

白曲霉 Asp-amy1 固体发酵生产酸性淀粉酶的初步研究

贺胜英^{1,3} 杨云娟¹ 许波^{1,2} 黄遵锡^{1,2} 唐湘华^{1,2}

(1.云南师范大学生命科学学院,云南 昆明 650222;2.生物能源持续开发利用教育部工程研究中心,云南 昆明 650222;3.宜宾学院化学化工系,四川 宜宾 644007)

摘要: 利用白曲霉菌株 Asp-amy1 进行固体发酵生产酸性淀粉酶,对白曲霉固体发酵条件进行了优化,初步确定菌株产酶的优化培养基为 7.5 % 的玉米粉,1.5 % 的蛋白胨,发酵曲含水量为 50 %,发酵起始 pH5.5。菌株的最佳接种量为 40 % (干基计),发酵时间由 72 h 缩短到 48 h,菌体生长迅速,产酶能力强,酶活达 1000 U/g 干曲。薄层层析生成的液化产物,主要以 G2-G7 为主,淀粉液化后都生成了小分子的糊精和寡糖类,产物薄层分析可初步确定所产酶为液化型酶。

关键词: 酸性淀粉酶; 固体发酵; 优化; 薄层; 液化

中图分类号:TS261.1 ;TQ925 ;Q93-3 文献标识码:A 文章编号:1001-9286(2009)08-0041-06

Study on Solid Fermentation by Use of *Aspergillus candidus* Strain Asp-amy1 to Produce Acidic α -amylase

HE Sheng-Ying^{1,3}, YANG Yun-Juan¹, XU Bo^{1,2}, HUANG Zun-Xi^{1,2} and TANG Xiang-Hua^{1,2}

(1. School of Life Sciences, Yun'nan Normal University, Kunming, Yunnan 650222; 2. Engineering Research Center of Sustainable Development & Utilization of Biomass Energy, Ministry of Education, Kun'ming, Yunnan 650222; 3. Chemical Engineering Department of Yibin College, Yibin, Sichuan 644007, China)

Abstract: *Aspergillus candidus* strain Asp-amy1 was used in solid fermentation to produce acidic α -amylase. The solid fermentation conditions were optimized and the culture medium was preliminarily determined as follows: 7.5 % maize meal, 1.5 % peptone, moisture content of fermenting starter was 50 %, and the initial pH value was 5.5. The best inoculation quantity of the strain was 40 %, the fermentation time shortened from 72 h to 48 h, and the activity of acidic α -amylase could reach up to 1,000 U/g dry substrate. The liquefying products by TLC analysis (mainly including G2-G7) would develop to dextrin and oligosaccharide. And TLC analysis proved preliminarily that the produced acidic α -amylase was a kind of liquefying amylase.

Key words: acidic α -amylase; solid fermentation; optimization; thin-layer chromatography (TLC); liquefying

酸性 α -淀粉酶是淀粉酶系列的一种,其作用特点主要是在酸性条件下对淀粉类物质进行酶解作用,把淀粉颗粒酶解生成可溶性的小分子物质。该酶能被广泛用于玉米淀粉酿酒行业、乳酸发酵行业^[1]、制糖行业和食品行业。

常规的高温 α -淀粉酶和中温 α -淀粉酶多用于酒精行业,其液化最适作用 pH 为 6.0~6.5,酶解低于此淀粉酶作用 pH 值的物质,pH 需要调整,否则液化效果较差。而在进行糖化工段,需要添加糖化酶进行糖化,pH 由 6.5 调节到 4.5,操作工序复杂,不经济,而且在清洁生

产工艺中要求对部分废水进行回用,很多废水本身就是偏酸性,导致生产过程中工艺调整较大。酸性淀粉酶的使用,大大缩减了工艺路线和设备的改造,由于其作用的最适 pH 为 4.5~5.5,液化过滤效果好,粘度低,流动性强,不易回生老化,收率高,有利于出糖率的提高与发酵产物的有效转化。

