

酱油发酵用 2 种米曲霉中性蛋白酶的酶学性质比较

王 栋^{1,2}, 冯 杰^{1,2}, 郑志永^{1,2}, 张丽敏^{1,2}, 詹晓北^{*1,2}

(1. 江南大学 生物工程学院; 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: 米曲霉产蛋白酶的性质对酱油品质有重要的影响。研究以一株产中性蛋白酶的米曲霉 CICIM F0899 为研究对象, 首先对其进行扫描电镜观察, 与米曲霉沪酿 3.042 比较表明 F0899 的分生孢子头较小, 分生孢子大于沪酿 3.042。其次对 F0899 和沪酿 3.042 产蛋白酶酶学性质研究表明 F0899 产蛋白酶在 20~40 °C 保持稳定, 最适反应温度为 60 °C, 在 pH 6.0~8.0 时保持稳定, 最适反应 pH 为 8.0, 在盐浓度为 18% 的条件下, 仍能保留 20% 的酶活, 可达沪酿 3.042 的 2.2 倍, Ag⁺ 对 F0899 有严重的抑制作用, Fe³⁺ 没有明显的抑制。因此, 米曲霉 CICIM F0899 产的蛋白酶在耐高温、耐低 pH 和耐高盐的性能优于沪酿 3.042。

关键词: 酱油发酵; 大曲; 蛋白酶; 酶学性质, 米曲霉

中图分类号: Q 819 文献标志码: A 文章编号: 1673-1689(2012)05-0479-07

Characteristic Comparison of Two Neutral Proteases Used for Soy Sauce Fermentation

WANG Dong^{1,2}, FENG Jie^{1,2}, ZHENG Zhi-yong^{1,2}, ZHANG Li-min^{1,2}, ZHAN Xiao-bei^{*1,2}

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

Abstract: The characterization of protease from *Aspergillus oryzae* has a significant impact on soy sauce quality. In this study, an *Aspergillus oryzae* CICIM F0899 capable of producing neutral protease was investigated. Morphology of *Aspergillus oryzae* F0899 and *Aspergillus oryzae* 3.042 were imaged by SEM. The conidial head of *Aspergillus oryzae* F0899 was relatively smaller than that of the strain 3.042. Its conidia were larger than that of the 3.042 strain. In addition, properties of the protease secreted by this strain were tested and compared with profiles of an industrially strain *Aspergillus oryzae* 3.042. The results showed that the optimum temperature for the extracellular protease from F0899 was 60 °C, with the stable temperature range between 20~40 °C. The optimal pH was 8.0, with the stable pH range between 6.0~8.0. It could tolerate 18% sodium chloride and still retains 20% activity, which is as high as 2.2 times than that from 3.042 under the same condition. The activity of the enzyme was severely inhibited by Ag⁺, but affected by Fe³⁺ only slightly. Therefore, protease from *Aspergillus oryzae* F0899 can bear higher temperature, lower pH and higher NaCl concentration than that from 3.042.

Key words: soy sauce production, koji, protease, enzymatic properties, *Aspergillus oryzae*

收稿日期: 2011-06-16

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划项目(2008BAI63B06, 2007BAK36B03), 国家“十二五”科技支撑计划项目(2011BAD23B04)。

作者简介: 王栋(1982-), 男, 河南三门峡人, 博士研究生, 主要从事发酵工程学研究。

*通信作者: 詹晓北(1962-), 男, 北京人, 工学博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事发酵工学与生化工程研究。

