



内部资料

# 发酵工业

FERMENTATION INDUSTRY

4

2019

生物发酵产业权威资料 / 行业信息传播平台

总第321期





## 终身逐出市场！食品安全违规 违法惩戒力度将进一步加大

2019 4  
总第 321 期

CONTENTS

### 每月资讯 MONTHLY NEWS

- 04 要闻  
终身逐出市场！食品安全违规违法惩戒力度将进一步加大等 3 篇
- 05 协会工作  
中国生物发酵产业协会二届八次理事会暨二届八次常务理事  
会圆满闭幕 等 2 篇
- 08 行业动态  
《中国植物（中药）提取物产业调研报告》及《中国植物提  
取物（中药）产业白皮书》进入专家咨询阶段

# 目录 | CONTENTS

## 行业聚焦 INDUSTRYFOCUS

- 10 最新! 市场监管总局关于食品类咨询问题解答汇总

## 研究开发 RESEARCH&DEVELOPMENT

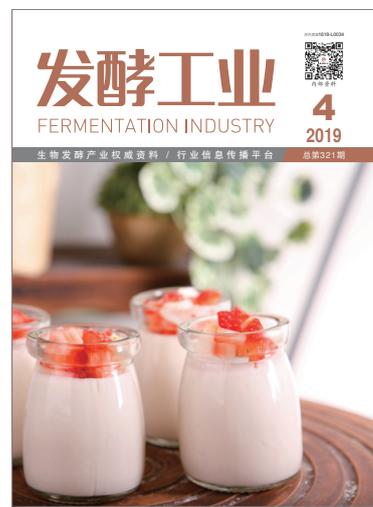
- 15 粘质沙雷氏菌产蛋白酶的发酵条件优化  
23 重组木聚糖酶酶解玉米芯制备低聚木糖

## 数据 DATA

- 31 2019年2月有关产品进出口情况

## 通知公告 NOTICE&ANNOUNCEMENT

- 34 中国生物发酵产业协会邀请出访以色列和埃及的通知  
36 关于申请使用生物发酵产业“绿色制造”标识商标的通知



编印单位: 中国生物发酵产业协会  
网 址: [www.cbfia.org.cn](http://www.cbfia.org.cn)

主 编: 石维忱

编 委 (按姓氏笔画排名):

于昌德 于素平 于培星

牛继星 王兆光 王宏龄

王 勇 王星云 王新建

王德辉 田玉兰 白 钢

冯志合 朱新建 刘宗利

刘顺启 江保安 李学纯

李世勇 李建军 余淑敏

陈 刚 陈尧燊 陈桂贞

陈德水 宗伟刚 俞学锋

贺俊士 夏令和 袁建国

莫湘筠 寇光智 曹孟臣

谢海华 程少博 詹志春

编 辑: 关 丹

法律顾问: 赵一方

编辑出版: 《发酵工业》编辑部

电 话: 010-68396573

电子邮箱: [gd1104@163.com](mailto:gd1104@163.com)

地 址: 北京市西城区阜外大街  
乙22号502室

邮政编码: 100833

设计印制: 北京科信印刷有限公司



## 终身逐出市场！食品安全违规违法惩戒力度将进一步加大

“对那些造成严重食品安全事件后果的企业责任人，要从重处罚，罚到他们倾家荡产！”李克强在3月26日的国务院常务会议上说。

当天会议通过《中华人民共和国食品安全法实施条例（草案）》。李克强说，近年来食品安全工作虽然取得了一些成绩，但与人民群众的期待仍相差较远。

“民以食为天，食品安全是天大的事。”总理说，“必须坚决守住安全底线，确保食品安全，维护人民健康。”李克强明确要求，对违法违规企业及其法定代表人等相关责任人要进一步加大处罚力度，同时加快研究“终身逐出市场”等惩戒机制。要从法律程序上明确大额罚款执行部门，确保处罚规范合理，执法“利剑”更加有力。“总而言之，要把条例真正落到实处，让处罚真正发挥‘震慑’作用，让恶意违法者付出沉重代价！”总理说。

会议通过的草案细化了生产经营者主体责任、政府监管职责和问责措施，依法按程序加大对违法违规企业及其法定代表人等相关责任人的处罚力度，并完善了食品安全标准、风险监测等制度。

### 《产业结构调整指导目录（2019年本，征求意见稿）》公开征求意见

为贯彻习近平新时代中国特色社会主义思想 and 党的十九大精神，加快建设现代化经济体系，推动产业高质量发展，按照《国务院关于实行市场准入负面清单制度的意见》和《国务院关于印发打赢蓝天保卫战三年行动计划的通知》的要求

和部署，国家发展改革委同有关部门对《产业结构调整指导目录（2011年本）（修正）》进行了修订，形成了《产业结构调整指导目录（2019年本，征求意见稿）》，现向社会公开征求意见。

《产业结构调整指导目录（2019年本，征求意见稿）》由鼓励类、限制类、淘汰类三个类别组成。鼓励类主要是对经济社会发展有重要促进作用，有利于满足人民美好生活需要和推动高质量发展的技术、装备、产品、行业。限制类主要是工艺技术落后，不符合行业准入条件和有关规定，禁止新建扩建和需要督促改造的生产能力、工艺技术、装备及产品。淘汰类主要是不符合有关法律、法规规定，不具备安全生产条件，严重浪费资源、污染环境，需要淘汰的落后工艺、技术、装备及产品。需要说明的是，对不属于鼓励类、限制类和淘汰类，且符合国家有关法律、法规和政策规定的，为允许类。允许类不列入目录。

本次修订的导向是，坚持稳中求进工作总基调，坚持新发展理念，坚持推动高质量发展，坚持以供给侧结构性改革为主线，把发展经济的着力点放在实体经济上，促进农村一二三产业融合发展，推动乡村振兴；顺应新一轮世界科技革命和产业变革，支持传统产业优化升级，加快发展先进制造业和现代服务业，促进制造业数字化、网络化、智能化升级，推动先进制造业和现代服务业深度融合；运用市场化、法治化手段，大力破除无效供给。

此次公开征求意见的时间为2019年4月8日至2019年5月7日，有关单位和社会各界人士可以登陆国家发展改革委门户网站（<http://www.ndrc.gov.cn>）首页“意见征求”专栏，进入“《产业结构调整指导目录（2019年本，征求意见稿）》公开征求意见”栏目，填写意见反馈表，提出意见建议。

## 21项保健食品功能拟取消

日前，国家市场监督管理总局发布了《市场监管总局关于征求调整保健食品保健功能意见的公告》（以下简称“公告”），拟取消21项保健食品功能，引导消费者理性消费。在此背景下，虽然有业内人士形容目前整个保健食品行业是“哀声一片”，但专家表示，其实企业不必过于焦虑。

在公告发布前，国家批准的保健食品功能共27项。公告显示，其中有18项功能表述拟调整。而“美容（改善皮肤油分）/改善皮肤油分”“促进生长发育/改善生长发育”和“促进泌乳”这三项拟被取消。“辅助降血脂”“辅助降血糖”“辅助降血压”“对化学性肝损伤有辅助保护功能”“对辐射危害有辅助保护功能”和“促进排铅”六项功能则要经过论证是否保留。

另外，此前曾批准过，但现已不再受理审评审批的保健功能，包括辅助抑制肿瘤、改善性功能等18项拟被取消。

国家市场监督管理总局特殊食品安全监督管理局司长周石平表示，目前，保健食品市场虚假宣传甚至将产品吹嘘成神药欺诈消费者等问题屡禁不止。欺诈和虚假宣传是一个社会顽疾，涉及面广，影响因素复杂，取证难、认定难，需要社会各方综合治理。

广东省现代健康产业研究院院长、广东省营养健康产业协会秘书长张咏曾向媒体表示，此番调整导致市场上畅销的保健品变少；保健食品生产企业、流通企业和从业人员的生存空间进一步变小，现在整个保健食品行业可谓是“哀声一片”。

而中国营养学会一位专家表示，拟调整的18项功能声称表述对合规经营企业影响其实不大。公告对于大部分企业的利益有所保护。公告显示，针对首批拟调整功能声称表述的18项保

健功能，保健食品产品注册证书持有人或授权生产企业可直接调整其产品的包装、标签、说明书中的相关功能表述，无需单独申请变更注册，已上市产品可销售至保质期结束；处于受理审评审批过程的，审评机构将直接调整功能声称，申请人无需补正。也就是说，大部分企业无需再次提交申请手续。

而涉及拟取消的三项现有审评审批范围内的保健功能产品市场中占比很小。记者了解到，以“改善皮肤油分”为例，从获批数量上来看，迄今为止该功能产品仅获批一个，就是“30天美丽秘方片剂（卫进食健字（1997）第096号）”，申请人是海南美丽健康食品有限公司。而获批“改善泌乳”功能产品数量最多的企业为北京美迪生医药科技有限公司，共两个。所以对整个市场影响有限。据媒体报道，这三项功能总共只有300多个产品，在保健食品中占比不到2%。

中国营养学会的专家也表示，监管部门调整保健食品功能，是为了整治虚假宣传现象，保护消费者的生命财产安全，而不是对保健食品企业进行“封杀”。所以合法的企业不必太过焦虑。



ASSOCIATION WORK  
协会工作 >>

## 中国生物发酵产业协会二届八次理事会暨二届八次常务理事会圆满闭幕

2019年3月29日，中国生物发酵产业协会在北京召开二届八次理事暨二届八次常务理事会。会议由中国生物发酵产业协会常务副理事长于学军主持。工信部消费品司高延敏司长、李强处长、发改委产业协调司李平处长、中国轻工业联合会贾志忍副会长、中国工程院陈坚院士、发

改委宏观经济研究院产业经济与技术经济研究所黄汉权所长出席了本次会议。

石维忱理事长在致辞中说，在刚刚闭幕的两会中，李克强总理在政府工作报告中指出，过去一年我国发展面临多年少有的国内外复杂严峻形势，经济出现新的压力，但是依然完成的经济社会发展主要目标任务，在新的一年里，我们充分肯定成绩的同时充分看到我国生物发酵产业发展面临的问题和挑战，勇于担当，克尽职守，竭尽全力做好工作，不辜负期望和期待。中国生物发酵产业作为国家战略新兴产业之一，正处在关键时期，如何深化供给侧改革，坚持创新引领，实现产业高质量发展，满足人民对美好生活的需要，是我们必须面对的产业可持续发展的问题，这次会议国家有关部委的负责通知将给我们解读产业政策，中轻联领导将对我们提出指示，这将对我们很好地推动今年乃至布局好五年的发展意义重大。

国家工信部消费品司高延敏司长作重要讲话，他指出，生物发酵行业是战略新兴产业之一，高质量发展过程和创新密不可分，怎么进行高质量发展，怎么进行创新升级，绿色制造、智能制造是生物发酵行业创新升级的重要途径。企业应该研究一些智能制造技术在生物发酵领域的应用。在谈到“三品”战略时，高司长指出，“三品”战略应该是生物发酵行业创新升级的重要抓手，现在好的酸奶菌种还要进口，不知道那天进不来了上哪儿喝酸奶呢，新的菌种没有；洗衣粉里加的酶制剂，也是进口，国外用点洗衣粉白衬衫一洗就掉，国内的洗衣粉好多洗不掉，进口价格比较高，就讲这个品种，我们要创新的、要研发的真的很多。我相信，经过几代人或者多少年的努力，“卡脖子”的技术必将被攻克。消费升级助推产业升级，产品高端化也是我们生物发酵行业的重要任务，不断探索生物发酵产业的细分

行业，对已经成为新经济的行业和市场加强监管规范的同时，要充分允许他们创新新生事物的尝试。保护知识产权不仅需要有效的监督和执法，还需要全社会各个层面的共同认识，让我们每个人都从大脑深处买真货而不是买便宜的仿制货，让仿制品没有生存空间，让我们主体企业更要讲责任，具有更强烈的知识产权保护意识。

国家发展改革委产业协调司李平处长从《产业结构调整指导目录修订》、加快传统产业改造提升、品牌建设三方面介绍了政府如何为推动高质量发展创造环境。他指出，《产业机构调整目录》是引导投资方向，管理投资项目，制定财税、信贷、土地、进出口免关税这方面的重要业务，现在新技术、新业态、新产业模式层出不穷，日新月异的今天，《产业机构调整目录》非常重要。《产业结构调整目录》修订主要突出四个方面的特点，第一是推进高质量发展，有统计工业产品当中有250种在商业都是第一，但是质量的问题，产业在世界的影响利用问题，我们国家同国外还存在差异，我们产业处在中低度，要向高度迈进，怎么迈进，我们要在政策上，要在行业门槛上，提出要求，所以说《产业机构调整目录》有利于我们高质量发展。第二是突出协调性，产业政策要精准，有考虑地方优势资源的政策引导；第三是绿色发展，绿色发展是我们新发展的重要组成部分，是循环经济重要的内容，第四是创新发展，把最先进的产业技术列入到产业指导目录中来，使这些技术在研发、应用推广方面能够享受国家政策的优惠，这就是产业政策目录我们的考虑。传统产业改造是党中央国务院重要的事情，总书记多次会议中提到，轻纺是传统行业的一个重要的内容，发酵是轻纺行业的重要组成部分，是人们生产消费的消费品，人们消费大部分都是工业消费，也是我们工业体系的重要组成部分，轻纺行业的

发展实际上为我们繁荣市场，满足百姓的生活需求，增加出口创汇，扩大劳动就业，服务三农，稳定社会，促进城乡经济发展这一方面都是发挥了重要的作用，我们现在正在做传统产业改造升级的意见，做好顶层设计，拿一些举措出来。传统产业改造考虑从这几方面着手，一是加快智能化、绿色化，二是推进质量提升，三是强化技术装备补短板，四是壮大产业集群，五是创新平台建设，六是世界一流企业。党中央 2014 年就提出了三个转变，中国质量向中国制造，中国制造向中国创造。中国创造向中国品牌转变，要打造更多享誉世界的品牌，习总书记和李克强总理都做了重要的指示。国务院在 2017 年的时候为了在全社会形成品牌发展意识，国务院设立了中国品牌日，把品牌变成了中华民族的一个节日。品牌日由自由品牌博览会和品牌论坛组成，目的就是让品牌发展理念传向全社会。

中国轻工业联合会贾志忍副会长在讲话中指出，生物发酵产业坚持以提高发展质量和效益为中心，以深化拓展供给侧结构性改革为主线，坚持创新驱动，大力推进行业绿色制造体系建设、加大标准制修订力度、加强品牌建设与特色区域建设、积极促进国际合作与交流，有力地促进了行业经济平稳健康发展。贾会长充分肯定了协会在中国生物发酵产业协会领导下，认真学习贯彻习近平新时代中国特色社会主义思想，坚持新发展理念，不忘初心，始终坚持“服务政府、服务行业、服务会员、服务社会”的工作宗旨，在引领行业绿色、健康发展、推动行业技术进步、规范行业行为、维护行业利益方面做了大量工作，赢得了政府、行业 and 企业的信任，对推动生物发酵产业调结构、转方式、稳增长、促发展发挥了不可替代的重要作用。就生物发酵产业发展提出了四点建议：一要坚持创新引领；二要坚持绿

色发展；三要坚持高质量发展；四要加强协会自身建设。希望生物发酵行业在“十三五”收官之际抓住新一轮技术革命和产业变革的发展机遇，发挥优势，进一步提高产业竞争力，组织开展“十四五生物发酵产业发展”研究，制定好未来五年发展战略，加快实现世界强国的战略目标。