酸性淀粉酶是淀粉质原料加工的产物,从 1963 年起,日本研究者三田利用白曲霉生产出一种酸性淀粉酶^[2~5],最适作用 pH 为 3.5,适用于烧酒制备中淀粉原料的加工。随后,全世界的科研工作者对产酸性淀粉

基金项目:云南师范大学校青年基金(基金号 2008z010)。

收稿日期:2009-05-11

作者简介:贺胜英(1974-),女,四川泸州人,工学硕士。

通讯作者:唐湘华(1973-),男,云南昆明人,助教,发酵工程专业,E-mail:txhact@gmail.com。

酶^[6~8]的菌种进行大量选育工作,获取目的菌。如胡欣洁、胡承^[9]等人报道,从醋醅中筛选出产 α -淀粉酶的水生假丝酵母菌,通过诱变处理,获得产酶诱变株 ASA-UD86,生产的酸性淀粉酶活力达到 146 U/g。20 世纪 90 年代,分子水平的研究为提供酸性淀粉酶在耐高温和耐酸性的特性方面提供了重要的依据,如郭建强、李运敏^[10]等人在分子水平条件下构建的重组质粒转化毕赤酵母 GS115 细胞,得到酵母工程菌株,通过甲醇诱导后得到该酸性淀粉酶,该酶最适反应温度为 90~100 °C,最适反应 pH 值为 4~5,但没有用于工业化生产。

本文主要是通过通过对酸性淀粉酶的固体发酵条件进行研究,通过自制的固体发酵箱获得高酶活的酸性淀粉酶,能够用于产业化的使用。通过对该酶的酶学性质的研究,应用酸性淀粉酶降解瓜干淀粉、玉米淀粉质原料,了解酒精生产过程中液化和糖化转换关系;了解该酶对废醪液中有机物含量的分析,提高淀粉质利用率,降低废水中有有机物的含量,消减废水中 COD 浓度,便于后继废水工程处理,大大降低生产环境的污染。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株

白曲霉:*Aspergillus candidus*。

1.1.2 培养基

土豆培养基:30 %的土豆浸出汁,葡萄糖 2 %,琼脂 2.2 %,pH 自然。

液体种子培养基成分:玉米粉 2 %,豆饼粉 2 %,麸皮 1 %, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.4 %,硫酸钙 0.1 %,磷酸氢二钠 0.8 %,于 0.1 MPa、121 °C,灭菌 30 min。

固体发酵基础培养基:麸皮 45 %, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.6 %,硫酸钙 0.1 %,磷酸氢二钠 0.8 %,于 0.1 MPa、121 °C,灭菌 60 min。

1.1.3 主要设备

各种规格的移液枪 (Eppendorf, Gilson); DELTA320 (mettler Toledo) 高精度酸度计(自动温补); 755B 型紫外分光光度计(上海精密科仪器厂); EBA12(hettich)高速离心机; pl203(mettler toledo)电子天平; SHZ-82 水浴恒温振荡器(江苏省金坛市医疗仪器厂); 回转式恒温调速摇瓶柜; 电热恒温培养箱; 电热手提式压力蒸汽灭菌锅(上海医用核子仪器厂); 自制曲箱。

1.1.4 实验试剂

1.1.4.1 柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲液

1.1.4.2 2 % (w/v) 浓度的底物淀粉溶液

准确称量 2.00 g 菱湖牌可溶性淀粉,溶于经煮沸的

90 mL、pH 5.0 的柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲液中,加热至淀粉溶解,冷却,用 100 mL 容量瓶定容。

1.1.4.3 0.1 % (w/v) 淀粉溶液的配制

准确称量 0.100 g 淀粉,溶于煮沸的 90 mL、pH 5.0 的柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲液中,加热至淀粉溶解,冷却,用 100 mL 容量瓶定容。

