

文章编号:1673-1689(2007)03-0100-06

乳酸菌 SK1.002 产 L-阿拉伯糖异构酶培养基优化及发酵条件

翁玮慧, 张华, 江波

(江南大学 食品科学与安全教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122)

摘要: L-阿拉伯糖异构酶能将 D-半乳糖异构成 D-塔格糖。通过单因素试验和快速登高法对乳酸菌 SK1.002 产 L-阿拉伯糖异构酶的培养基进行优化, 确定发酵优化条件为(组分 g/L): 麦芽糊精 28, 酵母膏 10, 玉米粉浆 22, 无水乙酸钠 10, K_3PO_4 0.2, NaCl 0.01, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.01, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2, $MnSO_4 \cdot 2H_2O$ 0.05, L-阿拉伯糖 2.5。发酵初始 pH 8.4, 培养温度 37 °C, 接种体积分数 3%, 培养时间 12 h。在此发酵条件下, 酶活达到了 7.28 U/mL。

关键词: 乳酸菌; L-阿拉伯糖异构酶; 塔格糖; 培养基优化; 发酵条件

中图分类号: TQ 920.1

文献标识码: A

Medium Optimization and Properties of L-Arabinose Isomerase Produced by *Lactobacillus* SK1.002

WENG Wei-hui, ZHANG Hua, JIANG Bo

(Key Laboratory of Food Science and Safety, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: L-arabinose isomerase mediates the isomerization of D-galactose into D-tagatose. In order to increase the production of L-arabinose isomerase, the culture medium of *Lactobacillus* SK1.002 was optimized through single-factor and fast uphill tests. The optimum medium as follow(g/L): maltodextrin 28, yeast extract 10, corn steep liquor 22, CH_3COONa 10, K_3PO_4 0.2, NaCl 0.01, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.01, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2, $MnSO_4 \cdot 2H_2O$ 0.05, L-arabinose 2.5. The optimum fermentation conditions were initial pH 8.4, cultivate temperature 37 °C, inoculation volume 3%, fermentation time 12 h. With the optimal nutritional and environmental conditions, the enzyme activity reached 7.28 U/mL.

Key words: *Lactobacillus*; L-arabinose isomerase; tagatose; medium optimization; fermentation condition

在生物体内, L-阿拉伯糖异构酶(EC 5.3.1.4) 转化 L-阿拉伯糖成 L-核酮糖。该酶对 L-阿拉伯糖

有较高的专一性, 但它也能转化其他糖类, 例如 D-半乳糖, D-果糖, L-果糖和 D-木糖等, 使它们异构成

收稿日期: 2006-02-02.

作者简介: 翁玮慧(1979-), 女, 上海人, 工学硕士. Email: wengweihui@126.com

通讯作者: 江波(1962-), 男, 江苏无锡人, 教授, 工学博士, 博导, 主要从事应用酶技术的研究. Email: bjiang@sytu.edu.cn

酮糖结构,因为这些糖类在结构上和 L-阿拉伯糖相似^[1]。

目前国外研究较多的是用 L-阿拉伯糖异构酶转化 D-半乳糖生产 D-塔格糖。塔格糖是一种稀有的天然己酮糖,它的商业价值在于其口感与蔗糖相似,甜度是蔗糖的 92%。另外 D-塔格糖与其他作为糖类替代物的多羟化合物不同,它具有低热量值,也不会造成轻度腹泻^[2]。

研究发现乳杆菌属,大肠杆菌(*Escherichia coli*),分支杆菌(*Mycobacterium*),枯草杆菌(*Bacillus subtilis*),节杆菌(*Arthrobacter*)等,都可以发酵产生 L-阿拉伯糖异构酶。Wootton^[3]等在 1993 年研究发现,乳酸菌能使 D-半乳糖转化成 D-塔格糖;进一步研究发现,这种生物转化是由 L-阿拉伯糖异构酶完成的。用 L-阿拉伯糖异构酶作为生物催化剂生产塔格糖的研究中,几乎所有 L-阿拉伯糖异构酶都通过基因重组和克隆技术,在大肠杆菌中复制、重组、表达,得到热稳定性非常好的重组体 L-阿拉伯糖异构酶,区别仅在于各研究所采用的产 L-阿拉伯糖异构酶的菌株不同。Kim^[4]等用的是 *Thermus* sp., Jorgensen^[5]等用的是 *Thermoanaerobacter mathranii*, Lee^[6]等用 *Thermotoga neapolitana*, Ibrahim 和 Spradlin^[7]用的是 *Lactobacillus petosus*。但在这些文献中都没有提到过发酵培养基及发酵条件的优化,国内也尚无有关报道。

