

大曲中产酯化酶菌株的分离鉴定及固体发酵工艺优化

滕巍^{1,2}, 李国莹^{1,2}, 刘小波^{1,2}, 王强^{1,2}, 顾秋亚^{1,2}, 余晓斌^{*1,2}

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

摘要: 为提高大曲中己酸乙酯含量, 从汾酒大曲中分离得到 1 株高产己酸乙酯酯化酶的霉菌 SXG-Z-6, 结合形态学特征和分子鉴定方法对其进行鉴定, 确定为黑曲霉。以酯化力为指标, 对该菌株的固体发酵培养基和培养条件进行优化, 得到最适培养基: 以 10 g 麸皮为基质, 添加 1.5 g 玉米粉, 2 g 酵母粉, 体积分数 1% 大豆油, 0.2 g (NH₄)₂SO₄ 和 10 mL 蒸馏水。最适培养条件为 36 ℃ 恒温静置培养 44 h, 酯化力最高达到 615.8 mg/dL, 比优化前提高了 35.7%。

关键词: 酯化酶; 己酸乙酯; 酯化力; 筛选; 固体发酵

中图分类号: TQ 920.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673—1689(2016)09—0971—07

Isolation and Identification of Ethyl Caproate Esterifying Enzyme in Daqu and its Fermentative Technology Optimization

TENG Wei^{1,2}, LI Guoying^{1,2}, LIU Xiaobo^{1,2}, WANG Qiang^{1,2}, GU Qiuya^{1,2}, YU Xiaobin^{*1,2}

(1. School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: To improve the ethyl caproate in daqu. A hyper ethyl caproate esterifying enzyme producer-SXG-Z-6, was isolated from Fen-Daqu. The analysis of morphological and molecular characteristics showed that this wild-type strain was closest to *Aspergillus niger*. The culture media and conditions were optimized using esterifying power as the reference index. As a result, the optimal culture conditions were summed up as follows: 10 g wheat bran as culture substrate, 1.5 g corn flour, 2 g yeast extract, 1 % (v/v) soybean oil, 0.2 g (NH₄)₂SO₄ and 10 mL H₂O, at 36 ℃ for 44 h. The highest esterifying power could reach 615.8 mg/dL, which was improved by 35.7% than the control.

Keywords: esterifying enzyme, ethyl hexanoate, esterifying power, screening, solid state fermentation

酯酶(Esterase E.C.3.1.1.2)又称羧基酯酶,是指能水解羧酯键的酶,但该酶也可以催化合成低级脂肪酸酯。由于该酶同时具有催化酯的合成与分解的功能。因此,白酒业习惯分别称之为酯化酶和酯分解酶^[1]。

大曲中的微生物种类繁多,对浓香型大曲而言,其中酯化酶产生菌是一类重要的功能菌,主要包括细菌、酵母菌和霉菌等,其中霉菌是浓香型白酒酿造中重要的产酯菌之一^[2],所产生的酯化酶能将己酸(窖泥功能菌代谢)与乙醇(糟醅体系代谢)

收稿日期: 2014-10-22

基金项目: 国家 863 计划项目(2012AA021302)。

* 通信作者: 余晓斌(1965—),男,安徽芜湖人,工学博士,教授,博士研究生导师,主要从事发酵健康食品和酶技术方面的研究。

E-mail: xbyu@jiangnan.edu.cn

缩合生成己酸乙酯^[3],己酸乙酯是浓香型大曲酒的主体香味物质^[4]。近几年来,酯化酶在催化酯化反应中的作用已经被越来越多的酿酒人士所认识^[5],因此筛选代谢产酯化酶活力较高的菌株,催化己酸乙酯的生成,并与己酸菌配合,可大大提高己酸乙酯的生成速率^[6],从而达到提高酒质、缩短发酵周期的目的^[7]。从大曲样品中筛选出产酯化酶活力较高的菌株,并对该菌株的固体发酵条件进行优化,最终得到该菌株的最适发酵条件,为其在提高大曲中酯含量及提高优质酒率等领域的应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 大曲样品 洋河大曲、汾酒大曲、汤沟大曲、泸州中温曲、泸州高温曲、山西红心曲。

