

紫色红曲霉液态发酵产糖化酶的 工艺研究

陈景智,林娟*,叶秀云,徐美爱,李雯娟,邓香圳
(福州大学,福建省海洋酶工程重点实验室,福建福州 350116)

摘要:通过培养基和发酵条件的优化提高紫色红曲霉 G6 液态发酵产糖化酶活力。研究接种菌龄、碳源、氮源、金属离子、培养基初始 pH、接种量、装液量、摇床转速以及温度等对产酶的影响。结果表明,最佳培养基配方(w/v)为大米粉 8%,蛋白胨 1%,KCl 0.1%,ZnSO₄ 0.01%,FeSO₄ 0.005%,MnSO₄ 0.015%,培养基初始 pH 为 4.0;最适发酵条件:装液量 50 mL/250 mL,转速 150 r/min,温度 32 °C,接种量 12% (v/v);在此条件下发酵 10 d,糖化酶活力为 1652.36 U/mL 比优化前(109.54 U/mL)提高了 14.08 倍。

关键词:紫色红曲霉,糖化酶,培养基,发酵条件

Study on the liquid fermentation conditions of glucoamylase by *Monascus purpureus*

CHEN Jing-zhi, LIN Juan*, YE Xiu-yun, XU Mei-ai, LI Wen-juan, DENG Xiang-zhen

(Fujian Key Laboratory of Marine Enzyme Engineering, Fuzhou University, Fuzhou 350116, China)

Abstract: The production conditions of glucoamylase through liquid-state fermentation by *Monascus purpureus* G6 were optimized. Based on results of single factor tests, the optimal conditions for glucoamylase production were 8% rice powder, 1% peptone, 0.1% KCl, 0.01% ZnSO₄, 0.005% FeSO₄, 0.015% MnSO₄, 50 mL/250 mL loading medium volume (v/v), 12% inoculation amount (v/v) and rotation speed of shaking incubator was 150 r/min, initial pH value of culture medium was 4.0, fermentation temperature was 32 °C. The fermentation was carried out under these conditions for 10 days to obtain the maximum glucoamylase activity of 1652.36 U/mL, which was 14.08 times higher than that without optimization of fermentation condition.

Key words: *Monascus purpureus*; glucoamylase; culture medium; fermentation conditions

中图分类号:TS201.3

文献标识码:A

文章编号:1002-0306(2017)14-0146-06

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2017.14.029

红曲是一种传统的中药材,具有消食活血,健脾燥胃,治脚气、哮喘、咳嗽等作用,早在宋代初期便有用红曲煮肉的记录^[1]。红曲菌代谢产物众多,包括具有降胆固醇功效的 Monacolin K^[2-3],降血压活性的氨基丁酸,可促进人体对钙磷吸收的麦角甾醇和作为食用色素的红曲色素等多种活性物质^[4],还包括淀粉酶、葡萄糖淀粉酶(糖化酶)、蛋白酶、果胶酶、酯化酶等多种酶类物质^[5-6]。

糖化酶是世界上生产量最大应用范围最广的酶类之一,已被广泛应用于葡萄糖、果葡糖浆、酿酒、发酵食品等工业。红曲菌发酵生产的糖化酶和淀粉酶可以作为糖化发酵剂,酿制成红曲酒,红曲酒在我国台湾、福建、浙江等省享誉盛名^[7],福建古田平湖镇,生产红曲有 1000 多年的悠久历史,在国内外久负盛名。但作为酿造黄酒的古田红曲,糖化酶活力低,很

难适应现在的市场要求。

根据报道产糖化酶的曲霉以黑曲霉居多,红曲霉相对较少,高产糖化酶的红曲霉更为少见^[8-11]。本文以古田平湖样品中筛选、诱变得到的菌株出发,研究红曲菌株产糖化酶的液态发酵工艺条件,通过优化发酵工艺提高糖化酶活力,优化后的发酵工艺参数可直接为工业化生产提供技术指导,从而降低生产成本,增加红曲产品的市场竞争力。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

