

D核糖的性质、生产及应用^{*}

杨新超¹, 刘建军², 赵祥颖²

(1. 山东轻工业学院食品与生物工程学院, 山东 济南 250100;

2. 山东食品发酵设计研究院, 山东 济南 250100)

摘要: *D*-核糖是一种重要的生理物质, 可用于合成维生素 B₂、风味提高剂以及多种核酸药物等, 具有广泛的应用前景。由于化学合成法存在污染公害, 故近年来各国相继研究微生物发酵法生产 *D*-核糖, 并致力于工业化生产。对 *D*-核糖的性质、生产及应用作了综述。

关键词: *D*-核糖; 枯草芽孢杆菌; 转酮醇酶; 发酵

中图分类号: Q532⁺. 2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2005) S1-0197-06

D-核糖是一种五碳糖, 是 mRNA, tRNA, rRNA 等各种 RNA 的组成糖, 也是各种核苷酸辅酶的组成糖, 又是还原型诱导物, 核糖与磷酸在体内一起运转, 具有十分重要的生理作用。在生理上的重要性可与葡萄糖相比。

D-核糖很早就作为维生素 B₂ 的合成原料, 20 世纪 70 年代初, 日本采用发酵法生产 *D*-核糖获得成功, 大大降低了 *D*-核糖的生产成本, 此后, 该项技术被首先用于 V_{B12} 的合成导致了 V_{B12} 生产工艺的重大变革。

D-核糖可以转化为核苷酸增鲜剂和核黄素, 应用于制药、医药、化妆品、健康食品以及动物饲料方面。近年来, 核酸药物的发展, 带动了由 *D*-核糖合成抗病毒、抗肿瘤核苷酸药物的研究。*D*-核糖还可用于治疗心肌梗缺血, 提高心脏对局部缺血的耐性和改善心脏功能, 用于缺乏腺苷酸, 脱氢酶导致的强直硬, 以及因为细胞内缺乏磷酸化导致的肌肉疼痛。F-甲基肌苷磷酸是由 *D*-核糖制备的一种嘌呤衍生物可以减弱人免疫缺陷病毒导致的免疫抑制作用。一些改良性核苷酸抗病毒 (HIV) 和抗癌制剂都是由核糖合成的。由 *D*-核糖衍生的 2-乙炔基碘可转化成紫杉酚及其同源物, 是治疗乳腺癌的有效药物。

发酵法生产 *D*-核糖的首次报道是 1951 年 Simonart 和 Godin 在青霉素的培养液中检出了 *D*-核糖, 其产量没有报道。20 世纪 70 年代, 日本的 Sasajima 等利用枯草芽孢杆菌的转酮酶缺陷突变株, 以 *D*-葡萄糖发酵法生产 *D*-核糖取得成功, 而在后

来的研究中, *D*-核糖一直是作为惟一的碳源和前体物使用, 山东省食品发酵工业研究设计院自 20 世纪 90 年代初开始致力于 *D*-葡萄糖发酵的研究, 最近已获得突破性进展, 产品含量达 99.5% 以上, 达到医药级要求。本文对国内外 *D*-核糖的性质、生产及应用进行了综述。

1 *D*-核糖理化性质及生理功能

D-核糖又名异树胶糖, *D*-(一) 胞核糖。它呈白色结晶粉末状, 以化合物状态存在于一切细胞中, 微有芳香之味, 极易吸潮, 能溶于水和甲醇, 在水中有过饱和倾向, 以糖浆形式存在, 微溶于乙醇, 不溶于醚、苯、丙醇及三氯甲烷。

