

发酵液中威兰胶的乙醇沉淀行为

曹花¹, 季新跃², 詹晓北^{*1}, 蒋芸¹, 郑志永¹, 姬彬¹, 吴剑荣¹

(1. 江南大学 生物工程学院, 江苏 无锡 214122; 2. 无锡市恒禾工程咨询设计有限公司, 江苏 无锡 214031)

摘要: 作者研究了发酵液中威兰胶在乙醇溶剂作用下的沉淀行为, 分析了乙醇质量浓度、pH 值、盐离子种类和盐浓度等因素对威兰胶沉淀效果的影响, 以及对沉淀物最终产物流变学性能的影响。确定威兰胶的最佳沉淀条件为: 当添加 2.5 mol/L CaCl₂ 溶液使威兰胶发酵液中的最终电荷浓度达到 0.1 mol/L, pH 调至 2.0, 乙醇质量浓度为 37.6 g/dL 时, 可以有效沉淀分离得到威兰胶, 收率为 92.5%, 并保持良好的流变学性能, 比对照条件下的乙醇用量节省了 73.3%。

关键词: 威兰胶; 发酵液; 乙醇; 沉淀

中图分类号: TQ 929⁺.2 文献标志码: A 文章编号: 1673-1689(2012)03-0259-07

Recovery Characteristics of Welan Gum by Ethanol Precipitation from Fermentation Broths

CAO Hua¹, JI Xin-yue², ZHAN Xiao-bei^{*1}, JIANG Yun¹,
ZHENG Zhi-yong¹, JI Bin¹, WU Jian-rong¹

(1. School of Biotechnology Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. Wuxi Henghe Engineering Consulting and Design Co., Ltd., Wuxi 214031, China)

Abstract: Welan gum, a kind of soluble extracellular heteropolysaccharide, is widely used in the oil exploration for enhancing oil recovery and construction due to its perfect stability and rheological properties. The precipitation characteristics of welan gum in the ethanol-water solution were investigated in this study. The influence of ethanol concentrations, pH, salt types and salt concentrations on welan precipitation and its rheological properties were investigated and the optimum parameters were listed as follows: 2.5 mol/L of CaCl₂ was added until Ca²⁺ concentration reached at 0.1 mol/L, pH 2.0 and 37.6% of ethanol concentration in the bulk mixture. Welan gum was effectively precipitated and separated from the fermentation broth and the recovery yield achieved at 92.5%. Moreover, the rheological properties of the welan gum were kept robust, and 73.3% ethanol dosage was economized compared to the control experiments.

Key words: welan gum, fermentation broth, ethanol, precipitation

威兰胶(Welan gum)是一种水溶性胞外杂多糖,分子主链为 D-葡萄糖、D-葡萄糖醛酸、D-葡萄糖

和 L-鼠李糖,侧链由单链的 L-甘露糖或单链的 L-鼠李糖构成^[1],由产碱杆菌(*Alcaligenes* sp.)利用

收稿日期: 2010-09-08

基金项目: 国家 863 计划项目(2006AA02Z207), 国家自然科学基金项目(20676055, 20806034)。

* 通信作者: 詹晓北(1962-), 男, 北京人, 工学博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事生化工程与反应器等方面的研究。

E-mail: xbzhan@yahoo.com

农产品原料经通风发酵生产得到。威兰胶水溶液具有良好的水溶性、增稠性、假塑性、耐高温(高达150 °C)、耐酸碱(pH 2~12)和耐盐性^[2],可应用于建筑、石油开采和钻探等领域^[1]。目前有美国的CP Kelco公司生产,而国内在这一方面的研究仍处在菌种选育^[3]和发酵条件优化阶段^[4-5],对威兰胶提取工艺的研究报道甚少。威兰胶发酵液粘度高,杂质多,使威兰胶的提取成本高,效率低。高效的提取工艺对威兰胶的产品质量与生产成本起决定性影响。现有的多糖分离提取方法主要有:醇析法^[6-7],盐醇析法^[8-9]及膜分离^[10-12]等。作者考察威兰胶在乙醇溶液中的沉淀行为及其影响因素,以及这些因素对威兰胶产品流变学性能的影响,在保持威兰胶优良流变学性能的前提下,探寻威兰胶高效、节能和降耗的提取工艺。

