研究论文

关中地区地下热泉普鲁兰酶产生菌的分离及其酶学性质

常　帆，　薛文娇*，　马赛箭，　安　超

（陕西省微生物研究所 微生物代谢产物研究中心，陕西 西安 710043）

摘要：从关中地区的西安市区、临潼区、长安区，以及杨凌周边地区，分别采集地下热泉泉水水样，采用培养法分别得到105株普鲁兰酶产生菌，对其中21株进行16S rDNA基因片段序列分析。比对表明，克雷伯菌属（*Klebsiella*）和芽孢杆菌属（*Bacillus*）在热泉生态系统中处于优势地位。根据统计结果，所分离的菌株在种间和种内均有显著的酶活力差异。其中GP-1最适温度为50 ℃，最适pH 4.0，在50 ℃时有良好的稳定性，保温30 min仍有92%剩余酶活。

关键词：热泉；可培养菌；普鲁兰酶；筛选；多样性

中图分类号：TS 201.25　**文献标志码**：A　**文章编号**：1673—1689(2014)12—1312—07

Isolation and Enzymatic Properties of Pullulanase Producing Strains from Hotsprings of Guanzhoug Region

CHANG Fan，　*XUE Wenjiao**，　*MA Saijian*，　*AN Chao*

（Microbial Metabolism Research Center，Shaanxi Province Institute of Microbiology，Xi´an 710043，China）

Abstract：The phylogenetic diversity of culturable pullulanase producing strains from hotsprings of guanzhong region，including Xi´an，Lintong District，Chang´an District and Yangling. A total of 105 pullulanase producing strains were isolated and 21 strains were analyzed. Analysis of 16S rDNA gene sequences revealed that Klebsiella and Bacillus is in the advantage position in the hot springs ecosystem. According to statistics，the isolated strains between species and within species showed a significant difference in enzyme activity. The optimal pH and temperature of GP-1 were 6.0 and 50 ℃ respectively. The enzyme showed stability at 65 ℃ after incubating for 30 min.

Keywords：hotsprings，culturable strains，pullulanase，isolation，diversity

普鲁兰酶（Pullulanase，EC 3.2.1.41）属于淀粉酶第13家族，是一种能够将最小单位的支链淀粉分支点中α-1，6糖苷键切开，从而剪下整个侧枝，形成直链淀粉的脱支酶[1]。在淀粉加工工业，大部分淀

收稿日期：2014-03-05

基金项目：中国科学院西部之光人才培养项目（2013DF01）；陕西省科学院青年人才科技专项（2013K-27）；陕西省科学院基础应用类研究项目（2013K-06）。

作者简介：常　帆（1984—），男，河南许昌人，工学硕士，研究实习员，主要从事微生物代谢产物研究。E-mail：492417036@qq.com

* **通信作者**：薛文娇（1976—），女，陕西榆林人，工学博士，助理研究员，主要从事微生物代谢产物的研究。E-mail：283268243@qq.com

粉质原料中的支链淀粉质量分数在 70%~95%,一般的酶制剂难以分解支链淀粉,大大影响了淀粉的利用和产品的品质。普鲁兰酶能水解 α-1,6 糖苷键,与其他淀粉水解酶(α-淀粉酶、β-淀粉酶)复合使用,可最大限度地提高淀粉质原料的利用率,是淀粉加工中不可或缺的非大宗关键酶制剂[2-3]。尽管国内外学者对普鲁兰酶进行了较多研究,但目前能满足工业需求的酶制剂产品开发仍较为有限[4]。普鲁兰酶的工业化生产菌极少,到现在为止仅有丹麦 Novo 公司的 *Bacillus acidopullulyticus* 和美国 Genencor 公司的 *B.deramificans* 等少数几株菌[4],其余菌种尚处于研究阶段。

