

## 发酵耦合酶解高效制备右旋糖酐工艺研究\*

# Study on Efficient Preparation for Dextran by Fermentation Coupled with Enzymatic Hydrolysis

常国炜<sup>1</sup>,梁达奉<sup>1,2\*\*</sup>,张九花<sup>1</sup>,曾练强<sup>1</sup>,谭文兴<sup>1</sup>,黎志德<sup>1</sup>

CHANG Guo-wei<sup>1</sup>,LIANG Da-feng<sup>1,2</sup>,ZHANG Jiu-hua<sup>1</sup>,ZENG Lian-qiang<sup>1</sup>,TAN Wen-xing<sup>1</sup>,LI Zhi-de<sup>1</sup>

(1. 广州甘蔗糖业研究所,广东省甘蔗改良与生物炼制重点实验室,广东广州 510316;2. 广西农垦糖业集团股份有限公司,广西糖业研发中心,广西南宁 530002)

(1. Guangdong Key Lab of Sugarcane Improvement & Biorefinery, Guangzhou Sugarcane Industry Research Institute, Guangzhou, Guangdong, 510316, China; 2. Guangxi State Farms Sugar Industrial Group Company Limited, Guangxi Sugarcane Industry R&D Center, Nanning, Guangxi, 530002, China)

**摘要:**【目的】改进肠膜明串珠菌(*Leuconostoc mesenteriodes* 31208)发酵蔗糖制备右旋糖酐的工艺,实现灵活控制分子量及高效制备右旋糖酐的目标。【方法】采用单因素实验法研究蔗糖浓度对蔗糖转化的影响,确定蔗糖流加工艺的各个参数,以及右旋糖酐酶添加耦合蔗糖流加工的工艺条件。【结果】通过调控右旋糖酐酶添加工艺,可灵活控制右旋糖酐的分子量,无需再经酸水解及乙醇分级沉淀就可以得到不同分子量的右旋糖酐,节省无水乙醇的用量;且确定的最佳蔗糖流加工工艺参数:初始蔗糖浓度为 130 g/L,流加速度为  $12 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ,起始流加时间为 16 h。与蔗糖单批发酵结果相比,该工艺可使蔗糖转化效率提高约 75%,特定分子量(5000~7500 Da)右旋糖酐浓度可达 108 g/L,相应提高 2.3 倍,收率稳定在 32%左右。【结论】该方法具有发酵易调控、高效和成本低的优点,对大规模生产右旋糖酐具有重要的参考价值和应用价值。

**关键词:**右旋糖酐 酶法 右旋糖酐酶 流加

**中图分类号:**TQ463 **文献标识码:**A **文章编号:**1005-9164(2014)06-0619-05

**Abstract:**【Objective】This paper aims to control dextran molecular flexibly and prepare dextran efficiently with *Leuconostoc mesenteriodes* 31208 by improving the preparation process.【Methods】The effect of sucrose concentration on sucrose conversion, the parameters of sucrose feeding, as well as the process conditions coupled enzymatic adding and sucrose feeding were studied by means of single factor experiment.【Results】The molecular weight of dextran was controlled flexibly by changing the enzymatic hydrolysis process, and the parameters of optimal sucrose feeding process were the initial sucrose concentration of 130 g/L with the flow acceleration of  $12 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  at 16 h. Compared with the single batch fermentation, the conversion rate improved by 75% and specific-molecular dextran(5000~7500 Da)increased over time, and the yield of dextran was about 32%.【Conclusion】This method has the characteristics of simple fermentation control, high efficiency and low cost, which was important to the preparation of dextran for industrial production.