1 材料与方 法

1.1 材料与设备

1.1.1 菌种 产碱杆菌(*Alcaligenes* sp. ZW-3)由江南大学生物工程学院生化工程与反应器研究室保藏。

1.1.2 试剂 乙醇为体积分数95%(工业级),KCl、CaCl₂等试剂为分析纯。

1.1.3 实验设备 HYG-II a型旋转式恒温调速摇床;CR22G型高速冷冻离心机;DDS-307电导率仪;InoLab level 1型精密pH计;Brookfield DV-E型粘度计;UV-1800型分光光度计;SK-2型分析天平。

1.1.4 发酵培养基(g/L) 蔗糖40,豆粕5,KH₂PO₄ 0.6,MgSO₄·7H₂O 0.2;微量元素浓缩液2 ml/L,Fe²⁺ 25 μL/dL(灭菌后添加),pH 7.0~7.2。

1.1.5 微量元素浓缩液(g/L) MnSO₄·5H₂O 1, ZnSO₄·6H₂O 2.5, CuSO₄·6H₂O 2, Na₂MoO₄·H₂O 2.5。

1.2 实验方法

1.2.1 威兰胶发酵液制备 将产碱杆菌(*Alcaligenes* sp. ZW-3)种子液以体积分数6%转接至发酵培养基,在30 °C、200 r/min下发酵72 h得到黄色粘稠状的发酵液。

1.2.2 提取工艺流程 取一定体积(V₀)的威兰胶发酵液,沸水浴20~30 min,冷却至室温,添加一定

体积的95%工业乙醇并充分搅拌,静置沉淀4 h后离心(4 500 g)10 min,收集沉淀物,添加少量的乙醇洗涤脱去盐分,静置4 h后离心(4 500 g)10 min,挤压,沉淀物置于60 °C干燥箱内通风干燥至恒重,经粉碎后复溶(0.5 g/dL)于水溶液中,测定多糖溶液的流变学性能参数。

1.3 分析方法

1.3.1 参数测定

1) 生物量(g/L):取1 mL的发酵液,稀释25倍,用分光光度计在660 nm下测定吸光值,与标准曲线对照计算发酵液中的生物量^[13]。

2) 威兰胶质量浓度(g/dL):取50 mL的发酵液,经过相应的处理使威兰胶沉淀后干燥,干燥后的恒重除以沉淀的湿重,再减去相应的生物量。

3) 流变学特性参数:威兰胶复溶(c₁=0.5 g/dL)的水溶液用DV-E型粘度计(4号转子,30 r/min,(25±0.5) °C下测定溶液表观粘度。威兰胶水溶液的流变行为符合幂定律公式:η=κγⁿ⁻¹,流变学特性指数n可通过对表观粘度进行换算^[14]。

4) 含盐质量浓度:用电导率仪测定威兰胶复溶的水溶液的电导率,对应电导率由标准曲线计算出威兰胶溶液中的含盐质量浓度(以NaCl计)。

5) 乙醇质量浓度(g/dL):通过测定混合液和上清液的乙醇密度,对照乙醇密度-浓度表^[15]换算成质量浓度。

1.3.2 计算方法 上清液和沉淀中的其他成分浓度根据质量守恒定律计算

$$\text{提胶量(g/L)} = \frac{\text{威兰胶的干质量}}{\text{发酵液的体积}}$$

$$\text{收率(%,干重法)} = \frac{\text{不同条件下的提胶量}}{\text{对照条件下的提胶量}} \times 100\%$$

$$\text{浓缩比} = \frac{\text{提取前胶溶液体积}}{\text{提取后胶沉淀的体积}}$$

2 结果与分析

2.1 威兰胶在乙醇-水溶液中的相平衡分析

威兰胶在乙醇-水溶液中相平衡过程如图1。分别以威兰胶在混合液、上清液和沉淀中的质量浓度对各相中相应的乙醇质量浓度作图,图中的实线是在某一乙醇体积分数下沉淀分离威兰胶时,不同相中乙醇体积分数-威兰胶质量浓度对应点的连线,虚线是固液两相的双节点溶解度曲线。理论上,任

何在虚线下方的混合液都可以完全分离成两相,且沉淀和上清液相的各成分可以通过混合液成分对应点所在的实线确定。此外,根据杠杆定律及混合液中的点线关系确定上清液和沉淀相中各成分的相对含量。

