

产 β 环状糊精葡萄糖基转移酶高产菌株 XW- 6- 66 发酵条件和酶学性质的研究

孟艳芬, 许 波, 高润池, 唐湘华, 杨云娟, 黄遵锡

(生物能源持续开发利用教育部工程研究中心, 云南师范大学酶工程重点实验室, 云南师范大学生命科学院, 云南 昆明 650092)

摘 要: 以一株 β 环状糊精葡萄糖基转移酶高产菌株 XW- 6- 66 为研究对象, 对其发酵条件及酶学特性进行了初步研究。该酶的最适反应温度为 70 °C, 最适反应 pH 为 9.0, 酶学特性非常适合于环状糊精的工业化生产。对该菌发酵培养基的碳源、氮源及 pH 进行了单因子分析, 采用 3 个因素正交实验确定该菌的最佳发酵培养基配方为: 0.3 %可溶性淀粉, 1.0 %牛肉浸膏, 1 %蛋白胨, 0.2 % Na_2CO_3 , 0.13 % $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, 0.02 % $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, pH 为 9.0。在该条件下, 菌株 XW- 6- 66 产 β CGTase 的酶活由优化前 2173.33 u/mL 提高到 3622.94 u/mL。

关键词: 环状糊精葡萄糖基转移酶; β 环状糊精; 酶学性质; 发酵条件; 优化

中图分类号: Q55; Q93- 3; TQ920

文献标识码: A

文章编号: 1001- 9286(2008)09- 0030- 06

Research on Enzymatic Properties and Fermentation Conditions of High- yield Strain XW- 6- 66 of Producing β - Cyclodextrin Glucanotransferase

MENG Yan-fen, XU Bo, GAO Run-chi, TANG Xiang-hua, YANG Yun-juan and HUANG Zun-xi

(Key Lab of Enzymatic Engineering in Yunnan Normal University, Life Science School of Yunnan
Normal University, Kunming, Yunnan 650092, China)

Abstract: A high-yield strain XW-6-66 of producing β -cyclodextrin glucanotransferase was studied in this paper. Its fermentation conditions and its enzymatic properties were investigated. The best reaction temperature and reaction pH value for such enzyme were 70 °C and 9.0 respectively. Its enzymatic properties were suitable for industrialized production of cyclodextrin glucanotransferase. In addition, one factor analysis of carbon source, nitrogen source and pH of the fermentation medium of such strain were carried out, and orthogonal experiments of three factors were done to determine the optimum fermentation medium as follows: 0.3 % soluble starch, 1.0 % beef extract, 1 % tryptone, 0.2 % Na_2CO_3 , 0.13 % $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, 0.02 % $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, and pH=9.0. Under the above conditions, enzyme activity of β -CGTase increased from 2173.33 u/mL (before the optimization) to 3622.94 u/mL.

Key words: cyclodextrin glucanotransferase; β -cyclodextrin; enzymatic properties; fermentation conditions; optimization

环状糊精葡萄糖基转移酶 (简称 CGTase, E.C. 2.4.1.19)也叫环麦芽糖糊精葡萄糖基转移酶,属于 α 淀粉酶家族^[1],可用于环状糊精(简称 CD)的生产^[2],还可用于一些糖类和配糖物的化学改性^[3~4],该酶最主要的特征是形成环状产物-环状糊精。环状糊精(简称 CD)是由 D-吡喃葡萄糖基以 α 1,4 葡萄糖苷键连接成的环状低聚糖。根据葡萄糖基数目不同,CD 混合物一般分为 α 环状糊精、 β 环状糊精、 γ 环状糊精、 δ 环状糊精、 ϵ 环状糊精、 ζ 环状糊精及 η 环状糊精,分别由 6、7、8、9、10、11 及 12 个葡萄糖单元组成,由环状糊精葡萄糖基转移酶作用于淀粉而产生。其中研究最多、应用最广的

是由 6、7、8 个葡萄糖单元组成的环状糊精,分别称为 α 环状糊精、 β 环状糊精、 γ 环状糊精^[5]。目前,以 β 环状糊精使用效果最佳,经济合算,这是由于 β 环状糊精的中空圆柱半径适中,又具有与淀粉或糊精一样的安全性,各方面性能最为良好,它的开发应用最引人注目。