1.1.4.4 1 mol/L H_2SO_4 的配制

用移液枪取 5.6 mL 浓 H_2SO_4 于盛有 94.5 mL 蒸馏水的三角瓶中。

1.1.4.5 原碘液

准确称量碘(I_2) 11 g, 碘化钾(KI) 22 g, 先用少量蒸馏水使碘完全溶解后定容至 500 mL, 贮于棕色瓶内。

1.1.4.6 稀碘液

取 1 mL 原碘液用蒸馏水稀释 100 倍, 贮于棕色瓶内。

1.2 试验方法

1.2.1 酶活测定

1.2.1.1 酸性 α -淀粉酶标准曲线的制作

分别吸取 0.1 % 的标准淀粉溶液 0、0.1 mL、0.2 mL、0.3 mL、0.4 mL、0.5 mL、0.6 mL、0.7 mL、0.8 mL、0.9 mL 和 1.0 mL, 依次加入到标有 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11 的试管中, 分别用蒸馏水补加至 1.0 mL, 配制成每毫升分别含淀粉 0、100 μg 、200 μg 、300 μg 、400 μg 、500 μg 、600 μg 、700 μg 、800 μg 、900 μg 和 1000 μg 的标准液, 分别加入 1 mol/L H_2SO_4 0.5 mL, 稀碘液 5 mL, 再加入 4.5 mL 蒸馏水, 摇匀, 在分光光度计 620 nm 处测吸光度, 以稀碘液为空白, 以没有加入淀粉溶液的试管为空白对照, 测 OD 值。所得的光密度 OD_{620} 值为纵坐标, 对应的标准的淀粉含量为横坐标, 绘制标准曲线, 求得系数 K。

1.2.1.2 酸性 α -淀粉酶酶活力的定义

在 60 °C, pH 为 5.0 时, 每克样品每分钟水解 1 mg 淀粉所需的酶量定义为一个酶活力单位(U)。

1.2.1.3 酸性 α -淀粉酶酶活力的测定(蓝值法)

取 5 mL 2 % 底物淀粉溶液于 200 mL 的试管中, 于 60 °C 恒温水浴中预热 10 min, 加适当稀释倍数的酶液 0.5 mL, 在 60 °C 恒温水浴中准确反应 5 min, 取 0.5 mL 反应液于盛有 5 mL 稀碘液的试管中, 用 0.5 mL 1 mol/L 的 H_2SO_4 终止反应, 补水 5 mL, 在波长为 620 nm 测吸光度。

$$\text{酶活 } E(\text{U/g 干曲}) = (20 \times 5 - \text{OD}_{620} \times K \times 11) \times n / 0.5 / 5 / (1 - \text{含水量})$$

1.2.2 碳源的选择

分别选取干基浓度 2.5 % 的麸皮、玉米粉、糊精、大麦、淀粉、葡萄糖 6 种碳源物质添加到基础培养基中, 含

水量为 50%，取液体种子液按照干基原料的 20% 的接种量接种到固体培养基上，保证固体曲的含水量为 55% 左右，30℃ 条件下培养 72 h，取发酵曲用缓冲液浸泡 15 min，纱布过滤，滤液在 10000 r/min 的离心机上离心 5 min，取上清液测定酶活，确定产酶最佳碳源类别，试验要求每个试验组要保证 3 个平行。

1.2.3 玉米粉添加量对发酵产酶的影响

玉米粉按照干基的 0%、2.5%、5%、7.5%、10% 和 20% 的添加量添加到基础培养基中，取液体种子液按照干基原料 20% 的接种量接种到固体培养基上，保证固体曲的含水量为 55% 左右，在 30℃ 的条件下培养 72 h，取发酵曲用缓冲液浸泡 15 min，纱布过滤，滤液在 10000 r/min 的离心机上离心 5 min，取上清液测定酶活，确定产酶最佳碳源添加浓度，试验要求每个试验组要保证 3 个平行。

1.2.4 氮源的选择

选取干基浓度 2.5% 的黄豆粉、尿素、酵母膏、 NaNO_3 、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 NH_4NO_3 、 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 、牛肉浸膏 8 种氮源物质添加到含有 7.5% 浓度的玉米粉的基础培养基中，取液体种子液按照干基原料的 20% 的接种量接种到固体培养基，保证固体曲的含水量为 55% 左右，在 30℃ 条件下培养 72 h，取发酵曲用缓冲液浸泡 15 min，纱布过滤，滤液在 10000 r/min 的离心机上离心 5 min，取上清液测定酶活，确定最佳氮源类别，试验要求每个试验组要保证 3 个平行。