1.1.2 平板筛选培养基

1)细菌培养基(g/L):牛肉膏 3,蛋白胨 10,氯化钠 5,琼脂 25;2)乳化液:将 3%的聚乙烯醇溶液和三丁酸甘油酯按体积比 9:1 搅拌混合;将细菌培养基与乳化液按体积比 4:1 混合,自然 pH。

1.1.3 种子液培养基

1)细菌(g/L):牛肉膏 3,蛋白胨 10,氯化钠 5;自然 pH。

2)酵母(g/L):酵母粉 10,蛋白胨 20,葡萄糖 20;自然 pH。

3)霉菌(g/L):黄豆粉 20,玉米粉 20,蛋白胨 10,KH₂PO₄ 1,(NH₄)₂SO₄ 2.5,CaCl₂ 0.1,MgSO₄ 0.5;自然 pH。

1.1.4 固体发酵培养基(g) 麸皮 10,玉米粉 1,豆粕 2,(NH₄)₂SO₄ 0.2;蒸馏水 10 mL,自然 pH。

1.2 方法

1.2.1 菌种初筛 将各种大曲样品研细成粉,称取 10 g 于 100 mL 装有玻璃珠的无菌生理盐水中,浸泡 30 min。然后取上清液用无菌生理盐逐级稀释,配制成菌悬液。分别吸取 0.2 mL 稀释度为 10⁻²~10⁻⁶ 菌悬液,均匀涂布于平板筛选培养基上,每个稀释度各做 2 个平行样。将接种好的平板置于 35 ℃恒温培养箱中培养 3~4 d。观察在菌落周围出现的透明圈,并测量透明圈直径(*D*)与菌落直径(*d*)之比。选择其比值大的菌落进行纯化,于筛选平板上划线分离至纯种,将筛选得到的菌株编号并保藏于 20% 的甘油管中,置于-20 ℃冰箱中。

1.2.2 菌种复筛 将初筛获得的 *D/d* 比值较大的菌株在筛选平板上活化后,接种于 100 mL 液体种子培养基中,于 35 ℃、180 r/min 恒温振荡培养 48 h,然后取 2 mL 种子液接种于固体发酵培养基中,35 ℃培养 36 h 后取出,50 ℃烘干至恒重,研磨成粉末测定其酯化酶活力。

1.2.3 酯化力的测定

1)酯化液的制备:吸取 1 mL 己酸于 100 mL 容量瓶中,用 20%的乙醇溶液定容至刻度,混匀后转入 150 mL 具塞三角瓶中,加入 5 g 烘干曲粉,于 36 ℃保温酯化 100 h。然后加入 50 mL 蒸馏水或无水乙醇,于 500 mL 蒸馏烧瓶中加热蒸馏,并接收馏出液 100 mL。

2)酯含量的测定:采用皂化法测定总酯含量^[8],准确吸取 50.0 mL 馏出液于 250 mL 磨口三角瓶中,加 2 滴酚酞指示剂,用 0.1 mol/L 的 NaOH 标准溶液滴定至粉红色,记录消耗 NaOH 标准溶液的毫升数。再准确加入氢氧化钠标准溶液 25.0 mL 摇匀,装上冷凝管,加热回流皂化 30 min,取下冷却至室温。然后用 0.05 mol/L H₂SO₄ 硫酸标准溶液进行滴定,使粉红色刚好完全消失确定为终点,记录消耗硫酸标准溶液的体积。

$$X = \frac{(c_1 \times 25 - c_2 \times V_2) \times 144}{50} \times 100$$

式中:*X* 为样品中总酯的质量浓度(以己酸乙酯计)(mg/dL);*c*₁、*c*₂ 分别为 NaOH 和 H₂SO₄ 浓度(mol/L);*V*₂ 为 H₂SO₄ 标准溶液的体积 (mL);25 为 NaOH 标准溶液的体积(mL);50 为从蒸出液 100 mL 中取 50 mL 测酯;144 为己酸乙酯的换算系数。

