

产胶期溶氧水平对土壤杆菌 ATCC 31749 发酵产热凝胶流变性质的影响

李 晶¹, 徐 敏¹, 朱 莉², 郑志永¹, 詹晓北^{*1}

(1. 江南大学 生物工程学院, 糖化学与生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122; 2. 江苏瑞光生物科技有限公司, 江苏 无锡 214125)

摘要: 热凝胶是由土壤杆菌在氮源限制条件下生产的水不溶性胞外多糖。通过在线实时调节通气量建立了恒定溶氧控制策略, 并将产胶期溶氧分别恒定控制在饱和溶氧浓度 DO 5%、25%、50%和 75%水平。然后, 考察了产胶期溶氧浓度对土壤杆菌 (*Agrobacterium* sp. ATCC 31749) 发酵过程及热凝胶流变性质的影响。结果表明, 低溶氧 (DO 5%) 造成热凝胶生产强度显著下降, 而溶氧水平高于 DO 25% 后, 热凝胶比生成速率基本恒定。同时, 热凝胶-碱溶液的流变行为符合假塑性流体特征, 随着产胶期发酵时间增加, 热凝胶溶液粘度迅速升高, 且非牛顿流体特征逐渐显著。相同发酵时间时, 适度溶氧 (DO 25%) 热凝胶溶液具有最大粘度, 而溶氧限制 (DO 5%) 和高溶氧时 (DO 75%) 粘度均较低。控制发酵溶氧水平可以获得具有不同流变性质的热凝胶产品。

关键词: 土壤杆菌, 热凝胶, 溶氧水平, 假塑性流体, 粘度

中图分类号: TQ 920.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673—1689(2013)12—1253—08

Effect of Dissolved Oxygen Level on the Rheological Properties of Curdlan Fermented by *Agrobacterium* sp. ATCC 31749

LI Jing¹, XU Min¹, ZHU Li², ZHENG Zhi-yong¹, ZHAN Xiao-bei^{*1}

(1. Key Laboratory of Carbohydrate Chemistry and Biotechnology of Ministry of Education, School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. Jiangsu Rayguang Biotech Co. Ltd., Wuxi 214125, China)

Abstract: Curdlan is a water-insoluble extracellular polysaccharide produced by *Agrobacterium* sp. under nitrogen-limited condition. A strategy was established to maintain a constant dissolved oxygen (DO) level by real-time control of the air ventilation volume. The DO levels kept stable at 5%, 25%, 50% and 75%, respectively, during curdlan-producing period. Afterwards, the effects of DO level on the fermentation of *A. sp.* ATCC 31749 and curdlan rheological properties were investigated. The results indicated that curdlan productivity decreased remarkably at DO 5%,

收稿日期: 2013-06-17

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31171640)。

* 通信作者: 詹晓北 (1962—), 男, 北京人, 教授, 博士研究生导师, 主要从事微生物寡糖制备、结构分析及生理评价研究。

E-mail: xbzhan@yahoo.com

whereas the curdlan specific production rate kept constant when DO level was more than 25%. Furthermore, the pseudoplastic fluid pattern was observed in curdlan-alkali solution. The viscosity of curdlan solution increased rapidly along with the fermentation time, and the non-Newtonian fluid behavior turned more obvious. At the same fermentation time, the curdlan solution reached the highest viscosity at DO 25%, while the viscosity decreased both at DO 5% and 75%. It was concluded that curdlan products with different rheological properties can be prepared by controlling of the dissolved oxygen level.

Keywords: *Agrobacterium* sp. ATCC31749, curdlan, dissolved oxygen, pseudoplastic fluid, viscosity

热凝胶是由土壤杆菌(*Agrobacterium* sp.)合成的,由 β -1,3-葡萄糖苷连接而成的线性胞外多糖^[1]。热凝胶分子会自发形成右手三螺旋结构^[2],因具有热成胶性、抗冻融性及抗脱水性等特点,在食品工业具有广泛应用^[3-4]。另外,热凝胶寡糖因具有植物诱抗^[5]、激活人免疫系统^[6]等生理功能而受到较多关注。

热凝胶在氮源限制条件下由微生物发酵获得^[3,7],培养基优化^[8]、氮源连续流加^[9]及添加高能前体物质^[10]等多种发酵策略被用于提高热凝胶产量。菌体维持代谢及热凝胶合成过程均需要消耗大量氧气,因此,发酵过程中溶氧浓度会对发酵过程产生影响^[11-12]。研究表明,土壤杆菌 ATCC31749 胞内核苷酸含量在不同溶氧条件下变化显著^[13],而 UTP-葡萄糖浓度会进一步影响热凝胶分子的合成速率。

