

α -葡聚糖酶在模拟炼糖生产条件下的活性变化

黎志德, 梁达奉, 黄曾慰, 张九花, 常国伟, 刘桂云

(广东省科学院广东省生物工程研究所, 广东省酶制剂与生物催化工程技术研究中心, 广东广州 510316)

摘要: α -葡聚糖酶已经在用于甘蔗糖、甜菜糖以及精炼糖生产中, 其使用环境与一般酶学性质研究时选取的条件具有明显差异。本文结合实际生产条件, 通过提前升温加热, 调整 pH, 加入蔗糖到反应底物溶液中来模拟炼糖生产环境, 再测定 α -葡聚糖酶在不同条件下的活性变化, 为生产应用提供数据支撑。在无机盐缓冲体系中, 温度的升高和中性到碱性的 pH 对 α -葡聚糖酶的活性影响明显。在 55 °C, pH 5.5~7.0 水浴 15 min 后, 剩余酶活保持在 20% 到 40% 的区间。当蔗糖加入反应溶液后, α -葡聚糖酶对温度和 pH 的适应性会明显提高。当蔗糖浓度达到 60 °Bx 时, α -葡聚糖酶在 65 °C, pH 5.5~8.0 或者 75 °C, pH 5.5~7.0 的条件下, 水浴 15 min 后剩余酶活均可保持 40% 以上。这说明 α -葡聚糖酶在高浓度蔗糖溶液中, 热稳定性良好, 可以应用在炼糖生产当中。

关键词: 甘蔗; 葡聚糖; 水解酶; 热稳定性; 适应性

文章编号: 1673-9078(2018)10-165-170

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.10.023

Changes in the Activity of Dextranase under Simulated Sugar Refining Conditions

LI Zhi-de, LIANG Da-feng, HUANG Zeng-wei, ZHANG Jiu-hua, CHANG Guo-wei, LIU Gui-yun

(Guangdong Academy of Sciences Guangdong Provincial Bioengineer Institute, Guangdong Provincial Engineering and Technique Research Centre of Enzyme and Biocatalysis, Guangzhou 510316, China)

Abstract: Dextranase (EC 3.2.1.11) has been used in the production of cane sugar, beet sugar and refined sugar. There were obvious differences between the conditions of using this enzyme and those normally used for studies on general enzymatic properties. In this study, we simulated sugar refining conditions by preheating, pH adjustment and adding sucrose to the reaction substrate solution according to the actual production conditions, and then measured the activity changes in the activity of dextranase under different conditions. The obtained results data will be provided data to support for the sugar refining production. The experimental results showed that, it's obvious that the effect of temperature and pH on enzyme in the inorganic salt buffer. In the inorganic salt buffer system, the increase in temperature and use of a neutral to alkaline pH had a significant effect on the activity of dextranase. At 55 °C, pH 5.5~7.0, the enzyme activity remained between 20% to 40%. When sucrose was added after an incubation in the water bath at 55 °C and pH 5.5~7.0 for 15 min, the remaining enzyme activity was in the range of 20% to 40%. Upon the addition of sucrose to the reaction solution, the adaptability of the dextranase to temperature and pH was remarkably improved. So this dextranase can be used in manufacture. In the 60 °Brix sucrose solution, when the dextranase was at 85 °C, pH 5.5~7.0 or 75 °C, pH 5.5~8.0, the activity after 15 min could be maintained over 40%. When the sucrose concentration was at 60 °Brix, no less than 40% of the activity of dextranase was retained after a reaction for 15 min in the water bath at 65 °C and pH 5.5~8.0 or 75 °C and pH 5.5~7.0. These results indicate that dextranase has good thermal stability in a high-concentration sucrose solution and can be used in sugar refining.