紫色红曲霉 G6 (*Monascus purpureus* G6) 由福建省海洋酶工程重点实验室选育获得;PDA 培养基 配制方法参照文献^[12];种子培养基 不添加琼脂的 PDA 培养基;液态发酵基础培养基(MM 培养基) 葡萄糖 5% (w/v),蛋白胨 1% (w/v),蒸馏水

收稿日期:2016-12-20

作者简介:陈景智(1991-),男,在读硕士研究生,研究方向:应用微生物学,E-mail:1548426184@qq.com。

* 通讯作者:林娟(1970-),女,博士,教授,研究方向:应用微生物学、分子酶学,E-mail:ljuan@fzu.edu.cn。

基金项目:国家 863 计划课题(2013AA102101);福建省高校产学研合作项目(2017N5008)。

定容至 1 L, pH 自然, 121 °C 灭菌 20 min; 液态发酵培养基 (w/v, CM 培养基) 大米粉 8%, 蛋白胨 1%, KCl 0.1%, ZnSO₄ 0.01%, FeSO₄ 0.005%, MnSO₄ 0.015%, pH 4.0, 蒸馏水定容至 1 L, 121 °C 灭菌 20 min; 蛋白胨 购于 Oxiod 公司; 葡萄糖、可溶性淀粉、KCl、ZnSO₄、FeSO₄ 等试剂 均来自国产分析纯。

T6 新世纪紫外可见分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司; SW-CJ-2F 洁净工作台 苏州安泰空气技术有限公司; HWS24 电热恒温水浴锅 上海一恒科技有限公司; SHP-250 生化培养箱 上海精宏实验设备有限公司; YXQ-LS-50S11 立式蒸汽灭菌器 上海博讯实业有限公司医疗设备厂; ZWYR-2102C 恒温振荡培养箱 上海智城分析仪器制造有限公司); CF16RXII 高速冷冻离心机 日本 HITACHI 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 紫色红曲霉糖化酶的液态发酵 将红曲菌接种于 PDA 平板上, 在 30 °C 条件下培养 3~5 d。待红曲菌长好后, 用打孔器在红曲菌平板上打出 6 mm 菌饼, 将菌饼接种到液体种子培养基中, 于恒温振荡培养箱中 150 r/min、30 °C 培养 2 d, 之后以 4% (v/v) 的接种量接到发酵培养基中, 装液量 20% (50 mL/250 mL), 于恒温振荡培养箱中 180 r/min、30 °C 培养数天, 测定发酵液的糖化酶活力。

1.2.2 糖化酶活力测定 粗酶液制备: 将锥形瓶中发酵液于 8000 r/min 离心 10 min, 然后取上清液, 作为粗酶液。采用 DNS 比色法测定糖化酶活力^[13]。1 mL 酶液在 40 °C、pH 4.6 的条件下, 1 h 水解可溶性淀粉产生 1 mg 葡萄糖, 定义为 1 个酶活力单位 (U/mL)。相对酶活力: 定义某个条件下, 其相对酶活力为 100%, 其他条件下酶活力占该条件下酶活力的百分率为相对酶活力。

1.2.3 接种菌龄的确定 将培养不同时间 (1~6 d) 的种子液接种于液态基础培养基 (MM 培养基), 装液量 20% (50 mL/250 mL), 接种量 4% (v/v), 转速 180 r/min, 温度 32 °C, 于恒温振荡培养箱中培养 8 d, 之后取一定的发酵液测定糖化酶活力, 研究不同接种龄对液态发酵产糖化酶相对酶活力的影响。

1.2.4 培养基确定

1.2.4.1 优化前液态发酵培养条件 葡萄糖 5% (w/v), 蛋白胨 1% (w/v), 蒸馏水定容至 1 L, pH 自然, 121 °C 灭菌 20 min。种子液培养时间 2 d, 温度 32 °C, 转速 180 r/min, 装液量 50 mL/250 mL, 接种量 8%, 发酵培养 8 d。