目前普鲁兰酶已经成功地应用于糖浆、啤酒等高附加值产品的生产中[5],可提高淀粉的 DE 值达到 97%~98%[6],但普鲁兰酶使用必须满足其他淀粉酶类耐热(55 ℃)的反应条件。近年来,各国的研究者陆续发现产气气杆菌、放线菌、嗜热脂肪芽孢杆菌、栖热水生菌等包括热泉在内各种来源的耐热普鲁兰酶产生菌[3],而国内对热泉中微生物资源的研究主要在我国南方和西部地区[7-8],对关中地热水中微生物酶资源还处于初步研究阶段[9]。关中地区位于陕西省中部,地热资源丰富,地下水普遍温度在 60 ℃以上,其中白鹿塬组平均地温可达 130 ℃[10]。从关中地区周边热泉中分离产普鲁兰酶菌,通过 16S rDNA 序列特征分析及普鲁兰酶活特性的研究,筛选出多株产普鲁兰酶菌,并对其中一株的酶活性质进行了初步研究。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品来源 关中地区地下热泉出水口水样及周边淤泥,5 个采样点 XH、CD、CDF、LX 和 YT,每个采样点采集 5 份样品。用已灭菌的 50 mL 容积带盖离心管采集水样和腐殖质样品,常温运输,实验室 4 ℃保存。见表 1。

表 1 采样点情况及样品特性

Table 1 Sample points characteristics and sample conditions

编号	采样样品	经纬度	采样点温度/℃	采样点 pH
XH	西安市区和平门地下热泉出水口	108.968, 34.255	73	7.2
CD	长安区东大村渔乐庄园热泉出水口	108.787, 34.048	85	7.0
CDF	长安区东大村渔乐庄园腐殖质	108.787, 34.048	40	7.2
LX	临潼区新疆疗养院出水口	109.206, 34.374	62	6.8
YT	杨凌田园山庄地下热水	108.079, 34.245	60	6.5

1.1.2 培养基 培养基灭菌条件为 121 ℃灭菌 20 min。

1)富集培养基:糯米淀粉 12.0 g,蛋白胨 8.0 g,酵母粉 2.0 g,$MgSO_4·7H_2O$ 0.5 g,K_2HPO_4 1.0 g,水 1 000 mL;pH 7.0。

2)筛选培养基:普鲁兰多糖 3.0 g,胰蛋白胨 5.0 g,$MgSO_4·7H_2O$ 0.1 g,K_2HPO_4 0.5 g,琼脂 15.0 g,水 1 000 mL;pH 7.0。

3)产酶培养基:普鲁兰多糖 3.0 g,胰蛋白胨 5.0 g,酵母粉 2.0 g,$MgSO_4·7H_2O$ 0.1 g,K_2HPO_4 0.5 g,水 1 000 mL;pH 7.0。

1.2 方法

1.2.1 菌株富集分离与筛选 以下菌株 30 ℃静置恒温培养,形成明显菌落后,挑取单菌落获取纯培养,每个纯培养 2 个平行。加入体积分数 95%乙醇,将菌落周围有透明圈且菌落直径较大的挑入筛选培养基斜面 4 ℃保存。

1)水样菌株分离:在 80 ℃恒温水浴锅中预处理 1 h,期间多次摇匀水样。以 5%体积分数接入富集培养基中,30 ℃培养 5 d,梯度稀释后涂布于筛选培养基平板上。

2)腐殖质菌株分离:在 80 ℃烘箱中预处理 1 h,用无菌水洗涤腐殖质表面 2~3 次后用灭菌后的研钵研磨成腐殖质悬浊液,将悬浊液梯度稀释后涂布于筛选培养基平板上。

1.2.2 菌种鉴定 对分离筛选到的产普鲁兰酶菌株进行形态学和部分生理生化试验分析[11]。采用 16S rDNA 方法鉴定菌株。模板的制备:从筛选培养基上刮取适量新近接种的菌体,放入已灭菌的研钵中,加入液氮后迅速研磨,将研磨后的菌体挑入 1.5 mL 的离心管,利用 TaKaRa 试剂盒提取 DNA。PCR 的扩增与测序:细菌 16S rDNA 扩增通用引物

