一九八二年
（创刊号）
无锡轻工业学院学报
JOURNAL OF THE WUXI INSTITUTE OF LIGHT INDUSTRY

微生物β-淀粉酶的研究

——微生物β-淀粉酶的纯化和性质比较

张星元

摘　要

从土壤中筛选得两株产β-淀粉酶的细菌No.21和No.90。以已知的β-淀粉酶产生菌B.polymyxa ATCC 8523为对照，用硫酸铵分级沉淀法和偶联α-环糊状精的环氧活化琼脂糖凝胶(Epoxy Activated Sepharose 4B)柱亲和层析纯化β-淀粉酶。纸层析及聚丙烯酰胺凝胶电脉结果显示已获得No.21，No.90和ATCC8523的部分纯化的酶制剂。经纸层析和变旋光法证明，它们确系β-淀粉酶。用SDS-凝胶电脉法测得ATCC 8523的酶β-淀粉的分子量为56，000。用等电聚焦法测得No.21和No.90的β-淀粉酶的等电点分别为pH8.80和pH8.98。

在以上研究的基础上对这三个菌株的β-淀粉酶的性质进行了比较研究，还对微生物β-淀粉酶的纯化提出了改进措施。

前　言

1964年，J.Robyt[1]发现多粘芽孢杆菌ATCC8523的淀粉酶分解淀粉形成麦芽糖，并经实验证明这种麦芽糖是β-型的。1973年，东原昌孝和罔田茂孝[2]从巨大芽孢杆菌的发酵液中首次提纯了β-淀粉酶，并以“低聚糖图”(Oligosaccharide maps)法证明该酶制剂是较纯净的β-淀粉酶，推动了β-淀粉酶菌种的选育工作和微生物β-淀粉酶的研究工作。本文在前人工作的基础上，采用亲和层析等手段纯化和研究微生物β-淀粉酶，为选育β-淀粉酶生产菌种创造条件。

材料和方法

一、菌　种

Bacillus polymyxa ATCC8523以及从土壤中筛分出来的细菌No21和No90。

本文收到日期1982年12月18日

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

二、土 样

从日本京都、大阪、茨木、吹田和高親等地采集的田园土和庭园土。

三、β-淀粉酶的分析方法

在1% 可溶性淀粉溶液（用pH7.0 的 0.05 M 的 Tris-马来酸缓冲液配制）5ml中，加入1ml酸液，于 40℃ 水浴中精确地作用 15 分钟后，用改良的 Fehling-LehmannSchoorl 法[3] 测定酶反应混和物中的还原糖。在上述条件下，每分钟从反应混和物中释放 1 微克分子麦芽糖的 β-淀粉酶的量定义为一个 β-淀粉酶单位。酶活力单位数与酶液的蛋白质浓度即在 280 nm 波长下的 OD 读数之比值即为比活力。

四、纸上层析

将淀粉的酶水解液点在东洋 50 号滤纸上，用正丁醇、吡啶和水（6：4：3，体积比）的溶剂系统在 50℃ 下一次上行展开，上行距离 30cm 以上，用碱性硝酸银法显色[4]。

五、亲和层析

用与 Vretblad[5] 类似的方法制备偶联 α-环状糊精的环氧活化的琼脂糖凝胶（Epoxy Actirated Sephanrose4B)层析柱(9×150mm)，在 4℃ 条件下进行亲和层析和洗脱操作。洗脱时用内含 1% α-环状糊精的 pH7.5 的 0.01 M Tris-马来酸缓冲液（在正式洗脱前先用不含 α-环状糊精的同样的缓冲液适量洗柱)，收集洗脱液，每管 2～3 ml。测定各管在波长 280nm下的 OD 值和 OD峰上各管的酶活力。

六、变旋现象的检测

参照不破、二国[6]的方法。往 6ml 5% 的淀粉溶液中加入 0.5 ml 酶溶液(浓度约为10μ/ml)，在 25℃进行酶水解反应，于不同的时间间隔测旋光度。反应半小时后加入 3 mg Na_2CO_3，过 10 分钟后再测旋光度，比较加入 Na_2CO_3 前后溶液的旋光变化。

七、聚丙稀酰胺凝胶电泳

根据 Davis[7] 方法。丙稀酰胺浓度 7.5%，柱规格 5×70mm，采用 β-丙氨酸—醋酸缓冲系统（pH4.0)，在室温下电泳 4 小时(电流 5mA/柱)。以1%的酰胺黑 10B 染色（溶于7%醋酸溶液中）中染色 1 小时，然后在同样电流下于 7% 醋酸中脱色 4 小时，观察电泳区带的分布。

八、交联葡聚糖凝胶柱层析

在交联葡聚糖凝胶 Sephadex G-100 柱（(16×950mm) 上进行。平衡和洗脱时用的均为含 0.1 M NaCl 的 0.01 M 醋酸盐缓冲液（pH6.0)，洗脱速率 8ml/hr，收集洗脱液（每管 2ml)，顺次分别测定每管在波长 280nm 下的OD和 OD 峰上各管的酶活力。

九、SDS凝胶电泳

根据 Weber 和 Qsborn[8] 的方法进行 SDS 凝胶电泳。聚丙稀酰胺浓度7.5%，柱5×70 mm，SDS 含量 1%，电流 5mA/柱，0.05% 考马氏亮蓝 (Coomassiebrilliant blue) 染色，并在 7%醋酸—乙醇溶液中通电 (70V，5mA/柱)脱色一夜。

十、等电聚焦方法

用 LKB 8101 等电聚焦柱(110ml)测定等电点。将电载体两性电解质 (Ampholyte pH范围 3.5～10) 和蔗糖按规定比例配制成的不同混合液 24 管顺次装入柱内，其中第 13 管含有被检酶液 2.0ml。在350V 4℃ 条件下通电聚焦 42 小时后，按每管 2ml 收集柱中液体，分别顺次测定酶活力、pH 值和 OD值。