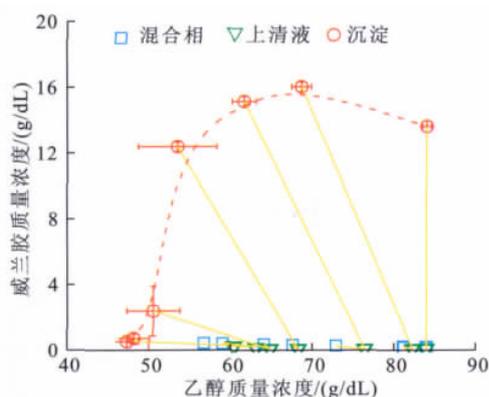


图1 威兰胶在乙醇-水溶液中的相平衡分析

Fig. 1 Phase-equilibrium of welan in ethanol-water solution without salt

从图1可以看出,沉淀相的乙醇质量浓度低于上清液相的,这有利于乙醇的蒸馏回收再利用,在实际生产中有重要意义。同时,随着乙醇质量浓度的增大,上清液中的威兰胶质量浓度逐渐减少至0,沉淀物中的威兰胶比例增高,这说明威兰胶越容易沉淀析出,并且所得的沉淀物越紧密。

乙醇质量浓度在52.8~68.5 g/dL变化时,威兰胶由完全溶解向不溶状态转变。随着乙醇质量浓度的提高,多糖的亲水基团与水之间的亲和力减弱,同时多糖与各种盐离子的键合作用增强,使多糖在溶剂中的溶解度逐渐降低并形成简单的交联而沉淀析出。这一现象与黄原胶在乙醇-水混合溶液中的沉淀行为非常相似。

2.2 乙醇质量浓度对威兰胶沉淀分离的影响

根据威兰胶在乙醇-水液中的相平衡分析,进一步考察了乙醇质量浓度在56.9~84.0 g/dL之间变化对威兰胶沉淀的作用,结果见图2。当乙醇质量浓度低于56.8 g/dL时,威兰胶混合液呈凝胶块状,不形成界限分明的固液两相,提取的收率极低;乙醇质量浓度在56.8~64.6 g/dL之间,威兰胶开始慢慢沉淀,由于固液两相成分差异不大,难以分离,浓缩效果不好,沉淀呈弱凝胶状,沉淀物比较松软,产品色泽深,且收率不高;当乙醇质量浓度大于

68.5 g/dL时,威兰胶沉淀呈纤维状,结实,易分离,沉淀物呈灰白色,且收率大于90%;继续增大沉淀时,乙醇的体积分数对威兰胶的沉淀没有显著的促进作用。

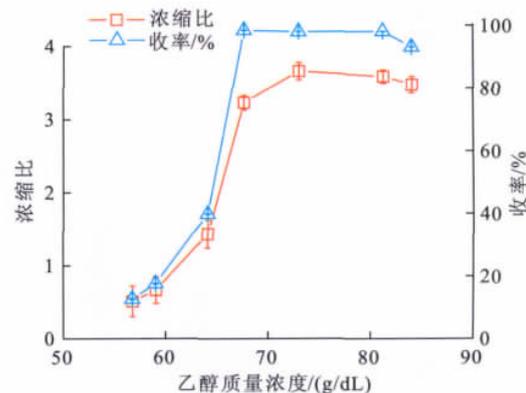


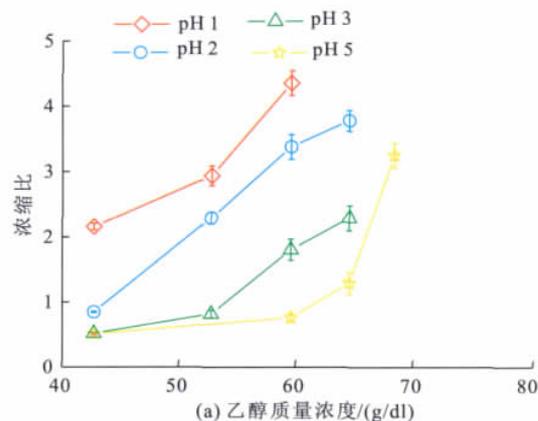
图2 不同乙醇浓度对威兰胶沉淀的影响

Fig. 2 Influence of ethanol concentration on welan precipitation (without salt)

乙醇沉淀法可以大规模分离纯化威兰胶,但消耗量大,回收费用高,增大了威兰胶的生产成本。以68.5 g/dL的乙醇质量浓度在无盐、未调pH值条件下提取威兰胶作为对照,因而进一步优化威兰胶沉淀分离条件有重要的实际意义。

