

◆特邀栏目◆

右旋糖酐酶生产菌株的分离鉴定及发酵培养基优化*

杨齐**,黄斌良,吴华德,江朝明

(广西多得乐生物科技有限公司,广西南宁 530000)

摘要:为获得右旋糖酐酶高产菌株,并提高其右旋糖酐酶产量,本研究从土壤中筛选高产右旋糖酐酶真菌,并采用响应面法对其发酵培养基进行优化。实验筛选得到一株生产右旋糖酐酶的菌株 DJ72,经鉴定为腐皮镰刀菌(*Fusarium solani*),并确定其最佳发酵培养基配方为右旋糖酐 T2000 11.88 g/L、蛋白胨 7.15 g/L、尿素 3.14 g/L、磷酸氢二钾 1.50 g/L、硫酸镁 0.20 g/L、硫酸亚铁 0.05 g/L,经优化后右旋糖酐酶活力最高可达 228 U/mL。本研究为右旋糖酐酶的工业化应用提供可能。

关键词:右旋糖酐 右旋糖酐酶 腐皮镰刀菌 响应面 培养基优化

中图分类号:Q939.9 文献标识码:A 文章编号:1005-9164(2021)01-0085-07

DOI:10.13656/j.cnki.gxkx.20210309.009

0 引言

右旋糖酐是一种大分子聚合物,主要由 D-葡萄糖分子通过 α -1,6-糖苷键连接形成的主链,以及 α -1,2-糖苷键和 α -1,4-糖苷键形成的侧链构成^[1]。因其安全无毒、生物相容性好、来源丰富等特性,右旋糖酐已被广泛应用在食品、医药等多个领域^[2,3]。天然的右旋糖酐分子量相对较高,必须经酸水解或酶水解形成小分子量右旋糖酐后才能加以应用。但是酸法生产的右旋糖酐含有氯离子,并且所得产物分子量不统一,不能满足临床需求,而酶法反应条件温和,所得产物分子量范围比较狭窄,并且能大大减少污染^[4]。

右旋糖酐酶(E. C. 3. 2. 1. 11)是一种诱导酶,能够专一性水解右旋糖酐中的 α -1,6-糖苷键^[5,6]。生产右旋糖酐酶的微生物有很多,从一开始,真菌和细菌就被确定为能够水解葡聚糖的主要酶源,特别是真菌。来源于细菌的右旋糖酐酶相对较少,并且其酶活力相对较低,但是却具有良好的热稳定性^[7,8]。真菌来源的右旋糖酐酶大多稳定性好,酶活力较高,具有很高的研究价值和商业价值^[9-13]。

Plackett-Burman (PB)实验设计可以从大量变量中筛选主要因素,响应面法是一种有效的实验工具,通过它可以确定多变量系统中的最优条件。因此,为了有利于工业化生产,本研究拟筛选能够高产

* 南宁市科学研究与技术开发项目(20153330)资助。

【作者简介】

杨齐(1983-),男,博士,工程师,主要从事微生物学研究,E-mail:yangspring7222@126.com。

【**通信作者】

【引用本文】

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):85-91,101.

YANG Q, HUANG B L, WU H D, et al. Isolation and Identification of Dextranase-producing Strains and the Optimization of Fermentation Medium [J]. Guangxi Sciences, 2021, 28(1): 85-91, 101.

右旋糖酐酶的真菌菌株, 并利用响应面法对其发酵生产右旋糖酐酶的培养基进行优化, 以期得到最优的发酵培养基, 为其深入研究及工业化应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

右旋糖酐 T70、T500、T2000 及蓝色葡聚糖购自上海麦克林生化有限公司, 常用化学试剂购自国药集团化学试剂有限公司, 蛋白胨购自 Sigma 公司。

1.2 菌株筛选

平板筛选培养基(g/L): 右旋糖酐 9, 蓝色葡聚糖 1, 硝酸钠 3, 磷酸氢二钾 1, 硫酸镁 0.5, 硫酸锰 0.01, 氯化钾 0.5, 琼脂粉 15-20, pH 值为 5.5-6.0。

