

doi:10.12031/spxb202300456

文章编号:2095-6002(2023)06-0020-09

引用格式:李子杰,沈立群,费康清,等. D-塔格糖的生理活性及生物合成研究进展[J]. 食品科学技术学报,2023,41(6): 20-28.



LI Zijie, SHEN Liqun, FEI Kangqing, et al. Research progress on physiological activity and biosynthesis of D-tagatose [J]. Journal of Food Science and Technology, 2023,41(6):20-28.

D-塔格糖的生理活性及生物合成研究进展

李子杰, 沈立群, 费康清, 陈洲, 中西秀树

(江南大学 生物工程学院/糖化学与生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122)

摘要: D-塔格糖是一种重要的稀有己酮糖,其甜度是蔗糖的92%,热量只有蔗糖的三分之一; D-塔格糖分别于2001年和2014年被美国食品药品监督管理局和我国卫生和计划生育委员会批准为食品新原料。D-塔格糖具有降低血糖、减少肥胖、改善肠道菌群、抗龋齿、抗氧化等功能。D-塔格糖作为一种理想功能性甜味剂,具有广泛的应用价值,然而塔格糖的生产成本以及产量一直是限制塔格糖发展和应用的重要原因。D-塔格糖的合成方法主要有化学合成法和生物转化法。化学合成法生产D-塔格糖虽然是一种经济有效的方法,但是在生产过程中需要高温高压的条件,并且容易生成山梨糖、甘露糖等杂糖,不利于分离纯化。为了克服这些缺点,生物转化法生产D-塔格糖得到了广泛的关注和研究,因此,系统阐述了以不同底物,如己糖(半乳糖醇、D-半乳糖和D-果糖)、乳糖、多糖(麦芽糊精和淀粉)转化成D-塔格糖的研究进展和优缺点,并对其未来研究趋势进行了展望,以期对D-塔格糖的研发与生产提供借鉴。

关键词: D-塔格糖; 生理功能; L-阿拉伯糖异构酶; 乳糖; 生物转化法

中图分类号: TS202.3

文献标志码: A

糖的过量摄入和肥胖、糖尿病等慢性疾病具有相关性,糖过量对身体的危害不亚于酒精^[1]。欧美等发达国家和地区,为了引导消费者减少对糖的摄入,对含糖饮料等食品征收糖税。近年来,减糖和代糖市场需求持续火热;控糖、减糖契合“健康中国”这一国家重要战略需求。稀有糖是自然界中存在但含量很低的单糖及其衍生物^[2],作为一类新型的功能性甜味剂,已成为国际上研究的热点。稀有糖食用后产生能量较少且具有抑制血糖升高、抗肥胖、抗氧化、抗炎等生理功能^[3-4],以极低卡路里的稀有糖作为代糖符合“大卫生、大健康”这一理念^[5-6]。D-塔格糖作为一种稀有糖,

其口感与蔗糖相近,甜度是蔗糖的92%,但热量却只有蔗糖的三分之一。D-塔格糖具有多种有益于人体的生理功能,如预防肥胖、降低血糖、抗龋齿、抗氧化、益生、改善肠道菌群、增强免疫力、预防心脑血管疾病等,因此D-塔格糖是一种理想的功能性甜味剂。2001年,美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)将D-塔格糖认定为“公认安全”(generally recognized as safe, GRAS)食品^[7],并被世界卫生组织联合食品添加剂委员会(The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, JECFA)和联合国粮农组织推荐作为一种新型甜味剂,可以作为食品添加剂使

收稿日期:2023-07-24

基金项目:国家自然科学基金资助项目(32171475);江苏省自然科学基金资助项目(BK20210465)。

Foundation: National Natural Science Foundation of China (32171475); Natural Science Foundation of Jiangsu Province (BK20210465)。

第一作者:李子杰,男,副教授,博士,主要从事稀有糖方面的研究。

用^[8]。2014 年,依据《中华人民共和国食品安全法》和《新食品原料安全性审查管理办法》,国家卫生和计划生育委员会批准 D-塔格糖为食品新原料。因此,D-塔格糖有着非常广阔的市场前景。