1.2.4 菌种鉴定

1)形态鉴定:用放大镜观察菌落的生长、颜色、表面形态、质地、边缘形状和高度等。用显微镜观察菌丝、孢子和子实体结构的形态。

2)18S rRNA 分子鉴定:将复筛获得的酶活性最高的菌株于 PDA 琼脂平板上划线,35 ℃培养 3 d 后送至上海生物工程有限工司进行菌种鉴定。鉴定方法采用 18S rRNA 直接测序,主要步骤如下:样品基因组提取及电泳检测;PCR 反应扩增 DNA 序列;DNA 琼脂糖切胶纯化;DNA 测序;构建系统进化树。

1.2.5 菌株固体发酵培养基优化 适宜的固态发酵培养基将有利于菌种的生长及其代谢产物的积

累^④,因此以酯化力为指标,研究不同碳源、氮源以及不同诱导物等因素对菌株产酯化酶的影响,并对菌株的固体发酵培养基进行优化,提高菌株产酶能力。

1)最适碳源及最适添加量的确定:分别以 1 g 的葡萄糖、淀粉、玉米粉、蔗糖作为碳源,固体发酵培养基中其他成分为,麸皮 10 g,豆粕 2 g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.2 g,蒸馏水 10 mL,于 250 mL 三角烧瓶中搅拌均匀,121 ℃灭菌 20 min,接种后于 36 ℃恒温培养 48 h,测定酯化力,优选出最佳碳源。然后再以 0.5、1、1.5、2、2.5 g 的最适碳源进行对比实验,以确定最佳碳源的最适添加量。

2)最适氮源及最适添加量的确定:添加上述试验中测得的最适碳源及相应含量,分别以 2 g 的蛋白胨、牛肉膏、黄豆粉、酵母粉、豆粕、硫酸铵为氮源,其他成分不变配制固体发酵培养基,实验操作方法同上,测定酯化力,优选出最佳氮源。同样以 1、1.5、2、2.5、3 g 的最适氮源进行对比实验,以确定最佳氮源的最适添加量。

3)不同添加物对酯化酶活力的影响:在确定最佳碳源、氮源及最适浓度后,培养基中其他成分不变,分别添加体积分数 1%的大豆油、吐温-80、棉籽油、葵花籽油,体积分数 5%的乙醇和 0.4%的乳酸,操作方法同上,研究不同诱导物对菌株产酶能力的影响。

1.2.6 菌株固体发酵培养条件优化 确定最佳培养基后,同样以酯化力为指标,研究在不同的培养温度 (30、33、36、39、42 ℃),不同培养的时间 (36、40、44、48、52 h)下菌株产酯化酶能力的变化。

2 结果与讨论

2.1 菌种筛选

2.1.1 菌种初筛 将大曲样稀释涂布,于 36 ℃恒温培养 3~4 d,从平板上挑选菌落周围有透明圈的菌株,选取 D/d 比值较大的菌株 10 株,初筛结果见表 1,从中选取 5 株进行摇瓶复筛。

2.1.2 菌种复筛 依据表 1 的测定结果,从中选出 5 株 D/d 比值较大的菌株,接入种子液培养基摇瓶培养 2 d,然后取 2 mL 接种于固体发酵培养基于 36 ℃静置培养 2 d,烘干后进行酯化力的测定,测定结果见表 2。其中 SXG-Z-6 酯化力最高并且其蒸馏后得到的馏出液具有浓郁的浓香型白酒的香气,因此

以该菌株作进一步研究。

表 1 初筛菌株的 D/d 值比较

Table 1 Comparison of D/d value of screening strains

菌株编号	$D/d(\text{cm}/\text{cm})$	比值
LG-Z-3	1.05/0.85	1.24
YH-Z-2	1.65/0.86	1.92
SXH-Z-1	1.10/0.93	1.18
TGG-Z-2	1.60/0.95	1.68
TGG-Z-4	1.75/1.05	1.67
TGG-Z-6	1.35/0.85	1.59
SXG-Z-2	1.50/0.95	1.57
SXG-Z-5	1.25/1.10	1.13
SXG-Z-6	1.75/0.65	2.69
SXG-Z-7	1.80/0.86	2.09

表 2 复筛菌株的酶活测定结果

Table 2 Enzyme activity results of re-screening strains

菌株编号	酯化力/(mg/dL)
YH-Z-2	416.2
SXG-Z-6	453.6
SXG-Z-7	452.5
TGG-Z-2	396.8
TGG-Z-4	426.1