由于 β 环状糊精的外表面亲水,内腔疏水,具有特殊的理化性质,可将许多化学物质包结在其环形空隙里,从而改变这些被包结物质的溶解度、挥发性及化学反应性能等理化性质,因而 β CD 在食品、化妆品、医药以及分析化验等诸多领域有着广泛的应用^[6]。

研究报道^[7],多种细菌可产生 CGTase,但菌株的糊

基金项目:云南省自然科学基金 no.2005C0018Q;云南省应用基金重点项目 no.2006C0004Z。

收稿日期:2008-06-30

作者简介:孟艳芬(1978-),女,云南宣威人,在职研究生,主要从事微生物酶工程研究。

通讯作者:许波, Tel: 86-0871-5847822; Fax: 86-0871-5847822; E-mail: xubol28028@163.com

精化酶活性一般在 1800 u/mL 左右, 有的甚至更低, 只有 892.86 u/mL^[8], 菌株所产 CGTase 的最适反应温度为 40~65 °C, pH 稳定性较差。然而, 在使用 CGTase 催化淀粉生产 CD 的过程中, 高温 (85~90 °C) 和强碱 (pH 8.5) 是不可缺少的反应条件, 因此, 多数 CGTase 都没有商业化价值, 这也正是导致环状糊精的扩大生产和应用受到限制的主要原因之一。目前, 环状糊精葡萄糖基转移酶研究中存在的主要问题是发酵产酶水平偏低, 酶的热稳定性较差, 而且酶的应用性研究工作较为薄弱。因此, 为了开发具有较强的耐热性、耐碱性、适合工业化生产的 CGTase, 本研究以一株产 β -CGTase 为主的菌株 *Bacillus* sp XW-6-66 为研究对象, 通过对其酶学特性和发酵条件研究表明, 该菌株对产生 β -CGTase 具有高产、耐热和耐碱特性, 在工业上具有广阔的实际应用前景。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 菌种

本实验室所筛选到的 β -CGTase 高产菌株 *Bacillus* sp XW-6-66。

1.1.2 培养基

菌种分离及筛选培养基为: 1%可溶性淀粉, 0.5%酵母膏, 1%蛋白胨, 1%Na₂CO₃, 0.13%K₂HPO₄·3H₂O, 0.02%MgSO₄·7H₂O, 酚酞 0.03%, 2%琼脂, 100 mL 蒸馏水。

发酵培养基: 1%可溶性淀粉, 0.5%酵母膏, 1%蛋白胨, 0.5%Na₂CO₃, 0.13%K₂HPO₄·3H₂O, 0.02%MgSO₄·7H₂O, 酚酞 0.03%, 100 mL 蒸馏水。

1.1.3 主要仪器

722S 型可见分光光度计, YPW-I 型迂回转式恒温调速摇瓶柜, 离心机, 精密 pH 仪, 水浴锅, 电炉, 电子天平, 超净工作台。

1.2 方法

1.2.1 发酵方法

用接种环挑取少量菌种于酚酞变色固体培养基中, 37 °C 恒温培养箱中培养 24 h, 从上述培养基中挑取适量的菌体接种到装有 20 mL 液体发酵培养基的 100 mL 的三角瓶中, 置于 VPL-I 型迂回转式恒温调速摇瓶柜中以 37 °C、170 r/min 摇瓶培养过夜, 然后以 7% 的接种量转接到装有 40 mL 发酵培养基的 250 mL 的三角瓶中, 置 YPW-I 型迂回转式恒温调速摇瓶柜中以 37 °C、170 r/min 培养 72 h。

1.2.2 酶液制备

发酵液以 10000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 即为

粗酶液。

1.2.3 酶活测定-蓝值法^[9]

1.2.4 酶活测定步骤^[10]

取 0.01 mL 适当稀释的酶液, 加 0.2 mL 0.2 M 的 Gly- NaOH 缓冲液 (pH 9.0), 于 40 °C 水浴锅中预热 5 min, 再加溶解的 0.2% 马铃薯淀粉溶液 0.2 mL, 40 °C 反应 10 min, 加 0.5 M 冰醋酸 0.5 mL 终止反应, 加 3 mL 0.005% 碘溶液显色, 以不加淀粉溶液的反应液作空白, 以不加酶液为对照, 在 700 nm 处测定吸光度 (OD 值)。