基础发酵培养基(g/L): 右旋糖酐 10, 蛋白胨 3, 磷酸氢二钾 1, 硫酸镁 0.5, pH 值为 5.5-6.0。

取 5 g 土样, 加入 50 mL 灭菌 ddH₂O, 振荡 30 min 后静置沉淀, 取上清分别稀释 $1 \times 10^3 - 1 \times 10^7$ 倍后, 取 100 μ L 涂布到平板筛选培养基上, 28 $^{\circ}$ C 静止培养 5-7 d。挑选产生透明圈的菌株, 转接到摇瓶发酵培养基中, 28 $^{\circ}$ C、180 r/min 振荡培养 5-7 d 后, 检测右旋糖酐酶活力^[14]。

1.3 菌株鉴定

1.3.1 形态学鉴定

在 PDA 平板上接种菌株, 28 $^{\circ}$ C 静止培养, 观察并记录菌落形态及颜色。

1.3.2 分子生物学鉴定

收集发酵液中菌丝体, 提取基因组 DNA。以基因组 DNA 为模板, 以 ITS1 (5'-TCCGTAGGT-GAACCTGCGG-3') 和 ITS4 (5'-TCCTCCGCT-TATTGATATGC-3') 为引物, 通过 PCR 扩增 ITS rDNA 序列。所得产物送至华大基因公司进行测序, 将测序结果与 NCBI 数据库已有的 ITS rDNA 序列进行 Blast 比对, 并利用 MEGA 的 Neighbor-Joining 软件构建系统发育树, Boot-strap 分析重复设置为 1 000。

1.4 右旋糖酐酶的活力测定

取 1 mL 适当稀释的酶液, 加入 4 mL 3% 的右旋糖酐 T70 (0.02 mol/L 的醋酸缓冲液配制, 指定 pH 值), 在指定温度下反应 10 min 后, 利用 3,5-二硝基水杨酸(DNS)法检测还原糖量^[15]。

一个酶活力单位(U)定义为每分钟释放 1 μ mol 的还原糖所需的酶量。

1.5 培养基优化

1.5.1 单因素实验

分别用葡萄糖、蔗糖、果糖、柠檬酸、玉米淀粉、糊精取代基础发酵培养基中的碳源。接种筛选出的菌株于各培养基中, 28 $^{\circ}$ C、200 r/min 振荡培养 7 d 后检测右旋糖酐酶活力, 探索发酵产酶所需最佳碳源。

分别用酵母粉、尿素、硝酸钠、硫酸铵等取代基础发酵培养基中的氮源。接种筛选出的菌株于各培养基中, 28 $^{\circ}$ C、200 r/min 振荡培养 7 d 后检测右旋糖酐酶活力, 探索发酵产酶所需最佳氮源。

在最佳碳源和最佳氮源组成的培养基中, 分别添加不同的无机盐: 硫酸镁、氯化钾、氯化钠、磷酸二氢钾、磷酸氢二钾、硫酸锰、硫酸亚铁、氯化钙等。接种筛选出的菌株于各培养基中, 28 $^{\circ}$ C、200 r/min 振荡培养 7 d 后检测右旋糖酐酶活力, 检测无机盐对筛选出的菌株发酵产酶的影响, 以未添加无机盐的培养基作为对照。

1.5.2 响应面实验

1.5.2.1 Plackett-Burman 实验

根据单因素实验结果, 选取 6 个因素进行 PB 实验设计, 每个因素取两个水平: 低水平“-1”和高水平“+1”。

1.5.2.2 最陡爬坡实验

结合 PB 实验结果选出的显著因素, 设计它们的变化方向和步长进行最陡爬坡实验, 使各因素的取值更临近最佳值区域, 为响应面实验做好准备。

1.5.2.3 Box-Behnken Design (BBD) 实验

在最陡爬坡实验确定的实验因素中心点基础上, 根据 BBD 中心组合设计原理, 设计 3 因素 3 水平共 15 个实验点的响应面分析。

2 结果与分析

2.1 菌株筛选

从土壤中筛选得到一株右旋糖酐酶产生菌株 DJ72, 该菌株能够在筛选平板培养基上形成明显透明圈, 接种到基础发酵培养基培养 7 d 后, 所产右旋糖酐酶活力达 98 U/mL。

2.2 菌株鉴定

2.2.1 形态学鉴定

将菌株在 PDA 平板培养基上培养 3 d 后, 菌落生长整齐, 显白色或淡黄色, 呈绒毛状(图 1a), 在显微镜下观察, 菌丝有隔、分枝。小分生孢子呈纺锤状或卵圆形, 大分生孢子呈梭形或月牙形(图 1b)