收稿日期:2014-10-10

修回日期:2014-10-20

作者简介:常国炜(1989-),男,助理工程师,主要从事资源科学与工程研究。

\* 国家 863 计划项目(2012AA021504)和八桂学者建设工程专项经费项目资助。

\*\* 通讯作者:梁达奉(1964-),男,博士,教授级高级工程师,八桂学者,主要从事制糖生物技术研究,E-mail:ldfjt@126.com。

**【研究意义】**右旋糖酐(Dextran),又称葡聚糖,是以若干葡萄糖为单体脱水形成的多聚糖,是世界上最早发现且用于血浆代用品的微生物多糖<sup>[1]</sup>,临床上主要有3种规格用于人体血浆代用品:右旋糖酐-70、右旋糖酐-40和右旋糖酐-20<sup>[2]</sup>。此外,一些特定分子量的右旋糖酐还可以形成一系列用途极为广泛的衍生物,具有多重药理活性<sup>[3]</sup>,例如重均分子量为5000~7500 Da的右旋糖酐可作为原料合成抗贫血性药物右旋糖酐铁,与二价铁的复合物相比,多糖铁络合物副作用小、性质稳定、疗效快等优点使其迅速发展<sup>[4]</sup>。目前,右旋糖酐的制备方法主要有微生物发酵法和固定化酶法<sup>[5]</sup>。固定化酶法具有可连续给料、酶可重复使用且产品易分离等优点,但存在纯化酶价格昂贵、产物分子量难以控制等问题,难以应用于大规模右旋糖酐的生产;生物发酵法是通过某些细菌如肠膜明串珠菌(*Leuconostoc mesenteriodes*)分泌的右旋糖酐蔗糖酶催化蔗糖水解来实现的,但由于发酵过程中菌体生长和产物生成会引起发酵液粘度增大,使得物料交换不充分,致使蔗糖转化效率低下,且产物分子量难以控制,无法直接应用。因此,市场上的右旋糖酐处于缺乏状态,有效地改良右旋糖酐的制备工艺,实现右旋糖酐分子量可控及右旋糖酐的高效制备,具有重要的应用价值。**【前人研究进展】**右旋糖酐酶(exodextranase, EC3.2.1.11)是专一性地裂解右旋糖酐分子中的 $\alpha$ -1,6-葡萄糖苷键的水解酶,可由青霉菌、曲霉菌及酵母工程菌等制备,目前已应用于处理蔗糖生产中的右旋糖酐污染,预防牙菌斑形成<sup>[6]</sup>。梁达奉等<sup>[7]</sup>成功将 $\alpha$ -葡聚糖酶的基因克隆到表达载体pGAPZ $\alpha$ A上,并在毕赤酵母受体菌KM71H实现了 $\alpha$ -葡聚糖酶的组成型表达,使发酵过程无需使用甲醇进行诱导,提高了生产和使用安全性;Goulas等<sup>[8]</sup>研究了联合使用右旋糖酐蔗糖酶和右旋糖酐酶制备低聚异麦芽糖的方法;许朝芳等<sup>[9]</sup>通过优化右旋糖酐酶降解小分子右旋糖酐制备特定分子量的右旋糖酐工艺,使产物分子量稳定,且分布范围窄;常国炜等<sup>[10]</sup>对右旋糖酐酸水解和酶水解产物的成分和分子量分布作了对比研究,为酶解法生产药用右旋糖酐新工艺打下坚实基础。**【本研究切入点】**目前国内主要采用传统间歇式单罐发酵,蔗糖浓度过高会增加发酵液本身的粘度,加之发酵过程中右旋糖酐不断合成,分子量增大,并与菌体相互缠绕,也会增大发酵液粘度,均不利于发酵液与菌体的传质,影响菌体生长和产物合成,因此间歇发酵过程只能得到较低的菌体量和产物

产量,使得发酵效率低下,且发酵结束后需再通过酸解和乙醇分级沉淀得到不同分子量的药用右旋糖酐,严重限制了生产线连续作业能力,产品成本较高<sup>[11,12]</sup>。若能通过生物工程新手段来实现连续化高效生产特定分子量的右旋糖酐,即可大大提高发酵效率,降低生产成本。**【拟解决的关键问题】**立足于生产实际,以产物分子量灵活控制及提高蔗糖转化效率为目的,探索右旋糖酐酶添加工艺,并耦合蔗糖流加工艺,达到高效制备特定分子量右旋糖酐的目的。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌种及酶制剂