1.2.5 酶活定义

一个活力单位定义为蓝值下降 10% 所需的酶量。

1.2.6 酶活计算公式

$u(\text{单位})/\text{mL}(\text{酶液}) = (a - b) / a \times 1000 \times \text{稀释倍数}$

其中, a 为对照组 OD 值, b 为样品 OD 值。

1.3 单因素发酵条件的确定

1.3.1 碳源对酶活的影响

1.3.1.1 不同碳源对酶活的影响

选择玉米粉、可溶性淀粉、糊精、马铃薯淀粉、木薯粉、菊芋粉作为碳源, 在不含碳源的发酵培养基上分别添加 1% 的上述几种碳源, 37 °C、170 r/min 培养 72 h, 用蓝值法于 700 nm 测定 OD 值, 接种量为 7%。

1.3.1.2 碳源单因素分析

选择酶活高且价格低廉的碳源——可溶性淀粉, 在不含碳源的发酵培养基上分别添加 0.3%、0.6%、0.9%、1.2%、1.5%、1.8% 的可溶性淀粉, 37 °C、170 r/min 培养 72 h, 700 nm 处测定 OD 值, 接种量为 7%。

1.3.2 氮源对酶活的影响

1.3.2.1 不同氮源对酶活的影响

选择蛋白胨、酵母膏、黄豆粉、牛肉浸膏、KNO₃、NaNO₃、NH₄NO₃、(NH₄)₂SO₄、NH₄Cl 作为氮源, 在含有机氮源 (添加蛋白胨可以从整体上提高酶活) 的发酵培养基上分别添加 1% 的以上几种氮源, 37 °C、170 r/min 培养 72 h, 700 nm 处测定 OD 值, 接种量为 7%。

1.3.2.2 氮源的单因子分析

为了确定牛肉浸膏的最佳添加量, 在基础培养基中添加不同含量的牛肉浸膏, 37 °C、170 r/min 培养 72 h, 700 nm 处测定 OD 值, 接种量为 7%。

1.3.3 培养基 pH 对酶活的影响

先用灭菌过的不同 pH 值的 Na₂HPO₄- 柠檬酸缓冲液, 将发酵培养基调节到需要的 pH 值, 先用 pH 试纸初测, 然后在用 pH 计测精确 pH 值, 最后将菌种接入已调好 pH 值的液体发酵培养基中, 37 °C、170 r/min 培养 72 h, 700 nm 处测定 OD 值, 接种量为 7%。

1.3.4 不同接种量对酶活的影响

将新鲜培养的种子液分别以 1 %、2 %、3 %、4 %、5 %、6 %、7 %、8 % 的接种量接种于发酵培养基中, 37 °C、170 r/min 培养 72 h, 700 nm 处测定酶活力。

1.3.5 装液量对菌株产酶的影响

在 250 mL 三角瓶中装入不等量的液体发酵培养, 37 °C、170 r/min 培养 72 h, 700 nm 处测定 OD 值, 接种量为 7 %。

1.4 Bacillus XW- 6- 66 发酵条件的优化实验

根据单因素的实验结果, 设计了 3 水平 3 因素的正交实验因素表(表 1)。以 7 % 的接种量接种菌株于发酵培养基中, 于 37 °C、170 r/min 培养 72 h, 700 nm 处测定 OD 值, 计算酶活。

水平	A 碳源(%)	B 氮源(%)	C pH
1	0.3	0.5	8.5
2	0.6	1.0	9.0
3	0.9	1.5	9.5

2 结果与分析

2.1 菌株 XW- 6- 66 的发酵条件的研究

发酵工艺条件的最优化是保证优良菌株性能得到充分发挥, 获得较高酶产量的保证。因此, 本研究对 XW- 6- 66 菌株进行发酵条件的优化, 采用正交法筛选出最佳发酵条件, 以期进一步提高酶活。

2.1.1 碳源对酶活的影响

2.1.1.1 不同碳源对酶活的影响

碳源在酶制剂生产中具有重要作用, 一方面是构成菌体、合成酶的碳架以及微生物代谢中能量的主要来源, 另一方面它对微生物产酶往往具有诱导或阻遏作用。因此, 对微生物产酶具有重要影响。结果见表 2。

碳源	浓度(%)	酶活力(u/mL)
玉米粉	1.0	1494.14
可溶性淀粉	1.0	2321.63
糊精	1.0	1906.09
马铃薯淀粉	1.0	1673.47
木薯粉	1.0	2133.45
菊芋粉	1.0	809.46