十一、产β-淀粉酶细菌菌株的筛选

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

培养基A：可溶性淀粉 0.5%，多胨(Polypeptone)1.0%，牛肉膏 1.0%，NaCl 0.5%，pH7.0。

培养基B：可溶性淀粉 2%，多胨 (Polypeptone) 0.5%，玉米浆 0.5%，$Na_2HpO_4 \cdot 12H_2O$ 0.2%，KH_2PO_4 0.05%，$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.02%，pH 7.0。

方法：在含 1.5% 琼脂的上述培养基A的平板上进行 β-淀粉酶菌株的初筛。适当稀释的土壤液涂布平板，在 30℃ 下培养 3～4 天，获孤立的菌落，用 0.001 M 的 I_2-KI 溶液喷射平板显色。挑选具不明显的紫棕色晕圈的菌落接种于培养基 A，30℃ 摇管培养 3 天。每管取出 0.5ml 与等体积的 4%的可溶性淀粉溶液于 40℃ 作用 18 小时后点样，按方法四做纸层析。根据纸层析图谱挑选麦芽糖色斑浓而没有(或几乎没有)其它还原糖色斑的菌株，在培养基 A 中进一步进行摇瓶培养。30℃ 摇三天后测定发酵液的酶活力，选择活力高的菌株接种于培养基 B 的摇瓶，30℃ 下培养 3天，取其培养液进行 β-淀粉酶的纯化操作，将纯化的酶进行变旋光现象的检测，最后确认 β-淀粉酶产生菌株。

十二、试　剂

环氧活化琼脂糖凝胶是瑞典产品。Visking 透析膜是美国产品。标定用蛋白质均为西德产品。本研究所用的酶的各种底物有些是由日本有关实验室或研究所提供的，其余为日本商品。

结　果　和　讨　论

一、β-淀粉酶产生菌 NO21 和No90 的获得

根据平板上的晕圈，从 44 份土样中选取 90 株细菌，将它们进行摇管发酵试验，根据纸层析结果（图1）选取 12 株可能产 β-淀粉酶的细菌，进一步作摇瓶复筛，根据测得的酶活力数据（表一）确定 No21，No90为供试菌株。另取已知的 β-淀粉酶产生菌 ATCC 8523 作对照菌株。

表(一)　摇　瓶　试　验　结　果

菌株编号	菌泥颜色	泡　沫	菌体生长 (OD^*_{660})	pH	酶活力(u/ml)
10	粉　红	++	1.014	8.0	0
11	粉　红	+	1.047	8.5	0.80
16	白	++	0.226	8.5	0
17	白	+++	0.310	9.0	0.48
21	橙　红	++	1.278	8.5	1.38
28	白	−	1.563	9.0	0
37	粉　红	+	0.775	8.5	0.37
38	粉　红	+	0.792	8.5	0.37
52	白	+++	0.478	9.0	0
78	暗　红	+++	1.751	7.5	0.21
89	白	−	0.133	6.5	0.58
90	白	−	0.129	6.5	1.33