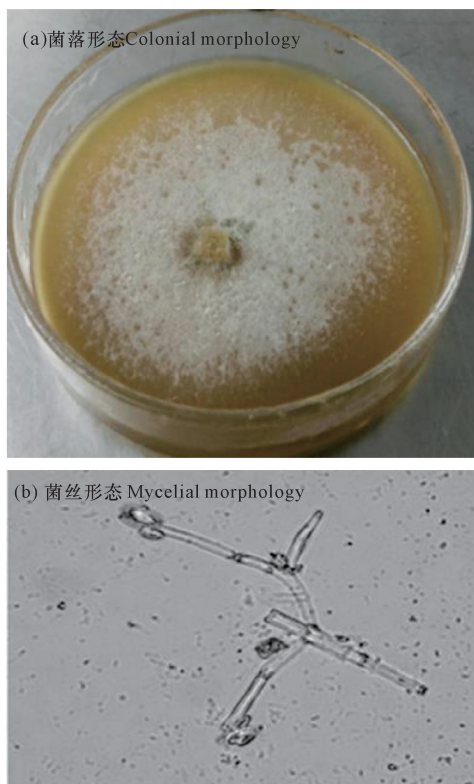


图1 菌株 DJ72 的形态学特征

Fig. 1 Morphological characteristics of strain DJ72

2.2.2 分子生物学鉴定

提取菌株 DJ72 的总 DNA 并作为模板, 应用通用引物 ITS1 和 ITS4 作为引物, 克隆得到其 ITS rDNA 序列, 经测序获得一条 521 bp 的核苷酸序列, 同源性比对分析表明, 其与腐皮镰刀菌 (*Fusarium solani*) 菌株的同源性最高, 达 100% (图 2)。

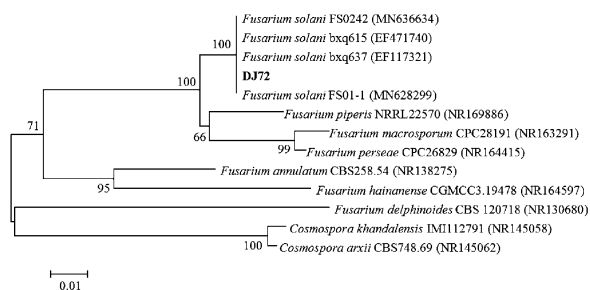


图2 菌株 DJ72 的系统进化分析

Fig. 2 Phylogenetic analysis of strain DJ72

根据形态学及分子生物学鉴定结果, 菌株 DJ72 为腐皮镰刀菌 (*Fusarium solani*)。将 DJ72 保藏在中国微生物菌种保藏中心, 保藏编号为 CGMCC No. 14542。

2.3 培养基单因素优化

2.3.1 碳源对 DJ72 发酵生产右旋糖酐酶的影响

用不同的碳源取代基础发酵培养基中的右旋糖酐 T500, 经摇瓶震荡发酵 7 d 后检测右旋糖酐酶活力。实验结果表明, 右旋糖酐相比其他碳源更有利于右旋糖酐酶的发酵, 其中以分子量更大的右旋糖酐 T2000 为碳源所产酶活力更高 (图 3)。

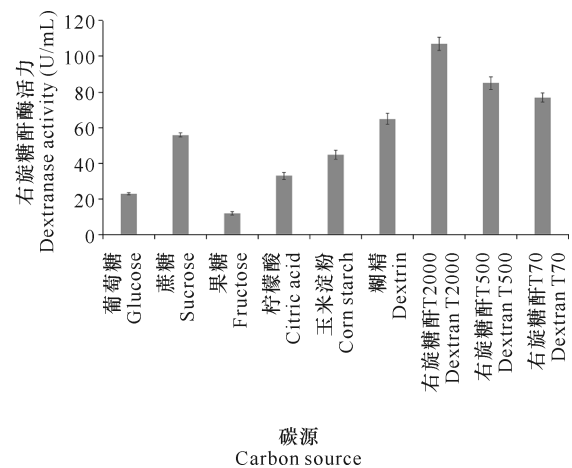


图3 碳源对 DJ72 发酵生产右旋糖酐酶的影响

Fig. 3 Effect of carbon source on dextranase production by DJ72 fermentation

2.3.2 氮源对 DJ72 发酵生产右旋糖酐酶的影响

用不同的氮源取代基础发酵培养基中的氮源, 经摇瓶震荡发酵 7 d 后检测右旋糖酐酶活力。实验结果表明, 蛋白胨与尿素的组合最利于 DJ72 发酵生产右旋糖酐酶 (图 4)。