2.3 pH值对威兰胶沉淀分离的影响

不同pH值和不同乙醇质量浓度对威兰胶沉淀的影响结果见图3。随着溶液pH值的降低,威兰胶在乙醇-水溶液中更容易沉淀析出,且收率也显著提高。这可能是由于威兰胶是一种聚电解质,随着溶液pH值的降低,多糖亲水性的阴离子基团因质子化而被中和,溶液的分离子常数K降低,多糖与水之间的亲和力减弱而沉淀析出。



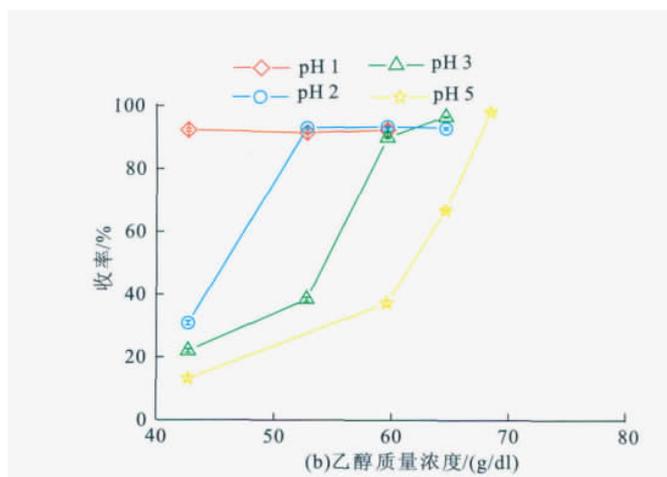


图3 不同 pH、不同乙醇质量浓度对威兰胶沉淀的影响
Fig. 3 Effect of pH and ethanol concentration on welan precipitation

当溶液的 pH 为 1 时,低乙醇质量浓度就能达到好的沉淀效果,且收率都大于 90%,提取所得的威兰胶粘度比对照条件下的低很多,流变学特性指数 n 比对照的增大很多,说明提取时过低的 pH 值不利于威兰胶保持良好的流变学性能见图 4。当溶液的 pH 值在 2~7 之间,随着 pH 值的降低,威兰胶完全沉淀分离所需的乙醇用量逐渐减少。当溶液的 pH 值为 2 时,乙醇体积分数为 59.6% 时,威兰胶能得到有效分离,收率较高;在较低的乙醇体积分数时提取的收率略低,但流变学性能相差不大,见图 5。

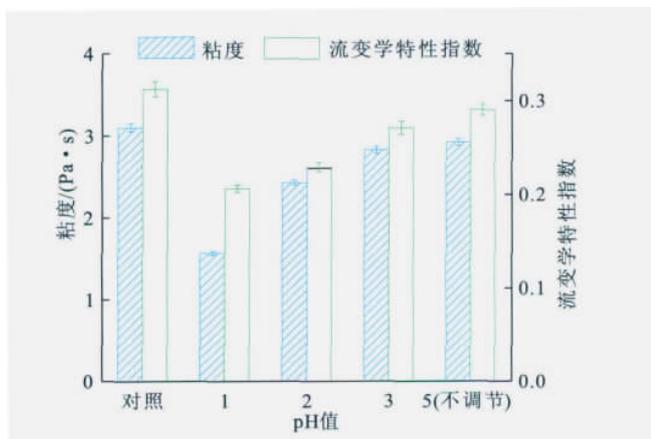


图4 沉淀过程中 pH 值对威兰胶流变学性能的影响(乙醇质量浓度为 59.62 g/dL)
Fig. 4 Influence of pH in precipitation process on the rheological properties of welan

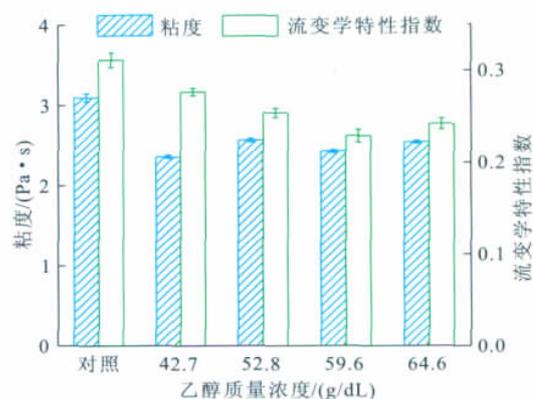


图5 乙醇浓度对威兰胶性能的影响(pH 2.0)
Fig. 5 Influence of ethanol concentration on the rheological properties of welan