* OD660 是将发酵液稀释 10 倍后测得的数据

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

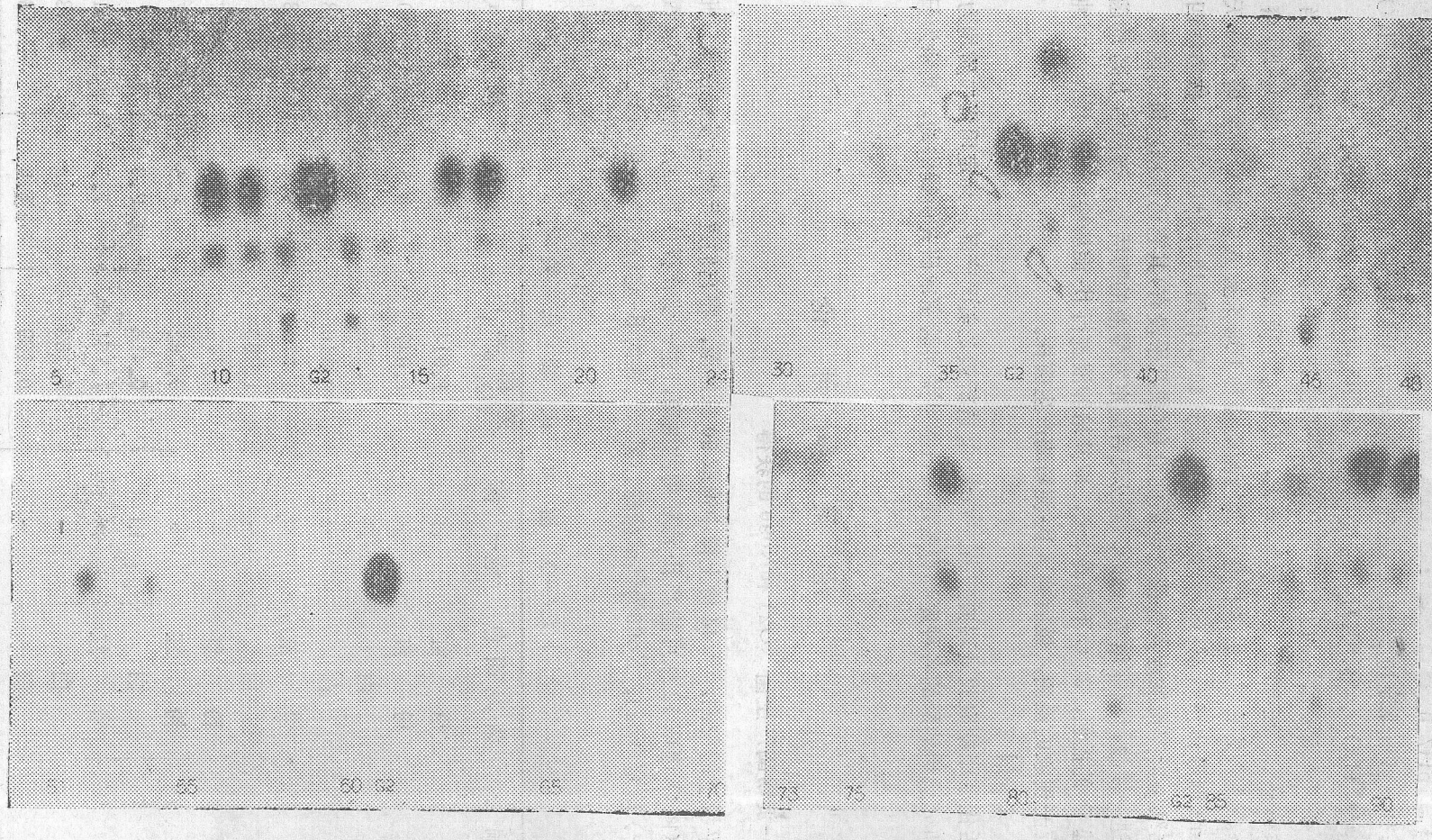


图1 纸 层 析 图 谱

图中G2为麦芽糖，10，11，16，17，21，28，37，38，52，78，89，90号菌株被选为可能产β—淀粉酶的菌株

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

二、酶的纯化

ATCC 8523在合适的培养基中、No21和No90在培养基B中进行摇瓶培养，将培养液离心除去菌体后即为出发酶液。分别对以上三种出发液进行酶的纯化操作：

（一）用25%的硫酸铵饱和度使杂蛋白析出（5℃下静置一夜），离心除去杂蛋白。

（二）用66%的硫酸铵饱和度使酶盐析（5℃，pH6-7，静置一夜），以冷冻离心法收集所形成的沉淀，并将沉淀溶于适当体积的0.01M Tris—马来酸缓冲液（pH7.5），再将此溶液在同样的缓冲液中在5℃下透析48小时。

（三）将透析好的酶液上到偶联了α-环状糊精的环氧活化琼脂糖胶柱上进行亲和层析。图2为No21和No90的酶在亲和层析柱上的洗脱曲线。

纯化结果如表（二）和表（三）所示。纯化得到的以下三种酶制剂将用于后面各项研究。

表（二） 硫酸铵盐析和亲和层析法纯化酶

操作步骤	总体积(ml)	总活力(u)	比活力(u/OD)	收率(%)
No 21				
发酵液(除去菌体)	1,350	1430	0.30	100
透析液(盐析后)	225	1280	0.76	89
纯化的酶(亲和层析后)	—	514	83.0	36
No 90				
发酵液	1,110	10,650	2.67	100
透析液	350	4,960	—	47
纯化的酶	—	2,350	134	22
ATCC 8523				部分提取未计
发酵液	2,650	6,530	0.25	收率
纯化的酶	—	358	36.1	

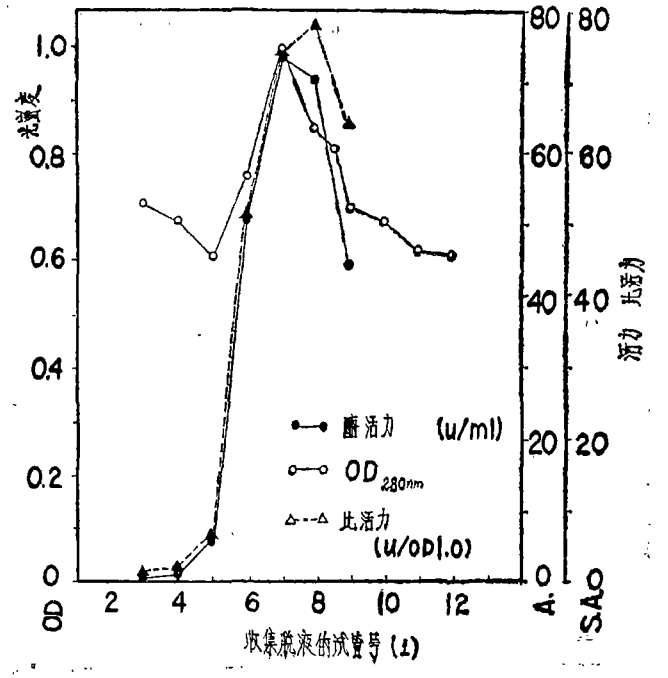
表（三） 纯化得到的三种酶制剂

产酶菌种	出发酶液酶活力 (u/ml)	酶制剂酶活力 (u/ml)	酶活提高倍数
No 21	1.06	74.6	70.4
No 90	9.60	387	40.3
ATCC 8523	2.47	51.2	20.7

三、酶的纯度的鉴定

纯化的结果这三种酶的活力提高20.7—70.4倍。这三种酶作用于可溶性淀粉，在不同时间取反应混合物点样做纸层析，色谱图上只显现麦芽糖斑(图3)，可见经纯化获得的酶制剂有一定纯度。又将这三种酶制剂进行聚丙稀酰胺凝胶电泳，但没有获得单一的区带，因此

