率以及油脂质量浓度分别达到最大值7.7 g/L、1.8 g/(L·h)和1.8 g/L，见图2(a)~(c)。然而，当苹果酸质量浓度进一步增加至6 g/L时，裂殖壶菌的细胞生长速率、葡萄糖消耗速率以及油脂积累均受到一定程度的抑制。这可能是由于苹果酸的过量加入，导致发酵液渗透压明显增加，进而抑制了裂殖壶菌的细胞生长速率和葡萄糖利用能力。另一方面，在添加不同质量浓度的对氨基苯甲酸时，裂殖壶菌生产DHA的过程中也表现出类似现象，菌体质量浓度、葡萄糖消耗速率和油脂质量浓度均呈现先上升后下降的趋势。在对氨基苯甲酸质量浓度处于0.2 g/L时，油脂质量浓度达到1.5 g/L，相比对照组提升30，见图2(d)~(f)。

2.2　苹果酸和对氨基苯甲酸复合强化裂殖壶菌S31生产DHA

上述结果表明，在摇瓶培养条件下，单独添加前体物质苹果酸（4 g/L）和对氨基苯甲酸（0.2 g/L）均可有效增加DHA的产量。为进一步强化裂殖壶菌生产DHA，作者在5 L搅拌式发酵罐规模下，探究了苹果酸和对氨基苯甲酸复合添加（4 g/L苹果酸和0.2 g/L对氨基苯甲酸）对裂殖壶菌生产DHA的影响。如图3所示，空白对照组的裂殖壶菌细胞生长较为缓慢，菌体质量浓度仅维持在96.4 g/L的较低水平，且DHA并未有效积累，仅达到4.4 g/L。与之相反，在复合添加策略下，裂殖壶菌细胞生长速率显著增强，DHA质量浓度达到了7.7 g/L，与对照组相比提升了75.0%。