1.2.5 蛋白胨添加量对发酵的影响

选取蛋白胨按照干基的 0%、0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5%、3.0% 和 3.5% 作添加量添加到含有 7.5% 浓度的玉米粉的基础培养基中，取液体种子液按照干基原料的 20% 的接种量接种到固体培养基中，保证固体曲的含水量为 55% 左右，在 30℃ 条件下培养 72 h，取发酵曲用缓冲液浸泡 15 min，纱布过滤，滤液在 10000 r/min 的离心机上离心 5 min，取上清液测定酶活，确定产酶最佳氮源添加浓度，试验要求每个试验组要保证 3 个平行。

1.2.6 复合氮源对固体发酵酶活的影响

氮源在酸性淀粉酶发酵过程中是比较重要的物质，通过对氮源的优化，了解三者之间的关联度，取蛋白胨、黄豆粉和牛肉浸膏按照 3 因素 3 水平的标准设计，进行正交试验，正交试验设计见表 1。

表 1 复合氮源的 $L_3(3)^3$ 正交分析表

水平	因 素		
	A 黄豆粉(g)	B 牛肉浸膏(g)	C 蛋白胨(g)
1	0	0	0
2	1.5	0.2	0.15
3	0.3	0.4	0.30

1.2.7 发酵培养基起始 pH 对产酶的影响

在含有 7.5% 浓度的玉米粉、1.5% 的蛋白胨的基础培养基中，使用 pH 分别为 2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0 和 7.5 的柠檬酸缓冲液作为拌料水，调整发酵培养基的起始 pH 分别为 3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0 和 7.5，高温灭菌后，接种种子液，接种量为 20%，保证固体曲的含水量为 55% 左右的条件下，于 30℃ 培养 72 h，取发酵曲用缓冲液浸泡 15 min，纱布过滤，滤液在 10000 r/min 的离心机上离心 5 min，取上清液测定酶活，确定最佳发酵产酶起始培养 pH，试验要求每个试验组要保证 3 个平行。

1.2.8 发酵培养基水分对酶活的影响

在含有 7.5% 浓度的玉米粉、1.5% 的蛋白胨的基础培养基中，调整水料比分别为 0.6:1、0.8:1、1.0:1.0、1.2:1 和 1.4:1，发酵起始培养基 pH 为 5.5，高温灭菌后，接入种子液，接种量为 20%，保证固体曲最终水料比在含水量为 55% 左右条件下，30℃ 培养 72 h，取发酵曲用缓冲液浸泡 15 min，纱布过滤，滤液在 10000 r/min 的离心机上离心 5 min，取上清液测定酶活，确定最佳发酵产酶料水比，试验要求每个试验组要保证 3 个平行。

1.2.9 接种量对固体发酵产酶的影响

取培养 5 d 的液体种子分别按照干基原料的 10%、20%、30%、40% 和 50% 的接种量添加到含有 7.5% 浓度的玉米粉、1.5% 的蛋白胨的基础培养基中，保证固体曲的含水量为 55% 左右，在 30℃ 条件下培养 72 h，取发酵曲用缓冲液浸泡 15 min，采用纱布过滤，滤液在 10000 r/min 的离心机上离心 5 min，取上清液测定酶活，确定最佳发酵产酶的氮源添加浓度，试验要求每个试验组要保证 3 个平行。

1.2.10 发酵产酶生长曲线

将已接入种子液的固体发酵优化培养基置于 30℃ 恒温培养箱中分别培养 24 h、36 h、48 h、60 h、72 h、84 h 和 96 h，每隔 12 h 测定发酵固体曲的酶活，确定发酵产酶最佳时间，试验要求每个试验组要保证 3 个平行。

