

# 克雷伯氏菌生产胞外多糖的研究进展\*

窦 畅 杜 军 纪晓俊 聂志奎 高 振 黄 和\*\*

(南京工业大学生物与制药工程学院 材料化学工程国家重点实验室 南京 210009)

**摘要** 从克雷伯氏菌胞外多糖的组成、功能及发酵工艺等方面概述了克雷伯氏菌发酵生产胞外多糖研究进展,并讨论了该发酵过程中存在的问题;同时指出,在现有基础上应用数学工具模拟优化发酵工艺并改良分离提取方法,并进一步对其进行开发应用是今后研究的重点。

**关键词** 克雷伯氏菌 胞外多糖 发酵 进展

**中图分类号** Q819

细菌的胞外多糖(extracellular polysaccharide, EPS)是细菌在生长代谢过程中分泌到细胞壁外的粘液多糖或荚膜多糖,代表了当今生物聚合物市场的一部分。细菌胞外多糖作为一类新型的发酵产品,因其独特的物化性质,已作为乳化剂、增稠剂、稳定剂、悬浮剂和润滑剂等应用于石油、化工、环保以及食品等多个领域,最新研究表明,其还可作为免疫增强剂和生物新材料用于医疗卫生方面,应用范围横跨 20 多个行业,显示出诱人的发展前景。但是,由于其产量的限制影响了它们的应用,而提高产率和降低生产成本则需要人们充分认识 EPS 的生物合成过程并采用适当的生物工艺技术。克雷伯菌属(*Klebsiella* sp.)以其丰厚的荚膜在革兰氏阴性杆菌中著称,近年来发现该菌属中肺炎克雷伯氏菌(*Klebsiella pneumoniae*)、产酸克雷伯氏菌(*Klebsiella oxytoca*)的荚膜多糖具有非特异性免疫调节剂的作用,逐渐成为研究的热点。大量研究表明克雷伯氏菌胞外多糖是一种理想的免疫调节剂,具有刺激性强、品质高,副作用小的特点。它对细菌(绿脓杆菌、金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、肺炎双球菌、伤寒杆菌等)、病毒(流感病毒、引起脑和心肌炎病变的病毒)和真菌(白色念珠菌)的感染,具有明显的保护作用。

## 1 克雷伯氏菌胞外多糖的组成

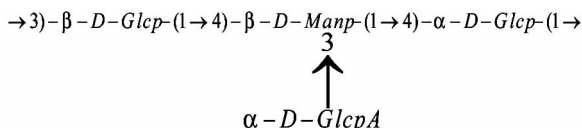
克雷伯氏菌胞外多糖并非具有单一结构的发酵产物,不同的菌株和不同的培养条件等通常会产生组成不同的多糖,但一般都含有鼠李糖和葡萄糖。Sugihara 等<sup>[1]</sup>通过菌株 *K. oxytoca* TMN3 发酵获得胞外多糖 AZ9,分析表明其多糖组成为鼠李糖、葡萄糖、半乳糖和葡萄糖醛酸,四者的比例为 3:1:1:1。而刘红英等<sup>[2]</sup>从青岛海藻化工厂海带浸泡液中分离得到一株 *K. oxytoca* XCH-1,在有氧条件下,该菌在生长过程中产生大量的胞外多糖,用气相色谱分析法分析该菌株胞外多糖单糖组分,结果表明其主要由 D-葡萄糖、D-半乳糖和 L-鼠李糖组成。Bryan 等<sup>[3]</sup>研究发现一株克雷伯氏菌 *Klebsiella* sp. K32 在发酵的初期,产生的多糖是由鼠李糖、半乳糖和甘露糖组成的,这种多糖成分的改变取决于微生物的生长阶段,而且多糖的成分和含量随使用的碳源种类而变化,采用鼠李糖作为碳源可获得最高的甘露糖含量的胞外多糖。这说明在该菌株在不同碳源中生长时发生了代谢调节性改变导致生产出不同种类的多糖或引起多糖结构的改变。参考文献[4]中报道:Wang 等从 *K. oxytoca* CF154 培养液中分离出一种冻干的胞外黏质粉末(LEM),每 1L 培养液中约含有 0.8 克该黏质,经 Sephacryls-400 凝胶渗透色谱测定表明 LEM 是一种蛋白多糖的混合物,其中大部分(85%)是分子质量在 0.5~1.8kDa 的多糖,HPLC 分析结果表明其主要由甘露糖、半乳糖、葡萄糖和阿拉伯糖组成,此外还含有 6.3% 的醛酸。Feng 等<sup>[5]</sup>用相位灵敏调谐