由表 2 可以看出, 菌株 XW- 6- 66 对可溶性淀粉的利用效果最好, 而且从工业化生产降低成本的角度考虑, 可溶性淀粉也是较好的碳源。

2.1.1.2 碳源单因子分析(表 3)

从表 3 可以看出, 当可溶性淀粉含量为 0.3 % 时, β -CGTase 的活性最高。

2.1.2 氮源对酶活的影响

可溶性淀粉浓度(%)	酶活(u/mL)	可溶性淀粉浓度(%)	酶活(u/mL)
0.3	1996.97	1.2	1088.65
0.6	1555.75	1.5	913.76
0.9	1130.55	1.8	897.64

2.1.2.1 不同氮源对酶活的影响(表 4)

氮源	浓度(%)	酶活力(u/mL)
KNO ₃	1.0	1553.32
NaNO ₃	1.0	1589.29
NH ₄ NO ₃	1.0	1655.72
(NH ₄) ₂ SO ₄	1.0	972.22
NH ₄ Cl	1.0	1254.28
蛋白胨	1.0	1828.09
酵母膏	1.0	1897.46
黄豆粉	1.0	1721.21
牛肉浸膏	1.0	2179.50

氮源是组成微生物细胞蛋白质、酶和核酸的主要元素, 是影响 β -CGTase 产量的另一个重要因素。

由表 4 可知, 菌株能利用无机氮化合物, 但 β -CGTase 在这些营养素组成的培养基中产量相对较低, 牛肉浸膏是最合适的氮源。

2.1.2.2 氮源的单因子分析(表 5)

牛肉浸膏浓度(%)	酶活(u/mL)	牛肉浸膏浓度(%)	酶活(u/mL)
0.5	1667.46	2.0	1505.34
1.0	1724.91	2.5	1375.02
1.5	1634.73	3.0	1123.44

从表 5 可知, 当牛肉浸膏浓度为 1.0 % 时, β -CGTase 的活性最高。

2.2 发酵工艺条件对产酶的影响

2.2.1 培养基初始 pH 对菌株产 β -CGTase 的影响(见图 1)

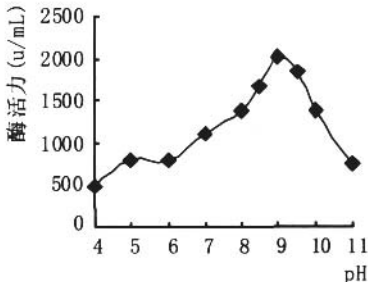
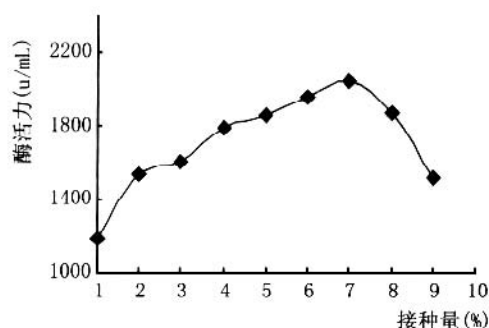


图 1 初始 pH 对菌株产 β -CGTase 的影响

从图 1 可知, 菌株在 pH7.0 以下, 生长速度较慢, 在 pH7.0~10.0 之间, 不仅生长速度快, 而且产酶量也高, 当培养基初始 pH 为 9.0 时, 产酶量达到高峰。

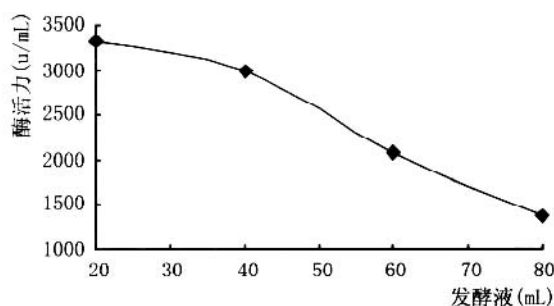
2.2.2 接种量对菌株产酶的影响(图 2)

图 2 接种量对菌株产 β -CGTase 的影响

由图 2 可知, 随接种量的增加, 有利于菌体生长, 产酶活力也随之增加, 但当酶活力达到高峰后, 继续增加接种量, 酶活力开始下降, 酶活最高时的接种量为 7%。