1 D-塔格糖的代谢及生理活性

D-塔格糖是一种重要的稀有己酮糖,是 D-半乳糖的同分异构体、D-果糖的 C-4 差向异构体或 D-山梨糖的 C-3 差向异构体,结构见图 1。

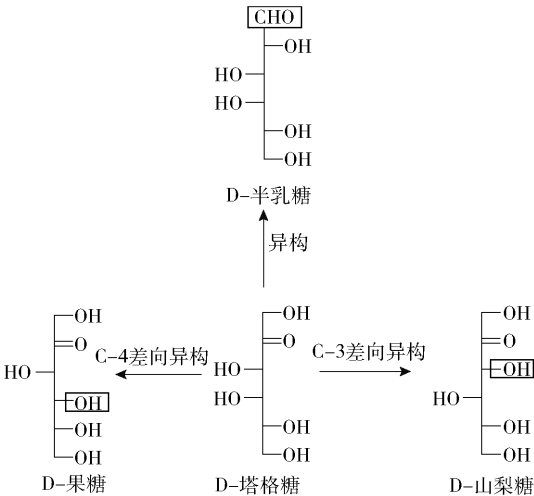


图 1 D-塔格糖的分子结构

Fig. 1 Molecular structure of D-tagatose

1.1 D-塔格糖的代谢

D-塔格糖在人体内的代谢过程见图 2。

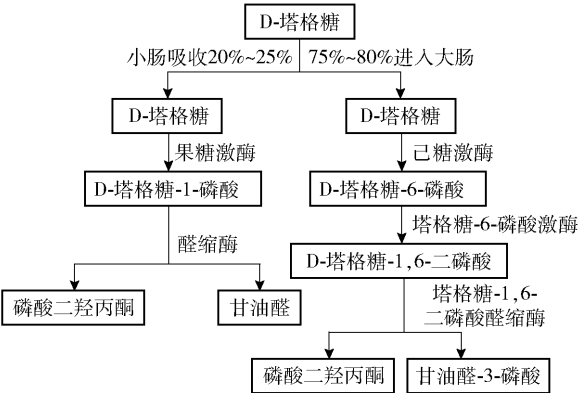


图 2 D-塔格糖的代谢过程

Fig. 2 Metabolic process of D-tagatose

虽然 D-塔格糖与 D-果糖在结构上具有相似性,人体对 D-塔格糖的吸收效率很低,仅有 20% ~ 25% 被小肠吸收。D-塔格糖被小肠吸收后,代谢过程和 D-果糖类似,但代谢速率只有果糖的 50%。在果糖

激酶的作用下,D-塔格糖被转化为 D-塔格糖-1-磷酸,后者在醛缩酶的作用下分解为磷酸二羟丙酮和甘油醛。相对于 D-果糖,果糖激酶对 D-塔格糖显示了较低的亲和作用^[9]。没有被小肠吸收的 D-塔格糖进入大肠,被肠道微生物发酵并产生短链脂肪酸^[10-11]。在大肠中,D-塔格糖通过半乳糖的分支代谢途径——塔格糖-6-磷酸代谢通路进行代谢。在己糖激酶的作用下,D-塔格糖转化为 D-塔格糖-6-磷酸,进而在塔格糖-6-磷酸激酶和塔格糖-1,6-二磷酸醛缩酶的作用下,分解为磷酸二羟丙酮和甘油醛-3-磷酸。

1.2 D-塔格糖的生理活性

D-塔格糖具有降血糖、减少肥胖、益生、抗龋齿、抗氧化、提高生育能力等多种生理功能(图 3)。

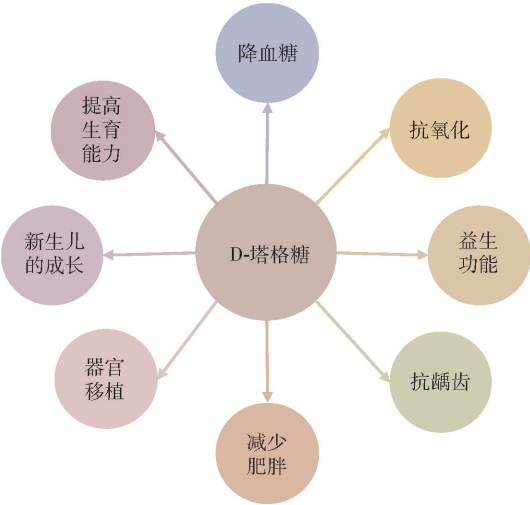


图 3 D-塔格糖的主要生理活性

Fig. 3 Main physiological activity of D-tagatose

1.2.1 降低血糖

D-塔格糖能够调控健康人群和Ⅱ型糖尿病患者的血糖水平。与传统口服的治疗糖尿病药物相比,D-塔格糖安全性高、具有抗氧化活性以及抑制体重增加等优点^[11]。研究表明:糖尿病患者在进行葡萄糖耐受实验前 30 min 给予 75 g D-塔格糖,能够显著抑制血糖升高且不会影响血液中的胰岛素水平^[12],并且 D-塔格糖的最小剂量为 5 g(3 次/d)能够有效控制Ⅱ型糖尿病患者的乙酰化血红蛋白水平^[13]。到目前为止,D-塔格糖的降血糖机理还没有完全阐明,其可能的机理如下:D-塔格糖在肝脏中的代谢同 D-果糖类似,在果糖激酶的作用下生成 D-塔格糖-1-磷酸,后者能够诱导葡萄糖激酶从细胞核进入到细胞质,增强葡萄糖转化为葡萄糖-6-磷酸进入糖酵解

途径,同时促进葡萄糖转化为糖原^[14-15]。D-塔格糖-1-磷酸还能够抑制糖原磷酸化酶的活性,从而抑制糖原分解为葡萄糖。此外 D-塔格糖能够抑制肠道中主要的消化酶类(蔗糖酶和麦芽糖酶)的活性,实现降低血糖的作用。因此,D-塔格糖可以作为代糖添加到糖尿病患者的饮食中,实现辅助降低血糖的功效。

1.2.2 减少肥胖

体重管理对于减少肥胖相关疾病的风险起着重要的作用。D-塔格糖具有低热量的特性,能够作为一种有前景的用于体重管理的甜味剂。对于很多糖尿病患者,降低体重是控制血糖的关键因素。糖尿病患者长期服用 D-塔格糖能够明显降低体重^[16],并且 D-塔格糖能够减少健康男性的食物摄入量^[17]。对于孕妇而言,比较常见的问题是体重管理,如果体重过度增加,将会增加母亲和胎儿的健康风险,因此 D-塔格糖在母婴市场也有着潜在的应用前景。

1.2.3 益生功能

益生元是指一些不被宿主消化吸收却能够选择性地促进体内有益菌的代谢和增殖,从而改善宿主健康的有机物质^[18]。D-塔格糖就是一种很好的益生元,D-塔格糖对人体的肠胃条件有抗性,能有效地刺激益生菌的生长,特别是 *Bifidobacterium infantis*,从而抑制致病菌的生长^[19];研究表明,人体健康的口腔中富含 D-塔格糖,并且因为 D-塔格糖对 *Streptococcus gordonii* 等导致龋齿的细菌生长有着抑制作用^[20],所以具有抗龋齿功能。促进益生菌的增殖、抑制致病菌的生长、抗龋齿等功能都体现了 D-塔格糖良好的益生功能。