通过对热凝胶在不同浓度 NaOH 溶液中的黏弹性进行考察^[14],Tada 等^[15]指出在 NaOH 溶液中热凝胶质量浓度在达到 100 g/L 时仍然表现出牛顿流体的特征。但研究发现,*Alcaligenes faecalis* Var. GM-24 发酵生产热凝胶过程中,发酵液呈现明显的假塑性特征^[16]。因此,有必要对热凝胶溶液在不同条件下的流变性质进行考察。同时,不同溶氧条件对发酵过程中热凝胶的流变性质以及变化趋势仍鲜有报道。

研究表明,提高搅拌转速可以增加热凝胶的产量^[11],但是微生物的形态和代谢过程会受到发酵过程中剪切力的影响^[17-18],为此,本研究中首先通过通气量与溶氧水平关联建立了新的溶氧控制策略,然后对发酵过程中热凝胶流变性质进行考察。本研究结果可以为通过改变溶氧水平控制发酵过程中热凝胶性质参数提供帮助。

1 材料与方法

1.1 菌种与培养基

土壤杆菌(*Agrobacterium* sp.)ATCC31749,由江南大学糖化学与生物技术研究中心保藏。

斜面培养基(g/L):葡萄糖 40,酵母膏 5.0, CaCO₃ 10,琼脂 2;pH 7.0~7.2。

种子培养基(g/L):葡萄糖 20,酵母膏 1.0, MgSO₄ 0.05, KH₂PO₄ 1.74;pH 7.0。

发酵培养基(g/L):葡萄糖 50,酵母膏 1.0, KH₂PO₄ 2.7, NH₄Cl 2.0, MgSO₄ 0.5;无机盐浓缩液 10 mL,消泡剂 0.5 mL;pH 7.0~7.2。

无机盐浓缩液(g/L):FeCl₃ 1.0, NaCl 1.0, MnCl₂ 1.0, CaCl₂ 1.0。

1.2 培养方法

1.2.1 种子培养方法 从试管斜面上挑取一环菌,接入装入 60 mL 种子培养基的 250 mL 的三角瓶中,30 ℃,200 r/min 摇床培养 17~18 h。

1.2.2 7 L 发酵罐培养方法 按照 5%体积分数接种量将 200 mL 种子接入含有 4 L 已灭菌发酵培养基的 7 L 容量 New Brunswick BioFlo/CelliGen 115 型发酵罐,培养温度 30 ℃。菌体生长期 0~14 h,采用 2 mol/L NaOH 控制 pH 7.0,通气量 4 L/min,搅拌转速 600 r/min。产胶期 14 h 后,调节 pH 至 5.6,并用 2 mol/L NaOH 维持恒定,通气量根据溶氧控制要求在线调整,调整范围为 0~6 L/min,搅拌转速根据溶氧水平在(400±50) r/min 范围内适当微调。以接种前转速 600 r/min,通气量 4 L/min 时溶氧浓度定为饱和溶氧浓度(100%)。

1.3 分析方法

1.3.1 葡萄糖浓度测定 采用二硝基-水杨酸法^[10]。

1.3.2 菌体浓度测定 (0~14 h) 取 20 mL 发酵液

于8 000 r/min 离心 15 min,收集沉淀并用去离子水洗涤沉淀 3 次。洗涤后沉淀于 105 ℃烘干至恒重,称量并计算菌体浓度。

1.3.3 热凝胶浓度测定 取 20 mL 发酵液于 8 000 r/min 离心 15 min,收集沉淀并用去离子水 30 mL 洗涤沉淀 3 次。洗涤后沉淀加入 1 mol/L NaOH 溶液于 15 ℃振荡溶解 4 h,然后将溶解液于 8 000 r/min 离心 20 min。收集上清并用 1 mol/L HCl 调节 pH 至 7.0,然后于 8 000 r/min 离心 15 min 并收集沉淀,去离子水洗涤沉淀 3 次。然后,沉淀于 0.010 mBar, -80 ℃真空干燥(FreeZone 12 plus, Labconco Corp., USA),称量并计算热凝胶浓度。

1.3.4 菌体浓度测定(14 h 后) 取 20 mL 发酵液于 8 000 r/min 离心 15 min,收集沉淀并用去离子水 30 mL 洗涤沉淀 3 次。收集沉淀于 105 ℃烘干至恒重,然后减去热凝胶质量,并计算菌体浓度。

1.3.5 热凝胶流变学参数测定 首先以 1 mol/L NaOH 溶解热凝胶至终质量浓度 40 g/L,然后采用 RVDV- + pro 粘度计(Brookfield, USA)对样品进行测定。采用小量样品池,SC4-21 转子,样品用量 4 mL,黏度计转速范围 0.5~100 r/min,室温测定。