收稿日期:2010-08-24 修回日期:2010-09-21

\* 国家自然科学基金(20606018)、中国博士后科学基金(20100471327)资助项目

\*\*通讯作者,电子信箱:biotech@njut.edu.cn

器分析出一株 *Klebsiella* sp. EPS 的平均分子质量为 116018 Da, 平均大小为 260nm, 并用气相色谱测得该 EPS 单糖包含鼠李糖 3.3%, 海藻糖 4.11%, 阿拉伯糖 1.47%, 木糖 0.51%, 甘露糖 23.93%, 半乳糖 9.86%, 葡萄糖 13.04%, 同时指出 *K. oxytoca* 的 EPS 内单糖种类不会少于 7 种。Corsaro 等<sup>[6]</sup>还用 NMR 的方法测出了 *K. pneumoniae* 52145 胞外多糖的二级结构为:



Mitra 等<sup>[7]</sup>基于光谱光度测量, 荧光光谱法和粘度测定, 对不同种的克雷伯氏菌(K7、K14、K1 和 K26)的胞外多糖进行了研究, 建立了模型以揭示它们的初级结构和溶解特性的关系, 同时指出这些胞外多糖的亲色能力大小顺序为 K7 > K14 > K26 > K17。

胞外多糖的发酵涉及细菌多种初级代谢产物, 如: 糖类、脂蛋白及氨基酸等的生物合成。目前对它发酵过程的理论研究还不够广泛和深入。影响胞外多糖生物合成的因素有很多, 如: 产物合成途径、培养基组成以及细菌生长环境等。

## 2 克雷伯氏菌多糖的功能

目前对克雷伯氏菌多糖功能方面的研究比较少, 其中多集中在其免疫活性方面。Sugihara 等<sup>[1]</sup>利用 *K. oxytoca* TMN3 发酵获得胞外多糖 AZ9, 对其进行免疫活性实验, 研究表明该多糖对胶原质诱发的小鼠关节炎具有抑制作用; 张燕等<sup>[8]</sup>对家兔的免疫实验结果表明肺炎克雷伯氏菌荚膜多糖能增强体液免疫和细胞免疫, 刺激 MΦ 和 T 细胞膜释放大细胞因子而增强机体的免疫机能; 法国罗素公司则将克雷伯氏菌的荚膜多糖开发成药物“必思得”, 该药对反复发作的上呼吸道感染有特殊疗效。张沫<sup>[9]</sup>的研究确定了 *Klebsiella* sp. 所产絮凝剂 MF3 的主要成分是多糖类物质: 依次加入高岭土(5g/L), 絮凝剂(4.0ml/L)和 10% CaCl<sub>2</sub> 助凝剂 4.0ml/L, 调节 pH 值为 7.5, 在 30℃ 时絮凝率高达 93.26%; 罗平等<sup>[10]</sup>利用 *Klebsiella* sp. SLY08 所产的多糖类物质开发后作为絮凝剂使用, 在室温, pH7.0 及助凝剂 Al<sup>3+</sup> 存在下, 该菌株所产生的多糖不仅能有效去除废水中的悬浮固体, 而且还能使废水脱色, 脱色率高达 61.8%。Feng 等<sup>[5]</sup>通过对滤饼层的动力学进行分析, 发现 EPS 在聚乙烯吡啶-N-氧化物(PVDF)膜上比在聚丙烯膜(PP)上显示出更高的吸附除污能力。

