

## ◆ 生物科学 ◆

海洋细菌 THN1 发酵产右旋糖酐酶的条件优化及酶学性质研究<sup>\*</sup>张岩<sup>1,2</sup>,吴丹<sup>1,2</sup>,徐海洋<sup>1,2</sup>,徐淋香<sup>1,2,3\*\*</sup>

(1. 江苏海洋大学,江苏连云港 222005;2. 江苏省海洋生物资源与环境重点实验室,江苏连云港 222005;3. 江苏省海洋生物产业技术协同创新中心,江苏连云港 222005)

**摘要:**为提高海洋细菌 THN1 产右旋糖酐酶的能力,本研究利用单因素试验和响应面法对菌株 THN1 的发酵条件进行优化,并探究菌株 THN1 右旋糖酐酶的酶学性质。优化结果表明,菌株 THN1 的最佳产酶条件为麸皮 5 g/L、胰蛋白胨 20 g/L、NaCl 10 g/L、右旋糖酐 T20 5 g/L,陈海水配置,pH 值为 8.2,30℃ 培养 24 h。在此条件下,菌株 THN1 的发酵液酶活力达到 3.71 U/mL,是优化前(初始酶活力为 0.12 U/mL)的 31 倍。酶学性质分析表明,右旋糖酐酶的最适反应温度为 40℃,在 30℃ 条件下放置 5 h 酶活力基本保持稳定;最适反应 pH 值为 7.5,在 pH 值为 5.0-9.0 的条件下相对酶活力能保持 50% 以上。本研究成果可为缩短右旋糖酐酶生产周期和降低成本提供数据支撑,并认为菌株 THN1 右旋糖酐酶在口腔护理方面具有良好的应用潜力。

**关键词:**海洋细菌 右旋糖酐酶 优化 响应面 酶学性质

中图分类号:Q939.9 文献标识码:A 文章编号:1005-9164(2021)06-0599-08

DOI:10.13656/j.cnki.gxkx.20220117.008

## 0 引言

右旋糖酐酶是一类特异性水解右旋糖酐中 $\alpha$ -1,6糖苷键的葡聚糖酶,在医药及食品领域应用广泛<sup>[1,2]</sup>。在医药领域,利用右旋糖酐酶制备低分子量的右旋糖酐可用于治疗脑梗死、改善病患机体的凝血性能,也可作为代血浆或光学相干断层扫描的造影剂<sup>[3-5]</sup>;右旋糖酐酶还可以水解牙菌斑生物膜中的右

旋糖酐,破坏生物膜的网状结构,让细菌无法黏附,从而防治龋齿<sup>[6]</sup>。在食品领域,利用右旋糖酐酶可以清除制糖过程中所产生的高分子量右旋糖酐,防止机器堵塞并提高得糖率和生产效率<sup>[7,8]</sup>;也可利用右旋糖酐酶制备低聚异麦芽糖,并作为益生元添加到食品中。

目前已报道产右旋糖酐酶的菌株大多是真菌,虽然酶活较高,但其发酵周期长,作用条件偏酸性,且部

收稿日期:2021-09-29

\* 江苏省博士后科研资助计划(2019K215)和江苏海洋大学科研基金(KQ17019)资助。

## 【作者简介】

张岩(1990-),男,硕士研究生,主要从事海洋微生物研究。

## 【\*\*通信作者】

徐淋香(1988-),女,副教授,主要从事海洋微生物研究,E-mail:xulinxiang1988@163.com。

## 【引用本文】

张岩,吴丹,徐海洋,等.海洋细菌 THN1 发酵产右旋糖酐酶的条件优化及酶学性质研究[J].广西科学,2021,28(6):599-606.

ZHANG Y, WU D, XU H Y, et al. Study on Optimization of Fermentation Conditions and Enzymatic Properties of Dextranase Produced by Marine Bacteria THN1 [J]. Guangxi Sciences, 2021, 28(6): 599-606.

分真菌发酵液中含有抗生素或有毒代谢产物,使得该类酶很难应用于口腔护理类产品中。得益于海洋的特殊环境,海洋来源的右旋糖酐酶通常具有生产周期短、最适反应温度低、在中性或偏碱性条件下有很好的活性、无有毒次级代谢产物等特点,因而这类酶在口腔护理方面的研究价值较高<sup>[9-11]</sup>。