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net



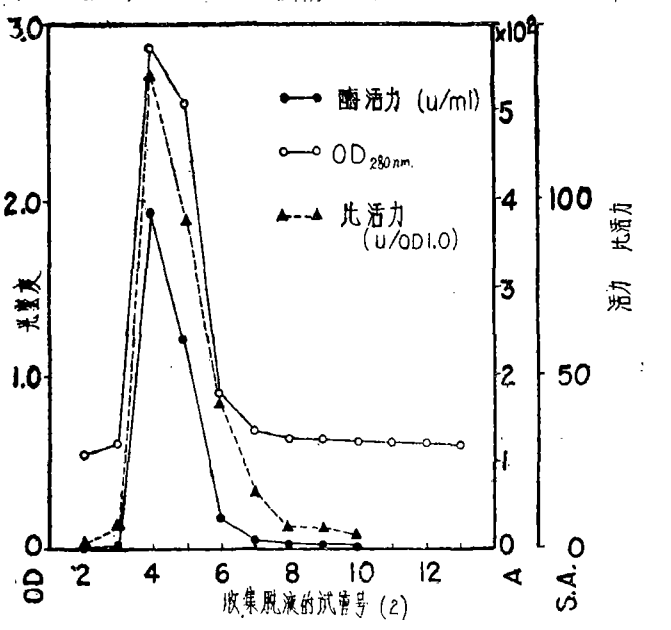


图 2　No21 (1) 和 No90(2) 的酶在偶联 α-环状糊精的环氧活化琼脂糖凝胶柱上的洗脱曲线。9×15 mm 柱，洗脱速率 8 ml/hr　透析液柱量：No 21 为 225ml，No 90 为 350 ml。

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

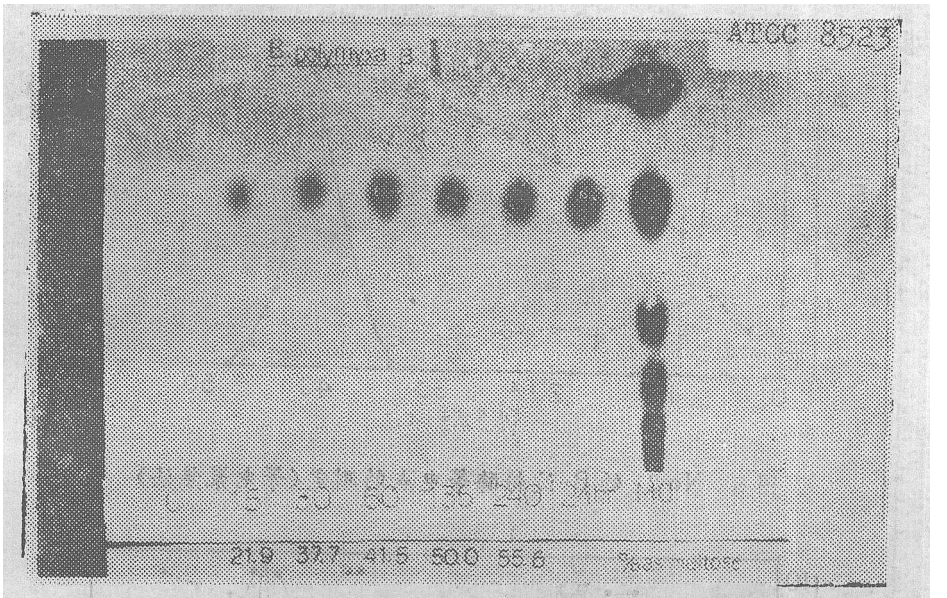


图 3　ATCC 8523 的 β-淀粉酶对可溶性淀粉的作用

图中 MO 为麦芽寡糖。

这三种酶只是被部分纯化了。

四、β-淀粉酶的确认

（一）纸层析图谱：No21 和 No90 这两个菌株产的酶象已知的 β-淀粉酶产生菌 ATCC 8523 产的酶一样作用于可溶性淀粉生成麦芽糖（图 1，图 3）。

（二）变旋光现象：用经纯化获得的 No21 和 No90 的三种酶制剂进行变旋光试验。在反应混合物中添加 Na_2CO_3，结果均引起旋光度的增加（图 4），这是酶水解可溶性淀粉生成 β-型糖的证据。Na_2CO_3 的加入可以加速旋光异物体平衡的到来，体系中因酶作用而形成的过量的 β-型糖迅速向 α-型转变，引起溶液旋光度的增加。

综上所述，No 21 和 No 90 的酶象 ATCC 8523 的酶一样，分解淀粉形成 β-型麦芽糖。因此 No 21 和 No 90 产的酶象 ATCC 8523 产的酶一样属 β-淀粉酶。

