

双酶法催化玉米淀粉制备 γ -CD

李林林^{1,2}, 张梦柯^{1,2}, 金征宇^{1,2}, 王丽华^{1,2}, 王金鹏^{*1,2}

(1. 江南大学 食品科学与技术国家重点实验室, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: 以玉米淀粉为底物, 研究了来自于栖热水生菌的 4 α -糖基转移酶(4 α GTase)和来自于嗜碱芽孢杆菌的环糊精葡萄糖基转移酶(CGTase)作用于淀粉制备 γ -CD 的影响因素。结果表明: 两种酶的添加方式为先加入 4 α GTase、再加入 CGTase; γ -CD 的最佳制备条件为底物质量分数 5%, 4 α GTase 加酶量 4 U/g 淀粉, CGTase 加酶量 8U/g 淀粉, 反应时间 30 h。在此条件下 γ -CD 的得率最高为 12.83%, 比对照组提高了 76.7%。

关键词: 4 α -糖基转移酶; 环糊精葡萄糖基转移酶; γ -环糊精; 玉米淀粉

中图分类号: TS 236.9 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673-1689(2017)04-0357-07

γ -CD Catalyzed from Maize Starch by Dual Enzymatic Reaction

LI Linlin^{1,2}, ZHANG Mengke^{1,2}, JIN Zhengyu^{1,2}, WANG Lihua^{1,2}, WANG Jinpeng^{*1,2}

(1. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Wuxi 214122, China; 2. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: The conjunction of 4 α -glycosyltransferase(4 α GTase) with cyclodextrin glycosyltransferase (CGTase) were screened for their ability of producing γ -cyclodextrin (CD) using maize starch as substrate. The studies on the influence factors showed that 4 α GTase should be added first, followed by CGTase. The optimal conditions for γ -CD production was as following: 4U of 4 α GTase and 8U of CGTase per gram of substrate were used to convert maize starch(5%, w/v) into γ -CD with the reaction time of 30 h. the subsequent yield of γ -CD was 12.83%, which was 76.7% higher than the control. This study has potential value for the industrial production of γ -CD.

Keywords: 4 α -glycosyltransferase, cyclodextrin glycosyltransferase, γ -cyclodextrin, maize starch

环糊精(cyclodextrin, 简称 CD)是由环糊精葡萄糖基转移酶(cyclodextrin glycosyltransferase, 简称 CGTase)酶解淀粉或者淀粉类似物产生的由 D-吡喃型葡萄糖单元通过 α -1,4-糖苷键连接而成的一类环状低聚化合物^[1-2]。常见的为含有 6、7 和 8 个葡

萄糖单元的分子, 根据环中葡萄糖单元的数量, 分别称为 α -CD、 β -CD 和 γ -CD。与 α -CD、 β -CD 相比, γ -CD 具有较大的空腔和较高的溶解度, 能够包接较大的分子^[2]。然而, 尽管市场对 γ -CD 的需求很大, 但是由于其转化率低、产物特异性差以及分离

收稿日期: 2015-05-15

基金项目: 国家自然科学基金项目(31230057, 31401524); 江苏省自然科学基金项目(BK20140143); 江苏省科技支撑计划项目(BE2013311)。

* 通信作者: 王金鹏(1984—), 女, 河南开封人, 副教授, 主要从事碳水化合物资源开发与利用研究。E-mail: jpwang1984@jiangnan.edu.cn

引用本文: 李林林, 张梦柯, 金征宇, 等. 双酶法催化玉米淀粉制备 γ -CD[J]. 食品与生物技术学报, 2017, 36(04): 357-363.