Key words: sugar cane; dextran; hydrolases; thermal stability; adaptability

α -葡聚糖酶 (Dextranase, EC 3.2.1.11) 可以专一性水解 α -1,6-糖苷键, 使大分子的葡聚糖水解开成小分

收稿日期: 2018-05-03

基金项目: 广东省酶制剂与生物催化工程技术研究中心项目; 广西科技计划项目 (桂科 AB16380099)

作者简介: 黎志德 (1987-), 男, 工程师, 硕士, 研究方向: 酶的分离纯化和性质鉴定

通讯作者: 梁达奉 (1964-), 男, 博士, 教授, 高级工程师, 研究方向: 制糖生物技术

子的寡聚糖^[1]。甘蔗在收割、存放和后续加工生产环节中容易发生细菌感染导致 α -葡聚糖的产生。文献指出^[2], 蔗汁中出现的 α -葡聚糖其高聚合度部分的占比高达 31.32%, 相对分子质量可以达到 1.02×10^6 , 这对于精炼糖的生产和成品质量都有不良影响。炼糖生产时, α -葡聚糖在溶糖和澄清工段的累积会增大糖浆粘度, 减慢过滤速度、絮凝速度及浮渣压紧速度, 阻塞脱色系统, 而在结晶工段则引起糖蜜粘度增高, 蔗糖分结晶率降低, 结晶异形体出现等现象。因此 α -葡聚

糖酶在甘蔗亚硫酸法制糖^[3,4]、原糖精炼^[5]以及甜菜制糖^[6]都有应用。文献指出,加入 0.05 U/mL 的酶即可将蔗汁中浓度为 800~900 mg/kg Bx 的 α -葡聚糖完全去除^[7]。另有报道^[8]在甘蔗混合汁中加入国外已有商业化应用的 α -葡聚糖酶,按酶活 30000 U/mL 计算加入 5~10 mg/kg,反应 30 min 后,葡聚糖去除率接近 90%。同时,甘蔗制糖生产线上实验表明,降解的 α -葡聚糖可以减少沉降时间,提高筒纯度^[9]。由于 α -葡聚糖酶在 pH 接近中性以及高温下酶促反应活性均会受到影响^[10,11],因此甘蔗制糖生产线应用时在选择反应环境条件相对温和而且停留时间较长的点加入,例如压榨车间第 1 座及倒数第 2 座压榨机组的蔗汁槽^[12],或者将蔗汁槽条件温度控制在 20 到 45 °C 之间,pH 在 5.4 到 6.8 之间^[13];但是,在炼糖生产中,溶糖的糖浆浓度一般大于 50 Bx,溶液粘度很大,同时 pH 在 6.0 到 6.8 之间,温度大于 65 °C,根据此前在无机缓冲盐溶液中的数据,此条件会造成 α -葡聚糖酶酶促反应速率和稳定性明显下降。另一方面,文献也提出高浓度蔗糖对酶蛋白有一定的保护作用^[14]。同时,由于原糖原有的葡聚糖并不会随着炼糖生产流程被大幅除去,反而会在结晶时混入精糖当中,因此同一批次原料会持续影响成品品质,使其对后续深加工造成影响更为突出。文献指出^[5],通过改变工艺参数, α -葡聚糖酶同样可以快速清除原糖糖浆、过滤清浆和脱色清浆中的 α -葡聚糖,并在连续加入 24 h 后,精糖成品不再检出葡聚糖。此前文献多以酶在最适条件下的反应特征为基准,去考虑如何在制糖生产中的应用,较少研究酶在具体生产工艺条件下的情况,因此本文针对性地模拟炼糖条件,研究 α -葡聚糖酶在类似条件下的活性变化。

1 材料与方法

1.1 原料

1.1.1 主要实验材料

α -葡聚糖酶冻干粉,葡聚糖单克隆抗体检测试剂盒,(原糖),广东省生物工程研究所; α -葡聚糖 T-2000 标准品,美国法玛西亚公司;3,5-二硝基水杨酸,国药集团化学试剂有限公司;蔗糖、柠檬酸,磷酸二氢钾,磷酸氢二钠、浓盐酸、氢氧化钠,酒石酸钾钠,无水亚硫酸钠,苯酚(分析纯),广州化学试剂厂。

α -葡聚糖酶基因序列来源于 *Chaetomium*,由重组毕赤酵母发酵生产,广州市微生物所制作成冻干粉,酶在 pH 5.5 下保存,最适反应温度为 50~60 °C,最适反应 pH 为 5~6。分析纯蔗糖应预先测定原始葡聚糖