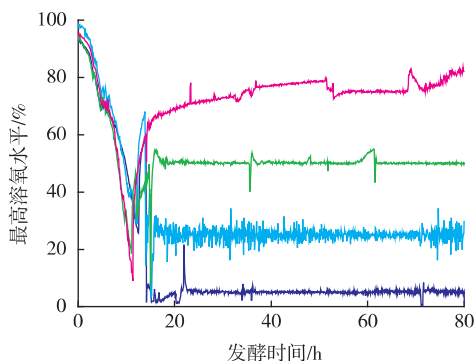
2 结果与讨论

2.1 热凝胶发酵过程溶氧控制策略

热凝胶合成需要大量的 ATP 提供能量^[19],而氧气是 TCA 循环所必需的。因此,提高发酵体系中的溶氧水平有利于热凝胶的生产。为此,作者所在实验室首先建立了热凝胶合成期(产胶期)的溶氧控制策略,然后在此基础上考察不同溶氧水平对热凝胶发酵的影响。

尽管提高搅拌速率有助于热凝胶产量的增加^[11],但是过高的剪切速率则会对菌体造成损伤。为避免剪切力改变对菌体形态和产物代谢产生的干扰,产胶期控制搅拌转速在 (400±50) r/min 范围内,以维持近似恒定的剪切力作用。然后,通过实时调节通气量以实现恒定溶氧水平的控制。Zheng 等^[20]通过对土壤杆菌(*A. sp.* ATCC 31749)产胶期的发酵液的扫描电镜观察,发现生成的热凝胶会包裹在菌体外周形成 10 μm 左右的团块,限制氧的自由扩散。为此,本实验中将最高溶氧水平提高至 DO 75% 以提高胞内外溶氧差,促进氧气扩散(图 1)。操作过程中发现,随着时间的延长,发酵所需的通气量逐

渐减少,可能与发酵后期菌体活力下降有关。发酵后期(60~80 h),发酵通气量均下降到 0.05~0.1 L/(L·min)(0.2~0.4 L/min)左右,而 DO 5%只需要间歇性通入少量空气即能满足溶氧要求。



— DO 5%; — DO 25%; — DO 50%; — DO 75%

图 1 热凝胶发酵溶氧过程曲线

Fig. 1 Time-course profile of dissolved oxygen during curd fermentation process

2.2 溶氧水平对发酵过程的影响

热凝胶生产属于菌体生长非偶联型,为确保进入产胶期的菌体量具有相似的浓度,菌体生长期采用统一的发酵控制参数。菌体比生长速率(μ)曲线见图 2,不同批次下菌体比生长速率变化趋势近似一致。发酵开始后, μ 迅速增加至 4 h 左右达到最大值,然后逐渐下降,至 15 h 左右生长基本停止。经测定,15 h 时氮源($(\text{NH}_4)\text{Cl}$)消耗完毕。Yu 等^[21]的研究表明,氮源限制条件下,土壤杆菌(*A. sp.* ATCC 31749)磷酸葡萄糖变位酶编码基因 *exoC* 的转录水平显著提高,而该基因表达量提高,控制葡萄糖-6-磷酸转化为葡萄糖-1-磷酸进入热凝胶合成途径,转入产胶期。

进入产胶期时,菌体质量浓度分别达到 3.61 (DO 5%)、3.73 (DO 25%)、3.76 (DO 50%) 和 3.68 (DO 75%) g/L,生长情况基本一致,满足后期溶氧控制要求。

由图 2 可知,进入产胶期后,热凝胶浓度随着发酵时间延长呈线性增加,而 DO 5%时,热凝胶浓度显著低于其它控制水平,表明菌体合成热凝胶能力在 DO 5%时受到明显抑制。综合看来,热凝胶比生成速率(q_p)存在 3 个不同阶段。

热凝胶合成初期(14~20 h),热凝胶比生成速率(q_p)逐渐增加。*A. sp.* ATCC 31749 菌体受到 *ntrB*-

ntnC 基因调控^[22-23], 研究表明, 在氮源限制条件下与热凝胶合成相关基因受 *ntkB-ntnC* 调控而显著表达^[24]。而该阶段处于表达初期, 表达蛋白质逐渐积累, 因此 q_p 逐渐增加。合成中期 (20~70 h), q_p 基本处稳定状态, 热凝胶迅速积累, 表明此阶段菌体及热凝胶合成相关酶系活力较为稳定。然而 DO 5% 时, q_p 明显低于其它控制水平。Zhang 等^[25]测定在溶氧限制条件下, UTP-葡萄糖-1-磷酸尿苷酰转移酶相关基因 *galU* 的转录水平明显低于溶氧非限制时的水平, 而该酶是热凝胶合成过程的关键酶。这可能是 DO 5% 时 q_p 较低的原因。合成后期 (70~80 h), q_p 迅速下降, 经测定, 发酵液中葡萄糖在此阶段基本消耗完毕 (DO 5% 时除外), q_p 下降与底物 (葡萄糖) 停止供应相关。因此, 如马立伟^[26]、Lawford 等^[27]报道, 采取两阶段发酵或产胶过程中添加碳源可以进一步提高热凝胶产量。

