

产气气杆菌 10016 异淀粉酶的研究

江西食品发酵工业科学研究所

(宜春)

筛选出 1 株产异淀粉酶活力较高的产气气杆菌 (*Aerobacter aerogenes*) 10016。摇瓶试验表明较合适的培养基组成 (%) 为: 甘薯淀粉 (D.E. 约 10%) 1, 豆饼粉 1, $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ 0.8, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05, $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 0.05, KCl 0.05, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.005。30℃ 发酵 4 天。在 500 升罐发酵中通气量要求较低, 酶活力可稳定在 500 单位/毫升以上。该酶作用的最适 pH 为 5.6—7.2, pH 5 以下不稳定, 酶作用最适温度为 45—50℃, 50℃ 以上不稳定, 在 55—60℃ 间活力急剧下降。受 Ca^{++} 、 Mg^{++} 的激活, 受 Fe^{+++} 、 Al^{+++} 、 Hg^{++} 、 Cu^{++} 强烈抑制。与 β -淀粉酶协同作用可增加 β -淀粉酶酶解程度*, 应用于饴糖生产能增加麦芽糖含量, 降低糊精含量和提高熬制温度; 应用于啤酒生产的添加酶糖化过程能略微提高还原糖含量和提高发酵度 5%。

已知异淀粉酶由某些酵母、细菌和放线菌产生, 也在某些高等植物和动物的脏器中发现。由于来源不同, 作用也略有差异, 但都能专一地分解支链淀粉分枝点的 α -1,6-糖苷键使之成为直链淀粉或直链糊精; 当它和其他淀粉酶协同作用时能促进淀粉分解^[1,2]。

本文报道产气气杆菌 10016 异淀粉酶的产生、一般性质和它的应用。

材料与方法

(一) 菌种

产气气杆菌 10016: 由长春应用化学所转来我所保藏之菌种中筛选得到。

(二) 培养基

斜面及茄子瓶培养基组成 (%) 为: 葡萄糖 1, 牛肉膏 1, 蛋白胨 1, NaCl 0.5, 琼脂 1.5—2.0, pH 7.0—7.2。

摇瓶发酵基础培养基组成 (%) 为: 可溶性淀粉 1.5, 蛋白胨 0.05, $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 0.1, KCl 0.05, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05, $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ 0.8, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01, pH 7.0—7.2。除另有说明外, 在试验培养基组成时皆用此作基础培养基改

变单因子。

500 升发酵罐培养基组成 (%) 为: 甘薯淀粉 1, 豆饼粉 0.8, $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ 0.8, $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 0.05, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05, KCl 0.05, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.005, pH 灭菌前 7.2—7.4, 灭菌后 6.5—7.0。

以上培养基皆在 1 公斤/厘米² 压力下灭菌 30 分钟。

(三) 培养条件

斜面菌种在普通恒温箱中 30℃ 培养 2 天。

摇瓶于 500 毫升三角瓶中装 100 毫升培养液于旋转摇床 (200 转/分) 30℃ 培养 4 天。

深层通气培养, 500 升发酵罐装液 350 升, 接种菌体悬浮液 300 毫升 (由茄子瓶洗下, 菌体浓度约 10^7 个细胞/毫升), 200 转/分搅拌, 罐压 0.5 公斤/厘米², 48 小时前通气量为 1:0.15 (V/V), 18 小时后微量通气, 温度为 30℃。

(四) 测定方法

菌体量: 用 0.01 N H_2SO_4 稀释 10 倍测 480 毫微米处的光密度。

总糖: 蒽酮法。

还原糖、麦芽糖: 3, 5-二硝基水杨酸法^[3]。

本文于 1976 年 6 月 26 日收到。

* 指淀粉水解为麦芽糖的程度。

醋酸铵: 按挥发酸测定方法以醋酸根含量计算)。

酶活力: 参考小林恒夫的方法^[4]。反应系统为: 1%可溶性糯米淀粉^[5]2.5毫升, 0.1M pH 5.8 醋酸缓冲液 0.5毫升, 酶液 0.5毫升。测定步骤: 底物和缓冲液在 50℃ 水浴中预热 2—3 分钟, 然后加酶液或发酵液(立即记下时间)开始反应, 于 50℃ 准确反应 1 小时。立即取 2 毫升反应液加入 25 毫升 0.01N 硫酸中终止酶反应, 再加 2 毫升碘液, 用蒸馏水定容至 50 毫升。放置 15 分钟后立即在 620 毫微米波长处用 1 厘米光程的比色池以蒸馏水为对照测光密度, 并规定光密度每增加 0.1 为 5 个酶单位。