江南大学校长中国工程院陈坚院士做了《实施产教融合，实现发酵工业高质量发展》报告。他指出，一方面为了应对全球生物技术产业发展，我们产教融合，另一方面是新时代如何实现融合，最后他从四个方面阐述了实现高质量发展关键点，一是开发领域关键技术，关注关于发酵工业生产菌种的知识产权和水平问题，发酵工业绿色生产，全产品加工过程技术；二是创新现代工程技术，智能制造需要数据库建立，生物反应在线监测系统；三是研究前沿引领技术，发酵微生物的功能改造；四是探讨颠覆性技术，如合成生物学制造新的食品等。

发改委宏观经济研究院产业经济与技术经济研究所黄汉权所长做了《2019 年经济走势研判与建议》报告。黄所长从“短期有忧，前低后高”、“长期向好，质升效增”、“保持定力，做好自己”三个方面为我们进行了解读。他指出，去年中央经济会对今年的经济形势运行有一个判断，经济运行是稳中有变，变中有优，外部的环境复杂严峻，欧美都视中国为经济方面的竞争对手，东盟现在对中国展开低端替代，部分的工业产品的供应链可能就要转出中国；国内经济面临下行压力比较大，我们现在经济处于转型过程当中，我们从高速增长转到，高质量发展，从粗放增长转到集约增长，从靠要素投入转到科技，现在这些转型需要的是科技、人才、资金这些要素支撑的，但是我们看很多的支撑要素不够，“卡脖子”技术受制于人；同时我们也看到“忧中有稳”，就

业稳定，投资相对还是比较稳，去年 11 月 1 号习总书记组织民营企业召开座谈会，支持鼓励民营企业发展，给大家信心，也不断采取措施支持民营企业发展，还有实体经济的发展，中美的贸易摩擦有可能会达成一个协议，所以这还是比较好的情况。他又指出经济高质量发展除了改革、开放、人才、区域发展和城镇化五大红利，还有五大支撑即工业基础雄厚、市场、创新、制度和社会共识。今年政府安排了七大重大任务，提出了四大政策方向，我们要坚定信心，要凝心聚力做好自己的事。

会议还审议通过了《生物发酵行业 2018 年经济运行情况及协会工作总结》、《2019 年工作计划》、《2018 年财务报告》和《协会信用等级评价管理办法》；听取并审议通过了《中国生物发酵产业协会理事长 2018 年述职报告》；讨论通过了《中国生物发酵产业协会成立三十周年活动草案》；听取了《2018 年精准扶贫工作报告》、《2018 年标准化工作总结及 2019 年重点工作安排》；为通过评估的节能环保领军企业、推荐企业颁牌。

### 中国生物发酵产业协会增补第二届理事会 常务理事、理事

3 月 29 日，在中国生物发酵产业协会召开的二届八次理事会暨二届八次常务理事会上，对第二届理事会常务理事、理事进行了调整。

经全体与会代表举手表决，表决通过了青岛海济润生物科技有限公司、恒利康科技股份有限公司、云南大益微生物技术有限公司、河南醇益生物科技有限公司、江西药都百禾生物科技有限公司、广州广电计量检测股份有限公司、北京中农富源集团有限公司、陕西天醇集团有限公司、万德堂（衡水）生物科技有限公司、山

东博华高效生态农业科技有限公司十家单位为中国生物发酵产业协会第二届理事会理事单位的决议；表决通过了上海美瘦生物科技有限公司、丽江得慈延年生物科技有限公司和安徽养生天下生物科技有限公司为中国生物发酵产业协会第二届理事会常务理事单位的决议。



### 《中国植物（中药）提取物产业调研报告》 及《中国植物提取物（中药）产业白皮书》 进入专家咨询阶段

上世纪 80 年代初，化学药品带来的副作用助推全球兴起“崇尚天然，回归自然”热潮；1994 年，美国通过《膳食补充剂健康与教育法案》（DSHEA），正式确立“植物提取物”作为一种膳食补充剂原料的法律地位。自此，全球植物提取物市场蓬勃发展，产业规模从 1997 年仅 18 亿美元快速增长到 2017 年达 100 亿美元，年复合增长率超过 10%；凭借丰富的资源优势，我国的植物提取物产业在 90 年代初开始快速起步，逐步发展成为全球植物提取物原料供应第一大国，出口额从 1997 年仅 0.5 亿美元快速增长到 2017 年超过 20 亿美元。我国提取物产品年复合增长率超过 15%。目前我国从事植物提取物进出口的企业超过 2000 家，出口额超过 1000 万美元的有 50 家左右。

由于我们国家从整体的产业发展战略上还没有给植物提取物产业一个明确的定位，植物提取物产业一直是“墙内开花墙外香”的局面。中国已于 2000 年步入“老龄化”社会，人们健康意

识逐渐提高，对“天然”治未病产品需求量越来越大。2016年下旬，国家出台了《“健康中国2030”规划纲要》，从政策上给大健康产品带来绝佳的发展机遇。《“健康中国2030”规划纲要》是新中国成立以来首次在国家层面提出的健康领域中长期战略规划，突出了大健康的发展理念，并定下明确目标：到2020年，健康服务业总规模超8万亿，到2030年达16万亿；《中华人民共和国中医药法》是我国第一部全面、系统体现中医药特点和规律的基本性法律，是中医药事业发展史上重要里程碑！植物提取物作为大健康产品的主要原料迎来了发展的春天。

为从战略上规范、引导植物提取物行业健康发展，国家发改委国家信息中心、湖南农业大学、河北晨光生物、永州市经开区等10多家组成“产、学、研”调研及编写团队，在2018年初酝酿到2018年8月15日正式启动对植提行业进行调研工作。目前，《中国植物（中药）提取物产业调研报告》（以下简称“调研报告”）及《中国植物（中药）提取物产业白皮书》（以下简称“白皮书”）编撰工作基本结束。自今年年初开始，编制组陆续召开了三轮内部及行业评审。3月27日，国家信息中心经济咨询中心组织专家，在北京中国科技会堂对“调研报告”及“白皮书”进行了咨询评议，并分别形成了咨询评定意见。

国家信息中心新兴产业处副处长张振翼介绍了编撰“调研报告”及“白皮书”的背景及本次会议目的。为落实人大代表的建议，国家发改委组织调研将“植物提取物产品”拟增列进《国家战略新兴产业指导目录》，因此就有了“调研报告”及“白皮书”的调研与编写小组。他请大家踊跃发言、集思广益，为进一步完善“调研报告”及“白皮书”添砖加瓦。湖南农业大学曾建国教

授作为“调研报告”和“白皮书”编制总牵头人，详细介绍了从立项到启动一年的过程，并陈述了资料调研、现场调研、会议调研等不同调研方式和几次内部审评过程，向各位专家详细汇报了“调研报告”和“白皮书”内容，供咨询专家组评议。

中国中药协会执行副会长刘张林作为咨询专家组组长主持了上午的“调研报告”咨询讨论会议。作为植物提取物行业的一名“老兵”，他对植提产业满怀感情，对“调研报告”及“白皮书”提出了中肯的修改建议：增补中药出口方面的数据；重点强调植物行业的战略定位；行业发展要紧扣诸如农业扶贫、“一带一路”、解决劳动就业等时代主旋律。国家市场监督管理总局特殊食品司保健食品注册处处长宛超首先介绍了司领导很重视这次会议，他充分肯定了湖南农业大学曾建国教授带领的调研团队及编写组的辛勤工作，认为“调研报告”及“白皮书”对行业发展很重要。“调研报告”应从战略定位高度去讨论植提行业发展问题。与大家介绍了与FDA就植物提取物的相关交流情况，他还建议将2019年作为植物提取物原料的元年，标准化是植提行业发展的基础，没有标准化就不可能实现规模化和产业化，解决了标准化问题，就打通了植物提取物作为保健食品原料的“任督二脉”。

国家市场监督管理总局食品审评中心保健食品三处处长刘洪宇表示人们对食品安全的关注度正逐步提升，目前，植物提取物作为保健食品原料的标准仍不健全，保健食品审评时会在安全性、功能性、质量可控性、生产许可等方面从严把关。他认为“白皮书”中的建议要涵盖；作为保健食品原料，植物提取物应抓紧时间与机遇尽快建立一个标准体系；提取物应用还要延伸到安全性、功能性的研究，真正提升产品内涵。

# 最新! 市场监管总局关于食品类咨询 问题解答汇总

## 1、关于特医食品的咨询

**提问:**总局关于调整特殊医学用途配方食品注册管理过渡期的公告(2017年第139号),其中第二条在我国境内生产或向我国境内出口的特殊医学用途配方食品,生产日期为2018年12月31日以前的,可在我国境内销售至保质期结束。这句话该如何理解?2018年12月31日以前生产的怎么判定产品属于特医食品?是厂家声称是就算是吗?

**回复:**2018年12月31日前生产,符合GB25596或GB29922尚未获得注册批准的特殊医学用途配方食品可在我国境内销售至保质期结束。特殊医学用途配方食品是指为满足进食受限、消化吸收障碍、代谢紊乱或者特定疾病状态人群对营养素或者膳食的特殊需求,专门加工配制而成的配方食品,包括适用于0月龄至12月龄的特殊医学用途婴儿配方食品和适用于1岁以上人群的特殊医学用途配方食品。

回复部门:特殊食品安全监督管理局  
时间:2019-03-01

## 2、是否可以制定企业标准组织生产

**提问:**某种产品国家或者行业有推荐性标准,企业是否可以根据市场需求制定技术指标低于国标或行标的企业标准组织生产?

**回复:**根据《标准化法》第二十一条规定,企业标准的技术要求不得低于强制性国家标准的相关技术要求,国家鼓励企业制定高于推荐性标准相关技术要求的企业标准。

回复部门:标准创新管理司  
时间:2019-03-06

## 3、生牛乳农残指标是否需要批批检验

**提问:**你好!我是婴配粉生产企业,《婴幼儿配方乳粉生产许可审查细则》(2013版)要求企业应建立生乳进货批批检测记录制度,每批生乳应有检验报告,表明符合《食品安全国家标准生乳》(GB19301)的质量、安全要求,并严格执行索证索票制度,做好记录。生乳的各项质量安全指标应符合相关食品安全国家标准规定。生牛乳执行国家标准GB19301,GB19301规定,生牛乳的农药残留量应符合GB2763及国家有关规定和公告。《GB2763.1》已经于2018年12月21日实施,里面规定了生牛乳的一些农残指标,可是好多物质都没有检验方法,我想问一下这些农残指标企业必须要求批批检测吗?

谢谢!

**回复:**按照《食品安全法》的有关规定,食品中农药残留标准由国务院农业行政主管部门组织制定。食品中农药残留标准有关问题,请向农业农村部进行咨询。

回复部门：食品安全抽检监测司

时间：2019-03-07

#### 4、餐饮食品的分类问题

**提问：**请问下针对在餐饮单位抽取的像蔬菜，畜肉、干制蔬菜等外购的散装食品，可以按照餐饮食品来分类么？谢谢！！

**回复：**您好，餐饮食品主要包括：餐饮自制食品、餐饮具和其他餐饮食品，不包括餐饮环节出现的非餐饮单位自制并未经加工过的食品。

回复部门：食品安全抽检监测司

时间：2019-03-12

#### 5、食品相关法律适用

**提问：**当事人持有《食品经营许可证》，经营范围仅为预包装食品，但是当事人的网店上销售的不仅是预包装食品，还有保健食品。这种情况的话，该如何适用法律？《食品经营许可证管理办法》还是《网络食品安全违法行为查处办法》抑或是其它法律法规？

**回复：**您好，《食品安全法》《食品经营许可证管理办法》《网络食品安全违法行为查处办法》均有相关内容提及超范围销售及罚则。

回复部门：特殊食品安全监督管理局

时间：2019-03-13

#### 6、保健食品备案产品蓝帽子标识

**提问：**保健食品备案产品蓝帽子如何标注，蓝帽子下内容如何标注，谢谢！

**回复：**您好，保健食品标志与保健食品批准

文号应并排或上下排列标于“主要展示版面”的左上方，当“主要展示版面”的表面积大于100个平方厘米时，保健食品标志最宽处的宽度不得小于2厘米，保健食品批准文号分为上下两行，上行为批准文号，下行为“XXXX 批准”。

回复部门：特殊食品安全监督管理局

时间：2019-03-13

#### 7、咨询生产环节

**提问：**在普通食品生产过程中，使用药典炮制方法加工后的药食同源中药材，可以作为普通食品原料生产普通食品么

**回复：**《卫生部关于进一步规范保健食品原料管理的通知》（卫法监发〔2002〕51号）的附件1（既是食品又是药品的物品名单）没有限制食品原料的加工工艺。您提出的问题，依据国家卫生健康委员会“承担新食品原料、食品添加剂新品种、食品相关产品新品种的安全性审查”的职责，建议您向国家卫生健康委员会咨询。

回复部门：食品生产安全监督管理局

时间：2019-03-13

#### 8、农贸市场内水产经营户是否可以经营（销售、代加工）鲜活 整鱼？

**提问：**请问农贸市场内水产经营户是否可以经营（销售、代加工）鲜活鲢整鱼？

**回复：**您好！现对您咨询的问题回复如下：《农业部办公厅 国家食品药品监督管理总局办公厅关于有条件放开养殖红鳍东方鲀和养殖纹纹东方鲀加工经营的通知》（农办渔〔2016〕53号）规定，禁止经营养殖河鲀活鱼和未经加工的河鲀

整鱼，养殖河鲩应当经具备条件的农产品加工企业加工后方可销售。因此，农贸市场内的水产经营户不能经营（销售、代加工）鲜活鲩整鱼。感谢您对食品安全工作的关心和支持！

回复部门：食品经营安全监督管理局

时间：2019-03-14

## 9、保健食品标签

**提问：**1、保健食品标签有没有法规规定必须要标注生产许可编号信息，如有，烦请告知相关法规及章节。

2、保健食品标识规定（卫监发（1996）第38号）、保健食品管理办法（卫生部令第46号）是否还是有效的法规，如果已经废止，烦请告知被取代的法规。

3、目前有哪些法规规定了保健食品的标签需要标注哪些信息？（比如：品名、保健食品标志、保健食品批号等等这种）

4、GB 7718 预包装食品标签通则 是否适用于保健食品标签？

**回复：**你好，保健食品标签说明书应该遵循《食品安全法》《GB7718 食品安全国家标准 预包装食品标签通则》《保健食品标识规定》等相关法律法规。

回复部门：特殊食品安全监督管理局

时间：2019-03-14

## 10、食品名称标签

**提问：**尊敬的领导：某企业生产一款食品，标称名称为狗屎糖（泡果糖），请问这个标签名称可以认定违法吗？

**回复：**预包装食品的标签应当符合《食品安全法》、《食品安全国家标准 预包装食品标签通则》（GB7718）等相关法律法规的要求。食品标签上的名称不建议使用有违社会伦理或有失社会风俗的名称。根据 GB7718, 4.1.2.1 应在食品标签的醒目位置，清晰地标示反映食品真实属性的专用名称。4.1.2.1.2 无国家标准、行业标准或地方标准规定的名称时，应使用不使消费者误解或混淆的常用名称或通俗名称。4.1.2.2 标示“新创名称”、“奇特名称”、“音译名称”“牌号名称”、“地区俚语名称”或“商标名称”时，应在所示名称的同一展示版面标示 4.1.2.1 规定的名称。4.1.2.2.1 当“新创名称”、“奇特名称”、“音译名称”“牌号名称”、“地区俚语名称”或“商标名称”含有易使人误解食品属性的文字或术语（词语）时，应在所示名称的同一展示版面临近部位使用同一字号标示食品真实属性的专用名称。

回复部门：食品生产安全监督管理局

时间：2019-03-22

## 11、关于销售了产品及其包装、说明书上未标注生产许可证标志和编号的列入目录产品的法律适用

**提问：**《工业产品生产许可证管理条例实施办法》第四十条规定“企业应当在产品或者其包装、说明书上标注生产许可证标志和编号。根据产品特点难以标注的裸装产品，可以不予标注。……”，《工业产品生产许可证管理条例实施办法》第五十条规定“违反本办法第四十条规定，企业未按照规定要求进行标注的，责令改正，处3万元以下罚款；构成有关法律、行政法规规定的违