1.2.11 酸性淀粉酶的液化型测定

取酸性淀粉酶进行反应，降解玉米淀粉原料，并对反应时间不同的产物进行分析，通过分别取样用硅胶板薄层层析(TLC)色谱的方法分析，利用 2% 的葡萄糖单糖，2% 的麦芽糖二糖和 4% 的糊精作为标准物进行比较。

2 结果与分析

2.1 标准曲线(图 1)

通过对不同浓度的标准可溶性淀粉的吸光度与淀粉的含量进行拟合，获得线性相关拟合较好的回归方程为：

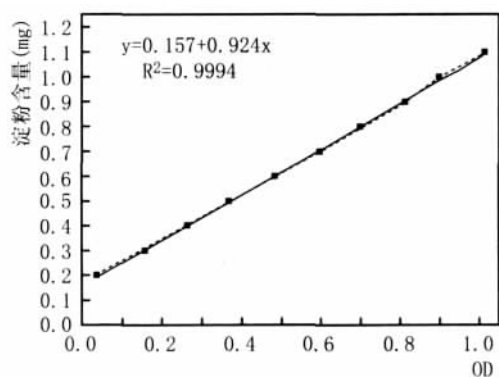


图1 淀粉标准曲线

$y = 0.157 + 0.924x$, $R^2 = 0.9994$, $p < 0.0001$, 其中 x 为吸光度; y 为淀粉含量(mg)。

2.2 碳源的选择

通过对选择的6种碳源进行发酵产酶试验, 结果见表2。

表2 碳源对固体发酵产酶的影响

项目	编号					
	1	2	3	4	5	6
	麸皮	玉米粉	糊精	大麦	淀粉	葡萄糖
酶活 (U/g 干曲)	507±22	627±27	193±8	529±23	437±19	500±23

由表2可知, 玉米粉在6种有机碳源中对产酶有显著影响, 能够产生627 U/g的酸性淀粉酶, 在6种碳源中确定玉米粉作为碳源使用。

2.3 玉米粉添加量对发酵产酶的影响(图2)

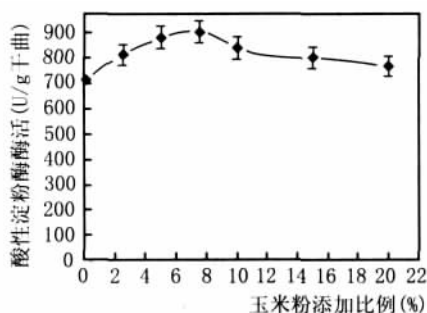


图2 不同浓度的玉米粉对发酵产酶的影响

通过以玉米粉为碳源在基础培养基中添加不同浓度的玉米粉, 检验对白曲霉菌株产酶的影响。试验表明, 随着玉米粉添加浓度的增加, 酸性淀粉酶的产酶能力增强, 当玉米粉的浓度达到7.5%(干基计)时, 其产酶能力最高, 酶活可达到904 U/g干曲, 确定产酶碳源最适添加

量为7.5%。

2.4 氮源的选择

通过对选择的9种氮源进行发酵产酶试验, 结果见表3。

由表3可知, 牛肉膏、黄豆粉和蛋白胨作为氮源较好, 产生的酸性淀粉酶酶活在850~950 U/g干曲范围内, 三者对产酶都有促进作用, 根据产酶能力采用蛋白胨作为产酶氮源。

2.5 蛋白胨添加量对发酵的影响

添加蛋白胨浓度在0~1.5%范围内时, 随着蛋白胨添加量的增加, 其产酶量呈递加趋势; 在2.0%~3.5%范围内时, 产酶能力呈递减趋势, 其原因主要是过剩的营养导致白曲霉大量繁殖, 生物量大, 产酶能力降低。试验结果表明, 当蛋白胨的添加量在1.5%时, 其产酶能力最高。