目前有关提升右旋糖酐酶产酶能力的报道已有很多,例如朱慧霞等<sup>[12]</sup>利用正交试验法将绳状青霉菌产的右旋糖酐酶的酶活力提高约 4.4 倍;黄瑞杰等<sup>[13]</sup>通过响应面法提高圆弧青霉的产酶能力,相较于优化前提高 30.1%;杨齐等<sup>[14]</sup>亦是通过对单一目标因素进行实验安排,找到最优或者近似最优条件。响应面法不仅计算简单,而且可以在寻求最佳发酵条件时对试验中的各个因素进行连续分析,同时还考虑了试验的随机误差。本研究利用单因素法结合响应面法对一株产右旋糖酐酶的海洋细菌 THN1 进行发酵条件优化,并初步研究该酶的酶学性质,旨在为该酶的进一步研究及应用提供数据支撑。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

#### 1.1.1 试剂及样品来源

胰蛋白胨和酵母粉购自 Oxoid 公司,其他试剂购自国药集团化学试剂有限公司。

产右旋糖酐酶的海洋纤维化纤维菌(*Cellulosimicrobium cellulans*) THN1 为本实验室从连云港田湾核电站附近海泥中筛选得到,已保藏于中国典型培养物保藏中心,保藏号为 CCTCC M2020430。

#### 1.1.2 培养基

2216E 固体培养基:胰蛋白胨 5 g/L,酵母粉 1 g/L,琼脂 15 g/L,pH 自然,陈海水配置。

LB 培养基:胰蛋白胨 10 g/L,酵母粉 5 g/L,NaCl 10 g/L,pH 自然,去离子水配置。

初始产酶培养基:胰蛋白胨 5 g/L,酵母粉 1 g/L,右旋糖酐 T20 10 g/L,pH 自然,陈海水配置。

### 1.2 仪器与设备

超净工作台(SW-CJ-1D)购自苏州净化设备有限公司;高压灭菌锅(GI54DWS)和生化培养箱(SPX-250B-Z)购自上海博迅实业有限公司医疗设备厂;恒温摇床(Innova 44R)购自美国 Eppendorf 公司;酶标仪(1510)和台式离心机(Legend Micro 17R)购自美

国 Thermo Fisher 公司。

### 1.3 方 法

#### 1.3.1 菌株的活化、发酵及粗酶液制备

在 2216E 固体培养基上使用三区划线法对保藏于  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱的菌株 THN1 进行划线,置于  $37^{\circ}\text{C}$  培养箱培养 48-72 h。挑取单菌落于 LB 培养基中, $30^{\circ}\text{C}$  培养 20 h 后,以 4% 的接种量接种于初始产酶培养基中, $30^{\circ}\text{C}$  培养 24 h。将发酵液于 10 000 r/min、 $4^{\circ}\text{C}$  条件下离心 15 min,收集上清液,即为粗酶液。

#### 1.3.2 酶活力测定

取 50  $\mu\text{L}$  粗酶液,加入 150  $\mu\text{L}$  3% 右旋糖酐 T20 溶液(20 mol/L pH 值为 7.5 的 Tris-HCl 缓冲液配置), $40^{\circ}\text{C}$  水浴 15 min 后加入 200  $\mu\text{L}$  3,5-二硝基水杨酸(DNS)终止反应,沸水浴 5 min 后迅速冷却,加入 3 mL 去离子水,震荡摇匀,吸取 100  $\mu\text{L}$  反应液于 540 nm 处测定吸光值<sup>[15]</sup>。对照组为先加 DNS 再加底物,其他操作同实验组。

酶活力定义:每分钟产生 1  $\mu\text{mol}$  还原糖所需要的酶量为一个酶活力单位(U)。

#### 1.3.3 单因素实验

将初始产酶培养基中的酵母粉改为 1 g/L 其他碳源(乳糖、蔗糖、玉米淀粉、麸皮、葡萄糖、糊精、马铃薯淀粉、大麦粉、麦芽糖),其他条件不变,按照 1.3.1 节方法提取粗酶液并按照 1.3.2 节方法测定酶活力,确定最佳碳源。

在最佳碳源的基础上,用 5 g/L 的其他氮源(酵母粉、鱼粉蛋白胨、豆粕、氯化铵、硫酸铵、花生粕、尿素、干酪素、硝酸钠)代替胰蛋白胨,其他条件同上,测定酶活力,确定最佳氮源。

在最优碳源、氮源基础上,分别改变碳源的添加量(1,5,10,15,20 g/L)、氮源添加量(5,8,10,15,20 g/L)、培养温度(15,20,25,30,37,40,45 $^{\circ}\text{C}$ )、右旋糖酐 T20 的添加量(0,1,2,3,4,5,8,10,15 g/L)、初始 pH 值(5.0,6.0,7.0,7.5,8.0,9.0,10.0)以及 NaCl 的添加量(0,5,10,15,20,30,40,50 g/L),研究这些因素对菌株 THN1 产酶的影响。