学术名称: *D*-Ribofuranose; 分子式: C₅H₁₀O₅; 相对分子质量: 150.13; 熔点: 86~87℃。

2 *D*-核糖生产方法

D-核糖的生产方法通常有 3 种: 从天然物中直接提取; 以呋喃或葡萄糖为原料的化学合成方法; 水解核酸, 核苷酸, 核苷的方法。

2.1 抽提法

D-核糖最早是从天然物中抽提。1955 年从酵母核糖核酸等原料中制取成功。这一方法产率低, 成本高。

2.2 化学合成法

1920 年发明了化学合成法制备 *D*-核糖, 在 *D*-核糖有机合成法制取的工艺过程中, 最早采用汞极电解法进行合成。以后许多学者对化学合成制取工

* 收稿日期: 2005-02-02

基金项目: 山东省科技攻关资助项目 (021100108)

作者简介: 杨新超 (1979 年生), 女, 硕士生; 通讯联系人: 刘建军; E-mail: sdsfj2001@sina.com

艺进行了多次改良，缩短了反应步骤，*D* 核糖化学合成法经改良后，以葡萄糖为原料经氧化，置换，转化，再置换，酸化，内酯化，还原等 7 步反应获得，但改良后的化学合成法仍未解决环境污染等问题，目前 *D* 核糖抽提法，化学合成法已被微生物发酵法所取代。

2.3 微生物发酵法

关于利用微生物发酵生产 *D* 核糖的最初报道是在 1951 年，比利时的西莫纳尔特（Simonart）和戈丁（Godin）用短密青霉（*Penicillium brevicompactum*）在培养液中观察到微量的 *D* 核糖。他们用纸层析进行了定性研究，但是没有记载生成量。20 世纪 60 年代，日本对 *D* 核糖的微生物发酵法生产进行了深入的研究，70 年代初期，人们开始用发酵法对 *D* 核糖实行了工业化生产，主要作为维生素 B₂ 的合成原料。

2.3.1 发酵法生产 *D* 核糖的主要原料 微生物发酵法生产 *D* 核糖的主要原料是碳源、氮源、无机物、微量元素。

碳源可以使用葡萄糖、*D*-甘露糖、山梨醇、*D*-甘露醇、麦芽糖、乳糖、甘油、糊精以及可溶性淀粉等；有机氮源可以使用干酵母、牛肉膏、蛋白胨、玉米浆、棉子粉以及大豆粉无机盐为硫酸铵、硝酸铵、磷酸盐、碳酸盐以及适量微量元素。

2.3.2 *D* 核糖的生成途径 *D* 核糖是由葡萄糖经磷酸戊糖途径里的氧化途径生成，以及以 *D* 核糖酸为中间产物与葡萄糖脱氢酶和葡萄糖酸激酶有关的支路途径，生成 *D* 核糖，在由葡萄糖生成 *D* 核糖的反应中需要经过葡萄糖脱氢酶，6 磷酸脱氢酶和 6 磷酸葡萄糖脱氢酶这 3 种脱氢酶的催化反应，因此 *D* 核糖在发酵过程中需要通入大量空气，发酵是在好气条件下进行。

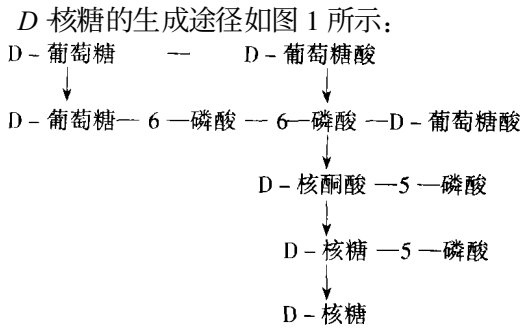


图 1 *D*-核糖的生成途径

Fig. 1 Producing of *D*-ribose process

3 发酵法生产 *D* 核糖

3.1 生产菌株的选育

1951 年，西莫纳尔特和戈丁首先在短密青霉

菌的培养液中观察到 *D* 核糖的积累。10 年后，又报道了一种细菌能积累 *D* 核糖和 *D* 核糖 5 磷酸。1966 年，齐藤（Saito）和杉山（Sugiyama）从土壤中分离到一株食爬虫假孢菌，能从 50 g/L 葡萄糖生产 0.97 g/L *D* 核糖。微球菌属，短杆菌属，棒杆菌属，芽孢杆菌属的微生物都能产生 *D* 核糖。当发酵培养基中含有高浓度的金属盐尤其是钾盐，镁盐，磷酸盐，则积累 *D* 核糖 5 磷酸。