2.2 菌种鉴定结果

2.2.1 菌落形态、个体形态 SXG-Z-6 在 PDA 平板上培养,经 2 d 后菌落呈黄色菌丝,3 d 后呈黄褐色并逐渐长出黑色孢子,4 d 后菌落呈厚绒状,外圈为黄色菌丝中间为黑色孢子,见图 1。在显微镜下观察,菌丝多分枝,具隔,分生孢子呈球形,一般 700~800 μm 。顶囊近球形,小梗双层。分生孢子球形,直径多为 4~5 μm 黑褐色,粗糙,见图 2。

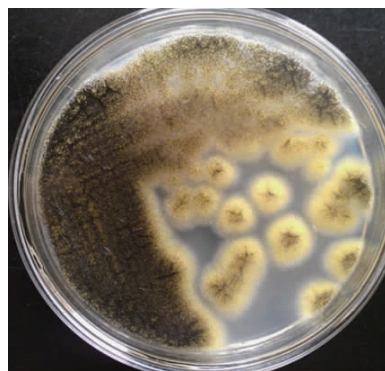


图 1 SXG-Z-6 菌株在 PDA 平板上的菌落形态

Fig. 1 Colony morphology of SXG-Z-6 strain on PDA plate

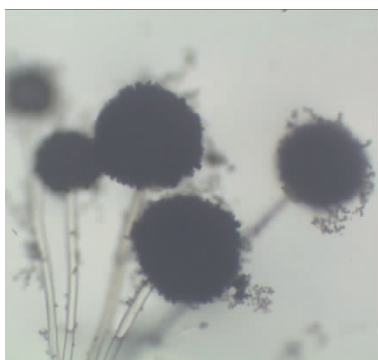


图2 SXG-Z-6菌株的分生孢子照片(400×)
Fig. 2 Conidium picture of SXG-Z-6 strain

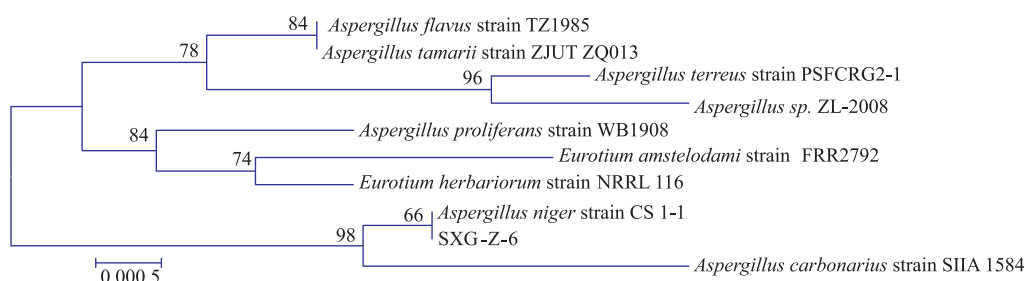


图3 SXG-Z-6菌株基于18S rRNA同源性构建的系统进化树

Fig. 3 Phylogenetic tree of strain SXG-Z-6 based on sequence of 18S rRNA homology

制培养温度和发酵时间制成相应的散曲,由于麸曲具有酶活高、用量少、成本低且质量稳定等优点而被广泛使用^[9]。

2.3.1 固体发酵培养基优化

1) 最适碳源及最佳添加量的确定: 碳是构成生物体细胞结构和代谢产物中碳架的重要营养物质,同时也为生物体提供能源物质,微生物对碳源的利用具有选择性^[6,10],考察添加不同碳源物质对产酶的影响,结果见图4。玉米粉和淀粉作为碳源时菌株产酶较高,相比淀粉而言,玉米粉的营养成分(维生素、生长因子等)更加丰富,因此最终确定玉米粉为碳源。