## 3 发酵工艺

### 3.1 碳源

克雷伯氏菌自身代谢能够利用的碳源广泛, 包括各种常见的单糖、寡糖等糖类碳源。它能单一使用一种糖为碳源, 也能使用混合碳源。常见的单糖有木糖、阿拉伯糖等五碳糖和葡萄糖、甘露糖等六碳糖, 二糖主要是蔗糖和乳糖, 此外也有以麦芽糖为碳源的报道<sup>[11]</sup>。刘志鸿等<sup>[12]</sup>利用葡萄糖作为碳源, 并认为对于某些克雷伯氏菌株而言, 培养基中葡萄糖的含量增加可以明显提高胞外多糖的产量。刘红英等<sup>[13]</sup>在以 *K. oxytoca* XCH21 摇瓶发酵产胞外多糖时, 发现甘露醇为最佳碳源(初始质量浓度 3g/L), 这是由于 *K. oxytoca* XCH21 所产胞外粗多糖粘度较大的特性决定的。他们的解释是碳源含量较低时, 菌体生长会消耗较多的碳源, 而在碳源含量较高时, 发酵后期会限制产物 *K. oxytoca* XCH21 胞外粗多糖的合成。而张燕等<sup>[14]</sup>则认为蔗糖和葡萄糖都能被产酸克雷伯氏菌利用, 但以蔗糖为碳源时, 不论单位体积菌体含量还是所产生多糖的生物活性, 都高于以葡萄糖为碳源时的结果。Ochuba 等<sup>[15]</sup>研究表明克雷伯氏菌还可以利用支链淀粉、角叉藻聚糖、菊糖、西黄芪树胶等为碳源产胞外多糖。此外, 克雷伯氏菌除了能以常见的糖类为碳源外, 还可以利用非糖类碳源, 如 Dlamini 等<sup>[16]</sup>使用乳清作为 *K. oxytoca* 的培养基, 并进行了一系列产 EPS 的研究, 又如 Baldi 等<sup>[17]</sup>发现一株 *K. oxytoca* BAS-10 可利用柠檬酸铁(III)和柠檬酸钠在厌氧条件下发酵产胞外多糖[Fe(III)-EPS]。特别值得一提的是 Kao<sup>[18]</sup>从含氰化物的工业废水分离出一株 *K. oxytoca* 能以氰化物为唯一碳源产胞外多糖(作为絮凝剂), 并且在后期进行了厌氧条件下培养<sup>[19]</sup>, 这在工业废水的处理方面极具应用价值。

### 3.2 氮源

作为多糖生产的氮源, 一般来说有机氮源比无机氮源效果好。氮源的消耗和菌体的生长情况密切相关, 菌株的密度随氮源质量浓度的增加而增大, 然而菌体快速增长会消耗很多碳源, 将会导致多糖收率下降。菌株生长所需要的氮源量因菌种而有所不同, 一般情况下, 氮源的添加量为菌体增殖所必需的最小量即可。如果氮源质量浓度过高将促使细胞过量繁殖, 因而消耗大量的碳源用于菌体生长最终导致胞外粗多糖产量的降低。Peiris 等<sup>[20]</sup>对 *K. oxytoca* 发酵产胞外多糖的

培养基成分进行了优化,结果表明蛋白胨氮和尿素氮是比较适宜的氮源。张燕等<sup>[14]</sup>则使用酵母粉和胰蛋白胨组成的复合氮源,得到了免疫活性较高的荚膜多糖。但针对 *K. oxytoca* XCH21,刘红英等<sup>[13]</sup>认为无机氮源组合 $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4, \text{NO}_3]$ 优于有机氮源组合(酵母膏,大豆蛋白胨),且最佳 C:N 质量比为150:1。除了氮源的种类和浓度影响胞外多糖的产量外,碳氮比也是制约多糖的生产的一个重要因素。Ramirez 等<sup>[21]</sup>利用 *K. pneumoniae* K63 分批发酵生产胞外多糖时,发现在葡萄糖过剩而氮源供应不足的情况下,有利于胞外多糖的生产,该条件下胞外多糖的产量高达 54.8g/L,而当碳源和氮源都供应充足时胞外多糖的产量仅有 18.1g/L。