#### 1.3.4 数据处理

每个实验组均做 3 组平行,每组平行测 3 组数据,计算酶活力平均值及误差。采用 Origin 2018 进行统计分析和绘图。

#### 1.3.5 响应面 Box-Behnken (BB) 实验设计

基于单因素实验结果,选取胰蛋白胨添加量(A)、NaCl 添加量(B)、初始 pH 值(C)3 个因素,以

右旋糖酐酶活力 ( $R_1$ ) 作为响应值, 通过 Design-Expert 12 软件设计实验组合优化发酵条件(表 1)。

表 1 Box-Behnken 实验设计各因素和水平值

Table 1 Factors and levels of Box-Behnken experiment design

因素 Factors	水平 Levels		
	-1	0	1
A 胰蛋白胍 Tryptone (g/L)	5	15	25
B NaCl (g/L)	5	15	25
C 初始 pH 值 Initial pH value	6	7.5	9

### 1.3.6 菌株 THN1 生长曲线及产右旋糖酐酶时间进程

根据响应面实验, 获得产右旋糖酐酶的最优发酵条件, 在此条件下培养菌株 THN1。期间每 2 h 取一次发酵液样品, 测定样品在波长 600 nm 处的吸光值, 根据 1.3.2 节的方法测定酶活力。

### 1.3.7 酶学性质测定

**最适反应温度及温度稳定性:** 将粗酶液与底物混合后置于不同温度下 (20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60℃) 反应 15 min, 测定酶活力, 确定该酶的最适反应温度; 将粗酶液分别置于 30, 40, 50℃ 水浴中孵育, 每隔 1 h 取出适量粗酶液, 在最适反应温度下测定残余酶活力。

**最适 pH 值及 pH 稳定性:** 配置终浓度为 50 mmol/L 不同 pH 值 (3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 7.5, 8.0, 8.5, 9.0) 的 3% 右旋糖酐 T20 底物, 将粗酶液与上述底物混合后, 在最适反应温度下测定酶活力, 确定该酶的最适反应 pH 值; 在粗酶液中加入终浓度为 50 mmol/L 的不同 pH 值 (3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 7.5, 8.0, 8.5, 9.0) 缓冲液放置于 4℃ 冰箱 24 h 后, 在最适反应温度和 pH 条件下测定残余酶活力。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验筛选结果

由图 1a-h 可知, 在碳源为麸皮、氮源为胰蛋白胍、麸皮添加量为 5 g/L、胰蛋白胍添加量为 15 g/L、培养温度为 30℃、诱导剂右旋糖酐 T20 添加量为 5 g/L、培养基初始 pH 值为 7.5、NaCl 添加量为 15 g/L 等单因素条件下, 菌株 THN1 产右旋糖酐酶的能力分别达到最优。其中, 当改变氮源添加量 (5→15 g/L) 和 NaCl 添加量 (0→15 g/L), 发酵液测得的酶

活力分别从 0.28 U/mL 提升到 1.17 U/mL 以及从 1.79 U/mL 提升到 2.33 U/mL, 菌株 THN1 产右旋糖酐酶能力均显著提升。

氮源是构成生物体蛋白质、酶、核酸及其他氮素化合物的重要基础物质, 因而氮源添加量的选择对微生物生长尤为重要。在本研究中, 当氮源添加到一定浓度后, 继续添加反而使酶活力降低(图 1d), 这与张彦君等<sup>[16]</sup> 以及侯殿志等<sup>[17]</sup> 的研究结果相似。本研究中的右旋糖酐酶产自一株海洋细菌 THN1, 该菌株有一定的嗜盐性, 因此在一定范围内该菌产右旋糖酐酶能力会随着 NaCl 浓度的增加而增强, 但超过峰值后产酶能力急剧下降(图 1h), 这与 Lai 等<sup>[15]</sup> 的研究结果相似。此外, 初始 pH 值会直接影响到微生物的营养吸收以及代谢过程中酶的活性(图 1g)。因此, 后续选择胰蛋白胍添加量、NaCl 添加量和初始 pH 值进行响应面实验的优化因素。

### 2.2 Box-Behnken 试验结果

根据单因素实验结果, 选取胰蛋白胍添加量 (A)、NaCl 添加量 (B)、初始 pH 值 (C) 3 个主要影响因素, 以右旋糖酐酶活力 ( $R_1$ ) 作为响应值, 进行发酵条件响应面优化。试验结果见表 2, 建立回归模型如下:

$$R_1 = 3.21 + 0.4713A - 0.67B + 0.9178C - 0.293AB + 0.292AC + 0.0905BC - 0.7493A^2 - 0.8463B^2 - 1.06C^2.$$

方差分析(表 3)显示, 所建立模型具有极显著性 ( $P = 0.0006$ ), 决定系数  $R^2 = 0.956$ , 失拟项不显著 ( $P = 0.1254$ ), 说明试验模型拟合度较好。各因素对产右旋糖酐酶的影响由大到小排序为初始 pH 值 (C) > NaCl 添加量 (B) > 胰蛋白胍添加量 (A)。