纯化困难造成的高成本大大限制了其工业化大规模生产,使其只占有较小部分的市场份额^[3]。

由于野生型的 CGTase 作用淀粉产生的都是不同比例的 3 种环糊精的混合物,因而其产物特异性差,并且后期的分离纯化困难^[4]。针对其产物特异性差的问题,目前很多人采用基因工程的手段,对现有的 CGTase 基因进行突变,从而提高其产物专一性。Kian Mau Goh 等^[5]对来自于 *Bacillus* sp. G1 菌株的 CGTase 进行突变,其突变体 H43T CGTase 产 γ -CD 的产率从 10% 提高到了 39%。王峰等^[6]从 *Bacillus macorous* 中筛选出产 γ -CGTase 的菌株。此外,通过控制反应条件和加入有机溶剂,也可实现提高产物比例和产率^[7-8]。Bender 等^[9]向反应体系中加入溴化苯和醋酸钠使 γ -CD 的产率达到了 18.7%。Rendleman 等^[10]以质量分数 10% 的淀粉为底物,加入 C12 化合物反应 24 h 后, γ -CD 的产率有较大的提高。但是,这些有机化合物对于工业生产而言成本较高并且在后期分离过程中很难除去。

淀粉作为底物生产环糊精过程中存在的基本问题是高浓度淀粉粘度大,阻碍了酶和底物之间的接触,使得环糊精产率低。因此可以通过物理、化学和酶法先对淀粉进行预处理^[11]。比如用 α -淀粉酶或者热稳定性的 CGTase 先液化淀粉,降低体系的粘度^[12-13]。但是 Ivan Pishtiyski 等^[14]发现添加 α -淀粉酶后并没有使环糊精的产率增加。并且 α -淀粉酶液化后必须要调节体系的 pH,才能加入 CGTase 进一步反应,操作过程较复杂。另一种提高 γ -CD 产率的方法是用脱支酶比如异淀粉酶或者普鲁兰酶对淀粉先进行预处理。因为在反应过程中,脱支酶可以首先水解掉支链淀粉中的 α -1,6 糖苷键,之后再加入 CGTase 利用这部分淀粉发生环化作用^[14-15]。Rendleman 等^[10]以质量分数 10% 的支链淀粉为底物,先后加入普鲁兰酶和 α -CGTase 在 15 °C 反应,总环糊精的产率为 84%。然而,先用脱支酶预处理淀粉后容易形成大量的直链淀粉晶体,使反应周期延长^[16]。

4 α -糖基转移酶(4 α GTase)是淀粉代谢酶类,它可以产生含有 16 个葡聚糖单元及以上的大环糊精^[17]。大环糊精可以转化为 β -CD 和 γ -CD。并且 4 α GTase 更能耐受高温,可以用 4 α GTase 先预处理淀粉,降低淀粉的粘度,再加入 CGTase 进一步反应。而 4 α GTase 是否有助于提高 γ -CD 的产率目前

尚不清楚。作者将来自于栖热水生菌的 4 α GTase 和来自于嗜碱性芽孢杆菌的 G825-6 的 CGTase 进行结合,探索双酶作用催化玉米淀粉对 γ -CD 产率的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料

马铃薯直链淀粉:Sigma 公司产品;普通玉米淀粉:杭州普罗星淀粉有限公司产品; α -CD、 β -CD 及 γ -CD 标准样品:Sigma 公司产品;可溶性淀粉:国药集团化学试剂有限公司产品;栖热水生菌 4 α -糖基转移酶及嗜碱性芽孢杆菌 CGTase G825-6:作者所在实验室制备;其他试剂均为分析纯。

1.2 实验仪器

双光束紫外可见分光光度计(TU-1900):北京普析通用仪器有限责任公司产品;电热恒温水浴锅:上海浦东物理光学仪器厂产品;低速台式大容量离心机(RJTDL-50A):无锡瑞江分析仪器有限公司产品;高速冷冻离心机(BIOFUGE PRIMOR):美国 Thermo Scientific 有限公司产品;高效液相色谱仪(LC-20AT230V),示差折光检测器(RID-10A),AKTA purifier900 蛋白纯化系统:岛津公司产品;Hypersil NH₂ 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 mAPS-2Hypersil 微粒):美国 Thermo 公司产品;纯泰 Ni-NTA 亲和层析柱:GE Healthcare life sciences 公司产品;ShodexOHpak SB-804 HQ 色谱柱、OHpak SB-802.5 HQ 色谱柱:日本昭和公司产品。