2.2.3 装液量对菌株产酶的影响

在 250 mL 三角瓶中装入不等量的发酵液, 在其他条件相同的情况下进行产酶试验, 发现装液量对酶产量的影响较大, 结果如图 3 所示。随着装液量逐渐增大, 菌株产酶活力逐渐降低; 装液量越少, 酶活力越高。这主要是因为该芽胞杆菌是好氧菌, 当装液量较少时, 体系中供氧充足, 溶解氧的增加更有利于菌体生长, 从而也提高了菌株的产酶活力。

图 3 装液量对菌株产 β -CGTase 的影响

2.3 发酵条件优化实验结果

根据单因素实验结果, 对影响 β -CGTase 酶活的碳源、氮源和 pH 3 个因素按不同浓度进行优化, 正交实验结果见表 6。

极差值的大小可以反应各因素对指标影响的程度, 根据表 6 的极差分析, 排列出试验因子的主次顺序如下: A(碳源) > C(pH) > B(氮源)。且因素 A 以第 1 水平最好, 因素 B 以第 2 水平最好, 因素 C 以第 2 水平最好, 因此最优水平搭配为 $A_1B_2C_2$, 即 0.3% 的可溶性淀粉、1.0% 的牛肉浸膏、pH 为 9.0 时酶活最高, 且可溶性淀粉是影响酶活的最主要因素。

2.4 正交实验结果验证

按照正交实验所得的最佳发酵条件: 0.3% 可溶性淀粉, 1.0% 牛肉浸膏, 1% 蛋白胨, 0.2% 无水

表 6 正交试验结果

实验号	A	B	C	酶活 (u/mL)
1	1	1	1	3407.80
2	1	2	2	3708.13
3	1	3	3	3371.11
4	2	1	2	2523.93
5	2	2	3	2078.49
6	2	3	1	2601.38
7	3	1	3	2806.61
8	3	2	1	3167.59
9	3	3	2	2669.12
K_1	10487.04	8738.34	9176.77	$T=26334.16$
K_2	7203.8	8954.21	8901.18	$X=2926.02$
K_3	8643.32	8641.61	8256.21	
k_1	3495.68	2912.78	3058.92	
k_2	2401.27	2984.74	2967.06	
k_3	2881.21	2880.54	2752.07	
R	1094.41	104.00	306.85	

Na_2CO_3 , 0.13% $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$, 0.02% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, pH 为 9.0。按照此配比, 按 1.2.1 叙述的方法进行 5 个批次的发酵, 测定发酵液酶活, 以对正交实验结果进行验证。结果见表 7。

表 7 正交实验验证结果

实验批次	酶活 (u/mL)	平均数
1	3574.5	3622.94
2	3502.84	
3	3663.16	
4	3475.64	
5	3718.68	

2.5 发酵条件优化结果与初始发酵条件结果对照

按照优化的最佳发酵条件培养菌株 XW-6-66 和以初始发酵条件培养时, 所得到的 β -CGTase 酶活的对照结果见表 8。

表 8 初始发酵结果与优化发酵结果对照

项目	初始发酵条件	优化条件
碳源 (%)	可溶性淀粉 1	可溶性淀粉 0.3
氮源 (%)	酵母膏 0.5	牛肉浸膏 1.0
pH	7.0	9.0
酶活 (u/mL)	2173.33	3622.94

从表 8 的结果可以看出, 菌株 XW-6-66 所产生的 β -CGTase 酶活由优化前的 2173.33 u/mL 提高到 3622.94 u/mL。

2.6 菌株 XW-6-66 的粗酶酶学性质

2.6.1 温度对酶活力及其稳定性的影响

将酶液分别在不同温度下测定酶活力, 酶的最适反应温度为 70℃, 此时的酶活最高。此外, 将酶液在不同温度下保温 60 min 后, 在 70℃ 下测定酶活力(图 4), 结果表明, 该酶在 70℃ 以下水浴保温 60 min 后酶活仍然

可保持在 90 %以上;超过 70 °C以后,酶活逐渐降低。可以看出菌株 XW- 6- 66 在 70 °C条件下有极好的耐热性,可以满足 β -CD 在工业生产中温度的要求。