图 2 是各影响因素与右旋糖酐酶活力关系的三维响应面图。通过分析得到菌株 THN1 的最佳产酶条件为胰蛋白胍 19.97 g/L, NaCl 10.43 g/L, pH 值为 8.22, 结合回归模型计算得出最大酶活力为 3.70 U/mL。为方便实际研究, 选取胰蛋白胍 20 g/L, NaCl 10 g/L, pH 值为 8.2 进行验证实验, 获得右旋糖酐酶活力为  $(3.71 \pm 0.01)$  U/mL, 是初始酶活力 (0.12 U/mL) 的 31 倍, 并且与预测值无显著差异 ( $P > 0.05$ ), 说明该模型能较好地预测实际发酵情况。

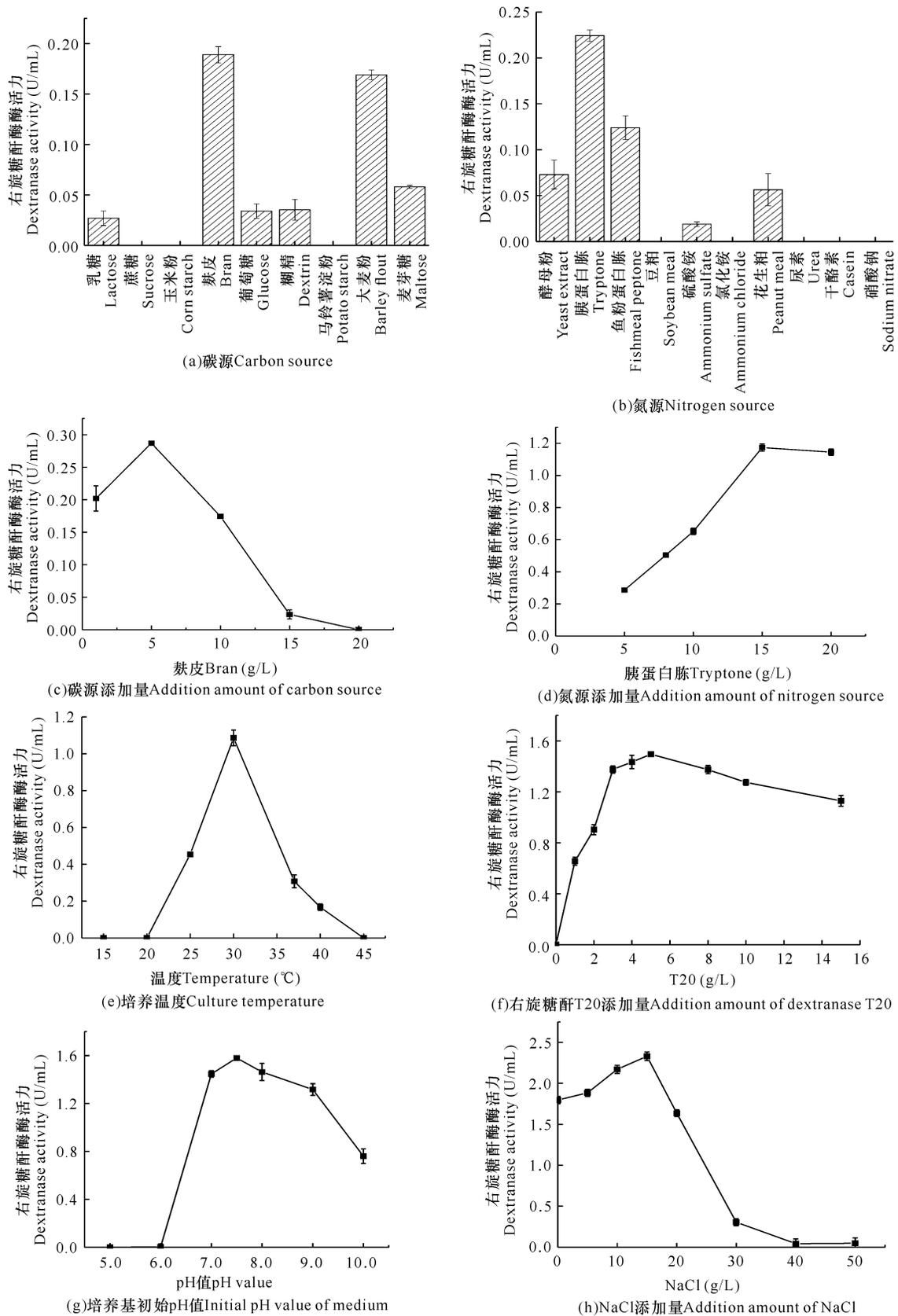


图 1 各因素对菌株 THN1 产右旋糖酐酶的影响

Fig. 1 Effect of various factors on the production of dextranase from strain THN1