2 实验方法

2.1 栖热水生菌 4 α -糖基转移酶的制备

由基因工程菌 *E.coli* 培养发酵,再经 Ni-NTA 亲和层析柱分离纯化得到 4 α -糖基转移酶^[18]。

4 α -糖基转移酶酶活测定:淀粉-碘显色法^[18]。

2.2 环糊精葡萄糖基转移酶的制备

从低温冰箱中取出一支甘油管保藏菌接种至含有 50 mL LB 培养基的 250 mL 三角瓶中,37 °C、200 r/min 振荡培养 10h。按体积分数 5% 的接种量接种至含有 100 mL 培养基的 500 mL 三角瓶中,待 A=1.0 时加入 IPTG 使其终浓度为 0.05 mmol/L,在 18 °C、200 r/min 下诱导培养 20 h。培养结束后,菌液 5 000 r/min 离心 30 min,弃掉上清液,收集菌体。菌体悬浮于 pH 8.5 的 Tris-HCl 中超声破碎,离心

后所得上清液即粗酶液。

粗酶液的纯化采用淀粉吸附法^[9]:首先向粗酶液中加入质量分数5%的玉米淀粉和1 mol/L的硫酸铵,在4℃缓慢搅拌1 h,使酶充分被淀粉吸附;反应混合物6 500 r/min离心10 min,沉淀用预冷的1 mol/L的硫酸铵洗涤两次,除去未被吸附的蛋白;为充分洗脱下吸附在淀粉上的CGTase,残渣用含有1 mmol/L γ -CD的50 mmol/L、pH 8.5的Tris-HCl在37℃振荡培养30 min得到洗脱液1;离心后的沉淀再用同样含有 γ -CD的缓冲液洗脱,得到洗脱液2;两次得到的洗脱液合并,用50 mmol/L、pH 8.5的Tris-HCl缓冲液在4℃透析24 h,每隔6 h换一次缓冲液。

2.3 CGTase 环化活力的测定

将适量CGTase的酶液加入预先装有用50 mmol/L Tris-HCl缓冲液(pH 8.5)配制的可溶性淀粉溶液(2 g/dL)的试管中,充分混匀,在50℃反应30 min后,沸水浴10 min终止反应。用HPLC测定环糊精含量。

酶活力单位(U)定义为:在上述条件下每30 min生成1 μ mol γ -CD所需的酶量。

2.4 酶解淀粉产物测定

采用HPLC法对酶催化产物进行分析,色谱条件为:Hypersil NH₂色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 mAPS-2Hypersil微粒),示差折光检测器(RID-10A);流动相为70%乙腈水溶液,流量为1 mL/min,柱温40℃。

2.5 淀粉相对分子质量测定

分别称取50 mg原淀粉和经4 α GTase处理过的淀粉分散于5 mL体积分数90%的DMSO中,沸水浴煮沸1 h使其完全溶解并在室温下磁力搅拌12 h。取1 mL经DMSO处理过的淀粉溶液用6 mL的无水乙醇沉淀,5 000 r/min离心10 min沉淀淀粉。离心结束后弃上清液,向沉淀物中加入10 mL的沸水溶解并在沸水浴中搅拌30 min。样品经0.45 μ m滤膜过滤,以未经4 α GTase处理的玉米淀粉溶液为对照,进行高压体积排阻色谱(HPSEC)色谱分析。ShodexOHpak SB-804 HQ色谱柱和OHpak SB-802.5 HQ色谱柱串联后保持柱温50℃,超纯水作为流动相,流量为1.0 mL/min,进样量为20 μ L,分析时间为30 min。在上述色谱条件下分析的葡聚糖标准样品(相对分子质量为9 600,21 100,

107 000,337 000,642 000)用于分子质量标准曲线的制作。

2.6 支链淀粉链长分布测定

分别称取20 mg原淀粉和经4 α GTase处理过的淀粉分散于2 mL体积分数90%的DMSO中,沸水浴煮沸1 h使其完全溶解,用4倍体积的无水乙醇沉淀,5 000 r/min离心10 min沉淀淀粉。离心结束后弃上清液,向沉淀物中加入2 mL预热的50 mmol/L的醋酸盐缓冲溶液(pH 3.5)使其溶解,再加入50 U/g的异淀粉酶40℃下反应24 h,沸水浴10 min终止反应。10 000 r/min离心10 min,取上清液稀释10倍,经0.45 μ m滤膜过滤后,采用高效阴离子交换色谱(HPAEC)法测定链长分布。

