

大肠杆菌工程菌产木聚糖酶工艺优化 及酶学性质研究

Study on technology and enzymatic property of xylanase produced
from engineered *Escherichia coli*

刘国锋^{1,2}

LIU Guo-feng^{1,2}

(1. 湖南尤特爾生化有限公司, 湖南 岳阳 414000; 2. 山东尤特爾生物科技有限公司, 山东 邹城 273500)

(1. Hunan Youtell Biochemical Co., Ltd., Yueyang, Hunan 414000, China;

2. Shandong Youtell Biochemical Co., Ltd., Zoucheng, Shandong 273500, China)

摘要:对大肠杆菌工程菌产木聚糖酶的工艺进行优化,并对木聚糖酶的酶学性质进行研究。确定了提取工艺路线,即依次经过细胞破碎(高速珠磨法)、固液分离及除菌(中空纤维膜过滤)、超滤浓缩及烘干包衣步骤后得到肠溶木聚糖酶产品。该产品热稳定性好,在 pH 2.5 磷酸盐缓冲液中释放度为 5.0%,在 pH 5.5 磷酸盐缓冲液中释放度为 98.5%,产品外观光泽性好,能够很好地满足饲料酶市场要求。该木聚糖酶的最适 pH 值为 6.4,最适温度为 55 ℃。该酶具有较好的热稳定性,含水分 17% 的酶在 90 ℃ 条件下 2.5 min 仅失活 13.6%。对木聚糖酶降解产物进行检测表明该木聚糖酶是一种内切酶。

关键词:木聚糖酶;大肠杆菌;酶学性质

Abstract: In this study, the extraction technology and enzymatic property of xylanase produced from engineered *Escherichia coli* are fully examined. The extraction of production process of xylanase was determined and the forage enteric xylanase was successfully obtained after cell broken (high-speed ball grinding), solid-liquid separation, aseptic (filtering) hollow fiber membrane, ultrafiltration concentration and drying packaging orderly. This production showed desirable thermal stability and its release rate was 5% and 98.5% in pH 2.5 and pH 5.5 phosphate buffer, respectively. The product appearance exhibited good gloss and it could meet the requirements of feed enzyme market well. The xylanase showed the maximal activity at pH 6.4 and 55 ℃, and xylanase with 17% water content just lost

13.6% activity at 90 ℃ after dealing with for 2.5 min. By measuring the oat spelt xylan degradation products, the enzyme was revealed to be a kind of Endo-xylanase.

Keywords: xylanase; *Escherichia coli*; enzymatic property

木聚糖酶(1,4- β -D-xylan xylanohydrolase, EC.3.2.1.8)是一类木聚糖降解酶系,属于水解酶类。木聚糖酶主要包括:内切 β -1,4-木聚糖酶和 β -木糖苷酶。狭义上的木聚糖酶是指 β -1,4-内切木聚糖酶^[1-2]。木聚糖酶可用于生物乙醇的生产,在食品、饲料等行业中也有着广泛的应用^[3]。

木聚糖酶是饲料主要用酶之一,其主要作用是分解由五碳糖聚合而成的半纤维素和木聚糖,主要分解产物有木糖、木二糖、木三糖和少量的阿拉伯糖。在食品工业中木聚糖酶也有着比较广泛的应用,在面包加工过程中添加适量的木聚糖酶不仅能提高面团的机械加工性能,还可以消除发酵过度的影响,增大面包体积,改善面包芯质地以及延缓老化^[4]。另外,近年来木聚糖酶广泛用于酶法生产低聚木糖上,作为功能性低聚糖的一种,低聚木糖在保健食品和医药行业有广泛的应用前景,对高脂血症有很好的治疗效果,能有效地降低血压、血清胆固醇^[5]。目前,对木聚糖酶的研究侧重于高产木聚糖酶基因工程菌的构建、木聚糖酶诱导表达优化、木聚糖酶功能基因的鉴定及比较等方面^[6-8]。中国生产木聚糖酶的厂家较少,因酶活力单位较低,质量不稳定,木聚糖酶产品主要依靠进口。因此开发高活性的木聚糖酶对打破国外厂家垄断、提高企业经济效益方面具有广阔的前景。本试验拟在前期研究^[9]的基础上,对工程菌产木聚糖酶提取工艺进行探究,并对获得的木聚糖酶的酶学性质进行研究,以期对木聚糖酶工业化大生产提供借鉴。

