

产 κ -卡拉胶裂解酶菌株的筛选与鉴定

吴家葳, 张文静, 迟乃玉, 王晓辉*

(大连大学 生命科学与技术学院, 辽宁 大连 116622)

摘要: 利用单一碳源的方法, 从 13 种来自辽宁省大连市不同坐标的海泥样品中, 筛选得到 4 株具有 κ -卡拉胶酶活性的菌株。利用 DNS 法 (3,5-二硝基水杨酸法) 检测 4 株菌具有 κ -卡拉胶酶活性。根据酶活性比较进行复筛, 得到一株高产 κ -卡拉胶酶的菌株命名为 LG-2, 其最高酶活为 34 U/mL, 根据形态学观察、生理生化鉴定和 16S rDNA 系统发育树分析, 初步确定菌株为红球菌属, 为革兰氏阳性菌。并对 LG-2 号菌株生长曲线及产酶活性曲线进行检测, 为工业化生产奠定基础。

关键词: 卡拉胶酶; 筛选; 鉴定; 红球菌

中图分类号: Q 93-331 文章编号: 1673-1689(2020)12-0035-07 DOI: 10.3969/j.issn. 1673-1689.2020.12.006

Screening, Isolation and Identification of κ -Carrageenan Lyase-Producing Bacteria

WU Jiawei, ZHANG Wenjing, CHI Naiyu, WANG Xiaohui*

(School of Life Science and Technology, Dalian University, Dalian 116622, China)

Abstract: Using κ -carrageenase as the sole carbon source, 4 strains with κ -carrageenase activity were screened from 13 samples of sea mud with different coordinates in Dalian, Liaoning Province. The DNS method (3,5-dinitrosalicylic acid method) was then used to detect the κ -carrageenase activity produced by 4 strains. According to the κ -carrageenase activity comparison, a high-yielding strain was named LG-2, with a maximum enzyme activity of 34 U/mL. Based on morphological observation, physiological and biochemical identification, and 16S rDNA phylogenetic tree analysis, the strain was initially identified as Rhodococcus and Gram-positive bacteria. The growth curve and enzyme activity curve of LG-2 strain were determined, laying the foundation for industrial production.

Keywords: carrageenase, screening, identification, rhodococcus

卡拉胶 (Carrageenan), 又被称为石花菜胶、鹿角菜胶、角叉菜胶等, 是一种亲水性较高的大分子多糖, 它由半乳糖硫酸酯钾、钠、镁和钙以及 3,6-脱

水-D-半乳糖并聚物组成^[1]。目前卡拉胶被大量应用于食品行业, 如葡萄酒^[2]、饮料^[3]、果冻^[4]、酸奶^[5]等, 其主要起杂质凝聚、增稠和凝固的作用。卡拉胶可被

收稿日期: 2020-02-22

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(31500039); 辽宁省博士启动基金指导计划项目(20170520167); 大连市青年科技之星项目(2017RQ155); 大连大学博士专项基金项目(2017QL020); 辽宁省自然科学基金项目(20180550728)。

* 通信作者: 王晓辉 (1981—), 女, 博士, 副教授, 硕士研究生导师, 主要从事微生物与酶工程研究。E-mail: wangxiaohui@dlu.edu.cn

降解为有较高活性的卡拉胶寡糖,成为卡拉胶寡糖后,分子链上的活性基团可以更大程度的暴露,因此相对于大分子聚合物的卡拉胶而言,有着更高的活性^[6],且卡拉胶寡糖结构多样,物化性质复杂,并且有着抗氧化^[7]、免疫调节^[8]和抗肿瘤^[9]的性质,因此其被广泛应用于食品、医药、化妆品等行业^[10-11]。卡拉胶寡糖可通过物理降解^[12]、化学降解^[13]和酶降解^[14]得到。化学降解法和物理降解法反应剧烈,且降解产物单一性差,反应条件不易控制,排放废物污染环境,因此应用方面受到了诸多的限制。相比之下由于酶具有专一性强、稳定性强、反应温和等特点,并且微生物酶的活性相对较高,利用微生物产酶来降解卡拉胶得到卡拉胶寡糖能够节约能源,有着更大的经济效益^[15]。越来越多的卡拉胶裂解酶对丰富卡拉胶寡糖的种类有着重要作用。