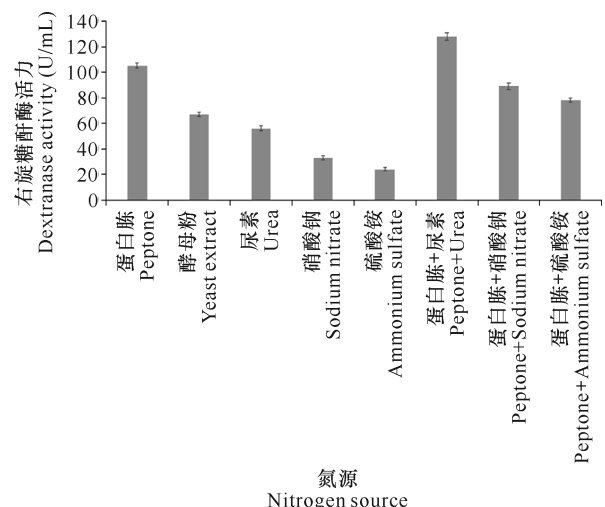


图4 氮源对 DJ72 发酵生产右旋糖酐酶的影响

Fig. 4 Effect of nitrogen source on dextranase production by DJ72 fermentation

2.3.3 无机盐对DJ72发酵生产右旋糖酐酶的影响

在最佳碳源和氮源的基础上添加不同的无机盐,经摇瓶震荡发酵7 d后检测右旋糖酐酶活力。实验结果表明,硫酸镁、磷酸氢二钾和硫酸亚铁有利于DJ72发酵生产右旋糖酐酶(图5)。

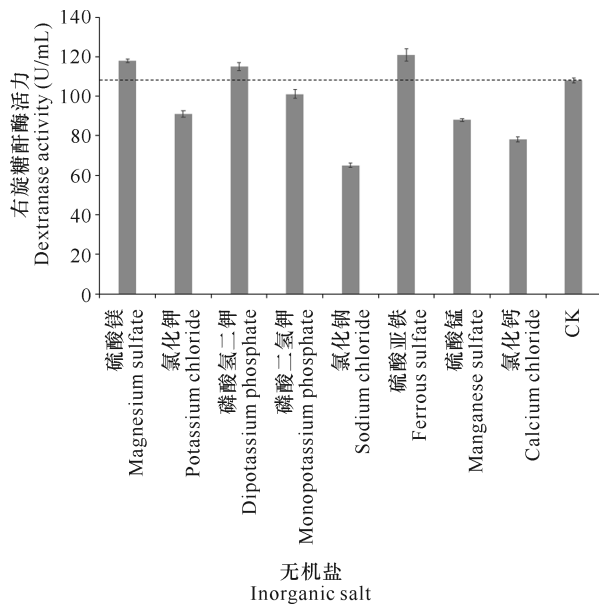


图5 无机盐对DJ72发酵生产右旋糖酐酶的影响

Fig. 5 Effect of inorganic salts on dextranase production by DJ72 fermentation

2.4 培养基响应面优化

2.4.1 Plackett-Burman 实验结果

根据单因素实验结果,选取6个因素进行考察,采用试验次数 $N = 12$ 的PB进行设计。6个因素分别为右旋糖酐 T2000、尿素、蛋白胨、磷酸二氢钾、硫酸镁、硫酸亚铁,分别对应表1中A、B、D、E、G和H列。每个因素取两个水平:低水平“-1”和高水平“+1”。另设两个虚拟列,考察实验误差,分别为C

和F列。具体实验设计和结果分析见表1和表2。

从表2可以看出,在PB设计的两个水平范围内,尿素、蛋白胨和右旋糖酐对酶活力具有显著影响,影响力大小为尿素>蛋白胨>右旋糖酐。因此,对这3种因素开展更进一步研究。为节约成本,今后实验中其余成分取最低值。

2.4.2 最陡爬坡实验

由PB实验结果选取尿素、蛋白胨以及右旋糖酐等3个因素进行最陡爬坡实验,根据这3个因素的效应大小比较,设定它们的变化方向和步长,结果见表3。从实验结果可知,最佳发酵条件可能在实验3附近,因此以实验3的条件为响应面实验的中心点。