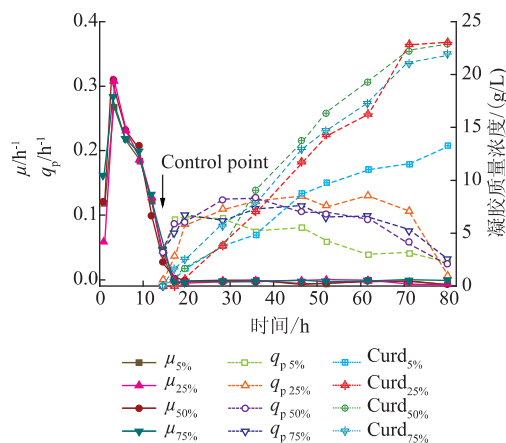


图2 不同溶氧条件下土壤杆菌 ATCC 31749 发酵过程曲线
Fig. 2 Time-course profiles of *Agrobacterium* sp. ATCC31749 fermentation at different dissolved oxygen levels

不同溶氧条件下, 热凝胶合成数据见表1。发酵结束时, 热凝胶对葡萄糖的得率系数保持在 0.656~0.705 水平, 说明热凝胶合成相关酶系的底物转化效率近似一致, 受溶氧水平影响较小。然而, DO 5% 时, 热凝胶生产强度 201 mg/(L·h) 远低于其它水平 (332~349 mg/(L·h)), 说明溶氧限制条件下, 热凝胶相关酶系总体活力有较大程度下降。研究表明, 在低溶氧条件下, 菌体 TCA 循环相关基因转录水平下调^[25], 因而 ATP 合成量下降。而热凝胶属于高耗能反应^[19], 所以 ATP 的供应量下降与热凝胶生产强度

下降有关。另一方面, 当溶氧水平高于质量分数 25%, 热凝胶产量、对葡萄糖得率以及生产强度均保持稳定, 结果初步表明, DO 25% 已经能够满足热凝胶发酵对溶解氧的需要。但是, 不同溶解氧条件下热凝胶分子的流变学性质是否存在差异仍需进一步考察。

表1 热凝胶合成结果比较

Table 1 Comparison of curdlan production

溶氧水平	产胶期葡萄糖消耗量/(g/L)	热凝胶终质量浓度/(g/L)	碳源转化率(Y_{PS})	生产强度/(mg/(L·h))
5%	19.46	13.27	0.682	201
25%	33.82	23.03	0.681	349
50%	34.86	22.87	0.656	347
75%	31.11	21.94	0.705	332

2.3 溶氧水平对热凝胶流变学性质的影响

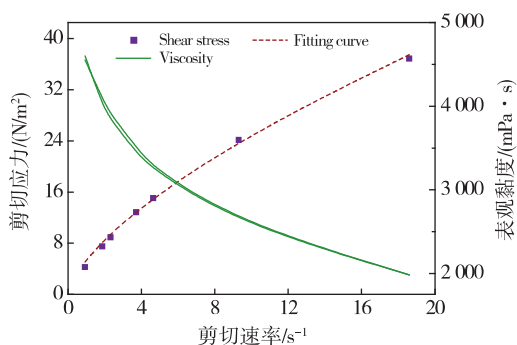
2.3.1 热凝胶-碱溶液流变学特征 热凝胶不溶于水, 而碱液和二甲基亚砷等可以促进热凝胶溶解^[28]。为考察热凝胶的流变性质, 首先采用碱溶液将其充分溶解。研究发现, 在相同剪切条件下, 热凝胶溶液黏度随着 NaOH 浓度增加而显著下降, 达到 0.5 mol/L 后粘度保持稳定^[29]。本研究中采用 1.0 mol/L NaOH 溶液溶解热凝胶, 并在低温短时间内对样品进行测定, 以避免碱液对热凝胶分子的破坏。

图3为 40 g/L 热凝胶-碱溶液流变曲线 (DO 25%, 发酵 80 h), 由图可知, 随着剪切速率提高, 剪切应力逐渐升高而表观黏度迅速下降, 过程中并未出现线性变化趋势, 说明热凝胶溶液表现出明显的非牛顿流体特征。采用典型的假塑性流体幂律公式 ($\tau = K\gamma^n$, τ 剪切应力; K 稠度系数; γ 剪切速率; n 流态特性指数) 对数据进行了非线性拟合, 结果表明, 热凝胶溶液很好地符合了假塑性流体特征 ($R^2 = 0.9976$)。该结果与 Tada 等^[15]报道结果存在差异, 后者认为该浓度下热凝胶溶液为牛顿流体, 这种差异可能与样品来源有关, 见表1, DO 25% (52.07 h) 样品 $n \approx 1.0$, 表现出较明显的牛顿流体特征。