E-mail: xbzhan@yahoo.com

酱油是传统调味品,具有悠久的历史,由于其色泽红润香气浓郁,深受我国、日韩和东南亚各国人民的喜爱^[1-4]。米曲霉是酱油酿造中最重要的微生物,菌丝生长迅速,成熟后呈现黄绿色,主要产生蛋白酶,还可以产生淀粉酶、糖化酶、纤维素酶等。其中,蛋白酶的作用最为重要,米曲霉所产生的蛋白酶产量、种类、活性和稳定性不仅会影响酱油的原料利用率,而且还会影响到酱油的氨基酸组成及风味。目前,在酱油的工业生产中普遍使用米曲霉沪酿 3.042^[5]。沪酿 3.042 是 1976 年由上海市酿造科学研究所通过紫外线诱变和长期驯化得到的优良菌株,具有蛋白酶活力高,分生孢子大,数量多,生长繁殖快,抗杂菌能力强,酿造的酱油风味较好和不产毒素等优点,基本可以满足酱油酿造的需要^[6]。米曲霉 CICIM F0899 保存于江南大学工业微生物重点实验室,具有生长迅速,产香气浓郁和蛋白酶活力高等优点。酱油虽然起源于中国,但是目前在国际上的影响力却落后于日本,这与菌种和落后的发酵工艺有着密切的关系,因此,寻找优良的发酵菌株并探索出更优的工艺对酱油产品品质的提高具有重要意义,国内外对此都有较多的研究^[7-8]。酱油酿造过程中,原料在各种酶系的作用下发生生物和生化反应的过程,通常分为两个阶段:大曲阶段和酱醪阶段。大曲阶段主要是让米曲霉生长并产生大量的酶,酱醪阶段则是原料在各种酶的作用下发生反应的过程^[9-10],蛋白酶的作用方式和作用条件最为关键,直接影响酱油品质和原料利用率,酱醪的生理环境具有高盐、低 pH 的特点,许多酶的活性和稳定性会受到不利影响^[11],不仅大大延长了发酵周期,而且还降低了原料利用率。因此,寻找一种可以产生耐盐蛋白酶的米曲霉,不仅可以提高原料利用率、缩短发酵周期,还能提高酱油品质,对酱油产业具有重要的意义。

本文用扫描电镜技术对米曲霉 CICIM F0899 和沪酿 3.042 进行了观察,并且同沪酿 3.042 蛋白酶的性质进行了比较,研究了温度、pH、盐度和金属离子对蛋白酶活力的影响。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

米曲霉 CICIM F0899(以下简称 F0899)保存于

江南大学工业微生物菌种保藏中心;米曲霉沪酿 3.042 保存于江南大学生化工程与生物反应器研究室;干酪素(化学纯)、福林酚、戊二醛、醋酸异戊酯、四氧化钨等(均为分析纯)上海生化试剂公司。

1.2 仪器与设备

3K15 高速冷冻离心机:德国 Sigma 产品;MA-PADA UV-1800 分光光度计:上海美谱达产品;CPD-030 临界点干燥仪:瑞士 BAL-TEC 公司产品;SCD-005 离子溅射仪:瑞士 BAL-TEC 公司产品;QUANTA-200 扫描电镜:荷兰 FEI 公司产品。

1.3 菌种活化培养

将保存的米曲霉菌种接种于 PDA 固体培养基中,置 30 °C 培养 48 h,活化后备用。

1.4 电子扫描电镜观察

将培养 48 h 的米曲霉,用刀片切取一小块,在体积分数 5% 的戊二醛中固定 4 h,然后用 0.1 mol/L 的磷酸缓冲液漂洗数次,过夜 4 °C 保存,直到将戊二醛洗净。再用质量分数 1% 四氧化钨固定,并用 0.1 mol/L 的磷酸缓冲液漂洗数次,4 °C 保存。洗净样品之后,分别用体积分数 30%、50%、70% 的乙醇梯度脱水,再加入无水乙醇脱水两次。室温下分别加入乙醇:醋酸异戊酯为 2:1 的溶液 2 mL,放置 5 min,吸出原溶液,再加入乙醇:醋酸异戊酯为 1:2 的溶液 2 mL。5 min 后吸出原溶液,加入纯的醋酸异戊酯,洗两遍。之后进行临界点干燥,离子溅射,最后用扫描电镜观察。

1.5 制曲方法

将豆粕、炒麦和拌料水按照质量比为:1.1:0.9:2 混匀后,经过 121 °C,30 min 灭菌处理。以质量分数 1% 接种量接入培养好的种曲,控制曲料品温在 30 °C,培养 48 h,取样测定大曲蛋白酶酶活。

1.6 大曲蛋白酶提取方法

向取出的大曲曲样中加入 1:20 (g:mL) 的 0.1 mol/L, pH 值为 7.2 的 Na₂HPO₄-NaH₂PO₄ 缓冲溶液,于 40 °C 水浴中,间歇搅拌,浸提 1 h,滤纸过滤得蛋白酶酶液。

1.7 蛋白酶活测定方法

采用改进的福林酚法^[12]。大曲蛋白酶活定义为 1 g 干质量大曲中所含的蛋白酶在 40 °C, pH 值 7.2 条件下每 1 min 水解干酪素产生 1 μg 酪氨酸为 1 个酶活力单位(U)。