表1 Plackett-Burman 实验设计与响应值

Table 1 Plackett-Burman experiment design and response values

实验号 No.	A	B	C	D	E	F	G	H	右旋糖酐酶活力 Dextranase activity (U/mL)
1	-1	1	1	-1	1	1	1	-1	147
2	-1	1	-1	1	1	-1	1	1	108
3	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	138
4	1	1	-1	-1	-1	1	-1	1	114
5	-1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	117
6	1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	141
7	1	-1	-1	-1	1	-1	1	1	99
8	1	1	-1	1	1	1	-1	-1	141
9	-1	1	1	1	-1	-1	-1	1	132
10	1	-1	1	1	-1	1	1	1	72
11	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1	141
12	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	147

表2 Plackett-Burman 实验因素水平和效应分析

Table 2 Factor levels and effect analysis in Plackett-Burman experiments

编码 No.	因素 Factors	水平 Levels		效应 Effect	系数 Coefficient	F 值 F value	P 值 P value	重要性排序 Importance ranking
		-1	1					
A	右旋糖酐 Dextran	5.00 g/L	15.0 g/L	-13.33	-6.67	11.59	0.042 3	3
B	磷酸氢二钾 Dipotassium phosphate	1.50 g/L	2.5 g/L	11.00	5.50	7.89	0.067 3	5
D	硫酸亚铁 Ferrous sulfate	0.05 g/L	0.1 g/L	-11.33	-5.67	8.38	0.062 8	4
E	硫酸镁 Magnesium sulfate	0.20 g/L	0.4 g/L	8.33	4.17	4.53	0.123 2	6
G	蛋白胨 Peptone	5.00 g/L	10.0 g/L	-22.00	-11.00	31.57	0.011 1	2
H	尿素 Urea	2.00 g/L	5.0 g/L	-28.00	-14.00	51.13	0.005 6	1

表 3 最陡爬坡实验设计及结果

Table 3 Design and results of the steepest climbing experiment

实验号 No.	右旋糖酐 Dextran (g/L)	蛋白胨 Peptone (g/L)	尿素 Urea (g/L)	右旋糖酐酶活力 Dextranase activity (U/mL)
1	14	9	1	81
2	13	8	2	134
3	12	7	3	185
4	11	6	4	117

2.4.3 Box-Behnken Design (BBD) 实验结果

在 PB 实验及最陡爬坡实验结果的基础上, 对右旋糖酐、蛋白胨及尿素 3 个变量对右旋糖酐酶发酵结果的影响进行考察, 采用响应面法进行优化, 实验结果如表 4。

表 4 Box-Behnken 实验方案及结果

Table 4 Box-Behnken experiment design and results

实验号 No.	右旋糖酐 Dextran	蛋白胨 Peptone	尿素 Urea	右旋糖酐酶活力 Dextranase activity (U/mL)
1	1	-1	0	202
2	0	1	1	191
3	-1	0	1	212
4	0	0	0	229
5	0	0	0	228
6	-1	1	0	217
7	0	1	-1	207
8	0	-1	-1	171
9	1	1	0	185
10	1	0	1	184
11	1	0	-1	210
12	0	-1	1	211
13	-1	0	-1	173
14	-1	-1	0	175
15	0	0	0	225

表 5 方差分析结果

Table 5 Analysis of variance for the quadratic model

来源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 Freedom	均方和 Mean squares	F 值 F value	P 值 P value	显著性 Significant
Model	5 628.92	9	625.44	53.53	0.000 2	**
A	2.00	1	2.00	0.17	0.696 2	
B	210.12	1	210.12	17.99	0.008 2	**
C	171.13	1	171.13	14.65	0.012 3	*
AB	870.25	1	870.25	74.49	0.000 3	**
AC	1 056.25	1	1 056.25	90.41	0.000 2	**
BC	784.00	1	784.00	67.10	0.000 4	**

通过 Design Expert 软件对表 4 中实验结果进行二次多元回归拟合, 得到二次多元回归方程: $Y = 227.33 + 0.50A + 5.13B + 4.63C - 14.75AB - 16.25AC - 14.00BC - 16.42A^2 - 16.17B^2 - 16.17C^2$, 其中 Y 为右旋糖酐酶活力。进一步对该模型进行方差分析, 结果如表 5。