27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'),1492R (5'-TACGGCTACCTTGTTACGACTT-3');PCR 扩增程序:94 ℃预变性 5 min;94 ℃,1 min;56 ℃,1.5 min;72 ℃,2 min;30 个循环;72 ℃延伸 5 min;目标扩增产物经电泳检测后测序。获得序列与 Genbank 中已有的菌 16S rDNA 序列进行 Blast 分析,通过 ClustalX 2.0 进行序列比对,用 Mega 5.1 进行多序列比对,分析系统发育树的构建,分析菌株系统发育地位。

1.2.3 酶活力测定 酶活性的测定参考 DNS 法[12],发酵上清液为粗酶液,取粗酶液 500 μL,质量分数 0.5% 的普鲁兰糖溶液 500 μL,在 30、55、85 ℃下反应 20 min;冷水降温,加入 1 mL 的 DNS 溶液沸水浴煮 3 min;迅速冷却后在 540 nm 波长下测定溶液的吸光值。对照为在加 DNS 后,沸水浴前加入酶液。酶的活力单位定义为:在相应条件下,每分钟分解普鲁兰酶所释放的还原糖,其还原力相当于 1 μmol 葡萄糖所需的酶量,以 1 U/mL 表示。对酶活力较强的产普鲁兰酶菌离心后的粗酶液材料,进行进一步酶学性质分析。采用缓冲条件 pH 6.0,分别在 30、40、50、60、70 ℃和 80 ℃下反应 30 min 后测定酶活力,确定酶蛋白质最适反应温度。将酶液分别在 40、50 ℃和 60 ℃下处理 30 min,再进行酶活力测定,以研究酶的温度稳定性。将酶液在最适反应温度和不同 pH 缓冲液中进行酶促反应,根据酶活力相对值来确定其最适 pH。所用缓冲液 pH 范围为 3.0~8.0。

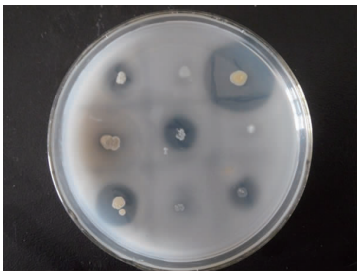
2 结果与讨论

2.1 普鲁兰酶产生菌多样性分析

富集后分离到的单菌落形态基本表现为圆形、近圆形,隆起或扁平,表面干燥、半干燥或湿润,边缘光滑或锯齿状;颜色以白色、类白色或黄色为主,还有粉红色;有少数菌有芽孢,绝大部分无芽孢。如图 1 所示。根据透明圈初步筛选获得 105 株产普鲁兰酶菌。



(a) 富集培养基中形态



(b) 筛选培养基中形态

图 1 普鲁兰酶产生菌的筛选与培养

Fig. 1 Screening and culturing of pullulanase strains

对其中 21 株长势较好,透明圈直径大于 1 cm 的菌株逐一进行 16S rDNA 扩增和测序,见表 2。根据各菌株 Blast 分析结果,选择 GenBank 中各相关菌株的 16S rDNA 序列进行比对分析,并在此基础上构建了系统发育树(图 2),初步确定了各菌株的系统发育地位。

表 2 采样地与测序菌株数量表

Table 2 Nature of samples and numbers of isolated strains

采样地编号	分离菌株数	分离菌株编号
CD	2	GP-1; GP-2
XH	4	GP-3; GP-4; GP-5; GP-6
CDF	6	GP-7; GP-8; GP-9; GP-10; GP-11; GP-12
LX	4	GP-13; GP-14; GP-15; GP-16
YT	5	GP-17; GP-18; GP-19; GP-20; GP-21

Klebsiella 菌属是肠杆菌科的一属,属于兼性厌氧菌。在关中地下热泉中分离到了产普鲁兰酶的菌 GP-1、GP-2、GP-7 和 GP-10 共 4 株。*Klebsiella* 作为普鲁兰酶的主要生产菌之一,近年来国外学者进行了大量的研究,包括 *Klebsiella pneumonia* 产普鲁兰酶的蛋白质结构解析、全基因组测序等研究,以及对普鲁兰酶调控以及转运等[13-14]。国内也有普鲁兰酶产生菌分离的相关报道[15],但在关中热泉中分离到产普鲁兰酶 *Klebsiella* 菌的报道尚属首次。