1.2.4 抗氧化

细胞内的自由基会对细胞造成损伤,从而导致癌症、衰老或其他疾病。D-塔格糖具有减弱胞内自由基造成细胞损伤的潜能。研究表明:与等物质量的葡萄糖、甘露醇或木糖相比,D-塔格糖能够抑制药物呋喃咀啶所造成的小鼠肝细胞的氧化损伤^[21]。D-塔格糖具有弱铁螯合的特性。因此,可以通过抑制由铁催化的膜脂质过氧化和蛋白质羰基形成所导致自由基的产生,保护细胞免受铁诱导的细胞毒性^[22-23]。

1.2.5 其他功能

D-塔格糖还在器官移植、提高生育能力、新生儿的成长等方面发挥作用^[22],并且科研人员对于其生

理功能的研究也从未停止,D-塔格糖的应用潜力还有很大。

2 D-塔格糖的生物合成方法

D-塔格糖的合成方法主要有化学合成法和生物转化法。化学合成法是以 D-半乳糖为原料,在碱性或碱土金属的催化下,发生异构化反应,生成金属氢氧化物和 D-塔格糖复合物中间体沉淀,然后用酸中和中间体,得到 D-塔格糖。化学合成法生产 D-塔格糖虽然是一种经济有效的方法,但是在生产过程中需要高温高压的条件,并且容易生成山梨糖、甘露糖等杂糖,不利于分离纯化。因此,为了克服这些缺点,生物转化法生产 D-塔格糖得到了广泛的关注和研究^[24-25]。经过多年的深入研究,生物转化法生产 D-塔格糖按照底物的不同可分为 3 大类,分别以己糖、乳糖和多糖为底物。

2.1 以己糖为原料

市场上可获得的稀有糖非常有限且价格昂贵,这严重限制它们的开发和应用。为了克服这种状况,有必要寻找能够大规模生产稀有糖的方法。Izumori 提出 Izumoring 策略为稀有糖的生产提供了解决方法^[26]。以己糖为原料生产 D-塔格糖主要涉及了 3 种酶,即异构酶、差向异构酶和脱氢酶。异构酶主要用于催化 D-半乳糖,差向异构酶用于催化 D-果糖和 D-山梨糖,脱氢酶用于催化半乳糖醇(图 4)。

2.1.1 以半乳糖醇为原料

以半乳糖醇为原料生产 D-塔格糖是研究最早的一种生物合成方法,主要是利用山梨醇脱氢酶脱氢氧化半乳糖醇生成 D-塔格糖。早期对 D-塔格糖生产的研究主要采用微生物 *Arthrobacter globiformis* 和 *Mycobacterium smegmatis* 将半乳糖醇氧化为 D-塔格糖^[27]。目前的研究主要利用氧化葡萄糖酸杆菌表达膜结合的山梨醇脱氢酶将半乳糖醇氧化成 D-塔格糖和 L-木糖-3-己酮糖^[28]。由于半乳糖醇价格比较昂贵,生产成本高,导致 D-塔格糖的商业价格较高,限制了 D-塔格糖的应用。

2.1.2 以 D-半乳糖为原料

由于 D-半乳糖比半乳糖醇价格相对便宜,商业应用潜力较高。以 D-半乳糖为原料,酶催化合成 D-塔格糖逐渐成为主流合成方法^[29]。该方法用到的核心酶是 L-阿拉伯糖异构酶(L-arabinose isomer-

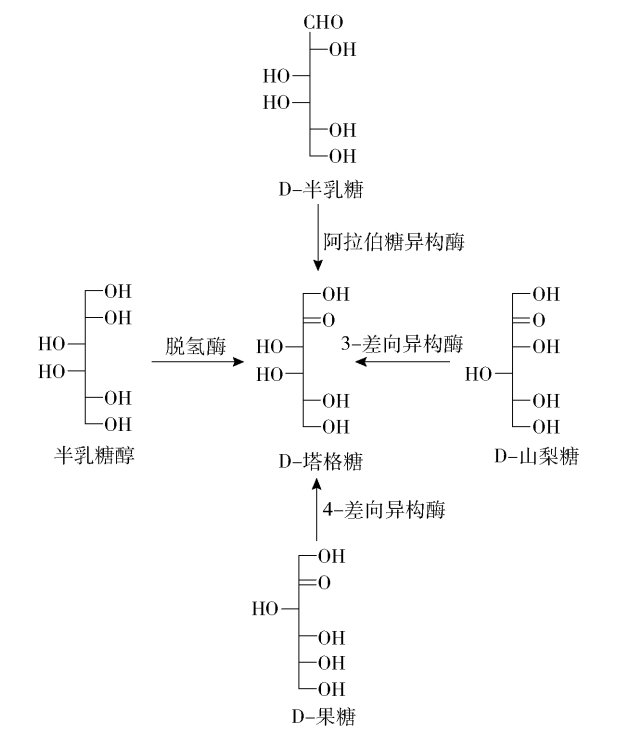


图 4 以己糖为底物合成 D-塔格糖

Fig. 4 Synthesis of D-tagatose with hexoses as substrates

ase, AI), 由于 D-半乳糖和 L-阿拉伯糖结构具有一定的相似性,因此 AI 能够催化 D-半乳糖转化为 D-塔格糖^[30]。为了提高 D-半乳糖转化为 D-塔格糖的产率,对该酶类进行了诸多研究。比如对多种来源的 AI 进行分子改造以提高酶活、催化效率、pH 值和温度稳定性等,或通过酶固定化技术提高 D-半乳糖转化为 D-塔格糖的效率^[24, 31]。目前,这些研究已经逐渐达到饱和,现主要集中在寻找可以提升 D-塔