表 2 Box-Behnken 试验设计及结果

Table 2 Box-Behnken experiment design and results

编号 No.	因素 Factors			右旋糖酐酶 酶活力 Dextranase activity ( $R_1$ , U/mL)
	A 胰蛋白胨 添加量 Tryptone addition amount (g/L)	B NaCl 添 加量 NaCl addition amount (g/L)	C 初始 pH 值 Initial pH value	
1	15	25	9.0	1.73
2	5	25	7.5	0.69
3	25	25	7.5	0.73
4	25	15	6.0	0.68
5	15	25	6.0	0
6	15	15	7.5	3.25
7	25	15	9.0	3.38
8	15	5	9.0	2.42
9	15	15	7.5	2.74
10	5	15	9.0	1.53
11	25	5	7.5	3.12
12	15	15	7.5	3.33
13	15	5	6.0	1.05
14	5	5	7.5	1.92
15	5	15	6.0	0
16	15	15	7.5	3.45
17	15	15	7.5	3.28

表 3 回归模型方差分析

Table 3 Variance analysis of regression model

来源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 Freedom	均方 Mean squares	F 值 F Value	P 值 P Value	显著性 Significance
模型 Model	24.11	9	2.68	16.88	0.000 6	**
A	1.78	1	1.78	11.20	0.012 3	*
B	3.59	1	3.59	22.63	0.002 1	**
C	6.74	1	6.74	42.46	0.000 3	**
AB	0.343 4	1	0.343 4	2.16	0.184 8	
AC	0.341 1	1	0.341 1	2.15	0.186 1	
BC	0.032 8	1	0.032 8	0.206 4	0.663 3	
A <sup>2</sup>	2.36	1	2.36	14.90	0.006 2	**
B <sup>2</sup>	3.02	1	3.02	19.00	0.003 3	**
C <sup>2</sup>	4.75	1	4.75	29.94	0.000 9	**
残差 Residual	1.11	7	0.158 7			
失拟项 Lack of fit	0.808 7	3	0.269 6	3.57	0.125 4	
纯误差 Pure error	0.302 1	4	0.075 5			
总计 Total	25.22	16				

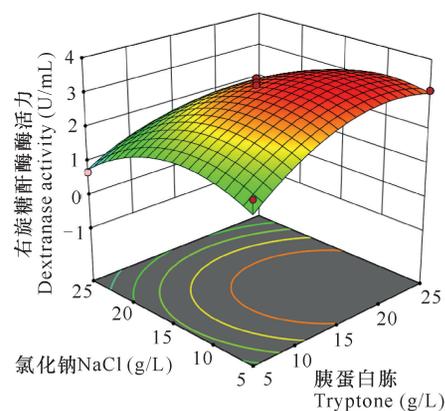
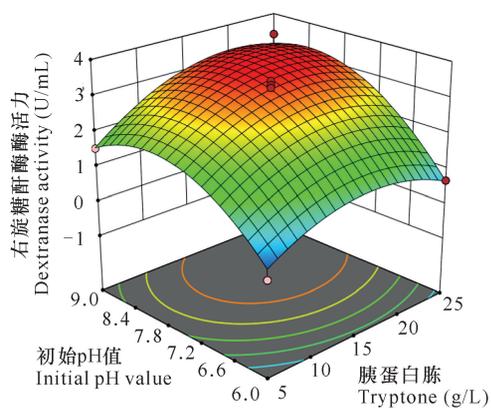
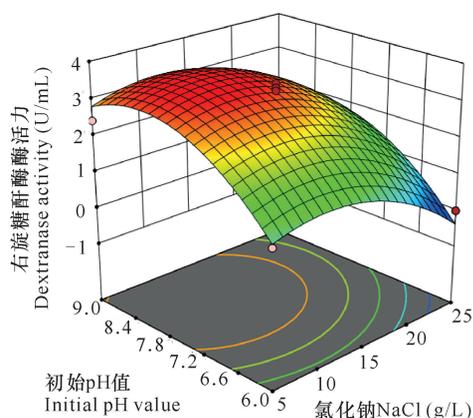
注: \* 表示显著 ( $P < 0.05$ ), \*\* 表示极显著 ( $P < 0.01$ )Note: \* means significant ( $P < 0.05$ ), \*\* means extremely significant ( $P < 0.01$ )胰蛋白胨和NaCl添加量  
Addition amount of tryptone and NaCl胰蛋白胨添加量和初始pH值  
Tryptone addition amount and initial pH valueNaCl添加量和初始pH值  
NaCl addition amount and initial pH value