芽孢杆菌对外界有害因子抵抗力强,迄今为止已发现包括 *Bacillus flavorcaldarius*,*Bacillus cereus Var. mycoides*,*Bacillus acidopullulyticus* 和 *Bacillus subtilis*[16-17]等产普鲁兰酶的芽孢杆菌。本课题研究中由热泉中分离出的芽孢杆菌属 5 株,主要包括与 *Bacillus megaterium* 相似性高的菌株 GP-3、GP-4、GP-6、GP-12,与 *Bacillus thuringiensis* 相似性 98% 的菌株 GP-13,揭示了关中地下热泉中产普鲁兰酶芽孢杆菌的多样性。

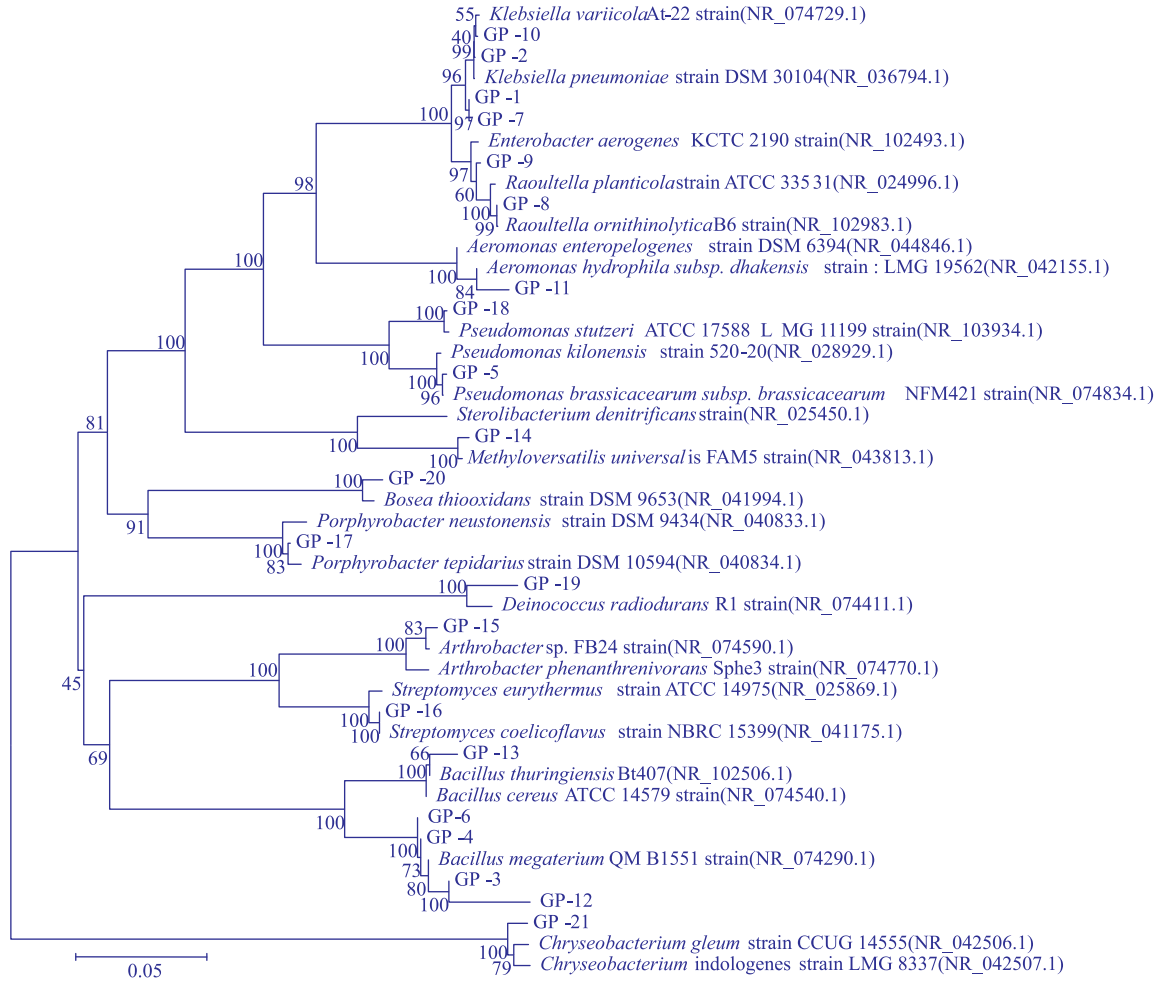


图 2 关中地区可培养普鲁兰酶产生菌以 16S rDNA 序列构建的系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree of pullulanase culturable strains isolated from Guanzhong Region

2.2 不同温度酶活力研究

检测了 30、55、85 ℃下各菌株产普鲁兰酶的酶活力,结果总结于表 3。结果显示,不同分离菌株产酶水平有较大差异,*Klebsiella* 属 GP-1、GP-2、GP-7 和 GP-10 温度由 30 ℃改变至 55 ℃时酶活变化较小,温度上升至 85 ℃时仍有一定酶活,说明 *Klebsiella* 属在高温下能保持较高的酶活性。其中 GP-1、GP-7 在 30 ℃和 55 ℃时表现出最高酶活分别为 0.114 U/mL 和 0.101 U/mL;80 ℃时 GP-1、GP-7 酶活也有 0.041 U/mL 和 0.033 U/mL;而 *Raoultella* 属的 GP-8、GP-9 也表现出相同的性质。说明菌株 GP-1、GP-2、GP-7 和 GP-10 耐热能力好,有较广阔的应用潜能。