通过对发酵过程中多个热凝胶样品的测定, 结果均较好地符合了假塑性流体行为 (表2)。上述结果表明, 热凝胶碱溶液与其它线性多糖如黄原胶^[30]、 β -葡聚糖^[31]溶液等类似, 为典型的假塑性流体。

2.3.2 溶氧水平对热凝胶-碱溶液黏度的影响 由表1可知, 不同发酵时间的样品或不同溶氧水平条件下, 测定样品的流变学参数 (n, K) 均存在显著差

异,表明溶氧水平对发酵生成的热凝胶的性能产生了明显影响。为了便于对热凝胶样品的评价,采用相同剪切速率($\gamma=93\text{ s}^{-1}$)条件,对样品黏度进行比较。分别选择溶氧限制(DO 5%)、适度溶氧(DO 25%)和高溶氧(DO 75%)3种条件对产胶期热凝胶流变性质进行考察,样品表观黏度值见图4。



样品为 DO 25%, 80 h 样品, 40 g/L

图3 热凝胶溶液流变学曲线

Fig. 3 Rheological curves of curdlan solution

表2 热凝胶-碱溶液流变学参数测定数据

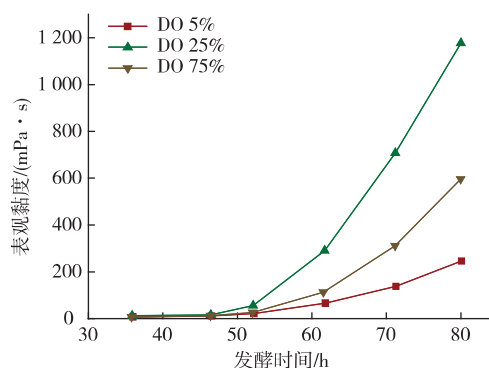
Table 2 Rheological parameters of curdlan-alkali solutions

样品(发酵时间, h)	样品质量浓度/(g/L)	n	K	相关系数(R^2)
DO 75%(79.56)	40	0.903 8	0.308 4	0.998 8
DO 75%(71.09)	20	0.961 6	0.079 1	0.998 3
DO 75%(71.09)	40	0.828 2	0.688 6	0.998 8
DO 25%(80.00)	20	0.718 3	0.782 2	0.997 0
DO 25%(80.00)	40	0.666 3	5.343 3	0.997 6
DO 25%(71.11)	40	0.727 7	2.430 9	0.997 1
DO 25%(52.07)	40	1.001 1	0.054 5	0.993 7
JP*	20	0.594 0	4.228 4	0.993 0
JP	10	0.773 7	0.287 0	0.996 5

注:JP 为商业热凝胶样品。

不同溶氧条件下热凝胶黏度表现出相同的变化趋势,52 h 之前,3 种条件下热凝胶样品黏度均较低,且 n 值均接近于 1.0,后期随着发酵时间增加黏度迅速增加,发酵结束时达到最大值。同时,样品的假塑性特征逐渐明显(n 值逐渐下降)。另一方面,相同发酵时间时,热凝胶溶液黏度随着溶氧水平变化而改变。适度溶氧(质量分数 25%)时,热凝胶黏度明显高于溶氧限制(质量分数 5%)和高溶氧(质量分数 75%)条件。

据推测,上述结果可能与胞内相关酶的表达量或相关酶系的整体活性有关。Zhang 等^[25]的研究表明,溶氧限制条件下能量代谢及热凝胶合成途径相关基因,如 *cydA*、*cyoA*、*fixN*、*catD*、*sdhB*、*mdh*、*idh*、*glmM*、*galU* 和 *rrsA* 的转录水平均有不同程度的下调。因此,相关蛋白质的表达量不足造成了溶氧限制条件下合成热凝胶分子的链长受到影响,进一步影响到溶液的黏度。另一方面,热凝胶合成酶系中,负责分子数量增加和胞外转运与负责分子链延长的催化酶可能在不同发酵阶段及不同溶氧条件下活性存在差异。结果见图2和图4,尽管产胶前期热凝胶浓度显著增加,但是热凝胶溶液黏度始终处于较低水平(发酵 20~50 h)。造成这一现象的原因是,前期菌体活力较高,胞内核苷酸及还原力代谢迅速^[13],热凝胶结构单元 UDP-葡萄糖迅速合成,底物浓度的提高对热凝胶分子数量的增加和向胞外转运起到了促进作用,而相对分子质量较低的热凝胶分子对增加溶液黏度作用有限。发酵后期热凝胶溶液黏度迅速增加(图4中 52 h 之后),由于负责分子链延长的催化酶在发酵后期表现出了更高的活性。