含量。

1.1.2 主要实验仪器

FiveEasy™ FE20 pH 计,AL104 电子分析天平,美国梅特勒公司;DK-S24 型电热恒温水浴箱,上海精宏实验设备有限公司;2800 型紫外-可见分光光度计,美国尤尼科公司。

1.2 实验方法

1.2.1 材料准备

取 α -葡聚糖酶冻干粉用柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲液溶解,pH 5.5,粉末与缓冲液的质量体积比不低于 1:20,定容,测定酶活,置于 4 °C 保存备用。酶活测定方法按 DNS (3,5-二硝基水杨酸)法^[15],即将酶液稀释适当倍数,加入到底物溶液中,55 °C 水浴反应 10 min,加入 DNS,沸水浴 5 min,定容,测定 OD_{540nm}。

酶活定义:采用 DNS 法,每分钟催化底物(α -葡聚糖 T-2000 标准品)水解产生 1 μ mol 还原糖所需的酶量为 1 个酶活单位,以 U 表示。

剩余酶活定义:在经过改变溶液环境,温度和 pH 条件处理后,按一定时间重新测定酶活,以起始酶活为 100%,处理后测定数据折算成对应百分比。

1.2.2 高温条件下 α -葡聚糖酶的酶活变化

将酶液分别在 55 °C、65 °C、75 °C、85 °C 下水浴保温,于 5 min、10 min、15 min 分别取样,测定酶活。

1.2.3 高温与近中性 pH 条件下 α -葡聚糖酶的酶活变化

将酶液分别使用 pH 5.5、6.0、6.5、7.0、8.0 的磷酸二氢钾-磷酸氢二钠缓冲溶液按照体积比 1:9 稀释,在 55 °C、65 °C、75 °C、85 °C 下水浴保温,于 5 min、10 min、15 min 后取样,测定酶活。

1.2.4 蔗糖浓度对测定酶活的影响

按照质量体积比 2% 将标准 α -葡聚糖 T-2000 标准品加入到预先配制好的 10、20、30、40、50、60 Bx 蔗糖溶液,加热搅拌至完全溶解,冷却后置于 4 °C 保存备用,加入步骤 1.2.1 中预处理的酶液,测定酶活。

1.2.5 在 60 Bx 蔗糖溶液,高温、中性 pH 环境下 α -葡聚糖酶的酶活变化

配制 60 Bx 的蔗糖溶液,其初始 pH 一般在 pH 6.0 左右,分别用 1 mol/L 的盐酸或氢氧化钠溶液调节 pH 至 5.5、6.0、7.0、8.0,置于 4 °C 保存备用。反应前,与酶液按照体积比 1:9 的比例混合均匀,并在 55、65、75、85 °C 下水浴保温,于 5 min、10 min、15 min 后取样,测定酶活。

1.2.6 酶浓度对酶热稳定性测定的影响

将酶液分别用 60 Bx 蔗糖溶液稀释 10 倍、100 倍和 1000 倍，并在 55 °C 下水浴保温，于 5 min、10 min、15 min 后取样，测定酶活。

1.2.7 酶在高温环境下降解原糖中的 α-葡聚糖

用蒸馏水将原糖溶解至 60 Bx，测定 pH，分别在 55 °C、65 °C、75 °C、85 °C 下保温，加入 α-葡聚糖酶至浓度为 0.3 U/mL，每隔 10 min 取样测定葡聚糖含量，至 1 h，α-葡聚糖含量按免疫比浊法测定^[16]。

1.2.8 数据统计分析

预先按照 DNS 法得到葡萄糖标准曲线：

葡萄糖含量 (mg/mL) = A × OD_{540nm} + b。

测定所得 OD_{540nm} 值，按一下公式进行换算：

酶活(U/mL) = (OD_{540nm} - b) / A × 稀释倍数 × 1000 / 180

每次反应前，先将预处理好的酶液进行酶活测定，以起始样本测定所得酶活为 100%，然后按百分比折算各个反应后样本的值为剩余酶活，其中步骤 1.2.4 中直接以无机盐缓冲液中所测得酶活为 100%。