### 3.3 pH 对发酵过程的影响

一般来说,通常适于克雷伯氏菌生长的 pH 值也是适用于其胞外粗多糖生产的 pH 值。有的研究者<sup>[22]</sup>研究了从 *K. oxytoca* CF154 培养液中分离出来的一种冻干胞外黏质粉末(LEM)。当 LEM 的水溶液浓度由 0.0% 增加到 0.5% 时,相对黏度增加;0.2% LEM 溶液的相对黏度因子表明 pH 在 4.0~9.0 范围内相对黏度是稳定的,但在这个范围之外,相对黏度降低很快。其他文献中克雷伯氏菌正常生长的 pH 初始值范围多在 6.0~8.0 之间。Peiris 等<sup>[20]</sup>在以蛋白胨氮和尿素氮为氮源,乳糖为碳源的情况下,最佳 pH 是 7.0。而张燕等<sup>[14]</sup>使用磷酸盐为缓冲体系初始 pH 为 6.0 产生的胞外多糖的活性最高。

### 3.4 温度对发酵过程的影响

克雷伯氏菌属兼性厌氧菌,能在 15~40℃ 范围内生长,37℃ 时生长最佳,但多糖生产的适宜温度比生长最佳温度稍低,一般在 25~35℃ 之间,来源不同的克雷伯氏菌产胞外多糖的适宜温度会有些不同。李树品等<sup>[23]</sup>从小麦根系中分离得到了一株 *K. oxytoca*,发现菌体生长温度:在 25℃ 以下,温度下降,菌体生长渐慢,荚膜形成时间后移;30℃ 以上生长加快,周期缩短,较早出现浅染,适宜温度为 25~28℃。Sugihara 等<sup>[1]</sup>认为 *K. oxytoca* TNM3 产胞外多糖 AZ9 的适宜温度为 25℃;Peiris 等<sup>[20]</sup>的实验结果也表明 *K. oxytoca* 生产胞外多糖的最适温度是 25℃。刘红英等<sup>[13]</sup>的研究表明,对于 *K. oxytoca* XCH21 菌产胞外粗多糖的发酵来说,适宜温度在 28℃ 左右。而张燕等<sup>[14]</sup>使用肺炎克雷伯氏菌产胞外多糖的温度稍高,为 37℃。

### 3.5 添加因子对发酵过程的影响

通常在发酵过程中,菌体细胞生长和维持除了需

要碳源和氮源外,还需要向培养基中添加少量的营养因子,这些营养因子包括维生素以及微量元素等,常用的有镁离子和磷酸根离子。李树品等<sup>[23]</sup>研究发现培养基中 NaCl 的浓度在 2% 以下克雷伯氏菌生长正常,每毫升培养液的菌株数量可达 295~347 亿,NaCl 的浓度在 2.5~4.0% 生长受到限制,每毫升培养液的菌株数量为 12~16 亿,浓度为 5.0% 时不能生长。参考文献[4]中报道:Wang 等也研究了 NaCl 浓度对 *K. oxytoca* CF154 培养液中分离的胞外多糖(LEM)的影响,发现当 NaCl 在 LEM 中的浓度在 0%~5% 范围内,随着 NaCl 浓度提高 LEM 黏度会下降。Sugihara 等<sup>[1]</sup>发现在培养基中同时添加 0.1% EDTA 和 0.003%  $\text{FeSO}_4$  能降低发酵罐中物料的粘度,而单独加入这两种物质不能降低粘度。Peiris 等<sup>[24]</sup>在利用乳清作为底物生产胞外多糖时,向培养基中加入 30μg/ml 的吡啶黄可导致一种质粒的不可逆丢失,从而使培养基粘度由 1260cP/s 降低到 1.6cP/200s,这表明质粒的丢失使菌株产胞外多糖的能力显著下降;但是在以乳糖为碳源时,却没有发现这种现象。Baldi<sup>[17]</sup>发现 *K. oxytoca* BAS-10 在厌氧发酵条件下,当高价铁离子存在时,发酵液中产生大量的凝胶,用伴刀豆凝集素 a 结合萤光素,然后用共聚焦激光显微镜扫描,发现微生物多糖中的糖基结合  $\text{Fe}^{3+}$  而迅速沉淀,致使发酵液中约有一半的  $\text{Fe}^{3+}$  被还原为  $\text{Fe}^{2+}$ 。