20 世纪 70 年代初，籀岛等人对产肌苷芽孢杆菌属突变株的芽孢进行紫外诱变，筛选在糖代谢途径中突变的菌株，它们不能以 *D* 葡萄糖酸，*L* 阿拉伯糖，山梨醇等为惟一的碳源，生长需莽草酸。其中有 3 株能大量分泌 *D* 核糖，发酵 6 d 能从 100 g/L 的葡萄糖生产 35 g/L 的 *D* 核糖。经酶法鉴定得知，这些突变株缺乏 TKT（转酮醇酶）或 RPE（*D* 核酮糖 5 磷酸 3 差相异构酶）活力。丧失 TKT 的突变株产生 *D* 核糖，而丧失 RPE 的突变株在积累 *D* 核糖的同时，分泌 *D* 核酮糖，因此作为 *D*-核糖生产菌，以 TKT 缺陷型突变株为宜。

为了进一步筛选高产的 *D* 核糖突变株，Sasajima 等继续用紫外照射，化学诱变剂处理枯草芽孢杆菌的 TKT 缺陷型突变株，得到 *D* 葡萄糖脱氢酶（GDH）活性高，不产芽孢的突变株。只增加一个遗传标记时，*D* 核糖产量提高至 65 g/L，增加 2 个遗传标记时；产量提高至 72.3 g/L。

3.2 变异菌株的选育

山西省微生物研究所利用该所保藏的枯草芽孢杆菌（*Bacillus subtilis*）C₁（腺嘌呤营养缺陷型）作为诱变的出发菌株，最后得到变异菌株 C₁-B94I。将经过纯化的枯草芽孢杆菌 C₁ 接入完全培养基斜面上，36℃培养 24 h，随后用无菌生理盐水制成菌悬液（菌体浓度为 5×10⁷ 个/mL）取菌悬液 5 mL 置于直径 45 cm 的培养皿中，黑暗状态下用 30 W 的紫外灯距离 30 cm 照射。不同处理时间（1，2，3 min）的菌悬液在黑暗中放置 24 h，然后经适当稀释涂布于完全培养基平板上，36℃培养 48 h。待菌落长好后，挑取单菌落对应点接种于基本培养基平板上，36℃培养 48 h，选取在补充培养基上生长而在基本培养基上不生长的菌落作为变异株。测定变异株无细胞抽提液中的转酮酶活性，确认其是否为转酮变异株。对变异株及其亲株的无细胞抽取液的转酮醇酶活性进行了测定。结果表明，变异株 C₁-B94I 完全丧失了转酮醇酶活性，确实属于转酮醇酶变异株。芽孢杆菌属的转酮醇酶变异株通常表现为莽草酸营养缺陷，具有 *D* 核糖的生产能力。另外，有人曾从芽孢杆菌属的糖代谢变异株中发现

了 *D* 核酮糖 5 磷酸 3 差向酶 (EC5. 1. 3. 1) 变异株, 与转酮醇酶变异株在代谢上有许多相似之处, 它也具有 *D* 核糖的生产能力, 但在发酵产物中含有相当量的其它戊糖。因此, 在 *D* 核糖生产菌株选育过程中, 有必要对其转酮醇酶活性进行检测。

4 *D* 核糖发酵过程参数研究与控制

4.1 芽孢缺失对 *D* 核糖产量的影响

1989 年 Kishimoto 等利用短小芽孢杆菌转酮酶突变株, 通过优化发酵条件, *D* 核糖的积累量可达 92. 1 g/L。1997 年, Dewulf 等利用转酮酶缺陷的枯草芽孢杆菌突变株进行 *D* 核糖发酵, 产量达到 45 g/L。天津科技大学的王树庆 1999 年报道得到一株转酮酶缺陷的短小芽孢杆菌, 其 *D* 核糖积累量可达 39 g/L。