降低威兰胶溶液的 pH 值可以促进其在有机溶剂中的沉淀。结合威兰胶的酸碱耐受性(pH 为 2~12)及不同 pH 值下的沉淀效果,可以初步得出结论:当溶液的 pH 值为 2 时,乙醇质量浓度为 59.6 g/dL 时,可以达到较好的沉淀效果,且对胶的流变学性能无明显影响,这比常规工艺节约了 33.3% 的乙醇用量,但提取工艺变得相对复杂。

2.4 盐离子对威兰胶沉淀分离的影响

2.4.1 盐离子种类对威兰胶沉淀分离的影响 分别取 1 mL 若干浓度的 NaCl、KCl、NH₄Cl、MgCl₂、CaCl₂、AlCl₃ 6 种盐溶液添加到发酵液中获得等摩尔电荷浓度的混合液^[8],即其最终阳离子的电荷浓度达到 0.1 mol/L,从而研究不同盐离子对威兰胶沉淀的影响,结果图 6 和图 7。

盐离子的添加使威兰胶沉淀分离所需的乙醇质量浓度降低。添加阳离子的化合价越高,对威兰胶沉淀的促进作用越强,可能是低价盐离子只通过改变多糖分子负电荷基团附近的双电层而减弱电滞作用从而促进多糖沉淀,而高价盐离子与聚合物阴离子基团的离子键作用较强而引起电荷逆转,即所有的阴离子基团都结合到盐离子上,对多糖的沉淀或复杂的交联的促进作用更显著。

由图 6 可知,其中一价盐中 KCl 对威兰胶沉淀的促进作用比 NaCl 和 NH₄Cl 强。添加 KCl 或 NaCl,乙醇质量浓度为 59.62 g/dL 时能有效分离威兰胶并获得高的收率。由表 1 可知,添加 NaCl 盐溶液提取获得的威兰胶成品的流变学性能比其他条件下提取得到的差,可能是 NaCl 在乙醇中的

溶解度很低甚至不溶,而后续的洗涤过程无法达到脱盐的目的,使提取得到的威兰胶样品中含一定量的盐离子,从而其水溶液性能变差。添加 NH_4Cl 时,乙醇质量浓度达到 64.6 g/dL 时才能实现完全分离。结合图 3 可知,一价盐离子的添加对威兰胶沉淀的作用与调节 pH 值的相似。

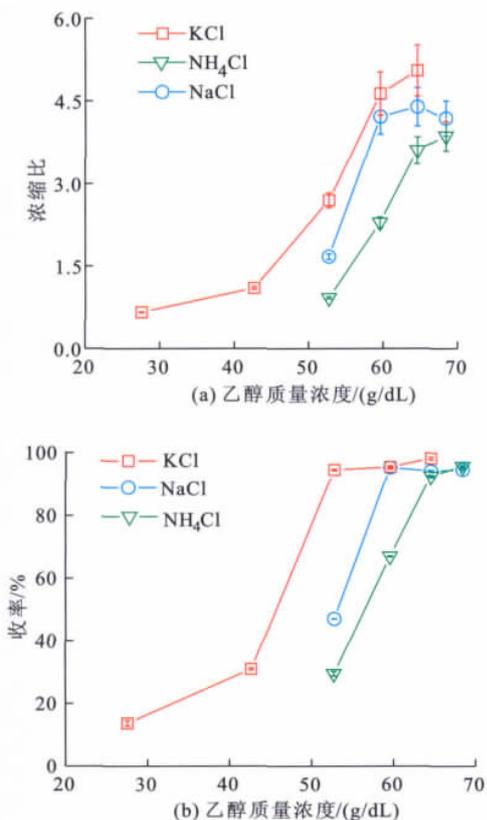


图 6 一价盐离子对威兰胶沉淀的影响

Fig. 6 Welan precipitation using mixtures of ethanol with 0.1 mol/L of monovalent salts

表 1 不同盐离子对威兰胶流变学性能的影响

Tab. 1 Effects of different salt ions on the rheological properties of welan

盐离子	粘度/ (Pa·s)	流变特性 指数	含盐质量 分数/%
NaCl	4.353	0.333	0.021
KCl	3.740	0.298	0.011
NH_4Cl	3.300	0.302	0.013
MgCl_2	2.727	0.279	0.008
CaCl_2	2.020	0.275	0.010
对照	3.087	0.311	0.008

