

基于关键因素调控发酵生产过氧化氢酶

周丽萍^{1,2}, 刘 龙^{1,2}, 李江华^{1,2}, 堵国成^{*1,2}, 陈 坚^{1,2}

(1. 江南大学 工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 生物工程学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: 采用正交试验策略, 分析了不同关键因素对重组 *E. coli* 发酵生产过氧化氢酶(CAT)的影响, 确定 CAT 合成的最优摇瓶发酵条件为: 甘油 5 g/L、酵母粉 35 g/L、初始 pH 7.5、诱导温度为 30 ℃。在 3 L 发酵罐发酵生产 CAT 过程中, 当转速为 300 r/min 时, 酶活力最高为 201 17.2 U/mL, 最适发酵产酶初始甘油质量浓度为 10 g/L。以 0.67 g/(L·h) 的速率进行流加甘油时, 最高酶活达 28 243.0 U/mL。在诱导开始时一次性补入 16.7 g/L 甘油, 当发酵至 47 h 时 CAT 酶活达到最大值为 50 369.5 U/mL, 为优化前酶产量的 2.5 倍。

关键词: 过氧化氢酶; 正交试验; 重组 *E. coli*; 恒速补料; 一次性补料

中图分类号: TQ 920.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673—1689(2013)11—1156—07

Production of Catalase Based on Controlling of Key Factors

ZHOU Li-ping^{1,2}, LIU Long^{1,2}, LI Jiang-hua^{1,2}, DU Guo-cheng^{*1,2}, CHEN Jian^{1,2}

(1. Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China;

2. School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: The effect of different key factors on production of catalase (CAT) in recombinant *Escherichia coli* was analyzed by orthogonal experiment. The optimum fermentation condition in shake flask was determined: glycerol 5 g/L, yeast extract 35 g/L, initial pH 7.5, and induction temperature 30 ℃. During production of CAT in 3 L fermentor, the highest activity reached 20 117.2 U/mL at the optimum stirring speed (300 r/min). The optimum initial glycerol concentration was 10 g/L. The highest activity reached 28 243.0 U/mL when the speed of glycerol supplement was 0.67 g/(L·h). When 16.7 g/L glycerol was supplemented at start induction, the CAT activity could reach 50 369.5 U/mL after incubation for 47 h, which was 2.5 fold of that before optimization.

Keywords: catalase, orthogonal experiment, stirring speed, constant supplement, disposable supplement

过氧化氢酶(Catalase, 简称 CAT, EC 1.11.1.6)是红细胞的衍生物, 它可催化过氧化氢分解为水和氧气, 使过氧化氢不至于与超氧化物自由基反应生

成有害的·OH^[1-2]。CAT 对血红蛋白及其它的含巯基蛋白质起到保护作用, 使它们不被氧化, 因此对减轻活性氧损伤有一定意义^[1-3]。单功能 CAT 来源最为

收稿日期: 2013-07-30

收稿日期: 国家 863 计划项目(2011AA100905)。

* 通信作者: 堵国成(1965—), 男, 江苏常州人, 工学博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事酶工程和生化工程方面的研究。

E-mail: gdcu@jiangnan.edu.cn

广泛,但其结构都基本相同。它由4个相同亚基组成四聚体,每个亚基都有相同的多肽以1个血红素或铁离子作为活性中心,该活性中心的一分子铁卟啉带有4个铁原子,因此相对分子质量一般较大,为200 000~340 000^[4]。由于CAT高效催化特性,其已经广泛应用于纺织棉织物前处理、医学诊断、食品处理、造纸制浆、美容、临床、塑料、橡胶、纤维等领域^[5-7]。

CAT存在于绝大多数好氧生物和一部分厌氧生物中。CAT也普遍存在于植物中,但不包括真菌,虽然已发现有些真菌在低pH值和温暖的环境下能够产生该酶。动物CAT存在于已知动物的各个组织中,尤以肝与红细胞为最多。动物肝脏是CAT的一个很大来源,国内外均已实现这一产品的工业化生产^[3,8-10]。微生物来源的CAT是目前研究的热点。国外继黑曲霉和微溶壁球菌产CAT分别实现工业化生产之后,又开发了产酶性能更佳的嗜热子囊菌、芽孢杆菌、重组大肠杆菌等微生物菌种^[3]。国内用微生物生产CAT主要还停留在研究开发阶段。现在市售商品过氧化氢酶基本为牛肝过氧化氢酶和微生物产过氧化氢酶共存,微生物生产CAT基本由诺维信、有田酵素、杰能科等个别大公司控制。