色谱柱型号:CarboPacPA200,检测器为安培脉冲检测器;温度:25℃;流量:0.5 mL/min,流动相A为0.15 mol/L NaOH溶液,流动相B为0.15 mol/L NaOH和0.5 mol/L醋酸钠混合液,采用梯度洗脱,程序为:体积分数60%流动相A+40%流动相B保持2 min,体积分数50%流动相A+50%流动相B保持8 min,体积分数40%流动相A+60%流动相B保持30 min,体积分数20%流动相A+80%流动相B保持20 min^[20]。

2.7 酶的添加顺序对 γ -CD产率的影响

采用同时加酶及先后加酶两种方式。配制质量分数5%的玉米淀粉溶液(溶解于pH 8.5的Tris-HCl缓冲液中),电炉煮沸糊化10 min,冷却至反应温度。对于先后加酶的方式:向冷却后的淀粉溶液中分别加入一定量的4 α GTase,充分混匀后在70℃、800 r/min下振荡反应24 h,反应结束后沸水浴30 min灭酶,待溶液温度冷却至50℃左右时,向溶液中加入CGTase反应24 h。对于同时加酶的方式:向淀粉溶液中同时加入一定量的4 α GTase和CGTase,在不同温度下反应一定的时间。上述反应结束后,取样500 μ L,沸水浴10 min灭酶,10 000 r/min离心15 min除去变性的酶蛋白和未反应的淀粉,上清液经0.45 μ m滤膜过滤后取20 μ L进行HPLC分析。

2.8 单因素试验

对先后加酶方式进行单因素实验。首先对4 α GTase的添加量进行了单因素实验,然后分别探讨了CGTase的添加量、反应时间及底物浓度对 γ -CD产率的影响,此时4 α GTase加酶量为4 U/g

淀粉,反应温度为 70 ℃,反应时间为 24 h。

2.8.1 4 α GTase 添加量对 γ -CD 产率的影响 向以 5% 的淀粉为底物中分别加入 1、2、4、8、16 U/g 淀粉的 4 α GTase,70 ℃反应 24 h 后,加入 8 U/g 淀粉的 CGTase,50 ℃反应 24 h 后进行产物分析。

2.8.2 CGTase 添加量对 γ -CD 产率的影响 向以 5% 的淀粉为底物且经 4 α GTase 反应后的溶液中加入 CGTase,加入量分别为 0.05、1、2、8、10 U 每克淀粉,50 ℃反应 24 h 后进行产物分析。

2.8.3 CGTase 反应时间对 γ -CD 产率的影响 向以 5% 的淀粉为底物且经 4 α GTase 反应后的溶液中加入 8 U/g 淀粉的 CGTase,50 ℃反应 2、5、8、11、24、30 h 后对产物进行分析。

2.8.4 底物质量分数对 γ -CD 产率的影响 向以质量分数 1%、3%、5%、10%、15% 的淀粉为底物且经 4 α GTase 反应后的溶液中加入 8 U/g 淀粉的 CGTase,50 ℃反应 24 h 后对产物进行分析。

2.9 正交试验

在单因素试验的基础上,采用 $L_9(3^4)$ 正交表对底物浓度,4 α GTase 添加量,CGTase 添加量和 CGTase 反应时间进行优化,以 γ -CD 得率为评定指标,试验因素水平表见表 1。

表 1 正交试验因素与水平设计表

Table 1 Design table of factor and level in orthogonal test

水平	因素			
	A 底物质量 分数/%	B 4 α GTase 添加量/(U/g)	C CGTase 添加量/(U/g)	D CGTase 反应时间/h
1	3	2	4	12
2	5	4	8	24
3	7	8	10	30

3 结果与分析

3.1 酶的添加顺序对 γ -CD 产率的影响

由图 1 可知,先加入 4 α GTase 预处理淀粉后再加入 CGTase 这种先后加酶的方法所制备 γ -CD 的产率显著优于两种酶同时加入的方式,并且两种酶协同作用所产 γ -CD 的产率均显著高于对照组;当加入 4 U/g 的 4 α GTase 时, γ -CD 的产率最高为