作者所在实验室筛选得到一株乳酸菌菌株,发现该菌株能产 L-阿拉伯糖异构酶。通过单因素试验和快速登高法优化该菌株产 L-阿拉伯糖异构酶的培养基,并进行发酵条件的优化。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 菌种 乳酸菌 SK1.002,作者所在实验室分离保藏。

1.1.2 培养基

1)种子培养基:MRS 液体培养基。

2)发酵基础培养基(g/L):酵母膏 10,蛋白胨 10,葡萄糖 10,乙酸钠 10, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2, $\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.05, NaCl 0.01, K_3PO_4 0.2, FeSO_4 0.01; pH 6.8。

1.2 实验方法

1.2.1 培养方法

1)种子活化培养:挑 5 环菌体于 MRS 液体培养基中培养 12 h,发酵前经两次传代。

2)发酵培养方法:250 mL 的三角瓶中装入 100

mL 培养基,取培养 12 h 的种子培养液,按体积分数 1%的接种量接种,37 °C 静置培养 12 h。

1.2.2 粗酶液制备 发酵液冷冻离心(于 4 °C, 8 000 r/min 离心 10 min),弃去上清液,沉淀用 0.2 mol/L, pH 6.8 的磷酸盐缓冲液洗涤 2 次,最后沉淀分散于 0.2 mol/L, pH 6.8 的磷酸盐缓冲液,终体积是发酵液体积的 1/10,所得的细胞悬浮液即为粗酶液,于 4 °C 保存。

1.2.3 酶活力测定方法 L-阿拉伯糖异构酶活力定义:以半乳糖为底物,每毫升发酵液每分钟转化生成 1 μg 塔格糖所需的酶量为一个酶活力单位,以 U/mL 表示。

用经过改进的半胱氨酸-吡唑法测定^[3], 0.5 mL 0.83 mol/L 的底物(D-半乳糖,用 0.2 mol/L, pH 6.8 的磷酸盐缓冲液配制)加入 0.5 mL 粗酶液,60 °C 下反应 1 h,取 0.1 mL 反应液,加入 0.9 mL 0.1 mol/L 的 HCl 终止反应,再经适当稀释,测定塔格糖质量浓度。在相同的条件下,以加入同体积的 0.2 mol/L, pH 6.8 的磷酸盐缓冲液作对照。(塔格糖标准曲线: $y = 0.0237x - 0.0034$)

酶活力取 3 次平行实验的平均值。

1.2.4 还原糖的测定方法 3,5-二硝基水杨酸(DNS)法^[8]:取发酵液 1 mL,适当稀释,取稀释后的发酵液 1 mL 置于 25 mL 容量瓶中,加入 DNS 试剂 2 mL,置沸水浴中加热 2 min 显色,然后以流水迅速冷却,用去离子水定容至 25 mL,摇匀。以空白样调零,在 540 nm 处测定吸光度,根据标准曲线计算样品中的还原糖质量浓度。

1.2.5 菌液吸光值的测定方法 用 722 型分光光度计在 600 nm 条件下比色,测定菌液吸光值。

1.2.6 乳酸菌 SK1.002 的产酶曲线 菌体活化后,以体积分数 3%的接种量接种于优化好的培养基中,37 °C 静置培养,分别于 2、4、6、8、10、12、14、24、30、36、48、60 h 取样测定吸光值、pH 值、还原糖质量浓度及酶活。

2 结果与讨论

2.1 培养基优化

2.1.1 不同碳源对菌种产酶的影响 乳酸菌以有机碳源作为碳源和能源,能够利用的碳源主要是葡萄糖等单糖和一些寡糖^[9]。分别以葡萄糖、乳糖、麦芽糖、蔗糖、麦芽糊精和可溶性淀粉为碳源,各碳源的质量浓度为 1 g/dL,发酵基础培养基的其他组分不变,37 °C 静置培养 12 h 后测酶活,结果见表 1。