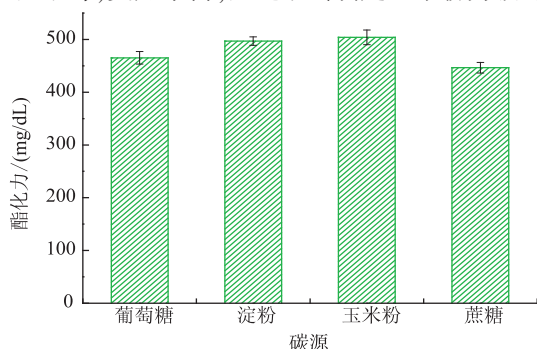


图4 不同碳源对酯化力的影响

Fig. 4 Effects of different carbon source on esterifying power

2.2.2 菌株18SrRNA分子鉴定 将测得的SXG-Z-6的18SrRNA基因序列与NCBI数据库内其他菌株的18SrRNA基因序列应用Blast软件进行对比,发现该菌株与黑曲霉菌(*Aspergillus niger*)有较大的同源性,因此初步鉴定为黑曲霉属。应用MEGA5.2软件构建NJ(Neighbor-joining)系统发育树,菌株SXG-Z-6的系统发育树见图3。

2.3 菌株SXG-Z-6的固体发酵条件

在白酒生产中,通常运用麸曲技术对霉菌进行纯培养,即以麸皮为主要基质,添加合适的碳源、氮源等,搅拌均匀经高压灭菌后接入纯菌种,人工控

从图4可以看出,在以麸皮为基质的培养基中添加不同碳源物质,但是它们对酶活的提高并没有产生显著的影响,因此进一步考察了不同添加量玉米粉对菌株酯化力的影响,结果见图5。玉米粉作碳源时其添加量存在最佳值,添加量太低不能有效促进菌体生长与产酶,添加量过高则导致菌体大量生长反而减弱产酶^[11]。因此添加1.5 g玉米粉作碳源时对酯化力的提高具有明显促进作用。

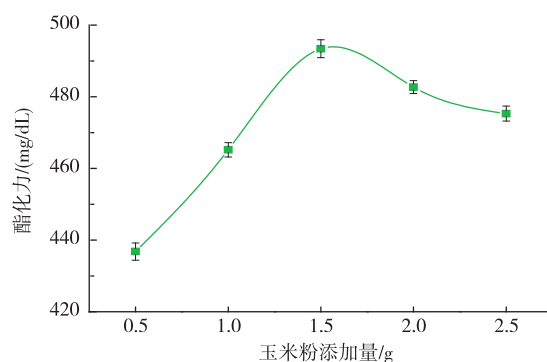


图5 玉米粉添加量对酯化力的影响

Fig. 5 Effects of different corn flour content on esterifying power

2) 最适氮源及最佳添加量的确定: 氮源可为微

生物提供用于合成细胞中含氮物质(如蛋白质、核酸等)的原料,制曲过程中添加充足的氮源有利于菌体的生长和产酶^[9],以 1.5 g 的玉米粉为碳源,分别添加 2 g 的蛋白胨、牛肉膏、黄豆粉、酵母粉、豆粕及硫酸铵为氮源,考察不同种类的氮源对产酶的影响,结果见图 6。酵母粉作为氮源时酯化力最高,黄豆粉次之,因此选择酵母粉为氮源。

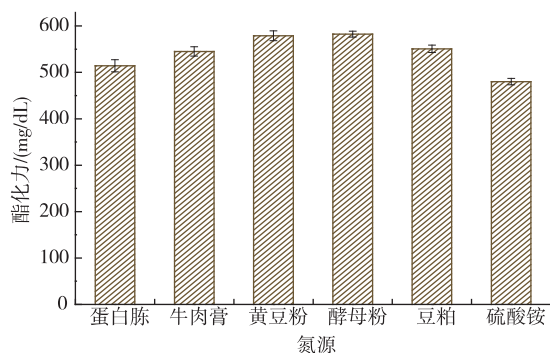


图 6 不同氮源对酯化力的影响

Fig. 6 Effects of different nitrogen source on esterifying power

在以麸皮做固体发酵基质的培养基中,氮源含量较少,不利于菌体的生长及代谢产物的分泌,因此考察酵母粉添加量对产酶的影响,结果见图 7。添加不同量的酵母粉对酯化酶的合成具有显著影响,当酵母粉的质量为 2 g 时,酯化力最高,因此选用 2 g 的酵母粉作为固体发酵培养基中的氮源。