10.43%,比对照组多 41.71%。

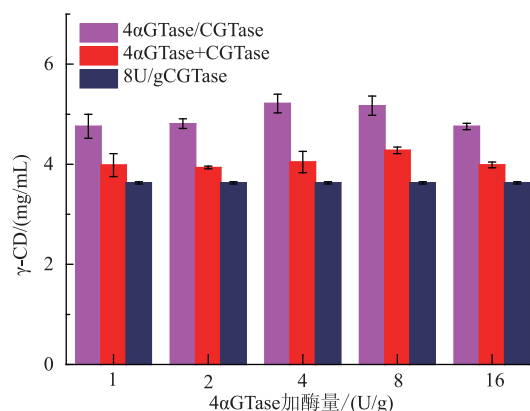


图 1 酶的添加顺序对 γ -CD 产率的影响

Fig. 1 Effect of the adding sequence of enzymes on the γ -cyclodextrin yield

推测造成这一现象的原因可能是因为加入 4 α GTase 在 70 ℃对淀粉预处理后淀粉的相对分子质量和结构发生了变化,使得经 4 α GTase 处理后的淀粉比原淀粉更适合作为 CGTase 进一步反应的底物^[21]。为验证这一推测,研究了普通玉米淀粉经 4 α GTase 酶解后淀粉相对分子质量和分子结构的变化,结果如图 2、图 3 所示。经测定未经处理的普通玉米淀粉的重均相对分子质量 M_w 为 3.36×10^7 ,而淀粉经 4 α GTase 酶解 10 h 之后的重均相对分子质量 M_w 为 4.75×10^5 ,随着酶解时间延长为 24 h 淀粉重均相对分子质量 M_w 变为 2.35×10^5 ,而将这 3 种相对分子质量的淀粉作为底物,再经 CGTase 催化所得 γ -CD 的产率分别为 7.26%、9.38%、10.43%。并且由图 3 可知,随着 4 α GTase 酶添加量的增加,支链淀粉的 A 链(DP<12)、B2(DP 25-36)、B3 链(DP>36)的相对含量都增加,而将这 3 种结构的淀粉作为底物,再经 CGTase 催化所得 γ -CD 的产率分别为 9.52%、10.43%、10.34%。该结果表明,玉米淀粉经 4 α GTase 作用后的分子大小及分子结构更适于作为 CGTase 的催化底物。

3.2 4 α CGTase 添加量对 γ -CD 产率的影响

由表 2 可以看出,随着 4 α GTase 添加量的增加, γ -CD 的产率先上升后下降,4 α GTase 加入量为 4 U/g 时 γ -CD 的产率达到最高。原因可能是过多的 4 α GTase 作用淀粉之后所产生的较小分子量的物质不适于作为 CGTase 的最佳底物。

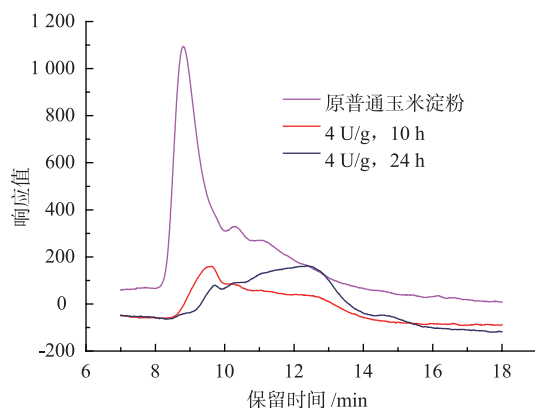


图2 普通玉米淀粉经4通GTase酶解前后相对分子质量分布图

Fig. 2 Molecular weight distribution of native and 4nGTase-treated corn starch

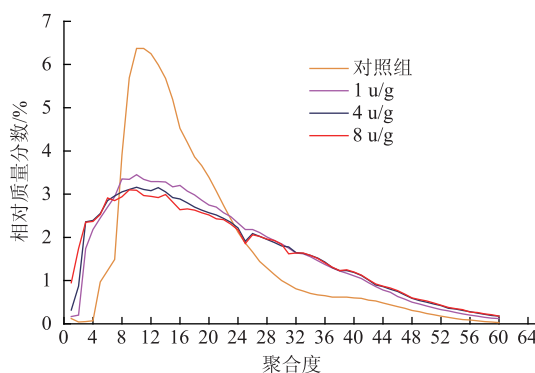


图3 普通玉米淀粉经4αGTase酶解前后支链淀粉链长分布图

Fig. 3 Chain length distribution of native and 4αGTase-treated corn starch

表2 4αGTase加酶量对 γ -CD产率的影响

Table 2 Effect of the amount of 4- α -glucosyltransferase on the γ -cyclodextrin yield