从表 5 可以看到, 该方程 P 值为 0.000 2, 失拟项 P 值为 0.214 1, 说明模型回归极显著, 失拟度不显著; 相关系数 R^2 为 0.989 7, 表明相关性良好; 校正系数 R_{adj}^2 为 0.971 2, 说明拟合程度良好, 误差较小, 该响应面 97.12% 的变化可以由此模型解释。

各因素之间交互作用及其对右旋糖酐酶活力影响如图 6 所示, 在 3 个因素的取值范围内, 右旋糖酐酶活力均存在最大值。从图 6a 可知, 蛋白胨与右旋糖酐交互作用明显, 在一定范围内随着蛋白胨和右旋糖酐取值不断增大, 右旋糖酐酶活力不断增大, 然后开始降低。从图 6b 可知, 尿素与右旋糖酐交互作用明显, 过高或过低的取值都会使酶活力降低。从图 6c 可知, 尿素与蛋白胨对右旋糖酐酶活力影响极为显著, 表现为陡峭的曲面。

根据回归模型预测右旋糖酐酶活力最大为 228 U/mL, 此时右旋糖酐 T2000 用量为 11.88 g/L, 蛋白胨用量为 7.15 g/L, 尿素用量为 3.14 g/L。根据预测结果进行验证实验, 平行 3 次所得右旋糖酐酶活力分别为 227, 227, 229 U/mL, 平均值为 227.66 U/mL, 与预测结果基本一致。

因此, 经过优化, 确定腐皮镰刀菌 DJ72 发酵生产右旋糖酐酶的最佳配方为右旋糖酐 T2000 11.88 g/L, 蛋白胨 7.15 g/L, 尿素 3.14 g/L, 磷酸氢二钾 1.50 g/L, 硫酸镁 0.20 g/L, 硫酸亚铁 0.05 g/L。

续表 5

Continued table 5

来源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 Freedom	均方和 Mean squares	F 值 F value	P 值 P value	显著性 Significant
A ²	995.10	1	995.10	85.17	0.000 3	* *
B ²	965.03	1	965.03	82.60	0.000 3	* *
C ²	965.03	1	965.03	82.60	0.000 3	* *
残差 Residual	58.42	5	11.68			
失拟项 Lack of fit	49.75	3	16.58	3.83	0.214 1	不显著 Not significant
纯误差 Pure error	8.67	2	4.33			
总和 Cor total	5 687.33	14				