五、β-淀粉酶等电点的测定

用纯化的酶进行等电聚焦，测得 No 21 和 No 90 产的 β-淀粉酶的等电点分别为 pH 8.80 和 pH 8.98（图5）、图 6）。

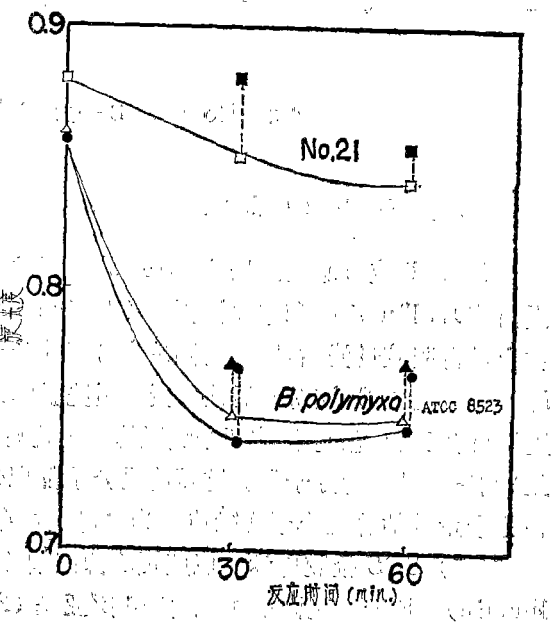


图 4　变旋光现象图中实心的点代表添加 Na_2CO_3 以后反应混合物的旋光度

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

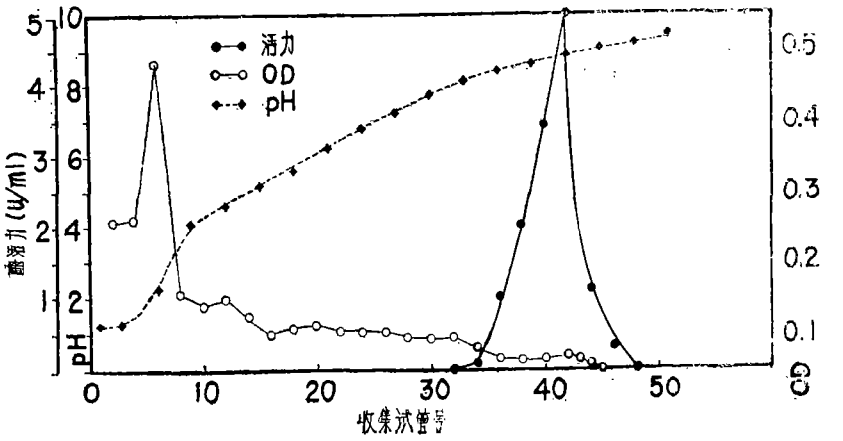


图 5　No 21 的 β-淀粉酶等电点的测定(等电聚焦法)

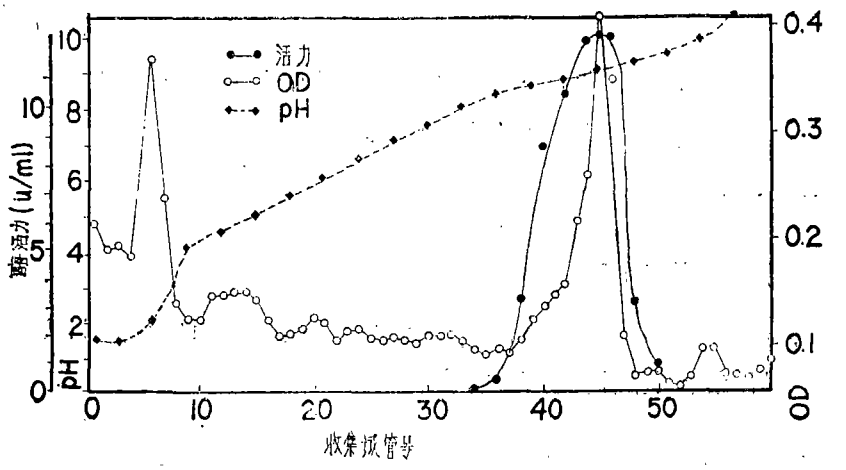


图 6　No 90 的 β-淀粉酶等电点的测定(等电聚焦法)

六、分子量的估算

(一) 凝胶过滤法：按 Andrews[9]的方法，以糜蛋白酶原(Chymotrypsinogen)、卵清蛋白 (Ovalbumin) 和牛血清蛋白 (Bovine Serum Albumin)为标定蛋白质，在葡聚糖凝胶柱上进行凝胶过滤估计这三种 β-淀粉酶的分子量。在它们各自的洗脱曲线上均只有两个峰，一个是具 β-淀粉酶活性的蛋白质洗脱峰，另一个是没有 β-淀粉酶活性的蓝葡聚糖的洗脱峰(溶液呈蓝色)。按这两个洗脱峰出现的时刻估出 β-淀粉酶分子量远低于已报导的一些微生物 β-淀粉酶的分子量。这可能是分子筛以外的因素导致酶分子洗脱的滞后，这种滞后会使分子量的估算值小于实际值。为测得较可靠的分子量，又以 SDS 凝胶电泳法作补充测定。

(二) SDS 凝胶电泳：以胰蛋酶抑制剂(Trypsin-Inhibitor)、牛血清蛋白(Rinderumalbumin)、RNA 多聚酶的 α、β 和 β′亚基 (RNA-Polypeptidkette α,β,β′) 为内标蛋白，用 SDS-凝胶电泳法测多粘芽孢杆菌 ATCC 8523 的 β-淀粉酶的分子量。如图 7-8 所示，ATCC 8523的酶可形成一强一弱两条色带，分别代表分子量为 56,000和130,000的两种蛋白质。

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

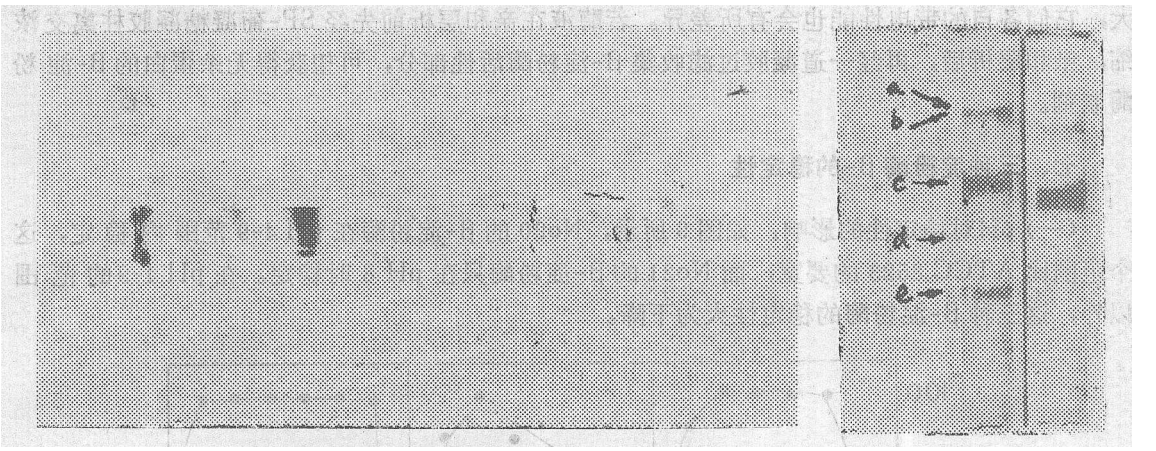


图 7　ATCC 8523 的 β-淀粉酶的 SDS 凝胶电泳结果(左)和用 SDS 凝胶电泳法估算该酶分子量的实验依据(右)