结果与讨论

一、培养基组成对产酶的影响

培养基组成是影响产酶的主要因素之一, 同一菌株由于所用的碳源、氮源和其他营养盐等的种类和数量不同, 培养物中酶活力有显著差异^[6]。甚至该菌所产生的异淀粉酶, 可由于所用的铵盐不同而决定其分泌于胞外或累积于胞内, 如用醋酸铵时产生胞外酶; 用硫酸铵时则产生胞内酶。我们考虑为当前工业生产的条件方便起见, 采用加入醋酸铵的方法, 用上述基础培养基进行了以下试验。

(一) 甘薯淀粉液化程度(D. E. 值)对产酶的影响

试验表明, 甘薯淀粉可以代替可溶性淀粉, 但甘薯淀粉必须经过液化。因此试验了不同 D. E. 值的液化甘薯淀粉作为碳源对该菌产酶的影响。

采用 α -淀粉酶, 在 88—90℃ 液化甘薯淀粉, 控制 α -淀粉酶的用量和液化时间得到不同 D. E. 值的液化淀粉, 结果列入表 1。

由表 1 结果看出, 甘薯淀粉的 D. E. 值对产酶影响较大, 以 D. E. 值 10% 左右为好。

表 1 甘薯、山芋淀粉的 D. E. 值对产酶的影响

D. E. 值(%)	酶活力(单位/毫升)
4.90	220
6.20	240
7.40	640
11.09	660
13.80	540
17.70	360

(二) 甘薯淀粉用量对产酶的影响

培养基中碳源浓度及碳氮比与菌体增殖及培养基中溶解氧之间有密切关系, 本试验有机氮源用 1% 豆饼粉, 改变甘薯淀粉(D. E. 值为 8.46%)的用量, 其他成份按基础培养基, 看其对产酶的影响。

表 2 甘薯淀粉用量对产酶的影响

甘薯淀粉(%)	酶活力(单位/毫升)	残糖(%)
0.5	506	0.077
1.0	524	0.082
1.5	483	0.090
2.0	459	0.10
2.5	251	0.11
3.0	194	0.13

由表 2 结果看出, 甘薯淀粉用量以 1% 较为合适, 2% 以上酶活力显著降低。

(三) 有机氮源对产酶的影响

用 2% 甘薯淀粉 (D. E. 值为 8.32%)

表 3 几种有机氮源对产酶的影响

种类	用量(%)	酶活力(单位/毫升)
豆饼粉*	2	340
米糠饼粉**	2	165
豆饼酸水解液	1	130
豆饼水解液	1	105
+玉米液	0.2	
鱼粉	2	220
酵母粉	2	315
蛋白胨	0.05	140

* 豆饼粉添加前, 先经预处理。方法为: 豆饼粉加 10 倍水, 于 1 公斤/厘米² 蒸煮 30 分钟, 冷却后调 pH 至 7.0 左右, 按每克豆饼粉加入 180—200 单位的蛋白酶, 在 38—40℃ 酶解 1 小时, 再于 1 公斤/厘米² 灭菌 30 分钟后, 供配制培养基。

** 米糠饼粉的处理同豆饼粉。

为碳源,比较了表3所示的几种有机氮源对产酶的影响。

由表3可见豆饼粉、酵母粉、鱼粉等均优于蛋白胨,其中以豆饼粉效果最好。豆饼粉来源广,价格便宜,适宜于工业生产要求。

(四) 豆饼粉用量对产酶的影响

用1%甘薯淀粉(D. E. 值为9.64%),试验豆饼粉用量对产酶的影响见表4。

表4 豆饼粉用量对产酶的影响

用量 (%)	酶活力(单位/毫升)
0.2	468
0.5	661
0.75	916
1.0	1032
1.5	383

由表4结果可知豆饼粉用量以0.75—1.0%为好。

(五) 醋酸铵用量对产酶的影响

该菌产异淀粉酶的能力对培养液中所用的铵盐浓度的大小很敏感,醋酸铵的用量是影响产酶的重要因素之一。见表5。

表5 醋酸铵用量对产酶的影响

用量 (%)	酶活力(单位/毫升)
0	0
0.4	563
0.6	755
0.8	796
1.0	175
1.2	180

在试验范围内醋酸铵用量以0.8%最好。

还试验了其他营养盐对产酶的影响,最后确定该菌产酶合适的培养基组成(%)为:甘薯淀粉(D. E. 值约为10%)1,豆饼粉1, $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ 0.8, $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 0.05, KCl 0.05, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.005。用此培养基组成进行了以下发酵条件试验。

