

Progress in Production and Purification of D-Allulose

Hou Liu, Youcai Liu

College of Chemistry and Chemical Engineering, Central South University, Changsha Hunan
Email: liuhou930817@126.com, liuyoucai@126.com

Received: May 17th, 2018; accepted: May 28th, 2018; published: Jun. 4th, 2018

Abstract

Obesity and diabetes are common diseases that threaten human health and are closely related to diet structure. This article summarizes the properties of low-calorie rare sugar allulose and its role and focuses on recent progress in the catalytic production of allulose, its separation and purification. On this basis, the prospect of industrial production of allulose has been put forward.

Keywords

D-Allulose, Production, Separation

D-阿洛酮糖的生产纯化研究进展

刘 侯, 刘有才

中南大学, 化学化工学院, 湖南 长沙
Email: liuhou930817@126.com, liuyoucai@126.com

收稿日期: 2018年5月17日; 录用日期: 2018年5月28日; 发布日期: 2018年6月4日

摘 要

肥胖和糖尿病为威胁人类健康的常见疾病, 其发生与人们的饮食结构有密切关系。高热量的食物, 如糖类的过多摄入, 是这类疾病发生的重要原因。本文介绍了低热量甜味剂稀有糖D-阿洛酮糖的基本性质以及其对健康的影响, 并着重概括了近几年阿洛酮糖的催化生产以及分离纯化研究方向的进展。在此基础上, 对阿洛酮糖的工业化生产提出了展望。

关键词

阿洛酮糖, 生产, 分离

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

D-阿洛酮糖(以下简称阿洛酮糖)由于拥有许多特殊的生理学性质, 在食品和医药方面有广阔的应用前景。然而, 其大规模工业化生产却受到了许多因素的限制。近几年, 关于阿洛酮糖生产纯化的研究有了一些新的进展。虽然, 国内已有一些相关的综述报道, 但是这些综述大多集中于概括阿洛酮糖的生理学性质研究的进展、作为食品和医药的安全性研究进展, 以及国内外商业化状况。帅玉英等概括了阿洛酮糖的功能和应用、国内外工业化生产和应用的发展动向, 安全性, 以及国内外相关允许添加的法规情况[1]。李敏湘等主要概括了阿洛酮糖在生理学性质及其对健康的意义方面的研究进展[2]。韩诗蕾等对阿洛酮糖的合成研究方向进行了概括[3]。目前, 阿洛酮糖的工业化应用受限的原因大多源于其生产转化效率较低、分离纯化难度较大。而分离纯化和生产优化方面的综述报告目前在国内较稀少, 且最近该领域有了一些新的进展。鉴于此, 本文主要介绍最近几年这些方面的发展状况。

2. 阿洛酮糖的来源和性质

国际稀有糖协会(The International Society of Rare Sugars, ISRS)规定, 稀有糖以及稀有糖的衍生物是指在自然界中存在量极其稀少的单糖。阿洛酮糖(D-allulose 或 D-psicose), 是一种稀有糖。其少量地存在于小麦、鼠刺属植物, 以及加工后的甘蔗和甜菜糖浆中; 另外, 阿洛酮糖也少量地存在于果糖和葡萄糖的混合糖浆中; 在高糖量食品的加热处理过程中, 阿洛酮糖可以由非酶催化反应从果糖转化而产生, 因此, 其在酱料、果汁、甘蔗和甜菜糖浆等加工食物中也微量存在。阿洛酮糖是果糖的三号位碳对应的差向异构体, 属于己酮糖, 其结构简式如图 1 所示。阿洛酮糖为白色固体晶体, 无气味, 具有较大的溶解度, 柔和的口感, 其具有传统甜味剂蔗糖 70%的甜度, 却几乎不提供任何热量。其与食物中的蛋白质, 如鸡蛋蛋白发生的美拉德反应能够改善食物的凝胶特性、增强食物的口味, 且能够减少食物加工过程中的氧化, 因此很适用于食品工业[4]。表 1 归纳了阿洛酮糖部分重要的性质。