1.8 蛋白酶产生过程曲线

将种曲接入配制好的大曲培养基中,置于 30 °C 条件下静置培养,分别在 12、18、24、30、36、42 和 48 h 取样测定大曲的蛋白酶活,绘制蛋白酶活随时间的变化曲线。

1.9 温度对蛋白酶活性的影响

将酶液分别于 20~70 °C 下反应,测定酶活,以温度为横坐标,最大酶活为 100%,以残余酶活为纵坐标,绘制曲线。为测定蛋白酶的温度稳定性,将酶液置于 20~70 °C 条件下处理 30 min,再在最适条件下测定酶活,以最大酶活为 100%,绘制曲线。

1.10 pH 值对蛋白酶活性的影响

将酶液分别于 pH 值 3.0~10.0 (pH 值 3.0~5.0 用 Tris-HCl 缓冲液; pH 值 5.0~8.0 用 Na₂HPO₄-NaH₂PO₄ 缓冲液; pH 值 8.0~10.0 用 Tris-NaOH 缓冲液)的条件下反应,测定酶活,以 pH 值为横坐标,最大酶活为 100%,以残余酶活为纵坐标,绘制曲线。为考察蛋白酶的 pH 值稳定性,将酶液置于 pH 值 3.0~10.0 的缓冲液中,于 25 °C 处理 12 h,再在最适条件下测定酶活,以 pH 值为横坐标,最大酶活为 100%,以残余酶活为纵坐标,绘制曲线。

1.11 NaCl 对蛋白酶活性的影响

将酶液置于不同浓度的 NaCl 溶液中测定酶活,以盐度为横坐标,最大酶活为 100%,以残余酶活为纵坐标,绘制曲线。将酶液放置于 18 g/dL 的 NaCl 溶液中,保存在 4 °C 条件下,每两天测定一次酶活,观察蛋白酶在高盐条件下的稳定性,以天数为横坐标,最大酶活为 100%,以残余酶活为纵坐标,绘制曲线。

1.12 金属离子对蛋白酶活性的影响

向酶液中加入 AgNO₃、AlCl₃、CaCl₂、CoCl₂、CuSO₄、Fe₂(SO₄)₃、MgSO₄、MnSO₄ 和 ZnSO₄ 至终浓度为 5 mmol/L,于 25 °C 静置 30 min,测定酶活,并以空白对照为 100%,计算剩余酶活。

2 结果与分析

不同微生物的产酶特性存在着差异,往往可以通过细胞形态和酶学性质反映出来,以下通过扫描电镜观察的方法,考察了两株米曲霉之间的形态差异,并且比较了两者蛋白酶在温度、pH、盐度和金属离子方面的异同。

2.1 扫描电镜结果

为了研究 F0899 同沪酿 3.042 在微观形态上的差异,采用扫描电镜技术对二者进行了分析(见图 1)。

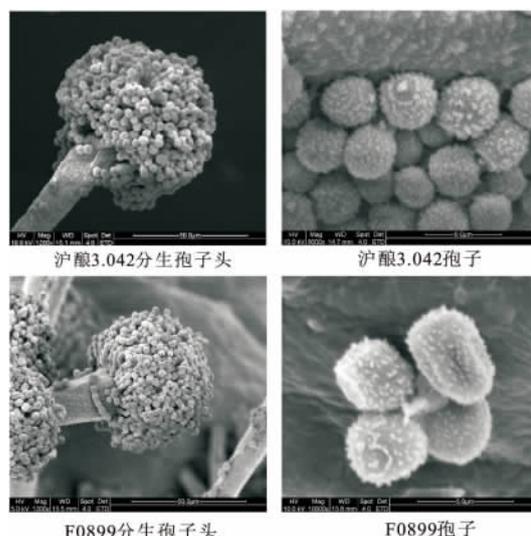


图 1 米曲霉沪酿 3.042 和 F0899 扫描电镜照片比较
Fig. 1 SEM images of *Aspergillus oryzae* 3.042 and F0899

从图 1 可以看出,F0899 的分生孢子头呈放射形,直径 44.9~53.1 μm,比沪酿 3.042 的分生孢子头小,沪酿 3.042 的分生孢子头直径通常在 43.5~67.8 μm。两者的分生孢子都呈现近似椭圆形,表面粗糙,F0899 的分生孢子明显大于沪酿 3.042,长轴约为 4.5~6.2 μm,短轴约为 3.6~5.2 μm,而沪酿 3.042 的分生孢子长轴约为 3.6~4.3 μm,短轴约为 3.1~4.0 μm。