二、培养条件对产酶的影响

(一) 温度对产酶的影响

温度对酶活力的影响,随菌种不同而不同。试验将三角瓶分别培养于30℃、34℃48小时后再分别于26℃、30℃、34℃继续培养48小时,产酶活力见表6。

表6 温度对产酶的影响

生长温度(℃)	产酶温度(℃)	酶活力(单位/毫升)
34	34	225
34	30	150
34	30*	181
34	26*	288
30	30	465
30	30*	360
30	26*	489

* 48小时前为生长期,将三角瓶放在旋转摇床上培养,48小时后为产酶阶段,将三角瓶从摇床上取下,静置培养。

由表6可知生长温度为34℃者不论其产酶温度高低,酶活力均较生长温度为30℃者低,说明10016菌生长温度不宜过高,以30℃为好。产酶温度可在26—30℃。

(二) 通气量对产酶的影响

于500毫升三角瓶中分别装入50、100、150毫升培养液,比较其发酵液中酶活力的高低。结果见表7。

表7 不同通气量和培养方式对产酶的影响

培养基量(毫升)	培养方式	酶活力(单位/毫升)
50	摇瓶96小时	480
100	摇瓶96小时	840
150	摇瓶96小时	688
100	静置培养96小时	0
100	摇瓶24小时后静置培养至96小时	98
100	摇瓶48小时后静置培养至96小时	952
100	摇瓶72小时后静置培养96小时	940

由表7可知该菌在前期繁殖阶段需要

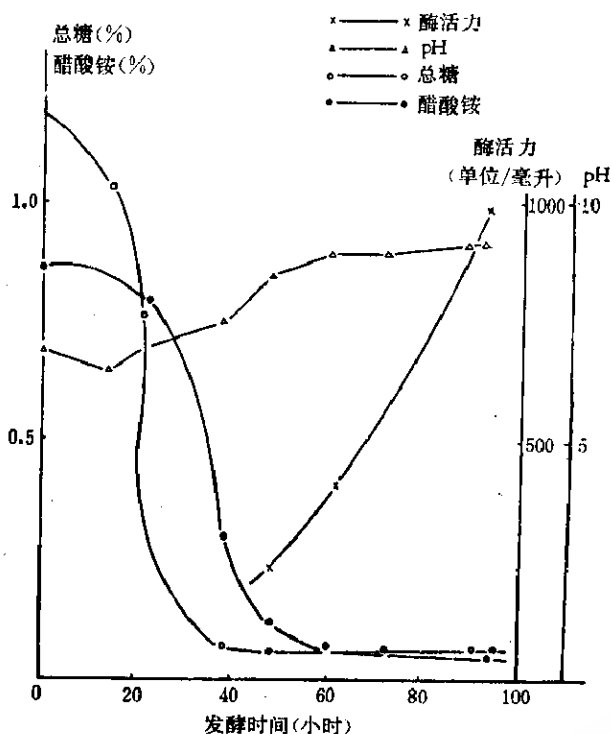


图1 摇瓶培养过程

较大的通气量,否则菌体繁殖不好,影响产酶。当培养 48 小时后,菌体生长已达高峰,进入产酶阶段,这时进行静止培养,对产酶没有影响。在 500 毫升三角瓶中适宜的装液量为 100 毫升,说明对通气量要求不很高。

三、摇瓶培养过程中糖与醋酸铵的消耗与酶活力的关系

在摇瓶培养过程中每隔一定时间测定总糖、醋酸铵、pH 及酶活力,结果见图 1。

由图 1 可知在培养 12—14 小时后,总糖和醋酸铵迅速消耗, pH 逐渐升高,最后可达 9.2,至 48 小时后这些营养大部分耗尽,接着酶活力很快上升,一般持续上升至培养 90