本研究室前期已利用PCR扩增技术得到枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)过氧化氢酶基因*katA*,将该基因与表达载体连接构建重组质粒,实现了在大肠杆菌(*Escherichia coli*)BL21高效表达。初步优化后,摇瓶产酶水平达到20 000 U/mL。研究中发现,要实现过氧化氢酶的工业化生产,存在的问题主要是酶表达量仍相对较低。

作者采用系统发酵优化策略,对构建好的重组*E. coli*进行CAT发酵产酶研究,确定了影响重组菌产酶的关键因素及其含量。为了进一步提高CAT的表达量,在已确定关键因素的基础上,采用不同甘油流加策略在3 L发酵罐上进行相应优化研究,确定了最适产酶补料策略,这为其工业化生产奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 菌株与质粒

枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)WSHDZ-01^[11]:由武汉中国典型培养物保藏中心保藏,保藏编号为CCTCC NO:M206062。已构建产酶重组大肠杆菌基

因工程菌*E. coli* BL21 (DE3) (pET-20b(+)-*katA*)宿主:为作者所在研究室构建并保存^[3]。

1.2 培养基

1.2.1 种子培养 从-80℃保藏甘油管中接100 μL至25 mL/250 mL的LB培养基中,37℃、200 r/min摇床培养。接种前于LB中添加100 μg/mL的氨苄青霉素(Amp)。

1.2.2 摇瓶发酵培养 将活化的重组大肠杆菌LB种子液以体积分数3%接入装有30 mL/250 mL的发酵培养基中,37℃、200 r/min摇床培养36 h。

1.2.3 3 L发酵罐培养 将培养好的重组大肠杆菌种子液以体积分数3%接入装液量为1.5 L的3 L NBS发酵罐中,起始搅拌转速400 r/min,通气量1 vvm,温度为37℃,诱导温度为30℃,pH 7.5。其他发酵条件视优化条件改变。

1.3 酶液制备

取所需量的发酵液4℃、10 000 r/min离心5 min,上清液即为胞外过氧化氢酶液样品;菌体以K₂HPO₄-KH₂PO₂(pH 7.0)缓冲液洗涤后,于4℃、10 000 r/min离心5 min,弃上清液,再以适量上述缓冲液重悬菌体后放置于冰浴;超声波间歇破碎10 min后4℃、10 000 r/min离心5 min,上清液即胞内过氧化氢酶液待测样品^[12-13]。

1.4 过氧化氢酶活性测定

采用分光光度法于37℃测定酶活。反应体系为3 mL,将0.1 mL待测酶液样品快速加入2.9 mL含10 mmol/L H₂O₂的50 mmol/L KH₂PO₄-K₂HPO₄缓冲液(pH 7.0)中,用UV-2450型紫外-可见光分光光度计于240 nm处测定H₂O₂的分解速率。酶活定义为:37℃下,每分钟分解1 μmol H₂O₂所需的酶量为一个酶活单位^[14]。

1.5 菌体浓度测定

取一定量的发酵液稀释后,用分光光度计测定其在600 nm波长下的OD₆₀₀值。

1.6 甘油质量浓度测定

采用安捷伦1100高效液相色谱(HPLC)。色谱条件为流动相:5 mmol/L H₂SO₄(275 μL浓H₂SO₄定容至1 L),流速:0.6 mL/min,柱温:35℃,进样量:5 μL。

2 结果与讨论

2.1 正交试验设计优化摇瓶发酵条件

酶的生物合成受到多种因素共同制约,同时各

种因素、条件等对酶合成的影响大小也是不一样的,因此需要对各种因素的影响进行综合考察。本研究采用正交试验对影响 CAT 合成的几个主要因素进行考察,从中分析出主次因素以及各个因素对 CAT 合成的影响规律,从而找出重组 *E. coli* BL21 (DE3) (pET-20b(+)/*katA*) 胞外 CAT 合成的关键因素^[15]。