表 1 不同碳源和氮源对酶活的影响

Tab. 1 Effect of different carbon and nitrogen sources on enzyme activity

碳源质量浓度 1 g/dL	酶活/ (U/mL)	氮源质量浓度 1 g/dL	酶活/ (U/mL)
葡萄糖	2.18	蛋白胨	2.18
乳糖	2.36	牛肉浸膏	2.01
麦芽糖	1.40	硫酸铵	—
蔗糖	0.78	玉米浆	2.52
麦芽糊精	4.18	尿素	—
可溶性淀粉	2.48	脱脂大豆粕	1.40

注：(—)为未检测到或痕量

从表 1 可见,葡萄糖等单糖和二糖作为碳源时,所得的酶活力并不是很高,麦芽糊精为该菌的最适碳源。麦芽糊精为 DE 值小于 20 的淀粉水解产物^[10],含有少量的单糖,低聚糖成分较多。葡萄糖为碳源时酶活不高,可能与葡萄糖水平过高有关。阿拉伯糖操纵子中的 araB 基因,araA 基因,araD 基因分别编码阿拉伯糖代谢需要的 3 种酶:核酮糖激酶,阿拉伯糖异构酶和核酮-5-磷酸差向异构酶。3 个基因的表达受到 ara 操纵子中的第 4 个基因 araC 产物转录因子 AraC 的调控。当细胞中葡萄糖水平高(导致 cAMP 处于低浓度)且阿拉伯糖水平低时,AraC 阻遏 araB, araA, araD 的转录;当阿拉伯糖水平高,且葡萄糖水平低(cAMP 高)时,CAP-cAMP 复合物能够与 ara 操纵子中的 CAP 结合部位结合,使 DNA 突环打开^[11]。在 SK1.002 菌株发酵产 L-阿拉伯糖异构酶时,阿拉伯糖是诱导剂。微生物对进入细胞中的阿拉伯糖的利用,先是通过异构酶、激酶和差向异构酶的作用将阿拉伯糖转化为 5-磷酸-D-木酮糖,然后经过戊糖途径(HMP)进行代谢。阿拉伯糖操纵子就是将阿拉伯糖转换为 5-磷酸-D-木酮糖的这几种酶的合成和调控系统^[12]。由此可见,以葡萄糖为碳源时,它的水平远远高于 L-阿拉伯糖的水平,对阿拉伯糖操纵子产生了阻遏作用,从而抑制了 L-阿拉伯糖异构酶的合成。麦芽糊精中的葡萄糖含量少,在发酵过程中葡萄糖降解物的量不足以阻碍阿拉伯糖操纵子的正常作用。

2.1.2 不同氮源对菌种产酶的影响 乳酸菌蛋白酶活性较弱甚至缺乏必要的蛋白酶,因此它们的最适氮源是蛋白质的水解物:氨基酸,肽和蛋白胨等^[9]。考察了 6 种不同的氮源对 SK1.002 菌株发酵产 L-阿拉伯糖异构酶的影响,添加的质量浓度均为 1 g/dL,发酵基础培养基的其他组成不变,37

℃静置培养 12 h 后测酶活,结果见表 1。

表 1 的结果显示,乳酸菌 SK1.002 几乎不利用无机氮源硫酸铵和尿素,蛋白胨和玉米浆为氮源时酶活较高。玉米浆是由玉米浸泡水浓缩而成,玉米浸泡水是一种高蛋白、高能量营养物,同时含有丰富的维生素 B 和矿物质、可溶性氨基酸及各种生物营养素,还有还原糖等^[13]。乳酸菌不能合成一种或几种微量元素的有机化合物,必须由外界提供才能很好地进行生长繁殖,它们大多需要某些维生素和氨基酸等生长辅助因子^[9]。玉米浆丰富的营养成分对乳酸菌合成 L-阿拉伯糖异构酶十分有利。综合考虑,选择玉米浆为最适氮源。