—96 小时止。

四、500 升发酵罐试验

在选出了菌种,确定培养基组成和培养条件后进行 500 升罐发酵试验,结果见表 8。由表 8 可见酶活力稳定在 500 单位/毫升以上(在罐中糖与醋酸铵消耗和酶的形成规律与摇瓶的基本一致,见图 2)。培养至 90—96 小时的发酵液经过滤后用硫酸铵盐析,取 0—60% 硫酸铵饱和度的部分,低温干燥,得硫酸铵盐析酶制剂。酶活力总回收不低于 68%,如盐析时加入 0.1% 醋酸钙,回收率可以提高到 86.2%。

五、酶的一般性质

将干燥的硫酸铵盐析酶制剂

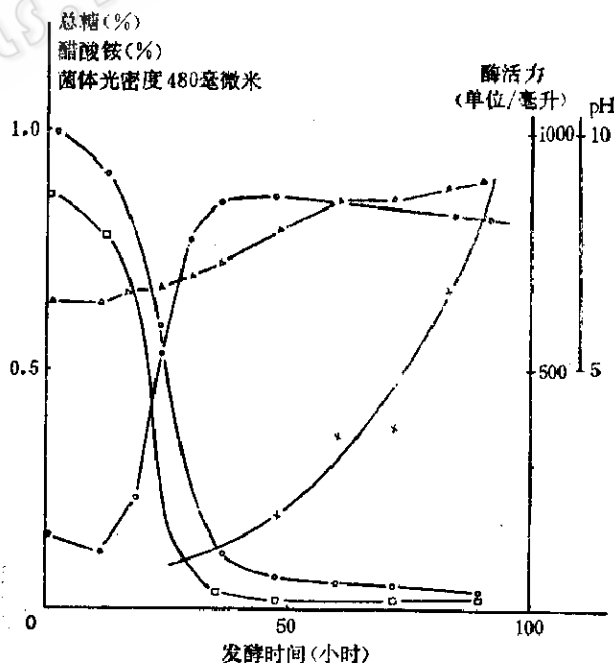


图2 500 升罐发酵过程

- ×——× 酶活力
- △——△ pH
- 总糖
- NH₄OAc
- 菌体光密度

表 8 500 升罐发酵试验

批号	罐号	发酵时间 (小时)	pH		装液量 (升)	放罐 体积 (升)	酶活力 (单位/毫升)
			起始	终止			
16	4	89	6.7	8.9	350	323	750
17	4	90	6.5	9.0	350	335	830
	5	90	6.5	9.2	300	280	798
	6	90	6.7	8.9	300	340	603
18	4	91	7.2	9.2	350	300	565
	5	91	7.2	9.1	300	300	512
19	4	90	6.5	8.6	350	280	845
	5	90	6.8	8.9	350	290	1405
	6	90	6.8	8.4	300	270	860
21	4	90	6.4		350	320	752
	5	90	6.9		350	320	670
	6	90	6.5		350	320	850

100 毫克用 10 毫升蒸馏水提取半小时, 滤液以蒸馏水透析 16—24 小时, 滤液稀释至适当浓度, 取 0.5 毫升酶液, 在反应系统中测定酶活力。以下试验除另有说明外皆用以上酶液。

(一) 底物专一性

试验了可溶性糯米淀粉、兔肝肝糖、经 α -淀粉酶液化的可溶性淀粉和兔肝肝糖、 β -葡聚糖*、 α -葡聚糖*。加入反应系统的量为 1% 的溶液 2.5 毫升。酶液用过量 (500—600 单位)。在反应前后测还原糖变化和用碘色法 (同酶活力测定) 在波长 620 毫微米及 440 毫微米处测碘色的变化,

表 9 底物专一性

底物	还原值增加 (光密度)	碘色增加	
		620 毫微米 波长 (光密度)	440 毫微米 波长 (光密度)
糯米淀粉	0.748	0.59	0
液化糯米淀粉*	0.280	—	0.015
兔肝肝糖	0.025	—	0.003
液化兔肝肝糖*	0.080	—	0
β -葡聚糖	0.014	—	0
α -葡聚糖	0.016	—	0

* 用 α -淀粉酶液化至与碘呈红色。

相对酶活力测定结果见表 9。

由表 9 可见该酶可作用于糯米淀粉, 虽然也可作用于液化过的糯米淀粉, 但速度远较糯米淀粉低。该酶不作用于兔肝肝糖。这一点与一般报道的细菌异淀粉酶性质有所不同^[7,8]。