图 2 胰蛋白胨、NaCl 和 pH 值对菌株 THN1 产酶影响的响应面

Fig. 2 Response surface plots of effects of interaction between tryptone, NaCl and initial pH value on dextranase producing by strain THN1

## 2.3 菌株 THN1 细胞生产和产酶时间关系

图 3 是菌株 THN1 在最佳产右旋糖酐酶条件下的生长曲线及产酶时间进程。菌株 THN1 在发酵 12 h 后生长进入对数期, 在 30 h 后进入稳定期。在 12

h前,右旋糖酐酶活力几乎为0;在12-26h期间,右旋糖酐酶活力随着菌体量的增长而提高,并在25h左右达到最高;在26h后,右旋糖酐酶活力随着发酵时间的增长而呈下降趋势。以上结果表明菌株 THN1 在培养24h左右达到最高产酶水平。

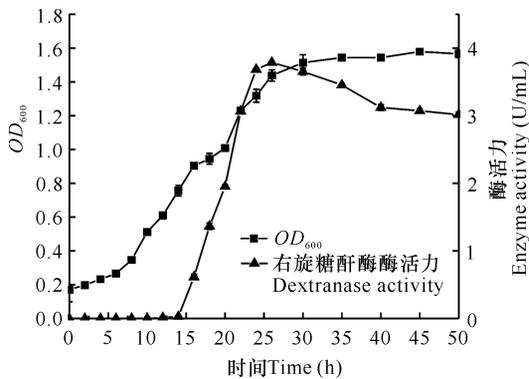
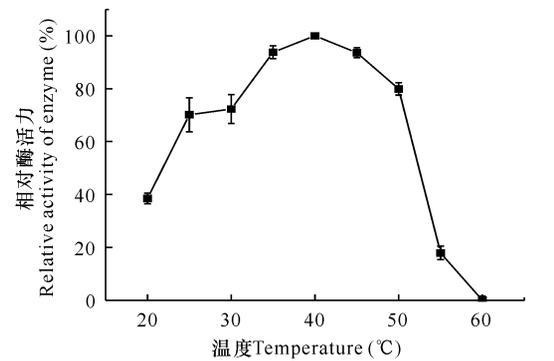


图3 菌株 THN1 细胞生长及产右旋糖酐酶的时间进程曲线  
Fig. 3 Time course of the cell growth and dextranase production by strain THN1

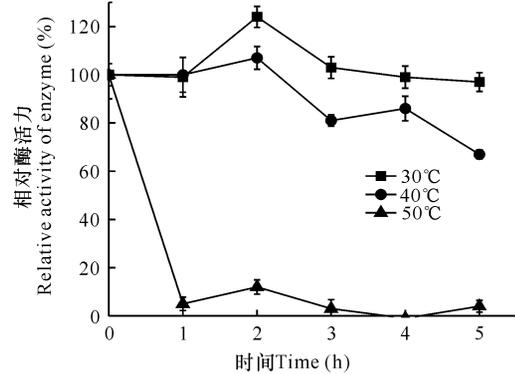
## 2.4 酶学性质

如图4a和4b所示,菌株 THN1 产右旋糖酐酶的最适反应温度为 $40^{\circ}\text{C}$ ,在 $25-50^{\circ}\text{C}$ 时相对酶活力超过70%,在 $30^{\circ}\text{C}$ 时有较好的温度稳定性,放置5h基本没有活力损失,这与张宇琪等<sup>[18]</sup>有关细菌来源右旋糖酐酶的报道一致。菌株 THN1 产右旋糖酐酶的最适pH值为7.5,在pH值为7.0-9.0条件下能保持60%以上的相对酶活力(图4c)。此外,右旋糖酐酶在pH值为5.0-9.0条件下放置24h( $4^{\circ}\text{C}$ ),相对酶活力仍能保持50%以上,其中,pH值为5.5的乙酸钠缓冲液、pH值为7.0的磷酸盐缓冲液和pH值为9.0的Tris-HCl缓冲液中均能保持80%以上的相对酶活力(图4d),表明该酶在中性以及弱碱性条件下稳定性较好。