Bacillus 同属间普鲁兰酶产生菌差异较大。GP-6 菌株随着温度升高(从 30 ℃到 85 ℃)酶活力同时升高,85 ℃时酶活达 0.063 U/mL,而同属 *Bacillus* 的 GP-12、GP-3、GP-4、GP-13 菌株没有表现出相同性质,其中 GP-4 只在 55 ℃检测到普鲁兰酶活性;GP-13 在 30、55 ℃酶活相当,而在 85 ℃失去酶活。

此外发现 *Aeromonas* 属的 GP-11 在 30、55 ℃表现出较高的酶活,分别为 0.091 U/mL 和 0.103 U/mL,在 85℃酶活也达 0.042 U/mL;而分离到的 GP-15、GP-17、GP-19、GP-20、GP-21 均检测出一定的普鲁兰酶酶活。

上述分析结果说明,*Klebsiella* 属和 *Bacillus* 属产普鲁兰酶菌在所研究的热泉生态系统中处于优势地位;培养分离得到 GP-5、GP-18 和 GP-16,表明 *Streptomyces* 和 *Pseudomonas* 属也有产生胞外普鲁兰酶的能力;而分离到的 *Arthrobacter* 属、*Porphyrobacter* 属、*Deinococcus* 属、*Bosea* 属、

Methyloversatilis 属和 *Chryseobacterium* 属等也具有产生普鲁兰酶的能力,说明关中热泉中呈现了丰富的普鲁兰酶产生菌多样性,且在不同地区群落结构不尽相同。

表 3 不同温度普鲁兰酶产生菌的酶活力

Table 3 Enzyme activity of different temperature of pullulanase producing strains