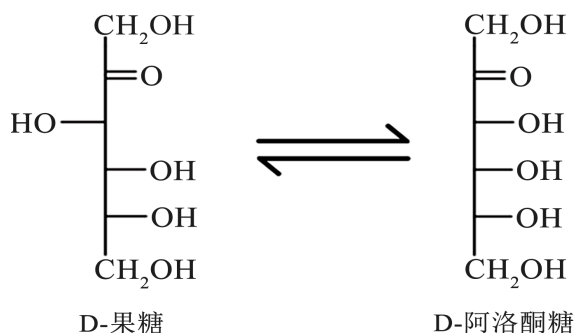


Figure 1. Structural comparison of D-fructose and D-allulose

图 1. 果糖和阿洛酮糖的结构对比

Table 1. Some properties of D-allulose
表 1. 阿洛酮糖的部分性质

性质	描述
分子式	C ₆ H ₁₂ O ₆
摩尔质量	180.156 g/mol
PubChemCID	90,008
物理性质	白色固体晶体
气味	无
熔点	96°C
旋光度	ca. -85 degdm ⁻¹ ·g ⁻¹ ·cm ³ [5]
溶解度	100 g 水溶解 291 g (25°C)
甜度	70% (相对蔗糖)
可产能量	0.3% (相对蔗糖)

3. 阿洛酮糖对健康的作用

阿洛酮糖有许多特殊的生理学性质。相对于葡萄糖,阿洛酮糖在人体内的吸收速率更低,并且,其能够与葡萄糖和果糖在细胞膜表面的转运蛋白上发生竞争,从而减少日常饮食中的果糖和葡萄糖的吸收[6]。阿洛酮糖这样的特殊生理性质,使其对人体健康有重要的意义,如:增强胰岛素耐受性,抑制餐后血糖升高[7],减少腹内脂肪堆积[8],以及预防糖尿病的作用[6]。此外,阿洛酮糖还有抗炎效果[9],保护神经的作用[10],活性氧自由基清除作用[11],以及治疗动脉粥样硬化的作用[12]。在2014年,阿洛酮糖被美国食品和药物管理局认定为安全食品(GRAS)[13]。阿洛酮糖的这些特殊的生理性质,使其在医药和保健食品领域有重要的用途。

4. 阿洛酮糖的生产方法及优化方法进展

4.1. 生产方法的瓶颈

阿洛酮糖虽然可以通过化学方法合成,如利用钼酸盐催化[14]或者在酒精和三乙胺中加热果糖制得[15],然而这些方法麻烦,副产物多,效率低,难以应用在工业化生产。

目前阿洛酮糖的生产,采用的是生物酶催化,即采用D-塔格糖-3-异构酶(D-tagatose-3-epimerase, DTEase),包括了D-塔格糖-3-异构酶(DTEase)和D-阿洛酮糖-3-异构酶(D-psicose-3-epimerase, DPEase或D-allulose-3-epimerase, DAEase)。早在2002年,日本学者就提出了所有稀有己糖的酶催化生产工艺路径[16]。D-阿洛酮糖-3-异构酶能够有效地将果糖异构化转化为阿洛酮糖,但是其大多具有热稳定性差、转化率不足、效率低的缺点,阻碍了其工业应用。为了提高转化率以及酶的热稳定性,许多研究者提供了不同的方法,而主要的方法如下文所述。

4.2. 硼酸盐改变催化反应平衡

研究表明[17],硼酸盐能够导致果糖转化为阿洛酮糖的可逆反应向阿洛酮糖的方向移动,这是因为硼酸盐对阿洛酮糖的吸附能力比其对果糖的吸附能力大。在反应体系中加入硼酸盐,能够极大地提高果糖的转化率,从而将DAEase的催化效率大大提高,研究者利用此法,将来源于土壤农杆菌的DAEase对果糖的转化率由29%提高至63%[18]。最近,有研究者利用硼酸盐,从十字花科蔬菜残渣中生产阿洛酮糖,并在复杂的蔬菜残渣中,将转化率提高至36.9%[19]。然而,硼酸盐是一种对人体健康有很大危害的物质[20],极大地限制了阿洛酮糖在食品和医药方面的应用。