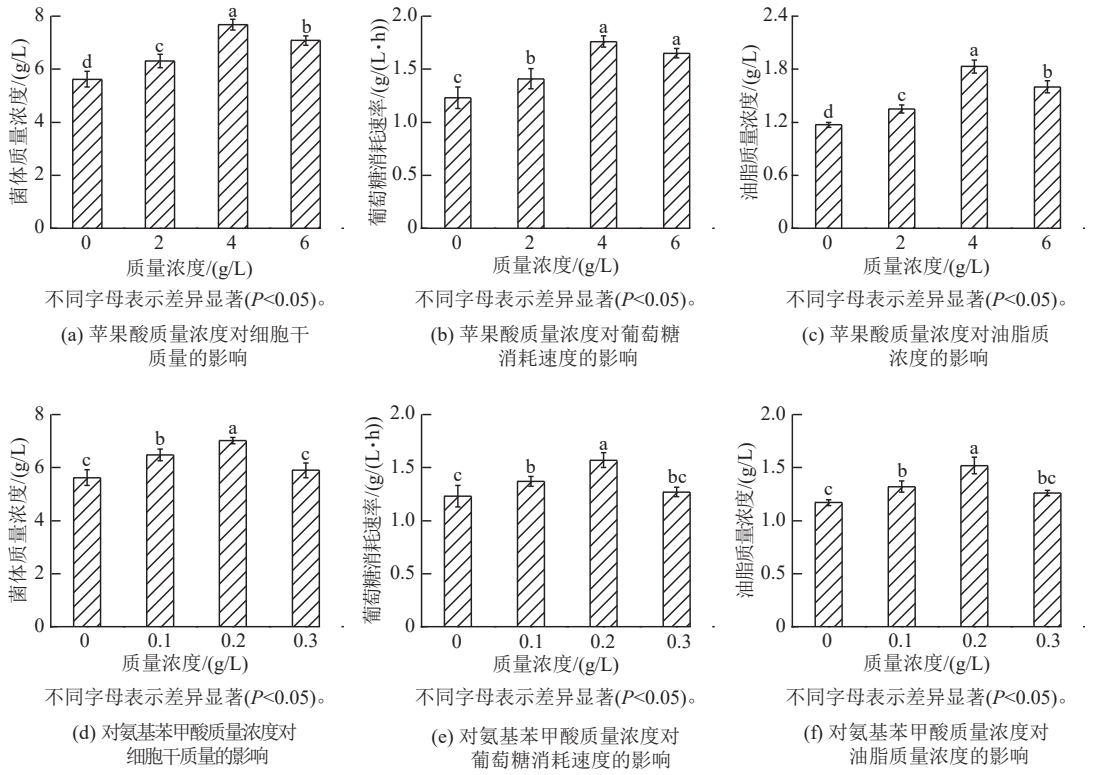


图 2　摇瓶培养下不同质量浓度苹果酸和对氨基苯甲酸对裂殖壶菌 S31 生产 DHA 的影响

Fig. 2　Effects of addition of malic acid and *p*-aminobenzoic acid at different mass concentrations in shake flasks on DHA production by *Schizochytrium* sp. S31

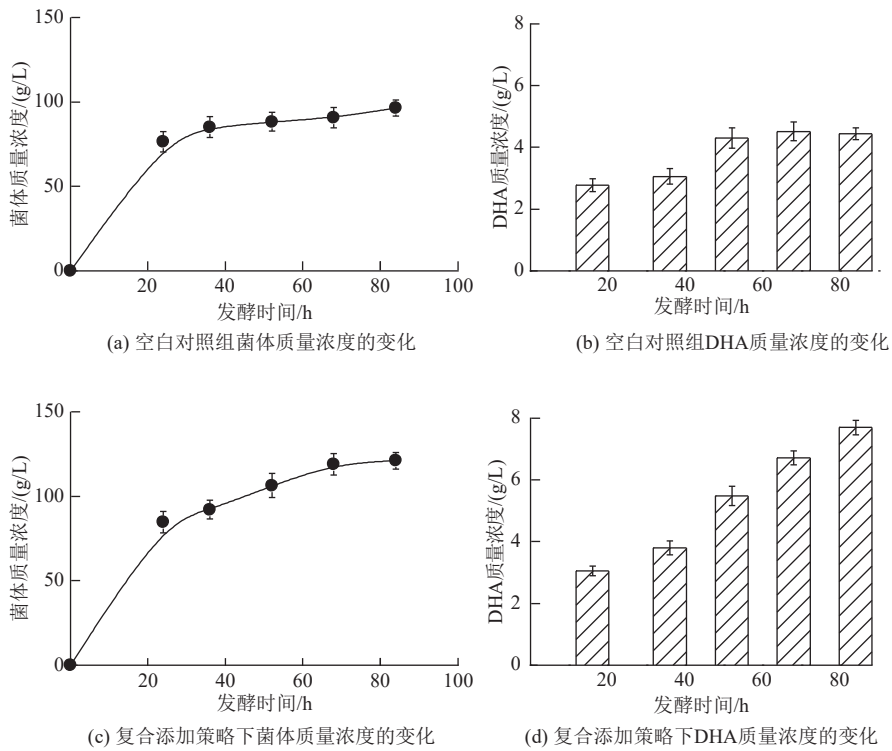
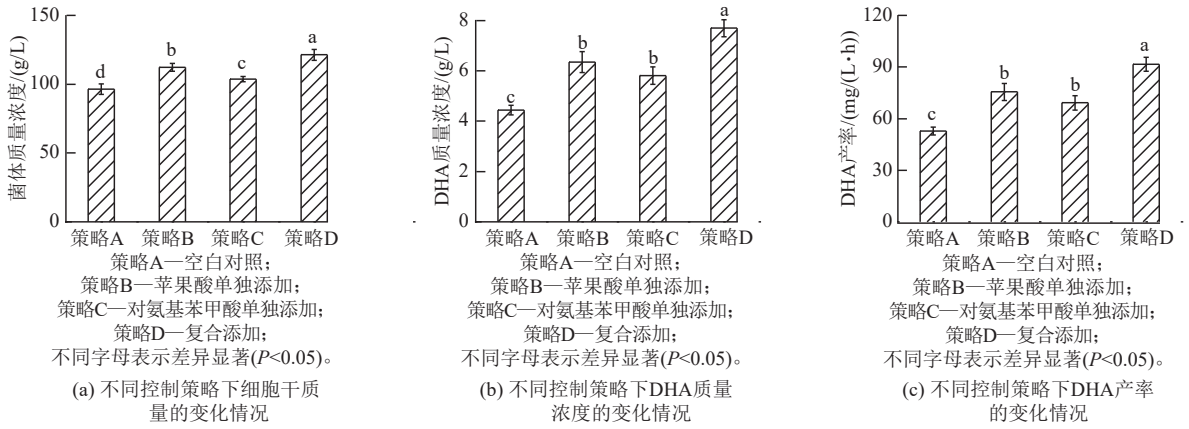