基金项目:科技型中小企业技术创新项目(编号:14C26213701984)

作者简介:刘国锋(1980—),男,湖南尤特爾生化有限公司工程师,硕士。E-mail:22028154@qq.com

收稿日期:2017-10-25

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

大肠杆菌工程菌发酵液:湖南尤特生化有限公司;

丙烯酸树脂:生化试剂,辽宁三环树脂有限公司;

中空纤维膜:PWSW-543 (0.1 μm , 0.08 m^2)、UMP153 (0.2 μm , 0.08 m^2)、ULP143 (0.45 μm , 0.1 m^2), 颇尔过滤器(北京)有限公司;

陶瓷膜、陶瓷超滤膜管单孔道 (0.2 μm , 0.08 m^2): 合肥世杰膜工程有限责任公司。

1.1.2 主要仪器设备

精密 pH 计: 雷磁 PHS-3C 型, 上海仪电科学仪器股份有限公司;

电热恒温鼓风干燥箱: DHG-9140A 型, 上海精宏实验设备有限公司;

水分快速测定仪: SH10AD 型, 上海良平仪器有限公司;

浊度测定仪: XZ-0101 型, 上海海恒机电仪表有限公司;

管式连续流离心机: GQ145WZ 型, 上海佳毅机械设备有限公司;

板框压滤机: 1000 型, 佛山金凯地过滤设备有限公司;

电热恒温水浴锅: HH-8 型, 常州国华电器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 生产工艺流程

大肠杆菌→摇瓶种子→小罐种子→发酵罐发酵→细胞破碎→中空纤维膜过滤→超滤浓缩→固液混合→摇摆造粒→抛丸→烘干→筛分→包衣→配制→检验→包装→成品

1.2.2 酶的提取工艺

(1) 珠磨法提取木聚糖酶的工艺: 将发酵液冷却至 18 $^{\circ}\text{C}$ 后, 以同一进料速度连续流入 DYNO-mill ECM 珠磨机中, 在不同直径大小的研磨珠及其装填系数下进行细胞破碎, 检测破碎液酶活。以实验室超声波破碎发酵液测得的酶活为参照, 按式(1)计算细胞破碎率。

$$C_1 = \frac{U_1}{U_2} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

C_1 ——细胞破碎率, %;

U_1 ——珠磨机破碎液酶活, IU;

U_2 ——超声波破碎液酶活, IU。

(2) 膜分离设备选型及工艺参数优化: 选用 PWSW-543 (0.1 μm , 0.08 m^2)、UMP153 (0.2 μm , 0.08 m^2)、ULP143 (0.45 μm , 0.1 m^2) 3 种型号的膜柱, 采用恒压过滤模式进行酶制剂澄清过滤。

膜柱化学清洗方法: 试验结束后, 用冷水、55 $^{\circ}\text{C}$ 热水冲洗, 再使用 1% 的碱 + 300 mg/L 过氧化氢在 55 $^{\circ}\text{C}$ 清洗 10 min。清洗完毕后, 通过中空纤维膜柱水通量恢复率来考察中空纤维膜堵塞程度, 浊度用浊度测定仪测定。

(3) 超滤浓缩木聚糖酶的工艺研究: 将截留分子量为 5 000, 8 000, 10 000, 20 000 D 聚醚砜(PES)卷式超滤膜分别装入超滤机中, 取适量的中性木聚糖酶倒入超滤桶中, 在 20 $^{\circ}\text{C}$ 同条件下进行浓缩。分别测定超滤透过液酶活、浓缩液酶活, 按式(2)计算超滤收率。

$$C_2 = \frac{U_3}{U_4} \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

C_2 ——超滤收率, %;

U_3 ——超滤透过液酶活, IU;