酶量/(U/g)	γ -CD 得率/%	环糊精质量分数/%	
		β -CD	γ -CD
1	9.52 $\pm$ 0.52	45.69 $\pm$ 1.63	54.31 $\pm$ 1.63
2	9.62 $\pm$ 0.26	45.60 $\pm$ 0.01	54.40 $\pm$ 0.01
4	10.43 $\pm$ 0.43	47.97 $\pm$ 0.65	52.03 $\pm$ 0.65
8	10.34 $\pm$ 0.45	47.86 $\pm$ 0.58	52.14 $\pm$ 0.58
16	9.51 $\pm$ 0.18	45.80 $\pm$ 0.69	54.20 $\pm$ 0.69

3.3 CGTase添加量对 γ -CD产率的影响

由表3可知, γ -CD的得率随着CGTase添加量的增加呈先上升后下降的趋势,当CGTase添加量为8 U/g时, γ -CD的得率达到最大,为11.93%;并且随着加酶量继续增加,不仅 γ -CD的得率下降,而

且 γ -CD所占的百分比也减少, β -环糊精所占百分比增加。引起这一现象的原因可能是产生的 γ -CD进一步被CGTase催化转化为 β -CD或其他小分子低聚糖所致。

表3 CGTase加酶量对 γ -CD产率的影响

Table 3 Effect of the amount of cyclodextrin glucosyl transferase on the γ -cyclodextrin yield

酶量/(U/g)	γ -CD 得率/%	环糊精质量分数/%	
		β -CD	γ -CD
0.05	3.96 $\pm$ 0.06	—	1
1	5.82 $\pm$ 0.17	34.52 $\pm$ 3.50	65.48 $\pm$ 3.50
2	10.08 $\pm$ 0.37	36.47 $\pm$ 3.49	63.53 $\pm$ 3.49
8	11.93 $\pm$ 0.14	41.68 $\pm$ 0.63	58.33 $\pm$ 0.63
10	10.31 $\pm$ 0.71	47.62 $\pm$ 0.54	52.38 $\pm$ 0.54

3.4 CGTase反应时间对 γ -CD产率的影响

由图4可知, γ -CD的得率随着反应时间的增加呈先增加后下降的趋势,当反应24 h时 γ -CD的得率最高,为11.83%,因此确定CGTase的最佳反应时间为24 h。

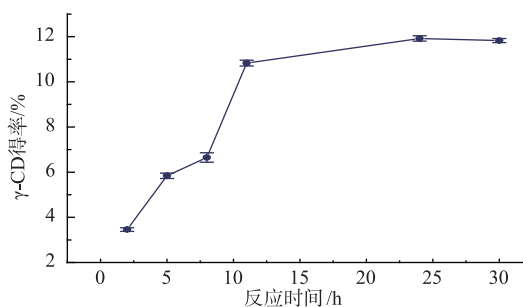
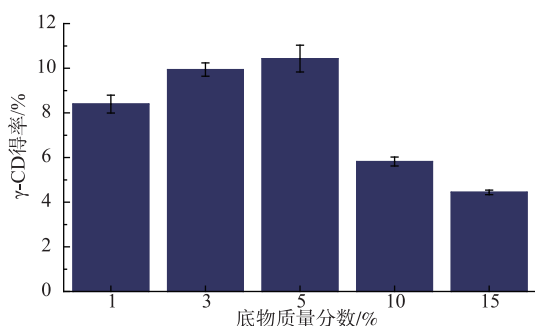