步骤 1.2.7 计算葡聚糖含量方法见引用文献。

2 结果与讨论

2.1 温度和 pH 变化对 α-葡聚糖酶的影响

2.1.1 高温下 α-葡聚糖酶的酶活变化

取 pH 5.5 柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲液配制的 α-葡聚糖酶酶液在各温度区间水浴，分时间段取样并按照适当的比例稀释，测定酶活，折算成相对值：

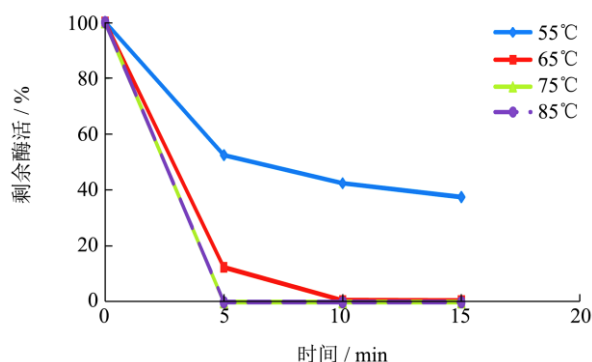


图1 高温下的酶活变化

Fig.1 The changes of enzyme activity under high temperature

从图 1 中可见，在 55 °C 下，α-葡聚糖酶活性在水浴后 5 min 出现明显下降后保持相对稳定，水浴 15 min 后剩余酶活为 37.54%。在 65 °C，75 °C 和 85 °C 下，水浴 5 min 后酶活进一步下降，其中 85 °C 的样本酶活未检出。说明在磷酸盐缓冲液中，当温度大于 65 °C 时 α-葡聚糖酶并不稳定。

2.1.2 高温与近中性 pH 条件下 α-葡聚糖酶的酶活变化

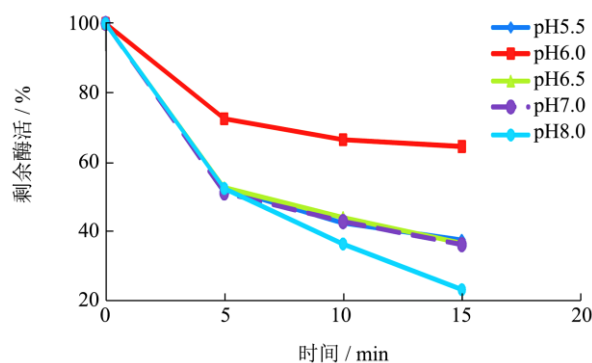


图2 在 55 °C 和近中性 pH 条件下的酶活变化

Fig.2 The changes of enzyme activity under 55 °C and near neutral pH

55 °C 水浴条件下，不同 pH 样本酶活经过折算后得到图 2。从图中可见，在水浴保温过程中，前 5 min 各组的酶活力都大幅下降，之后下降速率降低。在 55 °C，pH 6.0 条件下的 α-葡聚糖酶表现得更稳定，保温 15 min 后剩余酶活为 64.53%。pH 5.5、pH 6.5、pH 7.0 和 pH 8.0 的结果相类似，5 min 后，剩余酶活分别为 52.52%、52.70%、55.00% 和 54.16%。15 min 后分别为 37.54%、36.62%、36.23% 和 23.26%，说明在 55 °C 下，弱酸性的 pH 环境对该酶保持稳定性更有利^[14]。