样品质量浓度 40 g/L,测定剪切速率 93 s^{-1}

图4 发酵不同时间热凝胶样品表观黏度值

Fig. 4 Apparent viscosity of curdlan-alkali solution at different fermentation time

另外,由图4可知,当溶氧水平提高到 75%后,热凝胶溶液黏度相比较 DO 25%水平时有了明显下降。在两种溶氧条件下,热凝胶最终质量浓度分别为 21.94 g/L 和 23.03 g/L,该结果表明,与热凝胶合成相关的整体酶系在两种溶氧水平时活力近似。因此,造成黏度显著差异的原因据推测是,高溶氧水平对热凝胶分子链延长酶的活力造成抑制,造成发酵后期热凝胶溶液黏度产生差异。有报道表明,

Grifola frondosa 发酵过程中多糖黏度变化趋势与本研究中的结果类似^[32],当通气量由 0.5 L/(L·min) 提高至 0.75 L/(L·min),发酵液黏度迅速增加,而进一步提高至 1.0 L/(L·min)后,黏度明显降低。后续实验中,需要对热凝胶合成相关酶系,分别从蛋白质表达水平以及酶活水平进行详细测定,进一步阐明溶氧水平对相关酶系的影响。

线性大分子溶液黏度与相对分子质量大小具有相关性。研究表明,随着相对分子质量增加,溶液黏度会逐渐增加^[33]。因此,可以通过测定溶液黏度对热凝胶相对分子质量大小进行定性评价。同时由于黏度测定较热凝胶相对分子质量测定方法更为便捷,在初步评价热凝胶产品质量时,采用黏度测定方法将使分析速度得到较大提高。

3 结 语

通过实时调节通气量,建立了土壤杆菌(*Agrobacterium* sp.)ATCC31749 发酵生产热凝胶过

程中的恒定溶氧策略。发酵结果表明,热凝胶葡萄糖转化率不受溶氧水平的影响,但是溶氧限制(DO 5%)时热凝胶生产强度下降明显。

热凝胶具有多种生理作用并已广泛应用于食品、药品和化妆品等领域^[3-4,34],但是不同应用领域对热凝胶的性质要求具有差异。从实验结果可知,产胶期溶氧水平显著影响 *A. sp.* ATCC 31749 发酵生产强度及热凝胶流变性质。通过控制溶氧水平,可以获得具有不同流变性质的热凝胶产品。如,通过控制溶氧水平在限制浓度(DO 5%),可以获得黏度较低的热凝胶产品,而提高产胶期溶氧水平(DO 25%),热凝胶产量及黏度均有显著增加,而进一步提高溶氧水平,在不影响热凝胶产量的情况下可以降低热凝胶的黏度水平。因此,对热凝胶发酵过程中溶氧水平及热凝胶合成酶系的进一步研究,可以为通过控制发酵参数获得不同质量的热凝胶产品提供帮助。

参考文献:

- [1] Stone B A. Chemistry of β -glucans [M]/Bacic A. Chemistry, Biochemistry, and Biology of (1-3)- β -Glucans and Related Polysaccharides. Boston: Academic Press, 2009: 5-46.
- [2] Okobira T, Miyoshi K, Uezu K, et al. Molecular dynamics studies of side chain effect on the β -1,3-D-glucan triple helix in aqueous solution[J]. **Biomacromolecules**, 2008, 9(3): 783-788.
- [3] Sutherland I W, Ellwood D C. Microbial exopolysaccharide-industrial polymers of current and future potential[M]. Cambridge: Cambridge University Press, 1979.
- [4] Zhan X B, Lin C C, Zhang H T. Recent advances in curdlan biosynthesis, biotechnological production, and applications[J]. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 2012, 93(2): 525-531.
- [5] Klarzynski O, Plesse B, Joubert J M, et al. Linear β -1,3 glucans are elicitors of defense responses in tobacco[J]. **Plant Physiology**, 2000, 124(3): 1027-1038.
- [6] Miyanishi N, Iwamoto Y, Watanabe E, et al. Induction of TNF- α production from human peripheral blood monocytes with β -1,3-glucan oligomer prepared from laminarin with β -1,3-glucanase from *Bacillus clausii* NM-1[J]. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, 2003, 95(2): 192-195.
- [7] McIntosh M, Stone B A, Stanisich V A. Curdlan and other bacterial (1 $\rightarrow$ 3)- β -D-glucans[J]. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 2005, 68(2): 163-173.
- [8] 何国庆, 李卫旗. 可德兰多糖发酵的工艺条件[J]. 浙江大学学报: 理学版, 2003(3): 319-322.
HE Guo-qing, LI Wei-qi. Study on cultivation condition of curdlan production[J]. **Journal of Zhejiang University: Science Edition**, 2003(3): 319-322. (in Chinese)
- [9] 吴剑荣, 詹晓北, 刘惠, 等. 氨水流加用于粪产碱杆菌热凝胶发酵[J]. 生物工程学报, 2008, 24(6): 1035-1039.
WU Jian-rong, ZHAN Xiao-bei, LIU Hui, et al. Enhanced production of curdlan by *Alcaligenes faecalis* by selective feeding with ammonia water during the cell growth phase of fermentation [J]. **Chinese Journal of Biotechnology**, 2008, 24 (6): 1035-1039. (in Chinese)
- [10] Yu L, Wu J, Liu J, et al. Enhanced curdlan production in *Agrobacterium* sp. ATCC 31749 by addition of low-polyphosphates[J]. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, 2011, 16(1): 34-41.