2.1.3 不同诱导物对菌种产酶的影响 一般情况下,细胞内不产生诱导酶或产生量很少,诱导酶的合成依赖于某些物质(例如底物或底物类似物)的存在。Dobrogosz^[14]等研究发现,只有当培养基中加入 L-阿拉伯糖时,戊糖片球菌才能诱导合成 L-阿拉伯糖异构酶。由此推断 L-阿拉伯糖异构酶可能是一种诱导酶,诱导剂在 L-阿拉伯糖异构酶的合成过程具有重要的作用,只有在培养体系中加入特定的诱导剂后,L-阿拉伯糖异构酶的活力才能得到显著提高。作者选用 L-阿拉伯糖、D-半乳糖、L-鼠李糖、D-木糖、D-果糖为诱导剂,考察了它们的诱导作用,结果见图 1。从图 1 中可以看出,L-阿拉伯糖为诱导剂时的酶活最高,是最佳诱导剂,这可能是由于 L-阿拉伯糖是 L-阿拉伯糖异构酶底物。其他几种诱导剂也有一定的诱导作用,原因是它们在结构上与 L-阿拉伯糖有相似之处。

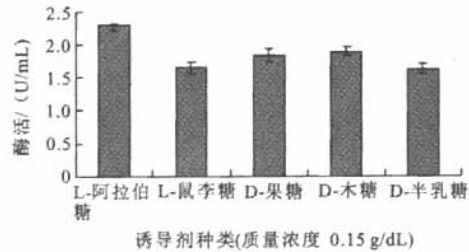


图 1 诱导剂种类对酶活的影响

Fig. 1 Effect of different revulsants on enzyme activity

2.1.4 不同金属离子对菌种产酶的影响 金属离子有的是组成细胞的化学元素,有的是酶活性部位的组成部分,它们是微生物生长的必要物质。乳酸菌要求的矿物元素,如磷、硫、钙、钠、钾、镁、铁、锌等,一部分可从有机营养物质中获得,有的则需要以无机盐的方式提供^[9]。分析了不同金属离子对菌株产酶的影响,结果见图 2。

从图 2 可知,不同金属离子对菌种产 L-阿拉伯

糖异构酶酶活力的影响差别很大。与未添加金属离子的酶活作比较, Zn^{2+} 对酶活有强烈的抑制作用, Fe^{3+} 和 Mg^{2+} 稍有促进作用, Mn^{2+} 对菌种产 L-阿拉伯糖异构酶的激活作用最大, 这可能是因为 Mn^{2+} 与 L-阿拉伯糖异构酶的活性部位有密切关系。因此, 在培养基中可加 Mn^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Mg^{2+} 等金属离子。

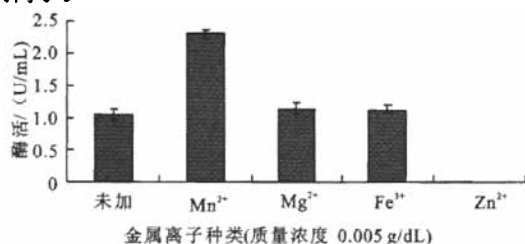


图2 金属离子对酶活的影响

Fig. 2 Effect of mental ions on enzyme activity

2.1.5 不同初始 pH 值对菌种产酶的影响 微生物生长的 pH 值有一定范围, pH 值除对细胞直接影响外, 还由于培养基中有机化合物的离子化作用而对细胞有间接影响。微生物自己的生命活动也会改变环境的 pH 值, 由于多数离子化了的发酵产物是酸性的, 因此微生物常使它们的环境 pH 值降低而不是升高^[15]。发酵液 pH 值对产物合成往往会有很明显的影。

不同发酵液初始 pH 值对乳酸菌 SK1.002 产 L-阿拉伯糖异构酶的影响见图 3。从图 3 可以看出, 发酵液的初始 pH 值对菌种产酶有很大的影响。发酵液初始 pH 值增加, 酶活增加, 到 pH 8 时达到最高值, 但在 pH 9 时又有下降。