U_4 ——浓缩液酶活, IU。

(4) 固态肠溶木聚糖酶包衣材料选择: 在槽型混合机中将浓缩酶液、玉米淀粉、糊精、磷酸氢二钠及磷酸二氢钠按照一定比例混合均匀, 送入摇摆式颗粒机进行摇摆造粒。将成型后的颗粒使用抛丸机抛圆。将抛圆后的光滑小丸用沸腾干燥制粒机在 50 $^{\circ}\text{C}$ 下干燥。将干燥后的小丸用振动筛分选出 30~80 目的小丸。将不同型号的聚丙烯树脂放入 95% 酒精中, 按 1:20 的质量比混合配制成肠溶包衣材料。将分选出的小丸放入旋流流化床包衣机中, 用包衣机配枪把配制的不同肠溶包衣材料均匀喷洒到小丸上, 50 $^{\circ}\text{C}$ 下干燥制得固态肠溶木聚糖酶。将肠溶酶置于 80 $^{\circ}\text{C}$ 5 min、pH 2.5 磷酸缓冲液 120 min、pH 5.5 磷酸缓冲液 15 min 条件下测酶活。

1.2.3 酶学性质的研究

(1) 木聚糖酶最适 pH 值和最适温度的确定: 测定木聚糖酶在不同 pH (3.2~9.6) 及不同温度 (35~70 $^{\circ}\text{C}$) 条件下的酶活。酶活力单位(IU)规定为: 温度 50 $^{\circ}\text{C}$ 、pH 6.5 条件下, 每分钟从浓度为 5.0 mg/mL 的桦木木聚糖溶液中产生 1 μmol 还原糖所需要的酶量, 还原糖(采用斐林法测定^[10])以木聚糖含量计。木聚糖酶酶活的测定: 参照文献[11]。

(2) 酶的热稳定性测定: 将酶液分别在 40, 50, 60, 70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中放置不同时间后, 在 pH 6.5、50 $^{\circ}\text{C}$ 条件下测定酶活。准确称取 1.000 g 样品, 加入 10 mL 水(加水后总含水量 17%), 充分搅拌后盖严, 于 90 $^{\circ}\text{C}$ 恒温干燥箱处理 2.5, 5.0, 7.5, 10.0 min, 立即提取, 在 pH 6.5、50 $^{\circ}\text{C}$ 条件下测定酶活。

(3) 木聚糖酶降解产物研究: 用薄层色谱法鉴定 pH 6.5、50 $^{\circ}\text{C}$ 条件下燕麦木聚糖经木聚糖酶降解后的产物种类。

2 结果与讨论

2.1 珠磨法工艺参数优化

胞内产物的提取首先需要对细胞进行破碎, 细胞破碎方法的选择直接影响产品品质及生产成本。近年来常用的几种细胞破碎方法有高压匀浆法、高速珠磨法、超声破碎、酶溶法及化学渗透法^[12]。本研究采用高速珠磨法。

从表 1 可以看出, 在相同装填系数条件下, 研磨珠直径越小, 破碎率越高, 但电能消耗也递增。在相同直径条件下, 研磨珠装填系数越高, 破碎率越高, 但电能消耗也递增。选择第 5 组工艺参数, 破碎效果较好, 生产能耗也相对较低。

表 1 研磨珠直径及装填系数对破碎效果的影响

Table 1 The effect of the grinding bead diameter and filling coefficient on the breaking effect

分组	研磨珠直径/mm	装填系数/%	破碎率/%	电动机电流大小/A
1	0.2~0.4	70	94.0	35
2	0.2~0.4	85	98.8	38
3	0.2~0.4	90	99.0	40
4	0.6~0.8	70	93.0	28
5	0.6~0.8	85	98.5	30
6	0.6~0.8	90	98.6	35
7	1.0~1.5	70	85.0	26
8	1.0~1.5	85	93.0	28
9	1.0~1.5	90	93.2	33

在实际生产过程中发现,细胞破碎次数越多,细胞破碎率越高,但不是无限增大的。当破碎 1 次后破碎近乎完全时,考虑到经济性和避免生产操作的复杂,再增加破碎次数是不必要的,因此选择破碎 1 次。

2.2 固液分离方法选择

在固液分离过程中,工业上常用的设备有离心机、板框压滤机、真空转鼓过滤机及膜过滤系统^[13]。本研究选用管式连续流离心机(10 000 r/min)、板框压滤机、陶瓷膜系统、中空纤维膜系统对细胞破碎液进行初步测试,结果见表 2。