(二) 异淀粉酶与 β -淀粉酶对糯米淀粉的联合作用

取 1.2% 可溶性糯米淀粉 12.5 毫升、0.1M pH4.8 醋酸缓冲液 3 毫升、 β -淀粉酶 (50 单位, 纯度 100 单位/毫克, 从麦芽中提取) 1 毫升和 1 毫升异淀粉酶或 5 毫升经 Sephadex G-200 柱层析纯化过的异淀粉酶 (28.5 单位/毫升) 混合, 加蒸馏水至 30 毫升, 在 40°C 或 50°C 进行反应, 同时用不加异淀粉酶或不加 β -淀粉酶的作空白对照, 反应结束后, 反应液置沸水浴中 10 分钟, 过滤, 滤液用 3, 5-二硝基水杨酸试剂测还原糖 (以麦芽糖计), 按此计算 β -淀粉酶酶解程度 (表 10), 并且用纸上层析法鉴定反应产物。结果见图 3。

表 10 β -淀粉酶和异淀粉酶对糯米淀粉的分解作用

酶	分解 (%)
单独 β -淀粉酶	69.1
单独异淀粉酶	18.6
单独异淀粉酶 (又经 Sephadex G-200 纯化)	12.0
β -淀粉酶加异淀粉酶	93.6
β -淀粉酶加异淀粉酶 (又经 Sephadex G-200 纯化)	94.7

由表 10 和图 3 结果可知: (1) 异淀粉酶和 β -淀粉酶同时作用能大大提高 β -淀粉酶酶解程度; (2) 两酶同时作用的反应产物根据 R_f 及斑点颜色来看, 绝大部分为麦芽糖, 少量为麦芽多糖; (3) 从原点残留与不残留斑点来看, 两酶同时作用淀粉时, 分解

* β -葡聚糖系由大麦中提取, 其结构中主要为 β -1,4 葡萄糖苷键和 β -1,3 葡萄糖苷键。 α -葡聚糖即右旋糖苷 dextran (分子量 300,000)。

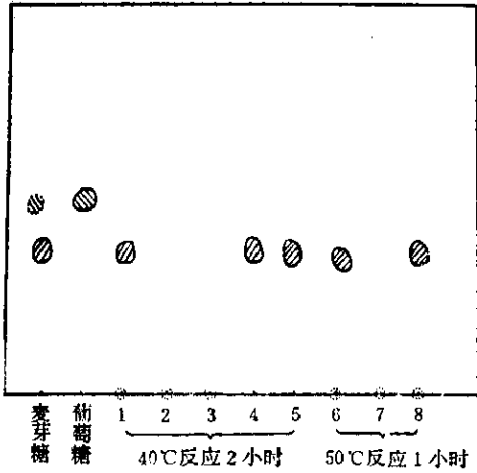


图3 异淀粉酶和β-淀粉酶对糯米淀粉作用的反应产物纸上层析图

展开剂为正丁醇:吡啶:水=6:4:3

显色剂:苯胺-二苯胺

- 1——单加β-淀粉酶,原点残留蓝色斑点。
- 2——单加异淀粉酶,原点残留蓝色斑点。
- 3——单加异淀粉酶(经Sephadex G-200纯化过)。原点残留蓝色斑点。
- 4——同时加入β-淀粉酶和异淀粉酶,原点无斑点。
- 5——同时加入β-淀粉酶和经Sephadex G-200纯化的异淀粉酶,原点无斑点。
- 6——单加β-淀粉酶,原点残留蓝色斑点。
- 7——单加异淀粉酶,原点残留蓝色斑点。
- 8——两酶同时作用,原点无斑点。

较彻底,降低了糊精含量(如果样品浓缩至1/5体积再加4—5倍体积的乙醇,则产生大量白色沉淀,过滤后用清液进行层析,则在纸层析谱的相当于图3中1、2、3和6、7的原点处无斑点)。这3个特点为该酶可能应用于饴糖生产和啤酒的加酶糖化工艺提供了依据。