2.2 蛋白酶产生过程曲线

掌握米曲霉生长和产酶的过程可以为发酵过程控制提供依据。在接入种曲后,分别于 12、18、24、30、36、42 h 和 48 h 取样测定大曲的蛋白酶活,得到了大曲蛋白酶活随时间的变化曲线。

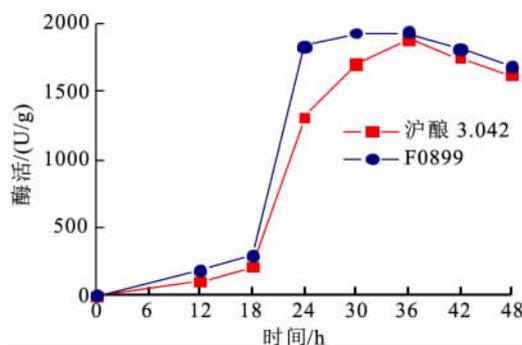


图 2 米曲霉沪酿 3.042 和 F0899 大曲蛋白酶产生过程
Fig. 2 Protease production in koji of *Aspergillus oryzae* 3.042 and F0899

由图 2 可知,米曲霉沪酿 3.042 和 F0899 的蛋白酶产生都主要集中在 18~30 h,蛋白酶活在 36 h 时达到最大,F0899 的蛋白酶活力可达到 1 933 U/g(干基),沪酿 3.042 的蛋白酶活力达到 1887 U/g(干基),并且都随着培养时间的延长酶活缓慢下降,F0899 的大曲蛋白酶活在 18~24 h 间迅速增加,明显超过了沪酿 3.042 的产酶速度,说明菌株 F0899 的生长和产酶速度明显优于沪酿 3.042。

2.3 最适反应温度和酶的热稳定性

温度是酱醪发酵中重要的影响因素,通过影响蛋白酶的活性和稳定性进而影响到酱油的产率和品质,因此,了解蛋白酶的性质是采取合适工艺的基础。

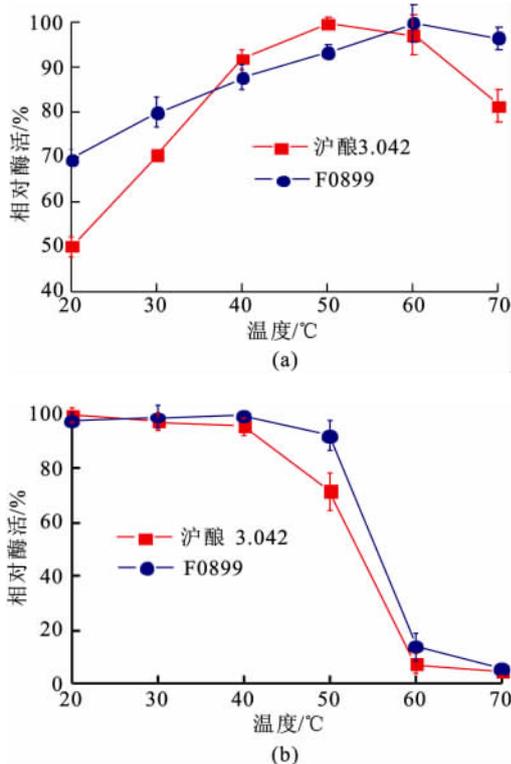


图 3 温度对蛋白酶活性和稳定性的影响((a) 最适反应温度 (b) 热稳定性)

Fig. 3 Temperature effect to protease activity and stability ((a) optimum temperature (b) temperature stability)

由图 3(a)可知,米曲霉沪酿 3.042 的蛋白酶活性随温度的升高而增加,在 50 °C 达到最大值,当温度继续升高,蛋白酶开始加速失活,当温度达到 70 °C 时,蛋白酶活力仅剩余 80%。米曲霉 F0899 的蛋白酶活性也随温度的升高而增加,在 60 °C 时达到最大值。还可以看出,米曲霉 F0899 的蛋白酶活力

在低温时明显高于沪酿 3.042,并且对高温有着更好的耐受性。邓靖研究了米曲霉 M3 的中性蛋白酶性质,发现该酶的最适反应温度为 50 °C,并且在 40 °C 以下保持稳定^[13]。