### 3.6 溶氧对发酵过程的影响

微生物多糖发酵过程中,随着菌体的生长、多糖的合成,发酵液由初始的牛顿型流体转变为高粘度的非牛顿型流体,其流动、混合、传热和供氧均变得十分困难。因此,在培养过程中尤其是在培养后期必须供给充足的氧。因为随着胞外多糖的积累,发酵液的粘度将提高,氧气供应不足,将不利于目标产物的继续合成。刘红英等<sup>[13]</sup>在优化的摇瓶发酵培养基组成情况下,通过考察不同装液量对摇瓶发酵的影响,结果表明随着三角瓶中装液量的减少,单位产糖量逐渐增加,间接表明 *K. oxytoca* XCH21 产胞外多糖的过程为好氧发酵,因此适当增加通气量有利于发酵。如果改用发酵罐进行发酵,可以通过增加搅拌增加溶氧,通过搅拌可使底物和产物在发酵液中均匀分散,因而可以提高发酵的效率。Ramirez 等<sup>[21]</sup>使用 20L 发酵罐,利用 *K. pneumoniae* K63 发酵产胞外多糖,使溶氧始终保持在 10% 以上,多糖的产量相对较高。方文等<sup>[25]</sup>在研究肺炎克雷伯氏菌发酵产胞外多糖时发现溶氧对细菌生

长和产物生成具有显著影响,改变转速和摇瓶中培养基的装液量可以明显提高细菌的生长速度和胞外多糖的产量。

## 4 分离提取方法

提取回收的目的是获得便于应用的产品形式,终产物应具有最小的降解度,并基本上不含有其他发酵产物和培养基等杂质,此外食品级产品还应符合无毒和卫生的各项要求。一般的已投入大规模生产的细菌胞外多糖,如黄原胶、透明质酸等,其工业化分离具体分为:稀释、离心、有机相沉淀、硅胶柱过滤、活性炭吸附、透析、微孔过滤(超滤)、离子交换层析或有分子筛作用的凝胶柱层析等步骤<sup>[26]</sup>。目前针对克雷伯氏菌胞外多糖常用的分离提取方法主要有沉淀法和直接干燥法<sup>[27]</sup>。其中最方便的产物分离方法是醇沉淀法,常用的醇有甲醇、乙醇、丙醇和异丙醇。直接干燥法是将发酵液蒸发水分而直接干燥成固体产品,常用转筒烘烤、鼓风干燥、喷雾干燥和瞬时快干等方法,但通过以上方法得到的都是低档的粗制品,其中含有大量菌体蛋白、无机盐和有机残余物等杂质,若对产品纯度要求较高则需要进一步的分离。张燕等<sup>[14]</sup>对克雷伯氏菌胞外多糖粗品先后经 CTAB 吸附分离,DEAE-Sephacryl 离子交换和 Sephacryl S-300HR 凝胶过滤纯化,得分子量分布相对均一的胞外多糖纯品。

## 5 研究展望

目前已报道的克雷伯氏菌胞外多糖和同类产品相比,单位产量还较低,物耗能耗较高,产出与投入比还有待提高。因此筛选优质多糖产生菌并利用现代生物技术构建具有多种优异性能的基因工程菌与细胞工程菌<sup>[28]</sup>,将是未来研究的发展方向。同时,在现有基础上尝试构建动力学模型,通过模拟调控发酵条件提高胞外多糖的单位产率,并进一步改良其分离提取方法也都是今后工作重点。同时作为新型的微生物多糖,克雷伯氏菌胞外多糖若要实现大规模工业生产就必须满足以下三个条件<sup>[28]</sup>:能分散溶解于水中;具有优于或等价于传统胶稳定的功能特性;具有特殊的流变特性。因此对其理化性质进行分析,与同类型产品(黄原胶、结冷胶等)进行比较,进一步拓展克雷伯氏菌胞外多糖的应用范围,开发它的新功能,是今后研究的另一重点。