4.3. 固定化提高酶的热稳定性

对酶进行固定化, 一直是提高酶热稳定性的一个重要的方法。在阿洛酮糖的研究领域里, 也不例外。在近几年, DAEase 的固定化也有了一些进展。2017 年, Yoshihara 等人将来源于球形节杆菌(*Arthrobacter globiformis* M30)的 DAEase 固定于离子交换树脂上, 使其能够在长达四个月的时间内依然保持有催化活性[21]; 另外, 最近印度研究者第一次将 DAEase 共价固定到氧化铁纳米颗粒表面, 得益于固定化后 DAEase 更好的构象, 磁性纳米生物聚合物相对于其游离形式表现出更优秀的热稳定性。这样的优点使其在重复进行十个工作循环后, 依然能够拥有高达 90%的活性[22]。

在国内, 对于 DAEase 的固定化研究也一直是热门, 李秋喜等以海藻酸钠作为固定化载体, 使 DAEase 的耐热性、pH 稳定性明显提高, 改良的稳定性使重复操作 8 次后酶活回收率依然保持 61% [23]。该研究者也将 DAEase 固定于阴离子交换树脂 D202-II 上, 使其在重复使用 7 次后, 酶活回收率保持在 65%以上。另外, 采用溶胶凝胶法, 该研究者以 Fe_3O_4 为核、壳聚糖为壳制成的磁性小球为固定酶载体, 与游离酶相比, 该固定酶拥有更好的热稳定性和 pH 稳定性, 在重复操作 10 次后依然具有较高的酶活回收率[24]。李毅等人成功将 D-木糖异构酶和 DPEase 固定在酵母菌的孢子上。与游离酶相比, 固定于孢子上的酶表现出更高的热稳定性、更宽阔的 pH 耐受范围、更好的可重复利用性。研究人员以此为基础, 成功建立了以葡萄糖为底物生产阿洛酮糖的方法[25]。

4.4. 酶的修饰及全细胞催化

除了以上这些方法, 一些研究者从酶自身入手, 通过对其修饰或者突变, 改变了 DAEase 的热稳定性, 以此来达到克服天然 DAEase 催化效率低、稳定性差的缺点。Patel 等人利用融合伴侣蛋白(Smt3)赋予了 DAEase 远高于天然 DAEase 的热稳定性, 在暴露于 50°C 长达 12 小时后, 其依旧保留有将近初始状态一半的活性, 而天然 DAEase 在两小时后就失去了全部的活性[26]。该研究者将其应用于以水果加工残渣和蔬菜作物废弃物为原料的阿洛酮糖生产中, 建立了一种经济的阿洛酮糖生产新方法。2011 年, 有研究者[27]通过定点突变的方法对来自土壤农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*)的 DAEase 进行突变, 并成功筛选到了 I33L-S213C 突变酶, 固定化后, 该酶能够在一个月活性不减, 而天然酶活性已下降至 9.6%~22%。之后, 2016 年, Park 等人以表达该突变酶的大肠杆菌全细胞作为粗酶, 进行了全细胞水平的酶催化反应的优化, 结果显示全细胞作为粗酶, 有利于提高 DAEase 的热稳定性, 以及对 pH 的耐受范围[28]。

除了 DAEase, 属于磷酸二羟基丙酮(DHAP)依赖型缩酶家族的 RhaD 醛缩酶在以 D-甘油醛为受体时, 能够以接近 1:1 的比例生成阿洛酮糖和山梨糖两种稀有单糖。2018 年初, 江南大学的汪马燕等人对 RhaD 醛缩酶的 152 位酪氨酸进行了 19 种其他氨基酸的定点饱和突变, 成功找到了能将生成阿洛酮糖和山梨糖的比例从最初的 1:1 显著提高到 8:1 的突变型 RhaD 醛缩酶, 为下一步定向生成单一产物阿洛酮糖提供了理论依据[29]。