注:混合液乙醇质量浓度为 59.6 g/dL,盐离子电荷浓度为 0.1 mol/L。

由图 7 可知,高价盐离子中添加 AlCl_3 时的沉淀效果最为显著,乙醇质量浓度为 27.6 g/dL 时威兰胶可以完全沉淀,当乙醇质量浓度大于 42.7 g/dL,收率大于 90%。但添加 AlCl_3 沉淀分离得到的威兰胶在复溶时不能形成均一的胶溶液,甚至分层,水溶液粘度极低,在实验方的条件下无法测定,我们推测添加 AlCl_3 对威兰胶的性能有极大的破坏作用,这可能是由于 AlCl_3 是一种共价化合物,盐离子的作用力很强,在沉淀时对威兰胶沉淀促进作用极其显著,但在复溶时可能阻碍了威兰胶分子间的相互交联作用;并且 AlCl_3 是强酸弱碱盐,可能降低了威兰胶沉淀时溶液的 pH 值,而过低的 pH 可能加强干燥过程中强热对威兰胶分子结构的破坏作用,但其中的作用机理需要进一步研究。

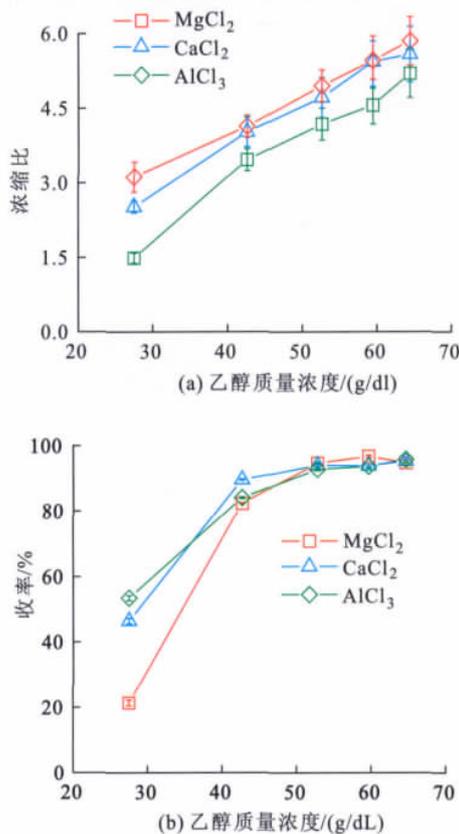


图 7 高价盐离子对威兰胶沉淀的影响

Fig. 7 Welan precipitation using mixtures of ethanol with 0.1 mol/L of polyvalent salts

二价盐中 CaCl_2 对威兰胶沉淀的促进作用比 MgCl_2 更显著,且对威兰胶性能没影响。添加 CaCl_2 促进了威兰胶在乙醇中的沉淀,乙醇质量浓度达到

42.7 g/dL 时能完全分离,且收率较高;而添加 $MgCl_2$,乙醇质量浓度达到 52.8 g/dL 时才能完全分离到达较高的收率。Chandrasekaran 曾报道 Ca^{2+} 与威兰胶多糖分子以 $COO^- \cdots Ca^{2+} \cdots COO^-$ 形式存在相互作用^[16],这种相互作用的存在可以证实添加钙离子对威兰胶沉淀的促进作用,也说明了其作用机理。García-Ochoa 等^[9]在研究盐离子种类和浓度对黄原胶沉淀分离的影响时也报道了相似的结论。

因此,添加盐离子进行威兰胶醇析跟对照无盐提取工艺相比,分离威兰胶所需的乙醇用量大大减少了,其中添加 $CaCl_2$ 的作用最为理想。结合盐离子的作用机理和沉淀效果,选择添加不同质量浓度 $CaCl_2$ 至混合液进一步优化威兰胶提取工艺。

2.4.2 电荷浓度对威兰胶沉淀分离的影响 选择添加 2.5 mol/L 的 $CaCl_2$ 溶液到经过预处理的威兰胶发酵液中,使溶液达到不同的电荷浓度,搅拌均匀,后续操作见实验方法 1.2.2 提取工艺流程。其对威兰胶提取的影响结果见图 8。