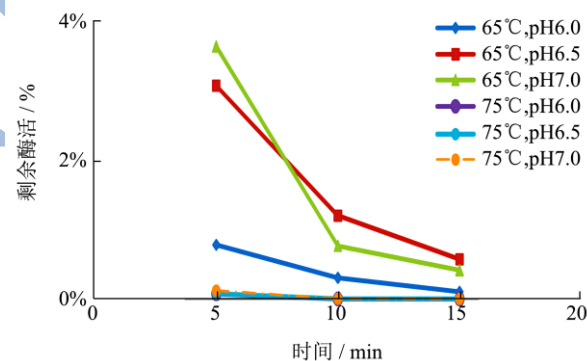


图3 在 65 °C、75 °C 和中性 pH 下的酶活变化

Fig.3 The changes of enzyme activity under 65 °C, 75 °C and neutral pH

在 65 °C 到 75 °C 区间内，酶活损失明显加快，5 min 后所有样本的酶活都剩余不足 10%，随着温度的上升，接近中性 pH 环境的能保留更多酶活。而水浴温度为 85 °C 的各个样本，酶活均未检出。

2.2 蔗糖溶液对 α-葡聚糖酶的影响

2.2.1 蔗糖浓度对酶活测定的影响

以缓冲液体系中测得酶活为 100%，将不同蔗糖浓度下测得的酶活折算成相对酶活，结果如图所示。结果表明蔗糖浓度与 α-葡聚糖酶酶活测定值呈负相关，这是由于环境体系中粘度上升造成。实际生产中，

由于糖浆粘度会随着温度上升而下降,同时高浓度的蔗糖对酶蛋白也有一定的保护作用,最终酶在生产线上的使用效果受以上三个因素共同影响。

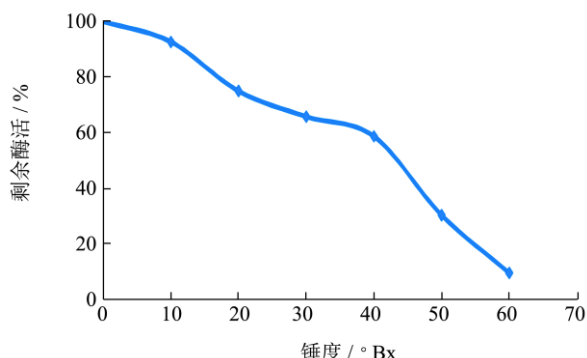


图4 蔗糖浓度对测定酶活的影响

Fig.4 Effect of sucrose concentration on enzyme activity measure

2.2.2 在 60 °Bx 蔗糖浓度, 高温、近中性 pH 环境下 α-葡聚糖酶的酶活变化

按时间段从不停 pH 的蔗糖溶液中取样后经稀释后测定酶活,折算后统计,实验结果如下表:

表1 酶在高蔗糖浓度, 近中性 pH, 高温下的酶活变化

Table 1 The effects of Near-neutral pH, high temperature and high sucrose concentration environment on enzyme activity

剩余酶活/%	5 min	10 min	15 min
55 °C, pH 5.5	86.56±7.18	82.35±7.14	80.39±8.22
55 °C, pH 6.0	93.95±3.24	85.38±7.71	77.50±3.77
55 °C, pH 7.0	90.36±5.45	81.35±7.41	69.94±5.82
55 °C, pH 8.0	78.31±2.32	75.74±2.88	65.74±4.65
65 °C, pH 5.5	84.38±3.42	70.94±2.51	62.75±5.62
65 °C, pH 6.0	85.27±1.91	72.94±2.06	65.51±2.57
65 °C, pH 7.0	90.06±5.93	71.57±4.81	65.48±5.57
65 °C, pH 8.0	81.23±4.20	72.27±4.43	63.80±1.59
75 °C, pH 5.5	84.80±3.10	52.52±3.38	46.22±3.64
75 °C, pH 6.0	84.43±1.57	53.03±0.43	48.80±3.01
75 °C, pH 7.0	89.71±1.17	66.60±3.36	57.14±1.68
75 °C, pH 8.0	26.57±1.78	5.88±0.19	2.87±0.01
85 °C, pH 5.5	4.66±0.06	2.83±0.09	2.54±0.05
85 °C, pH 6.0	5.06±0.84	2.30±0.20	1.73±0.26
85 °C, pH 7.0	4.90±0.24	0.67±0.03	0.58±0.01
85 °C, pH 8.0	2.66±0.10	0.59±0.01	0.29±0.04