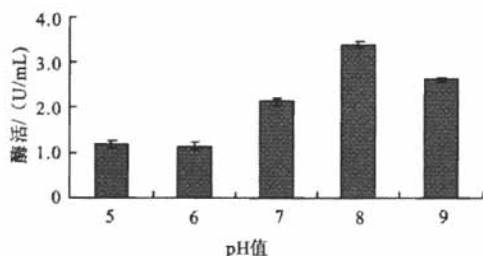


图3 不同初始 pH 对酶活的影响

Fig. 3 Effect of initial pH on enzyme activity

2.1.6 培养温度对菌种产酶的影响 温度是影响微生物生长和存活的主要因素之一, 对发酵效果影响也颇大。温度能从有利和有害两方面产生影响, 一方面温度升高, 细胞内的化学和酶反应也加快, 生长也较迅速; 另一方面蛋白质、核酸和其他细胞成分对高温都很敏感, 并且可能产生可逆失活^[16]。

作者选取 27、32、37、42 °C 这 4 个培养温度来

研究温度对乳酸菌 SK1.002 产 L-阿拉伯糖异构酶的影响, 结果见图 4。

结果表明, 乳酸菌 SK1.002 在 37 °C 发酵培养 12 h 后, 所得的酶活最高, 因此确定最适培养温度为 37 °C。27 °C 和 42 °C 酶活不高的原因可能是在较低的温度下菌体生长缓慢, 而在较高温度时细胞成分可能已经发生可逆失活。

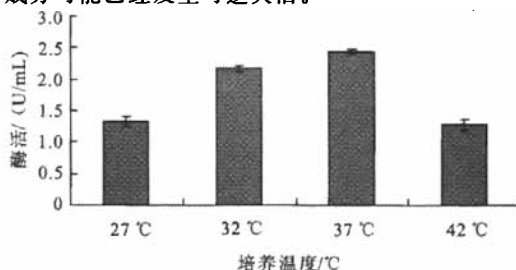


图4 温度对菌种酶活的影响

Fig. 4 Effect of fermentation temperature on enzyme activity

2.1.7 接种量对菌种产酶的影响 将种子培养液以不同的接种量接种于发酵培养基中, 37 °C 培养 12 h 后测酶活, 结果见图 5。

从图 5 可以看到, 接种体积分数从 1% 增加到 3% 时, 酶活是逐渐提高的, 这可能是因为接种量对延迟期有很大的影响, 增加接种量明显缩短延迟期。而接种量超过 3% 后, 酶活又有下降的趋势, 这是因为 araC 的基因表达受到自身产物 AraC 的自动调控, 在阿拉伯糖水平较高时 AraC 作为激活剂, 由于 araB、araA、araD 编码的酶催化阿拉伯糖代谢, 使得阿拉伯糖水平下降时, AraC 又转换成是一个阻遏物, 导致 araB、araA、araD 的转录减少, 尽管此时 CAP-cAMP 复合物仍然存在于细胞中^[11]。接种量增加到一定水平, 发酵液中的阿拉伯糖水平相对偏低, 使得 AraC 起到转录阻遏物的作用, 影响酶的合成。