由图 3(b)可知,米曲霉沪酿 3.042 和 F0899 的蛋白酶在低于 40 °C,保持 30 min 条件下具有良好的热稳定性,在 50 °C 时,F0899 蛋白酶的热稳定性明显高于沪酿 3.042,当温度继续升高,蛋白酶则加速失活。米曲霉 KFRI888 的中性蛋白酶在 50 °C 以上时稳定性明显下降^[14]。汤鸣强对米曲霉 F-81 的中性蛋白酶进行了研究,发现在 40 °C 以下时,酶的稳定性良好,在 60 °C 处理 20 min,酶几乎完全失活^[15]。

2.4 最适反应 pH 和 pH 稳定性

pH 值对酶活性和稳定性具有重要的影响,反应体系 pH 值的变化,会影响酶活性部位的基团解离状态,从而影响酶的活性。极端的 pH 值会使维护酶三维结构的许多非共价键受到干扰,导致酶自身的变性。

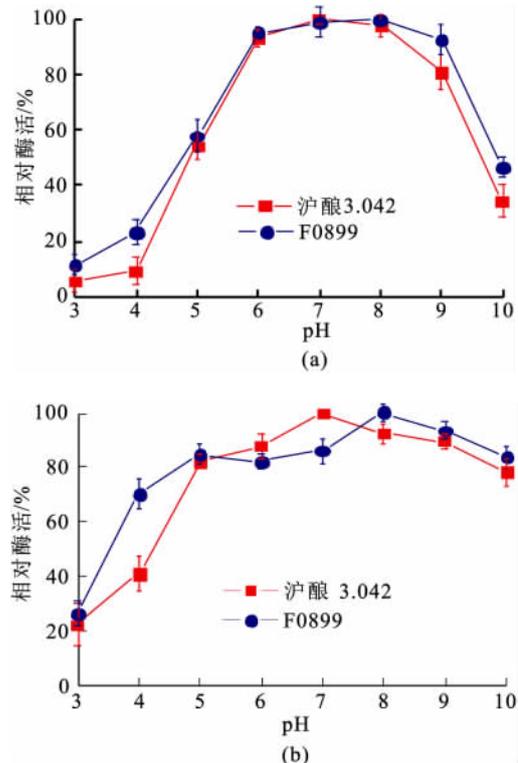


图 4 pH 对蛋白酶活性和稳定性的影响((a) 最适反应 pH (b) pH 稳定性)

Fig. 4 pH effect to protease activity and stability ((a) optimum pH (b) pH stability)

由图 4(a)可知,米曲霉沪酿 3.042 和 F0899 的蛋白酶最适反应 pH 值在 6.0~8.0,酶活随 pH 值的下降而迅速下降,当 pH 值到达 4.0 时,酶活仅剩余 20%左右。当 pH 到达 10.0 时,酶活仅剩余 40%左右,两株菌的蛋白酶都属于中性蛋白酶。

由图 4(b)可知,米曲霉沪酿 3.042 和 F0899 的蛋白酶在 pH 值为 5.0~9.0 的范围内保持稳定,随着 pH 值的下降,酶活的稳定性下降,当 pH 值达到 3.0 时,酶活仅剩余 30%,还可以看出 F0899 的蛋白酶在 pH 值 4.0 时,稳定性明显高于沪酿 3.042,剩余酶活可达到 65%,而沪酿 3.042 仅为 40%。

酶的作用依赖于合适的 pH 值环境,如酸性蛋白酶活性随着 pH 值升高而下降,中性蛋白酶发挥作用通常最好在中性或偏碱性条件下^[16]。李艳丽发现米曲霉 ZW-06 的中性蛋白酶在 pH 值 6.0~10.0 的环境下都能保持较高的稳定性^[17]。

2.5 NaCl 浓度对蛋白酶活性的影响

高盐稀态酱醪发酵是将 18~25 g/dL 的盐水加入成曲后,进行发酵的过程,通常盐度保持在 18 g/dL 以上。高盐环境会使酶表面的带电荷情况发生改变,从而引起酶的构象变化,导致酶与底物的结合能力发生改变,最终影响到酶的催化性能。因此,在高盐环境下蛋白酶的活力受到严重抑制,影响了原料的降解速度和利用率,不仅延长发酵周期,而且降低酱油的品质。筛选获得高耐盐蛋白酶成为解决高盐发酵的关键,对酱油产业的发展具有重要的意义。