肠膜明串珠菌(*Leuconostoc mesenteriodes* 31208),菌种编号GSICC 31208;右旋糖酐酶为本实验室由毕赤酵母发酵制备而成。

### 1.2 主要试剂及仪器

实验所用试剂均为市售国产试剂,购买自广东康龙生物科技有限公司。

实验所用仪器:PR1203分析天平、LDZX-30KBS灭菌锅、SW-CJ-1CU超净工作台、GRJB-5D 5L发酵罐、日本岛津LC-20A高效凝胶色谱仪。

### 1.3 培养基

菌种保藏和传代培养均为CM0043#培养基。

种子培养基:Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.4 g/L,蛋白胨 2 g/L, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.3 g/L,蔗糖 130 g/L, 121 °C, 灭菌 20 min。

发酵培养基:Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.4 g/L,蛋白胨 2 g/L, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.3 g/L,蔗糖浓度根据实验需要进行调整, 121 °C, 灭菌 20 min。

### 1.4 实验方法

#### 1.4.1 培养条件

菌种活化:取出冻存于-80 °C冰箱的菌种,待融化后用接种环挑取少量菌液在斜面培养基上划线,静置于26 °C恒温培养培养24 h,得到斜面菌种。

一级摇瓶种子:用接种环从活化好的斜面菌种挑取一环菌落接种于装有47.5 mL种子培养基的250 mL摇瓶中,于26 °C, 100 r/min摇床培养24 h,得到一级种子液。

二级摇瓶种子:将一级种子液以10%的接种量接种于3瓶装有90 mL种子培养基的500 mL摇瓶中,于26 °C, 100 r/min摇床培养24 h,得到二级种子液。

5L发酵罐单批发酵培养:总装液量3.0 L,接种

量 10%，发酵温度为 26℃，转速 50~100 r/min，并持续通微量无菌空气，通过蠕动泵自动流加 0.5 mol/L 的 NaOH 溶液控制发酵液的 pH 值维持在 6.5 左右。

#### 1.4.2 蔗糖浓度对蔗糖转化的影响

调节发酵培养基中的初始蔗糖浓度分别 100 g/L、130 g/L、150 g/L 和 210 g/L 进行单批发酵，其他培养条件与 1.4.1 节相同，待蔗糖残留量不再变化时结束发酵并比较各蔗糖浓度对蔗糖转化率及平均转化效率的影响。

#### 1.4.3 右旋糖酐酶添加耦合蔗糖流加工艺过程

培养条件与单批发酵培养条件一致。待发酵进行至细胞对数生长期(约 16 h)时，向发酵罐内添加右旋糖酐酶，使其在发酵罐内的浓度为 0.1~0.2 U/mL，目的是降低发酵液的粘度，保证物料充分交换的同时以一定的流加速度流加蔗糖溶液，在发酵结束前 6~10 h 再向发酵体系添加浓度分别为 0.4 U/mL、0.6 U/mL、1.0 U/mL、1.4 U/mL 的右旋糖酐酶，至发酵罐内蔗糖不再消耗及分子量达到要求时结束发酵。

#### 1.4.4 蔗糖流加工艺各参数的确定

(1)选择实验 1.4.2 确定的最佳蔗糖浓度(130 g/L)为流加发酵的初始蔗糖浓度，流加含蔗糖 240 g 的蔗糖溶液，流加速度选择经验值  $12 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ，工艺过程与 1.4.3 节相同。根据凝胶渗透(gel permeation chromatography, GPC)测定结果比较相同的蔗糖总浓度下，单批发酵与流加发酵方式对菌体转化蔗糖的影响；

(2)初始蔗糖浓度为 130 g/L，蔗糖流加量为 240 g，改变蔗糖流加速度，分别控制在  $12 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 、 $16 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  和  $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ，工艺过程与 1.4.3 节相同，比较流加过程中发酵液中的蔗糖残留量变化；

(3)初始蔗糖浓度为 130 g/L，流加速度为  $12 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ，改变蔗糖流加量分别为 360 g、480 g、600 g 和 720 g，工艺过程与 1.4.3 节相同，比较蔗糖流加量对发酵时间、右旋糖酐浓度及产率的影响。

#### 1.4.5 凝胶渗透色谱法测定条件

蔗糖、果糖、右旋糖酐含量及右旋糖酐重均分子量采用凝胶渗透色谱法(Gel Permeation Chromatography, GPC)测定，具体条件：色谱柱为 Shodex KS803-17(300 mm ×  $\Phi$  7.8 mm)，利用 RI 检测器检测，以纯水作为流动相，流速为 1.0 mL/min，进样体积 10  $\mu$ L，凝胶色谱柱温为 50℃。