卡拉胶酶属于水解酶类,可特异性地将卡拉胶分子的 β -1,4糖苷键切断,在酶的作用下大分子卡拉胶糖苷键断裂产生卡拉胶寡糖。卡拉胶酶种类繁多,其中 κ -卡拉胶酶可专一性的使 κ -卡拉胶结构单元中连接4-硫酸基-半乳糖和3,6-内醚-D-半乳糖的 β -1,4糖苷键断裂^[16-17]。目前研究表明已从假单胞菌^[18]、链霉菌^[19]、弧菌^[20]等属的细菌中发现了多种 κ -卡拉胶酶,且大部分酶已经在大肠杆菌^[21-22]和毕赤酵母^[23]中实现了重组表达,但卡拉胶酶依旧是制约卡拉胶寡糖构效关系的重要因素,也是卡拉胶寡糖研究乃至进一步应用开发的主要瓶颈因素^[24-25]。当前市场酶解制备寡糖已经逐渐开始替代酸解法,因此其研究具有深远的理论意义和应用价值。本研究中从辽宁省大连市海底泥中筛选得到一株高产卡拉胶裂解酶菌株,经16S rDNA测序鉴定为红球菌属。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 样品 采自13个辽宁省大连市不同坐标位置的海泥。

1.1.2 药品与仪器 无机盐母液:MgSO₄·7H₂O 5.0 g, FePO₄·4H₂O 0.1 g, K₂HPO₄·12H₂O 10.0 g, CaCl₂ 1.0 g, 单蒸水 1 000 mL。

富集培养基: κ -卡拉胶 2.0 g, NaNO₃ 20.0 g, 无机盐母液 100 mL, 海水 900 mL; pH 7.5。

κ -卡拉胶筛选培养基: κ -卡拉胶 12.0 g, NaNO₃

20.0 g, NaCl 15.0 g, 琼脂 15.0 g, 无机盐母液 100 mL, 海水 900 mL; pH 7.5。

固体种子培养基:葡萄糖 40 g, 酵母膏 20 g, 蛋白胨 20 g, NaCl 20 g, 琼脂粉 20.0 g, 自来水 1 000 mL; pH 7.0。

液体种子培养基:葡萄糖 40 g, 酵母膏 20 g, 蛋白胨 20 g, NaCl 20 g, 陈海水 1 000 mL; pH 7.0。

发酵产酶培养基: κ -卡拉胶 2 g, FeSO₄·7H₂O 0.02 g, 蛋白胨 3 g, 陈海水 1 000 mL; pH 值自然。

DNS 溶液(250 mL):1.625 g DNS 溶于少量蒸馏水中,溶解后移入 250 mL 容量瓶中,加入 2 mol/L NaOH 65 mL,再加入 11.25 g 甘油,摇匀,待其冷却后定容至 250 mL。

BPC-150F 型培养箱:上海茸研仪器有限公司产品;DK-600S 型电热恒温水浴锅:上海精宏实验设备有限公司产品;ZWY-2102C 型恒温培养振荡器:上海智城分析仪器制造有限公司产品;全波长酶标仪:北京昊诺斯科技有限公司产品;显微镜:尼康仪器(上海)有限公司产品;自动微生物鉴定分析系统:Biolog 公司产品;FP-1100-C 型 Bioscreen C 分析仪:Oy Growth Curves Ab Ltd 生产。

1.2 实验方法

1.2.1 菌株的富集与筛选 称取混合后的海泥 10 g, 放入盛有 90 mL 富集培养基和玻璃珠的三角瓶中, 25 ℃、160 r/min 过夜振荡培养,使样品充分分散。再吸取 10 mL 富集培养液于盛有 90 mL 无菌水并有小玻璃珠的 250 mL 三角瓶中,振荡 15 min 使其摇匀。梯度稀释后每个梯度取 100 μ L 涂布于 κ -卡拉胶筛选培养基平板上,30 ℃倒置培养 2~3 d,挑取生长良好、在平板上产生透明圈或凹坑的形态不一的菌落进行多次划线纯化,得到单菌落。