格糖产量的催化方法,如采用固定在海藻酸盐载体上的 AI 小球的填充床反应器生产 D-塔格糖,使反应的平衡转化率达到 50%,并且可以多次循环使用^[32]。

2.1.3 以 D-果糖为原料

近年来,生物法合成 D-塔格糖普遍采用以 D-半乳糖为底物,通过 AI 进行催化合成。然而 D-半乳糖与葡萄糖、果糖、淀粉等碳水化合物相比,生产成本还是较为昂贵,不利于 D-塔格糖大规模的工业化生产和推广应用,因此寻找能够利用廉价易得的生物质资源实现 D-塔格糖高效合成的方法具有重要的研究意义。D-果糖是一种价格低廉且来源稳定的单糖,是生产 D-塔格糖的理想底物,但截至目前,还没有在自然界发现天然存在的能催化 D-果糖转化为 D-塔格糖的相关酶类。2012 年, Rodionova 等^[33]发现了一个新的酶家族(命名为“UxE”),能够催化 D-塔格糖醛酸转化为 D-果糖醛酸;Shin 等^[34]认为该酶可能对 D-果糖具有 4-异构化活性,因为其底物和果糖有着相似的结构,进而通过合理的设计和定向进化,提高了该酶对 D-果糖的 C4-差向异构化活性,并将该突变酶命名为 D-塔格糖 4-差向异构酶。将开发的 D-塔格糖 4-差向异构酶应用于 D-塔格糖的合成,在最优反应条件下,700 g/L D-果糖在 2 h 内转化生成了 213 g/L 的 D-塔格糖,转化率为 30%。

除了利用 D-塔格糖 4-差向异构酶催化果糖生产 D-塔格糖外,还有 2 种以 D-果糖为底物生产 D-塔格糖的多酶催化途径(图 5):1) D-果糖在己糖激

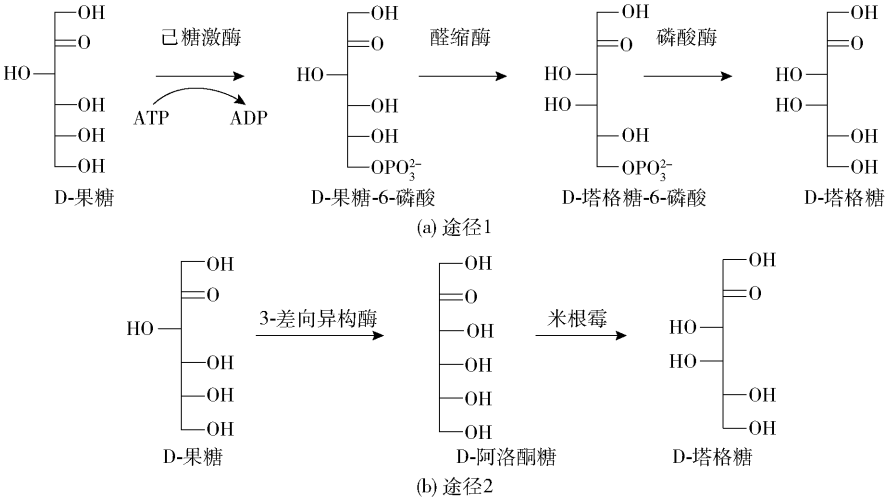


图 5 以 D-果糖为底物多酶催化合成 D-塔格糖

Fig. 5 Synthesis of D-tagatose by multienzyme catalysis with D-fructose as substrate

酶的作用下生成 D-果糖-6-磷酸,D-果糖-1,6-二磷酸醛缩酶催化 D-果糖-6-磷酸生成 D-塔格糖-6-磷酸,最后 D-塔格糖-6-磷酸在磷酸酶的作用下生成 D-塔格糖^[35]。由于这种方法需要激酶参与,反应过程中需要加入 ATP,不利于实际的生产应用,因此该方法研究比较少^[36];2) Yoshihara 等^[37]成功用米根霉 *Rhizopus oryzae* MYA-2483 催化 D-阿洛酮糖生成了 D-塔格糖,并发现大多数的 *Mucoraceae* 真菌都具有这种转化能力,因此可以用 D-塔格糖-3-差向异构酶将 D-果糖异构化为 D-阿洛酮糖^[38],然后再将 D-阿洛酮糖转化为 D-塔格糖。利用 D-果糖大规模生产 D-阿洛酮糖是可行的,因此这种方法有可能应用于商业化生产,但相关的研究并不多。

2.2 以乳糖为原料

以乳糖为原料生产 D-塔格糖,通过 β-半乳糖苷

酶和阿拉伯糖异构酶双酶催化完成,这也是近年来的研究热点。乳清通常是乳制品生产过程中所产生的富含乳糖的副产品,在过去常被当作废弃物。随着科学技术的进步,现已成为有价值的食品原料,可用于 D-塔格糖的生产。以乳糖为底物,在过量表达 β-半乳糖苷酶和阿拉伯糖异构酶的全细胞催化下,可以得到不同产物浓度的 D-塔格糖 (12.7 ~ 96.8 g/L),从乳糖到 D-塔格糖的产率范围在 19.4% ~ 36.7% (表 1^[39-47])。因此这种方法对碳源的利用率并不高,并且残留物会对 D-塔格糖的分离纯化造成困难。为了解决这个问题,可以乳糖为原料同时生产多个产品,比如以乳清粉为原料,同时生产 D-塔格糖和生物乙醇,产率分别达到 23.5% 和 26.9%^[48],这样不但能够提高对碳源的利用率,还能生产出有价值的副产品。由于乳清粉中含有其他