Rhaset 和 Groscurth 发现高浓啡的磷酸化核苷酸会促进芽孢生成, 在 *D* 核糖高产菌株中, 由于 *D*-核糖大量排出细胞外, 在细胞内不能形成足够量的磷酸化核苷酸, 因而不能形成芽孢。转酮酶缺陷型短小芽孢杆菌会丧失部分芽孢生成能力, 进一步筛选丧失芽孢生成能力的菌株, 有可能使 *D* 核糖的产量进一步提高。Hoshino 等于 1995 年筛选得到一株 *D* 核糖产量为 120 g/L 的菌株, 其芽孢生成能力彻底丧失。天津科技大学乔建军, 杜连祥报道的利用原生质体紫外诱变的方法处理转酮酶的缺陷型短小芽孢杆菌, 得到一株生成芽孢能力较弱并具有转酮酶缺失的突变株, 在生芽孢培养基上培养 24 h 仅形成大约 (5%~10%) 的芽孢, 在发酵培养基中培养 72 h 后仅形成 5% 的芽孢, 突变株摇瓶培养 68~72 h, *D* 核糖产量平均达到 66 g/L。

4.2 *D* 葡萄糖酸钠对 *D* 核糖发酵的影响

20 世纪 70 年代, 日本的 Sasajima 等利用枯草芽孢杆菌的转酮酶缺陷突变株, 以 *D* 葡萄糖为原料发酵法生产 *D* 核糖取得成功。而在后来的研究中, *D* 葡萄糖一直是作为惟一的碳源和前体物使用, 而 *D* 葡萄糖酸作为 *D* 核糖前体物, 对转酮酶缺陷的 *D* 核糖发酵亦具有较大的影响, 有关此研究国内鲜有报道。

天津科技大学魏少军等报道, 通过以 *D* 葡萄糖酸为唯一碳源, 以 *D* 葡萄糖与 *D* 葡萄糖酸钠为混合碳源发酵, 研究 *D* 葡萄糖酸对 *D* 核糖发酵的影响发现, 枯草芽孢杆菌转酮酶缺陷突变株不能在以 *D* 葡萄糖酸为惟一碳源的培养基上生长, *D* 葡萄糖对菌体生长有抑制作用, 但作为前体物 *D* 葡萄糖酸有利于 *D* 核糖的积累。在 *D* 葡萄糖与 *D*-葡萄糖酸钠混合发酵中, *D* 葡萄糖酸钠和 *D* 葡萄糖

的比例对发酵时间, 最高菌浓及 *D* 核糖有较大的影响, 以 150 g/L 的 *D* 葡萄糖和 30 g/L 的 *D* 葡萄糖酸钠为混合碳源发酵要优于以 180 g/L 的 *D* 葡萄糖为惟一碳源发酵。

5 添加物对 *D* 核糖生物合成的影响

5.1 添加成分对菌体生长的影响

5.1.1 添加 *D*-山梨醇的影响 在培养基中加入山梨醇可刺激菌的生长, 使延迟期缩短, 培养 6 h 菌就大量繁殖, 培养 20 h 就达到移种的浓度, 而不加山梨醇要培养 23 h 才达到移种浓度。

5.1.2 添加芳香族氨基酸的影响 加入氨基酸在培养前期菌生长速率无大的区别, 但在 12 h 后可见到促进菌的生长。可能是细胞分裂必须在细胞内物质积累到一定浓度才能使细胞分裂, 因此当细胞内蛋白质合成量积累较少时细胞还未分裂, 显示不出细胞的增量, 只有当蛋白质合成到一定量后细胞大量繁殖, 菌浓度显著上升, 超过对照的生长速率。虽然培养基中的玉米浆含有一定量的氨基酸, 但加入这些氨基酸浓度从而加速蛋白质合成。