图 3　5 L 发酵罐规模下复合添加组与空白对照组生产 DHA 过程中裂殖壶菌 S31 发酵性能的变化

Fig. 3　Variations in fermentation performance of *Schizochytrium* sp. S31 during the process of DHA production under malic acid and *p*-aminobenzoic acid co-feeding and the blank control in 5-L fermenters

4种不同添加策略下裂殖壶菌发酵生产DHA的关键参数变化见图4，包括菌体质量浓度、DHA质量浓度及产率，并进行了显著性差异分析。结果表明，在采用复合添加策略时，上述发酵参数均显著高于空白对照组以及苹果酸或对氨基苯甲酸单独添加策略组。该结果进一步说明了苹果酸和对氨基苯甲酸的复合添加策略能够有效促进裂殖壶菌积累DHA。



(a) 不同控制策略下细胞干质量的变化情况　(b) 不同控制策略下DHA质量浓度的变化情况　(c) 不同控制策略下DHA产率的变化情况

图4　5 L发酵罐规模下不同添加策略对裂殖壶菌S31生产DHA过程中发酵性能的影响

Fig. 4　Effects of different feeding strategies on the fermentation performance of *Schizochytrium* sp. S31 during the process of DHA production in 5 L fermenters

2.3　苹果酸和对氨基苯甲酸复合添加强化裂殖壶菌S31生产DHA的代谢机理分析

2.3.1　苹果酸和对氨基苯甲酸复合添加强化DHA合成途径关键酶活性

如图1所示，作为DHA生物合成的关键前体物质，NADPH和乙酰辅酶A的合成速率直接影响DHA的产量。基于此，作者系统探究了不同发酵培养条件下与NADPH和乙酰辅酶A生物合成相关的3种关键酶活性的变化情况。如图5(a)~(c)所示，在采用苹果酸和对氨基苯甲酸复合添加策略时，这3种酶的活性均得到了明显增强，从而为脂肪酸(包括DHA)的生物合成提供充足的底物(NADPH和乙酰辅酶A)。此外，作者还分析了不同添加策略下NADPH和乙酰辅酶A水平的变化情况，见图5(d)~(e)，进一步验证了上述酶活性分析结果的可靠性。

2.3.2　苹果酸和对氨基苯甲酸复合添加降低葡萄糖维持代谢能

为进一步阐明苹果酸和对氨基苯甲酸复合强化裂殖壶菌生产DHA的代谢机理，作者分析了不同添加策略的碳源(葡萄糖)代谢模式。在利用裂殖壶菌生产DHA的过程中，葡萄糖的消耗主要用于以下2个方面：1)合成细胞生长繁殖所需的物质；2)维持细胞的结构和生命活动所需的能量，即维持代谢能[20]。其中，维持代谢能的计算见式(1)。