图4 反应时间对 γ -CD产率的影响

Fig. 4 Effect of the reaction time on the γ -cyclodextrin yield

3.5 底物浓度对 γ -CD产率的影响

由图5可知,随着反应底物质量分数的增加, γ -CD的得率呈现先增加后下降的趋势。当反应底物质量分数增加到5%时, γ -CD的得率最高,为10.43%;随着淀粉质量分数的进一步增加, γ -CD得率迅速下降。造成这一现象的原因可能有:随着底物质量分数从5%增加到15%,玉米淀粉的粘度增大,导致流动性变差,底物和酶分子之间无法充分相互接触,从而使得反应速率降低;其次是高浓度的底物,使得多个底物分子占据酶蛋白的部分活性位点,形成无效的中间产物,从而抑制了酶活性;此外,体系中较高质量分数的小分子物质将抑制CGTase的环化作用,增强其偶合和歧化作用,从而降低 γ -CD的得率。

图5 底物质量分数对 γ -CD产率的影响Fig. 5 Effect of the substrate concentration on γ -cyclodextrin yield

3.6 正交试验结果

按照表1的设计进行正交试验,结果如表4所示。根据极差 R 的大小,由直观分析可知各因素对 γ -CD产率影响的大小顺序为 C (CGTase添加量) $>A$ (底物浓度) $>D$ (CGTase反应时间) $>B$ (4 α GTase添加量),最佳工艺为 $A_2B_2C_2D_3$,即底物质量分数5%、4 α GTase添加量4 U/g、CGTase添加量8 U/g、CGTase反应时间30 h。按照方案 $A_2B_2C_2D_3$ 进行验证试验, γ -CD的产率为12.83%,比单酶法制备 γ -CD产率提高了76.7%。

表4 正交试验结果

Table 4 Results of the orthogonal test

试验号/ 列号	A 底物质量分数/%	B 4 α GTase 添加量/(U/g)	C CGTase 添加量/(U/g)	D CGTase 反应时间/h	γ -CD 得率/%
1	1(3)	1(2)	1(4)	1(12)	6.80 $\pm$ 1.39
2	1	2(4)	2(8)	2(24)	9.58 $\pm$ 3.02
3	1	3(8)	3(10)	3(30)	9.50 $\pm$ 0.67
4	2(5)	1	2	3	10.90 $\pm$ 0.24
5	2	2	3	1	9.86 $\pm$ 0.73
6	2	3e	1	2	6.96 $\pm$ 0.25
7	3(7)	1	3	2	8.26 $\pm$ 0.75
8	3	2	1	3	7.38 $\pm$ 0.18
9	3	3	2	1	7.27 $\pm$ 0.73
k_1	8.627	8.653	7.047	7.977	
k_2	9.240	8.940	9.250	8.267	
k_3	7.637	7.910	9.207	9.260	
R	1.603	1.030	2.203	1.283	

4 结语

通过4 α GTase和CGTase双酶修饰淀粉,研究了其对 γ -CD得率的影响。发现双酶法能够显著提高 γ -CD的得率,双酶的添加顺序为先加入

4 α GTase,再加入CGTase;反应条件为底物质量分数5%,4 α GTase添加量4 U/g淀粉,CGTase添加量8 U/g淀粉,反应时间30 h,在此条件下 γ -CD的得率为12.83%,比单酶法制备 γ -CD的得率提高了76.7%。

参考文献:

- [1] FREUDENBERG K, CRAMER F. Notizen; Die Konstitution der Schardinger-Dextrine α , β and γ [J]. **Zeitschrift für Naturforschung B**, 1948, 3(11-12): 464-466.
- [2] 金征宇, 徐学明, 陈寒青, 等. 环糊精化学 - 制备与应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 1-35.
- [3] LI Z, WANG M, WANG F, et al. γ -Cyclodextrin: a review on enzymatic production and applications [J]. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 2007, 77(2): 245-255.
- [4] KIRK O, BORCHERT T V, FUGLSANG C C. Industrial enzyme applications [J]. **Current Opinion in Biotechnology**, 2002, 13(4): 345-351.
- [5] GOH K M, MAHADI N M, HASSAN O, et al. The effects of reaction conditions on the production of γ -cyclodextrin from tapioca