表中数据表明, α-葡聚糖酶在 60 °Bx 蔗糖溶液中活性能够保持稳定的温度和 pH 的范围都明显增大。在 55 °C~75 °C 和 pH 5.5~8.0 的条件下,除了 75 °C, pH 8.0 的这组样本酶活损失明显以外,其他样本 5 min 后的剩余酶活都在 80% 以上。保温 10 min 后,测得剩余酶活保持 60% 以上, 15 min 后保持在 40% 以上。

当温度达到 85 °C 时,酶的热稳定性出现明显的下降,5 min 后酶活都低于 6%。随着温度的上升,中性 pH 样本中酶的稳定性较弱酸、弱碱性的样本强,与此前缓冲液体系中的实验结果相一致。综上所述,在炼糖生产中使用 α-葡聚糖酶时,将反应环境保持在不高于 75 °C,预留 15 min 的停留时间,会明显提升酶的反应效率,减低使用量,提升效益。同时在甘蔗制糖生产中,为了避免蔗糖受热水解形成还原糖,一般会 pH 调节至中性附近,该操作有利于 α-葡聚糖酶保持活性。

2.2.3 酶浓度对酶热稳定性测定的影响

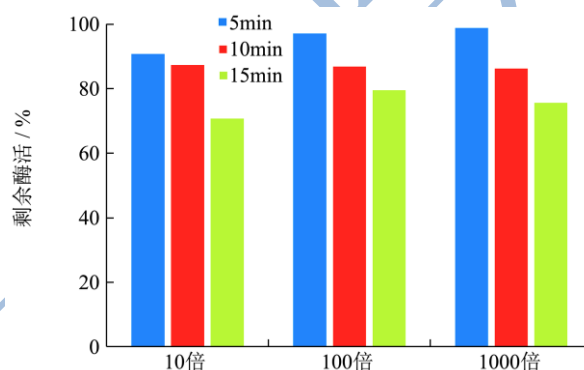


图5 酶液浓度对热稳定性测定的影响

Fig.5 The effect of enzyme concentration on the determination of thermal stability

将不同稀释倍数测得结果折算成相对酶活,结果如图 5。由图 5 可见, α-葡聚糖酶在蔗糖溶液中稀释倍数的变化,对酶的热稳定性测定结果影响较小,不同组间差异不超过 10%。

2.2.4 在 65 和 75 °C 下加酶降解原糖中原有的葡聚糖

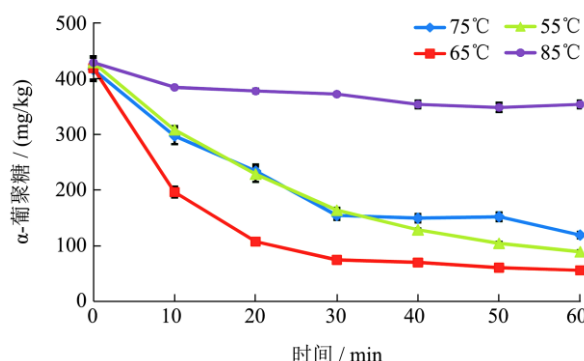


图6 酶在不同温度下降解原糖中的 α-葡聚糖

Fig.6 Enzymatic degradation of α-glucan in raw sugar at different temperature

取巴西进口原糖,按质量比 3:3 加入蒸馏水煮沸溶解,测得其最终锤度为 64.5 °Bx, pH 5.92,四次取样分别测得其葡聚糖含量 428、431、433 和 428 mg/kg °Bx,加入浓度为 0.3 U/mL 的 α-葡聚糖酶反应

1 h 后结果如图 6。

由图 6 可以得知, α -葡聚糖的降解大部分发生在酶加入后的前 30 min, 延长反应时间, 除 55 °C 样本 α -葡聚糖含量还有比较明显的下降外, 其他温度梯度下的样本变化幅度并不大。因此在生产应用时, 可以用 30 min 作为酶的单次投放最大持续反应时间。其中, 65 °C 的样本降解效果最好, 在酶加入后 30 min, 剩余的 α -葡聚糖已不足 100 mg/kg。55 °C 和 75 °C 的样本效果次之, 在反应 30 min 后剩余不足 200 mg/kg。继续反应至 60 min, 55 °C 的样本中 α -葡聚糖的含量会进一步下降到 100 mg/kg, 与 65 °C 样本的结果较为接近。85 °C 下, α -葡聚糖酶在前 10 min 后失去大部分的活性, 反应 60 min 后 α -葡聚糖下降量不足 100 mg/kg, 说明在 85 °C 下, 降解相同水平的 α -葡聚糖时, 需要提高酶的加入量。