将分离得到的菌株挑取一环,接种于 5 mL 发酵培养基中,25 ℃、200 r/min 条件下培养 36 h 后,将其以 1% 的接种体积分数接于 100 mL 发酵培养基,25 ℃、160 r/min 条件下培养(3 组平行)。连续每 2 h 取发酵液离心(10 000 r/min、4 ℃、10 min)去除沉淀细胞,取上清液制成粗酶液,测定卡拉胶降解酶活力。

1.2.2 酶活力的测定 酶活力测定采用 DNS(3,5-二硝基水杨酸)法,以质量浓度为 0.5 g/dL 的 κ -卡拉胶(用 50 mmol/L NaH₂PO₄-Na₂HPO₄、pH 7.0 的缓冲液溶解)作为底物。

取 50 μL 处理后的粗酶液(对照组 1 的酶液以沸水浴 5 min 后的 50 μL 酶液代替),添加 550 μL 质量浓度为 0.5 g/dL 的 κ -卡拉胶溶液,35 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 20 min,沸水浴 5 min 后加入 0.9 mL DNS 溶液并沸水浴 5 min,冷却至室温后加蒸馏水至 5 mL,混匀,于 520 nm 下测定吸光度值,以灭活酶液为对照组。利用实验组和对照组吸光度的差值计算还原糖的产生量。

1 个酶活力单位(U)定义为:在上述条件下,每分钟产生 1 μg 还原糖的酶的剂量。

1.2.3 菌株的鉴定 对酶活力高的菌株进行形态学鉴定(菌落形态观察和革兰氏染色)、生理生化鉴定(Biolog 自动微生物鉴定分析系统)和分子生物学鉴定(菌株的 16S rDNA 序列测定由大连宝生物公司扩增、测序),并与 NCBI 核酸数据库进行比对,利用 MEGA5 进行系统进化树的构建。

1.2.4 菌株生长曲线及产酶活性曲线的测定 挑取一环菌株于液体种子培养基中,160 r/min、25 $^{\circ}\text{C}$ 培养至 $\text{OD}_{600}=0.5$ 后,以 1% 的接种体积分数接种于液体种子培养基中,使用 FP-1100-C 型 Bioscreen C 分析仪(每孔 300 μL ,25 $^{\circ}\text{C}$ 震荡培养,每 2 h 检测一次 OD_{600} ,连续检测 3 d)检测菌株生长情况,绘制菌株生长曲线。

挑取一环菌株接种于 5 mL 的发酵培养基中,再以 1% 的接种体积分数接种 100 mL 于发酵培养基中,25 $^{\circ}\text{C}$ 、160 r/min 条件下培养,每 2 h 取样测其酶活,连续检测 3 d,并设酶活最高时相对酶活为 100%,绘制菌株产酶活性曲线。

2 结果与分析

2.1 产酶菌株的筛选

采用以 κ -卡拉胶为唯一碳源的平板从海泥中分离出产卡拉胶酶的菌株,由于卡拉胶酶会使卡拉胶降解为还原糖,故会在平板上产生凹坑或水解透明圈。接着再将初筛得到的菌株接入发酵培养基中,利用 DNS 法检测是否产生还原糖,再次确定其是否有卡拉胶酶活力,并筛选出酶活力最强的菌株进行下一步试验。

通过初筛,从 13 个海泥样品中获得了 4 株在培养基上产生透明圈或凹坑的菌株,并将其分别标注为 LG-1、LG-2、LG-3、LG-4(见图 1)。将初筛得到的 4 个菌株,接种于卡拉胶发酵液体培养基中,

利用 DNS 法测定每个菌株的酶活力,以每株菌最高产酶酶活作图进行比较如图 2 所示,通过 DNS 法测定酶活进行复筛,可见 4 个菌株都具备卡拉胶酶活力,并且得到 LG-2 号菌株酶活力最强为 34 U/mL,对其进行下一步试验。