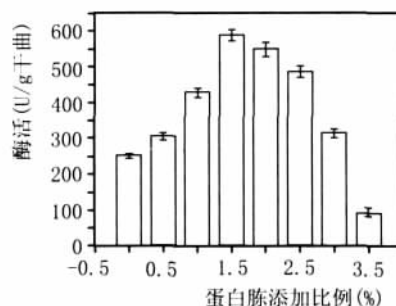


图3 不同蛋白胨含量对发酵产酶量的影响

2.6 复合氮源对固体发酵酶活的影响

在以蛋白胨、牛肉浸膏和黄豆粉3种有机氮源中, 通过极差分析三者的关系, 对产酶关联度影响较大的是蛋白胨, 依次是牛肉浸膏、黄豆粉。根据正交实验得到的产酶能力, 可以得到最优的复合氮源的组合为C2B1A2。

2.7 发酵培养基起始pH对产酶的影响(图4)

图4结果表明, 培养基初始pH对该菌株产酶的影响不大, 其在pH3.5~7.0范围内产酶较稳定, 在培养基初始pH5.5时, 产酶最高。

2.8 发酵培养基含水量对酶活的影响(图5)

试验表明, 水料比在0.8~1.2:1范围内, 即初始培养基的含水量在44.4%~54.5%范围内时, 白曲霉菌株生产酸性淀粉酶产酶性质稳定, 当含水量为50%, 其产酶量最高。由图5可知, 通过线性拟合, 该水分与产酶的关系可以通过下面的公式进行表述:

$$Y = A + B_1 \times X + B_2 \times X^2 + B_3 \times X^3, R^2 = 0.98226$$

表3 氮源因素对固体发酵产酶的影响

项目	试验号									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	对照	牛肉膏	黄豆粉	尿素	酵母粉	硝酸钠	硫酸铵	硝酸铵	磷酸铵	蛋白胨
酶活(U/g 干曲)	632±31	896±43	850±41	45.6±3	479±23	684±34	582±49	521±28	723±35	921±43

表4 复合氮源的 $L_9(3)^3$ 正交试验条件

试验号	A 黄豆粉	B 牛肉浸膏	C 蛋白胨	酶活 (U/g 干曲)
1	1	1	1	315
2	1	2	2	520
3	1	3	3	783
4	2	1	2	890
5	2	2	1	496
6	2	3	3	466
7	3	1	3	449
8	3	2	1	587
9	3	3	2	634
K1	1618	1654	1398	
K2	1852	1603	2044	
K3	1670	1883	1698	
R	234	280	646	

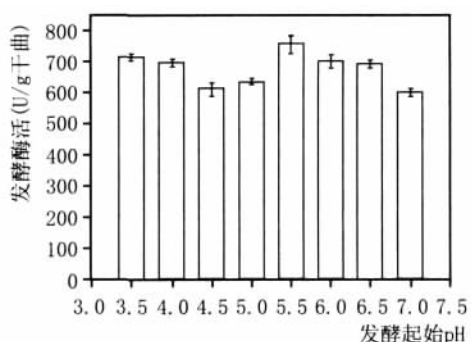


图4 培养基不同初始 pH 对菌株产酶的影响

$P=0.0265<0.05$

$A=-1350.6015\pm50.27613$

$B_1=2071.13636\pm67.43066$

$B_2=-551.47679\pm20.8389$

$B_3=41.04311\pm1.84584$

该菌株的生长特性适合在含水量为 44.4%~54.5% 的培养基中生长,相对于米霉菌^[1]在果胶酶的生产过程中适合于接近 65%~70% 的水分而言,白曲霉更有利于抗污染,易于培养,易干燥。

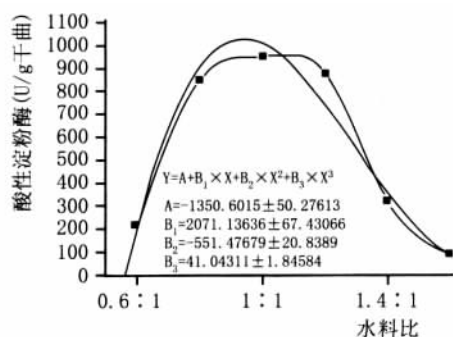


图5 初始培养基的含水量对菌株产酶的影响

2.9 接种量对固体发酵产酶的影响(图6、图7)