表 1 以乳糖和多糖为底物生产 D-塔格糖
Tab. 1 Production of D-tagatose with lactose and polysaccharide as substrates

原料及 质量浓度	表达菌株	表达载体	表达酶	反应条件	产物质量 浓度及产率	文献
乳糖 100 g/L	<i>E. coli</i> BL21 (DE3)	pET-28a	β-半乳糖苷酶 阿拉伯糖异构酶	50 ℃、pH = 8.0、 $c(\text{Mn}^{2+}) = 5 \text{ mmol/L}$ 、 $c(\text{硼酸}) = 0.5 \text{ mol/L}$ 、 $w(\text{SDS}) = 0.1\%$	24.0 g/L 24.0%	[39]
乳糖 120 g/L	<i>E. coli</i> BL21 (DE3)	pANY1	β-半乳糖苷酶 阿拉伯糖异构酶	45 ℃、pH 值 6.5、两种细胞 质量比为 1	37.8 g/L 31.5%	[40]
乳糖 150 g/L	<i>E. coli</i> BL21 (DE3)	pETDuet-1	β-半乳糖苷酶(内源) 阿拉伯糖异构酶	50 ℃、pH 值 6.0 ~ 6.5、 $c(\text{Mn}^{2+}) =$ 1 mmol/L、 $c(\text{硼酸盐}):c(\text{乳糖}) = 2.4$	54.6 g/L 36.4%	[41]
乳糖 100 g/L	<i>E. coli</i> BL21 (DE3)	pET-28a	β-半乳糖苷酶 阿拉伯糖异构酶	50 ℃、pH = 7.0、 $c(\text{Mn}^{2+}) = 5 \text{ mmol/L}$	21.0 g/L 21.0%	[42]
乳糖 500 g/L	<i>B. subtilis</i> 168	pMA5	β-半乳糖苷酶 阿拉伯糖异构酶	40 ℃、pH = 8.0、 $c(\text{Mn}^{2+}) = 3 \text{ mmol/L}$ 、 $w(\text{TritonX-100}) = 0.1\%$	96.8 g/L 19.4%	[43]
乳糖 175 g/L	<i>Lactiplantibacillus</i> <i>lantarum</i>	placLM	β-半乳糖苷酶 阿拉伯糖异构酶	65 ℃、pH = 7.5	57.8 g/L 33.0%	[44]
乳糖 140 g/L	<i>E. coli</i> BL21 (DE3)	pANY1	β-半乳糖苷酶 阿拉伯糖异构酶	50 ℃、pH = 6.5、 $c(\text{Mn}^{2+}) = 5 \text{ mmol/L}$	51.5 g/L 36.7%	[45]
乳糖 101 g/L	<i>E. coli</i> BL21 (DE3)	pET-28a	β-半乳糖苷酶 阿拉伯糖异构酶	70 ℃、pH = 7.0、 $c(\text{硼酸盐}):c(\text{乳糖}) = 0.6$ 34 ℃、pH = 6.5、 $c(\text{Mn}^{2+}) = 1 \text{ mmol/L}$ 、 $c(\text{Fe}^{2+}) = 10 \text{ mmol/L}$ 、 $c(\text{硼酸盐}) = 235 \text{ mmol/L}$	20.4 g/L 20.2%	[46]
乳糖 50 g/L	<i>E. coli</i> BL21 (DE3)	pETDuet-1	β-半乳糖苷酶 阿拉伯糖异构酶	$c(\text{Mn}^{2+}) = 1 \text{ mmol/L}$ 、 $c(\text{Fe}^{2+}) = 10 \text{ mmol/L}$ 、 $c(\text{硼酸盐}) = 235 \text{ mmol/L}$	12.7 g/L 25.4%	[47]
麦芽糊精 10 g/L	<i>E. coli</i> BL21 (DE3)	pETDuet-1 pRSFDuet-1	磷酸化酶、变位酶、异 构酶、差向异构酶、磷 酸酶	60 ℃、pH = 7.5、 $c(\text{Mg}^{2+}) = 5 \text{ mmol/L}$	3.38 g/L 33.8%	[49]
麦芽糊精 150 g/L	半人工 细胞工厂	pHT7	磷酸化酶、变位酶、异 构酶、差向异构酶、磷 酸酶	45 ℃、pH = 7.0、 $c(\text{Mg}^{2+}) = 5 \text{ mmol/L}$	72.2 g/L 48.1%	[50]

不明确的成分,可能会影响阿拉伯糖异构酶的活性,导致其产率与乳糖相比下降了7.8%。

2.3 以多糖为原料

生产D-塔格糖的多糖主要有麦芽糊精和淀粉2种,是利用磷酸化酶、磷酸葡萄糖变位酶、磷酸葡萄糖异构酶、C4差向异构酶、磷酸酶转化为D-塔格糖^[49-50]。淀粉或麦芽糊精为底物多酶催化合成D-塔格糖的路径见图6。相较于以果糖为底物的多酶催化

途径,用于催化麦芽糊精和淀粉生成葡萄糖-1-磷酸的磷酸化酶不需要ATP的参与,降低了D-塔格糖的生产成本以及生产过程中的不稳定性。为了避免纯化多种合成酶类,Dai等^[49]在大肠杆菌中构建D-塔格糖合成代谢途径,实现了从10 g/L 麦芽糊精生成了3.38 g/L 的D-塔格糖。Han等^[50]构建半人工细胞工厂实现了从150 g/L 麦芽糊精生成了72.2 g/L 的D-塔格糖,产率高达48.1%,具有良好的应用价值。