5.1.3 添加 KH_2PO_4 的影响 培养基中的 KH_2PO_4 促进糖代谢和核酸的合成, 在培养 14 h 后加入 KH_2PO_4 生长速率加快, 可能是磷的加入促进了葡萄糖的磷酸化, 从而加速了糖酵解和戊糖途径, 提供菌体生长能量和生物合成所需中间体所致。

5.2 添加物对 *D* 核糖生物合成的影响

5.2.1 添加 *D*-山梨醇 在第 1 天添加可明显增加 *D* 核糖的合成速率, 但第 2, 第 3 天再添加山梨醇并不能促进 *D* 核糖的合成, 可见山梨醇只能促进菌体生长, 并不刺激产物合成。在发酵进入核糖期再添加山梨醇反而干扰菌的代谢, 对产物合成不利。

5.2.2 添加芳香族氨基酸 添加氨基酸未明显提高 *D* 核糖的产量, 可能由于菌种是 TKT 缺陷型, 加入氨基酸只提供了细胞合成所必须的氨基酸, 促进了菌的生长, 但并不促进产物合成。

5.2.3 添加葡萄糖酸钙 添加葡萄糖酸钙可大大提高 *D* 核糖的产生, 特别是当葡萄糖和葡萄糖酸钙质量比为 1:1 时效果更明显, *D* 核糖的产量可达 46~47 mg/mL, 但加入山梨醇没有明显作用。

5.3 pH 对 *D* 核糖发酵的影响及补料发酵的研究

发酵培养液的 pH 影响菌体对基质的利用速度, 细胞结构以及细胞内各种酶的活性, 从而影响菌体的生长和产物的合成, 由于发酵是多酶复合反应系统, 各酶的最适 pH 可能与产物合成的最适 pH 值不同。通过对不同起始 pH 值对 *D* 核糖合成的影

响研究，发现起始 pH 过高或过低均不利于 *D* 核糖的合成，而起始 pH 值为 7.0（灭菌后）时菌体生长旺盛，延滞较短，*D* 核糖的产量较高。为了解在发酵过程中 pH 值菌体生长和 *D* 核糖合成的影响，采用先使菌体在起始 pH 值为 7.0 条件下生长，pH 值下降至一定值以后，自动流加 $w=10\%$ NaOH 使培养液的 pH 值恒定。

不同 pH 条件会有影响菌体生长对数期的长短，当发酵中后期 pH 值恒定在 6.5 或 pH 值自然下降时，菌体生长期在 25 h 左右，最终得到的菌质量浓度达 15.3 g/L 和 14.8 g/L。生产率达到了 0.617 和 0.54 g/h，高于其它 pH 条件下的生产率。

当发酵中后期 pH 值控制在 7.0 时，菌体的生长率不如其它 pH 值下的生产率，但 *D* 核糖的后生产率最高。这可能是由于当 pH 值在 7.0 时，有利于提高细胞内与 *D* 核糖合成有关酶的活性，从而提高 *D* 核糖的产量，生产菌株 G 2 的菌体合成量与 *D* 核糖产量并无直接线性关系。发酵前期 pH 自然下降有利于菌体的生长。在菌体生长进入稳定期以后，通过调节培养液的 pH 值，使之恒定在 7.0，可促进 *D* 核糖的合成，提高发酵水平。

补料发酵可以使发酵液维持低的基质浓度，解除高浓度底物的阻遏效应，使菌体浓度保持在适当的范围内，不再加剧供氧的困难，根据分批发酵过程曲线选择菌体生长进入平衡期，葡萄糖消耗较快的 40 h 开始补加料液。

将培养好的种子接种于不同初糖浓度的发酵培养基中，40 h 后用灭过菌的 0.5 g/mL 的葡萄糖液进行补糖，每 6 h 流加一次，分 4 次完成，使发酵培养基中加入总葡萄糖为 180 g/L。当初始葡萄糖浓度为 140 g/L 时，发酵 40 h 开始流加葡萄糖，*D*-核糖的产量可增加 5.5%，效果较为显著。