#### 1.4.6 右旋糖酐酶酶活测定

酶液原样适当稀释后备用，取 900  $\mu$ L 2.0% 的葡聚糖(T2000)液，置于 55℃ 恒温水浴中至少保温 5 min，然后加 100  $\mu$ L 稀释后的酶液精确反应 10 min，立即加入 2 mL DNS 以终止反应，于沸水浴 5 min，迅速将其冷却，用蒸馏水定容至 25 mL，于 540 nm 下测定吸光值。根据标准曲线的回归方程求得相对应的葡萄糖的量，并折算出酶活。

酶活定义：在上述条件下，每分钟从葡聚糖底物中释放出 1  $\mu$ mol 还原糖所需的酶量为 1 个酶活单位，以 U 表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 蔗糖浓度对蔗糖转化的影响

蔗糖不仅是肠膜明串珠菌生长所需的碳源，同时也是诱导其产生右旋糖酐蔗糖酶的关键物质<sup>[13]</sup>，蔗糖浓度对蔗糖的转化效率及右旋糖酐的产量有很大的影响。从图 1 可看出，当初始蔗糖浓度过低时(100 g/L)，发酵 24 h 的蔗糖转化率为 83.7%，且蔗糖平均转化速率仅为  $3.57 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ，可见低蔗糖浓度诱导产生的右旋糖酐蔗糖酶量越少，蔗糖的利用率也就越低，对蔗糖转化不利；当蔗糖浓度提高至 210 g/L 时，菌体适应期延长，发酵 44 h 的蔗糖转化率仅为 89.6%，分析原因是蔗糖浓度大以及菌体生长与右旋糖酐产物合成均导致发酵液粘度增大，不利于发酵体系的传质，影响发酵效率；当蔗糖浓度为 130 g/L 时，蔗糖的转化率及平均转化速率均最大，分别为 91.7%、 $4.68 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ，由此，选择 130 g/L 为菌体生长与发酵的最适初始浓度，可在最短时间达到最佳生长状态。

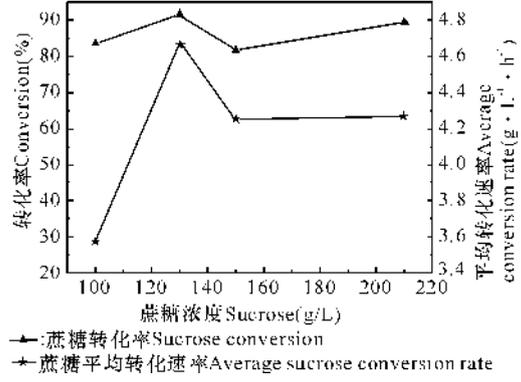


图 1 不同的蔗糖浓度对蔗糖转化的影响

Fig. 1 Effect of different concentration of sucrose on sucrose conversion

从图 2 可以看出，从 16 h 开始蔗糖的转化速率急速提高，菌体开始旺盛生长，因此，为了使菌体能够

以最大的转化速率消耗蔗糖,保持菌体的最佳生长状态,选择 16 h 为蔗糖起始流加时间,并以该时间的最大蔗糖转化速率作为流加速度选择的参考。

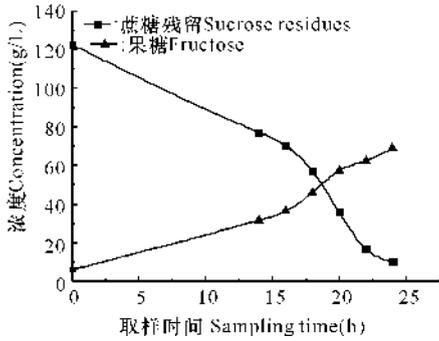


图 2 蔗糖浓度为 130 g/L 时对蔗糖转化的影响

Fig. 2 Effect of sucrose with 130 g/L on sucrose conversion

## 2.2 蔗糖流加工工艺各参数的确定

### 2.2.1 蔗糖流加工工艺对蔗糖转化及产物产量的影响

从图 3 可看出,以流加速度  $12 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  流加 240 g 蔗糖时,消耗总蔗糖浓度为 210 g/L 仅需 32 h,最终的蔗糖转化率为 92.3%,蔗糖转化速率为  $5.99 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ,特定分子量右旋糖酐浓度为 66.9 g/L,收率为 34.9%。与单批发酵 210 g/L 蔗糖结果相比,蔗糖转化速率提高了 27.7%,表明右旋糖酐酶添加耦合蔗糖流加工工艺对提高蔗糖转化效率及产物产量有较显著的效果。