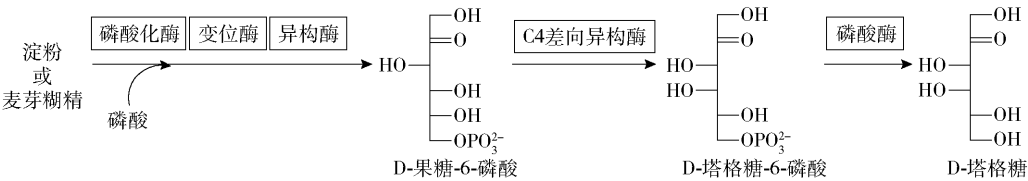


图6 以淀粉或麦芽糊精为底物多酶催化合成D-塔格糖

Fig. 6 Synthesis of D-tagatose by multienzyme catalysis with starch or maltodextrin as substrate

3 总结与展望

D-塔格糖作为一种理想的功能性甜味剂,具有广阔的应用前景。在减糖、代糖市场需求持续火热的背景下,D-塔格糖对于满足人民“减糖不减甜”的诉求,提高人民的生活质量和健康水平具有重要意义。本文对近年来关于D-塔格糖的生理功能和生物法合成的研究进行了综述。为了降低D-塔格糖的生产成本,使其能走向千家万户,建议重点开展如下研究:1)以D-半乳糖为原料生产D-塔格糖的研究与商业化生产比较成熟,但成本较高的D-半乳糖限制了D-塔格糖的推广应用,可集中研究以果糖、乳糖、麦芽糊精和淀粉等廉价底物生产D-塔格糖,以扩大D-塔格糖的市场规模;2)通过基于蛋白结构的分子模拟,对关键酶进行(半)理性改造,提升关键酶的催化效率和稳定性,提升其工业应用潜能;3)构建食品级的底盘细胞,并对底盘细胞进行系统性的改造,开发耐受高底物浓度、具有高转化率、高生产强度D-塔格糖的合成方法以及高效的D-塔格糖纯化工艺;4)深入研究和不断拓展D-塔格糖的功能,使其能充分体现出自己的优势,在食品、医药、农业、化妆品等领域中得到更加充分的应用。开展上述研究有助于D-塔格糖的产业化,希望本文可以为D-塔格糖的推广应用提供有效的信息。

参考文献:

[1] LUSTIG R H, SCHMIDT L A, BRINDIS C D. The toxic

truth about sugar[J]. Nature, 2012, 482(7383): 27-29.

[2] 胡扬帆,王雨露,费康清,等. 枯草芽孢杆菌全细胞转化高效合成D-阿洛酮糖[J]. 食品科学技术学报, 2023, 41(5): 76-84.

HU Y F, WANG Y L, FEI K Q, et al. Efficient synthesis of D-allulose by *Bacillus subtilis* whole cell transformation [J]. Journal of Food Science and Technology, 2023, 41(5): 76-84.

[3] HAN Y, PARK H, CHOI B R, et al. Alteration of microbiome profile by D-allulose in amelioration of high-fat-diet-induced obesity in mice [J]. Nutrients, 2020, 12(2): 352.

[4] IWASAKI Y, SENDO M, DEZAKI K, et al. GLP-1 release and vagal afferent activation mediate the beneficial metabolic and chronotherapeutic effects of D-allulose[J]. Nature Communications, 2018, 9: 113.

[5] 陈洲,秦岭,李芬,等. 全细胞催化甘油生物合成L-果糖体系的构建[J]. 食品科学技术学报, 2020, 38(3): 60-68.

CHEN Z, QIN L, LI F, et al. System construction for L-fructose production from glycerol by whole-cell biocatalysis [J]. Journal of Food Science and Technology, 2020, 38(3): 60-68.

[6] 赵婧邑,郭燕,冯婷婷,等. 多酶级联系统制备蒜糖醇的细胞工厂构建及工艺优化[J]. 食品科学技术学报, 2022, 40(3): 88-97.

ZHAO J Y, GUO Y, FENG T T, et al. Construction and process optimization of cell factory for allitol synthesis with multienzymatic cascade system[J]. Journal of Food Science and Technology, 2022, 40(3): 88-97.