6 不同添加物对 *D* 核糖产量的影响

6.1 不同葡萄糖酸钠添加量对 *D* 核糖产量的影响

D 核糖的生物合成途径是磷酸戊糖途径，或者称为 HMP 途径 PPC 途径。该途径分为氧化阶段和非氧化阶段，因为 *D* 葡萄糖酸仅通过 HMP 途径进行代谢，因此当以 *D* 葡萄糖酸为碳源进行发酵生产时可以增加 *D* 核糖的产量。实验分别选取了不同葡萄糖与葡萄糖酸钠的比例进行发酵。当采用葡萄糖与葡萄糖酸钠的比例为 1:1 时，发酵效果最高，*D* 核糖的产量最高，可达 64.3 g/L。而完全采用葡萄糖酸钠作为碳源时，*D* 核糖产量低于完全以葡萄糖作碳源。原因是葡萄糖酸对细胞有毒性，加入过量的葡萄糖酸将会抑制菌体的生长，导致菌

体的自溶，从而降低 *D* 核糖的产量，由此可见添加适宜比例的葡萄糖与葡萄糖酸钠对 *D* 核糖的生物合成有促进作用。

6.2 不同 Mn^{2+} 浓度对 *D* 核糖产量的影响

葡萄糖脱氢酶是 *D* 核糖生物合成中的一种限速酶，而 Mn^{2+} 又是 *D* 葡萄糖脱氢酶的激活剂。结果 Mn^{2+} 在 0.005% 时，*D* 核糖产量最高。0.05% 的 Mn^{2+} 浓度太高，对菌体有抑制作用，*D* 核糖产量反而降低，0.000 5% 的 Mn^{2+} 浓度太低，对酶活及 *D* 核糖产量影响不大。

6.3 芳香族氨基酸对 *D* 核糖产量的影响

添加芳香族氨基酸明显地促进了 *D* 核糖的生物合成，其中酪氨酸最为明显，最终 *D* 核糖的产量较对照高。

6.4 添加不同种类的玉米浆

玉米浆是玉米通过亚硫酸溶液浸泡等一系列获得，不同种类的玉米浆其芳香族氨基酸的含量不同，因而影响了 *D* 核糖的生物合成。

玉米浆对 *D* 核糖的产量影响很大，添加相同量的玉米浆，种类不同，*D* 核糖的产量不同，主要原因是不同种类的玉米浆氨基酸的组成不同，其芳香族氨基酸的含量也不相同，只有含有适量芳香族氨基酸成分的玉米浆才能增加 *D* 核糖的产量。

6.5 有机酸对 *D* 核糖产量的影响

据文献报道。在 *D* 核糖的发酵生产中，向培养基中添加有机酸有助于 *D* 核糖的产生，同时减少了副产物 3-羟基丁酮和 2, 3-丁二醇的产生。

山梨酸能增加 *D* 核糖的产量，而草酸可对 *D*-核糖的生物合成影响很小，由于草酸 pH 值很低，在 pH 值为 7.0 时，它不能大量地处于解离状态，进而影响了细胞的代谢，促进了细胞内 ATP 的消耗，同时使代谢质子分泌，使葡萄糖大量转为 5 P-*D* 核糖。

7 *D* 核糖的研究现状及应用前景

于志萍等对质量浓度为 60g/l 的 *D* 核糖发酵液进行提取，用 3% 草酸除蛋白后，利用 NKD-1 型树脂在 1 mL/min 流速下可取得较优的脱色率及糖回收率。将 001×7, 201×7 阴阳离子交换树脂串联进行脱盐，二者的有效交换体积容量分别为 6.6 mL/g 干树脂及 4 mL/g 干树脂对糖液进行浓缩至 40% 以上，经检验纯度已达到 98% 以上，全部工序最终 *D* 核糖回收率为 80.2%。