由图 5(a)可知,沪酿 3.042 和 F0899 的蛋白酶活性随着盐度的升高而逐渐下降,这与许多学者的研究结果一致^[16-19]。但是,当 NaCl 浓度达到 18 mg/dL 时,沪酿 3.042 蛋白酶酶活仅剩余 9%而 F0899 蛋白酶活性高达 20%,为前者的 2.2 倍。F0899 的蛋白酶活力在高盐条件下明显好于沪酿 3.042,在酱油生产中将具有更加明显的优势。由图 5(b)可以看出,NaCl 浓度对蛋白酶活力的稳定性没有太大影响,到第 14d 时,沪酿 3.042 和 F0899 的蛋白酶活仍可保留 70%和 75%。

2.6 金属离子对蛋白酶活性的影响

金属离子会和酶的活性中心发生作用,进而影响酶的活力,实验考察了一些常见的金属离子对沪酿 3.042 和 F0899 的蛋白酶活力的影响。

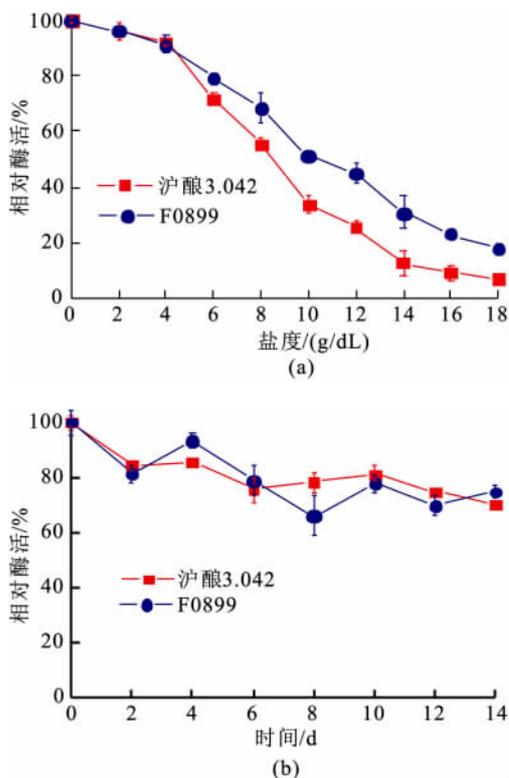


图 5 氯化钠对蛋白酶活性的影响((a) 最适反应盐度 (b) 盐度稳定性)

Fig. 5 NaCl effect to protease activity ((a) optimum NaCl concentration (b) NaCl concentration stability)

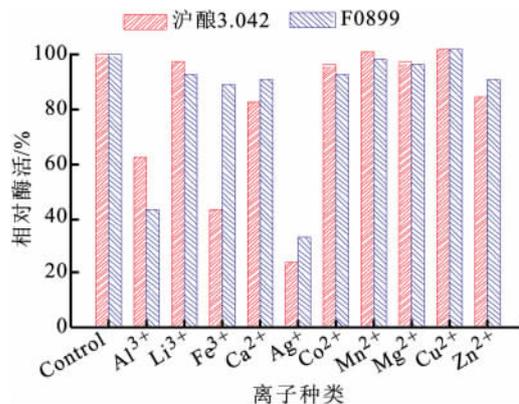


图 6 不同金属离子对蛋白酶活性的影响

Fig. 6 Metal ions effect to protease activity

从图 6 可以看出, Mn^{2+} 和 Cu^{2+} 对蛋白酶有轻微的促进作用, Li^+ 、 Ca^{2+} 、 Co^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Zn^{2+} 对蛋白酶也均有轻微的抑制作用,而 Ag^+ 对沪酿 3.042 和 F0899 的蛋白酶都有严重的抑制作用,酶活仅能剩余 24%和 33%。 Al^{3+} 对蛋白酶也有较为明显的抑制作用,酶活剩余 63%和 43%。而 Fe^{3+} 对两者的抑制作用明显不同,对沪酿 3.042 的蛋白酶具有较强的抑制作用,酶活仅剩余 44%,这与邓靖^[13]、汤

鸣强^[15]所报道的米曲霉中性蛋白酶受到 Fe^{3+} 的强烈抑制相一致。对 F0899 的蛋白酶几乎没有明显的抑制,酶活可剩余 89%。

3 结 语

本实验对一株可以产生耐高盐蛋白酶的米曲霉菌株 CICIM F0899 进行了研究,并在生产中广泛应用的米曲霉沪酿 3.042 进行了比较。得到以下结论:

(1) 米曲霉 F0899 的分生孢子头较小,而分生孢子明显大于沪酿 3.042;