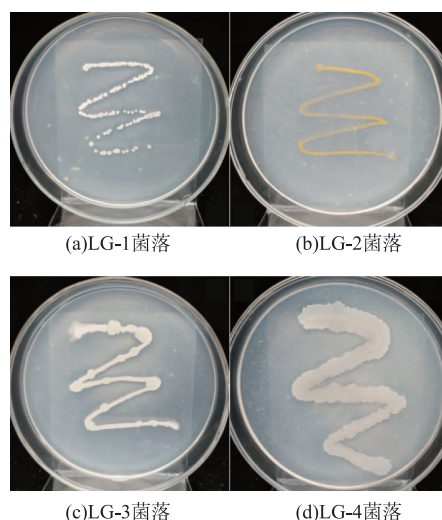


图 1 筛选培养基菌落

Fig. 1 Colony map of screening media

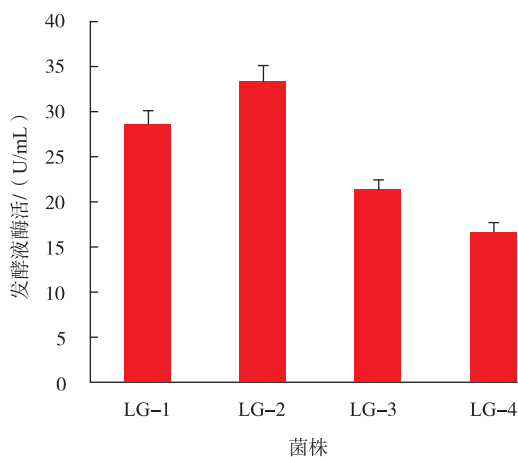


图 2 菌株产酶活性的筛选

Fig. 2 Screening of enzyme activity in strains

2.2 LG-2 菌落及菌株形态观察

LG-2 号菌在固体种子培养基和卡拉胶培养基上生长良好,单菌落近似圆形,边缘整齐,中间隆起,呈金黄色,不透明,用接种环易于挑取,表面光滑,较湿润。经革兰氏染色,于光学显微镜下观察,其呈革兰氏阳性,单个菌呈球状,单个散生或多个聚集(见图 3)。

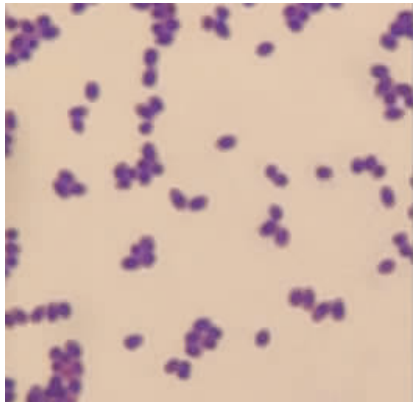


图3 菌株 LG-2 显微形态($\times 1\ 000$)

Fig. 3 The micrograph of LG-2 strains

2.3 LG-2 号菌株生理生化鉴定

采用 Biolog 自动微生物鉴定分析系统检测该菌对碳源的利用嗜好和对化学物质的敏感程度。接

入 Gen III 微孔板于 33 $^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h, 使用 Biolog Microstation 仪器进行读数。并根据最终获得的表型同 Biolog 数据库中的数据进行比较, 以判断微生物的种属。

根据该菌对碳源的利用嗜好性和对化学物质的敏感程度结果, Biolog 自动微生物鉴定分析系统的鉴定结果为 *Rhodococcus fascians* B 菌(带化红球菌), SIM 值为 0.516, PROB 值为 0.870, Organism Type 为 GP-Rod(革兰氏阳性杆菌), 该结果与革兰氏染色结果一致。

该菌对蔗糖、D-果糖、肌醇、L-苹果酸、丙酸、乙酸、D-麦芽糖、明胶、柠檬酸、果胶等碳源利用较佳; 化学物质敏感性试验结果表明该菌微弱耐受萘啶酮酸和氨曲南, 对高盐环境、低 pH 值、醋竹桃霉素和利福霉素 SV 等不耐受, 见表 1。