国外在 20 世纪 50 年代开始大量发表 *D* 核糖微生物生产的文献。在微生物菌种方面有芽孢杆菌，棒状杆菌、短杆菌、节杆菌、假单孢杆菌，以

及酵母菌等, 在应用方面, 报道较多的产核糖能力较强的菌种是短小芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌。在发酵工业中, 继 L-谷氨酸发酵生产工业化以后, 20 世纪 50 年代末期开展了呈味核苷酸的研究工作, 微生物菌种是嘌呤核苷形成的前提物质, 在对呈味物质的研究过程中, 发现 *Bacillus* 属细菌的糖代谢突变株可以大量地积累 D 核糖, D 核糖发酵研究是在对呈味核苷酸研究中延伸出来的分支, 随着 D 核糖发酵技术日益进步, 1973 年日本已采用发酵法生产 D 核糖, 在发酵条件研究方面, 经多次改良后, 用控制芳香族氨基酸浓度的方法, 使微生物积累 D 核糖达到 92 g/L, 这一产量已超过了谷氨酸的发酵水平, 目前国际市场上 D 核糖的市场价格每公斤约 30 美元。

江苏省微生物研究所在研究核苷酸基础上, 1992 年开展了 D 核糖发酵研究工作, D 核糖摇瓶产量达 92 g/L, 3 t 中试规模达 81.75 g/L, 提取收率 76% 以上。年产 D 核糖 2 000 t 计, 工程总投产值可达 2400 万元, 年创利税可达 1400 万元, 且内销外销的前景都很好。

D 核糖在应用方面, 除了作为生化试剂, 合成维生素 B₂ 以外, 国外已悄然兴起 D 核糖对人体药理、药用作用的研究, D 核糖作为药物用于治疗心肌缺血。用 D 核糖及其衍生物合成甾族化合物, 改性氨基酸以及一些改性和感抗病毒、抗癌制剂的研究工作正在展开。

参考文献:

[1] De WULF P, VANDAMME E J. Production of D-ribose by fermentation[J]. Appl Micro Biotechnol, 1997, 48: 141—148.

[2] De WULF P, VANDAMME E J. Special organic acids enhance the D-ribose productivity of a transketolase defective *Bacillus Subtilis* strain[J]. Chem Technol Bio Technol, 1997, 70: 311—315.

[3] MIYAGAWA K, MIYAZAKI J, KANZAKI N. Method of producing D-ribose[P]. European Patent; Q 501, 765A1, 1992.

[4] CARBOHYDRAT E K. Metabolism mutants of a *Bacillus* species(II). D-ribose accumulation by pentose phosphate pathway mutants[J]. Agric Biot Chem, 1971, 35: 509—517.

[5] SASAJIMA K. Method for the production of D-ribose[P]. U. S. Pat; 3970522, 1976.

[6] SASAJIMA K, YONEDA M. Production of pentoses by microorganisms[J]. Biotechnol Genet Engi Rev, 1984, 2: 175—213.

[7] DeWULF P. Optimization of D-ribose production with a transketolase-affeted *Bacillis subtilis* mutant strain in glucose

and gluconic acid-based media[J]. J Appl Microbiology, 1997, 83: 25—30.

[8] KISHIMOTO K, KINTAKA K, OCHIYAMA N. Production of D-ribose[P]. U. S Patent. 4904587, 1990.

[9] MIYAGA W. Method of producing D-ribose[P]. European; 05101765, 1992—02—09.

[10] SADAJIMA K, KUMADA T. Cell surface change of *Ba-cillus subtilis* pleiotropic mutant lacking transketolase[J]. Inst Fement Res Commun, 1981, 10: 3—9.

[11] SASAJIMA K, KUMADA T, YOKATA A. Apleiotropy in carbohydrate metabolism of *Bacillus subtilis* mutant lacking transketolase[J]. Inst Fement Res Common, 1977, 8: 69—77.