在图中，a 为 RNA 多聚酶的 β′ 亚基，分子量 165,000；b 为 RNA 多聚酶的 β 亚基，约量为 155,000；c 为牛血清蛋白；分子量为 68,000；d 为 RNA 多聚酶的 α 亚基，分子量为 39,000；e 为胰蛋白酶制剂，分子量为 21,500。

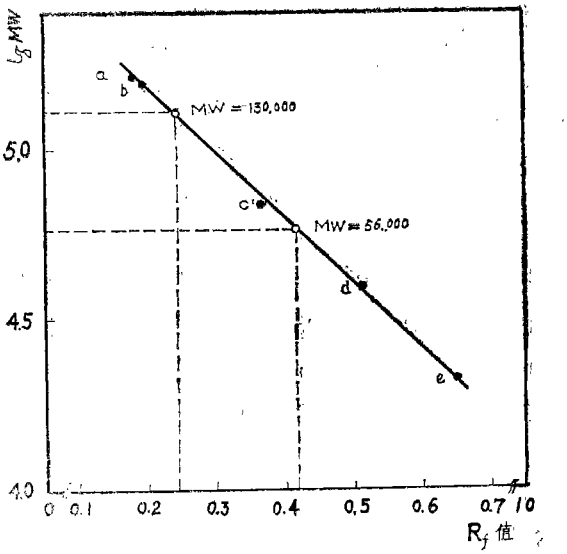


图 8　ATCC 8523 的 β-淀粉酶的分子量的测定 (SDS 凝胶电泳法)。图中实心点为标定蛋白质(参考图 7)，空心点为被测定的蛋白质。

如前所述，聚丙稀酰胺凝胶电泳结果表明，这三种酶制剂中还含有杂蛋白质，然而由葡聚糖胶过滤而得到的洗脱曲线线上并没有见到第二个蛋白质洗脱峰。从 SDS 凝胶电泳的结果推断，这第二个洗脱峰实际上已为巨大蓝葡凝糖 2000 的洗脱峰所复盖，其原因是形成弱色带的那个蛋白质的分子量达 130,000，这个数字已接近于葡聚糖凝胶 Sephadex G-100 对蛋白质分级能力的上限 150,000。显然，洗脱曲线上的唯一的酶活性洗脱峰只能与凝胶电泳中形成的强色带相对应，它们代表同一个蛋白质。这蛋白质 (ATCC 8523 的 β-淀粉酶) 的分子量为 56,000，比新家龙[10]报导的数[10]字高 10,000左右。

本研究通过硫酸铵分级沉淀和亲和层析纯化的酶仍含有小量杂蛋白，估计这种杂蛋白可能对本研究所采用的亲和层析柱亦具特殊的亲和能力。但此杂蛋白与 β-淀粉的分子量相差甚

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

大，它们各自的带电性能也会有所差异。若酶液在亲和层析前先经 SP-葡凝糖凝胶柱离交浓缩，亲和层析后，再经一道凝胶过滤收集 β-淀粉酶活性部分，可望获得无杂蛋白的 β-淀粉酶制剂。

七、三种淀粉酶 β-的稳定性

（一）pH对稳定性的影响：如图 9 所示，No90 的 β-淀粉酶在 pH 4-9 范围内稳定，这个范围比 ATCC 8523 的要宽，而 No21 的 β-淀粉酶只在 pH 8 时稳定。在 pH 4-9的范围以外，这三种 β-淀粉酶的稳定性大为下降。

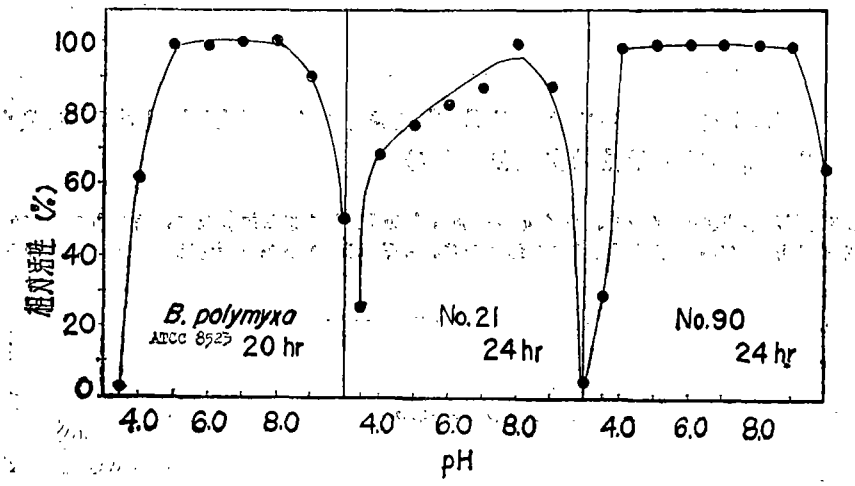


图 9　pH 对三种 β-淀粉酶的稳定性的影响

pH 3.5—6.0 时采用 0.05M 的醋酸盐缓冲液，pH 7.0—10 采用 0.05 M 的 Tris—马来酸缓冲液。β—淀酶浓度为 20 μ/ml，处理温度 40°C，处理时间 ATCC 8523 的酶 20 hr，其余两种酶 24 hr。