$$M_e = q - \frac{1}{Y_{X/S}}\mu \tag{1}$$

式中：

M_e——维持代谢能，g/(g·h)；

q——葡萄糖比消耗速率，g/(g·h)；

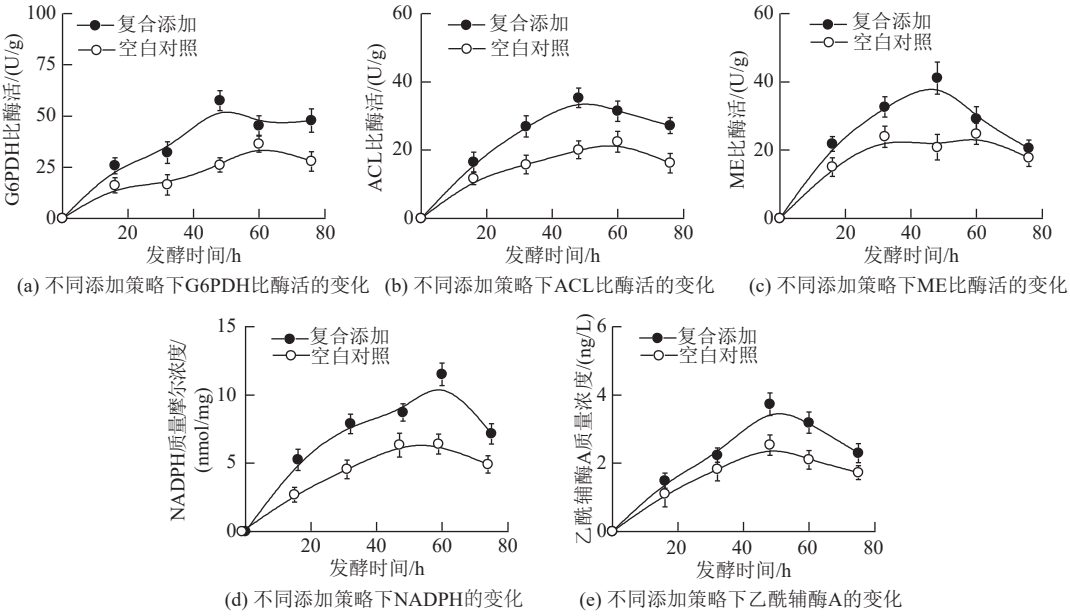
X——菌体质量浓度，(g/L)；

S——葡萄糖质量浓度，(g/L)；

$Y_{X/S}$——细胞对葡萄糖的得率系数；

μ——细胞的生长速率，g/(g·h)；。

采用不同添加策略时葡萄糖的代谢模式见图6。空白对照组的维持代谢能达到了6.1×10^{-3} g/(g·h)的较高水平。此时，与复合添加策略相比，空白对照组中葡萄糖代谢流更多地流向维持代谢途径以维持裂殖壶菌细胞的基本生理代谢，进而明显抑制了细胞生物量的积累以及DHA的生成。与之相反，在采用复合添加策略时，合成DHA所需的重要底物(乙酰辅酶A和NADPH)的合成途径中关键酶的活性均得到了明显增强(见图5)，同时，维持代谢能处于4.1×10^{-3} g/(g·h)的较低水平(见图6)。最终，DHA产量达到7.7 g/L的最高水平(见图3)。

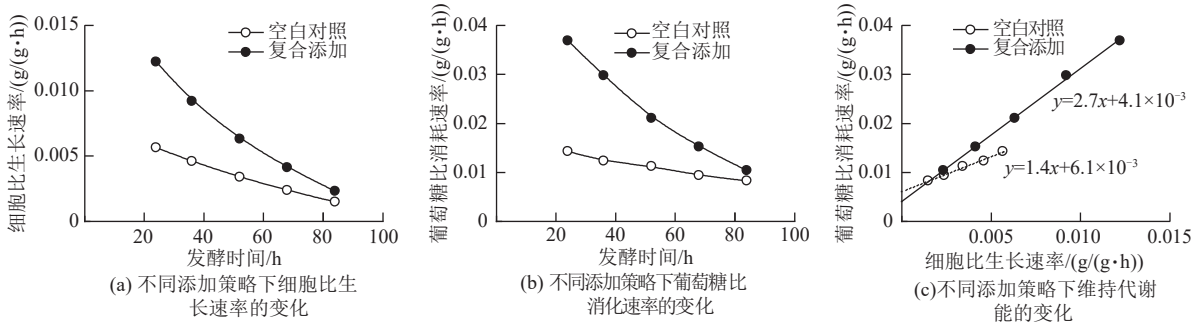


(a) 不同添加策略下G6PDH比酶活的变化 (b) 不同添加策略下ACL比酶活的变化 (c) 不同添加策略下ME比酶活的变化

(d) 不同添加策略下NADPH的变化 (e) 不同添加策略下乙酰辅酶A的变化

图 5 不同添加策略下关键酶的活性及 NADPH 和乙酰辅酶 A 水平的变化

Fig. 5 Variations in the activities of key enzymes as well as the levels concentrations of NADPH and acetyl-CoA under different feeding strategies