根据单因素实验考察的结果^[3],选择碳源-甘油,氮源-安琪酵母粉,诱导温度,pH 四种因素作为正交试验设计的因素,每个因素选择三个水平,进行了四因素三水平的正交试验。表 1 是正交试验设计因素水平表,表 2 是正交试验结果直观分析表。根据极差直观分析,得到了各因素对胞外 CAT 合成的影响大小。如表 3 所示,各个因素影响 CAT 合成的

主次顺序为:诱导温度>甘油>安琪酵母粉>pH,即温度的影响最大,其次是甘油和安琪酵母粉,最后是 pH。在此基础上,为了获得 CAT 的较高合成水平,根据各因素各水平的平均值确定最优水平,进而选出最优组合。

表 1 正交试验因素水平表

Table 1 Factors and levels for the orthogonal test

水平	试验因素			
	甘油质量浓度/(g/L)	安琪酵母粉质量浓度/(g/L)	诱导温度/℃	pH
	A	B	C	D
1	2	35	30	7.1
2	5	40	32	7.2
3	10	45	37	7.9

表 2 正交试验结果直观分析表

Table 2 Intuitive analysis table of the orthogonal test

实验	因素				酶活/(U/mL)
	A	B	C	D	
实验 1	1	1	1	1	21 151.3
实验 2	1	2	2	2	16 635.8
实验 3	1	3	3	3	17 205.0
实验 4	2	1	2	3	22 137.3
实验 5	2	2	3	1	21 642.8
实验 6	2	3	1	2	22 839.1
实验 7	3	1	3	2	20 671.0
实验 8	3	2	1	3	21 927.5
实验 9	3	3	2	1	10 920.3
均值 1	18 330.667	21 319.833	21 972.583	17 904.750	
均值 2	22 206.333	20 068.667	16 564.417	20 048.583	
均值 3	17 839.583	16 988.083	19 839.583	20 423.250	
极差	4 366.750	4 331.750	5 408.166	2 518.500	

表 3 各因素影响 CAT 合成的相对重要性及最优水平选择

Table 3 Relative importance of various factors and the optimal level for CAT activity

相对重要性	主要 → 次要			
因素	诱导温度 C	甘油 A	安琪酵母粉 B	pH D
水平	1	2	1	3

分析结果表明,在所选的几种因素中,温度是影响重组 *E. coli* 发酵生产 CAT 的最主要因素。据报道,诱导温度是重组 *E. coli* 发酵生产重组蛋白的

重要因素之一^[16-17]。温度过高时常会导致质粒稳定性降低,对重组蛋白的表达具有负面效应^[18]。Fang 等研究发现,当诱导温度由 30 ℃增加至 37 ℃时,重组 *E. coli* 生产碱性果胶酶的产量急剧下降^[18]。pH 对产酶的影响相对较小,综合考虑菌体生长及产酶等因素取最适初始 pH 7.5。依据正交试验结果,确定 CAT 合成的最优摇瓶发酵条件为:甘油 5 g/L、安琪酵母粉 35 g/L、初始 pH 7.5、诱导温度为 30 ℃。经摇瓶验证结果显示胞外 CAT 活性达到 24 152.7 U/mL,与优化前(20 000 U/mL)相比,CAT 产酶量显

著提高。

2.2 搅拌转速对重组 *E. coli* 发酵生产 CAT 的影响

采用摇瓶优化得出的最佳条件进行罐上实验,主要考察了搅拌转速、流加策略等因素对罐上发酵生产 CAT 的影响。从摇瓶放大到发酵罐放大过程中,往往会发现发酵过程偏差较大的现象,发现主要原因就是在于溶解氧、搅拌剪切力等的变化^[19]。发酵过程对于溶氧的需求并不是越大越好,有研究表明,高溶氧可能会抑制重组 *E. coli* 发酵过程中一些产物的生成。Petrucchioli 研究发现,适中的搅拌转速有利于 CAT 的发酵生产^[20]。