(三) 反应的最适 pH

反应系统的其他成分不变,加入反应系统的缓冲液仍然为0.1M 0.5毫升。在适当酶量存在下,在不同pH的缓冲液中进行反应,测定其相对酶活力,结果见图4。

由图4可见酶反应的最适pH为5.6—7.2。在测定过程中发现最适pH受缓冲液影响,可能有的缓冲液本身对酶反应有影响。在pH 5.8的醋酸缓冲液中比在相

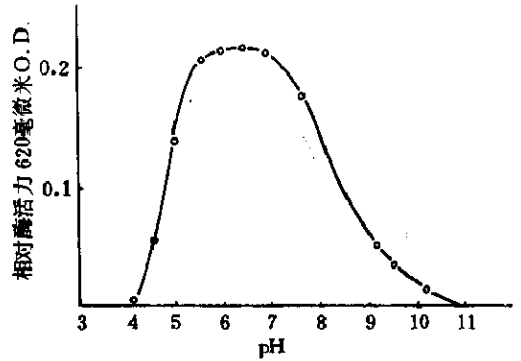


图4 反应的最适 pH

pH 3.0—7.0 用柠檬酸-磷酸盐缓冲液, pH7.5—8.0 用磷酸盐缓冲液, pH 9.2—10.5 用碳酸盐缓冲液,配制后用上海五金厂出品25型酸度计校正。

同 pH 值的柠檬酸缓冲液中所测得的酶活力高 34%。

(四) pH 稳定性

酶液和不同 pH 的缓冲液于 40°C 保温 1 小时,立即冷却,用 0.2 M pH 5.8 醋酸缓冲液调回 pH,然后测定酶活力。结果见图 5。从图 5 可见,该酶在 pH 5.0 以下很不稳定,但能抵抗较高的碱性,经 pH 10 缓冲液处理后,再降低 pH 时仍可恢复原来活性。

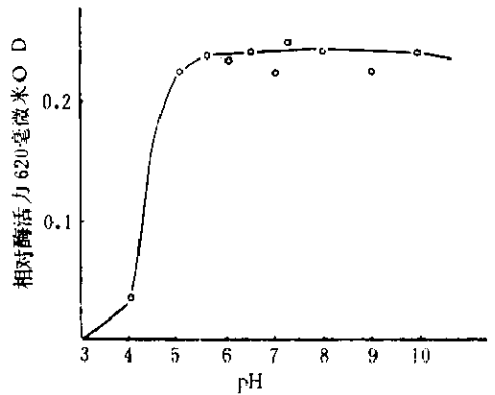


图5 pH 稳定性曲线

(五) 最适温度

分别在 40°C、50°C、55°C、60°C 测酶活力,结果见图6。由图 6 可见最适作用温度为 45—50°C。

(六) 热稳定性

36 毫升酶液中加 0.1M pH 5.8 醋酸缓

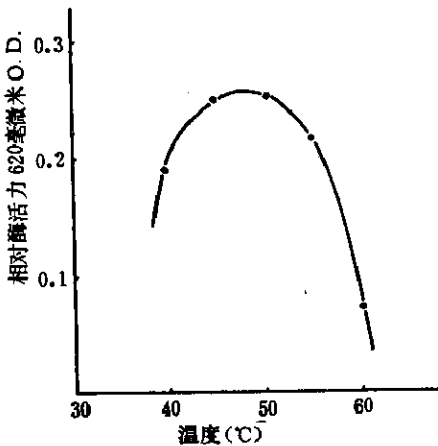


图6 反应的最适温度

冲液4毫升调pH至5.8。每5毫升分装1管,分别在40°、50°、55°、60°、70°、80℃水浴中保温10分钟,立即冷却,分别适当稀释后测定酶活力,结果见图7。

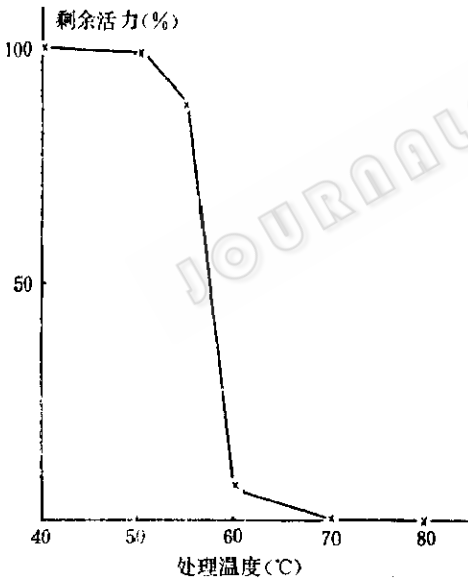


图7 热稳定性曲线

由图7可见,该酶在50℃以上不稳定,55—60℃间活力急剧下降,60℃时活力只剩余6.37%。

(七) 金属离子对酶活力的影响

250毫克酶粉加蒸馏水至25毫升,提取1小时,过滤,取一半滤液用蒸馏水透析24小时,其间多次换水,另一半用0.01M

EDTA透析24小时,再用蒸馏水透析1小时。将前一半透析后的酶液适当稀释后作为测定用酶液。

用酶液0.5毫升,0.1M pH5.8醋酸缓冲液0.5毫升,水0.9毫升分别与0.01M金属离子溶液0.35毫升混合在约20℃,放置半小时,加2%可溶性糯米淀粉溶液1.25毫升,开始反应。用蒸馏水代替金属离子溶液作对照,另做EDTA溶液代替金属离子溶液进行试验,结果列于表11。