(2) 米曲霉 F0899 及沪酿 3.042 产蛋白酶主要集中在 18~30 h,而且蛋白酶的分泌速度明显高于

沪酿 3.042;均在 40 °C 以下保持稳定,最适反应温度分别为 50 °C 和 60 °C;在 pH 值 6.0~8.0 保持稳定,最适反应 pH 值分别为 8.0 和 7.0;

(3) 米曲霉 F0899 及沪酿 3.042 的蛋白酶活性随着盐浓度的增加而下降,米曲霉 F0899 蛋白酶的耐盐性明显高于 3.042,在 18 g/dL NaCl 浓度下酶活仍保留 20%,而 3.042 仅剩余 9%;

(4) Ag^+ 对米曲霉 F0899 及沪酿 3.042 的蛋白酶都有严重的抑制作用, Fe^{3+} 对两者的抑制作用明显不同,对 F0899 的蛋白酶几乎没有明显的抑制,酶活可达到 89%,对 3.042 的蛋白酶具有较强的抑制作用,酶活仅剩余 44%。

参考文献(References):

- [1]Wu T Y, Kan M S, Siow L F, et al. Effect of temperature on moromi fermentation of soy sauce with intermittent aeration [J]. *African Journal of Biotechnology*, 2010, 9(5): 702—706.
- [2]Luh B S. Industrial production of soy sauce[J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 1995, 14(6): 467—471.
- [3]冯杰, 詹晓北, 周朝晖, 等. 两种膜过滤生产的纯生酱油风味物质比较[J]. *食品与生物技术学报*, 2010, 29(1): 33—39.
FENG Jie, ZHAN Xiao-bei, ZHOU Chao-hui, et al. Comparative analysis of flavor compounds in draft soy sauce origin from two different membranes[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2010, 29(1): 33—39. (in Chinese)
- [4]冯杰, 詹晓北, 张丽敏, 等. 两种膜处理生酱油的除菌效果和理化指标分析[J]. *食品与生物技术学报*, 2009, 28(4): 535—543.
FENG Jie, ZHAN Xiao-bei, ZHANG Li-min, et al. Comparative analysis on treatment bacteria removing and physico-chemical factors of raw soy sauce in two different membranes[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2009, 28(4): 535—543. (in Chinese)
- [5]张艳芳, 陶文沂. 米曲霉双菌株组合制曲改善酶系组成与发酵效果研究[J]. *食品与发酵工业*, 2008, 34(9): 37—39.
ZHANG Yan-fang, TAO Wen-yi. Combination koji making of two strains of *Aspergillus oryzae* improves composition of enzyme system and fermentation effect[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2008, 34(9): 37—39. (in Chinese)
- [6]孙常雁, 李德海, 孙莉洁. 传统酿造酱及酱油中酶系的作用[J]. *中国食品添加剂*, 2009(3): 164—169.
SUN Chang-yan, LI De-hai, SUN Li-gu. The function of enzymes in naturally fermented soybean paste and soybean sauce products[J]. *China Food Additives*, 2009, 3: 164—169. (in Chinese)
- [7]Lee S K, Hwang J Y, Choi S H, et al. Purification and characterization of *Aspergillus oryzae* LK-101 salt-tolerant acid protease isolated from soybean paste[J]. *Food Science and Biotechnology*, 2010, 19(2): 327—334.
- [8]Su N W, Lee M H. Purification and characterization of a novel salt-tolerant protease from *Aspergillus* sp. FC-10, a soy sauce koji mold[J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2001, 26(4): 253—258.
- [9]LING M Y, CHOU Cheng-chun. Biochemical changes during the preparation of soy sauce koji with extruded and traditional raw materials[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 1996, 31(6): 511—517.
- [10]Su N W, Wang M L, Kwok K F, et al. Effects of temperature and sodium chloride concentration on the activities of proteases and amylases in soy sauce koji[J]. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 2005, 53(5): 1521—1525.
- [11]宋钢. 酱油微生物遗传特性的研究进展[J]. *中国酿造*, 2009(9): 11—14.