编号及相似菌株	相似性/%	不同温度普鲁兰酶平均酶活/(U/mL)		
		30 ℃	55 ℃	85 ℃
GP-1 *Klebsiella pneumoniae*	99	0.114	0.100	0.041
GP-2 *Klebsiella pneumoniae*	98	0.092	0.091	0.036
GP-7 *Klebsiella pneumoniae*	99	0.107	0.101	0.033
GP-8 *Raoultella ornithinolytica*	99	0.038	0.100	0.041
GP-9 *Raoultella planticola*	99	0.104	0.091	0.036
GP-10 *Klebsiella pneumoniae*	99	0.087	0.100	0.040
GP-11 *Aeromonas hydrophila subsp. dhakensis*	99	0.091	0.103	0.042
GP-21 *Chryseobacterium gleum*	98	0.000	0.044	0.005
GP-6 *Bacillus megaterium*	99	0.025	0.057	0.063
GP-12 *Bacillus megaterium*	97	0.051	0.060	0.002
GP-3 *Bacillus megaterium*	98	0.015	0.038	0.000
GP-4 *Bacillus megaterium*	99	0.000	0.084	0.000
GP-5 *Pseudomonas brassicacearum subsp. brassicacearum*	99	0.000	0.002	0.033
GP-13 *Bacillus thuringiensis*	98	0.007	0.008	0.000
GP-15 *Arthrobacter sp.*	99	0.077	0.067	0.002
GP-16 *Streptomyces coelicoflavus*	99	0.023	0.028	0.009
GP-17 *Porphyrobacter tepidarius*	99	0.000	0.001	0.002
GP-18 *Pseudomonas stutzeri*	99	0.000	0.001	0.008
GP-14 *Methyloversatilis universalis*	98	0.004	0.002	0.003
GP-19 *Deinococcus radiodurans*	95	0.002	0.002	0.0000
GP-20 *Bosea thiooxidans*	98	0.010	0.0012	0.0015

2.3 GP-1 酶学性质分析

2.3.1 最适温度 对 *Klebsiella* 属中酶活较高并相对稳定的编号 GP-1 菌株的酶学性质进行进一步实验分析（图 3），发现温度低于 40 ℃时酶活快速上升,温度在 50 ℃时酶活相对稳定,达 0.142 U/mL;温度高于 50℃ 酶活迅速下降，到 80 ℃酶活力只有 0.042 U/mL。

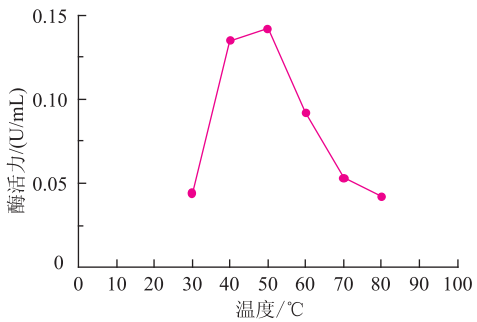


图 3 GP-1 酶反应最适温度

Fig. 3 Optimal temperature of GP-1

2.3.2 热稳定性 热稳定性测定结果表明,40 ℃和 50 ℃下很稳定，保温 30 min 后，其相对酶活有 82.4%和 93.2%。但 60 ℃下保温 30 min,其酶活就急剧下降,酶活剩余只有 23.0%,结果见图 4。