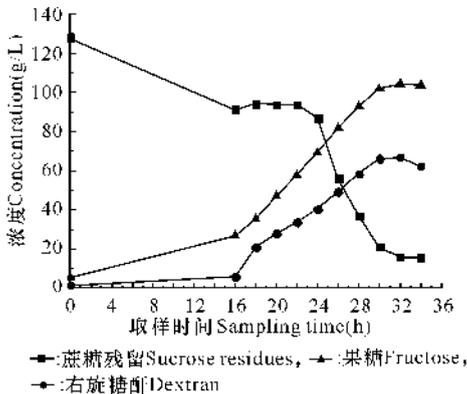


图 3 蔗糖流加工工艺对蔗糖转化及产物产量的影响

Fig. 3 Effect of sucrose feeding on sucrose conversion and the production of dextran

### 2.2.2 蔗糖流加速度对菌体转化蔗糖的影响

不同的蔗糖流加速度对发酵均有不同程度的影响,由图 4 可知,当蔗糖流加速度为  $12 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  时,流加过程中发酵罐内蔗糖残留量基本稳定,说明流加入发酵罐内的蔗糖恰好被菌体消耗,维持了菌体最佳的生长状态;当蔗糖流加速度为  $16 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  时,流加过程中发酵罐内蔗糖残留量会随着流加时间的推移有少量累积,若延长流加时间,发酵体系中的蔗糖累积会越来越多,不利于菌体的生

长与产物发酵;当蔗糖流加速度继续提高至  $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  时,在流加过程中发酵罐内蔗糖残留量呈现明显的积累,蔗糖消耗非常缓慢,可见蔗糖流加速度远大于菌体对蔗糖的消耗速率,造成的蔗糖积累延长发酵时间,大大降低了发酵效率。因此,选择  $12 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  为最适流加速度。

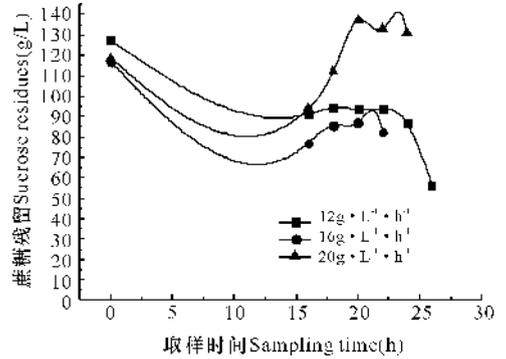


图 4 不同流加速度下蔗糖残留量的变化

Fig. 4 Changes of sucrose residues with different concentration of sucrose

### 2.2.3 蔗糖流加量对菌体制备右旋糖酐的影响

由图 5 可以看出,随蔗糖流加量的增大,发酵液中右旋糖酐浓度也不断提高,蔗糖流加量提高至 720 g 时,发酵 41 h 后蔗糖不再消耗,发酵液中特定分子量的右旋糖酐浓度高达 107.8 g/L,比单批最优蔗糖浓度发酵所得的右旋糖酐浓度提高了 2.3 倍,且发酵液中右旋糖酐产率稳定,显著提高了发酵液中右旋糖酐的浓度,提高分离沉淀时乙醇利用率,大大减少了无水乙醇的用量,降低了分离成本。

