

# 一种产糖化酶高温菌的初筛方法

和致中 马俊 陈俊英 彭谦

(云南省微生物研究所,昆明)

在中温菌中筛选糖化酶产生菌已有成熟的方法,可是在高温菌中筛选糖化酶产生菌,国内尚无方法介绍。我们采用 O-TB 试剂法进行高温糖化酶产生菌的初筛,获得满意结果,现简述于后。

## 材 料 和 方 法

菌株:从云南省温泉(水温 45—74℃)分离到的原始菌株。

培养基:复合胨 0.3%,酵母浸膏 0.3%,氯化钠 0.5%,可溶性淀粉 0.2%,用蒸馏水溶化, pH7.4。试管分装,15 磅蒸汽灭菌 30 分钟。

试剂:葡萄糖(无水, C. P), 可溶性淀粉(C. P), O-TB 试剂<sup>[1]</sup>: 冰醋酸 883.2ml, 加入硫脲 1.5 g, 完全溶解后, 再加入邻甲苯胺 76.8 ml, 然后加入饱和硼酸溶液 40ml, 摇匀, 放入棕色瓶内贮存备用。

程序:将试验菌接种在上述培养基中, 在适当温度(50—65℃)培养 24 小时, 3000rpm 离心 30 分钟, 取上清液 2ml 移至 10 × 100mm 小试管中, 每管中加入 O-TB 试剂 1ml。另分别取 0.1% 葡萄糖溶液, 0.5% 可溶性淀粉和蒸馏水各 2ml 移至同等大小的试管中, 作阳性和阴性对照。再加入 O-TB 试剂 1ml。将加有 O-TB 试剂的试管放入沸水浴中加热 8 分钟, 观察呈色反应, 不呈色者为阴性, 呈色者为阳性。以葡萄糖管出现阳性, 可溶性淀粉和蒸馏水管为阴性者, 方能判定试验结果。

原理:糖化酶具有催化淀粉水解的能力, 从淀粉链的非还原端开始, 分解  $\alpha$ -1, 4 糖苷键而生成葡萄糖。葡萄糖溶液在酸性和加热条件

下脱水反应, 生成 5-羟甲基-2-呋喃甲醛, 再与 O-TB 试剂中的邻甲苯胺缩合成芳香族一级胺即青色的席夫氏 (Schiff) 碱。

## 结 果 与 讨 论

共进行了五批试验, 培养温度为 65℃ 的二批, 50℃ 的三批, 共筛选 148 株菌, 产糖化酶者 37 株, 结果见表 1。

表 1 O-TB 试剂法筛选糖化酶产生菌结果

菌株来源	菌株数	培养温度 (℃)	糖 化 酶	
			(-)	(+)
洱源县温泉	24	65	11	13
洱源县温泉	10	50	7	3
建水县温泉	15	65	10	5
石屏县温泉	5	65	1	4
曲靖县温泉	22	50	19	3
师宗县温泉	13	50	11	2
宜良县温泉	12	65	10	2
弥勒县温泉	28	50	25	3
兰坪县温泉	5	50	3	2
其它温泉	6	65	6	0
其它温泉	8	50	8	0
合计	148		111	37

O-TB 试剂法初筛为阳性 37 株菌, 经次亚碘酸法验证, 阳性 28 株, 符合率 76%, 阴性 9 株占 24%。出现上述不符合的原因可能是两种方法灵敏度的差异所致。O-TB 法灵敏度(可测 0.05—0.6mg)比次亚碘酸法(可测 1—6 mg)高 10—20 倍<sup>[2]</sup>。

O-TB 试剂法常用于测定体液内的葡萄

承中国科学院上海植物生理研究所焦瑞身先生审阅本文, 谨此致谢。

糖含量。作者考虑到 O-TB 试剂在酸性加热条件下与葡萄糖反应特异性高, 敏感性强的特点, 用来进行高温菌产糖化酶菌株的初筛, 获得满意结果。本法比较简易, 直观性强, 特别适用于大规模筛选。

## 参 考 文 献

- [ 1 ] 中山大学生物系生化微生物教研室: 生化技术导论, P.25—26, 人民教育出版社 1978。
- [ 2 ] 蔡武诚、袁厚积主编: 生物物质常用化学分析法, P. 9—12, 科学出版社, 1982。