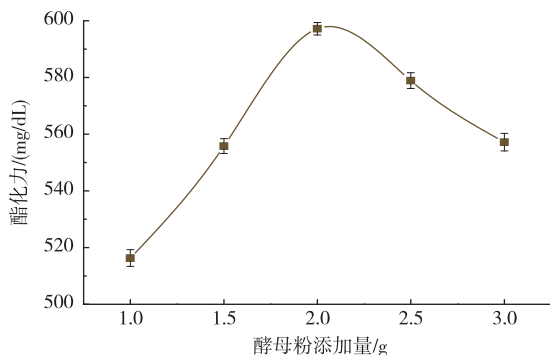


图 7 不同添加量酵母粉对酯化力的影响

Fig. 7 Effects of different yeast extract content on esterifying power

3)不同添加物对酯化酶活力的影响:据报道,油脂类物质可促进霉菌菌体生长及产酶,且大多数酯化酶属于诱导型酶^[11],酯化酶催化的反应时可逆

的,受反应介质和底物、产物的浓度等因素影响较大^[12],一方面油脂类物质作为诱导物可以促进反应向正向进行,另一方面表面活性剂可与菌体细胞膜发生作用,增加细胞膜的通透性,从而有利于酯化酶的向胞外分泌^[13]。作者考察添加不同物质对菌体产酯化酶影响,结果见图 8,以空白为对照,可以看出油脂类物质确实对酯化酶的产生具有明显的促进作用,表面活性剂吐温-80 对产酶的促进作用也较明显,相比而言,添加乳酸酯化力也有所提高,可能是与菌株可利用乳酸为碳源有关,乙醇对酯化酶的产生并没有促进作用,因此,在固体发酵培养基中添加体积分数 1%的大豆油来诱导酯化酶合成。

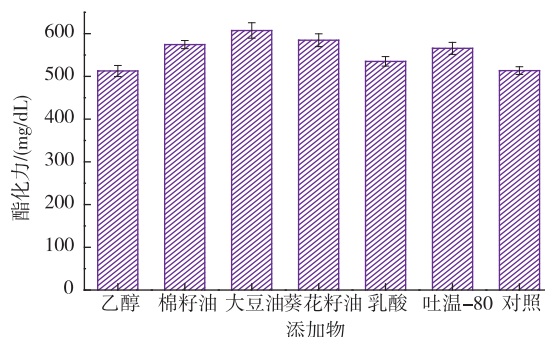


图 8 不同添加物对酯化力的影响

Fig. 8 Effects of different additive on esterifying power

2.3.2 菌株固体发酵条件优化 固体发酵中培养基的营养成分对于菌体的生长和产酶具有重要作用,同时发酵条件如发酵温度和发酵时间等也是影响菌体产酶的重要因素,因此采用优化后的培养基配方,分别对发酵时间和发酵温度进行优化。

1)不同发酵时间对产酶的影响:在固体发酵的最佳培养基确定后,分别选取 36、40、44、48、52 h 作为培养时间,考察不同的发酵时间对酯化酶活力的影响,结果见图 9。随着培养时间的延长,菌体生长旺盛产酶量也逐渐增加,并在培养 44 h 左右酶活达到最大值,菌丝体布满整个麸皮培养基,继续培养菌丝逐渐衰老,并产生大量孢子,酶活也有所下降,因此,确定 44 h 为最佳培养时间。

2)不同培养温度对产酶的影响:温度是影响发酵产酶的重要因素之一,细胞代谢和产物的合成都需要酶的催化来完成,只有当温度适宜时,催化反应才会正常进行。因此,对发酵温度的控制直接影响菌株的产酶能力。同样对 SXG-Z-6 菌株,采用优

化后的培养基, 分别选取 30、33、36、39、42 °C 这 5 个温度梯度进行实验, 结果见图 10。在 30~36 °C 时, 酯化力随着温度的升高而增加, 当培养温度在 35~37 °C 时, 酯化酶的活力最高, 而当培养温度大于 36 °C 以后, 酯化力呈下降趋势, 说明较高的温度使生物体代谢的部分酶活性降低或变性, 从而导致的菌体产酶能力下降, 因此, 选择 36 °C 作为固体发酵的最适温度。