注: * * 代表极显著, * 代表显著

Note: * * means extremely significant, * means significant

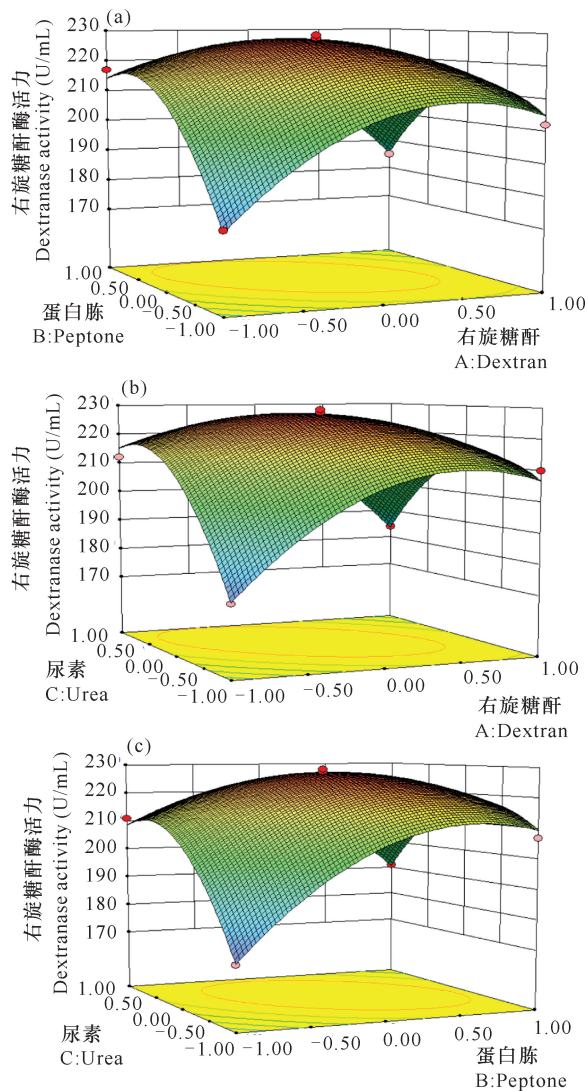


图 6 各因素交互作用图

Fig. 6 Map of cross effect of each factors

3 讨论

提高右旋糖酐酶发酵产量的方法有很多,如 Li 等^[16]采用补料分批发酵和两步发酵法提高了右旋糖酐酶的活力,分别为 159.50 和 187 U/mL。吴敏等^[17]通过基因工程的方法将右旋糖酐酶活力提高到 240 U/mL。其中,响应面法是运用较多并且行之有效的培养基优化方法,如曹研研等^[18]通过响应面法优化棘孢青霉菌的发酵条件,将右旋糖酐酶活力提高了 88%。杨帆等^[19]通过响应面法优化圆弧青霉发酵右旋糖酐酶的发酵培养基,将酶活力提高 1.7 倍。本研究通过响应面法优化腐皮镰刀菌 DJ72 发酵产右旋糖酐酶的培养基成分,与初始发酵培养基相比,右旋糖酐酶活力从 98 U/mL 提升至 228 U/mL,酶活力提升 1.3 倍。

国际上有关右旋糖酐酶生产菌株的报道已有很多,但是有关腐皮镰刀菌生产右旋糖酐酶的报道较少,迄今为止仅见到 Maksimov 等^[20]发表的一篇文章,类似的报道国内尚未见到。本研究是国内首次有关腐皮镰刀菌生产右旋糖酐酶的报道,该工作一方面扩充了国内有关右旋糖酐酶来源菌株的范围,另一方面也为研究人员深入研究右旋糖酐酶提供基础数据。

参考文献

- [1] HOU D Z, HUANG S X, CHEN S. Biosynthesis of oligodextrans through synergistic catalysis of dextransucrase and dextranase in a recycle membrane bioreactor [J]. Sugar Tech, 2018, 20(5): 566-573.

- [2] LI F J, ZHANG H Y, LI Y, et al. Simultaneous identification and quantification of dextran 20 and sucrose in lyophilized thrombin powder by size exclusion chromatography with ELSD [J]. *Chromatographia*, 2012, 75(3/4): 187-191.
- [3] BEJAR W, GABRIEL V, AMARI M, et al. Characterization of glucansucrase and dextran from *Weissella* sp. TN610 with potential as safe food additives [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2013, 52: 125-132.
- [4] 常国炜,林荣珍,曾练强,等.右旋糖酐酸解与酶解产物比较[J].*甘蔗糖业*,2012(6):33-38.
- [5] JIMENEZ E R. Dextranase in sugar industry: A review [J]. *Sugar Tech*, 2009, 11(2): 124-134.
- [6] THITARAM S N, CHUNG C H, DAY D F, et al. Iso-maltooligosaccharide increases cecal Bifidobacterium population in young broiler chickens [J]. *Poultry Science*, 2005, 84(7): 998-1003.
- [7] PLESZCZYNSKA M. Dextran and dextranase-microbial sources, properties and applications [J]. *Biotechnologia*, 1999(4): 45-61.
- [8] 焦豫良,王淑军,吕明生,等.产右旋糖酐酶埃氏交替单胞菌的筛选、鉴定及酶活分析[J].*食品工业科技*,2013, 34(2):171-174,178.
- [9] ABDEL-AZIZ M, TALKHAN J C, FATMA N, et al. Purification and characterization of dextranase from a new strain of *Penicillium funiculosum* [J]. *Journal of Applied Sciences Research*, 2007, 3(11): 1509-1516.
- [10] EL-SHAMY A R, ATALLA S M. Immobilization of dextranase by *Aspergillus penicillioides* NRC 39 and its properties [J]. *African Journal of Microbiology Research*, 2014, 8(49): 3893-3900.
- [11] BHATIA S, BHAKRI G, ARORA M, et al. Kinetic and thermodynamic properties of partially purified dextranase from *Paecilomyces lilacinus* and its application in dextran removal from cane juice [J]. *Sugar Tech*, 2015, 18(2): 204-213.
- [12] VIRGEN-ORTIZ J J, IBARRA-JUNQUERA V, ESCALANTE-MINAKATA P, et al. Kinetics and thermodynamic of the purified dextranase from *Chaetomium erraticum* [J]. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 2015, 122: 80-86.
- [13] ZHANG Y Q, LI R H, ZHANG H B, et al. Purification, characterization, and application of a thermostable dextranase from *Talaromyces pinophilus* [J]. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2017, 44(2): 317-327.
- [14] 张洪斌,吴定涛,黄丽君,等.一株产右旋糖酐酶青霉的分离及酶的纯化和性质[J].*微生物学报*,2011, 51(4): 495-503.
- [15] WU D T, ZHANG H B, HUANG L J, et al. Purification and characterization of extracellular dextranase from a novel producer, *Hypocrea lixii* F1002, and its use in oligodextran production [J]. *Process Biochemistry*, 2011, 46(10): 1942-1950.
- [16] LI K, LU H Q, HANG F X, et al. Improved dextranase production by *Chaetomium gracile* through optimization of carbon source and fermentation parameters [J]. *Sugar Tech*, 2017, 19(4): 432-437.
- [17] 吴敏,张宇馨,胡雪芹,等.棘孢青霉右旋糖酐酶基因克隆及其在毕赤酵母中的表达[J].*食品科学*,2018, 39(18):73-80.
- [18] 曹研研,张洪斌,李若菡,等.棘孢青霉菌发酵产右旋糖酐酶的条件优化[J].*食品科学*,2015, 36(23):215-220.
- [19] 杨帆,张浩,赵世光.圆弧青霉产右旋糖酐酶培养基的优化[J].*安徽工程大学学报*,2017, 32(2):1-6.
- [20] MAKSIMOV V I, DANILOVA T I, KHASIPDZHEVA A D, et al. Stabilization of dextranase from *Penicillium funiculosum* and *Fusarium solani* during heating and freeze-drying [J]. *Prikl Biokhim Mikrobiol*, 1979, 15(6): 846-851.