(a) 不同添加策略下细胞比生长速率的变化 (b) 不同添加策略下葡萄糖比消化速率的变化 (c)不同添加策略下维持代谢能的变化

图 6 不同添加策略下葡萄糖代谢模式的变化情况

Fig. 6 Variations of glucose metabolic pattern under different feeding strategies

3 结论

作者以裂殖壶菌为模式菌株，研究了外源添加关键前体物质苹果酸和对氨基苯甲酸对 DHA 生产的影响。结果表明，外源添加苹果酸和对氨基苯甲酸均可显著提升裂殖壶菌生产 DHA 的能力，其最佳添加量分别为 4 g/L 和 0.2 g/L。在此基础上，在 5 L 发酵罐规模下，通过复合添加上述 2 种前体物质进一步提高了裂殖壶菌生产 DHA 的发酵性能。与对照组相比，采用该复合添加策略时，葡萄糖消耗速率显著提升，且维持代谢能处于 4.1×10^{-3} g/(g·h)的较低水平。同时，DHA 生物合成途径中的关键酶活性均得到明显增强，底物 NADPH 和乙酰辅酶 A 供应充足。最终，采用该复合添加策略时，DHA 质量浓度达到 7.7 g/L 的最高水平，与对照组相比提升了 75.0%。

参考文献

[1] 范学宁，成艳，赵国服，等. 氮、磷源浓度对裂殖壶菌生长及油脂积累的影响[J]. 食品与发酵工业，2022，48(24)：189-194.
FAN X N，CHENG Y，ZHAO G F，et al. Effects of nitrogen source and phosphorus source concentration on the growth and lipid accumulation of a strain of *Schizochytrium* sp.[J]. Food and Fermentation Industries，2022，48(24)：189-194.(in Chinese)

[2] PATEL A K，CHAUHAN A S，KUMAR P，et al. Emerging prospects of microbial production of omega fatty acids：recent updates[J]. Bioresource Technology，2022，360：127534.

[3] 赵祥颖，张华秋，张家祥，等. 裂殖壶菌的双碳源发酵生产二十二碳六烯酸控制策略[J]. 食品与发酵工业，2022，48(23)：57-64.
ZHAO X Y，ZHANG H Q，ZHANG J X，et al. Control strategy for docosahexaenoic acid production of *Aurantiochytrium limacinum* by double carbons source[J]. Food and Fermentation Industries，2022，48(23)：57-64.(in Chinese)

[4] TIBBETTS S M，SCAIFE M A，ARMENTA R E. Apparent digestibility of proximate nutrients，energy and fatty acids in nutritionally-balanced diets with partial or complete replacement of dietary fish oil with microbial oil from a novel *Schizochytrium* sp.(T18) by juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar* L.)[J]. Aquaculture，2020，520：735003.

[5] BAO Z D，ZHU Y M，FENG Y M，et al. Enhancement of lipid accumulation and docosahexaenoic acid synthesis in *Schizochytrium* sp. H016 by exogenous supplementation of sesamol[J]. Bioresource Technology，2022，345：126527.

[6] ROHMAN F S，ZAHAN K A，AZMI A，et al. Optimal feeding strategy in fermentation of docosahexaenoic acid production by *Schizochytrium* sp.[J]. Chemical Engineering & Technology，2022，45(11)：1960-1968.

[7] NGUYEN H C，SU C H，YU Y K，et al. Sugarcane bagasse as a novel carbon source for heterotrophic cultivation of oleaginous microalga *Schizochytrium* sp.[J]. Industrial Crops and Products，2018，121：99-105.

[8] OROZCO COLONIA B S，VINÍCIUS DE MELO PEREIRA G，SOCCOL C R. Omega-3 microbial oils from marine thraustochytrids as a sustainable and technological solution：a review and patent landscape[J]. Trends in Food Science & Technology，2020，99：244-256.