- starch by using a novel recombinant engineered CGTase [J]. **Journal of Molecular Catalysis B:Enzymatic**,2007,49(1):118-126.
- [6] WANG F,DU G,LI Y,et al. Optimization of cultivation conditions for the production of γ -cyclodextrin glucanotransferase by *Bacillus macorou*s[J]. **Food Biotechnology**,2005,18(2):251-264.
- [7] BIWER A,ANTRANIKIAN G,HEINZLE E. Enzymatic production of cyclodextrins [J]. **Applied Microbiology and Biotechnology**,2002,59(6):609-617.
- [8] FUJITA Y,TSUBOUCHI H,INAGI Y,et al. Purification and properties of cyclodextrin glycosyltransferase from *Bacillus* sp. AL-6[J]. **Journal of Fermentation and Bioengineering**,1990,70(3):150-154.
- [9] BENDER H. An improved method for the preparation of cyclooctaamylose,using starches and the cyclodextrin glycosyltransferase of *Klebsiella pneumoniae* M 5 al[J]. **Carbohydrate Research**,1983,124(2):225-233.
- [10] RENDLEMAN J A. Enhanced production of cyclomaltooctaose (γ -cyclodextrin) through selective complexation with C 12 cyclic compounds[J]. **Carbohydrate Research**,1992,230(2):343-359.
- [11] CHAROENLAP N,DHARMSTHITI S,SIRISANSANEYAKUL S,et al. Optimization of cyclodextrin production from sago starch[J]. **Bioresource Technology**,2004,92(1):49-54.
- [12] PEDERSEN S,DIJKHUIZEN L,DIJKSTRA B W,et al. A better enzyme for cyclodextrins[J]. **Chemtech**,1995,25(12):19-25.
- [13] STARNES R L. Thermostable cyclodextrin glycosyl transferase and processes using it; U.S. Patent 6,184,001[P]. 2001-2-6.
- [14] PISHTIYSKI I,ZHEKOVA B. Effect of different substrates and their preliminary treatment on cyclodextrin production[J]. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**,2006,22(2):109-114.
- [15] RENDLEMAN J A. Enhancement of cyclodextrin production through use of debranching enzymes [J]. **Biotechnology and Applied Biochemistry**,1997,26(1):51-61.
- [16] POHU A,PUTAUX J L,PLANCHOT V,et al. Origin of the limited α -amylolysis of debranched maltodextrins crystallized in the A form; A TEM study on model substrates[J]. **Biomacromolecules**,2004,5(1):119-125.
- [17] ZHENG M,ENDO T,ZIMMERMANN W. Enzymatic synthesis and analysis of large-ring cyclodextrins [J]. **Australian Journal of Chemistry**,2002,55(2):39-48.
- [18] JI Xuexia,WANG Jinpeng,XU Xueming,et al. Purification and properties of 4-a-glucanotransferase producing large-ring cyclodextrin[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**,2010,29(3):336-41.(in Chinese)
- [19] MARTINS R F,HATTI K R. A new cyclodextrin glycosyltransferase from an alkaliphilic *Bacillus agaradhaerens* isolate: purification and characterisation[J]. **Enzyme and Microbial Technology**,2002,30(1):116-124.
- [20] CAI L,SHI Y C. Structure and digestibility of crystalline short-chain amylose from debranched waxy wheat,waxy maize,and waxy potato starches[J]. **Carbohydrate Polymers**,2010,79(4):1117-1123.
- [21] YOSHINAO I,NOBUHIRO H,KAZUMASA S. Process for producing cyclodextrins; Japan, Patent 168295.1[P].1989.

会 议 消 息

会议名称(中文):2017 中国食用菌产业年会

所属学科:动植物微生物学,病毒与免疫学

开始日期:2017-06-22

结束日期:2017-06-25

所在城市:山西省 太原市

具体地点:山西国贸大饭店

主办单位:中国菌物学会

承办单位:山西省农业科学院食用菌研究所、山西农业大学、山西大学、易菇网

会议主席:常明昌 山西农业大学教授 山西省食用菌协会会长

联系人:莫明珂

联系电话:13212781570

E-MAIL:momk@emushroom.net

会议网站:http://www.msconfungi.org.cn/templates/T_Contents/index.aspx?nodeid=8&page=ContentPage&contentid=782