5. 阿洛酮糖的纯化分离进展

5.1. 阿洛酮糖纯化分离的难点

鉴于阿洛酮糖-3-差向异构酶催化果糖的异构化反应可逆, 反应平衡时果糖的转化率最多只有 33% (DAEase-*A. tumefaciens*) [30]。即使如上文所述, 在硼酸盐存在的反应体系中, 也只能达到约 65%的转化率[18]。而阿洛酮糖和果糖是互为差向异构体的两种单糖, 其物理性质、化学性质几乎完全一致, 这对阿洛酮糖的分离带来了很大的麻烦。因此, 如何从反应终了的果糖和阿洛酮糖的混合糖液中分离得到纯度相对较高的阿洛酮糖, 一直是困然研究者的难题, 也是阿洛酮糖生产成本高、尚无法工业化应用的根源。

目前, 阿洛酮糖的分离纯化, 主要有直接分离法(如模拟流动床)和间接分离法(如发酵法, 果糖转化法)。下面将具体概括近几年这方面的发展状况。

5.2. 模拟流动床

模拟流动床, 是一种利用不同物质在色谱树脂上吸附能力的差异, 而将其相互分离的技术。模拟流动床在阿洛酮糖的分离上有着高效而广泛的应用, 是目前最成熟的阿洛酮糖分离纯化技术。最近, Li 等人在食品级微生物短小芽孢杆菌(*Bacillus pumilus*)中成功实现高水平的表达, 经过固定化酶催化反应后, 用 SMB 将混合糖液分离, 通过模拟流动床后, 阿洛酮糖的纯度能达到 98.5% [31]。模拟流动床实现了阿洛酮糖的连续化生产, 并且有较高的生产效率。但是, 其缺点也很突出, 比如其设备需要较高的资金投入、装置复杂难以维护。这些缺点阻碍了其大规模应用于工业。

5.3. 发酵法

由于阿洛酮糖等稀有糖在自然界中的存在量极其稀少, 相对的, 自然界中能够同化代谢阿洛酮糖的微生物也较少, 稀有糖的这个性质, 被研究者利用于其与可发酵糖的分离纯化。早在 1973 年, Bilik 等人就将酵母发酵应用于从山梨糖、葡萄糖和果糖的混合糖液中分离山梨糖的技术流程中, 并成功得到了山梨糖晶体[32]。之后, Doner 等人使用碱性催化剂对果糖进行异构化催化后, 将酿酒酵母应用于催化后的混合糖液的发酵中, 成功将其中的果糖、葡萄糖、甘露糖去除, 最终得到了相对较纯的阿洛酮糖[15]。

最近几年, 也有一些研究人员采用了类似的方法来生产阿洛酮糖。Song 等人通过对十字花属蔬菜残渣进行水解、DAEase 酶催化后, 将混合糖液用酿酒酵母进行发酵, 在分离出阿洛酮糖的同时, 还能够同时得到生物乙醇, 对生物质的经济环保应用领域的发展有深刻的意义[19]。酵母发酵的优点在于设备要求简单, 易工业化, 其产物乙醇能够简单地与阿洛酮糖分离, 甚至可以直接应用于阿洛酮糖的乙醇结晶工艺中。但是, 其缺点也很明显, 如: 为酵母发酵提供的营养物质以及酵母代谢产物会对阿洛酮糖的纯化带来麻烦。

5.4. 果糖转化法

与使用模拟流动床直接分离阿洛酮糖, 或用发酵法将混合糖浆中的果糖等杂质糖转化为酒精不同, 有一些研究者采用了其他的一些转化途径, 这些方法大都致力于将互为差分异构体的两种单糖的分离转化为糖和其他类型物质的分离, 并且在此基础上实现对果糖的高效利用。最近, Li 等人使用两步法酶催化反应, 利用葡萄糖异构酶和葡萄糖氧化酶, 将阿洛酮糖和果糖的混合糖液中的果糖转化为葡萄糖酸, 进而利用离子交换树脂将葡萄糖酸分离, 得到了纯度为 91.2%的阿洛酮糖[33]。此方法为阿洛酮糖的分离纯化提供了全新的思路。