（二）温度对稳定性的影响：如图 10 所示，这三种 β-淀粉酶对热均不稳定，在实验条件下当处理温度高于 65℃ 时，酶活力几乎全部丧失。在 44—55℃ 的温度范围内，No21 β-淀粉酶较稳定；但在同样温度范围内，其它两种 β-淀粉酶的残存活力随温度上升而下降。

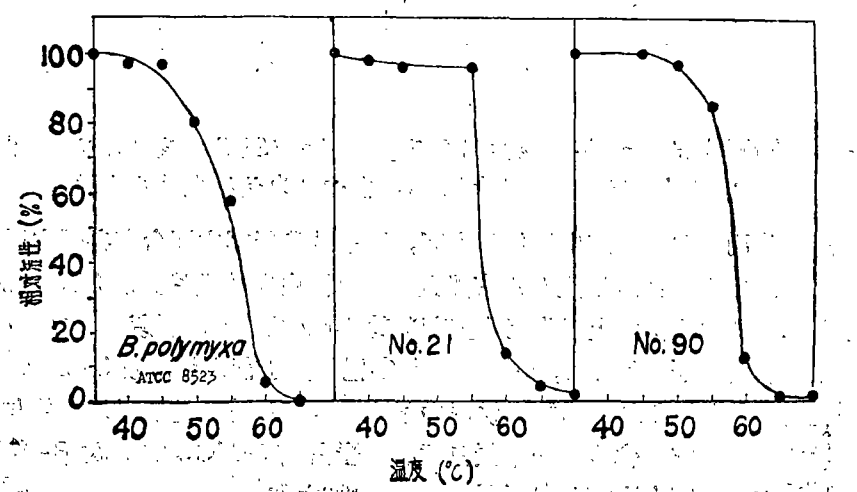


图 10　温度对三种 β-淀粉酶的影响

β—淀粉酶的浓度为 20 u/ml，在 00.5 M 的 Tris—马来酸缓冲液(pH 7.0)中在不同温度下处理 15 分钟

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

八、pH 和温度对三种酶活力的影响

（一）温度对酶活力的影响：如图 11 所示，在实验条件下，这三种 β-淀粉酶均表现较高的活性。当作用温度低于 40℃ 和高于 60℃ 时，酶的作用能力均下降。

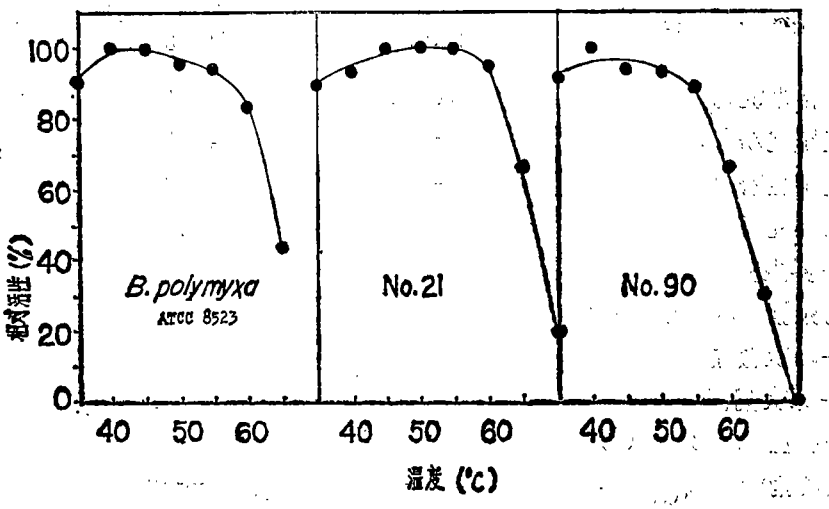


图 11　温度对 β-淀粉酶活性的影响

反应体系的基质浓度为 0.5% 的可溶性淀粉，β—淀粉酶浓度 2 u/ml，作用 pH 7.0 缓冲液浓度 15M，反应时间 15 min

（二）pH对酶活力的影响：如图 12 所示，在实验条件下，No21、No90 和 ATCC 8523 的 β-淀粉酶的最适 pH 分别为 pH7、pH8 和 pH7。

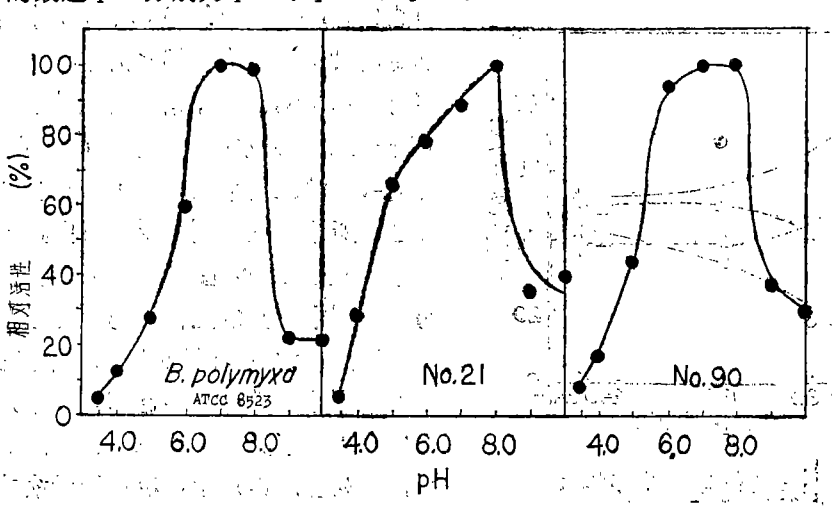


图 12　pH 对 β-淀粉酶活性的影响

反应体系的基质浓度为 1% 的可溶性淀粉，β—淀粉酶浓度 2 u/ml，作用温度 40°C，作用时间 15 min。pH 3.5—6.0 用醋酸盐缓冲液，pH 7.0—10 用 Tris—马来酸冲液，缓冲液浓度 0.05M