- [7] LIU J J, ZHANG G C, KWAK S, et al. Overcoming the thermodynamic equilibrium of an isomerization reaction through oxidoreductive reactions for biotransformation [J]. *Nature Communications*, 2019, 10: 1356.
- [8] DU M G, ZHAO D Y, CHENG S S, et al. Towards efficient enzymatic conversion of D-galactose to D-tagatose; purification and characterization of L-arabinose isomerase from *Lactobacillus brevis* [J]. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 2019, 42(1): 107–116.
- [9] MARTÍNEZ P, CARRASCOSA J M, NÚÑEZ DE C I. Ketose induced respiratory inhibition in isolated hepatocytes [J]. *Revista Espanola De Fisiologia*, 1987, 43(2): 163–171.
- [10] LÆRKE H N, JENSEN B B, HØJSGAARD S. *In vitro* fermentation pattern of D-tagatose is affected by adaptation of the microbiota from the gastrointestinal tract of pigs [J]. *The Journal of Nutrition*, 2000, 130(7): 1772–1779.
- [11] LU Y, LEVIN G V, DONNER T W. Tagatose, a new antidiabetic and obesity control drug [J]. *Diabetes, Obesity & Metabolism*, 2008, 10(2): 109–134.
- [12] DONNER T W, WILBER J F, OSTROWSKI D. D-tagatose, a novel hexose; acute effects on carbohydrate tolerance in subjects with and without type 2 diabetes [J]. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 1999, 1(5): 285–291.
- [13] ENSOR M, WILLIAMS J, SMITH R, et al. Effects of three low-doses of D-tagatose on glycemic control over six months in subjects with mild type 2 diabetes mellitus under control with diet and exercise [J]. *Journal of Endocrinology, Diabetes & Obesity*, 2014, 2(4): 1057.
- [14] AGIUS L. The physiological role of glucokinase binding and translocation in hepatocytes [J]. *Advances in Enzyme Regulation*, 1998, 38(1): 303–331.
- [15] SEOANE J, GÓMEZ-FOIX A M, O'DOHERTY R M, et al. Glucose 6-phosphate produced by glucokinase, but not hexokinase I, promotes the activation of hepatic glycogen synthase [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1996, 271(39): 23756–23760.
- [16] DONNER T W. The metabolic effects of dietary supplementation with D-tagatose in patients with type 2 diabetes [J]. *Diabetes*, 2006, 55: 110.
- [17] BUEMANN B, TOUBRO S, RABEN A, et al. The acute effect of D-tagatose on food intake in human subjects [J]. *British Journal of Nutrition*, 2000, 84(2): 227–231.
- [18] GIBSON G R, ROBERFROID M B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics [J]. *The Journal of Nutrition*, 1995, 125(6): 1401–1412.
- [19] LEITE A K F, SANTOS B N, FONTELES T V, et al. Cashew apple juice containing gluco-oligosaccharides, dextran, and tagatose promotes probiotic microbial growth [J]. *Food Bioscience*, 2021, 42: 101080.
- [20] MAYUMI S, KUBONIWA M, SAKANAKA A, et al. Potential of prebiotic D-tagatose for prevention of oral disease [J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2021, 11: 767944.
- [21] PATERNA J C, BOESS F, STÄUBLI A, et al. Antioxidant and cytoprotective properties of D-tagatose in cultured murine hepatocytes [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1998, 148(1): 117–125.
- [22] ROY S, CHIKKERUR J, ROY S C, et al. Tagatose as a potential nutraceutical: production, properties, biological roles, and applications [J]. *Journal of Food Science*, 2018, 83(11): 2699–2709.
- [23] BILAL M, IQBAL H M N, HU H B, et al. Metabolic engineering pathways for rare sugars biosynthesis, physiological functionalities, and applications: a review [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2018, 58(16): 2768–2778.
- [24] JAYAMUTHUNAGAI J, GAUTAM P, SRISOWMEYA G, et al. Biocatalytic production of D-tagatose; a potential rare sugar with versatile applications [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2017, 57(16): 3430–3437.
- [25] OH D K. Tagatose: properties, applications, and biotechnological processes [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2007, 76(1): 1–8.
- [26] IZUMORI K. Izumoring: a strategy for bioproduction of all hexoses [J]. *Journal of Biotechnology*, 2006, 124(4): 717–722.
- [27] MANZONI M, ROLLINI M, BERGOMI S. Biotransformation of D-galactitol to tagatose by acetic acid bacteria [J]. *Process Biochemistry*, 2001, 36(10): 971–977.
- [28] XU Y R, JI L Y, XU S, et al. Membrane-bound sorbitol dehydrogenase is responsible for the unique oxidation of D-galactitol to L-xylo-3-hexulose and D-tagatose in *Gluconobacter oxydans* [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 2023, 1867(2): 130289.
- [29] ZHANG Y, FAN Y L, HU H J, et al. D-Tagatose production by *Lactococcus lactis* NZ9000 cells harboring