6. 前沿和展望

最近几年, 阿洛酮糖一直受到持续的关注。以废物利用为指南, 果蔬残渣为原料的阿洛酮糖生产一直是近几年的热点研究方向。如前文所述, Song 等人在 2017 年利用十字花属蔬菜残渣, 成功实现了阿洛酮糖的生产[19]。Chen 等人以廉价的甘蔗渣和海藻水解产物作为阿洛酮糖生产的原料, 经过木糖异构酶和 DAEase 催化后, 得到阿洛酮糖[34]。Patel 等人的研究中, 水果残渣被用于阿洛酮糖的生产[22]。虽然这些研究中阿洛酮糖的产量过低, 但为经济化生产阿洛酮糖提供了新的选择。

阿洛酮糖虽然已被美国食品和药物管理局认定为安全食品(GRAS) [13]。但是, 传统的 DAEase 表达宿主基本都是大肠杆菌, 这显然不符合食品安全的要求。近几年, 越来越多的研究者将 DAEase 表达在一般认为是安全的宿主内, 如: 国内江南大学研究人员将食品级微生物枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)作

为宿主[35]; 在国外 Park 等人以另一种安全菌株谷氨酸棒状杆菌(*Corynebacterium glutamicum*)作为宿主进行 DAEase 表达[36]。

寻找热稳定性好, 高催化转化率的新型 DAEase 是实现阿洛酮糖工业化的必要任务。此外, 对现存的 DAEase 的催化机制进行深入研究, 在深入理解其构象及其功能基团的情况下, 进行随机或定点突变, 以筛选出热稳定性增强、酶活性提升的突变型 DAEase, 也是一种重要的手段。另外, 全新的催化途径, 如磷酸化的引入, 为阿洛酮糖的生产提供了新的工艺思路[37] [38]。最后, 设备简单、价格低廉的新型分离方法的引入, 对实现阿洛酮糖的工业化生产起决定性作用。