表 1 菌株 LG-2 生理生化鉴定结果

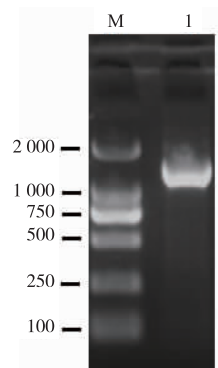
Table 1 Results of physiological and biochemical identification of strain LG-2

项目	结果	项目	结果	项目	结果	项目	结果
棉子糖	\	D-海藻糖	\	蔗糖	+	pH 6	+
α -D-葡萄糖	-	β -甲酰-D-葡萄糖苷	-	N-乙酰- β -D-甘露糖胺	-	pH 5	-
D-山梨醇	+	D-半乳糖	+	L-岩藻糖	+	1% NaCl	+
明胶	+	肌醇	+	D-果糖-6-磷酸	-	4% NaCl	+
果胶	+	L-精氨酸	-	L-组胺	-	8% NaCl	\
p-羟基-苯乙酸	-	D-葡萄糖酸	+	粘液酸	+	乳酸钠	+
吐温 40	-	L-乳酸	\	D-苹果酸	+	梭链孢酸	-
糊精	\	β -羟基-D,L 丁酸	+	丙酸	+	D-丝氨酸	-
α -D-乳糖	\	D-纤维二糖	-	D-松二糖	-	醋竹桃霉素	-
D-甘露糖	+	甘油	-	N-乙酰-D-半乳糖胺	\	利福霉素 SV	-
D-甘露醇	+	3-甲酰葡萄糖	-	L-鼠李糖	+	米诺环素	-
e 氨基乙酰-L-脯氨酸	-	L-天冬氨酸	+	L-焦谷氨酸	+	林可霉素	-
D-半乳糖醛酸	+	D-葡萄糖醛酸	+	D-天冬氨酸	+	盐酸胍	\
丙酮酸甲酯	-	柠檬酸	+	L-苹果酸	+	硫酸四癸钠	-
γ -氨基-丁酸	\	α -酮-丁酸	+	乙酸	+	万古霉素	-
D-麦芽糖	+	龙胆二糖	\	水苏糖	\	四唑紫	\
蜜二糖	+	N-乙酰-D-葡萄糖胺	-	N-乙酰神经氨酸	-	四唑蓝	\
D-果糖	+	D-岩藻糖	+	肌苷	-	萘啶酮酸	+
D-阿拉伯醇	+	D-葡萄糖-6-磷酸	+	D-丝氨酸	-	氯化锂	+
L-丙氨酸	+	L-谷氨酸	+	L-丝氨酸	-	亚硝酸钾	+
L-半乳糖醛酸内酯	\	葡萄糖醛酰胺	+	糖质酸	+	氨曲南	+
D-乳酸甲酯	\	α -酮-戊二酸	+	溴-丁二酸	+	丁酸钠	-
α -羟基-丁酸	+	乙酰乙酸		甲酸	-	溴酸钠	\

注: “+”为菌株测验结果呈阳性, “-”为菌株测验结果为阴性, “\”为边界值介于两者之间。

2.4 16S rDNA 序列分析与系统发育树的构建

菌株 LG-2 经 16S rDNA 测序大小为 1 440 bp, 如图 4 所示, 其 PCR 产物电泳在 1 000~2 000 bp 的条带之间且更靠近 1 000 bp 的条带, 与测序结果一致。将 16S rDNA 测序结果与 NCBI 数据库基因序列进行比较, 搜索得到同源性达到 99% 以上的菌株, 均为红球菌。结合形态学特征、培养特征和生理生化结果综合比较, 确定菌株 LG-2 为红球菌属, 利用 MEGA5 构建 *Rhodococcus* sp. LG-2 的系统发育树如图 5 所示。结合以往报道, 大多数产卡拉胶酶的菌属多为假单胞菌和弧菌, 很少有关于红球菌属产卡拉胶酶的报道, 因此该菌可进行进一步的研究与开发。