3 结论

3.1 α -葡聚糖酶在高温和近中性 pH 条件下能保持一定的稳定性。无机盐缓冲液条件下, 在 pH 5.5~7.0 的环境, 55 °C 水浴 15 min 后剩余酶活仍保持 20% 到 40% 的区间内。在 60 Bx 蔗糖溶液中, 较高的溶液粘度使 α -葡聚糖酶的酶促反应速率下降, 同时热稳定性得到明显提升。在 65 °C, pH 5.5~8.0 或 75 °C, pH 5.5~7.0 下, 水浴 15 min 后剩余酶活均可保持 40% 以上。

3.2 原糖精炼有多种工艺方案^[17], 一般工艺流程是原糖经过复筛后重溶, 糖浆浓度保持在 60 Bx, 温度为 80~85 °C, 而 pH 会因为原糖批次不同有所差异, 在 pH 6.0 左右波动。因此, 实验将蔗糖溶液浓度设定为 60 Bx, 模拟炼糖生产的工艺条件。同时, 由于不同批次来源的蔗糖溶解后的溶液 pH 存在差异, 实验中使用的蔗糖配成 60 Bx 溶液后, pH 一般在 5.5~6.0 之间。结合实验的结果, 考虑到 pH 5.5 是 α -葡聚糖酶磷酸盐缓冲体系中最适反应温度下的最适反应 pH, 所以把试验 pH 范围起点统一调整到 pH 5.5。根据本实验结果, α -葡聚糖酶具有直接加入到生产线上的条件。生产使用时根据实际情况, 可以通过将溶糖温度控制在 75 °C 以下, 控制糖浆 pH 在中性附近和延长酶的停留时间来提高酶去除葡聚糖的效率, 当环境温度超过 75 °C 或者 pH 偏向碱性时, 需要加大酶的加入量保证效果。

参考文献

[1] 梁达奉. α -葡聚糖酶的基因工程菌构建、发酵及其应用研究 [D]. 广州: 广东工业大学, 2011
LIANG Da-feng. Construction and fermentation of

recombinant *pichia pastoris* to express dextranase and its applications [D]. Guangzhou: Guangdong University of Technology, 2011