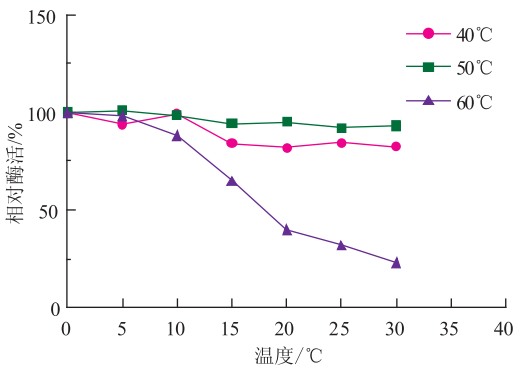


图 4 GP-1 酶热稳定性

Fig. 4 Thermal stability of GP-1

2.3.3 最适 pH 在 50 ℃温度下,pH 4.0~8.0 的缓冲液中测定酶活力,其最适反应 pH 为 4.0,但在 pH

4.0~8.0 的范围内酶的相对活力均在 40%左右,说明该酶具有较宽的 pH 范围,见图 5。

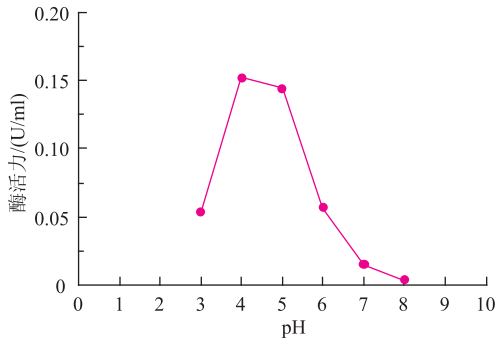


图 5 GP-1 酶反应最适 pH

Fig. 5 Optimal pH of GP-1

3 结 语

陕西关中地区地下热水资源丰富[18],从关中地区热泉中分离得到普鲁兰酶产生菌菌株,以 *Klebsiella* 属和 *Bacillus* 属为主,是两类重要的普鲁兰酶产生菌[19]。分离到 *Klebsiella* 属产普鲁兰酶菌 4 株,其中 GP-1 发酵液最高产酶活力为 0.114 U/mL,热稳定性较高,有一定的工业开发价值;分离得到 *Bacillus* 属产酶菌 5 株,最高酶活达 0.084 U/mL。而不同 *Bacillus* 属表现出不同的酶学性质,其中 GP-4 粗酶液在 55 ℃表现出高酶活,GP-6 菌株热稳定性较高。同时发现 *Methyloversatilis* 属、*Chryseobacterium* 属等也具有产生普鲁兰酶的能力,对其他种属产普鲁兰酶菌需要作进一步研究。

深入研究了 GP-1 的酶学性质,发现其产生的普鲁兰酶是酸性中温酶,适合与糖化酶共同作用提高淀粉的利用率。但由于野生菌株产酶量较低,下一步将尝试普鲁兰酶基因的异源表达,从而获得普鲁兰酶的高产菌株,以实现该酶的实际应用。

参考文献:

[1] Duan X,Chen J,Wu J. Optimization of pullulanase production in Escherichia coli by regulation of process conditions and supplement with natural osmolytes[J]. **Bioresource Technology**,2013,146:379-385.

[2] Ali G,Rihouey C,Le Cerf D,et al. Effect of carboxymethyl groups on degradation of modified pullulan by pullulanase from *Klebsiella pneumoniae*[J]. **Carbohydrate Polymers**,2013,93(1):109-115.

[3] Kunamneni A,Singh S. Improved high thermal stability of pullulanase from a newly isolated *thermophilic Bacillus* sp. AN-7[J]. **Enzyme and Microbial Technology**,2006,39(7):1399-1404.

[4] 聂尧,严伟,徐岩. 工业属性普鲁兰酶的开发及其催化性能改善的研究进展[J]. 生物加工过程,2013,11(1):104-112.
NIE Yao,YAN Wei,XU Yan. Research advances on discovery and development of pullulanase with industrial properties[J]. **Chinese Journal of Bioprocess Engineering**,2013,11(1):104-112.(in Chinese)

[5] Shi M,Chen Y,Yu S,et al. Preparation and properties of RS III from waxy maize starch with pullulanase [J]. **Food Hydrocolloids**,2013,33(1):19-25.

[6] Doman-Pytka M,Bardowski J. Pullulan degrading enzymes of bacterial origin[J]. **Crit Rev Microbiol**,2004,30(2):107-121.

[7] 唐嘉. 云南热泉亚栖热菌产耐热普鲁兰酶的研究[D]. 昆明:昆明理工大学,2007.

[8] 孙劭靖,路福平,姜楠,等. 一株产耐热普鲁兰酶菌株 *Anoxybacillus* sp. LM14-2 分离鉴定及酶学性质研究[J]. 生物技术通报,2011(9):136-141.
SUN Shaojing,LU Fuping,JIANG Nan,et al. Study of a novel thermostable pullulanase producing strain *Anoxybacillus* sp. LM14-2[J]. **Biotechnology Bulletin**,2011(9):136-141.(in Chinese)

[9] 李杨霞,张心齐,林盈盈,等. 我国中部地区热泉嗜热菌的分离及其产酶研究[J]. 浙江大学学报:理学版,2008(2):204-209.
LI Yangxia,ZHANG Xinqi,LIN Yingying,et al. Diversity of culturable thermophiles from hotsprings of Mid-China[J]. **Journal of Zhejiang University:Science Edition**,2008(2):204-209.(in Chinese)

[10] 赵慧. 关中盆地地下热水地球化学及其开发利用的环境效应研究[D]. 西安:长安大学,2009.