图6结果表明,菌株的最佳接种量为40%(干基

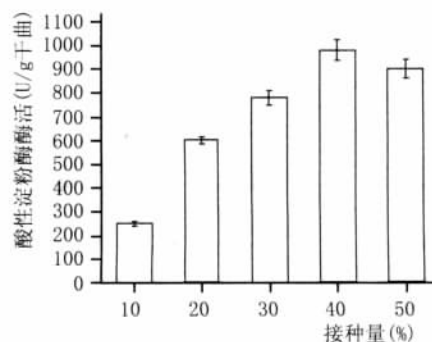


图6 接种量对菌株产酶的影响

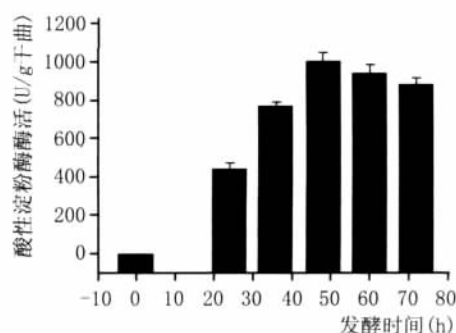


图7 接种量对发酵周期的影响

计)。通过利用40%的接种量进行固体培养,发酵时间大大提前,由最佳发酵72h缩短到48h,菌体生长迅速,产酶能力强。图7表明,使用40%的接种量,发酵周期大大缩短,产酶能力没有降低。

2.10 发酵产酶生长曲线

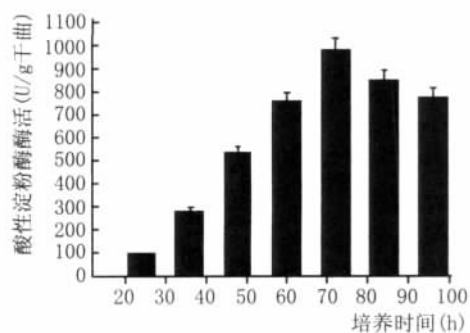


图8 发酵时间对菌株产酶的影响

图8结果表明,接种20%,在优化培养基基础上,总发酵时间为96h中,最佳产酶周期为72h左右,酶活能达到 985 ± 30 U/g干曲。

2.11 酸性淀粉酶的液化力(图9)

通过对淀粉质原料玉米使用酸性淀粉酶进行液化处理后,生成的液化产物主要以G2-G7为主,和4%糊精的标准图谱一致,淀粉液化后都生成了小分子的糊精和寡糖类。样品1、样品2、样品3、样品4和样品5是不同液化反应时间的产物,随着反应时间的延长,生成的单糖分子浓度较低,通过薄层层析后形成的斑点模糊、较小。

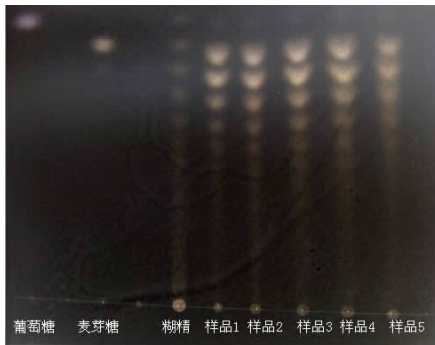


图9 薄层层析产物图

形成的寡糖量不随反应时间的增加而增加,该酶是一个液化型酶。

3 结论

3.1 通过对白曲霉的生长特性的固体发酵研究,对发酵条件进行了优化,确定了该菌株产酶使用的优化培养基为:7.5%的玉米粉,1.5%的蛋白胨,发酵曲含水量为50%,发酵起始pH5.5。在酸性淀粉酶的生产中,氮源对产酶具有重要的促进作用。

3.2 接种量对固体发酵培养是比较重要的一个参数,该菌株的最佳接种量为40%(干基计)。通过利用40%的接种量进行固体培养,发酵时间大大提前,由最佳发酵72h缩短到48h,菌体生长迅速,产酶能力强。