法行为的，按照有关法律、行政法规的规定实施行政处罚。”《工业产品生产许可证管理条例实施办法》第五十六条规定“个体工商户生产、销售或者在经营活动中使用列入目录产品的，依照本办法规定执行。”根据上述规定，在流通环节个体工商户或公司经营了在产品及其包装、说明书上未标注生产许可证标志和编号的列入目录管理的产品的，是否可以依据《工业产品生产许可证管理条例实施办法》第五十条规定予以查处？如不能，是否可以依据《国务院关于加强食品等产品安全监督管理的特别规定》第三条的规定，以销售不符合法定要求的产品对当事人的违法违规行为予以查处？特此咨询，请予以解答，谢谢！

**回复：**您好！您咨询的问题答复如下：1. 根据《工业产品生产许可证管理条例》（国务院令 第 440 号）第四十七条规定“取得生产许可证的企业未依照本条例规定在产品、包装或者说明书上标注生产许可证标志和编号的，责令限期改正；逾期仍未改正的，处违法生产、销售产品货值金额 30% 以下的罚款；有违法所得的，没收违法所得；情节严重的，吊销生产许可证”。2. 根据《工业产品生产许可证管理条例实施办法》（原质检总局令 第 156 号）第五十条规定“违反本办法第四十条规定，企业未按照规定要求进行标注的，责令改正，处 3 万元以下罚款；构成有关法律、行政法规规定的违法行为的，按照有关法律、行政法规的规定实施行政处罚”。

回复部门：产品质量安全监督管理局  
时间：2019-03-25

## 12、黑枣的产品标准

**提问：**黑枣应该使用什么产品标准进行生产

加工，希望有关能回答详细一些

**回复：**以黑枣为原料从事食品加工应当符合《中华人民共和国食品安全法》等法律法规及《食品生产许可审查通则》和相应产品的生产许可审查细则要求，产品必须符合《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》（GB 2760）、《食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量》（GB 2761）、《食品安全国家标准 食品中污染物限量》（GB 2762）、《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》（GB 2763）、《食品安全国家标准 预包装食品标签通则》（GB 7718）等食品安全国家标准的有关要求。

回复部门：食品生产安全监督管理局  
时间：2019-03-25

## 13、混合类代用茶

**提问：**代用茶生产许可审查细则中对混合类代用茶定义解释是：混合类是指以植物的叶、花、果（实）、根茎等为原料，按一定比例拼配加工而成的产品。我想问下两种不同的根类原料（蒲公英根、菊苣根）混合的产品，是属于根类代用茶，还是属于混合类代用茶

**回复：**依据《中华人民共和国食品安全法》《代用茶生产许可审查细则》（2006 版）等规定，从事食品生产应当依法取得许可。并依照法律法规、标准规范等要求从事食品生产，保证食品安全。有关蒲公英根、菊苣根的混合产品问题，原则上两种或两种以上的原料混配应为混合类。具体情况请向属地食品安全监管部门咨询。

回复部门：食品生产安全监督管理局  
时间：2019-03-25

## 14、电子商务营业执照和个体工商营业执照

**提问：**假如同时从事线下实体店和线上电商业务，那么，电子商务营业执照和个体工商营业执照两个都要办吗？

**回复：**同时从事线下实体店和线上电商业务的，以线下经营场所办理营业执照后即可开展经营活动。从事线上电商业务的，按照《电子商务法》的有关规定，需要在经营的网站页面上公示其营业执照信息。

回复部门：登记注册局  
时间：2019-03-28

## 15、坚果和水果干制品混装应该按照哪个申证单元如何办理食品生产许可证

**提问：**我们现在想把扁桃仁、核桃仁、黑加仑、葡萄干、蓝莓干、腰果仁、开心果等按比例混装销售，请问应该按照哪个申证单元办理生产许可证。谢谢！

**回复：**依据《中华人民共和国食品安全法》，食品生产应符合食品安全标准。有关坚果和水果干制品混装问题，按照“一企一证”的要求发证。凡是跨类别生产的企业，新申请许可证时，一并审查颁发一张证书，换发许可证时，将多种类别产品的许可合并到一张证书上，具体情况请向属地食品安全监管部门咨询。

回复部门：食品生产安全监督管理局  
时间：2019-03-28

## 16、总局三定中的“生产加工企业”是否包括“食用农产品初加工企业”？

**提问：**总局三定方案中与农业农村部的职责

分工中有一句话：“食用农产品进入批发、零售市场或者生产加工企业后，由国家市场监督管理总局监督管理。”

请问，这句话中的“生产加工企业”是否包括“食用农产品初加工企业”？

**回复：**您好！经商食品生产司，总局三定方案中的“生产加工企业”是指“食品生产加工企业”，不包括“食用农产品初加工企业”。感谢您对食品安全工作的关心和支持！

回复部门：食品经营安全监督管理局  
时间：2019-03-29

## 17、企业地址变更后旧版包装使用期限

**提问：**我公司是生产销售乳饮料的企业，现在在公司注册地址进行了变更，从位于上海市嘉定区的“A地址”变更到上海市嘉定区的“B地址”。我公司现库存大量的标注A地址的产品外包装未使用完毕，请问这些标注A地址的产品外包装允许在多长时间正常使用？是否有具体的规定？谢谢！

**回复：**依据《中华人民共和国食品安全法》《食品标识管理规定》等规定，企业从事食品生产应当依法取得许可，并依照法律法规、标准规范等要求从事食品生产，保证食品安全。目前尚无企业地址变更后继续使用旧版包装过渡期的法律依据。

回复部门：食品生产安全监督管理局  
时间：2019-03-29

来源：国家市场监督管理总局

## 粘质沙雷氏菌产蛋白酶的发酵条件优化

◎耿芳<sup>1</sup>, 杨绍青<sup>1</sup>, 闫巧娟<sup>2</sup>, 江正强<sup>1</sup>

(1. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083; 2. 中国农业大学工学院, 北京 100083)

**【摘要】**本文从土壤中筛选得到一株高产蛋白酶的菌株 CAUH83, 经鉴定为粘质沙雷氏菌 (*Serratia marcescens*)。对该菌进行单因素优化, 获得该菌株产酶的最适发酵条件为: 大豆粉 (25g/L)、蔗糖 (30g/L)、初始 pH 6.0、培养温度 30℃、培养时间 48h。在此发酵条件下, 该菌株产蛋白酶活力达到 1932.3U/mL。经过优化, 该菌的蛋白酶活力提高 15.3 倍, 具有很大的工业应用前景。

**【关键词】**蛋白酶; 液体发酵; 优化; 粘质沙雷氏菌

蛋白酶作为一种催化肽键水解的酶, 广泛应用于食品、医药、化工等领域, 是一类重要的工业用酶 (Niyonzima & More, 2015)。蛋白酶来源广泛, 主要分布在动物、植物和微生物中。其中, 微生物来源的蛋白酶与动、植物蛋白酶相比具有产量大、培养简便等优点, 更适合大规模工业化生产 (方海红, 等, 2002)。因此, 微生物蛋白酶的研 究一直备受关注。大部分商用中性和碱性蛋白酶都来源于细菌, 已报道的产生胞外蛋白酶的细菌种类很多 (Kaman, et al., 2014), 目前广泛用于生产蛋白酶的菌种主要有枯草芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌和短小芽孢杆菌。

粘质沙雷氏菌 (*S. marcescens*), 又称灵杆菌 (prodigiosin), 是一种革兰氏阴性兼性厌氧杆菌, 主要存在于沿海盐碱土壤中, 能够产生红色非扩散性色素 (黄文芳, 2003)。粘质沙雷氏菌可生产多种蛋白酶。有报道指出, 粘质沙雷氏菌所产的碱

性蛋白酶不仅可以有效避免芽孢菌酶制剂的弊端, 还具有一定的抗肿瘤活性, 具有成为一种新型抗癌药物的潜力 (黄利群和彭珍荣, 1993)。赵海霞等 (2012a) 从土壤中筛选出一株产胶原蛋白酶的粘质沙雷氏菌, 天然酶活 21.19 U/ml, 具有较强消化牛皮的能力。Wan (2010) 从二甲基亚砷中分离出一株耐有机试剂蛋白酶生产菌株 *Serratia marcescens* MH6, 该菌在一定浓度的亲水有机溶剂中仍可保持稳定活性。这些研究表明粘质沙雷氏菌蛋白酶在工业应用上具有广阔应用前景。此外, 粘质沙雷氏菌产生的灵菌红素和灵杆菌脂多糖具有重要的药用价值 (郝名慧, 等, 2007), 其作为菌种制剂又具有抑癌、抗菌等作用, 在农作物的灾害防治上效果显著 (Hearn, et al., 1972; Williams, 1973)。同时粘质沙雷氏菌也是一种高产脂肪酶、几丁质酶的菌种, 其能够有效降解海产品副产物 (Zhang, et al., 2014), 具有很大的开发潜力 (Gao, et al.,

2004)。目前国外对粘质沙雷氏菌来源蛋白酶的研究主要集中在产酶性质与纯化上, Myoung (2013) 纯化得到大小约为 50kD 的碱性蛋白酶, 比酶活力为 289U/mg; Salarizadeh (2014) 在温泉附近分离到一株产金属蛋白酶的粘质沙雷氏菌, 其在 55℃、pH10.0 条件下酶活力最高; Salamone (1997) 从土壤中得到的粘质沙雷氏菌来源蛋白酶经纯化后比酶活力高达 5650U/mg。国内报道的天然粘质沙雷氏菌发酵产蛋白酶的水平普遍偏低(柯野, 等, 2015), 而且关于粘质沙雷氏菌产蛋白酶发酵条件优化的研究较少。据报道, 液体发酵培养基中的一些成分如碳源、氮源 (Secades, et al., 2001) 等对菌株产蛋白酶有很大的影响。

本实验室从土壤中筛选得到一株高产蛋白酶的粘质沙雷氏菌 (*Serratia marcescens*) CAUH83, 进一步优化该菌株液体发酵产蛋白酶的条件(碳源、氮源、pH、温度、表面活性剂及发酵时间), 为该菌株及所产蛋白酶的工业应用提供一定的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

酪蛋白 (Casein), Sigma 公司; 酵母提取物、蛋白胨、琼脂, 英国 Oxoid 公司; 细菌基因组 DNA 提取试剂盒, 北京百泰克生物技术有限公司; 其它试剂如无特殊说明均为分析纯。

### 1.2 仪器与设备

HZQ-F160 全温震荡培养箱, 江苏太仓实验设备厂; LRH- 恒温恒湿培养箱, 广东省医疗器械厂; DK-S24 电热恒温水浴锅, 上海精宏实验设备有限公司; TU-1800PC 紫外可见分光光度计, 北京普析通用仪器设备有限公司; PB21 型 pH 计, 德国赛多利斯; 微量移液枪, 德国 Eppendorf 公司;

### 1.3 蛋白酶活力的测定

采用 GB/T 23527-2009 法。将 1mL 酶液与 1mL 酪蛋白溶液在 40℃ 条件下保温 10min 后, 加入 2mL 三氯乙酸终止反应, 12000rpm 离心 3 min, 取 1mL 上清液先后加入 5mL  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  和 1mL Folin 试剂, 在 40℃ 保温 20min, 660nm 处测定吸光值。以先加入三氯乙酸终止反应的一组为对照组。1 个酶活力单位 (U) 定义为每分钟水解酪蛋白产生 1  $\mu\text{g}$  酪氨酸所需酶量。

## 2 试验方法

### 2.1 产蛋白酶菌株筛选

菌种筛选培养基 (g/L): 脱脂奶粉 20, 琼脂 20, 自然 pH。

液体发酵培养基 (g/L): 蛋白胨 10, 酵母提取物 5, 葡萄糖 20, 氯化钠 5, 磷酸氢二钾 7, 磷酸二氢钾 3, 硫酸锰 0.4, 自然 pH。

取 0.1g 土样溶于 1mL 无菌水中, 稀释 10 倍后取 200  $\mu\text{L}$  混合液涂布于菌种筛选培养基上, 37℃ 培养箱中培养 2d。挑取呈现透明圈的菌株, 分离纯化, 于 37℃ 培养 2d。将分离出的单菌落接入液体发酵培养基中, 于 37℃, 200rpm 摇床培养 2d。发酵结束后取约 1mL 发酵液, 10000rpm 离心 10min, 取上清液测定酶活力。

### 2.2 菌株的鉴定

菌株形态与生理生化鉴定: 将分离纯化好的菌株在 37℃ 下培养 1-2d, 观察菌落形态。挑取单菌落涂片, 进行革兰氏染色后在光学显微镜下观察细胞形态、对菌株进行生理生化的鉴定。

菌株基因组 DNA 序列测定、序列比对和种系发育分析: DNA 的提取采用细菌基因组 DNA 提取试剂盒。16S rDNA 的基因扩增采用通用引物 16S 27F、16S

1492R。16S 27F: 5'-AGAGTTTGTATCCTGGCTCAG-3', 16S 1492R: 5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3'。PCR 扩增体系为 50  $\mu$ L, 包括 1  $\mu$ L 基因组 DNA, 5  $\mu$ L PCR 缓冲液, 4  $\mu$ L dNTP (1 mM), 2  $\mu$ L 引物 (10 pmol/ $\mu$ L), 0.5  $\mu$ L Taq 聚合酶 (2U/ $\mu$ L) 和 37.5  $\mu$ L 超纯无菌水。PCR 条件: 94  $^{\circ}$ C 预变性 5min; 94  $^{\circ}$ C 变性 30s, 55  $^{\circ}$ C 退火 30s, 72  $^{\circ}$ C 延伸 2min, 34 个循环; 最后 72  $^{\circ}$ C 延伸 10min, 4  $^{\circ}$ C 保温。PCR 扩增产物经过琼脂糖凝胶电泳验证后, 交由上海生工生物工程有限公司进行测序。将测序后的菌株 16S rDNA 序列与 GenBank 数据库中已知序列进行 Blast 比对, 通过 ClustalX 对对比结果进行校正, 使用 MEGA 6 软件中的 Neighbor-Joining 法构建系统发育树 (Felsenstein, 1985)。

### 2.3 粘质沙雷氏菌 CAUH83 发酵产酶条件优化

将单菌落接种至装有液体培养基的 250mL 三角瓶中 (装液量为 50mL), 200rpm、37 $^{\circ}$ C 下震荡培养 2d, 发酵结束后将发酵液在 4 $^{\circ}$ C 条件下, 于 10000rpm 离心 10min, 得到上清液即为粗酶液。粘质沙雷氏菌 CAUH83 液体发酵产蛋白酶条件的优化采用单因素和正交试验优化, 包括碳源、氮源、初始 pH 值、温度及表面活性剂。在初始发酵培养基的基础上, 选取不同的碳源 (酒糟、麸皮、葡萄糖、蔗糖、乳糖、脱脂棉粉和可溶性淀粉) 考察对粘质沙雷氏菌 CAUH83 产酶的影响, 此时碳源的添加量为 2%。确定最适碳源后, 再调节碳源的添加量 (1-7%), 考查其对产酶的影响。选取不同的氮源 (酵母提取物、蛋白胨、大豆蛋白胨、豆粕、大豆粉、干酪素、脱脂奶粉、尿素和硫酸铵), 氮源的添加量为 2%。确定最佳氮源后, 再调节氮源的添加量 (1-7%), 确定氮源的最适浓度。对碳源、氮源浓度设计两因素三水平正交试验, 以确定最佳碳氮比。