随着混合液中电荷浓度的增大,低乙醇质量浓度下就能达到好的沉淀浓缩效果和高收率。但进一步增大混合液的电荷浓度,威兰胶洗涤时所需的乙醇质量浓度就会随之增大,且分离得到的威兰胶性能变差。当添加 $CaCl_2$ 时溶液阳离子电荷浓度大于 3 mol/L 时,沉淀分离得到的威兰胶复溶时水溶液的性能很差,甚至不能形成均一的胶溶液,这可能与威兰胶的耐盐性能有关。此外,随着混合液中电荷浓度的增大,对威兰胶沉淀的促进作用减弱,降低醇用量的作用也减弱。

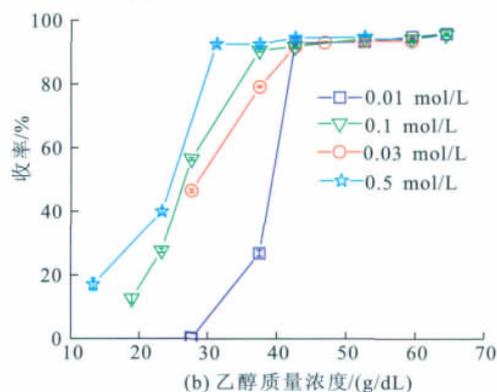
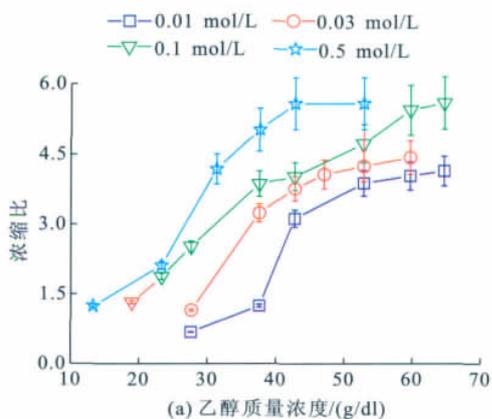


图 8 不同氯化钙浓度对威兰胶沉淀的影响

Fig. 8 Influence of $CaCl_2$ concentration on welan precipitation using ethanol

因此,结合威兰胶盐离子的耐受性,添加 2.5 mol/L 的 $CaCl_2$ 使威兰胶发酵液中最终电荷浓度达到 0.1 mol/L 时,能达到较好的沉淀效果和较高的收率,且保持威兰胶性能良好。

2.5 盐离子和 pH 值对威兰胶沉淀分离的协同效应

在乙醇质量浓度为 37.6 g/dL,溶液的 pH 值调至 2,溶液的电荷浓度为 0.1 mol/L 时,沉淀分离威兰胶的收率达到 92.5%,浓缩比为 5.26,且得到的威兰胶保持良好的流变学性能。与同乙醇质量浓度时,只改变提取过程中的 pH 值或盐离子浓度的提取效果相比较,调节 pH 值并添加盐离子更有利于威兰胶的分离提取,其浓缩比最高,分离得到的沉淀物更致密,含水率更低,有利于降低后续的干燥成本,这说明在提取过程中,调节 pH 值和盐离子的添加对威兰胶沉淀分离的促进存在协同效应。

3 结 语

1) 当威兰胶提取混合液中乙醇质量浓度在 52.8~68.5 g/dL 之间变化时,威兰胶由完全溶解向完全不溶转变。当乙醇质量浓度低于 56.8% 时,威兰胶混合液呈凝胶块状,不形成沉淀;当乙醇质量浓度在 56.8~64.6 g/dL 之间,威兰胶开始慢慢沉淀,沉淀呈弱凝胶状,固液两相成分差异不大,难以分离;当乙醇质量浓度大于 64.6 g/dL,威兰胶沉淀呈纤维状,结实,容易分离。

2) 调节溶液的 pH 值可以促进威兰胶在工业乙醇中的沉淀,有效减少了威兰胶沉淀过程中的工

业乙醇用量。当溶液的 pH 值为 2,乙醇质量浓度为 59.6 g/dL 时,能更有效地沉淀分离威兰胶,并且对胶的流变学性能无影响,但过低的 pH 值不利于保持威兰胶良好的流变学性能。

3) 盐离子添加对威兰胶沉淀有促进作用,二价盐离子的作用比一价盐离子的作用更显著,其中 CaCl_2 的作用极其显著。溶液中盐离子浓度的变化对威兰胶沉淀的促进作用不显著,且浓度越高,后