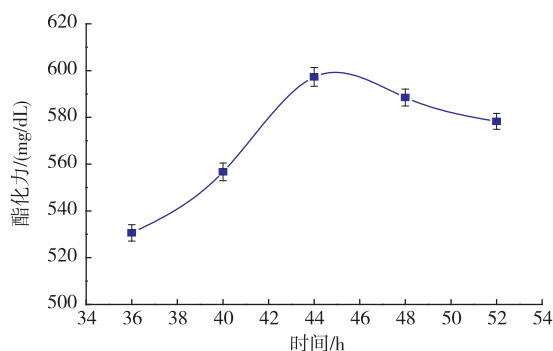


图 9 不同培养时间对酯化力的影响

Fig. 9 Effects of different culture time on esterifying power

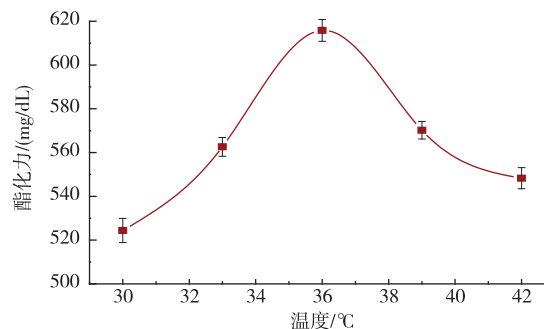


图 10 不同培养温度对酯化力的影响

Fig. 10 Effects of different culture temperature on esterifying power

3 结 语

从汾酒大曲中筛选得到 1 株高产酯化酶的菌株 SXG-Z-6, 经鉴定此菌株为黑曲霉菌(*Aspergillus niger*)。通过对该菌株固体发酵培养基及培养条件的研究, 确定该菌株在以 10 g 的麸皮作为固体发酵基质, 添加 1.5 g 的玉米粉为碳源, 2 g 的酵母粉为氮源, 1% 的大豆油为诱导物, 0.2 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 和 10 mL 蒸馏水的固体发酵培养基, 在 36 °C 恒温静置培养 44 h 后, 酯化酶的活力最高达到 615.8 mg/dL, 比优化前提高了 35.7%。

参考文献:

- [1] 王耀, 范文来, 徐岩, 等. 浓香型大曲中酯化酶测定方法的研究[J]. 酿酒, 2003, 30(2): 18-21.
WANG Yao, FAN Wenlai, XU Yan, et al. Study on the determination method about the esterifying enzymes from DaQu of Chinese strong flavour[J]. **Liquor Making**, 2003, 30(2): 18-21. (in Chinese)
- [2] 侯小歌, 王俊英, 李学思, 等. 浓香型白酒窖池主要功能性微生物的研究进展[J]. 酿酒科技, 2013(2): 96-101.
HOU Xiaoge, WANG Juning, LI Xuesi, et al. Research progress in main functional microbes in nong-flavor liquor pits [J]. **Liquor-Making Science & Technology**, 2013(2): 96-101. (in Chinese)
- [3] 黄丹, 方春玉, 尚志超, 等. 一株酯化酶霉菌的分离、鉴定及代谢产物特征[J]. 中国酿造, 2010(6): 62-64.
HUANG Dan, FANG Yuchun, SHANG Zhichao, et al. Isolation and identification of esterase-produce mould and characterization of its metabolites[J]. **China Brewing**, 2010(6): 62-64. (in Chinese)
- [4] 黄丹, 刘清斌, 刘达玉, 等. 一株产己酸乙酯酯化酶霉菌的分离鉴定及产酶条件研究[J]. 酿酒科技, 2008(2): 27-33.
HUANG Dan, LIU Qingbin, LIU Dayu, et al. Isolation & identification of a mold strain producing ethyl caproate esterifying enzyme and study on its enzyme production conditions [J]. **Liquor-Making Science & Technology**, 2008 (2): 27-33. (in Chinese)
- [5] 刘念, 罗惠波, 常少健, 等. 己酸乙酯专用酯化曲产酯条件的优化[J]. 四川理工学院学报: 自然科学版, 2008, 21(6): 63-64.
LIU Nian, LUO Huibo, CHANG Shaojian, et al. Optimization of yielding ester condition for ethyl caproate producing starter[J]. **Journal of Science University of Science & Engineering: Natural Science Edition**, 2008, 21(6): 63-64. (in Chinese)
- [6] 刘维英, 韩亚杰, 胡坤, 等. 合成己酸乙酯脂肪酶产生菌的筛选及发酵条件的研究[J]. 生物技术通报, 2009(3): 115-118.
LIU Weiying, HAN Yajie, HU Kun, et al. Studies on selection of lipase-producing strains and synthesis of ethyl caproate [J]. **Biotechnology Bulletin**, 2009(3): 115-118. (in Chinese)
- [7] ZHANG Wenxue, WU Zhengyun, ZHANG Qisheng, et al. Combination of newly developed high quality Fuqu with traditional