[9] 黎丽，窦光鹏，霍文严，等. 裂殖壶菌发酵产DHA油脂的生产工艺优化[J]. 中国油脂，2015，40(6)：77-81.
LI L，DOU G P，HUO W Y，et al. Optimization of fermentation process for production of DHA oil by *Schizochytrium* sp.[J]. China Oils and Fats，2015，40(6)：77-81.(in Chinese)

[10] HAUVERMALE A，KUNER J，ROSENZWEIG B，et al. Fatty acid production in *Schizochytrium* sp.：involvement of a polyunsaturated fatty acid synthase and a type I fatty acid synthase[J]. Lipids，2006，41(8)：739-747.

[11] 龚定芳，熊祎楠，孙佼文，等. 常压室温等离子体诱变选育DHA高产菌株[J]. 中国油脂，2019，44(3)：118-122.
GONG D F，XIONG Y N，SUN J W，et al. Mutation breeding *Schizochytrium* strains producing high-yield DHA *via* atmospheric and room temperature plasmas[J]. China Oils and Fats，2019，44(3)：118-122.(in Chinese)

[12] YIN F W，ZHANG Y T，JIANG J Y，et al. Efficient docosahexaenoic acid production by *Schizochytrium* sp. *via* a two-phase pH control strategy using ammonia and citric acid as pH regulators[J]. Process Biochemistry，2019，77：1-7.

[13] ZHAO G F，ZHAO J，ZHANG X R，et al. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) tuber：a novel and promising feedstock for enhanced high-value docosahexaenoic acid production by *Schizochytrium* sp.[J]. Industrial Crops and Products，2022，188：115597.

[14] 廖祥兵，陈晓明，肖伟，等. DNS法定量测定还原糖的波长选择[J]. 中国农学通报，2017，33(15)：144-149.
LIAO X B，CHEN X M，XIAO W，et al. The wavelength selection of reducing sugar quantitatively determined by DNS method[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin，2017，33(15)：144-149.(in Chinese)

[15] REN L J，HUANG H，XIAO A H，et al. Enhanced docosahexaenoic acid production by reinforcing acetyl-CoA and NADPH supply in *Schizochytrium* sp. HX-308[J]. Bioprocess and Biosystems Engineering，2009，32(6)：837-843.

[16] 李俊. 甲羟戊酸途径的调控对裂殖壶菌脂肪酸代谢的影响[D]. 厦门：厦门大学，2019.

[17] LI L L，PENG M L，GE C Y，et al.(−)-Hydroxycitric acid reduced lipid droplets accumulation *via* decreasing acetyl-CoA supply and accelerating energy metabolism in cultured primary chicken hepatocytes[J]. Cellular Physiology and Biochemistry，2017，43(2)：812-831.

[18] 张朵朵，牛鹏飞，葛鑫禹，等. 超临界CO_2萃取羊肉油脂及其脂肪酸组成的变化[J]. 食品与生物技术学报，2023，42(7)：37-43.
ZHANG D D，NIU P F，GE X Y，et al. Supercritical CO_2 extraction of mutton fat and changes in its fatty acid composition[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2023，42(7)：37-43.(in Chinese)

[19] 孙佼文，丁健，贾禄强，等. *Schizochytrium* sp. S31生产DHA底物流加策略及呼吸特性分析[J]. 中国油脂，2018，43(2)：110-114.
SUN J W，DING J，JIA L Q，et al. Substrate flow strategy for producing DHA by *Schizochytrium* sp. S31 and respiration characteristics analysis[J]. China Oils and Fats，2018，43(2)：110-114.(in Chinese)

[20] 冯静静，吴静，李伟，等. 两阶段转速调控对纳豆芽胞杆菌合成维生素K_2的影响[J]. 食品与生物技术学报，2022，41(2)：37-45.
FENG J J，WU J，LI W，et al. Effects of two-stage rotational speed regulation on vitamin K_2 synthesis by *Bacillus subtilis* natto[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2022，41(2)：37-45.(in Chinese)

（责任编辑：龚梦月）