表11 金属离子对酶活力的影响

金属名称	最终浓度(M)	相对活力(%)
对 照	—	100
EDTA	1×10^{-3}	0.9
FeCl ₃	1×10^{-3}	0
Al ₂ (SO ₄) ₃	1×10^{-3}	0
HgCl ₂	1×10^{-3}	0
CuCl ₂	1×10^{-3}	0
BaCl ₂	1×10^{-3}	97.4
CrCl ₃	1×10^{-3}	0.9
CoCl ₂	1×10^{-3}	101
MgCl ₂	1×10^{-3}	105.5
MnCl ₂	1×10^{-3}	93.5
ZnCl ₂	1×10^{-3}	81.0
CaCl ₂	1×10^{-3}	105.0
NiCl ₂	1×10^{-3}	85.0
KCl	1×10^{-3}	98
NaCl	1×10^{-3}	97
NH ₄ Cl	1×10^{-3}	101
用EDTA透析的酶	—	82

由表11可知,加入金属络合剂EDTA进行反应,酶活力几乎全部丧失,说明该酶反应需要金属离子。用EDTA透析过的酶还有82%的相对活力,可能是由于反应时带入微量金属离子。从试验过的几种金属离子来看,此酶稍受Mg⁺⁺、Ca⁺⁺激活,但严重地受Hg⁺⁺、Cu⁺⁺、Fe⁺⁺⁺、Al⁺⁺⁺等的抑制。

六、酶的应用试验

通过该酶性质的试验,了解到产气气

杆菌 10016 异淀粉酶能专一地分解支链淀粉分支点的 α -1,6-葡萄糖苷键, 分解产物为直链淀粉及糊精。与 β -淀粉酶协同作用能降低 β -界限糊精, 显著提高 β -淀粉酶酶解的程度, 其产物主要是麦芽糖和少量麦芽多糖。这些特性使该酶有可能在饴糖生产和啤酒生产的加酶糖化工艺中更为彻底地糖化淀粉原料。

目前饴糖生产是利用麦芽或麸皮中的 β -淀粉酶将淀粉分解为以麦芽糖为主要成份的饴糖。我们在工厂进行了生产规模的试验, 在糖化时加入该异淀粉酶使与麦芽或麸皮中的 β -淀粉酶相继作用或同时作用。糖化后以浆水或制成饴糖后与不加该酶的产品(对照)进行比较, 得到预期的效果, 见表 12。

表 12 添加异淀粉酶对饴糖质量的影响

样品名称	对照糖 (1)	对照糖 (2)	试验糖 (加异淀粉酶)
浓度 (Be°)	42.38	42.46	41.76
酸度 (%) (以乳酸计)	0.28	0.27	0.32
还原糖 (%) (以葡萄糖计)	25.50	23.0	32.76
麦芽糖 (%)	34.24	33.14	49.03
糊精 (%) (以葡萄糖计)	28.52	30.72	21.70

啤酒酿造的糖化过程, 将麦芽分解淀粉的主要酶是 α -淀粉酶、 β -淀粉酶和分解淀粉 α -1,6-糖苷键的 R 酶(植物异淀粉酶), β -淀粉酶和另两种酶协同作用可使淀粉分解成麦芽糖(也包括少量的麦芽三糖和极少量的葡萄糖)和低分子糊精, 使麦芽汁具有比较理想的糖类组成。而大麦中不具 α -淀粉酶活性, 发芽后始形成 α -淀粉酶。R 酶在大麦中的活性很低, 发芽以后, 活性增长很快。在加酶糖化时, 麦芽添加量较少。要使大麦及其他辅助原料糖化完