发酵罐中的溶解氧主要可以通过搅拌转速和通气量来调节。搅拌的作用是打散气泡的作用,提高发酵液中溶氧量,使罐内溶液在发酵过程中充分混匀。适当增大通气量结合搅拌的作用,可以更有利促进氧的流通及传递。本研究在通气量为 1 vvm 的前提下,不同搅拌转速(300、400、450 r/min)下发酵过程参数变化,结果见图 1。在转速从 300~450 r/min 的变化过程中,随着搅拌转速的增大,发酵前 12 小时(对数期)菌体生长速度大大增加,之后进入稳定期菌体量基本恒定。当搅拌转速为 400 r/min 时,菌体生长迅速,约 26 h 后最大 OD₆₀₀ 值达到 42.5 (图 1a)。不同搅拌转速对重组 *E. coli* 菌体生长具有重要意义,随着搅拌转速的增加,最大比生长速率逐渐增加(图 1b)。在 450 r/min 时,比生长速率达到最大,最大值为 1.5 h⁻¹。CAT 发酵产酶酶活随着转速增大急剧减少,转速为 300 r/min 时,酶活力最高,为 20 117.2 U/mL(图 1c)。不同搅拌转速对重组 *E. coli* 发酵生产 CAT 的生成速率具有重要影响。如图 1d 所示,随着搅拌转速的不断降低,CAT 酶的比生成速率逐渐增加,当搅拌转速为 300 r/min 时,酶的比生成速率达到最大,为 71.7 U/(mL·h·OD₆₀₀)。由此可知,增大搅拌转速能很好的促进菌体生长,然而却抑制了产物 CAT 的发酵生产。结果表明,较低的转速有利于目的产物 CAT 的生成,因此选择 300 r/min 的搅拌转速进行发酵优化。

2.3 不同初始甘油质量浓度对重组菌发酵生产 CAT 的影响

在重组 *E. coli* 发酵生产重组蛋白过程中,培养基中的碳氮比直接影响产物合成及细胞增殖。这就需要调节好初始碳源质量浓度,太低将会使发酵液

中营养不足、菌体生长受限,太高又会对细胞生长造成底物抑制效应。不同初始甘油质量浓度条件下,细胞对甘油的消耗及自身生长代谢情况也会不同。研究表明,初始甘油质量浓度对 *E. coli* 发酵生产重组蛋白具有重要作用^[18]。为此,作者考察了不同初始甘油质量浓度下重组 *E. coli* 生长及生产重组 CAT 的情况变化。