从表 2 可以看出,选用陶瓷膜系统和中空纤维膜系统处理细胞破碎液比较好。另外,膜过滤系统还能达到一次性过滤澄清物料并去除细菌的效果。

2.3 膜分离方法选择

在前面的试验基础上,按照 1.2.2(2)对细胞破碎液进行进一步过滤测试,结果见表 3。

从表 3 可以看出,陶瓷膜孔径受加工精度的影响,透过液可以检测出细菌,其滤出液酶活较同孔径大小的中空纤维

表 2 几种固液分离方法初步测试结果

Table 2 The initial test results of several kinds of solid-liquid separation method

分离方法	结果
管式连续流离心机	离心后出来液体不澄清
板框压滤机	滤出液澄清,但过滤衰减快,过滤处理总量少,劳动强度高
管式连续流离心机+板框压滤机	滤出液澄清,但过滤速度慢,过滤时间长,劳动强度高
陶瓷膜系统	透过液澄清,操作简便,劳动强度低
中空纤维膜系统	透过液澄清,操作简便,劳动强度低

膜透过液酶活低。另外,在酶的收率方面,选用陶瓷膜的收率只有 75%,小于中空纤维膜的,主要是陶瓷膜系统运行所需压力较中空纤维膜系统高,酶受剪切力作用大,导致陶瓷膜系统所得收率较中空纤维膜系统收率低。

为进一步选择合适的中空纤维膜型号,按照 1.2.2(2)分别进行了测试,结果见表 4 和图 1、2。

从表 4 和图 2 中可以看出,中空纤维膜膜柱 UMP153 和膜柱 ULP143 在恒定过膜压力 0.05 MPa 条件下过滤酶液,实际过滤时间分别为 1 h 43 min 和 1 h 5 min,平均通量分别

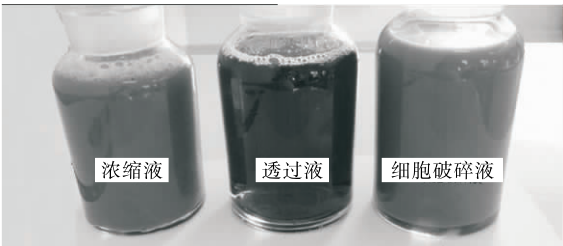


图 1 细胞破碎液、透过液(膜柱 ULP143)和浓缩液浊度比较
Figure 1 The comparison of the turbidity of cell disruption liquid, penetration liquid (film column ULP143) and concentrate liquid

表 3 不同类型膜过滤系统测试结果[†]

Table 3 The test results of different types of filtration system

膜型号	细胞破碎液 浊度/NTU	透过液浊度/ NTU	原料酶活/ (IU·mL ⁻¹)	透过液酶活/ (IU·mL ⁻¹)	收率/%	平均通量/ (L·m ⁻² ·h ⁻¹)	细菌总数/ (CFU·mL ⁻¹)
陶瓷膜	—	14.3	124 000	105 000	75.0	18.2	85 000
中空纤维膜 ULP143	—	12.0	124 000	121 000	97.5	16.8	0

[†] “—”表示细胞破碎液浊度超过仪器检测上限。

表 4 膜柱 UMP153 及膜柱 ULP143 测试结果[†]

Table 4 The test results of film column UMP153 and film column ULP143

膜型号	细胞破碎液 浊度/NTU	透过液浊度/ NTU	原料酶活/ (IU·mL ⁻¹)	透过液酶活/ (IU·mL ⁻¹)	收率/ %	平均通量/ (L·m ⁻² ·h ⁻¹)	细菌总数/ (CFU·mL ⁻¹)
中空纤维膜 UMP153	—	10.2	120 000	93 000	93.5	10.9	0
中空纤维膜 ULP143	—	12.2	120 000	118 000	97.6	16.6	0