[12] SASAJIMA K, YONEDA M. D-sedoheptulose-7-phosphate: D-glyceraldehyde-3-phosphate glycolaldehydetransferase and D-ribose-5-phosphate, 4-epimerase mutants of a *Bacillus* species[J]. Agric Biol Chem, 1974, 38: 1305—1310.

[13] SASAJIMA K. Deficiency of flagellation in a *Bacillus subtilis* pleiotropic mutant lacking transketolase[J]. Agric Biol Chem, 1983, 47(6): 1375—1376.

[14] 王树庆, 陈宁. D-核糖产生菌的选育和发酵条件的研究[J]. 发酵科学通讯, 1999, 28(1): 1—2.

[15] 杜连祥. 工业微生物实验技术[M]. 天津: 天津科学技术出版社, 1992: 176—177.

[16] 乔建军, 王昌禄, 杜连祥. 玉米浆对转酮酶缺陷型短小芽孢杆菌菌株成链的影响[J]. 氨基酸和生物资源, 2001, 23(2): 22—24.

[17] 柏建新, 邓崇亮. D-核糖[J]. 中国食品添加剂, 1999 (3): 60—62.

[18] 李鸿雁, 王昌禄, 路福平等. D-核糖生产菌的选育[J]. 氨基酸和生物资源, 1999, 21(1): 10—12.

[19] 谢红, 孙文敬, 杨庆文. D-核糖发酵的研究[J]. 食品与发酵工业, 2000, 26(2): 7—10.

[20] 乔建军, 杜连祥. 芽孢缺失对 D-核糖产量的影响[J]. 天津轻工业学院学报, 2001, 39(4): 17—19.

[21] 魏少军, 陈宁, 刘淑云. D-葡萄糖酸钠对 D-核糖发酵的影响[J]. 天津科技大学学报, 2002, 41(2): 19—22.

[22] 陈长华, 付水林, 肖青. 添加物对 D-核糖生物合成的影响[J]. 工业微生物, 2000, 30(2): 19—22.

[23] 郭建锋, 顾晓波, 王昌禄. pH 对 D-核糖发酵的影响及补料发酵的研究[J]. 氨基酸和生物资源, 2002, 24(1): 26—28.

[24] 赵丽丽, 魏少军, 陈宁. 不同添加物对 D-核糖产量的影响[J]. 氨基酸和生物资源, 2002, 24(2): 31—33.

[25] 于志萍, 王昌禄, 郝建. D-核糖提取精制的初步研究[M]. 药物生物技术, 2003, 10(4): 242—244.

[26] 于金莲, 李步群, 周除珍. 结晶 D-核糖生产废水处理研究[J]. 上海师范大学学报(自然科学报), 2001, 30 (1): 84—87.

[27] 赵丽丽, 陈宁, 张克旭. 代谢工程在 D-核糖生产中研究现状及应用前景[J]. 工业微生物, 2002, 32(4): 42—44.

The Studying Progress of Producing *D*-Ribose by Fermenting

*YANG Xin chao*¹, *LIU Jian jun*², *ZHAO Xiang ying*²

(1. Department of Food and Bioengineer, Shandong Institute of Light Industry, Jinan 250100, China;
2. Shandong Food Ferment Industry Research and Design Institute, Jinan 250100, China)

Abstract: *D*-ribose is an important physiological substance. It can be used to synthesize vitamin B₂, increasing dose of special flavor and many kinds of nucleic acid medicine and so on. It has extensive applicable prospect. Because chemical synthetic method existing pollution problems every country sequently study the method of producing *D*-ribose by microbe fermentation, what's more, they devote themselves to study industrialization. This text made a summarize about the studying progress of *D*-ribose home and abroad and discuss the abstraction method of *D*-ribose.

Key words: *D*-ribose; *Bacillus subtilis*; TKT; fermentation