续的洗涤要求越高。

4) 威兰胶最佳的沉淀分离条件为:当添加 2.5 mol/L 的 CaCl_2 使威兰胶发酵液中的最终电荷浓度达到 0.1 mol/L, pH 值调至 2,乙醇质量浓度为 37.6 g/dL 时,威兰胶就可以从乙醇-水溶液中有效地沉淀析出,收率达到 92.5%,并保持良好的流变学性能,比对照条件下的乙醇用量节省了 73.3%。

参考文献(References):

- [1] Campana S, Andrade C, Milas M, et al. Polyelectrolyte and rheological studies on the polysaccharide welan[J]. **International Journal of Biological Macromolecules**, 1990, 12(6): 379-84.
- [2] 贾薇,郑志永,刘汝冰,等. 一种新型微生物多糖流变学初探[J]. **食品科学**, 2009, 30(1): 135-138.
JIA Wei, ZHENG Zhi-yong, LIU Ru-bing, et al. Preliminary study of rheological properties of a novel kind of microbial polysaccharides[J]. **Food science**, 2009, 30(1): 135-138. (in Chinese)
- [3] 郭建军,李建科,陈琳,等. 韦兰胶生产菌的选育[J]. **食品工业科技**, 2009, (2): 126-128.
GUO Jian-jun, LI Jian-ke, CHEN Lin, et al. Breeding and selection of welan gum producing strain[J]. **Science and Technology of Food Industry**, 2009, (2): 126-128. (in Chinese)
- [4] Li S, Xu H, Li H, et al. Optimizing the production of welan gum by *Alcaligenes facalis* NX-3 using statistical experiment design[J]. **African Journal of Biotechnology**, 2010, 9(7): 1024-1030.
- [5] Li H, Xu H, Xu H, et al. Biosynthetic pathway of sugar nucleotides essential for welan gum production in *Alcaligenes sp* CGMCC2428[J]. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 2010, 86(1): 295-303.
- [6] 朱圣东,童海宝,陈大昌,等. 醇析法分离提纯黄原胶工艺研究[J]. **精细石油化工进展**, 2002, (03): 44-46.
ZHU Sheng-dong, TONG Hai-bao, CHEN Da-chang, et al. Study of process for separation and purification of xanthan gum by alcohol precipitation[J]. **Advances in Fine Petrochemicals**, 2002, (03): 44-46. (in Chinese)
- [7] Flahive J J, Fofopoulos A, Etzel M R. Alcohol precipitation of xanthan gum from pure solutions and fermentation broths [J]. **Separation Science and Technology**, 1994, 29: 1673-1687.
- [8] 杨譔,张学欢,汪智姝,等. 黄原胶发酵及提取工艺的优化研究[J]. **食品工业**, 2008, (06): 20-23.
YANG Xuan, ZHANG Xue-huan, WANG Zhi-shu, et al. The optimal control of the xanthan gum fermentation and extraction[J]. **Food Industry**, 2008, (06): 20-23. (in Chinese)
- [9] Garcia-Ochoa F, Casas J A, Mohedano A F. Xanthan precipitation from solutions and fermentation broths[J]. **Separation Science and Technology**, 1993, 28: 1303-1313.
- [10] 朱圣东,雷云周,童海宝,等. 超滤-醇析提取黄原胶工艺条件[J]. **过程工程学报**, 2004, (06): 525-530.
ZHU Sheng-dong, LEI Yun-zhou, TONG Hai-bao, et al. Process conditions of extraction of xanthan gum via ultra-filtration and alcohol-precipitation[J]. **The Chinese Journal of Process Engineering**, 2004, 6: 525-530. (in Chinese)
- [11] Lo Y M, Yang S T, Min D B. Ultrafiltration broth: process and economic analyses[J]. **Journal of Food Engineering**, 1997, 31: 219-236.
- [12] Garcia-Ochoa F, Santos V E, Casas J A, et al. Xanthan gum: production, recovery and properties[J]. **Biotechnology Advances**, 2000, 18, 549-579.
- [13] 周浩然. 微生物多糖威兰胶生产工艺的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2009.
- [14] Mitschka P. Simple conversion of Brookfield R. V. T. readings into viscosity functions[J]. **Rheologica Acta**, 1982, 21(2): 207-209.
- [15] 李兴华,陈大舟,徐彦发. 新编酒精密度-浓度和温度常用数据表[M]. 北京: 中国计量出版社, 2008.
- [16] Chandrasekaran R, Radha A, Lee E J. Structural roles of calcium ions and side chains in welan: an X-ray study[J]. **Carbohydrate Research**, 1994, 252: 183-207.