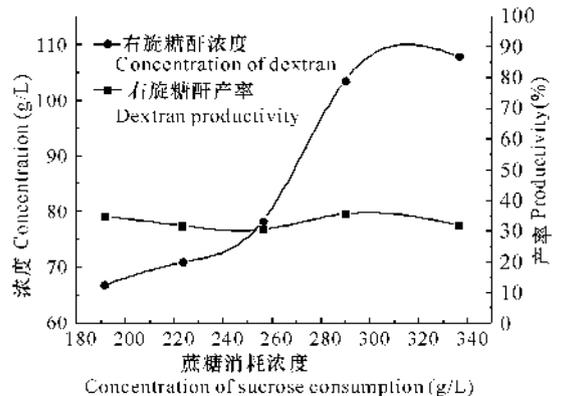


图 5 不同蔗糖流加量对右旋糖酐发酵的影响

Fig. 5 Effect of sucrose feeding amount on dextran production

## 2.3 右旋糖酐酶添加工艺对产物分子量和产量的影响

如图 6 所示,随着右旋糖酐酶添加量增大,产物的重均相对分子量也逐渐减小,右旋糖酐酶剪切右旋糖酐的效率也越高。当蔗糖流加量为 360 g 时,加入  $1.4 \text{ U/mL}$  的右旋糖酐酶所得的右旋糖酐的重均

相对分子量在要求的分子量范围(5000~7500 Da)。如果用量过多,则产物重均相对分子质量过低,得到的产物只能是低聚右旋糖酐,同时,右旋糖酐酶量的增大增加了生产成本,且产物重均相对分子质量下降趋势不呈线性关系。因此,需要根据蔗糖流加量来改变右旋糖酐水解酶的添加量,有效控制右旋糖酐的分子量。

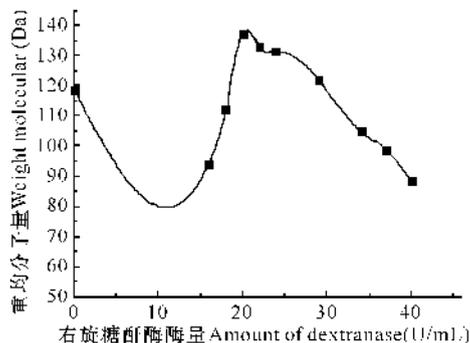


图6 产物重均分子量与右旋糖酐酶酶量的关系

Fig. 6 Relation between of dextranase dosage and molecular weight of dextran

### 3 讨论

通过改进肠膜明串珠菌制备右旋糖酐的工艺研究可看出:右旋糖酐酶的添加一方面降低了发酵液粘度,提高菌体与物料交换的充分性;另一方面是降解大分子右旋糖酐为特定分子量的右旋糖酐。在发酵至16 h添加右旋糖酐水解酶的浓度不易过大,否则容易造成小分子量产物所占比例较大;在发酵结束前6~10 h时再次向发酵体系添加不同浓度的右旋糖酐水解酶将决定产物的分子量,即添加量越小,产物分子量越大;反之则越小。因此,通过优化右旋糖酐酶的添加量,可灵活控制产物的重均分子量,无需酸解后的多级分离处理;同时,蔗糖转化效率比传统单批发酵时提高了75%,且发酵液中特定分子量右旋糖酐的浓度可达108 g/L,甚至更高,远远高于单批蔗糖发酵时的右旋糖酐浓度,节省了后续分离沉淀的无水乙醇用量,进一步实验可继续提高蔗糖的流加量,最大程度提高发酵液中右旋糖酐浓度,为大规模工业化生产右旋糖酐奠定基础。本文对右旋糖酐传统发酵工艺的改进,突破了传统的单批发酵产物分子量不可控及蔗糖利用浓度低的难题,为高效制备右旋糖酐的工艺提供了初步数据,对我国右旋糖酐工业化生产技术的升级、改善产物的分子量分布以及提高产品质量与产率均有重要意义。

#### 参考文献:

[1] 李清娣,高歌. 右旋糖酐工艺与影响质量的因素[J]. 中广西科学 2014年12月 第21卷第6期

国医学工业杂志,1994,25(2):91-92.

Li Q D, Gao G. Technology for dextran and factors influencing its quality [J]. Chinese Journal of Pharmaceuticals, 1994, 25(2): 91-92.

[2] 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典(2000版)(二部)[M]. 北京:化学工业出版社,2000:111-115.

Pharmacopoeia Commission of the People's Republic of China. Pharmacopoeia (2000) of the People's Republic of China (Second) [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2000: 111-115.

[3] 李晓慧. 生物转化合成右旋糖酐[D]. 南宁:广西大学,2008.

Li X H. Synthesizing of Dextran by Biology Transforming [D]. Nanning: Guangxi University, 2008.