[11] 吉本斯布坎南. 伯杰细菌鉴定手册[Z]. 第 8 版. 北京:科学出版社,2008.

[12] 李兵. 耐热普鲁兰酶真菌的筛选、鉴定及酶学性质研究[J]. 食品与发酵科技,2012(5):46-49.
LI Bing. Isolation,identification of a high-yield thermostable pullulanase fungi and research of the enzyme properties [J]. **Food and Fermentation Technology,**2012(5):46-49.(in Chinese)

[13] Wu K M,Li L H,Yan J J,et al. Genome sequencing and comparative analysis of *Klebsiella pneumoniae* NTUH-K2044,a strain causing liver abscess and meningitis[J]. **J Bacteriol**,2009,191(14):4492-4501.

[14] Fouts D E,Tyler H L,DeBoy R T,et al. Complete genome sequence of the N2-fixing broad host range endophyte *Klebsiella pneumoniae* 342 and virulence predictions verified in mice[J]. **PLoS Genet**,2008,4(7):e1000141.

[15] 谢能中,王青艳,米慧芝,等. 产普鲁兰酶克雷伯氏菌的分离鉴定及酶学性质研究[J]. 广西科学,2013(1):35-39.
XIE Nengzhong,WANG Qingyan,Mi Huizhi,et al. Isolation of *Klebsiella pneumoniae* producing pullulanase and its enzymatic characterization[J]. **Guangxi Sciences**,2013(1):35-39.(in Chinese)

[16] Nair S U,Singhal R S,Kamat M Y. Induction of pullulanase production in Bacillus cereus FDTA-13 [J]. **Bioresource Technology**,2007,98(4):856-859.

[17] 陆健,金冲,顾国贤. 普鲁兰酶及其生产菌种[J]. 酿酒,1998(5):3-8.
LU Jian,JIN Chong,GU Guoxian. Pullulanase and Its producing strains[J]. **Vintage**,1998(5):3-8.(in Chinese)

[18] 胡扬,马致远,余娟,等. 关中盆地地下热水接受补给时温度及热储层温度的估算[J]. 地球科学与环境学报,2009(2):173-176.
HU Yang,MA Zhiyuan,YU Juan,et al. Estimation of Making-up temperrature of geothermy water and the thermal reservoir temperature in the Guanzhong basin[J]. **Journal of Earth Sciences and Environment**,2009(2):173-176.(in Chinese)

[19] 孙晓晨,初晓宇,伍宁丰. 细菌Ⅰ型普鲁兰酶的研究进展[J]. 中国农业科技导报,2012(2):73-80.
SUN Xiaochen,CHU Xiaoyu,WU Ningfeng. Reseach progress in type I pullulanase from bacteria [J]. **Journal of Agricultural Science and Technology**,2012(2):73-80.(in Chinese)

科　技　信　息

加拿大批准次氯酸钙作为淀粉改性剂

加拿大卫生部称,自3月28日发布提案以来,未收到相关评论,而且经过风险评估也未发现问题,因此决定更新淀粉改性剂列表,批准次氯酸钙作为淀粉改性剂,自10月3日起生效。

[信息来源] 食品伙伴网. 加拿大批准次氯酸钙作为淀粉改性剂 [EB/OL]. (2014-10-9). http://news.foodmate.net/2014/10/278377.html

欧盟公布生物杀灭剂法规实用指南

2014年9月23日,欧洲化学品管理局(ECHA)公布生物杀灭剂法规(BPR)实用指南,以帮助业界符合该指令的要求,更好地履行义务。最新指南文件包含以下内容:

活性物质的批准;95章:活性物质与供应商名单;技术等效;国家授权;相互认可;国家授权与相互认可下授权的更新;欧盟授权;简化授权;生物杀灭剂产品变更;数据共享;上诉(对欧洲化学品管理局的决议)。

[信息来源]厦门WTO工作站. 欧盟公布生物杀灭剂法规实用指南[EB/OL]. (2014-10-14). http://www.xmtbt-sps.gov.cn/detail.asp?id=47539。