九、β-淀粉酶对各种底物的作用

将这三种 β-淀粉酶制剂分别与可溶性淀粉等不同基质溶液一起在 40℃ 保温，然后测定混合物中还原糖的含量。如表(四)所示。这三种酶均能水解可溶性淀粉、直链淀粉、支链淀

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

粉和动物淀粉，但不能水解β-界限糊精、普鲁兰（Pullulan）和爱希南（Elsinan）等而生成还原糖。

表（四） 纯化了的β-淀粉酶对各种底物的作用

编号	荃质名称	相对还原能力		
		ATCC 8523	No 21	No 90
1	可溶性淀粉	100.0	100.0	100.0
2	直链淀粉 $\overline{Dp_n}$ 100)	68.4	43.9	42.6
3	支链淀粉 G	91.4	70.9	66.0
4	动物淀粉	113.2	77.2	85.7
5	β-界限糊精	—	—	—
6	葡聚糖 10（分子量10^4）	—	—	—
7	α-环状糊精	—	—	—
8	β-环状糊精	—	—	—
9	普鲁兰（$\overline{M_n}$ 30×10^4）*	—	—	—
10	爱希南**	—	—	—

* 普鲁兰(Pullulan)，由麦芽三糖通过α—(1→6)键相连结而成的葡聚糖。

** 爱希南(Elsinan)，由麦芽三糖和少量麦芽四糖通过α—(1→3)键相连结而成的葡聚糖。

十、淀粉酶对可溶性淀粉的作用机制

在20ml 2%可溶性淀粉溶液和18 ml 0.02M Tris—马来酸缓冲液（pH7.0）中加入2 ml酶液(5u/ml或1 u/ml)，在40℃水浴中作用，于规定的时间里取出在沸水浴中杀酶15 min，做纸层析，测总糖、还原糖和与碘的显色度(取0.5 ml样品用蒸馏水稀释到16 ml，以4 ml 0.01 N的I_2-KI溶液发色后测660 nm波长下的OD值)。如图3所示，在不同的反应时间，产物均只有麦芽糖。从图11可看到，在β-淀粉酶作用于淀粉的过程中，反应混合物与碘的呈色度下降较慢。这是因为β-淀粉酶只能从淀粉分子的非还原性末端逐个地将麦芽糖切割下来，淀粉分子中葡萄糖单位下降较慢的缘故。从图11还可以看到，β-淀粉酶作用于可溶性淀粉最终只能形成占淀粉总量的50%左右的麦芽糖。这是因为β-淀粉酶不能打开支链淀粉分子链分支处的α-(1→6)键，结果残留下β-界限糊精大分子的缘故。

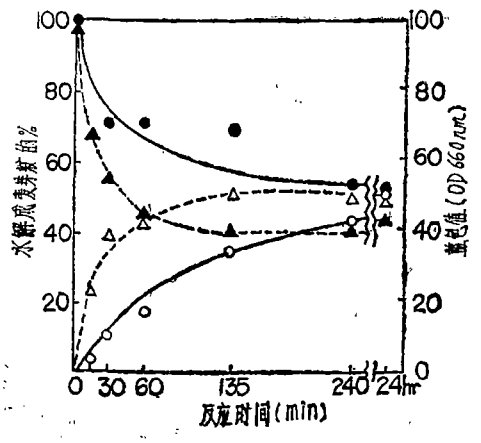


图 13 β-淀粉酶对可溶性淀粉的作用

图中空心点表示水解成麦芽糖的百分数，实心点表示蓝色值，三角形点指酶活力为5u/ml的情况，圆点指酶活力为1u/ml的情况。

本文撰写过程中，得到无锡轻工业学院发酵教研室主任檀耀辉副教授的指导，特致谢意。

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

参 考 文 献

[1] J.Robyt and D.French, Arch. Biochem. Biophys., 104, 338(1964)
[2] M.Higashihara and S. Okada, Agric. Biol. chem., 38, 1023(1974)
[3] 福井作茂：生物化学實验法，還原糖の定量法，東京大学出版会(1969)
[4] W.E.Trevelyan, D.P.Procter and J.S. Harrison, Nature, 166, 444 (1950)
[5] Vretblad, FEBS Lettet, 47(1), 86(1974)
[6] 不破英次、二国二郎：农芸化学会誌，26,154(1952)
[7] B.J.Davis, Ann. N.Y. Acad. Sci., 121, 404(1964)
[8] K.Weber and M.Osborn, J. Biol. Chem., 244, 4406(1969)
[9] P.Andrews, Biochem*J., 96, 595(1965)
[10] 新家龙：醱酵学工雜誌，57(2)102(1979)

Studies on Microbial β-Amylase Partial Purification and Properties Comparison

Zhang Xing-yuan

Abstract

Two β-amylase formers, strains No.21 and No.90, were isolated from soil. Three pieces of enzyme secreted respectively from No.21, No.90, and ATCC 8523, the known β-amylase former, were purified by fractionation with$(NH_4)_2SO_4$, followed by affinity chromatography on EpoxyActivated Sephatose 4B coupled with α-cyclodextrin. The product(maltose)of these partially purified preparations had a β-configuration, thus these enzymes are specific β-amylase.

The isoelectric ponts of No.21 and No.90 -amylases were at pH8.8 and pH8.98. The molecular weight of ATCC 8523 β-amylase was determined to be 56,000 from its mobility on sodium dodecylsulfate gel electrophoresis.

Descrioed herein are the isolation and purification procedures and comparative studies of the enzymatie properties of the β-amylases.

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net