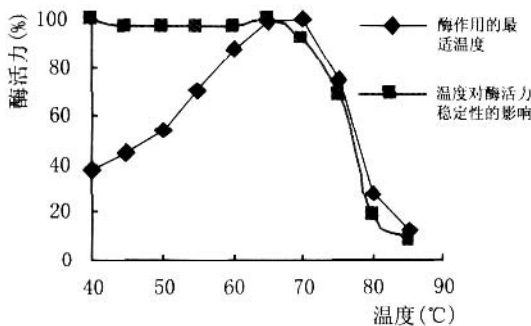


图 4 温度对酶活力及稳定性的影响

2.6.2 pH 对酶活力及其稳定性的影响

在 pH4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、8.5、9.0、9.5、10.0、10.5、11.0 条件下按常规方法测定酶活力,作出酶活力曲线,酶作用的最适 pH 为 9.0,可见该酶是一种碱性 β -CGTase。将酶液与上述不同 pH 缓冲液混合,于 40 °C保温 60 min 后,70 °C测定残余酶活力(图 5),酶稳定 pH 范围较广,在 pH7.0~10.0 均稳定,残余酶活均保留在 80 %以上。

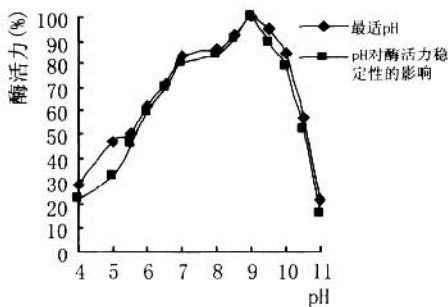


图 5 pH 对酶活力及稳定性的影响

2.6.3 金属离子及 EDTA 对酶活力的影响

在酶液中分别添加各种金属离子和 EDTA (1×10^{-2} M),40 °C保温 60 min 后,以不加金属离子和 EDTA 为

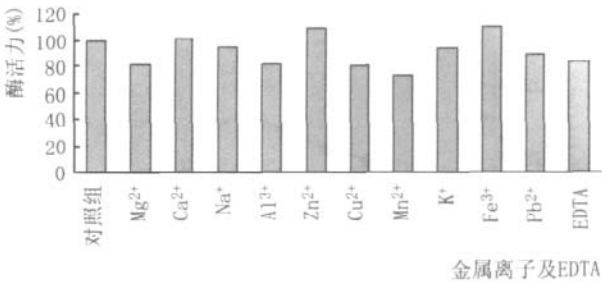


图 6 金属离子及 EDTA 对酶活力的影响

对照(对照组酶活力记为 100 %),然后按常规方法测定酶活力,结果如图 6 所示,金属离子 Ca^{2+} 、 Na^{+} 、 Zn^{2+} 、 K^{+} 、 Pb^{2+} 等对酶活影响较小,金属离子 Zn^{2+} 、 Fe^{3+} 对酶液的活性有一定的促进作用,而 Mg^{2+} 、 Al^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Mn^{2+} 以及 EDTA 对酶活有一定的抑制作用。

3 结论

Bacillus sp XW- 6- 66 是本实验室从土壤中分离纯化的一株 β -CGTase 高产菌株,本实验通过单因素发酵条件实验和正交实验的方法获得了实验室条件下的最佳发酵条件:0.3 %可溶性淀粉,1.0 %牛肉浸膏,1 %蛋白胨,0.2 %无水 Na_2CO_3 ,0.13 % $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$,0.02 % $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$,pH 为 9.0,使 β -CGTase 的酶活由优化前的 2173.33 u/mL 提高到 3622.94 u/mL,大幅度提高酶活单位,为 β -CGTase 应用于实际发酵生产奠定了基础。此外,还对该菌株粗酶的酶学性质进行了研究,结果表明,该酶的最适反应温度为 70 °C,最适反应 pH 为 9.0,与其他来源的 CGTase 相比较(见表 9),菌株 Bacillus sp XW- 6- 66 所产的 CGTase 耐热性能良好,在高温条件下仍可保持较高的酶活,兼具高产、耐热、耐碱的特点,酶学性质非常适合于 CD 的工业生产,具有广阔的实际应用前景。

参考文献:

[1] Qingsheng Qi,Wolfgang Zimmernann.from gene to applications[J].Microbiol Biotechnol,2005,(66): 475- 485.