3.3 通过对淀粉质原料使用酸性淀粉酶进行液化处理后,生成的液化产物主要以G2-G7为主,和4%糊精的标准图谱一致,淀粉液化后都生成了小分子的糊精和寡糖类。通过对样品的不同液化反应时间的产物进行薄层分析,产物随着反应时间的延长,生成的单糖分子浓度较低,形成的斑点模糊、较小,而且形成的寡糖量不随反应时间的增加而增加,初步可以确定该酶是一个液化型酶,不是糖化型酶。

参考文献:

- [1] E.Giraud, L. Gosselin, B.Marin, ETC.Purification and characterization of an extracellular amylase from *Lactobacillus plantarum* strain A6 [J].Journal of Applied Bacteriology,1993,(75): 276-282.
- [2] Akihiro K, Shigetoshi S, Yuko T, et al. Molecular cloning and determination of the nucleotide sequence of a gene encoding an acid-stable α -amylase from *Aspergillus kawachii* [J]. Ferment Bioeng.1996, 81(4): 292-298.
- [3] 高崎义幸.日本开发耐热耐酸性 α -淀粉酶[J].日本食品工业,1994,6(30):44-50.
- [4] Mikamt S,Iwano K,Shlinnki S,Shimada T.Purification and some properties of acid-stable α -amylase from Shochukoji (*Aspergillus kawachii*) [J].Agric.boil.Chem,1987,51(9): 2495-2501.
- [5] Yasuhiro K,Naoki T,Hisatugu W,etc.Production of acid-stable α -amylase by *Aspergillus kawachii* during Barely Shochu-koji Production [J].J.Ferment.bioeng,1997,84(3):224-227.
- [6] Toby H. Richardson, Xuqiu Tan, Gerhard Frey, Walter Callen, etc. Discovery and optimization of a Low pH, thermostable α -amylase[J].The Journal of Biological Chemistry,2002, 277(29):26501-26507.
- [7] Hisayori Shigechi, Jun Koh, Yasuya Fujita, etc.Direct production of ethanol from raw corn starch via fermentation by use of a novel surface-engineered yeast strain codisplaying glucoamylase and α -amylase[J].Applied and Environmental Microbiology, 2004,70(8):5037-5040.
- [8] Cihangir Duy and Jorg Fitter.Thermostability of irreversible unfolding α -amylases analyzed by unfolding kinetics[J].The Journal of Biological Chemistry,2005, 280(45):37360-37365.
- [9] 胡欣洁,李凇,王忠彦,等.耐酸性 α -淀粉酶产生菌的选育[J].酿酒科技,2005,(5):39-41.
- [10] 郭建强,李运敏,岳丽丽,邱阳生,等.超耐热酸性 α -淀粉酶基因的克隆及其在酵母细胞中的表达[J].生物工程学报,2006,22(2):237-242.

中国白酒行业高峰论坛上海举行

本刊讯 2009年7月16日~17日,由中国酒类流通协会主办的2009中国白酒行业高峰论坛在上海举行。在金融危机背景下,面对即将实施的消费税改革、进口酒产品的强势入市以及酒类市场监管种种新的举措等,与会代表对白酒行业市场前景、立法、品牌战略、营销、渠道、包装等一系列课题进行了深入研究和探讨。

针对此次金融危机,中国酒类流通协会秘书长刘贤表示,金融危机带给白酒行业的不是寒冬而是调整的契机。2008年,受白酒刚性消费需求影响,白酒行业整体依然呈现上扬态势。2009年1~5月,规模以上白酒企业产量为250.65万千升,同比增长17.44%,销售收入767.4亿元,同比增长21.95%,实现利润107.4亿元,同比增长9.22%。

针对酒类市场监管的问题,国家商务部市场运行调节司副司长王北鹰介绍说,今年两会期间,就目前酒类市场现状,代表们呼吁进一步推进酒类监管立法,提议制定相关酒法,健全酒类市场监管体系。他指出,新的《食品安全法》是目前酒类市场监管的大法和基础,为酒类市场监管提供了法律依据。在实施过程中企业必须要遵守。大法要行之有效,就必须建立金字塔型的法律体系,包括建立相应的酒法。(小小)