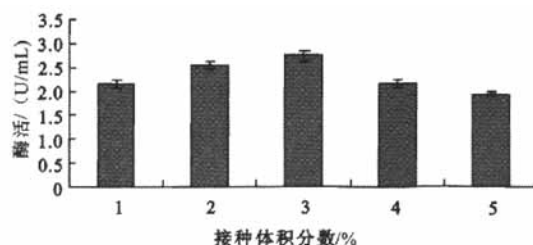


图5 接种体积分数对酶活的影响

Fig. 5 Effect of inoculation volume on enzyme activity

2.2 快速登高法优化培养基组成

快速登高法是寻找最优区域的一种方法。快速登高法的试验点是沿所谓“梯度方向”在因素空

间中运动,因此按快速登高法由一个试验点转向另一个试验点时,所有因素的水平都要同时变化。

本实验中被研究的因素为: Z_1 为麦芽糊精质量

浓度(g/L), Z_2 为玉米浆质量浓度(g/L), Z_3 为 L-阿拉伯糖质量浓度(g/L), Z_4 为 pH 值。实验方案和结果见表 2。

表 2 快速登高法实验方案与结果
Tab.2 Scheme and results of fast-uprise design

被研究因素	Z_1	Z_2	Z_3	Z_4	酶活 / (U/mL)			
零水平 z_{0j}	10(20)	10(14)	1.5(2.1)	7.0(7.6)				
变化区间 Δ_j	5(2)	5(2)	0.5(0.1)	1.0(0.2)				
上水平(+1)	15(17)	15(15.5)	2.0(1.7)	8.0(7.8)				
下水平(-1)	5(7)	5(5.5)	1.0(0.7)	6.0(7.4)				
因素编码符号	x_1	x_2	x_3	x_4	$x_1 x_2$	$x_1 x_3$	$x_1 x_4$	
1	1	1	1	1	1	1	1	6.19(6.60)
2	1	1	-1	-1	-1	-1	-1	5.26(6.81)
3	1	-1	1	-1	1	1	-1	5.45(5.87)
4	1	-1	-1	1	-1	-1	1	5.35(5.86)
5	-1	1	1	-1	-1	-1	1	4.76(5.50)
6	-1	1	-1	1	-1	1	-1	3.23(5.74)
7	-1	-1	1	1	1	-1	-1	4.70(4.72)
8	-1	-1	-1	-1	1	1	1	4.33(4.30)
9 $z_{0j}+e\Delta_j b_j$	15(22)	12(16)	1.8(2.2)	7.3(7.8)				6.60(6.49)
10 $z_{0j}+2e\Delta_j b_j$	20(24)	14(18)	2.1(2.3)	7.6(8.0)				6.81(6.39)
11 $z_{0j}+3e\Delta_j b_j$	25(26)	16(20)	2.4(2.4)	7.9(8.2)				5.87(6.58)
12 $z_{0j}+4e\Delta_j b_j$	30(28)	18(22)	2.7(2.5)	8.2(8.4)				5.86(7.28)
13 $z_{0j}+5e\Delta_j b_j$	35(30)	20(24)	3.0(2.6)	8.5(8.6)				5.51(6.10)
14 $z_{0j}+6e\Delta_j b_j$	40(32)	22(26)	3.3(2.7)	8.8(8.8)				5.74(5.96)
15 $z_{0j}+7e\Delta_j b_j$	45(34)	24(28)	3.6(2.8)	9.1(9.0)				4.72(5.76)
16 $z_{0j}+8e\Delta_j b_j$	50(36)	26(30)	3.9(2.9)	9.4(9.2)				4.30(5.70)

注:()中的数据为第二次快速登高法的实验结果

表 2 中的数据显示,经过两次快速登高法实验,酶活有了很大程度的提高,最高酶活达到了 7.28 U/mL,比基础培养基的增加了近 3 倍。优化培养基得到培养基组成(g/L):麦芽糊精 28,玉米浆 22,L-阿拉伯糖 2.5;发酵初始 pH 8.4。

2.3 乳酸菌 SK1.002 的产酶曲线

在确定了培养基组成和发酵条件后,将菌种在上述条件下培养 60 h,以确定菌种的最佳产酶时间和发酵过程中其他因素的变化,结果见图 6。

图 6 结果显示,随着发酵的进行,菌体量增加,在 12 h 达到最高,此后基本保持不变(略有下降,可

能因菌体自溶引起)。还原糖质量浓度呈现先增大后下降的趋势,这是因为培养基以麦芽糊精为碳源,其中含有较多低聚糖。在发酵初期,菌体利用麦芽糊精,将其分解为还原糖,来满足生长需要,菌体快速生长,还原糖的量也迅速下降,当菌体量基本不变时,还原糖的质量浓度也趋于稳定。在发酵过程中,pH 值也有明显变化。从发酵开始到第 12 小时,pH 值有一个明显下降的过程,12 h 后稳定在 4.2 左右。同时可以看到,在 pH 值下降的过程中,菌体量和酶活都急剧上升,这可能是因为发酵初期菌体消耗还原糖产生乳酸,使 pH 值下降,菌体在