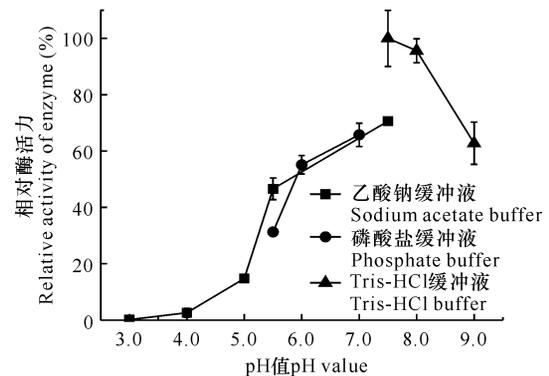
菌株 THN1 产右旋糖酐酶的最适温度、pH值分别是 $40^{\circ}\text{C}$ 和7.5,这与Ren等<sup>[10]</sup>以及Deng等<sup>[19]</sup>发现的海洋来源的右旋糖酐酶性质相似。上述文献中均有右旋糖酐酶对牙菌斑生物膜的清除和抑制作用的相关实验。因此,为拓展右旋糖酐酶在口腔护理方面的应用,后续研究可探索 THN1 右旋糖酐酶对牙菌斑生物膜的抑制和清除效果,以及研究市售口腔护理产品中化学试剂之间对该酶的功效是否存在协同或拮抗作用。



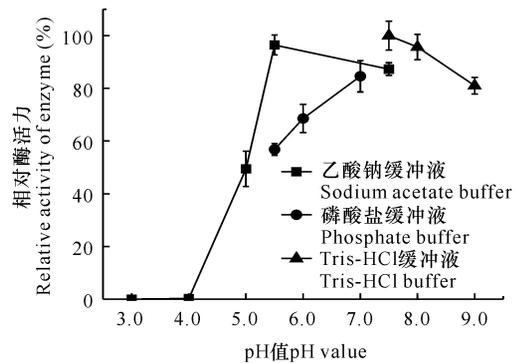
(a)温度的影响 Effects of temperature



(b)温度稳定性 Stability of temperature



(c) pH值的影响 Effects of pH value



(d) pH值的稳定性 Stability of pH value

图4 菌株 THN1 右旋糖酐酶酶学性质

Fig. 4 Enzymatic properties of dextranase from strain THN1

### 3 结论

菌株 THN1 产右旋糖酐酶的最佳条件为麸皮 5 g/L, 胰蛋白胨 20 g/L, 右旋糖酐 T20 5 g/L, NaCl 10 g/L, pH 值为 8.2, 陈海水配置, 30℃ 培养 24 h, 在此条件下右旋糖酐酶的酶活力为  $(3.71 \pm 0.01)$  U/mL, 是初始产酶培养基酶活力的 31 倍左右, 这将有利于右旋糖酐酶生产周期的缩短和生产成本降低。该酶的最适反应温度为 40℃, 在 25 - 50℃ 条件下有较好的活性; 最适反应 pH 值为 7.5, 在 30℃ 和 40℃ 条件下有很好的稳定性, 对口腔牙菌斑生物膜的清理具有良好的应用潜能。