- [2] 赵振刚, 贺湘, 于淑娟. 甘蔗混合汁酶解时葡聚糖相对分子质量及浓度分析 [J]. 华南理工大学学报(自然科学版), 2013, (10): 40-46
ZHAO Zhen-gang, HE xiang, YU Shu-juan. Relative molecular mass and concentration analyses of sugarcane dextranin mixed juice with enzymatic hydrolysis [J]. Journal of South China University of Technology (NATURAL SCIENCE EDITION), 2013, 10: 40-46
- [3] 姚满芳, 常国炜, 韦红桥, 等. 葡聚糖酶在甘蔗制糖过程的应用试验研究 [J]. 甘蔗糖业, 2015, 6: 18-22
YAO Man-fang, CHANG Guo-wei, WEI Hong-qiao, et al. Experimental study on application of dextranase in cane sugar manufacture [J]. Sugarcane and Cansugar. 2015, 6: 18-22
- [4] 贺湘, 赵振刚, 于淑娟, 等. 葡聚糖酶应用于甘蔗混合汁的工艺优化 [J]. 现代食品科技, 2013, 29(4): 330-335
HE xiang, ZHAO Zhen-gang, et al. Optimize the application of dextranase in sugarcane mixture [J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 29(4): 330-335
- [5] 马步, 常国炜, 蚁细苗, 等. 葡聚糖酶在原糖精炼生产中的应用研究 [J]. 广西糖业, 2014, 3: 18-21
MA Bu, CHANG Guo-wei, YI Xi-miao, et al. Application of dextranase in the production of refined sugar [J]. Guangxi Sugar Industry, 2014, 3: 18-21
- [6] 佐山晃司, 鎌田隆, 村椿孝行, 等. 甜菜糖製造工程の多糖類による濾過障害とその改善に関する研究 [J]. 日本化学会誌, 1985, 2: 143-151
Kouji SAYAMA, Takashi KAMADA, Takayuki MURATSUBAKI, et al. Decrease in filtration velocity by polysaccharides and its increment by dextranase treatment in beet sugar manufacturing process [J]. Nippon Nogetikagaku Kaishi, 1985, 2: 143-151
- [7] 岑成福, 蚁细苗, 梁达奉, 等. 酶解除去蔗汁中的右旋糖酐 [J]. 甘蔗糖业, 2013, 6: 12-17
CEN Cheng-fu, YI Xi-miao, LIANG Da-feng, et al. Apply dextranase to hydrolyze dextrans in sugarcane juice [J]. Sugarcane and cansugar, 2013, 6: 12-17
- [8] ZHAO Zhen-gang, He xiang, YU Shu-juan, et al. Optimizing conditions for dextranase application of sugarcane mixed juice using response surface methodology [J]. International Sugar Journal, 2014, 1: 50-55
- [9] 黎志德. 右旋糖酐酶的纯化与表征 [D]. 南宁: 广西大学, 2013

- LI Zhi-de. Study on purification and enzymatic properties of dextranase [D]. Nanning: Guangxi University, 2013
- [10] 贺湘,赵振刚,于淑娟,等.葡聚糖酶在甘蔗混合汁澄清中的应用[J].现代食品科技,2013,29(9):175-179
- HE-Xiang, ZHAO Zhen-gang, et al. Lipase-catalyzed synthesis of phytosterol myristate [J]. Science and Technology of Food Industry. 2013, 29(9):175-179
- [11] 张平军.葡聚糖对碳酸饱和和蔗糖成核过程影响机理的研究[D].广州:华南理工大学,2013.
- ZHANG Ping-jun. Effects and mechanisms of dextran on the carbonatization and the crystallization of sucrose [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2013
- [12] 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
- ZHONG Zhi-cai, MA Bu, XU Jie-rong, et al. Experiment and study on the use of dextranase for canesugar process [J]. Sugarcane and Cansugar, 2014, 3: 41-46
- [13] 岑成福.右旋糖酐酶在制糖生产中的应用研究[D].南宁:广西大学,2014
- CEN Cheng-fu, Study on Application of dextranase in sugarcane mill [D]. Nanning: Guangxi University, 2014
- [14] 黎志德,曾练强,蚁细苗,等.右旋糖酐酶的保存稳定性研究[J].广西蔗糖,2013,4:31-34
- LI Zhi-de, ZENG Lian-qiang, YI Xi-miao, et al. Study on the preservation and stability of dextranase [J]. Guangxi Sugarcane & Cansugar, 2013, 4: 31-34
- [15] 赵亚华,高向阳.生物化学与分子生物学实验技术教程[M].北京:高等教育出版社,2005
- ZHAO Ya-hua, GAO Xiang-yang. Experimental course on biochemistry and molecular biology [M]. Beijing: Higher Education Press, 2005
- [16] 柳颖,蚁细苗,林荣珍,等.免疫比浊法定量检测葡聚糖的研究[J].甘蔗糖业,2013,(5):52-55
- LIU Ying, YI Xi-Miao, LIN Rong-Zhen, et al. The immunoturbidimetry methods for quantitative detection of dextran [J]. Sugarcane and cansugar. 2013, 5: 52-55
- [17] 陈维钧,许斯欣.甘蔗制糖原理与技术(第四分册)蔗糖结晶与成糖[M].北京:中国轻工业出版社,2001
- CHEN Wei-jun, XU Si-xin. Sugarcane sugar principle and technology (book IV) sugar crystallization and sugar formation [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2001