(下转第 101 页 Continued on page 101)

were discussed by analyzing the near-surface ozone observation data and urban meteorological data of 44 automatic monitoring stations of ambient air in Guangxi from 2015 to 2019, and combining with the ozone monitoring data of 278 automatic monitoring stations in South China region in September 2019. The results showed that over the past five years, the ozone concentration in Guangxi had increased year by year, with an average growth rate of $2.64 \mu\text{g}/(\text{m}^3 \cdot \text{a})$, and with a faster growth in spring and autumn. The ozone exceeded the standard all year round in Guangxi. The daily ozone exceeding rate increased year by year, and the difference among cities decreased. The daily ozone exceeding rate of coastal cities in southern Guangxi was generally higher than that of other cities. The ozone pollution was likely to occur in environmental areas where the temperature was higher than 10°C and the humidity was between 40% and 70%. There were 6 principal components in the characteristics of O_3 in Guangxi and 64.58% of the ozone concentration was explained by the first principal component. Regional ozone transmission had made a significant contribution to the high-concentration ozone pollution incident in Guangxi, and the low-ozone pollution was strongly affected by local generation.

Key words: atmospheric environment, ozone pollution, meteorological factor, principal component analysis, variation characteristics, Guangxi

责任编辑: 陆 雁

(上接第 91 页 Continued from page 91)

Isolation and Identification of Dextranase-producing Strains and the Optimization of Fermentation Medium

YANG Qi, HUANG Binliang, WU Huade, JIANG Chaoming

(Guangxi Duodele Biotechnology Co., Ltd., Nanning, Guangxi, 530000, China)

Abstract: In order to obtain a high-yield dextranase strain and increase its dextranase production, this article screened high-yield dextranase fungi from the soil and optimized its fermentation medium using Response Surface method. A strain DJ72 that produces dextranase was obtained through experimental screening, which was identified as *Fusarium solani*. The optimal formula of fermentation medium was determined as follows: Dextran T2000 11.88 g/L, peptone 7.15 g/L, urea 3.14 g/L, dipotassium phosphate 1.50 g/L, magnesium sulfate 0.20 g/L, ferrous sulfate 0.05 g/L. After optimization, the highest activity of dextranase can reach 228 U/mL. This study provides the possibility for the industrial application of dextranase.

Key words: dextran, dextranase, *Fusarium solani*, response surface, medium optimization

责任编辑: 陆 雁