

# 产 $\beta$ -淀粉酶菌株的筛选

郭蓍君 姜兆元 何秉旺

(中国科学院微生物研究所, 北京)

$\beta$ -淀粉酶水解淀粉是从淀粉分子的非还原性末端开始, 水解相隔的  $\alpha$ -1,4-葡萄糖苷键, 产生麦芽糖。 $\beta$ -淀粉酶最初发现在高等植物中<sup>[1]</sup>, 特别是大麦、小麦等谷物中。甘薯和大豆中也含有  $\beta$ -淀粉酶。该酶主要用于酿酒和生产饴糖。

近几年来, 国外有一些关于由微生物产

生  $\beta$ -淀粉酶的报道。微生物有巨大芽孢杆菌 (*Bacillus megaterium*) N-32<sup>[2]</sup>、多粘芽孢杆菌 (*B. polymyxa*)<sup>[3,4]</sup> 和蜡状芽孢杆菌 (*B. cereus*)<sup>[5,6]</sup> 等, 而国内尚未有过这方面的报道。我们为了在生产上用微生物产生的  $\beta$ -淀粉酶代替大麦芽, 进行了产该酶的微生物筛选。从 330 株芽孢杆菌中得到 9 株产  $\beta$ -淀粉酶的菌株。

## 一、菌株

由我所菌种保藏室和细菌室供给,共 330 株菌。

## 二、培养基

采用细菌研究中常规的肉汁斜面和液体培养基。

## 三、产 $\beta$ -淀粉酶菌株的筛选方法

### (一)菌株的初筛

1. 淀粉琼脂平板的制备: 用 1% (重量/体积) 的可溶性淀粉和 1.5% 的琼脂, 装入三角瓶中并加水, 灭菌后冷至 50—60℃, 制成平板。冷却凝固备用。

2. 产生淀粉酶菌株的筛选方法: 滤纸用打孔器 (直径 0.7 厘米) 打成圆纸片, 放入培养皿中进行灭菌后, 将滤纸片浸入发酵液中浸湿取出贴在淀粉琼脂平板上, 在 30℃ 温箱中保温 24 小时, 用 0.001N 碘液显色, 用水冲掉多余的碘液, 然后测量水解透明圈直径的大小, 有透明圈者说明是产生淀粉酶的菌株。

3. 用纸层析法确定产  $\beta$ -淀粉酶菌株: 1% 可溶性淀粉溶液 9.8 毫升, 加发酵液 0.2 毫升, 于 40℃ 恒温水浴反应 30 分钟, 取出在沸水浴中煮 10 分钟, 备纸层析用。纸层析展开剂为正丁醇: 吡啶: 水 = 6:4:3 (体积/体积), 上行二次。显色剂为苯胺-二苯胺; 以葡萄糖、麦芽糖和麦芽三糖为标准样品。

4.  $\beta$ -淀粉酶活力测定: 于 10 毫升试管中依次加入 2% 可溶性淀粉溶液 5 毫升, 0.2M pH6.8 的磷酸缓冲液 0.5 毫升, 蒸馏水 4.3 毫升, 在 40℃ 恒温水浴中预热 5 分钟, 加酶液 0.2 毫升, 使总体积为 10 毫升, 保温 30 分钟, 立即取出置沸水浴中加热 10 分钟, 冷却后用次亚碘酸法测定还原糖, 按麦芽糖计算。

在上述条件下, 酶水解 1% 可溶性淀粉, 在一小时产生 1 毫克麦芽糖的酶量为 1 个酶活力单位。

1. 菌株的初筛: 将 330 株菌用肉汁斜面培养基活化, 然后将活化后的菌株接入肉汁液体培养基中, 于 30℃ 在旋转式摇床 (220 转/分) 振荡培养 24 小时, 用淀粉琼脂平板法测定淀粉水解透明圈的大小。从 330 株菌中共筛选出 187 株能水解淀粉的菌株。

2. 产  $\beta$ -淀粉酶菌株的识别: 将初筛得到的 187 株能水解淀粉的菌株, 用肉汁液体培养基, 以同上条件培养 24 小时, 用发酵液水解淀粉, 其水解液作为纸层析点样样品。经多次试验选出了 9 株产  $\beta$ -淀粉酶的菌株。结果见图 1。

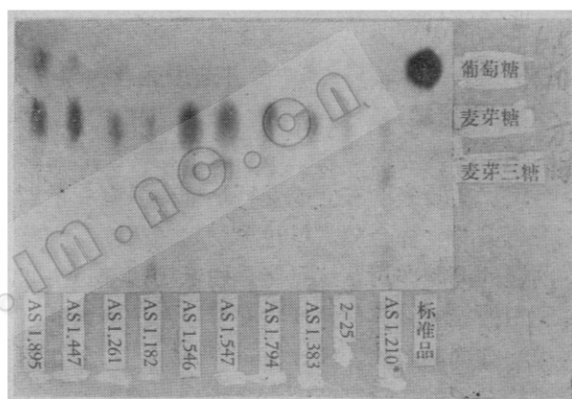


图 1 产  $\beta$ -淀粉酶菌株的酶液水解淀粉纸层析图谱

\* 产  $\alpha$ -淀粉酶的菌株, 作对照用。

3. 产  $\beta$ -淀粉酶菌株产酶活力的比较: 用肉汁液体培养基振荡培养 48 小时后取样测定酶活力。结果见表 1。

表 1 不同菌株酶活力的比较

菌 名 称	菌 号	酶活力 (单位/毫升)
多粘芽胞杆菌 ( <i>Bacillus polymyxa</i> )	AS 1.546	257
多粘芽胞杆菌	AS 1.547	257
多粘芽胞杆菌	AS 1.794	257
环状芽胞杆菌 ( <i>Bacillus circulans</i> )	AS 1.383	188
巨大芽胞杆菌 ( <i>Bacillus megaterium</i> )	2-25	120
蜡状芽胞杆菌 ( <i>Bacillus cereus</i> )	AS 1.182	120
蜡状芽胞杆菌	AS 1.261	154
蜡状芽胞杆菌	AS 1.447	188
蜡状芽胞杆菌	AS 1.895	154

## 讨 论

通过对菌株的初筛和复筛,得到了9株产 $\beta$ -淀粉酶菌株,以三株多粘芽胞杆菌产酶活力最高,其水解淀粉产物中含大量麦芽糖和微量的麦芽三糖;而蜡状芽胞杆菌和环状芽胞杆菌的水解淀粉产物中除含麦芽糖外还含有微量的葡萄糖;巨大芽胞杆菌的水解淀粉产物最纯,只含有麦芽糖,但产酶活力最低。

## 参 考 文 献

- [1] Balls, A. K., R. R. Thompson and M. K. Walden: *J. Biol. Chem.*, **163**: 571, 1946.
- [2] Shihara, M. H. and S. Okada: *Agr. Biol. Chem.*, **38**: 1023, 1974.
- [3] Robyt, J. and D. French: *Arch. Biochem. Biophys.*, **104**: 338—345, 1964.
- [4] Fogarty, W. M. and P. J. Griffin: *J. Appl. Chem. Biotechnol.*, **25**: 229—238, 1975.
- [5] Shinke, R. et al.: *Agr. Biol. Chem.*, **38** (3): 665—666, 1977.
- [6] Yoshiyuki, T.: *Agr. Biol. Chem.*, **40** (8): 1515—1522, 1976.