M: marker 电泳条带; I: LG-2 菌株 PCR 产物电泳条带。

图 4 LG-2 的 16S rDNA 电泳图

Fig. 4 Electrophoresis pattern of 16S rDNA PCR product of strain LG-2

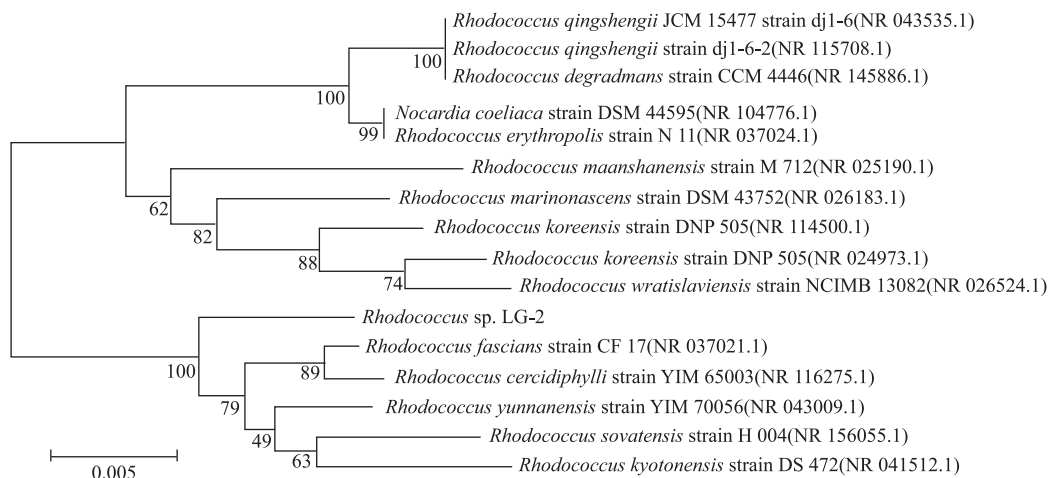


图 5 *Rhodococcus* sp. LG-2 的 16S rDNA 的序列系统发育树

Fig. 5 Phylogenetic tree based on 16S rDNA sequence of *Rhodococcus* sp. LG-2

2.5 LG-2 号菌株生长曲线及产酶活性曲线

根据鉴定结果选择合适培养基, 利用 FP-1100-C 型 Bioscreen C 分析仪测 LG-2 菌株的生长曲线, 并设酶活最高时的相对酶活为 100%, 绘制产酶活性曲线如图 6 所示。可见该菌潜伏期较短, 可迅速进入对数生长期, 且对数生长期较长, 在培养 36 h 后该菌逐渐进入稳定期, 在培养 54 h 后进入衰退期。该菌随着菌株生长进入对数生长期其产酶活性快速上升, 在培养 22 h 时有最大产酶活性, 且稳定性较好, 在培养 20~28 h 内仍可保持相对酶活在 80% 以上, 在培养 48 h 后酶活急剧下降, 并且随着菌株进入衰亡期产酶活性也降低至 20% 以下, 该菌的特性有利于进行工业生产, 并且在培养 20~26 h 内最适合进行酶的提取。

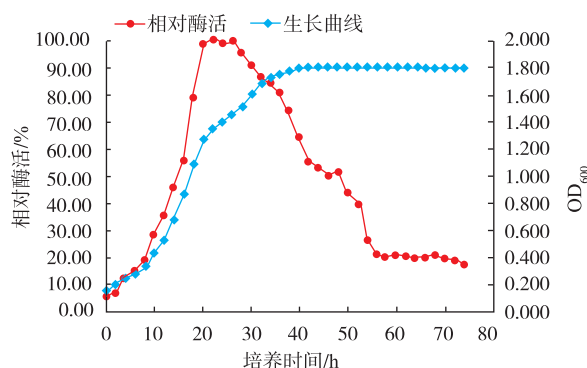


图 6 LG-2 菌株生长曲线与产酶活性曲线

Fig. 6 Growth curve and enzyme production curve of LG-2 strain

3 结 语

本实验中用唯一碳源法,从13种来自大连不同坐标地区的海泥样品中分离产 κ -卡拉胶酶的菌株,得到一株高产酶菌株LG-2,酶活为34 U/mL。后通过其形态学分析、生理生化鉴定和16S rDNA系统发育同源分析,初步鉴定LG-2为红球菌属,革兰