- [11] Lee I Y, Kim M K, Lee J H, et al. Influence of agitation speed on production of curdlan by *Agrobacterium species*[J]. **Bioprocess Engineering**, 1999, 20(4): 283–287.
- [12] Lawford H G, Rousseau J D. Production of β -1,3-glucan exopolysaccharide in low shear systems[J]. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 1992, 34(1): 597–612.
- [13] 陈定强. 溶氧及抗生素胁迫对热凝胶发酵的影响[D]. 无锡: 江南大学, 2009.
- [14] Tada T, Matsumoto T, Masuda T. Influence of alkaline concentration on molecular association structure and viscoelastic properties of curdlan aqueous systems[J]. **Biopolymers**, 1997, 42(4): 479–487.
- [15] Tada T, Tamai N, Matsumoto T, et al. Network structure of curdlan in DMSO and mixture of DMSO and water[J]. **Biopolymers**, 2001, 58(2): 129–137.
- [16] 李卫旗. 热凝胶多糖(Curdlan)生产工艺及其分子结构的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2004.
- [17] 武斌, 李涛, 戴干策. 发酵罐中剪切环境与菌体形态和代谢[J]. 化工学报, 1997, 48(1): 108–114.
WU Bin, LI Tao, DAI Gan-ce. Shear environment in fermentors and its influence on morphology of *Penicillium chrysogenum*[J]. **Journal of Chemical Industry and Engineering**, 1997, 48(1): 108–114. (in Chinese)
- [18] 毛勇, 毛健, 李华钟, 等. 溶氧控制条件对双孢菇发酵产胞外多糖的影响[J]. 食品科学, 2013, 34(1): 155–159.
MAO Yong, MAO Jian, LI Hua-zhong, et al. Effect of dissolved oxygen controlling conditions on production of extracellular polysaccharides by *Agaricus bisporus* MJ-0811[J]. **Food Science**, 2013, 34(1): 155–159. (in Chinese)
- [19] West T P. Pyrimidine base supplementation effects curdlan production in *Agrobacterium* sp. ATCC 31749[J]. **Journal of Basic Microbiology**, 2006, 46(2): 153–157.
- [20] Zheng Z, Jiang Y, Zhan X, et al. High curdlan productivity by integration of carbon/nitrogen sources control and sequencing dual fed-batch fermentors operation for production cost reduction[J]. **Applied Biochemistry and Microbiology**, 2013, 12: 1.
- [21] Yu L J, Wu J R, Zheng Z Y, et al. Changes in gene transcription and protein expression involved in the response of *Agrobacterium* sp. ATCC 31749 to nitrogen availability during curdlan production [J]. **Applied Biochemistry and Microbiology**, 2011, 47(5): 487–493.
- [22] Stock A M, Robinson V L, Goudreau P N. Two-component signal transduction[J]. **Annual Review of Biochemistry**, 2000, 69(1): 183–215.
- [23] Leigh J A, Dodsworth J A. Nitrogen regulation in bacteria and archaea[J]. **Annual Review of Microbiology**, 2007, 61: 349–377.
- [24] Yu L J, Wu J R, Zheng Z Y, et al. Changes of curdlan biosynthesis and nitrogenous compounds utilization characterized in *ntnC* mutant of *Agrobacterium* sp. ATCC 31749[J]. **Current Microbiology**, 2011, 63(1): 60–67.
- [25] Zhang H T, Zhan X B, Zheng Z Y, et al. Sequence and transcriptional analysis of the genes responsible for curdlan biosynthesis in *Agrobacterium* sp. ATCC 31749 under simulated dissolved oxygen gradients conditions [J]. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 2011, 91(1): 163–175.
- [26] 马立伟, 詹晓北, 吴剑荣. 基于高密度培养的两阶段发酵技术生产热凝胶的研究[J]. 食品与生物技术学报, 2008, 27(5): 39–44.
MA Li-wei, ZHAN Xiao-bei, WU Jian-rong. Curdlan production by a two-stage fermentation process with high cell density cultivation[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2008, 27(5): 39–44. (in Chinese)
- [27] Lawford H G, Phillips K R, Lawford G R. A two stage continuous process for the production of thermogelable curdlan-type exopolysaccharide[J]. **Biotechnology Letters**, 1982, 4(11): 689–694.
- [28] Futatsuyama H, Yui T, Ogawa K. Viscometry of curdlan, a linear (1 $\rightarrow$ 3)- β -D-Glucan, in DMSO or alkaline solutions[J]. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, 1999, 63(8): 1481–1483.
- [29] 董学前. 微生物发酵生产可得然胶的研究[D]. 济南: 山东大学, 2011.
- [30] 郑之明, 杨守志, 樊永红, 等. 黄原胶发酵过程中流变学行为和气液传质的研究[J]. 天然气化工, 2006, 31(5): 27–31.
ZHENG Zhi-ming, YANG Shou-zhi, FAN Yong-hong, et al. Studies on fluid rheological properties and mass transfer during the fermentation of *Xanthomonas campestris* in a stirred reactor[J]. **Natural Gas Chemical Industry**, 2006, 31(5): 27–31. (in Chinese)
- [31] 张静, 周家春, 黄龙. 不同大麦品种来源 β -葡聚糖流变学特性[J]. 粮食与油脂, 2010(2): 15–19.
ZHANG Jing, ZHOU Jia-chun, HUANG long. Rheological behavior of β -glucan extracted from different varieties of barley[J].