- Lactobacillus plantarum* L-arabinose isomerase[J]. Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research, 2017, 51(2): 288–294.
- [30] 门燕, 朱玥明, 管于平, 等. 生物转化生产 D-塔格糖的食品级菌种选育及 L-阿拉伯糖异构酶的克隆表达[J]. 生物工程学报, 2012, 28(5): 592–601.
- MEN Y, ZHU Y M, GUAN Y P, et al. Screening of food-grade microorganisms for biotransformation of D-tagatose and cloning and expression of L-arabinose isomerase[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2012, 28(5): 592–601.
- [31] RAVIKUMAR Y, PONPANDIAN L N, ZHANG G Y, et al. Harnessing L-arabinose isomerase for biological production of D-tagatose: recent advances and its applications[J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 107: 16–30.
- [32] RAI S K, KAUR H, SINGH A, et al. Production of D-tagatose in packed bed reactor containing an immobilized L-arabinose isomerase on alginate support[J]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2021, 38: 102227.
- [33] RODIONOVA I A, SCOTT D A, GRISHIN N V, et al. Tagaturonate-fructuronate epimerase UxaE, a novel enzyme in the hexuronate catabolic network in *Thermotoga maritima* [J]. Environmental Microbiology, 2012, 14(11): 2920–2934.
- [34] SHIN K C, LEE T E, SEO M J, et al. Development of tagaturonate 3-epimerase into tagatose 4-epimerase with a biocatalytic route from fructose to tagatose[J]. ACS Catalysis, 2020, 10(20): 12212–12222.
- [35] LEE S H, HONG S H, KIM K R, et al. High-yield production of pure tagatose from fructose by a three-step enzymatic cascade reaction[J]. Biotechnology Letters, 2017, 39(8): 1141–1148.
- [36] 代艺伟. 多酶催化体系转化麦芽糊精合成 D-塔格糖的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2021.
- DAI Y W. Biosynthesis of D-tagatose from maltodextrin by multi-enzyme catalytic system[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2021.
- [37] YOSHIHARA K, SHINOHARA Y, HIROTSU T, et al. Bioconversion of D-psicose to D-tagatose and D-talitol by *Mucoraceae* fungi[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2006, 101(3): 219–222.
- [38] HU M K, WEI Y X, ZHANG R Z, et al. Efficient D-allulose synthesis under acidic conditions by auto-inducing expression of the tandem D-allulose 3-epimerase genes in *Bacillus subtilis*[J]. Microbial Cell Factories, 2022, 21(1): 63.
- [39] 李志月, 张显, 饶志明, 等. β -半乳糖苷酶和阿拉伯糖异构酶共表达一步法催化乳糖到塔格糖[J]. 微生物学报, 2021, 61(9): 2907–2920.
- LI Z Y, ZHANG X, RAO Z M, et al. One-step synthesis of lactose to tagatose by co-expressing β -galactosidase and arabinose isomerase[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2021, 61(9): 2907–2920.
- [40] 袁娇. 基于 β -半乳糖苷酶和 L-阿拉伯糖异构酶基因工程菌的构建与 D-塔格糖的生物合成[D]. 镇江: 江苏大学, 2021.
- YUAN J. Construction of genetic engineering strain using β -galactosidase and L-arabinose isomerase and biosynthesis of D-tagatose [D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2021.
- [41] 谢佳笑. 双酶耦合高值化利用乳清制备 D-塔格糖[D]. 南京: 南京林业大学, 2019.
- XIE J X. Valorization of whey to produce D-tagatose using a double enzyme coupling system[D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2019.
- [42] 张留权. 联合 β -半乳糖苷酶和 L-阿拉伯糖异构酶酶法合成 D-塔格糖的研究[D]. 上海: 华东理工大学, 2012.
- ZHANG L Q. Enzymatic synthesis of D-tagatose from lactose with the combination of β -galactosidase and L-arabinose isomerase[D]. Shanghai: East China University of Science and Technology, 2012.
- [43] ZHANG X A, LU R Q, WANG Q A, et al. Production of D-tagatose by whole-cell conversion of recombinant *Bacillus subtilis* in the absence of antibiotics [J]. Biology, 2021, 10(12): 1343.
- [44] ZHANG S S, GUO T T, XIN Y P, et al. Biotechnological production of D-tagatose from lactose using metabolically engineering *Lactiplantibacillus plantarum* [J]. LWT-Food Science and Technology, 2021, 142: 110995.
- [45] ZHANG G Y, ZABED H M, YUN J H, et al. Two-stage biosynthesis of D-tagatose from milk whey powder by an engineered *Escherichia coli* strain expressing L-arabinose isomerase from *Lactobacillus plantarum* [J]. Bioresource Technology, 2020, 305: 123010.
- [46] XU Z, XU Z X, TANG B, et al. Construction and co-expression of polycistronic plasmids encoding thermophilic L-arabinose isomerase and hyperthermophilic β -galactosidase for single-step production of D-tagatose [J]. Biochemical Engineering Journal, 2016, 109: 28–34.
- [47] ZHAN Y J, XU Z, LI S, et al. Coexpression of β -D-

- galactosidase and L-arabinose isomerase in the production of D-tagatose; a functional sweetener[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62(11): 2412–2417.
- [48] ZHENG Z J, XIE J X, LIU P, et al. Elegant and efficient biotransformation for dual production of D-tagatose and bioethanol from cheese whey powder[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(3): 829–835.
- [49] DAI Y W, LI C C, ZHENG L H, et al. Enhanced biosynthesis of D-tagatose from maltodextrin through modular pathway engineering of recombinant *Escherichia coli* [J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2022, 178: 108303.
- [50] HAN P P, WANG X Y, LI Y J, et al. Synthesis of a healthy sweetener D-tagatose from starch catalyzed by semiautomatic cell factories[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2023, 71(8): 3813–3820.

Research Progress on Physiological Activity and Biosynthesis of D-Tagatose

LI Zijie, SHEN Liqun, FEI Kangqing, CHEN Zhou, NAKANISHI Hideki
(*School of Biotechnology/Key Laboratory of Carbohydrate Chemistry and Biotechnology,
Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China*)

Abstract: D-Tagatose is an important rare ketohexose. Its sweetness is 92% of sucrose, and its calories are only one third of sucrose. D-Tagatose was approved as a new raw material for safe food by the America's Food and Drug Administration and China's Health and Family Planning Commission in 2001 and 2014, respectively. D-Tagatose has the functions of lowering blood sugar, reducing obesity, improving gut microbiota, anti-caries, anti-oxidation and so on. D-tagatose, as an ideal functional sweetener, has extensive application value. However, the production cost and yield of D-tagatose have always been an important reason limiting the development and application of D-tagatose. The methods for D-tagatose synthesis mainly include chemical route and biological conversion. Although it is cost-effective to produce D-tagatose by chemical approach, it requires high temperature and pressure in the production process, and is easy to generate miscellaneous sugars such as sorbose and mannose, which is not conducive to separation and purification. In order to overcome these shortcomings, the biological conversion of D-tagatose has received extensive attention. Therefore, the research progress, advantages and disadvantages of D-tagatose biosynthesis from different substrates such as hexoses (galactitol, D-galactose and D-fructose), lactose, polysaccharide (maltodextrin and starch) were systematically reviewed, and the research trends in the future were also prospected, which provided reference for the research and production of D-tagatose.

Keywords: D-tagatose; physiological function; L-arabinose isomerase; lactose; biological conversion

(责任编辑:李 宁)