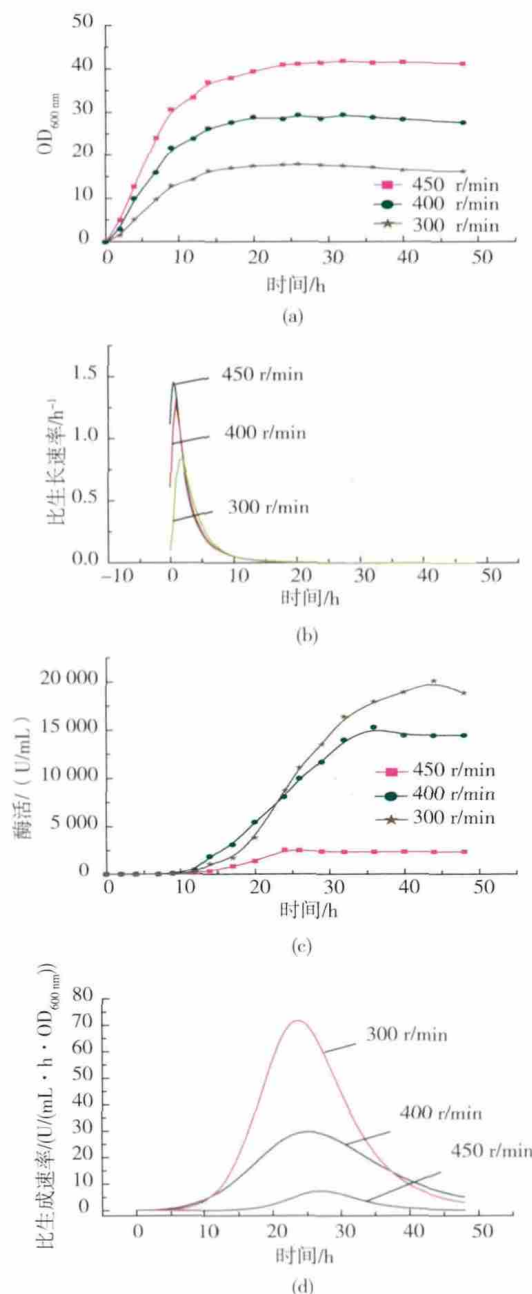


图 1 搅拌转速对重组 *E. coli* 发酵生产 CAT 的影响
Fig. 1 Effect of different stirring speed on CAT production in recombinant *E. coli*

虽然前面摇瓶优化得出的最佳甘油质量浓度为 5 g/L,但是经过罐上放大,通气量、转速的作用效果都会使菌体比摇瓶更快速生长,考虑到 5 g/L 的甘油可能不够消耗,因此实验选取了 10、15、20、30 g/L 进行研究,结果见图 2。

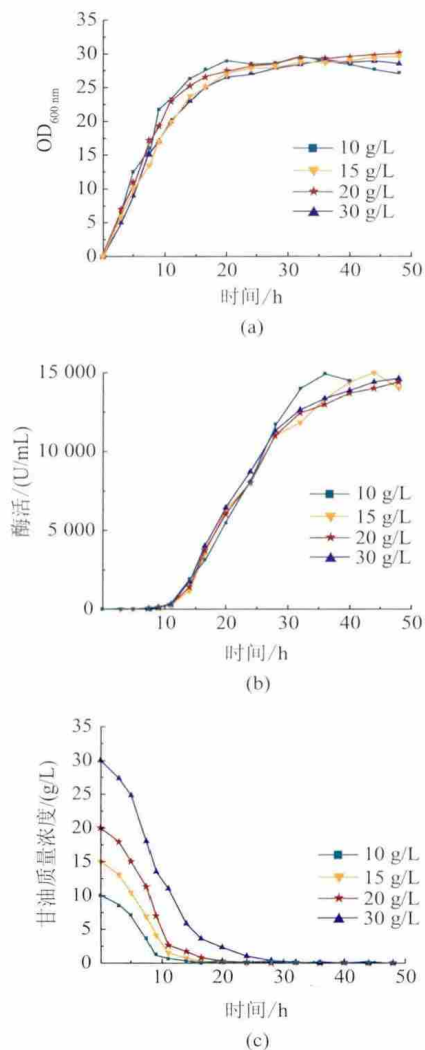


图 2 不同初始甘油质量浓度下的发酵过程曲线

Fig. 2 Curve of fermentation process under different initial glycerol concentrations

由图 2(a)可知,在考察的甘油质量浓度范围内菌体细胞均能较好的生长,生长趋势及所能达到的最大 OD_{600} 值都相差不大,但是到发酵后期初始甘油质量浓度为 10 g/L 时的菌体生长有略微下降,可能原因是后期甘油耗尽,不能继续维持细胞生长。由图 2(b)可见,随着甘油初始质量浓度的增大,工程菌的 CAT 胞外酶活有增大趋势,然而周期也随之延长,这在工业化中是不可取的。在初始甘油质量浓度为 10 g/L 时,最大酶活与其他初始甘油质量浓

度有所偏差,但是发酵及产酶周期却是最短的。由图 2(c)可知,发酵液种甘油质量浓度随着发酵过程的进行而下降。因此,综合考虑 CAT 产量、发酵周期以及工业化生产成本等因素,采用 10 g/L 的甘油作为初始质量浓度,可以更经济地得到较理想的酶产量。另外,也可以考虑在甘油初始质量浓度较低情况下,可以通过发酵过程的补料来达到更好的高产效果。