[†] “—”表示细胞破碎液浊度超过仪器检测上限。

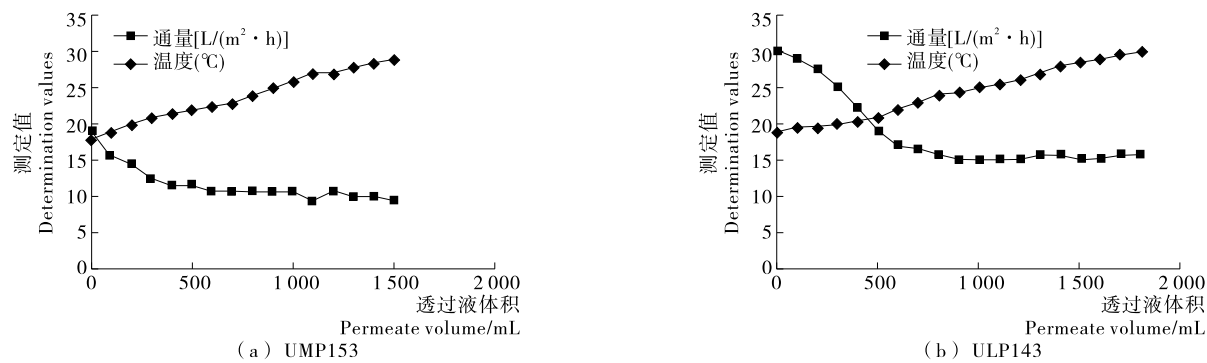


图 2 UMP153 和 ULP143 过滤过程通量、温度随透过液体积的变化趋势

Figure 2 The variation trend of flux and temperature with the volume of penetration liquid in the UMP153 and ULP143 filtration process

为 10.9,16.6 L/(m²·h)。膜柱经过清洗后,水通量恢复率分别为 94%,100%。可见,膜柱 ULP143 过滤酶液,收率高,通量理想,透过液质量满足控制要求。膜柱采用冷水、55℃热水、55℃1%的碱液+300 mg/L 过氧化氢上下游同时清洗工艺,可恢复滤膜水通量。因此,后续生产中选用膜柱 ULP143 中空纤维膜用于固液分离工段。

2.4 酶液浓缩方法选择及工艺参数优化

工业生产上常用的酶液浓缩方法有盐析法、冷冻干燥浓缩法、真空薄膜浓缩法、超滤膜浓缩法^[14]。从能耗、环保、提取收率及生产操作等方面考虑,采用超滤膜浓缩法用于工业化大生产。本研究中,木聚糖酶分子量为 30 kD,选用不同超滤膜孔径进行浓缩测试,结果见表 5。

从表 5 可以看出,超滤膜 PES20 透过的废液通量最大,但废液酶活也最高,提取收率受到影响。超滤膜 PES5 透过的废液酶活最低,但废液通量最小,因酶液循环次数多酶蛋白受超滤系统剪切力破坏多,提取收率受到较大影响。超滤膜 PES10 超滤浓缩酶液,透过的废液酶活、通量及超滤收率

在 4 组超滤膜中比较理想,能够满足生产控制要求。因此,选用超滤膜 PES10 用于超滤浓缩工段。

2.5 固态肠溶木聚糖酶包衣材料选择

酶作为饲料添加剂在饲料中得到大量使用。饲用肠溶酶相对颗粒酶在表面设计一层隔水膜,使其在饲料制粒的过程中可以免除高温水蒸气引起的酶失活,增加了酶的湿热稳定性。另一方面,这层隔水膜在强酸性环境中不会崩解,可以保证包含其内的生物酶顺利通过动物胃环境而不失活,最后到达偏中性的小肠定点释放发挥作用。因而,固态肠溶木聚糖酶具有广阔的市场前景,而生产固态肠溶木聚糖酶的关键在于包衣材料的选择。分别选取肠溶性 I、Ⅱ、Ⅲ号丙烯酸树脂作薄膜包衣材料包衣后,将产品进行高温及释放度测试,结果见表 6。

由表 6 中可以看出,考虑到酶活和颗粒外观的特性,选择Ⅱ和Ⅲ号丙烯酸树脂继续进行包衣优化试验。将Ⅱ和Ⅲ号丙烯酸树脂按照不同比例作薄膜包衣材料包衣后,将产品进行高温及释放度测试,结果见表 7。由表 7 可知,Ⅱ和Ⅲ号

表 5 不同孔径超滤膜超滤测试结果

Table 5 The test results of different aperture ultrafiltration membrane

膜类型	截留分子量/ D	原料液酶活/ (IU·mL ⁻¹)	废液酶活/ (IU·mL ⁻¹)	平均通量/ (L·m ⁻² ·h ⁻¹)	超滤收率/ %
PES5	5 000	80 000	50	1.2	73.6
PES8	8 000	80 000	100	10.0	92.4
PES10	10 000	80 000	380	28.8	98.5
PES20	20 000	80 000	13 000	37.5	70.5