表 9 不同来源 CGTase 的性质

菌种	分子量(kDa)	最适 pH	pH 稳定范围	最适温度(°C)	温度耐受性	参考文献
<i>B. megaterium</i>	75	5.0~5.7	7.0~10.0	55	55	[11]
<i>Alkaliphilic B. sp.</i> ATCC21783	85~88	8.0~9.0	6.0~9.0	50	60	[12]
<i>B. coagulans</i> A-147	ND	6.5	6.0~9.0	65	50	[13]
<i>B. coagulans</i>	36	6.5	5.0~10.0	—	65	[14]
<i>B. lentus</i>	33	6.5~7.5	6.5~8.0	45~55	55	[15]
<i>B. circulans</i> DF9R	78	5.5	6.5~8.5	60	—	[16]
<i>B. firmus</i>	ND	7.5~8.5	6.5~9.0	65	55	[17]
<i>Bacillus halophilus sp.</i> 7-12	ND	5.0	6.0~10.0	60	70	[18]
<i>Bacillus licheniformis</i> CLS403	ND	6.0	6.0	55	55	[19]
<i>Bacillus</i> LZ-10	ND	9.0	9.0	65	60	[8]
<i>Bacillus</i> XW-6-66	ND	9.0	7.0~10	70	70	本论文

注: ND 表示没确定。

- [2] Tonkova A. Bacterial cyclodextrin glucanotransferase [J]. Enzyme and Microbial technology, 1998, 22(8): 678- 686.
- [3] Park D C kim T K, lee Y H. Characterise of transglycosylation reaction of cyclodextrin glucanotransferase in the heterogeneous enzyme reaction system using extrusion starch as a glucosyl donor [J]. Enzyme and microbial technology, 1998, (22): 217- 222.
- [4] Martin M T, Cruces M A, Alcalde M, et al. Synthesis of maltoligosyl fructofuranosides catalyzed by immobilized cyclodextrin glucosyltransferase using starch as donor [J]. Tetrahedron, 2004, (60): 529 - 534.
- [5] 二国二郎, 王微音, 等译. 淀粉科学手册 [M]. 北京: 轻工业出版社, 1990.
- [6] 王雁萍, 谈重芳, 等. Bacillus sp 产环状糊精葡萄糖基转移酶发酵工艺研究 [J]. 食品与发酵工业, 2006, (32): 2.
- [7] 许波, 黄遵锡, 陈宝英, 等. 环状糊精葡萄糖基转移酶的研究进展 [J]. 食品科学, 2007, 28(11): 602.
- [8] 刘海燕, 许波, 黄遵锡, 等. 产环状糊精葡萄糖基转移酶菌株发酵条件和部分酶学性质的研究 [J]. 食品工业科技, 2006, (10): 66- 69.
- [9] 曹新志. 环状糊精葡萄糖基转移酶产生菌株的快速筛选 [J]. 中国粮油学报, 2003, (12): 53- 55.
- [10] 张树政. 酶制剂工业 [M]. 北京: 科学出版社, 1984. 548- 549.
- [11] Kitahata S, Tsuyama N, Okada S. Purification and some properties of cyclodextrin glycosyltransferase from a strain of Bacillus species [J]. Agric Biol Chem, 1974, (38): 387- 393.
- [12] Nakamura N, Horikoshi K. Purification and properties of neutral cyclodextrin glycosyltransferase of an alkalophilic Bacillus sp [J]. Agric Biol Chem, 1976, (40): 1785- 1791.
- [13] Kaneko T, Yoshida M, et al. Production of cyclodextrins by simultaneous actions of two CGTases from three strains of Bacillus [J]. Starch, 1990, (42): 277- 281.
- [14] Akimaru K, Yagi T, et al. Purification and properties of Bacillus coagulans cyclomalto-dextrin glucanotransferase [J]. J. Ferment Bioeng, 1991, (71): 322- 328.
- [15] Sabioni JG, Park YK. Cyclodextrin glycosyltransferase production by alkalophilic Bacillus lentus [J]. Rev Microbiol, 1992, (23): 128- 132.
- [16] Marechal LR, Rosso AM, et al. Some properties of a cyclomalto-dextrin-glucanotransferase from Bacillus circulans DF 9 R type [J]. Cell Mol Biol, 1996, (42): 659- 664.
- [17] Yim DG, Sato HH, et al. Production of cyclodextrin from starch by cyclodextrin glycosyltransferase from Bacillus firmus and characterization of purified enzyme [J]. J. Ind Microbiol Biotechnol, 1997, (18): 402- 405.
- [18] 曹新志, 金征宇. 环状糊精葡萄糖基转移酶的分离纯化及性质 [J]. 食品科学, 2004, 25(4): 19- 22.
- [19] 陈龙然, 袁康培, 冯光明, 等. 一株产环状糊精葡萄糖基转移酶的地衣芽孢杆菌的选育、产酶条件及酶学特性 [J]. 微生物学报, 2005, 45(1): 97- 101.