在 pH 4.0-10.0 范围内调节培养基的初始 pH, 确定发酵的最适初始 pH 值。选择不同的温度 (20-40 $^{\circ}$ C) 下培养粘质沙雷氏菌, 考察温度对 CAUH83 产酶的影响。最后在优化后的最适条件下培养菌株, 确定最适发酵时间。

### 2.4 聚丙烯酰胺凝胶电泳及酶谱分析

SDS-PAGE 电泳: 按 Laemmli (1970) 方法进行。将样品与缓冲液混合均匀后沸水加热 5 min, 待冷却后缓慢上样。考马斯亮蓝 R-250 染色, 甲醇、乙酸洗脱背景色。低分子量标准蛋白: 磷酸酶 b 97.2kDa, 牛血清蛋白 66.4kDa, 卵清蛋白 44.3kDa, 碳酸苷酶 29.0kDa, 胰蛋白酶抑制剂 20.1kDa 及  $\alpha$ -乳白蛋白 14.3kDa。

蛋白酶酶谱: 参照 Jiang (1999) 的方法。电泳分离胶中加入 0.1% 的明胶作为底物, 将分离胶在添加 2.5% Triton X-100 的 50mM Tris-HCl 缓冲液中浸洗 30min, 再将分离胶置于 50mM Tris-HCl 缓冲液中, 于 37 $^{\circ}$ C 反应 2-3h。

## 3 结果与分析

### 3.1 菌株的筛选、分离和鉴定

从不同土壤中筛选获得多株产蛋白酶的菌株, 根据菌落直径、水解圈比值以及发酵液的酶活力的比较, 筛选出一株最佳的产酶菌株 CAUH83。该菌株在初筛培养基上于 37 $^{\circ}$ C 培养 36h 时, 酶活力达到 126U/mL。

根据 CAUH83 的菌落和菌体形态、革兰氏染色以及生理生化反应, 按《常见细菌系统鉴定手册》进行初步分类 (郑朝成和周立祥, 2012), 该菌菌落隆起, 表面光滑, 边缘不规则, 不透明, 且粘性易挑起, 形成红色菌落, 菌落形态与赵海霞 (2012b) 报道的产胶原蛋白酶的沙雷氏菌描述一致。

进一步采用分子生物学的方法鉴定该菌株。提取菌株 CAUH83 的基因序列, 经 PCR 扩增、测序后得到全长为 1500bp 的基因序列, 在 NCBI 数据库用 Blast 工具与 GenBank 中的已有菌株序列进行比对, 结果表明, 该菌株序列与粘质沙雷氏菌的同源性达 99%。故 CAUH83 鉴定为粘质沙雷氏菌。利用软件 MEGA 6.0 构建系统发育树, 如图 1 所示, 结果亦表明, CAUH83 与粘质沙雷氏菌 (*Serratia marcescens*) 之间亲缘关系最为接近, 命名为粘质沙雷氏菌 CAUH83。

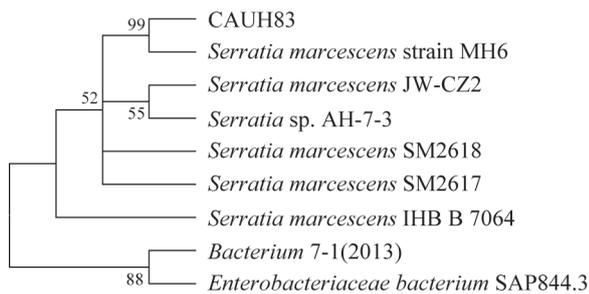


图 1 菌株 CAUH83 基于 16s rDNA 基因序列系统发育树

## 3.2 菌株 CAUH83 发酵产蛋白酶条件优化

### 3.2.1 碳源对菌株 CAUH83 产蛋白酶的影响

试验优化了不同种类的碳源对粘质沙雷氏菌 CAUH83 发酵产酶的影响, 结果如表 1 所示。当以蔗糖作为碳源时, 粘质沙雷氏菌 CAUH83 发酵产蛋白酶活性最高(162.9 U/mL), 其次为葡萄糖(159.6 U/mL)和可溶性淀粉(126.3 U/mL)。

故以蔗糖为碳源, 研究碳源浓度对菌株产酶的影响。结果表明蔗糖添加量对产酶的影响较为显著, 碳源浓度由 1% 增加到 3% 时, 酶活逐渐升高, 当浓度为 3% 时蛋白酶的酶活力最高为 238.8U/mL, 继续增加蔗糖浓度时, 酶活力呈缓慢下降趋势(图 2)。因此选择 3% 作为蔗糖的最适添加量。

表 1 不同碳源对粘质沙雷氏菌 CAUH83 产蛋白酶的影响

不同碳源	蛋白酶活性 (U/mL)
麸皮	73.0 ± 1.1
酒糟	114.1 ± 2.8
脱脂棉粉	110.3 ± 8.1
葡萄糖	159.6 ± 2.3
蔗糖	162.9 ± 2.9
乳糖	103.1 ± 11.8
可溶性淀粉	126.3 ± 8.4

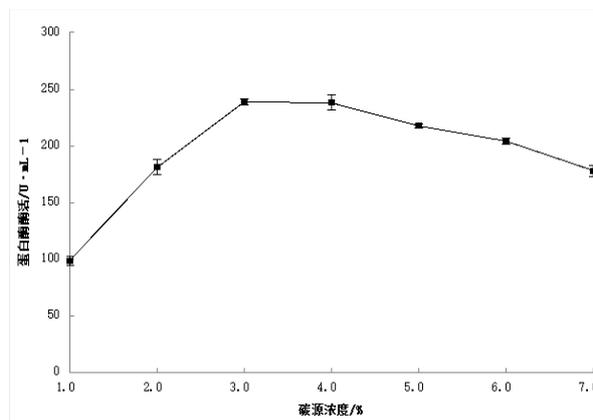


图 2 蔗糖浓度对粘质沙雷氏菌 CAUH83 产蛋白酶的影响

### 3.2.2 氮源对菌株 CAUH83 产蛋白酶的影响

本文考查了不同氮源对粘质沙雷氏菌 CAUH83 发酵产蛋白酶的影响, 结果见表 2。尿素、硫酸铵等无机氮源不利于蛋白酶的分泌, 以大豆粉作为氮源时, 蛋白酶的酶活力最高(378.4U/mL), 其次为脱脂奶粉与豆粕。

确定以大豆粉为最适氮源后, 进一步研究大豆粉的添加量对菌株产蛋白酶的影响。当其添加量为 3% 时酶活力最高(387.4U/mL), 大豆粉的含量继续增加时, 酶活力开始逐渐下降(图 3)。因此 3% 大豆粉为最适添加量。

表 2 不同氮源对粘质沙雷氏菌 CAUH83 产蛋白酶的影响

不同氮源	蛋白酶活性 (U/mL)
酵母浸粉 + 蛋白胨	126.8 ± 7.4
酵母浸粉	36.2 ± 1.4
蛋白胨	140.2 ± 0.1
大豆蛋白胨	80.7 ± 0.2
大豆粉	378.4 ± 6.7
豆粕	330.6 ± 2.9
脱脂奶粉	362.9 ± 7.6
干酪素	107.4 ± 2.5
尿素	0.8 ± 0.8
硫酸铵	11.7 ± 0.1

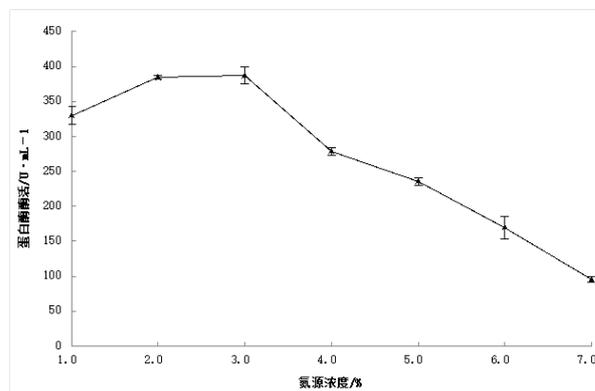


图 3 大豆粉浓度对粘质沙雷氏菌 CAUH83 产蛋白酶的影响

### 3.2.3 碳氮比对菌株 CAUH83 产蛋白酶的影响

本试验选取碳源（蔗糖）和氮源（大豆粉）两因素，每个因素取三个水平，设计正交试验以确定最佳碳氮比。结果见表 3，B 大豆粉浓度对产酶影

表 3 最佳碳氮比正交试验设计及结果分析

试验号 Experiment number	A 蔗糖浓度 Concentration of vinsasse (g/L)	B 大豆粉浓度 Concentration of yeast extract (g/L)	C 空列 Empty	D 空列 Empty	蛋白酶活力 Protease activity (U/mL)
1	1 (25)	1 (25)	1	1	324.7 ± 4.1
2	1	2 (30)	2	2	269.2 ± 3.6
3	1	3 (35)	3	3	221.9 ± 2.3
4	2 (30)	1	2	3	437.1 ± 6.4
5	2	2	3	1	391.6 ± 6.7
6	2	3	1	2	308.2 ± 3.2
7	3 (35)	1	3	2	429.3 ± 4.3
8	3	2	1	3	386.8 ± 1.6
9	3	3	2	1	235.5 ± 2.9
均值 1 Mean value 1	272	397	340	317	
均值 2 Mean value 2	379	349	314	336	
均值 3 Mean value 3	351	255	348	349	
极差 Range	107	142	34	31	
主次顺序 Order			B>A		
优水平 Optimum level	A2	B1			
优组合 Optimum group			B1A2		

响大于 A 蔗糖浓度, 当氮源 (大豆粉) 浓度从 2.5% 升高到 3% 时, 产酶量逐渐降低; 随着碳源 (蔗糖) 浓度增大, 蛋白酶活力先升后降。由极差分析得, 产酶最优组合为 B1A2, 经验证, 此条件下的蛋白酶活性为 437.1U/mL, 高于其余试验组, 因此使用 B1A2 作为最佳碳氮比, 即大豆粉浓度为 2.5% 和蔗糖 3% 时, 产蛋白酶量最高。

### 3.2.4 培养基初始 pH 值对菌株 CAUH83 产蛋白酶的影响

液体发酵培养基不同初始 pH 值对粘质沙雷氏菌 CAUH83 产酶的影响见图 4。结果表明中性环境更适宜该菌株产蛋白酶, 随着初始 pH 值升高, 发酵液蛋白酶活力增大; 当初始 pH 值大于 6 时, 酶活力不再增加。故培养基最适初始 pH 值为 6。

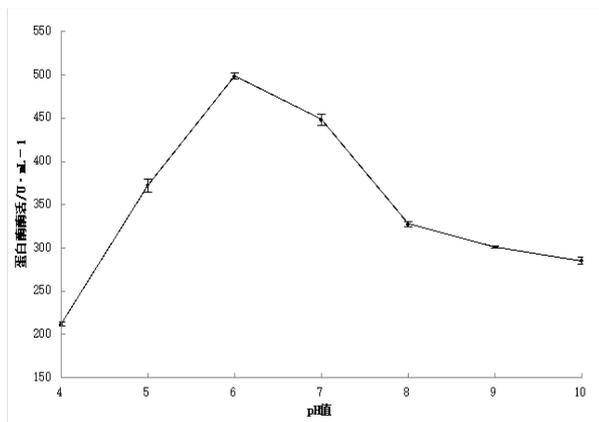


图 4 培养基初始 pH 值对粘质沙雷氏菌 CAUH83 产蛋白酶的影响

### 3.2.5 培养温度对菌株 CAUH83 产蛋白酶的影响

调节培养温度考察菌株 CAUH83 产蛋白酶的情况, 结果见图 5, 温度对菌株 CAUH83 发酵产蛋白酶的影响较大。当菌株在 30℃ 培养时, 蛋白酶活性最高, 达到 1862.2 U/mL。而当培养温度升高至 35℃ 时, 酶活力迅速下降。因此, 选择 30℃ 作为发

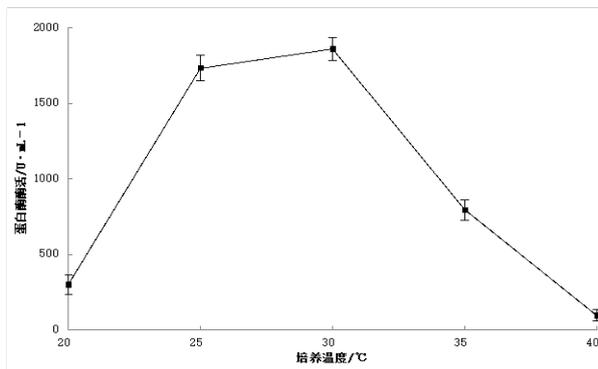


图 5 培养温度对粘质沙雷氏菌 CAUH83 产蛋白酶的影响

酵培养基的初始培养温度。

### 3.2.6 培养时间对菌株 CAUH83 产蛋白酶影响

确定以上最适条件后, 进一步考察发酵时间对粘质沙雷氏菌 CAUH83 发酵产蛋白酶的影响 (图 6)。菌株 CAUH83 在优化后的最适发酵条件下, 12h 已开始产酶, 发酵 48h 时酶活力可达 1932.3U/mL。之后随着培养时间的延长, 酶活力开始下降。故发酵 48h 为最佳培养时间。

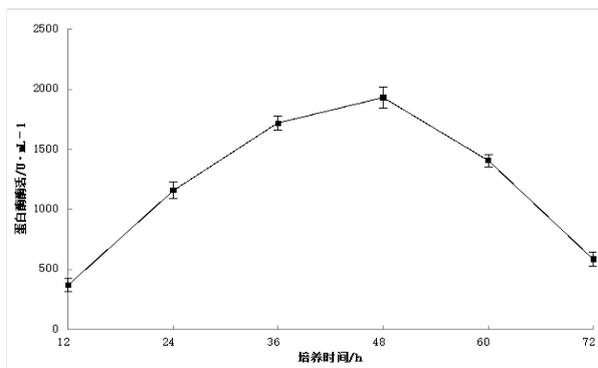


图 6 培养时间对粘质沙雷氏菌 CAUH83 产蛋白酶的影响

## 3.3 SDS-PAGE 及酶谱分析

粘质沙雷氏菌 CAUH83 在最适条件下培养 48h, 其粗酶液的 SDS-PAGE 分析及蛋白酶酶谱见图 7。结果表明菌株 CAUH83 分泌的蛋白酶分子量约

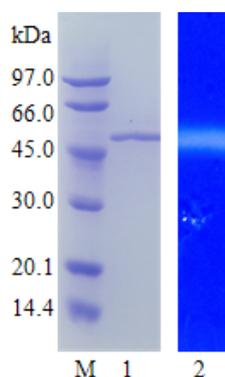


图7 粘质沙雷氏菌 CAUH83 发酵液 SDS-PAGE 及酶谱图  
(M: 低分子量标准蛋白; 1: 粗酶液; 2: 蛋白酶酶谱)

为 50kDa (图 7), 且条带较单一, 说明该酶为发酵液中的主要组分。蛋白酶酶谱结果表明, 该酶具有蛋白酶活性。

## 4 讨论

本文从土壤样品中筛选得到一株高产蛋白酶的细菌 - 粘质沙雷氏菌 (*Serratia marcescens*)。采用单因素优化得到了该菌株液体发酵产酶的最适条件, 在优化后的最适条件下蛋白酶的酶活力达到 1932.3U/mL, 较优化之前提高了 15.3 倍, 为目前已报道野生型粘质沙雷氏菌来源蛋白酶的较高水平。