## 参考文献

- [1] Sugihara R, Oiso Y, Matsumoto Y, et al. Production of an immunosuppressive polysaccharide, AZ9, in the culture of *Klebsiella oxytoca* strain TNM3. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2001, 92(5): 485-487.
- [2] 刘红英, 薛长湖, 张辉, 等. 产酸克雷伯氏菌胞外多糖单糖组成的气相色谱分析. *中国食品学报*, 2006, 6(2): 113-116.  
Liu H Y, Xue C H, Zhang H, et al. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2006, 6(2): 113-116.
- [3] Bryan B A, Linhardt R J, Daniels L. Variation in composition and yield of exopolysaccharides produced by *Klebsiella* sp. strain K32 and *Acinetobacter calcoaceticus* BD4. *Appl Environ Microbiol*, 1986, 51(6): 1304-1308.
- [4] 林永成, 周世宁. 海洋微生物及其代谢产物. 北京: 化学工业出版社, 2001. 364-365.  
Lin Y C, Zhou S N. *Marine Microorganisms and Their Metabolites*. Beijing: Chemical Industry Press, 2001. 364-365.
- [5] Feng L, Li X F, Du G C, et al. Characterization and fouling properties of exopolysaccharide produced by *Klebsiella oxytoca*. *Bioresource Technology*, 2009, 100:3387-3394.
- [6] Corsaro M M, Castro D C, Naldi T, et al. <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR characterization and secondary structure of the K2 polysaccharide of *Klebsiella pneumoniae* strain 52145. *Carbohydrate Research*, 2005, 340: 2212-2217.
- [7] Mitra A, Nath R K, Biswas S, et al. A comparative study on the physicochemical properties of bacterial capsular polysaccharides from different serotypes of *Klebsiella*. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 2006, 178: 98-105.
- [8] 张燕, 李轻舟, 陈锦英. 肺炎克雷伯氏菌荚膜多糖的免疫活性研究. *工业微生物*, 2005, 20: 18-20.  
Zhang Y, Li Q Z, Chen J Y. *Industrial Microbiology*, 2005, 20: 18-20.
- [9] 张沫. 高效微生物絮凝菌的筛选及其特性研究. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2006.  
Zhang M. *Separation of Bioflocculation Bacteria and Study on Its Characteristics*. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2006.
- [10] 罗平, 罗固源. 克雷伯氏杆菌产生的絮凝剂处理垃圾渗滤液的研究. *中国材料科技与设备*, 2006, 2: 60-63.  
Luo P, Luo G Y. *Chinese Materials Science Technology & Equipment*, 2006, 2: 60-63.
- [11] Santos V L, Guimaraes W V, Barros E G, et al. Fermentation of maltose and starch by *Klebsiella oxytoca* P2. *Biotechnology Letters*, 1998, 20(12): 1179-1182.
- [12] 刘志鸿, 牟海津. 克雷伯氏菌胞外多糖的制备与组成分析. *海洋水产研究*, 2008, 29(1): 8-11.