中国玉泉浓酱兼香型白酒发展研讨会在冰城召开

本刊讯: “中国玉泉浓酱兼香型白酒发展研讨会”于2008年8月26日在冰城哈尔滨市召开。本次研讨会由黑龙江酒业协会和华夏酒报社共同主办, 黑龙江酒业协会会长栗永清主持浓酱兼香型玉泉低度白酒专家品鉴会, 《华夏酒报》主编刘世松主持研讨会。中国酿酒工业协会理事长王延才、中国酿酒工业协会白酒分会秘书长赵建华、副秘书长宋书玉, 著名白酒专家沈怡方、高景炎、高月明、白希智、姜祖模、栗永清, 中科院成都生物所庄名扬教授, 中国食品发酵工业研究院副院长熊正和, 江南大学生物工程学院徐岩教授, 黑龙江白酒专家赵志昌以及国家白酒评委高军、栗伟、何志远、佟成等参加了此次研讨会。业内主流媒体《华夏酒报》、《酿酒科技》、《酿酒》等的负责人参加了此次研讨会。

会上, 玉泉酒业有限责任公司总经理张庆毅作了关于玉泉酒业历史和发展的报告。与会领导和专家品鉴了玉泉酒业新推出的玉泉方瓶浓酱兼香 32 %vol、浓酱兼香 36 %vol、浓酱兼香 32 %vol (加冰)、浓酱兼香 36 %vol (加水) 酒, 专家一致认为, 作为浓酱兼香代表酒的玉泉酒, 玉泉方瓶浓酱兼香 32 %vol 无色清亮透明, 浓酱香气馥郁, 绵甜柔和, 协调顺畅, 爽净余香, 浓酱兼香风格突出; 玉泉方瓶浓酱兼香 36 %vol 无色清亮透明, 浓酱香气舒适幽雅, 绵甜甘爽, 诸味协调, 余香尾净, 浓酱兼香风格突出; 玉泉方瓶浓酱兼香 32 %vol (加冰) 无色清亮透明, 浓酱香气馥郁, 柔和舒适, 绵甜突出, 协调顺畅, 爽净余香, 浓酱兼香风格突出, 加冰后不浑浊, 香气口味无明显变化, 绵甜突出, 酒体完整; 玉泉方瓶浓酱兼香 36 %vol (加水) 无色清亮透明, 浓酱香气舒适幽雅, 入口柔顺, 醇甜爽净, 诸味协调, 回味余香, 浓酱兼香风格突出, 加水后不浑浊, 香气口味无明显变化, 醇甜突出, 酒体完整。

新推出的低度浓酱兼香玉泉酒, 加冰、加水不失光, 不浑浊, 口味淡雅, 引领了浓酱兼香型白酒创新的潮流。

与会专家还对浓酱兼香型白酒 30 多年的发展成果进行了总结, 徐岩教授、庄名扬教授、著名白酒专家沈怡方、高景炎、高月明、白希智、姜祖模、栗永清、黑龙江白酒专家赵志昌等分别做了专题发言和论文交流。中国酿酒工业协会白酒分会秘书长赵建华讲话指出, 本次研讨会由黑龙江、山东、陕西三个协会的联合召开, 代表了兼香型白酒的发展区域, 还有科研单位和江南大学的领导到会, 层次非常高, 协会的三个领导同时到会也是少有的。本次会议控制规模小、档次高。今后, 白酒行业要逐步淡化香型, 朝个性化方向发展。中国酿酒工业协会理事长王延才指出, 在香型的引导下应进行探索, 要适应消费需求, 在香型下面拓展更广阔的空间。

与会专家还参观了玉泉酒业有限责任公司, 留下了深刻印象。(小雨)



中国玉泉浓酱兼香型白酒发展研讨会



玉泉低度白酒专家品鉴会