目前国内外关于粘质沙雷氏菌产蛋白酶发酵条件优化的报道比较少, 且天然粘质沙雷氏菌发酵产蛋白酶的水平普遍偏低。氮源对粘质沙雷氏菌 CAUH83 产酶的影响大于碳源, 这与 Kumar (2011) 报道的铜绿假单胞菌产蛋白酶发酵条件优化一致, 且有机氮源更有利于菌株产酶。产酶最适初始 pH 为 6.0, 粘质沙雷氏菌在中性条件下更适宜生长, 这与黄小龙 (2010) 研究的粘质沙雷氏菌产几丁质酶最适发酵 pH 一致。郝林华 (2006) 在对粘质沙雷氏菌的生长温度进行探究时发现, 高温对该菌的

生长非常不利, 在 26-30℃ 时该菌生长效果最好, 高于 30℃ 时该菌的耐受性下降, 产菌量也偏低。粘质沙雷氏菌 CAUH83 最适培养温度为 30℃, 且培养温度对该菌的分泌蛋白酶的影响较为显著。受温度影响较大的还有假单胞菌 *Pseudomonas sp.* W7, 康传红 (2015) 在优化该菌产低温蛋白酶的发酶条件时发现, 在 20℃ 时该酶蛋白酶活力达到最大值, 继续升高培养温度, 酶活力逐渐下降, 到 30℃ 时, 酶活力仅为最大酶活力的 15%。Wan (2010) 报道了一株耐有机试剂的粘质沙雷氏菌, 但是本研究发现发酵过程中添加一定量的曲拉通 X-100、吐温 -80、十二烷基硫酸钠等均对菌株 CAUH83 有不同程度的抑制作用。作为野生菌株, CAUH83 的发酵粗酶液中蛋白质组分相对简单, 主要以蛋白酶为主, 这一特征有利于该酶的精制纯化。

## 【参考文献】

- [1] Niyonzima F N& More S. Detergent-compatible proteases: microbial production, properties, and stain removal analysis[J]. Preparative Biochemistry and Biotechnology, 2015, 45 (3) : 233-258.
- [2] 方海红和胡好远. 微生物碱性蛋白酶的研究进展 [J]. 微生物学通报, 2002, (02) : 57-59.
- [3] Kaman W E, Hays J P& Endtz H P, et al. Bacterial proteases: targets for diagnostics and therapy[J]. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 2014, 33(7): 1081-1087.
- [4] 黄文芳. 粘质沙雷氏菌 (*Serratia marcescens*) 的研究—*Serratia marcescens*9-2 菌株分离、分类鉴定和形态特征 [J]. 华南师范大学学报 (自然科学版), 2003, (03) : 108-111.
- [5] 黄利群和彭珍荣. 粘质沙雷氏菌合成碱性蛋白酶的阻遏作用 [J]. 武汉大学学报 (自然科学版), 1993, (01) : 88-92.
- [6] 赵海霞, 赵培培和陈惠, 等. 一株产胶原蛋白酶沙雷

- 氏菌的分离及鉴定[J]. 中国饲料, 2012a, (01) : 9-11.
- [7] Wan M, Wu B& Ren W, et al. Screening, characterization, and cloning of a solvent-tolerant protease from *Serratia marcescens* MH6[J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2010, 20 (5) : 881-888.
- [8] 郝名慧, 楼志华和张梁, 等. 一株新粘质沙雷氏菌发酵产红色素及其结构的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2007, (03) : 439-442.
- [9] Hearn W R, Williams R H& Williams R P, et al. Separation of prodigiosenes and identification as prodigiosin syntrophic pigment from mutant pairs of *Serratia marcescens*[J]. *Applied Microbiology*, 1972, 24 (4) : 591.
- [10] WILLIAMS R P. Biosynthesis of prodigiosin, a secondary metabolite of *Serratia marcescens*[J]. *Applied Microbiology*, 1973, 25 (3) : 396-402.
- [11] Zhang H, Fang J& Deng Y, et al. Optimized production of *Serratia marcescens* B742 mutants for preparing chitin from shrimp shells powders[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2014, 69: 319-328.
- [12] Gao L, Xu J H& Li X J, et al. Optimization of *Serratia marcescens* lipase production for enantioselective hydrolysis of 3-phenylglycidic acid ester[J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2004, 31 (11) : 525-530.
- [13] Nam M S, Whang K S& Choi S H, et al. Purification, characterization, and properties of an alkaline protease produced by *Serratia marcescens* S3-R1 inhabiting Korean ginseng rhizosphere[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2013, 93 (15) : 3876-3882.
- [14] Salarizadeh N, Hasannia S& Akbari Noghabi K, et al. Purification and characterization of 50 kda extracellular metalloprotease from *Serratia* sp. ZF03[J]. *Iranian Journal of Biotechnology*, 2014, 12 (3) : 18-27.
- [15] Salamone P R& Wodzinski R J. Production, purification and characterization of a 50-kDa extracellular metalloprotease from *Serratia marcescens*[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1999, 48 (3) : 317-324.
- [16] 柯野, 伍嘉慧和曾松荣, 等. 一株产蛋白酶菌株的筛选鉴定及酶学性质分析[J]. 广东农业科学, 2015, (02) : 137-141.
- [17] Secades P, Alvarez B& Guijarro J A. Purification and characterization of a psychrophilic, calcium-induced, growth-phase-dependent metalloprotease from the fish pathogen *Flavobacterium psychrophilum*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67 (6) : 2436-2444.
- [18] Felsenstein J. Confidence-Limits on phylogenies - an approach using the bootstrap[J]. *Evolution*, 1985, 39 (4) : 783-791.
- [19] Laemmli U K. Cleavage of structural proteins during assembly of head of bacteriophage-T4[J]. *Nature*, 1970, 227 (5259) : 680.
- [20] Jiang W B, Lers A& Lomaniec E, et al. Senescence-related serine protease in parsley[J]. *Phytochemistry*, 1999, 50 (3) : 377-382.
- [21] 郑朝成和周立祥. 污泥中一株产耐高温蛋白酶菌株的分离、鉴定及酶学特性[J]. 环境科学学报, 2012, (03) : 577-583.
- [22] 赵海霞, 赵培培和陈惠, 等. 一株产胶原蛋白酶沙雷氏菌的分离及鉴定[J]. 中国饲料, 2012b, (01) : 9-11.
- [23] Kumar R S, Prabhu D& Shankar T, et al. Optimization of alkalophilic protease production by *Pseudomonas aeruginosa* isolated from the gut of *penaeus monodon*[J]. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 2011, 3 (5) : 371-375.
- [24] 黄小龙, 彭可和周双清, 等. 粘质沙雷氏菌产几丁质酶发酵条件的研究[J]. 生物技术, 2010, (03): 64-66.
- [25] 郝林华, 陈靠山和牛德庆, 等. 粘质沙雷氏菌 (*Serratia Marcescens*) 发酵培养基优化的研究[J]. 海洋科学进展, 2006, (01) : 66-73.
- [26] 康传红, 田亚新和李秀凉, 等. *Pseudomonas* Sp.W7 产低温蛋白酶培养基及培养条件的优化[J]. 食品科学, 2015, (19) : 163-169.

## 重组木聚糖酶酶解玉米芯制备低聚木糖

◎杨然<sup>1,2</sup>, 朱培华<sup>1,3</sup>, 姚君<sup>1,3</sup>, 李秀婷<sup>1,2\*</sup>

(1. 食品质量与安全北京实验室, 北京工商大学, 北京 10048; 2. 食品添加剂与配料北京高校工程研究中心, 北京工商大学, 北京 100048; 3. 北京市食品风味化学重点实验室, 北京工商大学, 北京 100048)

**【摘要】** 试验初步研究了蒸煮法及碱提法对玉米芯木聚糖的提取效果, 并利用重组木聚糖酶 XynA 对玉米芯低聚木糖的酶解制备条件进行了优化。经测定木聚糖得率及酶解产物分析, 确定碱提法所得玉米芯木聚糖适宜作为酶解底物制备低聚木糖。通过单因素及响应面试验, 确定了酶解制备玉米芯低聚木糖的最佳工艺条件: 底物浓度 0.9%, 酶解温度 49℃, 酶解时间 4.5h, 在此条件下得到实际还原糖量可达 33.9%。另外, 对酶解成分进行分析, 结果表明酶解碱提玉米芯木聚糖可产生以木二糖及木三糖为主要成分的低聚木糖。

**【关键词】** 玉米芯; 提取; 木聚糖; 酶解

低聚木糖又称木寡糖, 由 2-7 个木糖以  $\beta$ -1, 4-糖苷键连接而成, 以木二糖、木三糖为主。研究表明, 低聚木糖具有显著的双歧杆菌增殖能力, 不被消化性, 无龋齿性及促进人体对钙的吸收等特性。因此, 低聚木糖作为一种新型功能性低聚糖成为食品工业开发研究的热点之一。<sup>[1]</sup> 我国是农业生产大国, 每年会产生大量的玉米芯、秸秆、甘蔗渣等农业废弃物。这些农业废弃物大部分被直接焚烧, 或作为动物饲料, 或还田使用, 如此既对环境造成了污染, 也违背了经济可持续发展原则。在我国, 玉米作为重要的粮食经济作物, 每年会产生大量的农业废弃物玉米芯, 而玉米芯中木聚糖的含量高达 35%-40%。<sup>[2]</sup> 采用适宜的提取方式获得丰富的玉米芯木聚糖资源, 并应用酶解技术制备功能性低聚木糖, 势必可以解决环境问题, 同时变废为宝, 创造

经济附加值。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 原料、菌种与试剂

玉米芯原料由山东龙力公司馈赠; 重组木聚糖酶由实验室制备重组毕赤酵母 GS115 发酵所得; 木糖、木二糖、木三糖、木四糖、木五糖标品购自 Sigma 公司; 其他化学试剂均为国产分析纯。

#### 1.1.2 培养基

YPD 培养基: 葡萄糖 2%, 胰蛋白胨 2%, 酵母提取物 1%, 琼脂 1.5%; BMGY 培养基: 胰蛋白胨 2%, 酵母提取物 1%, 甘油 1%, YNB1.34%, 生物素 0.05%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1.2%,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.3%; BMMY 培养基: 胰蛋

白朊 2%，酵母提取物 1%，甲醇 0.5%，YNB 1.34%，生物素 0.05%， $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1.2%， $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.3%。

## 1.2 方法

### 1.2.1 木聚糖酶活力的测定

木聚糖酶活力的测定参照 DNS 法。<sup>[3]</sup> 取 0.1 mL 适当稀释的酶溶液，加入到 0.9 mL 用 0.05 mol/L、pH 4.8 的醋酸缓冲液配制的 1% (w/v) 榉木木聚糖底物溶液中，55℃ 反应 5min，用 DNS 法测定释放的还原糖量，利用木糖做标准曲线。木聚糖酶活力单位定义为：在上条件下，每分钟水解木聚糖生成 1  $\mu\text{mol}$  还原糖所需要的酶量。

### 1.2.2 酶解还原糖含量的测定及组成分析

还原糖含量的测定采用 DNS 比色法。<sup>[4]</sup> 分别取 0.1 mL 木聚糖酶水解液加入 DNS 试剂 0.9mL，沸水浴中煮沸 5min 后显色，迅速冷却，用蒸馏水定容至刻度摇匀，540nm 波长处测定吸光度。以木糖为标准曲线计算水解液中还原糖含量。

酶解产物组成分析采用薄层层析法。展层剂：V（正丁醇）：V（乙酸）：V（高纯水）=2：1：1，展层 1 次。显色剂：V（甲醇）：V（浓硫酸）=95：5，130℃ 烘烤显色，同时用木糖 - 木五糖作标准样品。

### 1.2.3 玉米芯木聚糖含量的测定

本试验改进 Hashimoto 等<sup>[5]</sup> 用地衣酚—盐酸法测定面粉中总戊聚糖含量的方法，用于玉米芯中木聚糖含量的测定。

称取 1.875g 氯化铁和 0.5g 地衣酚，将两者混合预溶于 10mL 重蒸水中，后用 30% 盐酸定容至 250mL 备用。取 0.5g 待测样品于研钵中，加入 72% 的硫酸 5mL，研磨样品 1h 至样品完全成均匀乳状，将乳状物转入 250mL 容量瓶中定容，充分混匀，滤纸过滤，上清液用地衣酚 - 盐酸法测总糖含量 (mg/L)。

木聚糖含量 (Y) = 测定总糖量  $\times$  0.25  $\times$  0.88/500

$\times$  100%

## 1.3 玉米芯木聚糖的制备

### 1.3.1 碱法提取玉米芯木聚糖

称取玉米芯 100g，按料液比 1：10 添加去离子水 1000mL，煮沸 1h，过滤，弃去上清液，以减少杂质对木聚糖得率的影响。再按料液比为 1：10 添加 10% 的 NaOH 溶液，煮沸 2h，过滤，弃去滤渣，滤液用盐酸中和至 pH=7，8000 rpm/min 离心处理 15min，所得沉淀经多次洗涤即为玉米芯粗木聚糖，60℃ 烘干，待测得率。

### 1.3.2 蒸煮解法提取玉米芯木聚糖

称取玉米芯 100g，按料液比 1：10 添加浓度为 0.1% 的硫酸溶液 1000mL，60℃ 水浴 12h，过滤，弃去上清液，加水 1000mL，121℃ 密封蒸煮 2h，过滤，弃去滤渣，调节 pH=7，醇沉，8000rpm/min 离心处理 15min，取固体，透析，60℃ 烘干，待测得率。

## 1.4 酶解法制备玉米芯低聚木糖

### 1.4.1 单因素试验

利用重组毕赤酵母 GS115 发酵制备木聚糖酶 XynA，并对碱法提取的玉米芯木聚糖进行酶解以制备低聚木糖。单因素试验分别考察不同加酶量（5U/mL、10U/mL、15U/mL、20U/mL、25U/mL；其他酶解条件为底物浓度 2%，酶解温度 50℃，酶解时间 4h）；不同底物浓度（0.5%、1%、1.5%、2%、2.5%）；不同酶解时间（0.5h、1h、2h、4h、6h、8h）；不同酶解温度（40℃、45℃、50℃、55℃、60℃）等条件对还原糖得率的影响。

### 1.4.2 响应面优化实验

根据单因素试验确定影响酶解的关键因素，利用 Design-Expert 软件设计组合试验，并采用 Box-Behnken 中心组合设计原理设计三因素三水平共 17 个试验点的响应面分析试验，以确定最佳酶解条件。

## 1.5 玉米芯木聚糖及低聚木糖制备得率的计算方法

玉米芯木聚糖得率计算公式:  $X_m(\%) = m \times Y / (M \times Y) \times 100\%$ ;

玉米芯低聚木糖(还原糖)得率计算公式:  
 $X_Os(\%) = (C \times V) \times 100\% / m$ ;

式中,  $X_m$ : 玉米芯木聚糖得率, %;  $X_Os$ : 玉米芯低聚木糖(还原糖)得率, %;  $m$ : 玉米芯粗木聚糖质量, g;  $M$ : 玉米芯的质量, g;  $Y$ : 玉米芯中木聚糖含量;  $Y'$ : 玉米芯粗木聚糖含量;  $C$ : 酶解液还原糖浓度, g/mL;  $V$ : 酶解液体积, mL。

## 2 结果与讨论

### 2.1 玉米芯木聚糖的提取

低聚木糖的生产分为木聚糖的提取与水解, 要获得低聚木二糖、木三糖较高的低聚木糖, 木聚糖的提取十分关键。<sup>[6]</sup> 根据半纤维素提取所使用的溶剂的不同, 提取方法可归纳为三大类, 即酸水解、碱水解和热水解法。<sup>[7]</sup> 其基本原理都是破坏半纤维素与纤维素、木质素及其他成分间的结合键, 从而使半纤维素游离出来。<sup>[8]</sup> 本文分别考察了蒸煮法及碱提法对玉米芯粗木聚糖提取效果的影响。结果如图 1 所示, 采用碱提法提取得到的玉米芯粗木聚糖得率为 36.7%, 此试验结果高于邵佩兰等人<sup>[9]</sup> 采用