- Cereals and Oils**, 2010, (2):15–19. (in Chinese)
- [32] 崔凤杰, 陶文沂, 许泓瑜, 等. 搅拌转速和通气量对灰树花深层发酵培养的影响[J]. 食品与生物技术学报, 2006, 25(4):67–71.
- CUI Feng-jie, TAO Wen-yi, XU Hong-yu, et al. Effects of agitation and aeration on the production of mycelial biomass and exopolysaccharides by *Grifola frondosa* GF9801[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2006, 25(4):67–71. (in Chinese)
- [33] 吴雪平, 凌立成, 吕春祥, 等. 不同分子量丙烯腈–丙烯酰胺共聚物溶液的流变性研究[J]. 新型碳材料, 2004, 19(2):103–108.
- WU Xue-ping, LING Li-cheng, LU Chun-xiang, et al. Rheology of poly (acrylonitrile–acrylamide) solutions with different molecular weights[J]. **New Carbon Materials**, 2004, 19(2):103–108. (in Chinese)
- [34] Spicer E J F, Goldenthal E I, Ikeda T. A toxicological assessment of curdlan[J]. **Food and Chemical Toxicology**, 1999, 37(4):455–479.

科技信息

美国 FDA 建议禁止加工食品使用人造反式脂肪

美国食品及药品管理局(FDA)建议在加工食品中禁用反式脂肪,称后者增加人们患心脏病的风险。

这类脂肪的主要成分——部分氢化油能够提高“有害的”胆固醇。FDA 称,减少摄入反式脂肪每年可能减少两万例心脏病和 7,000 例心脏病致死病例。

“尽管过去 20 年来在美国这种可能有害的人造反式脂肪的消费量下降,目前的摄入水平仍能够引发严重的公共卫生担忧,”FDA 局长汉贝格(Margaret Hamburg)说道。

公共卫生人士对禁用建议表示欢迎。

“人造反式脂肪是一种特别强烈的促发心脏病的物质,(FDA)今天的声明将加速这种物质从食物链中彻底消失,”一家游说团体的执行长 Michael Jacobson 称。

FDA 并非首家呼吁禁用反式脂肪的政府机构。纽约市已经禁止饭店使用反式脂肪,包括在油炸食品中的使用。很多饭店和包括麦当劳(MCD.N: 行情)在内的快餐店都已经不再使用反式脂肪。

[信息来源]食品伙伴网. 美国 FDA 建议禁止加工食品使用人造反式脂肪 [EB/OL]. (2013-11-12). <http://news.foodmate.net/2013/11/248357.html>

欧盟 EFSA 将重新评估磷酸盐食品添加剂的健康风险

11 月 13 日,欧盟食品安全局(EFSA)消息应欧盟委员会的要求,对一篇关于一般人群高摄入食品添加剂磷酸盐与增加心血管风险的相关性研究的科技论文发布了评估结果。该论文指出,大量摄取磷酸盐可增加心血管疾病的发病风险。

EFSA 进行评估后得出结论认为,血清中磷含量和不良反应之间不能建立因果关系。另外论文并未明确显示,心血管疾病风险的增加与磷的膳食摄入量、磷酸盐添加剂的形式及血清中磷含量有关。EFSA 将在 2018 年 12 月 31 日前重新评估磷酸盐作为食品添加剂的健康风险。

[信息来源]EFSA. Assessment of one published review on health risks associated with phosphate additives in food. EFSA Journal 2013;11(11):3444. <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/3444.htm>.