表 6 不同型号包衣材料测试结果

Table 6 The test results of different types of coating material

型号	酶活保存率/%			颗粒外观
	80℃ 5 min	pH 2.5 磷酸盐 缓冲液 120 min	pH 5.5 磷酸盐 缓冲液 15 min	
I	95.0	55.0	95.0	外观光泽性差,包衣过程中易黏连
Ⅱ	98.8	5.0	98.5	外观光泽性差,包衣过程中不易黏连
Ⅲ	98.3	6.8	96.0	外观光泽性好,包衣过程中易黏连

表 7 不同比例包衣材料测试结果

Table 7 The test results of different propotion of coating material

Ⅱ : Ⅲ (质量比)	酶活保存率/%			颗粒外观
	80 ℃ 5 min	pH 2.5 磷酸盐 缓冲液 120 min	pH 5.5 磷酸盐 缓冲液 15 min	
2 : 1	98.8	5.0	98.5	外观光泽性差,包衣过程中不易黏连
1 : 1	98.5	5.0	98.5	外观光泽性好,包衣过程中不易黏连
1 : 2	98.5	5.8	98.2	外观光泽性好,包衣过程中易黏连

丙烯酸树脂按照质量比 1 : 1 进行包衣后,产品酶活达到了 98.5%、颗粒外观光泽性好、包衣过程中不易黏连,能够满足生产控制要求。

2.6 木聚糖酶的酶学性质研究

2.6.1 木聚糖酶最适条件研究 酶的酶学性质对酶的工业化应用具有重要的作用,酶的最适 pH 和最适反应温度是酶的重要性质,本研究对木聚糖酶在不同 pH 和温度下的酶活力进行了测定,结果见图 3。由图 3(a)可看出,木聚糖酶活力随着 pH 的增加呈现先增加后降低的趋势,pH 为 6.4 时木聚糖酶活力达到最高。因此,确定木聚糖酶的最适 pH 为 6.4。

由图 3(b)可知,该木聚糖酶的酶活在低于 55 ℃ 下呈缓慢上升趋势,当温度高于 55 ℃ 后酶活急剧降低,温度为 55 ℃ 时酶活力最高。

2.6.2 木聚糖酶热稳定性研究 由图 4 可看出,该木聚糖酶在 40~50 ℃ 条件下 4 h 能 100% 保持活性,含水量 17% 的酶在 90 ℃ 条件下 2.5 min 仅失活 13.6%,该木聚糖酶具有较好的热稳定性。同干热处理相比,湿热处理对酶活的影响要大得多,与其他研究者^[15-16]得出的结论一致。说明在相同温度条件下湿热环境更不利于木聚糖酶保持活力。

2.7 木聚糖酶降解产物的研究

用薄层色谱法测定了收集到的燕麦木聚糖降解产物 S1、S2、S3 和 S4,结果见图 5。由图 5 可知,降解产物 S1 中包含木糖和木二糖;降解产物 S2 中包含木糖、木二糖、木三糖、木四糖和木五糖;降解产物 S3 主要为葡萄糖;降解产物 S4 主要为阿拉伯糖。降解产物主要包括木二糖、木三糖、木四糖和木五糖,这 4 种糖占降解产物总量的 90% 以上,充分说明该木聚糖酶是一种内切酶。