氏阳性菌。根据菌株生长曲线及产酶活性曲线进行分析,可知该菌在培养22 h后即可达到最高产酶活性,有利于卡拉胶酶的工业化生产。

本实验中筛选出的菌株为红球菌属,其产卡拉胶酶的报道较少,该菌株酶活性相对较高,经有效的重组表达后,可将其广泛地应用于卡拉寡糖的食品、药物研发与工业生产中,降低生产成本。

参考文献:

- [1] MICHEL G, CHANTALAT L, et al. The kappa-carrageenase of *P. carrageenovor* features a tunnel-shaped active site: a novel insight in the evolution of Clan-B glycoside hydrolases[J]. **Structure**, 2001, 9(6): 513-525.
- [2] RATNAYAKE S, STOCKDALE V, et al. Carrageenans as heat stabilisers of white wine[J]. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, 2019, 25(4): 439-450.
- [3] GUPTA H R, KANAWJIA S K, et al. Process optimization for the production of whey protein enriched dairy drink[J]. **Asian Journal of Dairying & Foods Research**, 2013, 32(4): 257-265.
- [4] ARAKAWA S, ISHIHARA H, et al. A sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for κ -carrageenan determination[J]. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 1991, 57(1): 135-140.
- [5] XU Z Y, ZHOUL H, WANG Y Y. The application of carrageenan, guar gum and pectin in yogurt[J]. **Journal of Dairy Science & Technology**, 2009, 7: 3931-3940.
- [6] XU C Y, ZHU, et al. Isolation, identification of a κ -carrageenase-producing bacterium and κ -Carrageenase characterization[J]. **Acta Microbiologica Sinica**, 2015, 55: 140-148.
- [7] MA Y X, DONG S L, et al. Purification and characterization of carrageenase from marine bacterium mutant strain *Pseudomonas* sp. Aj5-13 and its degraded products[J]. **Journal of Food Biochemistry**, 2010, 34(3): 661-678.
- [8] WANG W, ZHAN G P, YUGL, et al. Preparation and anti-influenza A virus activity of κ -carrageenan oligosaccharide and its sulphated derivatives[J]. **Food Chemistry**, 2012, 133(3): 880-888.
- [9] CHEN X Y, ZHAO X, GAO Y Y, et al. Green synthesis of gold nanoparticles using carrageenan oligosaccharide and their *in vitro* antitumor activity[J]. **Marine Drugs**, 2018, 16(8): 277.
- [10] MUZYED S, HOWLADER M, TUVIKENE R. Isolation, purification, and enzymatic activity of iota-carrageenase from cultured marine bacterium[J]. **Scientific Reports**, 2020, 10: 18037.
- [11] ZHANG Y J, LANG B, ZENG D Y, et al. Truncation of κ -carrageenase for higher κ -carrageenan oligosaccharides yield with improved enzymatic characteristics[J]. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2019, 130: 958-968.
- [12] LII C Y, CHEN C H, YE H A I, et al. Preliminary study on the degradation kinetics of agarose and carrageenans by ultrasound[J]. **Food Hydrocolloids**, 1999, 13: 477-481.
- [13] HAMED, RIDHA B S, BOGDAN K, et al. Electrospray ionization mass spectrometry characterization of ubiquitous minor lipids and oligosaccharides in milk of the camel (*Camelus dromedarius*) and their inhibition of oxidative stress in human plasma[J]. **Journal of Dairy Science**, 2020, 103(1): 72-86.
- [14] DUANF Y, YUY, LIU Z M, et al. An effective method for the preparation of carrageenan oligosaccharides directly from *Eucheuma cottonii* using cellulase and recombinant κ -carrageenase[J]. **Algal Research**, 2016, 15: 93-99.
- [15] MEMON A H, DING R, YUAN Q, et al. Coordination of GMP ligand with Cu to enhance the multiple enzymes stability and substrate specificity by co-immobilization process[J]. **Biochemical Engineering Journal**, 2018, 136: 102-108.
- [16] CICINSKAS E, BEGUN M A, TIASTO V A, et al. In vitro antitumor and immunotropic activity of carrageenans from red algae *Chondrus armatus* and their low-molecular weight degradation products[J]. **Journal of Biomedical Materials Research. Part A**, 2020, 108(2): 254-266.
- [17] ZHANG B, FANG C D, HAO G J. Effect of kappa-carrageenan oligosaccharides on myofibrillar protein oxidation in peeled shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during long-term frozen storage[J]. **Food Chemistry**, 2018, 245: 254-261.