参考文献

- [1] 帅玉英, 孙怡, 吴晓花, 等. 低热量甜味剂 D-阿洛酮糖的生产应用研究进展[J]. 中国食品添加剂, 2014(9): 159-163.
- [2] 李敏湘, 王兴红. 新型低热量甜味剂——D-阿洛酮糖的研究进展[J]. 氨基酸和生物资源, 2016, 38(3): 12-15.
- [3] 韩诗蕾, 蔡基智, 廖金华. 新型功能性甜味剂 D-阿洛酮糖的合成研究现状[J]. 广东化工, 2016, 43(13): 142-143.
- [4] Zhang, W., Yu, S., Zhang, T., *et al.* (2016) Recent Advances in D-Allulose: Physiological Functionalities, Applications, and Biological Production. *Trends in Food Science & Technology*, **54**, 127-137. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.06.004>
- [5] Fukada, K., Ishii, T., Tanaka, K., *et al.* (2010) Crystal Structure, Solubility, and Mutarotation of the Rare Monosaccharide D-Psicose. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, **83**, 1193-1197. <https://doi.org/10.1246/bcsj.20100148>
- [6] Hossain, A., Yamaguchi, F., Matsuo, T., *et al.* (2015) Rare Sugar D-Allulose: Potential Role and Therapeutic Monitoring in Maintaining Obesity and Type 2 Diabetes Mellitus. *Pharmacology & Therapeutics*, **155**, 49-59. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2015.08.004>
- [7] Shintani, T., Yamada, T., Hayashi, N., *et al.* (2017) Rare Sugar Syrup Containing d-Allulose but Not High-Fructose Corn Syrup Maintains Glucose Tolerance and Insulin Sensitivity Partly via Hepatic Glucokinase Translocation in Wistar Rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **65**, 2888-2894. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b05627>
- [8] Han, Y., Kwon, E.Y., Yu, M., *et al.* (2018) A Preliminary Study for Evaluating the Dose-Dependent Effect of d-Allulose for Fat Mass Reduction in Adult Humans: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Nutrients*, **10**, 160. <https://doi.org/10.3390/nu10020160>
- [9] Kim, S.E., Kim, S.J., Kim, H.J., *et al.* (2017) D-Psicose, a Sugar Substitute, Suppresses Body Fat Deposition by Altering Networks of Inflammatory Response and Lipid Metabolism in C57BL/6J-ob/ob Mice. *Journal of Functional Foods*, **28**, 265-274. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.11.029>
- [10] Mu, W., Zhang, W., Feng, Y., *et al.* (2012) Recent Advances on Applications and Biotechnological Production of D-Psicose. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **94**, 1461-1467. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4093-1>
- [11] Zeng, Y., Zhang, X., Guan, Y., *et al.* (2012) Enzymatic Hydrolysates from Tuna Backbone and the Subsequent Mailard Reaction with Different Ketohehexoses. *International Journal of Food Science & Technology*, **47**, 1293-1301. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.02973.x>
- [12] Zhang, W., Zhang, T., Jiang, B., *et al.* (2017) Enzymatic Approaches to Rare Sugar Production. *Biotechnology Advances*, **35**, 267-274. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.01.004>
- [13] Hossain, A., Yamaguchi, F., Hirose, K., *et al.* (2015) Rare Sugar D-Psicose Prevents Progression and Development of Diabetes in T2DM Model Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty Rats. *Drug Design, Development and Therapy*, **9**, 525. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S71289>
- [14] Orazov, M. and Davis, M.E. (2015) Tandem Catalysis for the Production of Alkyl Lactates from Ketohehexoses at Moderate Temperatures. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **112**, 11777. <https://doi.org/10.1073/pnas.1516466112>
- [15] Doner, L.W. (1979) Isomerization of d-Fructose by Base: Liquid-Chromatographic Evaluation and the Isolation of d-Psicose. *Carbohydrate Research*, **70**, 209-216. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)87101-3](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)87101-3)
- [16] Izumori, K. (2002) Bioproduction Strategies for Rare Hexose Sugars. *Naturwissenschaften*, **89**, 120-124. <https://doi.org/10.1007/s00114-002-0297-z>
- [17] Kim, N.H., Kim, H.J., Kang, D.I., *et al.* (2008) Conversion Shift of D-Fructose to D-Psicose for Enzyme-Catalyzed Epimerization by Addition of Borate. *Applied and Environmental Microbiology*, **74**, 3008-3013. <https://doi.org/10.1128/AEM.00249-08>