2.4 恒速流加甘油对菌体生长及产酶的影响

通过前面的研究发现,菌体生长与产酶并不是成正比的,需要找到一个适宜的条件使得菌体生长与产酶得到协调增长。由 2.3 得出最适的初始甘油添加质量浓度为 10 g/L,在此基础上在诱导后开始恒速流加甘油,根据发酵对数后期甘油的消耗速率,拟选择 $0.67 \text{ g}/(\text{L} \cdot \text{h})$ 的速率流加甘油 25 h(发酵过程因取样、蒸发、流加等因素造成发酵液体积变化忽略),结果见图 3。如图 3a 所示,甘油的恒速流加不能对菌体生长产生促进作用,随着甘油的不断流加,重组菌的菌体浓度逐渐降低。通过对 CAT 酶酶活的测定发现,甘油流加可以促进酶的发酵生产,最高酶活为 $28\,243.0 \text{ U/mL}$ 。如图 3b 所示,甘油的流加对菌体比生长速率几乎没有促进作用。但甘油的流加能促进 CAT 酶产量的提高,但同时也抑制了前期酶的生产,在发酵后期 CAT 开始快速生产。

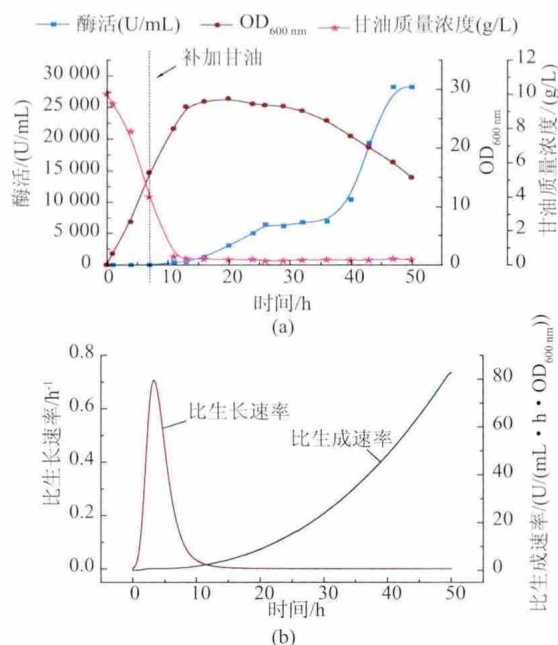


图 3 甘油恒速流加对菌体生长及产酶的影响

Fig. 3 Effect of constant glycerol feeding on cell growth and CAT production

2.5 一次性补加甘油策略的猜想及验证

由上述结论可知,甘油恒速流加不利于此重组 *E. coli* 工程菌的发酵生产 CAT,而后期酶活的剧增说明,加快甘油的补料速率或者一次性补入碳源是否也能起到提高酶产量的效果。因此,在诱导开始时一次性补入上述恒速流加等量的甘油,即 16.7 g/L,进行发酵过程参数(酶活、OD₆₀₀、菌浓)的测定与分析,见图 4。如图 4(a)所示,在诱导时一次性补加甘油,OD₆₀₀ 迅速上升,最大值为 27.9。当发酵至 47 h 时,CAT 酶活达到最大值为 50 369.5 U/mL,为优化前酶产量的 2.5 倍。如图 4(b)所示,在诱导开始时采用一次性补料策略,可以使产酶的最大比生成速率出现的时间提前,有利于酶的快速高效生产。

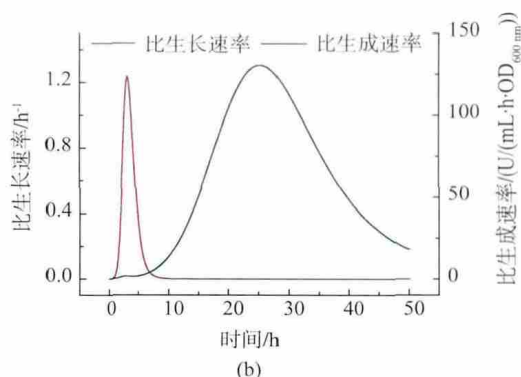
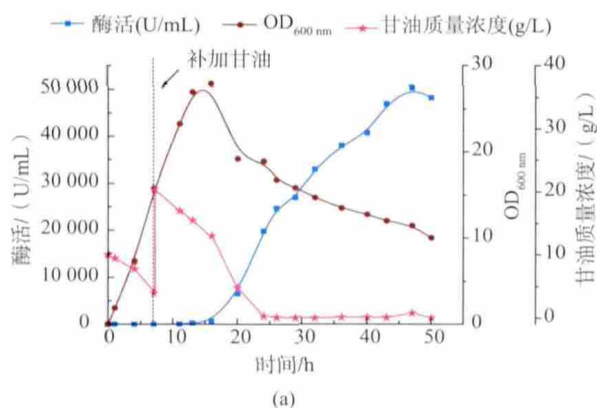