- [18] MAUD L,PI N C,WILLIAM H. Physical data of κ-carrageenan modulates the mode of action of κ-carrageenase from *Pseudomonas carrageenovora*[J]. **Biochemical Journal**,2009,419(3):545-553.
- [19] ASANZA T M L,GONTIE E,BIENAIMÉ C,et al. Response surface analysis of chlortetracycline and tetracycline production with κ-carrageenan immobilized *Streptomyces aureofaciens*[J]. **Enzyme and Microbial Technology**,1997,21(5):314.
- [20] ZHU B,NING L. Purification and characterization of a new κ-carrageenase from the marine bacterium *Vibrio* sp.NJ-2[J]. **Journal of Microbiology and Biotechnology**,2015,26(2):255.
- [21] ZHU B W,NI F,NING L M,et al. Cloning and biochemical characterization of a novel κ-carrageenase from newly isolated marine bacterium *Pedobacter hainanensis* NJ-02[J]. **International Journal of Biological Macromolecules**,2018,108:1331-1338.
- [22] ZHU B W,XILONG Q,NI F,et al. High-level expression and characterization of a new κ-carrageenase from marine bacterium *Pedobacter hainanensis* NJ-02.[J]. **Letters in Applied Microbiology**,2018,66:409-415.
- [23] YU Y,LIU Z M,YANG M,et al. Characterization of full-length and truncated recombinant κ-carrageenase expressed in *Pichia pastoris*[J]. **Frontiers in Microbiology**,2017,8:1544.
- [24] PAPERS J B C ,DOI M ,MICHEL G ,et al. The κ-carrageenase of *Alteromonas fortis*[J]. **Journal of Biological Chemistry**,2001,276(43):40202-40209.
- [25] LI J,GU X Q,PANA H. Multifunctional α-amylase Amy19 possesses agarase,carrageenase,and cellulase activities [J]. **International Journal of Biological Macromolecules**,2018,126:585-594.
- [26] BELLION C,HAMER G,YAPHE W. The degradation of *Eucheuma spinosum* and *Eucheuma cottonii* by t-carrageenases and k-carrageenases from marine bacteria[J]. **Canadian Journal of Microbiology**,2011,28:874-880
- [27] CARLUCCIM J,PUJOL C A,CIANCIA M,et al. Antiherpetic and anticoagulant properties of carrageenans from the red seaweed *Gigartina skottsbergii* and their cyclized derivatives:correlation between structure and biological activity[J]. **International Journal of Biological Macromolecules**,1997,20(2):97-105.

科技信息

欧盟评估 L-组氨酸盐酸盐-水合物作为所有动物饲料添加剂的安全性和有效性

2020 年 11 月 10 日, 据欧盟食品安全局 (EFSA) 消息, 应欧盟委员会要求, 欧盟动物饲料添加剂和产品 (FEEDAP) 研究小组就 L-组氨酸盐酸盐-水合物 (L-histidine monohydrochloride monohydrate) 作为所有动物饲料添加剂的安全性和有效性发表科学意见。

据条例, 这种 L-组氨酸盐酸盐-水合物由大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 菌株 KCCM 80212 发酵产生。经过评估, 专家小组认为该添加剂对所有动物物种和环境是安全的。L-组氨酸盐酸盐-水合物被认为是非反刍动物物种必需氨基酸 L-组氨酸的有效来源。为了使补充的 L-组氨酸在反刍动物中的功效与在非反刍动物中一样有效, 就需要防止瘤胃降解的保护措施。

[信息来源] 食品伙伴网. 欧盟评估 L-组氨酸盐酸盐-水合物作为所有动物饲料添加剂的安全性和有效性 [EB/OL]. (2020-11-11). <http://news.foodmate.net/2020/11/576792.html>