- Daqu for Luzhou-flavor liquor brewing [J]. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, 2009, 25 (10): 1721-1726. (in Chinese)
- [8] HUANG Yongguang, WU Qun, XU Yan. Isolation and identification of a black *Aspergillus* strain and the effect of its novel protease on the aroma of Moutai-flavoured liquor[J]. **Journal of the Institute of Brewing**, 2014, 120(3): 268-276.
- [9] 胡沂淮, 严启梅, 戴源, 等. 酯化红曲 M-6 培养条件的优化[J]. 酿酒科技, 2013(10): 44-50.
HU Yihuai, YAN Qimei, DAI Yuan, et al. Optimization of the culture conditions of esterase-producing monascus YHM-6 [J]. **Liquor-Making Science & Technology**, 2013(10): 44-50. (in Chinese)
- [10] 潘运国, 陈义伦, 张策, 等. 霉菌液态培养产酯化酶规律研究[J]. 酿酒科技, 2005(11): 35-37.
PAN Yunguo, CHEN Yilun, ZHANG Ce, et al. Study on the production rules of esterified enzyme by mould liquid culture[J]. **Liquor-Making Science & Technology**, 2005(11): 35-37. (in Chinese)
- [11] 张聪芝, 葛向阳, 张伟国. 添加外源物质对红曲霉固态发酵产酯化酶的影响[J]. 食品与生物技术学报, 2012, 31(11): 1221-1225.
ZHANG Congzhi, GE Xiangyang, ZHANG Weiguo. Effects of substances on esterase production of solid-state fermentation by *Monascus* [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2012, 31(11): 1221-1225. (in Chinese)
- [12] 李大和, 刘念, 李国红. 浓香型大曲酒酿造中酯化菌研究的现状与展望[J]. 酿酒科技, 2008(2): 92-98.
LI Dahe, LIU Nian, LI Guohong. Present research situation & prospect of the application of esterifying bacteria in the production of Luzhou-flavor Daqu [J]. **Liquor-Making Science & Technology**, 2008(2): 92-98. (in Chinese)
- [13] HAMA S, YAMAJI H, KAIEDA M, et al. Effect of fatty acid membrane composition on whole-cell biocatalysts for biodiesel-fuel production[J]. **Biochemical Engineering Journal**, 2004, 21(2): 155-160.

科技信息

澳新食品局拟扩大甜菊糖苷的定义范围

2016 年 7 月 15 日, 澳新食品局发布 A1132 号应用, 拟扩大甜菊糖苷定义范围。2016 年 5 月 20 日澳新食品局收到 PureCircle Limited 公司的申请, 将甜菊糖苷的定义扩大为“目前在甜叶菊叶子中的全部糖甙”。甜菊糖苷在食品中作为甜味剂使用, 该修订有可能影响到标准 1.3.1 和表 3 的相关内容。

[信息来源] 国家质量监督检验检疫总局. 澳新食品局拟扩大甜菊糖苷的定义范围 [EB/OL]. (2016-8-8). <http://www.xmtbt-sps.gov.cn/detail.asp?id=52152>

加拿大批准苹果酸氢钠作为被膜剂用于部分食品

2016 年 7 月 7 日, 加拿大卫生部发布公告, 批准苹果酸氢钠作为被膜剂用于口香糖、饮料混合干粉的非标准化调味料(允许添加量 1.5%), 以及非标准化的糖果和明胶甜点粉中(允许添加量 0.5%)。

[信息来源] 国家质量监督检验检疫总局. 加拿大批准苹果酸氢钠作为被膜剂用于部分食品 [EB/OL]. (2016-7-7). http://jckspaqj.aqsiq.gov.cn/wxts/gwbz/201607/t20160712_470147.htm