[4] 宋春和. 右旋糖酐铁制备方法的探讨[J]. 实用医技杂志, 1994, 4(7): 526-527.

Song C H. Discussion of dextran-iron preparation [J]. Journal of Practical Medical Techniques, 1994, 4(7): 526-527.

[5] 张陈. 生物法生产低聚葡萄糖的研究[D]. 南宁:广西大学,2008.

Zhang C. Study on the Production of Glucose Oligosaccharide by Biological Method [D]. Nanning: Guangxi University, 2008.

[6] Marotta M, Martino A, de Rosa A, et al. Degradation of dental plaque glucans and prevention of glucan formation using commercial enzymes [J]. Process Biochemistry, 2002, 38(1): 101-108.

[7] 梁达奉,黄曾慰,曾练强,等.  $\alpha$ -葡聚糖酶在毕赤酵母中的组成型表达[J]. 华南理工大学学报, 2012, 40(5): 96-100.

Liang D F, Huang Z W, Zeng L Q, et al. Constitutive expression of dextranase in *pichia pastoris* [J]. Journal of South China University of Technology, 2012, 40(5): 96-100.

[8] Goulas A K, Fisher D A, Grimble G K, et al. Synthesis of isomaltooligosaccharides and oligodextrans by the combined use of dextranucrose and dextranase [J]. Enzyme and Microbial Technology, 2004, 35(4): 327-338.

[9] 许朝芳,张丽娟,阮恒,等. 右旋糖酐酶降解小分子右旋糖酐制备特微分子右旋糖酐[J]. 化工技术与开发, 2012, 41(12): 10-12.

Xu Z F, Zhang L J, Ruan H, et al. Preparation of sugar micro-molecular dextran by degradation of small molecule dextran with dextran enzyme [J]. Technology & Development of Chemical Industry, 2012, 41(12): 10-12.

(下转第633页 Continue on page 633)

- [6] 姜岷,郭亭,汤艳,等.一株高抗逆性贝氏梭菌及其应用:中国,ZL201110020102.6[P].2011-09-07.  
Jiang M, Guo T, Tang Y, et al. A *Clostridium beijerinckii* mutant with highly-resistance and its application[P]. Chinese patent, ZL201110020102.6[P]. 2011-09-07.
- [7] Guo T, Tang Y, Zhang Q Y, et al. *Clostridium beijerinckii* mutant with high inhibitor tolerance ob-

tained by low-energy ion implantation[J]. J Ind Microbiol Biotechnol, 2012, 39(3): 401-407.

- [8] Laroussi M. Low temperature plasma-based sterilization: Overview and state-of-the-art[J]. Plasma Proc Polym, 2005, 2(5): 391-400.

(责任编辑:尹 闯)

(上接第 623 页 Continue from page 623)

- [10] 常国炜,林荣珍,曾练强,等.右旋糖酐酸解与酶解产物比较[J].甘蔗糖业,2012(6):33-38.  
Chang G W, Lin R Z, Zeng L Q, et al. Comparison of dextran hydrolyzates between acidic and enzymatic hydrolysis[J]. Sugarcane and Canesugar, 2012(6): 33-38.
- [11] 张洪斌,姚日生,朱慧霞,等.发酵法生产右旋糖酐的工艺研究[J].合肥工业大学学报,2004,27(7):783-787.  
Zhang H B, Yao R S, Zhu H X, et al. Study on the production of dextran by fermentation[J]. Journal of Hefei University of Technology, 2004, 27(7): 783-787.
- [12] Kim D, Robyt J F, Lee S Y, et al. Dextran molecular size and degree of branching as a function of sucrose

concentration, pH, and temperature of reaction of *Leuconostoc mesenteroides* B-512FMCM dextransucrase [J]. Carbohydrate Research, 2003, 338 (11): 1183 - 1189.

- [13] 蓝平,李晓慧,梁明征,等.发酵法制备右旋糖酐菌种培养[J].食品科技,2012,37(8):27-31.  
Lan P, Li X H, Liang M Z, et al. The spawn culture conditions for fermentation preparation of dextran [J]. Food Science and Technology, 2012, 37(8): 27-31.

(责任编辑:陆 雁)