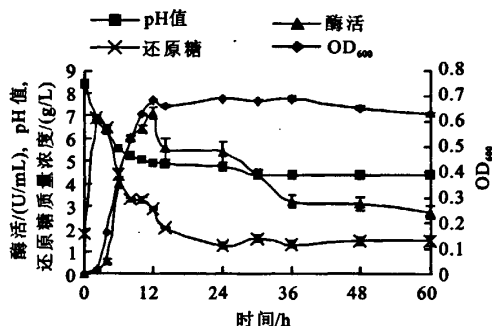


图6 乳酸菌 SK1.002 产酶过程曲线

Fig. 6 Time-course of enzyme production by *Lactobacillus* SK1.002

12 h 达到生长稳定期后, pH 值也趋于稳定, 而酶活在 12 h 达到最高后不再增加, 反而有所下降, 这可

能是因为此时阿拉伯糖已经处于一个较低的水平, AraC 又转换成一个阻遏物, 导致 *araB*、*araA*、*araD* 的转录减少, 虽然菌体量并无明显减少, 但阿拉伯糖异构酶并没有合成。若在 12 h 后向发酵培养基中流加诱导剂 L-阿拉伯糖异构酶, 则酶活可能会有所提高, 这有待于以后进一步研究。

3 结 论

优化后发酵培养基的组成 (g/L): 麦芽糊精 28, 酵母膏 10, 玉米粉浆 22, 无水乙酸钠 10, K_3PO_4 0.2, NaCl 0.01, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.01, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2, $MnSO_4 \cdot 2H_2O$ 0.05, L-阿拉伯糖 2.5。发酵条件为: 发酵初始 pH 8.4, 培养温度 37℃, 接种体积分数 3%, 培养时间 12 h。

参考文献 (References):

- [1] Kim P, Yoon S H, Seo M J, et al. Improvement of tagatose conversion rate by genetic evolution of thermostable galactose isomerase[J]. *Biotechnol Appl Biochem*, 2001, 34:99-102.
- [2] Roh H J, Yong S H, Kim P. Preparation of L-arabinose isomerase originated from *Escherichia coli* as a biocatalyst for D-tagatose production[J]. *Biotechnology Letters*, 2000, 22:197-199.
- [3] Cheetham P S J, Wootton A N. Bioconversion of D-galactose into D-tagatose[J]. *Enzyme Microb Technol*, 1993, 15:105-108.
- [4] Kim J W, Roh H J, Roh H J, et al. Production of tagatose by a recombinant thermostable L-arabinose isomerase from *Thermus sp.* IM6501[J]. *Biotechnology Letters*, 2003, 25:963-967.
- [5] Jorgensen F, Hansen O C, Stougaard P. Enzymatic conversion of D-galactose to D-tagatose: heterologous expression and characterization of a thermostable L-arabinose isomerase from *Thermoanaerobacter mathranii*[J]. *Appl Envir Microbiol*, 2004, 70:1397-1404.
- [6] Lee Y H, Kim B C, Lee H S, et al. Cloning, expression and characterization of L-arabinose isomerase from *Thermotoga neapolitana*: bioconversion of D-galactose to D-tagatose using the enzyme[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2002, 212:121-126.
- [7] Dische Z, Borenfreund E. A new spectrophotometric method for the detection and determination of keto sugar and trioses [J]. *J Biol Chem*, 1951, 192:583-587.
- [8] 无锡轻工业学院, 天津轻工业学院合编. 食品分析[M]. 北京:中国轻工业出版社, 1999.
- [9] 杨洁彬, 郭兴华, 凌代文, 等. 乳酸菌—生物学基础及应用[M]. 北京:中国轻工业出版社, 1996. 4.
- [10] Frabce R, Katz. Maltodextrins[J]. *Cereal Foods World*, 1986, 31(12):866-867.
- [11] 王希成. 生物化学[M]. 北京:清华大学出版社, 2001.
- [12] 魏述众. 生物化学[M]. 北京:中国轻工业出版社, 1996.
- [13] 刘亚伟. 玉米淀粉生产及转化技术[M]. 北京:化学工业出版社, 2003.
- [14] Walter J D, Ralph D D. Induction and repression of L-arabinose isomerase in *Pediococcus pentosaceus*[J]. *J Bacteriol*, 1963, 85:1350-1355.
- [15] 诸葛健, 王正祥. 工业微生物实验技术手册[M]. 北京:中国轻工业出版社, 1994.
- [16] 叶勤. 发酵过程原理[M]. 北京:化学工业出版社, 2005.
- [17] 吴有炜. 实验设计与数据处理[M]. 苏州:苏州大学出版社, 2002.

(责任编辑:李春丽)