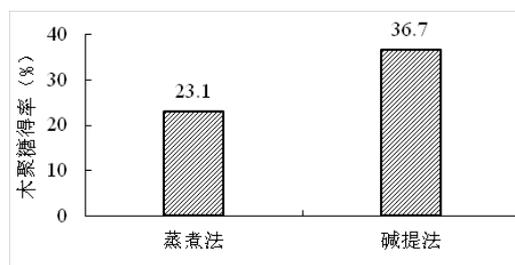
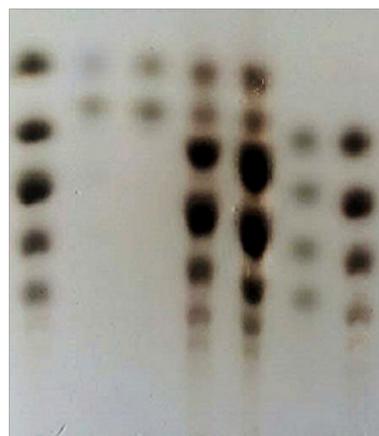


图 1 不同提取方法对玉米芯粗木聚糖得率的影响

同样方法提取的玉米芯粗木聚糖得率。本文采用的另一种木聚糖提取方法 - 蒸煮法, 相对于碱提法对环境表现温和, 但所得玉米芯粗木聚糖得率较低。

为进一步确定两种提取方法所得木聚糖原料对酶解制备低聚木糖的影响, 将两种方法所得粗木聚糖经木聚糖酶酶解, 产物经薄层层析展开, 结果如图 2 所示。蒸煮法和碱提法所得木聚糖原料经木聚糖酶酶解后均可得到以木二糖、木三糖、木四糖及木五糖为主要产物的低聚木糖。然而, 蒸煮法所得木聚糖在酶解过程中产生了部分木糖和糖醛类物质,<sup>[10]</sup> 这些产物的生成不利于低聚木糖的生产制备及分离纯化。因此, 后续试验以碱提法获得的玉米芯粗木聚糖为底物制备低聚木糖。



注: M 为木糖 - 木五糖; 1、2, 分别为玉米芯原料酶解 15min 及 24h 的酶解产物; 3、4 分别为蒸煮法提取木聚糖 15min 及 24h 的酶解产物; 5、6 分别为碱法提取木聚糖 15min 及 24h 的酶解产物

图 2 不同方法提取玉米芯木聚糖酶解产物 TLC 分析图

### 2.2 酶解碱法提取玉米芯粗木聚糖制备低聚木糖

#### 2.2.1 加酶量对还原糖得率的影响

本试验选择重组毕赤酵母 GS115 发酵制备的重组木聚糖酶 XynA 为酶解实验用酶。该重组菌

株经 BMGY 培养基富集培养 48h 后, 无菌重悬至 BMMY 培养基中。每 24h 添加 0.5% 甲醇诱导培养, 至 216h 后得到酶活力约为 2235U/mL 的木聚糖酶 XynA。经测定, 该重组木聚糖酶的最适反应温度为 55℃, 最适反应 pH 为醋酸 4.8, 有较好的温度稳定性及耐酸性, 适宜低聚木糖的生产应用。考察加酶量对还原糖得率影响的试验中, 分别选择 5U/mL、10U/mL、15U/mL、20U/mL、25U/mL 的木聚糖酶添加到酶解试验体系中, 以确定酶解法制备玉米芯低聚木糖的最适加酶量。试验结果如图 3 所示, 当加酶量在 5-15U/mL 范围内, 玉米芯木聚糖的还原糖得率增幅缓慢, 继续提高加酶量至 20U/mL 时, 还原糖得率最高为 13.5%, 继续增加加酶量, 还原糖得率没有明显提高。

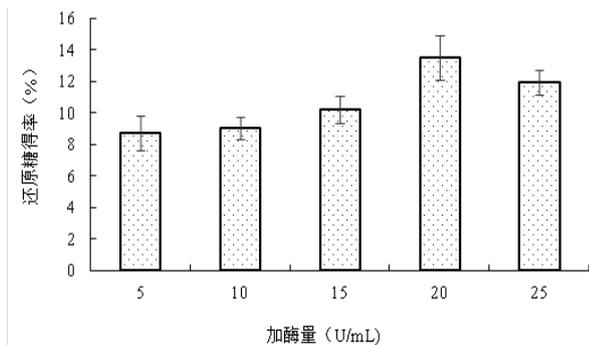


图 3 加酶量对还原糖得率的影响

### 2.2.2 底物浓度对还原糖得率的影响

底物浓度对还原糖得率的影响结果如图 4 所示, 当玉米芯粗木聚糖浓度为 1% 时, 酶解所得还原糖得率最高, 而继续增加底物浓度还原糖的得率明显降低。张金永等人同样以玉米芯为原料酶法制备低聚木糖, 最适底物浓度为 3%。<sup>[11]</sup> 实际生产中, 较高的底物浓度有利于生产成本的降低, 然而底物浓度的提高往往会导致产品得率的下降。在高底物浓度环境下, 体系黏度较大, 影响了酶、底物和产

物的扩散以及酶与底物的接触, 从而降低了木聚糖酶的酶解效率。<sup>[12]</sup>

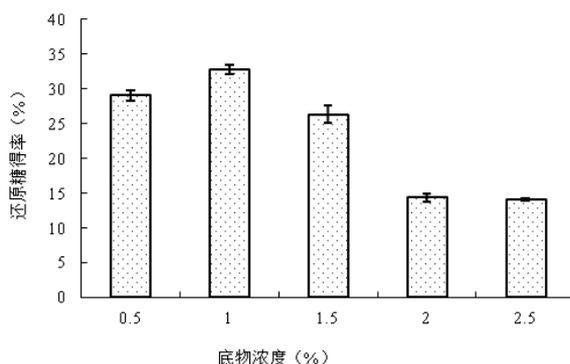


图 4 底物浓度对还原糖得率的影响

### 2.2.3 酶解温度对还原糖得率的影响

温度对酶促反应有很大的影响, 因此本文考察了不同酶解温度对还原糖得率的影响, 结果如图 5 所示。随着酶解温度的升高, 还原糖得率直线上升, 至 50℃ 时达到最大值约 33%; 继续升高酶解温度, 还原糖得率反而降低, 60℃ 时得率仅为峰值的 41.2%。本试验所用木聚糖酶为重组酶, 前期试验结果显示该酶的最适反应温度为 55℃, 在 50℃ 左右该酶能保持良好的热稳定性和水解效果。韩玉洁等人研究以小麦麸皮为底物制备低聚木糖, 其研

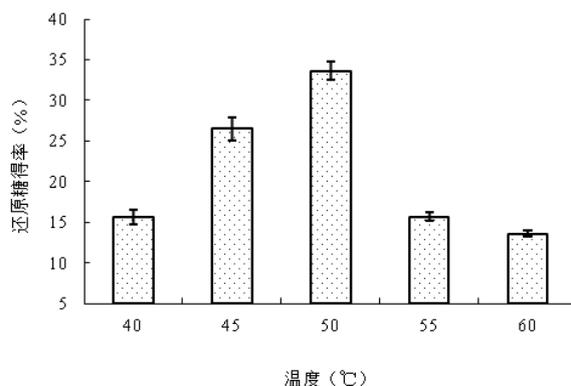


图 5 酶解温度对还原糖得率的影响

究结果表明该酶解反应的最适温度为 40℃。<sup>[13]</sup> 一般来说,反应温度对酶解效果的影响是多方面的,在一定范围内,升高温度可以加快酶-底物中间体分解转化为产物的速度,然而温度过高会降低酶的稳定性,使其失去活性,最终影响酶的酶解效果。<sup>[14]</sup>

#### 2.2.4 酶解时间对还原糖得率的影响

酶解时间对还原糖得率的影响如图 6 所示。随着酶解时间的延长还原糖得率逐渐上升。酶解 0.5h 到 4h 阶段还原糖得率上升速度较快(增长了 3.3 倍);4h 后反应体系中还原糖的浓度基本保持不变。随着反应时间的延长,木聚糖酶的活性逐渐降低,酶解效率下降;另一方面,底物的减少和酶解产物引发的反馈抑制效应进一步影响了木聚糖酶的酶解效力。<sup>[15]</sup>

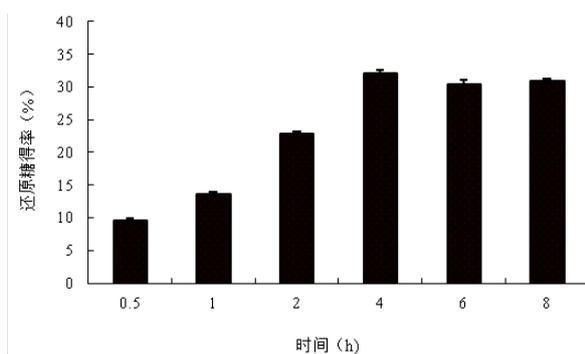


图 6 酶解时间对还原糖得率的影响

#### 2.2.5 酶解条件的响应面优化

根据 Design Expert 8.0.1 的中心组合试验设计原理,依据酶解条件单因素试验结果选择对酶解影响最为显著的三个因素,即木聚糖底物浓度(A)、酶解温度(B)和酶解时间(C),以酶解产生还原糖得率为响应值,设计响应面优化试验,经软件设计共有 17 组组合试验,按各个组合试验因素要求完成了玉米芯木聚糖的酶解试验,各组合试验结果如表 1 所示。

表 1 Box-Behnken 实验设计与结果

试验组	底物浓度 (%)	温度 (°C)	时间 (h)	还原糖得率 (%)
1	1.00	50.00	4.00	33.8
2	1.50	45.00	4.00	29.1
3	1.00	50.00	4.00	33.5
4	1.50	55.00	4.00	25.9
5	1.00	45.00	2.00	25.7
6	1.50	50.00	6.00	29.1
7	0.50	50.00	2.00	27.2
8	0.50	45.00	4.00	30.1
9	1.00	55.00	2.00	24.7
10	1.50	50.00	2.00	28.2
11	1.00	55.00	6.00	26.1
12	0.50	55.00	4.00	26.5
13	0.50	50.00	6.00	31.4
14	1.00	45.00	6.00	30.2
15	1.00	50.00	4.00	34.1
16	1.00	50.00	4.00	33.6
17	1.00	50.00	4.00	32.9

响应面优化法建立过程中,可以通过分析模型可信度参数来判断响应面模型的试验设计效果和试验可操作性。表 2 是本试验模型可信度统计分析结果,经分析可知预测相关系数(Pred- R-Squared) 0.9126 与修正相关系数(Adj. R-square) 0.9719 数值相近,说明此模型可信度较高。当噪音值大于 4 时,

表 2 模型可信度分析表

	Mean (均值)	29.56
R-Squared (复相关系数平方)		0.9877
Adj. R-square (修正相关系数平方)		0.9719
Pred- R-Squared (预测相关系数)		0.9126
Adeq Precision (噪音比)		21.399
CV (变异系数)		1.82

说明响应面模型拟合度理想，而本试验中噪音比数值为 21.399，进一步说明此模型可操作性强，可用此模型对试验进行预测和分析。

利用 Design-Expert 软件对数据（表 3）进行二次多项回归拟合，获得还原糖得率对底物浓度、酶解温度及酶解时间的二次多项回归方程：还原糖得率 =  $33.58 - 0.19A - 1.50B + 1.19C + 0.100AB - 0.98AC - 0.80BC - 1.60A^2 - 4.08B^2 - 2.85C^2$

表 3 回归方程的方差分析

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P>F 值	显著性
Model	162.45	9	18.05	62.52	<0.0001	**
A	0.28	1	0.28	0.97	0.3565	
B	18.00	1	18.00	62.36	<0.0001	**
C	11.28	1	11.28	39.08	0.0004	*
AB	0.040	1	0.040	0.14	0.7202	
AC	3.80	1	3.8	13.17	0.0084	*
BC	2.56	1	2.56	8.87	0.0206	*
A <sup>2</sup>	10.81	1	10.81	37.46	0.0005	**
B <sup>2</sup>	70.00	1	70.00	242.53	<0.0001	**
C <sup>2</sup>	34.26	1	34.26	118.69	<0.0001	**
失拟项	1.23	3	0.41	2.09	0.2449	
净误差	0.79	4	0.20			

注：F 值的大小表示影响因子的大小；\* 显著（P<0.05），\*\* 极其显著（P<0.001）

在影响还原糖得率的因素中，一次项 B、C 及二次项 AC、BC、A<sup>2</sup>、B<sup>2</sup>、C<sup>2</sup> 即木聚糖底物浓度、酶解温度和酶解时间对木聚糖酶解效率的影响都非常显著。由此可知，各个具体试验因素对响应值的影响不是简单的一次线性关系，而符合曲线规律，

如回归方程所示。方差试验结果分析中，失拟项 F 值为 2.09，而 P>F 值为 0.2449，说明本模型可操作性较强，不易引起系统误差。

响应面是响应值在各试验因素交互作用下得到的结果所构成的三维空间曲面。<sup>[16]</sup> 图 7 为底物浓度与酶解温度对还原糖得率的影响。当底物浓度为 0.5%-1.1%，酶解温度为 45℃-51℃ 范围时，两者存在着显著的增效作用，玉米芯还原糖的得率随着底物浓度和酶解温度的增加而增加；而随着底物浓度和酶解时间的进一步增加，还原糖的得率反而降低。分析响应面曲面可知，底物浓度和酶解温度对玉米芯还原糖得率的交互影响显著，而温度因素的曲面弯曲度较大，说明该因素对还原糖得率的影响更为显著。<sup>[17]</sup>

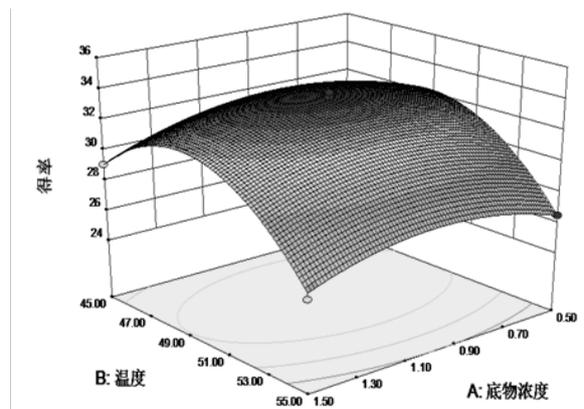


图 7 底物浓度与酶解温度对还原糖得率的影响

图 8 为酶解温度和酶解时间对玉米芯还原糖得率的影响。当酶解温度在 50℃ 左右，酶解时间在 4h 左右时，响应面曲面出现峰值，说明酶解温度和酶解时间两因素对还原糖得率影响显著，且二者呈现明显的交互作用。

利用 Design-Expert 软件优化最佳酶解条件为木聚糖底物浓度 0.9%、酶解温度 49℃、酶解时间

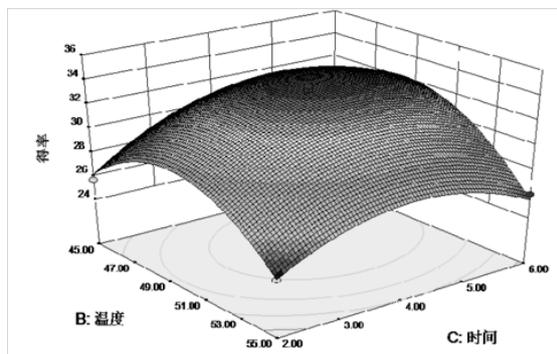


图 8 酶解温度与酶解时间对还原糖得率的影响

4.5 h, 在此条件下得到实际还原糖可达 33.9%, 较单因素试验结果提高了约 1.1%。欧阳嘉等人研究了重组木聚糖酶 C0602 生产低聚木糖的制备工艺, 还原糖产率为 29.76%, 低于本试验研究结果。<sup>[18]</sup>