- [18] Lim, B.C., Kim, H.J. and Oh, D.K. (2009) A Stable Immobilized D-Psicose 3-Epimerase for the Production of D-Psicose in the Presence of Borate. *Process Biochemistry*, **44**, 822-828. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2009.03.017>
- [19] Song, Y., Nguyen, Q.A., Wi, S.G., *et al.* (2017) Strategy for Dual Production of Bioethanol and d-Psicose as Value-Added Products from Cruciferous Vegetable Residue. *Bioresource Technology*, **223**, 34-39. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.10.021>
- [20] Bolt, H.M., Duydu, Y., Başaran, N., *et al.* (2017) Boron and Its Compounds: Current Biological Research Activities. *Archives of Toxicology*, **91**, 2719-2722. <https://doi.org/10.1007/s00204-017-2010-1>
- [21] Yoshihara, A., Kozakai, T., Shintani, T., *et al.* (2017) Purification and Characterization of d-allulose 3-epimerase Derived from *Arthrobacter globiformis* M30, a GRAS Microorganism. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **123**, 170-176. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2016.09.004>
- [22] Patel, S.N., Singh, V., Sharma, M., *et al.* (2018) Development of a Thermo-Stable and Recyclable Magnetic Nanobio-catalyst for Bioprocessing of Fruit Processing Residues and D-allulose Synthesis. *Bioresource Technology*, **247**, 633-639. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.112>
- [23] 李秋喜, 林春芳, 沐万孟, 等. 海藻酸钠固定细胞产 D-阿洛酮糖的研究[J]. 食品工业科技, 2015(7): 172-176.
- [24] 李秋喜. D-阿洛酮糖 3-差向异构酶的固定化技术研究[D]: [硕士学位论文]. 无锡: 江南大学食品系, 2014.
- [25] 李毅. 酿酒酵母孢子固定化酶催化 D-葡萄糖合成 D-阿洛酮糖的研究[D]: [硕士学位论文]. 无锡: 江南大学生物工程系, 2015.
- [26] Patel, S.N., Sharma, M., Lata, K., *et al.* (2016) Improved Operational Stability of d-psicose 3-epimerase by a Novel Protein Engineering Strategy, and d-psicose Production from Fruit and Vegetable Residues. *Bioresource Technology*, **216**, 121-127. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.05.053>
- [27] Choi, J.G., Ju, Y.H., Yeom, S.J., *et al.* (2011) Improvement in the Thermostability of D-psicose 3-epimerase from *Agrobacterium tumefaciens* by Random and Site-Directed Mutagenesis. *Applied and Environmental Microbiology*, **77**, 7316-7320. <https://doi.org/10.1128/AEM.05566-11>
- [28] Park, C.S., Park, C.S., Shin, K.C., *et al.* (2016) Production of D-psicose from D-fructose by Whole Recombinant Cells with High-Level Expression of D-psicose 3-epimerase from *Agrobacterium tumefaciens*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **121**, 186-190. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2015.06.010>
- [29] 汪马燕, 李子杰, 高晓冬. L-鼠李树胶糖-1-磷酸醛缩酶立体选择性的半理性改造合成 D-阿洛酮糖[J]. 食品与发酵工业, 1-14.
- [30] Kim, H.J., Hyun, E.K., Kim, Y.S., *et al.* (2006) Characterization of an *Agrobacterium tumefaciens* D-psicose 3-epimerase That Converts D-fructose to D-psicose. *Applied and Environmental Microbiology*, **72**, 981-985. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.2.981-985.2006>
- [31] Li, C., Lin, J., Guo, Q., *et al.* (2017) D-Psicose 3-Epimerase Secretory Overexpression, Immobilization, and d-psicose Biotransformation, Separation and Crystallization. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, **93**, 2.
- [32] Bilik, V. and Tihlarik, K. (1973) Reaction of Saccharides Catalyzed by Molybdate Ions. IX. Epimerization of Ketohexoses. *Chemicke Zvesti*, **28**, 106-109.
- [33] Li, C., Zhang, C., Lin, J., *et al.* (2017) Enzymatic Fructose Removal from D-psicose Bioproduction Model Solution and the System Modeling and Simulation. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, **93**, 1249-1260.
- [34] Chen, X., Wang, W., Xu, J., *et al.* (2017) Production of d-psicose from d-glucose by Co-Expression of d-psicose 3-epimerase and Xylose Isomerase. *Enzyme and Microbial Technology*, **105**, 18-23. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2017.06.003>
- [35] 何伟伟. D-阿洛酮糖 3-差向异构酶在枯草芽孢杆菌中的高效表达及应用研究[D]: [博士学位论文]. 无锡: 江南大学食品系, 2017.
- [36] Park, C.S., Kim, T., Hong, S.H., *et al.* (2016) D-Allulose Production from D-Fructose by Permeabilized Recombinant Cells of *Corynebacterium glutamicum* Cells Expressing D-Allulose 3-Epimerase *Flavonifractor plautii*. *PLoS ONE*, **11**, e0160044.
- [37] Yang, J., Zhu, Y., Li, J., *et al.* (2015) Biosynthesis of Rare Ketoses through Constructing a Recombination Pathway in an Engineered *Corynebacterium glutamicum*. *Biotechnology and Bioengineering*, **112**, 168-180.
- [38] 吴晓茹. 利用磷酸二羟基丙酮依赖型醛缩酶和甘油激酶合成稀有糖[D]: [硕士学位论文]. 无锡: 江南大学生物工程系, 2016.

知网检索的两种方式：

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择：[ISSN]，输入期刊 ISSN：2164-5566，即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入，输入文章标题，即可查询

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：bp@hanspub.org