图 4 甘油补料对菌体生长及产酶的影响

Fig. 4 Glycerol feeding on cell growth and CAT production

3 结 语

本研究采用正交试验策略,系统分析了不同关键因素对重组 *E. coli* 发酵生产 CAT 的影响,确定了 4 种不同关键因素对产酶的影响次序。同时,确定 CAT 合成的最优摇瓶发酵条件为:甘油 5 g/L、安琪酵母粉 35 g/L、初始 pH 7.5、诱导温度为 30 ℃。搅拌转速对重组菌发酵产酶具有重要影响,当转速为 300 r/min 时,酶活力最高为 20 117.2 U/mL。在 3 L 发酵罐上发酵生产 CAT 时,在初始甘油质量浓度为 10 g/L 时发酵与产酶周期最短,最适合发酵产酶。甘油的流加能促进 CAT 酶产量的提高,以 0.67 g/(L·h) 的速率流加甘油,最高酶活为 28 243.0 U/mL。然而,在诱导开始时一次性补入上述恒速流加等量的甘油,当发酵至 47 h 时,CAT 酶活达到最大值为 50 369.5 U/mL,为优化前酶产量的 2.5 倍。

参考文献:

- [1] Yuzugullu Y, Trinh C H, Smith M A, et al. Structure, recombinant expression and mutagenesis studies of the catalase with oxidase activity from *Scytalidium thermophilum*[J]. *Acta Crystallographica Section D-Biological Crystallography*, 2013, 69:398-408.
- [2] Cantemir A R, Raducan A, Puiu M, et al. Kinetics of thermal inactivation of catalase in the presence of additives [J]. *Process Biochemistry*, 2013, 48(3):471-477.
- [3] 周丽萍,张东旭,李江华,等. 过氧化氢酶基因在大肠杆菌中的克隆表达及发酵优化[J]. *工业微生物*, 2011, 41(3):1-6. ZHOU Li-ping, ZHANG Dong-xu, LI Jiang-hua, et al. Cloning, expression and fermentation optimization of a catalase gene in *E. coli*[J]. *Industrial Microbiology*, 2011, 41(3):1-6. (in Chinese)
- [4] Zámocký M, Koller F. Understanding the structure and function of catalases: clues from molecular evolution and in vitro mutagenesis[J]. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 1999, 72(1):19-65.
- [5] 方芳,李寅,堵国成,等. 一株嗜热子囊菌产生的碱性耐热过氧化氢酶及其应用潜力[J]. *生物工程学报*, 2003, 5(3):423-428. FANG Fang, LI Yin, DU Guo-cheng, et al. Thermo-alkali-stable catalase from *Thermoascus aurantiacus* and its potential use in textile bleaching process[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2003, 5(3):423-428. (in Chinese)
- [6] Silveira L R, Sampaio I H, Bomfim L, et al. Catalase overexpression and mitochondrial function in insulin resistant muscle cells