### 2.2.6 酶解产物组成分析

功能性低聚木糖是由 2-7 个 D- 木糖以  $\beta$ -1, 4-木糖苷键结合而成的, 由于低聚合度的糖具有独特的生理功能和良好的工艺性能, 成为了低聚糖的主要功效成分, 因此聚合度在 2-4 之间的低聚木糖在食品行业中的应用较为广泛。<sup>[19]</sup> 本文按照优化实验条件酶解碱法提取玉米芯木聚糖, 采用 TLC 分析其酶解产物大致组成。分析结果如图 9 所示, 毕赤

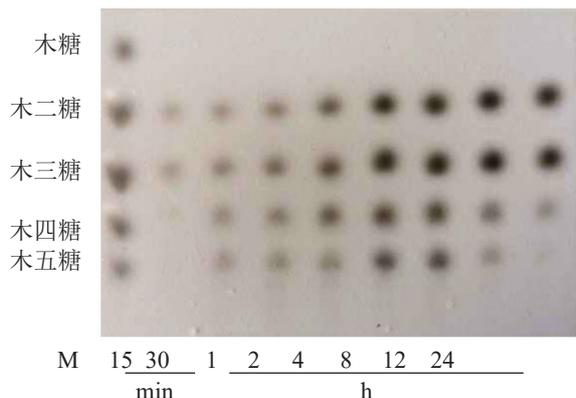


图 9 碱法提取玉米芯木聚糖酶解产物 TLC 分析图

酵母所产重组木聚糖酶 XynA 酶解玉米芯木聚糖所得酶解产物主要为木二糖、木三糖, 无木糖产生。酶解初始阶段, 随着酶解时间的增加, 木二糖、木三糖含量增加, 且有少量木四糖、木五糖产生; 8h 后木五糖及木四糖又逐渐酶解转化为木三糖及木二糖。由此可见, 利用重组木聚糖酶 XynA 酶解玉米芯木聚糖生产低聚木糖具有良好的研究价值和应用前景。近年来, 利用木聚糖酶酶解木聚糖制备低聚木糖的研究越来越普遍。汪辉等人利用木聚糖酶酶解豆皮制备低聚木糖, 通过离子色谱检测酶解液中的糖分组成, 发现酶解液中含有大量单糖<sup>[20]</sup>; 朱浩拥等人采用响应面法优化玉米芯木聚糖酶解制备低聚木糖的酶解条件, 并利用 TLC 法分析酶解液中产物组成主要为木二糖、木三糖及木四糖且以木二糖、木三糖含量为主,<sup>[21]</sup> 与本试验结果分析基本一致。

## 3 结论

本试验以农业废弃物玉米芯为原料, 综合考察了玉米芯提取条件及酶解方法制备低聚木糖的工艺条件, 主要结论如下:

(1) 本试验考察了蒸煮法和碱提法对玉米芯木聚糖得率的影响, 试验结果显示, 以碱提法得到的木聚糖得率较高为 36.7%, 且分析二者酶解产物组成可知, 碱提法所得木聚糖经酶解制备获得的低聚糖以木二糖 - 木五糖为主, 无木糖及糖醛类物质产生, 适宜作为酶解底物制备低聚木糖。

(2) 通过单因素、响面试验确定以碱提玉米芯木聚糖为原料制备低聚木糖的最佳条件: 底物浓度 0.9%, 酶解温度 49°C, 酶解时间 4.5h, 在此条件下得到实际还原糖量可达 33.9%。另外, 对酶解液的成分进行 TLC 分析, 结果表明酶解碱提玉

米芯木聚糖可产生以木二糖及木三糖为主要成分的低聚木糖溶液。

## 【参考文献】

- [1] 薛业敏, 毛忠贵, 邵蔚蓝, 利用玉米芯木聚糖酶法制备低聚木糖的研究 [J]. 中国酿造, 2003, 6: 7-9.
- [2] 唐伟, 王立东, 张丽萍, 超声波前处理去麸皮中木聚糖提取率的影响 [J]. 食品科技, 2010, 35 (5) : 191-194.
- [3] BAILEY M J, BIELY P, POUTANEN K, Interlaboratory testing of methods for assay of xylanase activity[J]. Journal of Biotechnology, 1992, 23 (3) :257-270.
- [4] 李秀婷, 孙宝国, 宋焕禄, 玉米芯水不溶性木聚糖的碱法提取及酶解分析 [J]. 中国食品学报, 2010, 10 (5) : 171-176.
- [5] Hashimoto S, Shogren MD, Pomeranz Y, Cereal Pentosans:Their Es2 timation and Significance I. Pentosans in Wheat and Milled Wheat Products[J]. Cereal Chemistry, 1987, 64 (1) :30-34.
- [6] 杨瑞金, 许时婴, 王璋, 用于低聚木糖生产的玉米芯木聚糖的蒸煮法提取 [J]. 无锡轻工业大学学报, 1998, 17 (4) : 50-53.
- [7] Benko.Z, Andersson.A, Szengyel.Z, et al. Heat extraction of corn fiber hemicellulose[J]. Applied of Biochemical Biotechnolgy, 2007 (136-140) :253-265.
- [8] 王俊丽, 聂国兴, 臧明夏等, 玉米芯木聚糖的碱法提取及其酶解产物研究 [J]. 河南农业科学, 2012, 41 (3) : 157-160.
- [9] 邵佩兰, 徐明, 李海峰, . 碱法提取玉米芯木聚糖的研究 [J]. 宁夏农学院学报, 2000, 21 (4) : 47-49.
- [10] 罗晓风, 玉米芯酶法制取低聚木糖的研究 [D]. 华中农业大学, 武汉, 2005.
- [11] 张金永, 丁兴红, 夏黎明, 以玉米芯为原料酶法制备低聚木糖的研究 [J]. 食品与发酵工业, 2006, 32 (2) : 71-73.
- [12] 黄家骥, 酶法水解玉米芯木聚糖制备低聚木糖 [D]. 江南大学, 无锡, 2004.
- [13] 韩玉洁, 徐冬, 徐忠, 酶法制备低聚木糖的研究 [J]. 哈尔滨商业大学学报 (自然科学版), 2007, 23 (3) : 268-272.
- [14] 张帆, 李敏康, 宋宏新, 两种酶法制备麦麸低聚木糖的比较 [J]. 陕西科技大学学报, 2013, 31 (4) : 105-109.
- [15] CHAPLA D, PANDIT P, SHAH A. Production of xylooligosaccharides from corncob xylan by fungal xylanase and their utilization by probiotics[J]. Bioresource Technology, 2011, 115:215-221.
- [16] 姚笛, 马萍, 王颖等, 响应面法优化玉米芯中木聚糖的提取工艺 [J]. 食品科学, 2011: 32 (2) : 111-115.
- [17] 宋娜, 丁长河, 李里特, 响应面分析法优化微波处理玉米芯酶法制备低聚木糖工艺 [J]. 食品科技, 2006, 12: 169-173.
- [18] 欧阳嘉, 刘明, 李鑫等, 重组木聚糖酶生产低聚木糖的实验研究 [J]. 林产化学与工业, 2011, 31 (2) : 38-42.
- [19] LOO J V, CUMMINGS J, DELZENNE N, et al. Functional food properties of non-digestible oligosaccharidesa consensus report from the ENDO project (DGXII-AIRIICT94-1095)[J]. British journal of nutrition, 1999, 81:121-132.
- [20] 汪辉, 李爱军, 欧仕益等, 酶法制备豆皮低聚木糖的工艺研究 [J]. 食品科学, 2010, 31 (8) : 51-55.
- [21] 朱浩拥, 王俊丽, 吴春等, 酶法制备玉米芯低聚木糖工艺条件的研究 [J]. 粮食与饲料工业, 2011, 12: 54-57.

## 2019年2月有关产品进出口情况

## 一、进口

单位：千克，美元

序号	品名	2月份		1-2月份	
		数量	金额	数量	金额
1	玉米,种用除外	164,767,447	35,630,396	565,844,478	123,125,433
2	小麦淀粉	35,501	16,838	74,002	35,578
3	玉米淀粉	117,208	151,419	337,038	367,745
4	马铃薯淀粉	1,499,751	1,624,624	4,480,405	4,602,113
5	木薯淀粉	183,854,345	80,182,639	477,449,332	209,864,110
6	未列名淀粉	274,258	130,828	850,759	443,131
7	菊粉	527,082	1,260,698	961,962	2,325,748
8	粗甘油;甘油水及甘油碱液	94,307,332	25,978,897	187,093,024	53,472,685
9	砂糖	14,770,379	6,266,216	43,358,408	18,172,197
10	绵白糖			50	55
11	无水乳糖,重量计干燥状态的乳糖含量≥99%	7,059,373	7,264,906	14,081,033	14,133,223
12	其他乳糖及乳糖浆	549,260	1,074,872	3,715,989	5,406,656
13	械糖及械糖浆	10,901	110,438	17,588	173,320
14	葡萄糖及葡萄糖浆,果糖<20%	704,353	529,475	1,385,831	1,048,216
15	葡萄糖及糖浆,20%≤果糖<50%,转化糖除外	32,010	46,060	57,118	76,536
16	化学纯果糖	29,342	43,721	175,707	168,044
17	果糖及果糖浆,果糖>50%,转化糖除外	261,247	493,816	479,571	799,391
18	其他固体糖及未加香料或着色剂的糖浆	771,884	1,599,762	3,544,965	4,569,594
19	活性酵母	12,177	73,326	55,478	710,797
20	非活性酵母;已死的其他单细胞微生物	28,421	363,657	98,852	968,059
21	发酵粉	12,845	42,358	17,018	112,723
22	味精	46,467	205,571	290,495	971,086
23	未列名二元醇	13,562,031	24,198,702	27,576,003	51,478,078
24	季戊四醇	220,657	439,074	553,964	1,087,129
25	甘露糖醇	25,011	134,153	48,844	366,058
26	山梨醇	195,940	352,706	357,291	492,068
27	丙三醇(甘油)	24,628,143	15,367,712	50,144,388	31,822,755
28	木糖醇	757	11,209	1,516	15,189
29	其他多元醇	213,680	217,392	326,831	756,915
30	肌醇	1,297	47,872	1,548	57,403
31	草酸	11,252	86,771	30,516	217,870
32	其他无环多元羧酸及其酸酐等及其衍生物	285,247	1,153,120	782,333	3,308,495
33	乳酸及其盐和酯	466,361	995,761	1,591,038	3,018,562
34	酒石酸	6,002	33,778	8,892	73,796
35	酒石酸盐及酒石酸酯	25,974	94,777	59,993	224,187
36	柠檬酸	77,809	229,675	179,737	579,365
37	柠檬酸盐及柠檬酸酯	40,899	262,719	193,973	1,027,509

(续上表)

序号	品名	2月份		1-2月份	
		数量	金额	数量	金额
38	葡糖酸及其盐和酯	52,822	167,876	110,043	406,114
39	赖氨酸	1	2,524	12,422	127,308
40	赖氨酸酯及盐	121,080	268,954	271,121	613,688
41	谷氨酸	269	5,492	345	9,336
42	谷氨酸钠	64,071	87,176	212,076	275,488
43	其他谷氨酸盐	300	28,835	401	38,424
44	未列名氨基酸	825,841	5,903,948	1,794,716	13,686,035
45	其他氨基酸酯及盐	304,176	1,316,961	630,141	2,716,308
46	糠醇及四氢糠醇	115	4,828	77,351	161,324
47	未混合的维生素 C 及其衍生物	8,529	318,831	28,183	922,598
48	未混合的维生素 E 及其衍生物	448,050	4,459,575	1,105,650	10,182,994
49	木糖	-	-	--	-
50	其他化学纯糖,但蔗糖/乳糖/麦芽糖/葡萄糖及果糖除外;糖醚/糖缩醛/糖酯及其盐	298,056	813,650	1,101,333	2,889,954
51	糊精及其他改性淀粉	24,769,606	23,758,769	70,396,893	64,427,594
52	以淀粉/糊精或其他改性淀粉为基本成分的胶	15,076	26,791	20,264	56,520
53	粗制凝乳酶及其浓缩物			45	8,477
54	碱性蛋白酶	76,185	395,676	160,469	1,146,959
55	碱性脂肪酶	70	12,908	110	20,284
56	未列名的酶;未列名的酶制品	729,384	12,725,298	1,650,211	29,952,492
57	编号 2905.4400 以外的山梨醇	1,320	5,074	2,035	7,726

## 二、出口

单位: 千克, 美元

序号	品名	2月份		1-2月份	
		数量	金额	数量	金额
1	玉米, 种用除外	158	180	413,161	113,057
2	小麦淀粉	59,882	30,927	405,549	203,762
3	玉米淀粉	37,217,828	13,240,584	76,440,378	27,710,410
4	马铃薯淀粉	483,625	403,057	962,625	823,750
5	木薯淀粉	76,823	56,844	136,434	103,522
6	未列名淀粉	2,954,670	2,568,317	7,137,783	5,730,046
7	菊粉	33,000	184,442	56,500	278,636
8	粗甘油; 甘油水及甘油碱液				
9	砂糖	7,157,269	3,145,454	16,734,284	7,366,061
10	绵白糖			525,000	199,500
11	无水乳糖, 重量计干燥状态的乳糖含量 ≥99%			125,305	268,265
12	其他乳糖及乳糖浆	73,700	148,964		
13	碱糖及碱糖浆			69,637,233	31,684,791
14	葡萄糖及葡萄糖浆, 果糖 < 20%	59,185,236	26,923,047	60,317,303	27,667,547
15	葡萄糖及糖浆, 20% ≤ 果糖 < 50%, 转化糖除外	955,606	756,658	1,488,492	1,208,266
16	化学纯果糖	341,777	373,483	19,606,041	7,952,696

(续上表)