- SONG Gang. Progress of microbial genetic characteristics in soy sauce[J]. **China Brewing**, 2009, (9): 11-14. (in Chinese)
- [12] Anson M L. The estimation of pepsin, trypsin, papain, and cathepsin with hemoglobin[J]. **The Journal of General Physiology**, 1938, 22(1): 79.
- [13] 邓靖, 林亲录, 赵谋明, 等. 米曲霉 M3 中性蛋白酶的提取及酶学特性研究[J]. 中国食品添加剂, 2005(2): 21-23.
DENG Jing, LIN Qin-lu, ZHAO Mou-ming, et al. Extraction of *Aspergillus oryzae* M3 neutral protease and research on the characteristics of the enzyme[J]. **China Food Additives**, 2005, (2): 21-23. (in Chinese)
- [14] 何胜华, 罗聪, 李海梅, 等. 米曲霉 KFRI 888 产中性蛋白酶, α -淀粉酶酶学性质的研究[J]. 食品工业科技, 2006, 27(9): 49-50.
HE sheng-hua, LUO Cong, LI Hai-mei, et al. Study on neutral protease and α -Amylase activity of *Aspergillus oryzae* KFRI888[J]. **Science and Technology of Food Industry**, 2006, 27(9): 49-50. (in Chinese)
- [15] 汤鸣强, 郑挺, 曾小芳, 等. 酿造酱油米曲霉产中性蛋白酶提取与酶学性质研究[J]. 中国调味品, 2008(2): 38-40.
TANG Ming-qiang, ZHENG Ting, ZENG Xiao-fang, et al. Studies on extraction and properties of neutral Protease produced by soy zymogen *Aspergillus oryzae*[J]. **China Condiment**, 2008, (2): 38-40. (in Chinese)
- [16] 张艳芳, 陶文沂. 米曲霉 40188 产中性蛋白酶, α -淀粉酶特性的研究[J]. 食品与发酵工业, 2008, 34(5): 35-37.
ZHANG Yan-fang, TAO Wen-yi. Study on neutral protease and α -Amylase activity of *Aspergillus oryzae* 40188[J]. **Food and Fermentation Industries**, 2008, 34(5): 35-37. (in Chinese)
- [17] 李艳丽, 许少春, 许尧兴, 等. 米曲霉 ZW-06 中性蛋白酶的粗分离及酶学性质研究[J]. 中国饲料, 2007(7): 17-20.
LI Yan-li, XU Shao-chun, XU Rao-xing, et al. Purification and characterization of neutral protease from *Aspergillus oryzae* ZW-06[J]. **China Fodder**, 2007, 7: 17-20. (in Chinese)
- [18] 杨世平, 邱德全. 米曲霉中性蛋白酶特性的研究[J]. 湛江海洋大学学报, 2006, 26(4): 22-25.
YANG Shi-ping, QIU De-quan. Study on characters of neutral protease from *Aspergillus oryzae*[J]. **Journal of Zhanjiang Ocean University**, 2006, 26(4): 22-25. (in Chinese)
- [19] 党敏娜, 傅亮, 欧仕益. 盐浓度对不同米曲霉所产中性蛋白酶活力的影响[J]. 中国调味品, 2005(7): 18-19.
DANG Li-na, FU Liang, OU Shi-yi. Salt effect on neutral protease from *Aspergillus oryzae*[J]. **China Condiment**, 2005, (7): 18-19. (in Chinese)

会议信息

会议名称(中文): 第三届可食植物资源及活性成分国际学术研讨会

开始日期: 2012-07-25

结束日期: 2012-07-28

所在城市: 新疆维吾尔自治区 乌鲁木齐市

主办单位: 中国科学院新疆理化技术研究所

承办单位: 中国科学院干旱区植物资源化学重点实验室, 新疆特有药用资源利用省部共建实验室

联系人: 蒋岚

联系电话: 0991-3680635

传真: 0991-3838957

E-MAIL: xjlab@ms.xjb.ac.cn

通讯地址: 新疆乌鲁木齐市北京南路 40-1 号中国科学院新疆理化技术研究所

邮政编码: 830011

会议网站: http://www.cas.cn/hy/hyhg/201203/t20120322_3514781.shtml

会议背景介绍: 可食植物资源及活性成分国际学术研讨会(International Symposium on Edible Plant Resources and the Bioactive Ingredients)是在中国科学院的大力支持下,由中国科学院新疆理化技术研究所发起,面向全球从事可食植物资源基础及应用研究人员的定期专业性学术活动(两年一届)。第三届可食植物资源及活性成分国际学术研讨会(isepr2012)将于 2012 年 7 月 25 日至 28 日在新疆乌鲁木齐举行。会议的宗旨是通过此次会议为国内外从事可食植物资源及活性成分研究与开发工作的科技人员构筑学术交流的平台,提供沟通咨询的管道以及相互了解和合作的契机。