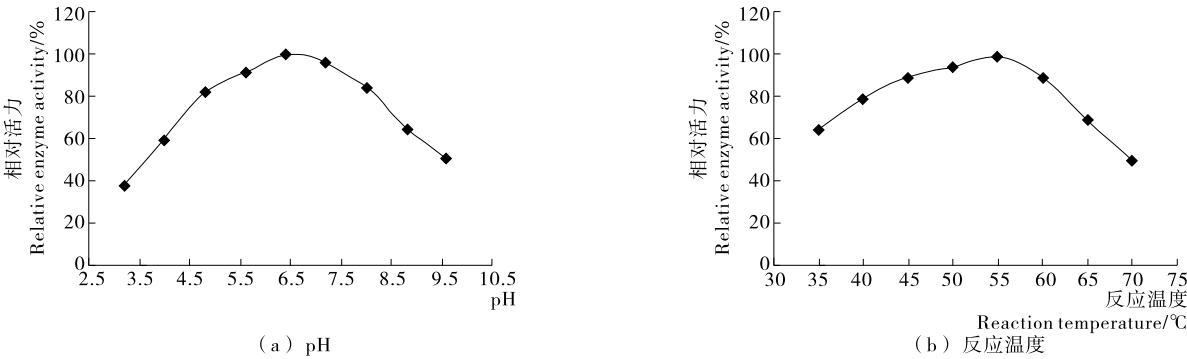


图 3 pH 和温度对酶活力的影响
Figure 3 The effect of pH and temperature on the enzyme activity

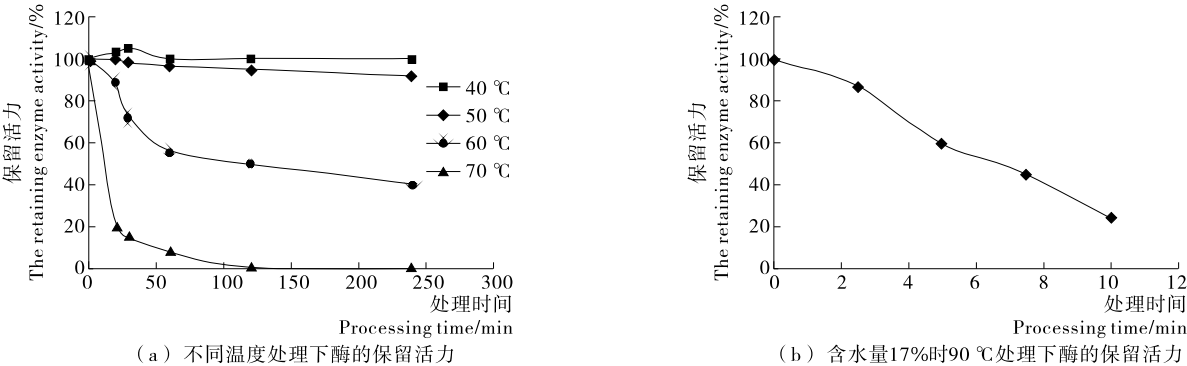


图 4 酶的湿热稳定性和含水量为 17% 时在 90 ℃ 的热稳定性
Figure 4 The curve of hydrothermal stability of enzyme and the thermal stability of the enzyme with 17% water content under 90 ℃

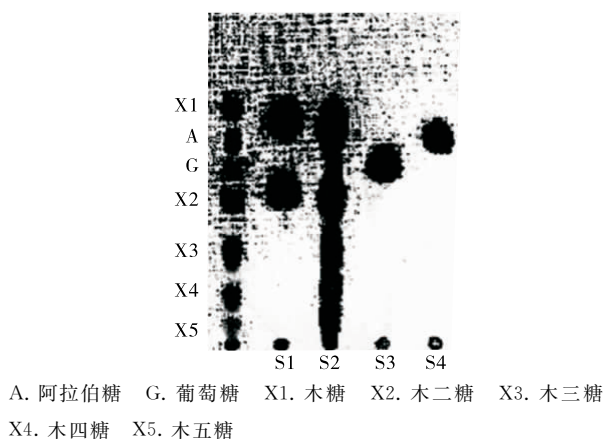


图5 酶对燕麦木聚糖的降解产物

Figure 5 The production from the degradation of oat spelt xylan by xylanase

3 结论

本试验对大肠杆菌工程菌产木聚糖酶提取工艺进行了优化,并对获得的木聚糖酶酶学性质进行了研究。主要结论如下:

(1) 确定了木聚糖酶的提取工艺路线,在 pH 2.5 磷酸盐缓冲液释放度为 5.0%,在 pH 5.5 磷酸盐缓冲液释放度为 98.5%,产品外观光泽性好,能够很好地满足市场对木聚糖酶的要求,因此该酶可以作为工业化产品投放市场。

(2) 酶学性质研究表明该酶是一种以内切作用为主的木聚糖酶,最适 pH 值为 6.4,最适温度为 55 ℃,该酶具有较好的热稳定性,含水量 17% 的酶在 90 ℃ 条件下 2.5 min 仅失活 13.6%。该木聚糖酶具有很好的酶学性质。

(3) 目前木聚糖酶的生产 and 应用具有很大的空间,下一步将考虑拓宽木聚糖酶在工业方面的应用范围。

参考文献

[1] 邹永龙, 王国强. 木聚糖降解酶系统[J]. 植物生理学通报, 1999, 35(5): 404-410.