全, 需要外加 α -淀粉酶和分解淀粉 α -1,6-键的酶制剂。单纯使用 α -淀粉酶时产生麦芽糖和麦芽三糖是很不完全的。如分解淀粉 α -1,6-键的酶活力不足, 淀粉分解就不完全, 其结果是可发酵性糖含量低, 制成的啤酒发酵度达不到要求。所以曾采用过从霉菌提取的淀粉葡萄糖苷酶。淀粉葡萄糖苷酶能分解淀粉 α -1,4-键和 α -1,6-键, 但其产物为葡萄糖, 容易使酒味淡薄, 且此酶反应慢, 用量大。该异淀粉酶与 β -淀粉酶协同作用, 其分解产物主要是麦芽糖和少量的麦芽多糖。从理想的麦芽糖类成份要求来看, 以采用异淀粉酶较为合适, 我们进行了小型及生产试验, 和以不加该

表 13 添加异淀粉酶对麦芽汁成份的影响 (小型试验)

测定项目	批号	对照	加异淀粉酶	全麦芽麦汁
麦芽汁浓度 (Brix)	8	12.20	12.40	12.15
	9	12.20	12.30	11.90
	10	12.55	13.00	12.60
	平均	12.32	12.60	12.22
还原糖含量 (%) (以麦芽糖计)	8	10.08	10.40	10.72
	9	9.92	11.20	10.56
	10	9.60	10.08	11.04
	平均	9.92	10.56	10.72
外观发酵度 (%)	8	71.50	76.60	76.70
	9-1	71.70	75.70	75.70
	9-2	69.10	74.70	76.60
	10-1	71.70	77.90	76.60
	10-2	71.20	77.60	76.90
	平均	71.00	76.50	76.60

表 14 添加异淀粉酶对啤酒的影响 (生产试验)

测定项目	对照 (全麦芽)	酶法 (加异淀粉酶)	酶法 (不加异淀粉酶)
原麦汁浓度 (%)	11.98	11.71	12.02
真正浓度 (%)	4.95	4.80	5.26
酒精度 (重量 %)	3.63	3.55	3.49
真正发酵度 (%)	58.70	58.90	56.3
可溶性氮 (毫克/升)	679	—	670
α -氨基氮 (毫克/升)	95	—	106
酸度 (1N NaOH 毫升数)	2.35	2.45	2.35
色度 (0.1N 碘毫升数)	0.42	0.42	0.40

酶的为对照进行了比较,结果见表 13, 14。得到了预期的效果。

参 考 资 料

- [1] 浜田信威: 科学と工业, 44(4): 175—180, 1970。
 [2] 结缘钢吉ら: 食品工业, 17(16): 41, 1974。
 [3] Worthington Biochemical Corporation: Worthington Enzyme Manual, Freehold,

New Jersey, U. S. A. 1972.

- [4] Kobayashi, T.: *Bull. Agr. Chem. Soc., Japan*, 19: 163, 1955.
 [5] 山本和夫ら: 淀粉科学, 20(3):, 1973。
 [6] 藤尾雄策ら: 发酵工学杂志, 48(1): 8—12, 1970。
 [7] 冈田茂孝: 日本酿造协会誌, 70(8): 546, 1975。
 [8] 小林恒夫: 发酵协会誌, 28(12): 466—481, 1970。
 [9] Schwimmer, S. and Bevenue, A.: *Science*, 123: 543—544, 1956.

STUDIES ON THE ISOAMYLASE OF *AEROBACTER AEROGENES* 10016

The Jiangsi Scientific Research Institute of Food and Fermentation Industry
(Yichun)

A strain of *Aerobacter aerogenes* 10016 has been screened out for the production of isoamylase. Conditions suitable for enzyme formation have been established. The percentage composition of the medium was as follows: liquefied sweet potato starch (DE about 10), 1; soybean cake meal, 1; ammonium acetate, 0.8; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.05; $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$, 0.05; KCl, 0.05; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.005. Shake flask culture was conducted at 30°C for 4 days.

In a 500 l. fermentor with lower aeration rate, the enzyme level was usually over 500 units/ml.

The activity of isoamylase is optimal

at pH 5.6—7.2 and 45—50°C, inactivated below pH 5 and above 55—60°C, stimulated by Ca^{++} or Mg^{++} ions and strongly inhibited by Fe^{+++} , Al^{+++} , Hg^{++} , Cu^{++} ions.

The isoamylase, when used together with β -amylase, promoted the degree of β -amylolysis, thus it increased the maltose content, decreased the dextrin content and raised the browning temperature of the syrup when used in maltose syrup production. It also increased slightly the reducing sugar content and raised the attenuation about 5%, when used in enzymatic mashing process in brewing.