序号	品名	2 月份		1-2 月份	
		数量	金额	数量	金额
17	果糖及果糖浆,果糖> 50%,转化糖除外	16,037,312	6,353,079	55,699,796	32,053,891
18	其他固体糖及未加香料或着色剂的糖浆	29,965,285	20,306,165	37,853,065	37,231,935
19	活性酵母	6,074,731	13,263,557	8,768,680	18,877,420
20	非活性酵母;已死的其他单细胞微生物	1,810,310	4,000,509	2,440,004	5,048,005
21	发酵粉	199,756	342,789	2,641,137	2,800,697
22	味精	1,328,831	1,444,390	12,442,533	19,538,440
23	未列名二元醇	9,428,444	15,493,999	13,592,387	23,338,675
24	季戊四醇	3,402,420	6,263,000	4,113,357	8,416,492
25	甘露糖醇	675,112	2,117,987	9,245,136	9,153,128
26	山梨醇	5,740,113	4,544,376	5,904,239	4,761,994
27	丙三醇(甘油)	29,949	39,723	4,058,098	16,039,051
28	木糖醇	3,093,206	11,746,933	5,424,000	17,285,662
29	其他多元醇	1,571,997	3,674,481	2,106,527	7,005,484
30	肌醇	317,243	1,808,627	11,451,395	8,593,195
31	草酸	6,003,915	5,184,003	14,497,336	36,836,204
32	其他无环多元羧酸及其酸酐等及其衍生物	7,439,139	28,177,276	11,114,349	33,517,346
33	乳酸及其盐和酯	3,140,720	3,845,906	6,282,940	12,743,755
34	酒石酸	3,761,227	10,537,049	3,827,150	10,865,457
35	酒石酸盐及酒石酸酯	43,805	216,617	82,924,065	55,058,092
36	柠檬酸	75,350,706	49,019,144	92,933,889	63,926,292
37	柠檬酸盐及柠檬酸酯	13,578,384	11,233,675	28,205,923	20,707,379
38	葡糖酸及其盐和酯	12,309,984	7,482,379	12,386,506	7,620,191
39	赖氨酸	3,825	37,861	39,754,370	39,765,892
40	赖氨酸酯及盐	36,421,836	35,883,502	41,455,597	41,097,109
41	谷氨酸	2,951,071	3,077,006	44,303,446	44,777,474
42	谷氨酸钠	53,782,585	53,899,564	53,793,809	53,948,969
43	其他谷氨酸盐	8,700	35,279	14,980,557	57,040,728
44	未列名氨基酸	13,324,334	46,547,468	21,591,594	67,935,315
45	其他氨基酸酯及盐	8,546,550	18,885,211	14,395,030	29,787,879
46	糠醇及四氢糠醇	5,922,294	10,086,389	19,677,493	87,915,001
47	未混合的维生素 C 及其衍生物	9,865,849	47,492,334	16,126,736	81,554,476
48	未混合的维生素 E 及其衍生物	6,094,542	35,683,589	7,171,447	39,044,430
49	木糖	1,239,164	3,745,786	3,353,378	11,321,766
50	其他化学纯糖,但蔗糖/乳糖/麦芽糖/葡萄糖及果糖除外;糖醚/糖缩醛/糖酯及其盐	1,741,531	4,162,727	9,585,271	10,469,398
51	糊精及其他改性淀粉	6,705,119	5,877,985	7,097,222	6,264,733
52	以淀粉/糊精或其他改性淀粉为基本成分的胶	281,899	355,703	296,899	407,453
53	粗制凝乳酶及其浓缩物			22,123	886,109
54	碱性蛋白酶	22,358	627,456	29,728	657,891
55	碱性脂肪酶	45	1,991	7,663,567	30,491,003
56	未列名的酶;未列名的酶制品	5,982,243	21,370,450	11,494,845	24,186,517
57	编号 2905.4400 以外的山梨醇	4,049,780	2,144,321	4,462,783	2,257,198

(以上表格内容未经许可不得转载)

## 中国生物发酵产业协会邀请出访以色列和埃及的通知

中生发协 [2019]7 号

各有关单位：

随着“一带一路”倡议的不断深入，中国企业“走出去”的步伐正在加速。“一带一路”沿线国家已经逐渐成为中国企业对外投资的热土。根据国务院提出的《关于推进国际产能和装备制造合作的指导意见》，力争到 2020 年，与重点国家基本建立产能合作机制，推进一批重点产能合作项目进展，形成若干境外产能合作示范基地。进一步完善国际产能和装备制造合作的体制机制，政策支持更加有效，服务保障能力全面提升。最终形成一批有国际竞争力和市场开拓能力的骨干企业，这将对我国经济发展和产业转型升级促进有战略意义。

为响应国家号召，帮助生物发酵企业深入了解“一带一路”国家社会发展、科技创新、政企环境、经贸政策等方面的情况，中国生物发酵产业协会将于 2019 年 5 月 29 日 -6 月 9 日组织赴以色列和埃及开展生物发酵产业交流。

### 一、主要活动安排（暂定）

- 1、拜访维夫大学生命学院开展国际技术交流，该大学生命学院在食品科学、生物制造等与我们相关的领域一直走在世界前沿，希望通过本次交流双方建立长期合作与联系。
- 2、拜访 Shirat 孵化器，了解当地新兴企业和产业的成长。
- 3、拜访以色列亚洲商会，学习中国企业在以色列投资经验，了解在以色列面临的问题、困难和解决办法。
- 4、拜访安琪酵母埃及工厂，埃及安琪酵母是中国生物发酵行业走出去的典范，经历了埃及政变等历史重大事件，能够与当地伊斯兰民族友好相处，保障了企业员工安全、财产安全，企业获得了快速发展，积累了大量宝贵经验，为所有走出去企业和准备走出去提供了引领和示范。
- 5、拜访埃及商业联合会，了解埃及投资方面的政策、社会、环境、合作方向与需求。
- 6、其他有关活动。

### 二、出访时间

2019 年 5 月 29 日 -6 月 9 日，共 12 天（含来回路程）

### 三、相关事项

我们诚挚的邀请会员单位及相关单位参加，费用自理。如需参团，请于 2019 年 4 月 12 日前将《2019 年出访人员登记表》邮寄或电子扫描件发送至协会，具体要求、费用及相关出访手续等事项另行通知。

### 四、联系方式

联系人：胡修玉、冯志合  
电话：010-68396504、68396574  
手机：13910413888、18001028723  
邮箱：13910413888@163.com  
地址：北京西城区阜外大街乙 22 号 504 室  
附件：1.《出访人员登记表》；2.《对接需求调研表》

中国生物发酵产业协会  
2019 年 2 月 11 日

附件 1:

**出国人员登记表**

姓名		性别		照片 (可不附)
姓名拼音		出生年月日		
出生地		职务	(中文) (英文)	
单位名称	(中文全称)		(英文全称)	
地址及邮编				邮箱
办公室电话		手机		传真
护照号		有效期		身份证
出访记录	(何年何月曾出访何国)			
机票舱位选择	经济 / 公务 / 头等	住宿选择	单间 / 双间 / 套房	
单位意见:          年 月 日 (单位盖章)				
联系人		电话		传真
		手机		邮箱

附件 2:

**对接需求调研表**

企业基本信息	
成立日期	
法律形式	
员工人数	
年营业额	
企业简介	
细分行业	
核心竞争力	
产品或服务	
具体需求	
需求方向	A. 采购 B. 销售 C. 项目对接 D. 寻找合作伙伴 E. 其它 _____ 请根据贵方需求选填字母(可多选):
(请详细描述需要采购/销售的产品, 如有介绍文档, 请作为附件一起发送给联系邮箱。如果需要寻找合作伙伴, 请尽可能详细描述对合作伙伴的要求。我们可根据需求有针对性的安排相关活动)	

## 关于申请使用生物发酵产业“绿色制造”标识商标的通知

中生发协 [2019]18 号

为推动生物发酵产业创新、协调、绿色、开放、共享的发展理念，大力发展绿色生物发酵产业，推动绿色产品、绿色工厂建设，全面提升资源、能源利用效率和清洁生产水平，建立生物发酵产业绿色发展、绿色领跑的长效机制，加快完善能效、水效、排放和资源综合利用等标准，坚持走高效、清洁、低碳、循环的绿色发展道路。

经中国生物发酵产业协会二届三次理事会暨二届三次常务理事会议讨论通过，现向生物发酵行业正式推广使用“绿色制造”标识商标。目的是引领全行业环保水平不断提升，提高生物发酵产业在社会上的认知度和绿色竞争力，打造发酵行业的名牌、名片，促进生物发酵行业绿色、健康、稳定发展。

对“绿色制造”标识的申报实行“三严”政策，一是“严质量”，产品质量水平要高；二是“严环保”，环保综合治理要过关；三是“严数量”，宁缺毋滥，能不上不上。

“绿色制造”标识属于行业公益性标识。获得“绿色制造”标识的企业在产品和宣传中使用，可以起到更具体、更形象的向政府、向行业、向社会宣传行业、宣传产品，让政府了解我们的行业，让社会看到发酵行业的绿色与健康，让消费者认识、信任我们的产品。具体如下：

### 一、申报条件

1. 企业为协会会员，属于行业骨干企业；
2. 企业已通过清洁生产审核和环境评价；
3. 企业所生产的产品质量符合国家相关规定要求；
4. 企业近三年无环保、质量、安全事故，可自我声明；
5. 企业在清洁生产、节能减排、污染防治等方面处于行业领先地位，并是生物发酵行业“节能环保领军企业”或“节能环保推荐企业”（有效期内）。

### 二、提交材料

1. 绿色制造标识使用申请书；
2. 资质证明材料（如：营业执照、全国工业产品生产许可证、商标注册证）等证明文件复印件；
3. 环保治理管理、工作制度；
4. 产品采用标准及产品质量检测报告；
5. 含有绿色制造食品标识的包装标签或设计样稿（非预包装食品不必提供）；
6. 其他有关证明材料。

### 三、申报流程

1. 企业按要求如实填写《绿色制造标识使用申请书》，按照要求准备相关材料，并报到协会；
2. 对申请单位进行综合审核；
3. 组织专家对企业申请材料进行评审，根据需要并进行现场评估；
4. 按照相关规定对符合条件的企业在协会网站和杂志上进行公示；
5. 对公示无异议的企业，协会正式回函批复，颁发《绿色制造标识使用证书》，并以网络、刊物、报纸、发布会等形式向社会公告，对公示有异议的企业给予回复，指出问题。

### 四、申报时间

请符合申报条件的单位于 2019 年 4 月 30 日前，将相关申报材料（装订成册，一式二份）报送协会，同时请提供相应材料的电子版光盘一张随纸质材料一并报送。

联系人：冯志合、胡修玉

联系电话：010-68396574 68396504

传 真：010-68396561

邮 箱：13910413888@163.com

地 址：北京西城区阜外大街乙 22 号

附件：1、绿色制造标识使用申请书；2、绿色制造标识使用管理办法

中国生物发酵产业协会

2019 年 3 月 18 日

附件：1 绿色制造标识使用申请书



### 绿色制造标识使用申请书

初次申请

申请人（盖章）

申请日期      年    月    日

### 填写说明

- 一、本申请书一式二份，中国生物发酵产业协会和装备与环保分各留存一份。
- 二、本申请书无签名、盖章无效。
- 三、申请书的内容可打印或用蓝、黑钢笔或签字笔填写，语言规范准确、印章（签名）端正清晰。
- 四、申请书电子版可从 [www.cfia.org.cn](http://www.cfia.org.cn) 网站下载或向 1391041388@163.com 邮箱索取，用 A4 纸打印。
- 五、本申请书由中国生物发酵产业协会负责解释。

### 保证声明

我单位已仔细阅读《绿色制造标识商标使用管理办法》有关内容，充分了解环保相关法律法规和技术规范等有关规定，自愿向中国生物发酵产业协会申请使用绿色制造标识商标。现郑重声明如下：

1. 保证《绿色制造标识使用申请书》中填写的内容和提供的有关材料全部真实、准确，如有虚假成分，我单位愿承担法律责任。
2. 保证申请前三年内无质量安全、环保事故和不良诚信记录。
3. 保证严格按《绿色制造标识商标使用管理办法》、环保相关法律法规和技术规范等有关规定组织生产、加工和销售。
4. 保证开放所有生产环节，接受中国生物发酵产业协会组织专家实施的现场检查和年度审核。
5. 凡因产品质量问题、环保事故给生物发酵行业绿色发展造成的不良影响，接受中国生物发酵产业协会所作的决定，并承担经济和法律任。

法定代表人（签字）：

申请人（盖章）

年 月 日

表一 申请人基本情况

申请人（中文）					
申请人（英文）					
联系地址				邮编	
网址					
社会统一信用代码					
企业法定代表人		座机		手机	
联系人		座机		手机	
传真		Email			
节能环保推荐企业 <input type="checkbox"/> 节能环保领军企业 <input type="checkbox"/>					
年生产总值 (万元)		年利润 (万元)			
申请人简介					



附件：2 绿色制造标识使用管理办法

## 绿色制造标识商标使用管理办法

### 第一章 总则

第一条 为规范绿色制造标识商标的使用和管理，确保商标的公正性、有效性和权威性，根据《中华人民共和国商标法》及其实施条例、《集体商标、证明商标注册和管理办法》结合绿色制造标识商标的服务宗旨，制定本管理办法。

第二条 绿色制造标识已经在国家工商行政管理局注册登记，绿色制造标识具有合法性，绿色制造标识的所有权归中国生物发酵产业协会（以下简称协会）。

第三条 绿色制造标识的服务宗旨，在于树立生物发酵产业环保标杆企业，以点带面提升发酵行业在清洁生产、节能减排及环保治理、营养健康、社会责任等方面的整体形象和整体水平，提高生物发酵产业在公众中的认知程度，促进我国生物发酵产业健康、绿色、稳定发展。

第四条 绿色制造标识的申报、审核以生产基地为单元，针对企业同一生产基地所生产的一个或多个产品。

第五条 绿色制造标识的使用，由企业按本办法提出申请，中国生物发酵产业协会负责组织专家审核、授权、监督使用。未经协会授权，任何单位和个人无权使用绿色制造标识。

### 第二章 申请条件

第六条 申请绿色制造标识使用权的企业，必须同时符合下列条件：

- 1、企业为协会会员，属于行业骨干企业；
- 2、企业已通过清洁生产审核和环境评价；
- 3、企业所生产的产品质量符合国家相关规定要求；
- 4、企业近三年在环保、质检、卫生、工商、税务、劳保等方面无不良记录；
- 5、企业在清洁生产、节能减排、污染防治等方面处于行业领先地位；
- 6、企业是生物发酵行业“节能环保领军企业”或“节能环保推荐企业”（有效期内）。

### 第三章 申请程序

第七条 按照自愿的原则，申请单位需向协会提交企业产品使用绿色制造标识的申请报告。

第八条 协会对申请单位进行综合审核后，正式回函批复，企业进入申报阶段。

第九条 企业按要求如实填写《绿色制造标识使用申请书》及准备相关附件后，根据要求统一报到协会。

第十条 协会组织专家对企业申请材料进行评审，并进行现场评估，根据专家意见并结合实际情况确定是否授权其使用绿色制造标识。

第十一条 按照相关规定对符合条件企业在协会网站和杂志上进行公示；对公示无异议的企业颁发《绿色制造标识使用证书》，并以网络、刊物、报纸、发布会等形式向社会公告。

### 第四章 标识使用

第十二条 《绿色制造标识使用证书》有效期为3年，在有效期内企业可在获证产品及其包装、标签、说明书上、产品的广告宣传、展览展销等市场营销活动中使用绿色制造标识。

第十三条 标识有效期满，如企业继续使用，需提前3个月向协会重新申请。

第十四条 在有效期内，如发现企业产品质量不符合国家规定要求，环境质量下降，发生污染事故等起不到示范、标杆效用或对社会及消费者造成不良影响的，中国生物发酵产业协会有权责令其限期整改，限期整改后仍达不到规定要求的，将收回其《绿色制造标识使用证书》，并要求停止使用本商标标识，同时向社会公告。

第十五条 伪造、编造、盗用、冒用、买卖本标识，以及违反本办法规定使用本标识，协会将依照国家相关法律法规追究其责任。

第十六条 绿色制造标识为生物发酵产业公益性服务标识，企业经中国生物发酵产业协会审核、授权后方可使用。

### 第五章 附则

第十七条 获得绿色制造标识企业有责任维护绿色制造标识的形象和利益，自觉接受协会和社会的监督和指导，不断推进自身清洁生产、环保、安全和质量建设，起到行业示范和标杆作用。

第十八条 本管理办法由中国生物发酵产业协会负责解释。

第十九条 本管理办法颁布之日起施行。



# 2019上海国际生物发酵产品与技术装备展

9.24-26 上海新国际博览中心 N4N5馆

集中展示生物发酵新技术·新工艺·新设备等发酵行业全产业链  
集论坛·活动·大赛·技术咨·交流等一体化服务平台



诚邀食品、制药、生物技术、生物制品、科研机构与高校、保健营养品、肉类加工、啤酒饮料、果酒、乳制品、生物饲料、食品添加剂等企业参观指导!

六大专题展

40000买家

30000 m<sup>2</sup> 展示面积

40场行业论坛



扫码参观登记福利

- 1、300间宾馆免费住;
- 2、200件微波炉、电饭煲、拉杆箱豪礼免费领。

[www.biozl.net](http://www.biozl.net)

王伟 13681794658



主办单位：中国生物发酵产业协会

承办单位：上海信世展览服务有限公司