- [2] 方洛云, 邹晓庭, 许梓荣. 木聚糖酶基因的分子生物学与基因工程[J]. 畜禽业, 2002, 3(2): 2-3.
- [3] 王红媛, 陈晓, 杨翔华. 低聚木糖的功能特性及木聚糖酶的生物制备[J]. 食品研究与开发, 2003, 24(1): 32-35.
- [4] HAROS M, BENEDITO C, CRISTINA M, et al. Effect of different carbohydrases on fresh bread texture and bread staling[J]. Food Research and Technology, 2002, 215: 425-430.
- [5] KEN K Y, LARRY U L, SADDLER J N. Multiplicity of β -1, 4-xylanase in microorganisms: functions and applications[J]. Microbiological Reviews, 1988, 52(3): 305-317.
- [6] 王红媛, 陈晓, 杨翔华. 低聚木糖的功能特性及木聚糖酶的生物制备[J]. 食品研究与开发, 2003, 24(1): 32-35.
- [7] RAFFACELE C. A xylan-degrading sulfobolus solfataricus isolation and characterization of the activity[J]. Extremophiles, 2004, 8(2): 117-124.
- [8] NEETA K, ABHAY S, MALA R. Molecular and biotechnological aspects of xylanases[J]. FEMS Microbiology Reviews, 1999, 23(4): 411-456.
- [9] 刘国锋, 大肠杆菌高密度发酵产木聚糖酶发酵条件优化[J]. 中国酿造, 2017, 36(12): 63-67.
- [10] 张学英, 黄忠意, 章发盛, 等. 两种检测还原糖方法的比较[J]. 食品与机械, 2017, 33(2): 66-69.
- [11] BAILEY M J, BIELY P, POUTANEN K. Interlaboratory testing of methods for assay of xylanase activity[J]. Journal of Biotechnology, 1992, 23(3): 257-270.
- [12] 梁蕊芳, 徐龙, 岳明强. 细胞破碎技术应用研究进展[J]. 北方农业学报, 2013, 2(1): 113-114.
- [13] 樊亚超, 张霖, 廖莎, 等. 2,3-丁二醇分离提取工艺研究进展[J]. 化工进展, 2016, 35(8): 2 323-2 328.
- [14] 施娅楠, 陶亮, 刘云红, 等. 辣木叶凝乳酶提取条件优化及凝乳特性研究[J]. 食品工业, 2017, 38(5): 114-118.
- [15] 费笛波, 冯观泉, 袁超. 康氏木霉 TN-27 饲用木聚糖酶制剂的制备及其性质研究[J]. 微生物学杂志, 2004, 24(2): 18-20.
- [16] 黄峰, 张丽, 周艳萍, 等. 木聚糖酶在制粒前后的热稳定性及对异育银鲫生长的影响[J]. 粮食与饲料工业, 2008, 2(1): 29-31.

信息窗

韩国拟修订特殊医学用途食品的营养管理信息指南

2018年2月8日,韩国食品药品安全厅(KFDA)发布公告,拟修订特殊医学用途食品的营养管理信息指南。具体内容:

(1) 如果某种食品含有特定疾病患者所需要的营养物质,并且摄入一定量的此类食品后无需再摄入其他食品即可满足营养要求,那么需要明确标注该食品的营养物质含量比例,并与日常食物进行对比。

(2) 如果某种食品同时适合多种疾病患者使用,需明

确合并标注其使用范围。

(3) 所有特殊医学用途食品都必须标注其使用环境,例如“为改善手术后的健康状态”、“为补充某种疾病所缺乏的某种营养物质”等,同时必须标注摄入方式,如“可直接食用”、“需通过导管摄入”等。

(4) 所有特殊医学用途食品都必须标注其可能发生的食用禁忌、不良反应及处置措施。

(来源: <http://news.foodmate.net>)