- Liu Z H, Mou H J. Marine Fishers Research. 2008, 29(1):8-11.
- [13] 刘红英, 薛长湖, 王琦, 等. *Klebsiella oxytoca* XCH-1 菌产胞外粗多糖发酵. 无锡轻工大学大学学报, 2004, 23(5): 16-21.
- Liu H Y, Xue C H, Wang Q, et al, Journal of Wuxi University of Light Industry, 2004, 23(5): 16-21.
- [14] 张燕, 李轻舟, 杜连祥, 等. 肺炎克雷伯氏菌荚膜多糖表达量评价指标的建立及发酵条件优化. 工业微生物, 2006, 32(2): 16-32.
- Zhang Y, Li Q Z, Du L X, et al. Industrial Microbiology, 2006, 32(2): 16-32.
- [15] Ochuba G U, von Riesen V L. Fermentation of polysaccharides by *Klebsiella* and other facultative *bacilli*. Appl Environ Microbiol. 1980, 39: 988-992.
- [16] Dlamini A M, Peiris P S. Biopolymer production by a *Klebsiella oxytoca* isolate using whey as fermentation substrate. Biotechnology Letters, 1997, 19: 127-130.
- [17] Baldi F, Minacci A, Pepi M, et al. Gel sequestration of heavy metals by *Klebsiella oxytoca* isolated from iron mat. FEMS Microbiology Ecology, 2001, 36: 169-174.
- [18] Kao C M, Lin C C, Liu J K, et al. Biodegradation of the metal-cyano complex tetracyanonickelate (II) by *Klebsiella oxytoca*. Enzyme and Microbial Technology, 2004, 35: 405-410.
- [19] Chen C Y, Kao C M, Chen S C, et al. Biodegradation of tetracyanonickelate by *Klebsiella oxytoca* under anaerobic conditions. Desalination, 2009, 249:1212-1216.
- [20] Peiris P S, Dlamini A M, Bavor H J, et al. Optimization of bioprocess conditions for exopolysaccharide production by *Klebsiella oxytoca*. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 1998, 14: 917-919.
- [21] Ramírez-Castillo M L, Uribe Larrea J L. Improved process for exopolysaccharide production by *Klebsiella pneumoniae* sp. *pneumoniae* by a fed-batch strategy. Biotechnology Letters, 2004, 26: 1301-1306.
- [22] 刘成梅 游海. 天然产物有效成分的分离与应用. 北京: 化学工业出版社, 2003, 302-304.
- Liu C M, You H. Natural Products Isolation and Application. Beijing: Chemical Industry Press, 2003, 302-304.
- [23] 李树品, 蒋千里, 楚杰, 等. 产酸克雷伯氏菌的分离及其特性的研究. 山东科学, 1991, 4(3): 9-25.
- Li S P, Jiang Q L, Chu J, et al. Shandong Science, 1991, 4(3): 9-25.
- [24] Peiris P S, Dlamini A M. Involvement of a plasmid in exopolysaccharide production by *Klebsiella oxytoca*. Journal of Microbiology & Biotechnology, 1999, 15: 193-196.
- [25] 方文, 吴蕾, 甘一如, 等. 肺炎克雷伯氏菌培养工艺的研究. 化学工业与工程, 2002, 19(1): 6-12.
- Fang W, Wu L, Gan Y R, et al. Chemical Industry and Engineering, 2002, 19(1): 6-12.
- [26] 王桂兰, 凌沛学. 细菌胞外多糖提取分离技术研究进展. 食品与药品, 2010, 12(5): 217-219.
- Wang G L, Ling P X. Food and Drug, 2010, 12(5): 217-219.
- [27] 邵德益. 微生物胞外多糖的提取. 化工时刊, 1995, 8: 25-26.
- Shao D Y. Chemical Times, 1995, 8: 25-26.
- [28] 宋绍富, 罗一菁, 雷光伦, 等. 微生物多糖研究进展. 油田化学, 2004, 2(1): 25-30.
- Song S F, Luo Y Q, Lei G L, et al. Oilfield Chemistry, 2004, 2(1): 25-30.

## Research Progress in the Fermentative Production of Exopolysaccharides by *Klebsiella* sp

DOU Chang DU Jun JI Xiao-jun Nie Zhi-kui GAO Zhen HUANG He

(State Key Laboratory of Materials-Oriented Chemical Engineering, College of Biotechnology and Pharmaceutical Engineering, Nanjing University of Technology, Nanjing 210009, China)

**Abstract** The progress in the production of exopolysaccharides by *Klebsiella* sp. is discussed, including composition, function and fermentation process of the exopolysaccharides. And the problems in the process of exopolysaccharides production are also discussed. It is pointed out that the research emphasis should be placed on using the mathematic tools to optimize the fermentation process and modifying downstream recovery process. Then the comparison with their counterparts and exploitation of the potential function of the exopolysaccharides will be focused on.

**Key words** *Klebsiella* sp. Exopolysaccharides Fermentation Progress