#### 参考文献

- [1] 常国炜, 黄曾慰, 黎志德, 等. 右旋糖酐酶开发及应用研究进展[J]. 生物技术通报, 2019, 35(6): 196-204.
- [2] VOLKOV P V, GUSAKOV A V, RUBTSOVA E A, et al. Properties of a recombinant GH49 family dextranase heterologously expressed in two recipient strains of *Penicillium* species [J]. Biochimie, 2019, 157: 123-130.
- [3] 蔡正轩. 疏血通注射液联合低分子右旋糖酐治疗进展性脑梗 46 例疗效观察[J]. 中医临床研究, 2017, 9(5): 72-73.
- [4] 甘微苇. 右旋糖酐蔗糖酶与右旋糖酐酶协同催化制备低聚右旋糖酐与低聚糖的研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2014.
- [5] VIJAYVERGIYA R, RATHEESH K J, GUPTA A. Low molecular weight dextran: An alternative to radiographic contrast agent for optical coherence tomography imaging [J]. IHJ Cardiovascular Case Reports, 2017, 1(1): 10-11.
- [6] 祖航天, 田小鹏, 胡杰, 等. 产右旋糖酐酶 *Pseudarthrobacter* sp. RN22 的筛选、鉴定及酶学性质研究[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(17): 76-83.
- [7] RERNGSAMRAN P, TEMJITPUKDEE P, ASSAVA-SIRIJINDA N, et al. Cloning, characterization, and heterologous expression of a dextranase gene from *Penicillium pinophilum* SMCU3-14 [J]. ScienceAsia, 2014, 40(6): 405-413.
- [8] 钟志才, 马步, 徐杰荣, 等. 葡聚糖酶应用于甘蔗制糖过程的试验研究[J]. 甘蔗糖业, 2014(3): 41-46.
- [9] 望魁甲, 王笃强, 廖远平, 等. 重组右旋糖酐酶的表达、纯化及性质研究[J]. 生物化工, 2018, 4(2): 30-35.
- [10] REN W, CAI R H, YAN W L, et al. Purification and characterization of a biofilm-degradable dextranase from a marine bacterium [J]. Marine Drugs, 2018, 16(2): 51.
- [11] 胡杰, 刘鑫, 祖航天, 等. 产右旋糖酐酶 *Marinimicrobium* sp. G1 的筛选、酶性质及产物研究[J]. 食品科技, 2021, 46(5): 25-32.
- [12] 朱慧霞, 王雅洁, 邓胜松, 等. 绳状青霉菌发酵产右旋糖酐酶的条件研究[J]. 食品科学, 2010, 31(19): 288-291.
- [13] 黄瑞杰, 廖安平, 李媚, 等. 响应面法优化圆弧青霉 (CICC-4022) 产右旋糖酐酶的培养条件[J]. 食品工业科技, 2019, 40(18): 171-176.
- [14] 杨齐, 黄斌良, 吴华德, 等. 右旋糖酐酶生产菌株的分离鉴定及发酵培养基优化[J]. 广西科学, 2021, 28(1): 89-91, 101.
- [15] LAI X H, LIU X, LIU X Q, et al. The marine *Catenovulum agarivorans* MNH15 and dextranase: Removing dental plaque [J]. Marine Drugs, 2019, 17(10): 592.
- [16] 张彦君, 魏晋, 周鑫辉, 等. 响应面法优化产内切葡聚糖酶重组大肠杆菌发酵培养基[J]. 四川农业大学学报, 2017, 35(4): 581-586, 606.
- [17] 侯殿志, 王晓, 朱延光, 等. 肠膜明串珠菌产右旋糖酐蔗糖酶条件优化[J]. 食品科技, 2016, 41(4): 2-6.
- [18] 张宇琪, 张洪斌, 甘微苇, 等. 右旋糖酐酶研究进展 [J]. 生物工程学报, 2015, 31(5): 634-647.
- [19] DENG T, FENG Y L, XU L X, et al. Expression, purification and characterization of a cold-adapted dextranase from marine bacteria and its ability to remove dental plaque [J]. Protein Expression and Purification, 2020, 174: 105678.

# Study on Optimization of Fermentation Conditions and Enzymatic Properties of Dextranase Produced by Marine Bacteria THN1

ZHANG Yan<sup>1,2</sup>, WU Dan<sup>1,2</sup>, XU Haiyang<sup>1,2</sup>, XU Linxiang<sup>1,2,3</sup>

(1. Jiangsu Ocean University, Lianyungang, Jiangsu, 222005, China; 2. Jiangsu Key Laboratory of Marine Bioresources and Environment, Lianyungang, Jiangsu, 222005, China; 3. Co-Innovation Center of Jiangsu Marine Bio-industry Technology, Lianyungang, Jiangsu, 222005, China)

**Abstract:** In order to increase the dextranase production ability of a marine bacterium THN1, the fermentation conditions of strain THN1 were optimized by single factor test and response surface test, and the enzymatic properties of strain THN1 dextranase were explored in this study. The optimization results showed that the optimal dextranase production conditions of strain THN1 were as follows: wheat bran 5 g/L, tryptone 20 g/L, NaCl 10 g/L, dextran T20 5 g/L, aged seawater configuration, pH 8.2, and incubation at 30°C for 24 h. Under these conditions, the enzyme activity in the fermentation broth of strain THN1 reached 3.71 U/mL, it was 31 times that before optimization (the initial enzyme activity was 0.12 U/mL). Enzymatic properties analysis showed that the optimum reaction temperature of the dextranase was 40°C, and it was basically stable at 30°C for 5 h. The optimum reaction pH was 7.5, and the relative enzyme activity can maintain more than 50% under the condition of pH 5.0–9.0. The results of this research can provide data support for shortening the production cycle of dextranase and reducing costs. It is believed that strain THN1 dextranase has good application potential in oral care.

**Key words:** marine bacteria, dextranase, optimize, response surface, enzymatic properties

责任编辑:米慧芝



微信公众号投稿更便捷

联系电话:0771-2503923

邮箱:gxkx@gxas.cn

投稿系统网址: <http://gxkx.ijournal.cn/gxkx/ch>