- [J]. **Faseb Journal**, 2012, 26: 221–227.
- [7] HE Jian-long, K Sakaguchi, T Suzuki. Acquired tolerance to oxidative stress in *Bifidobacterium longum* 105-A via expression of a catalase gene[J]. **Applied and Environmental Microbiology**, 2012, 78(8): 2988–2990.
- [8] QI Ce, CHEN Yan, HUANG Jian-hua, et al. Preparation and characterization of catalase-loaded solid lipid nanoparticles based on soybean phosphatidylcholine[J]. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 2012, 92(4): 787–793.
- [9] Kandukuri S S, Noor A, Ranjini S S, et al. Purification and characterization of catalase from sprouted black gram (*Vigna mungo*) seeds[J]. **Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, 2012, 889: 50–54.
- [10] Ali S, Xia J, Ren S, et al. Catalase production influences germination, stress tolerance and virulence of *Beauveria bassiana* conidia [J]. **Pakistan Journal of Zoology**, 2012, 44(2): 537–544.
- [11] 赵志军, 华兆哲, 刘登如, 等. 碱性过氧化氢酶高产菌的筛选、鉴定及发酵条件优化[J]. 微生物学通报, 2007, 34(4): 667–671. ZHAO Zhi-jun, HUA Zhao-zhe, LIU Deng-ru, et al. Screening, identification and fermentation optimization of a alkaline catalase-producing strain[J]. **Microbiology China**, 2007, 34(4): 667–671. (in Chinese)
- [12] 赵志军. 新型过氧化氢酶生产菌的筛选与发酵条件优化[D]. 无锡: 江南大学, 2007.
- [13] 诸葛健, 王正祥. 工业微生物实验技术手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1994: 20–21.
- [14] Bergmeyer HUI. Methods of enzymatic analysis[M]. Weinheim: Verlag Chemie Press, 1983: 273–277.
- [15] Dimple B. Regulation of bacterial oxidative stress genes[J]. **Annual Review of Genetics**, 1991, 25(1): 315–337.
- [16] FU Wei-qi, LIN Jian-ping, CEN Pei-lin. Expression of a *hemA* gene from *Agrobacterium radiobacter* in a rare codon optimizing *Escherichia coli* for improving 5-aminolevulinate production[J]. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 2010, 160(2): 456–466.
- [17] Pinsach J, Mas C, López-Santín J. Induction strategies in fed-batch cultures for recombinant protein production in *Escherichia coli*: application to rhamnulose 1-phosphate aldolase[J]. **Biochemical Engineering Journal**, 2008, 41(2): 181–187.
- [18] FANG Shu-ying, LI Jiang-hua, LIU Long, et al. Overproduction of alkaline polygalacturonate lyase in recombinant *Escherichia coli* by a two-stage glycerol feeding approach[J]. **Bioresource Technology**, 2011, 102(22): 10671–10678.
- [19] 刘建忠, 翁丽萍, 计亮年. 表面响应法优化黑曲霉过氧化氢酶的发酵工艺[J]. 微生物学通报, 2002, 29(5): 17–21. LIU Jian-zhong, WENG Li-ping, JI Liang-nian. Optimization of bioprocess of catalase production by *Aspergillus niger* using response surface methodology[J]. **Microbiology**, 2002, 29(5): 17–12. (in Chinese)
- [20] Petruccioli M, Fenice M, Piccioni P, et al. Effect of stirrer speed and buffering agents on the production of glucose oxidase and catalase by *Penicillium variable* (P16) in benchtop bioreactor[J]. **Enzyme and Microbial Technology**, 1995, 17(4): 336–339.

科技信息

美国食品安全与营养应用中心(CFSAN)公布 2013–2014 年度工作要点

据美国 FDA 消息, 9 月 4 日美国食品安全与营养应用中心(CFSAN)公布 2013–2014 年工作要点, 其主要工作目标为减少全球化食品供应链、食品工艺的改进及消费者对新鲜或初级加工食品偏好造成的消费者健康风险。2013–2014 年度 CFSAN 工作重点是以下六个关键目标: 1. 降低食源性疾病和化妆品患病率。2. 基于最佳科学、预防和公共卫生风险建立新的法规、政策、指南、检验策略文件。3. 加强从农场到餐桌预防性控制标准的实施。4. 提供更好的营养及膳食选择, 改善公共卫生状况。5. 建立快速有效的食品危害的识别、控制、消除方法。6. 人员及资源的优化合理配置。

[信息来源] U.S. Food and Drug Administration. Center for Food Safety and Applied Nutrition (CFSAN) Plan for Program Priorities, 2013–2014 [EB/OL]. (2013–10–25). <http://www.fda.gov/AboutFDA/CentersOffices/OfficeofFoods/CFSAN/WhatWeDo/ucm366279.htm>