1.2.4.2 碳源确定 分别用葡萄糖、蔗糖、可溶性淀粉、甘油、大米粉、玉米粉、糊精、麸皮作为 MM 培养基的碳源, 添加量均为 5% (w/v); 培养基初始 pH 为 5.0, 装液量 20% (50 mL/250 mL), 接种量 4% (v/v), 转速 180 r/min, 温度 32 °C, 考察不同碳源对发酵产糖化酶相对酶活力的影响; 另外, 在确定最佳碳源之后, 考察不同添加量 4%~16% (w/v) 对产糖化酶相对酶活力的影响。

1.2.4.3 氮源确定 在确定最佳碳源的基础上, 分别

以谷氨酸钠、尿素、蛋白胨、黄豆饼粉、硫酸铵、酵母膏、大米粉、大豆粉、玉米粉和硝酸钠为 MM 培养基的氮源, 其他培养条件同 1.2.4.2, 研究不同氮源对液体发酵产糖化酶相对酶活力的影响; 另外, 在确定最佳氮源后, 考察不同添加量 0.5%~5.0% (w/v) 对产糖化酶相对酶活力的影响。

1.2.4.4 金属离子优化 以最佳的碳源和氮源配制培养基, 其他培养条件同 1.2.4.2, 分别考察添加量 0、0.005%、0.010%、0.015%、0.020%、0.025% 的金属离子 Mn²⁺、Fe²⁺、Zn²⁺, 0、0.01%、0.15%、0.20%、0.30% 的金属离子 Mg²⁺ 和 K⁺ 对紫色红曲霉 G6 产糖化酶能力的影响。进一步利用 L₉ (3⁴) 正交表进行实验设计确定这些金属离子的最优配比, 因素水平编码如表 1 所示。

表 1 正交实验设计因素水平编码

Table 1 Factors and levels table of orthogonal experiment

因素	水平		
	-1	0	1
A: Zn ²⁺ (%)	0.005	0.010	0.015
B: Fe ²⁺ (%)	0.005	0.010	0.015
C: Mn ²⁺ (%)	0.010	0.015	0.020
D: K ⁺ (%)	0	0.05	0.10

1.2.4.5 培养基初始 pH 确定 在通过实验研究, 明确最佳培养基配方之后, 调节液态发酵培养基的初始 pH 为 2.5~6.0, 考察不同初始 pH 对紫色红曲霉 G6 产糖化酶相对酶活力的影响。

1.2.5 发酵条件研究 在优化后的液态发酵培养基 (CM 培养基) 的基础上, 采用单因素实验, 固定装液量 50 mL/250 mL、摇床转速 180 r/min, 温度 32 °C, 考察接种量 (2%~16%) 对紫色红曲霉 G6 产糖化酶相对酶活力的影响。

固定接种量 12%、摇床转速 180 r/min、温度 32 °C, 考察装液量 (30、50、70、90、110 mL/250 mL) 对紫色红曲霉 G6 产糖化酶相对酶活力的影响。

固定接种量 12%、装液量 50 mL/250 mL、温度 32 °C, 考察摇床转速 (100、120、140、160、180、200、220 r/min) 对紫色红曲霉 G6 产糖化酶相对酶活力的影响。

固定接种量 12%、装液量 50 mL/250 mL、摇床转速 150 r/min, 考察温度 (28、30、32、35、37 °C) 对紫色红曲霉 G6 产糖化酶相对酶活力的影响。

1.2.6 紫色红曲霉 G6 产酶曲线的测定 采用优化后的培养条件进行发酵培养, 发酵 2~11 d, 每隔 1 d 取一定量的发酵液测一次糖化酶的酶活力。

1.3 数据处理

实验中每个处理重复 3 次, 采用 SPSS 1.70 软件进行正交实验设计, 应用 Microsoft Excel 2010 软件作图。

2 结果与分析

2.1 接种菌龄对产糖化酶的影响

图 1 表明培养 2 d 的种子液接种发酵的糖化酶活力最高 (定义为 100%), 这时红曲菌处于快速生长期, 菌种的生命力及适应能力都很强, 因此选择种子

培养时间为 2 d。

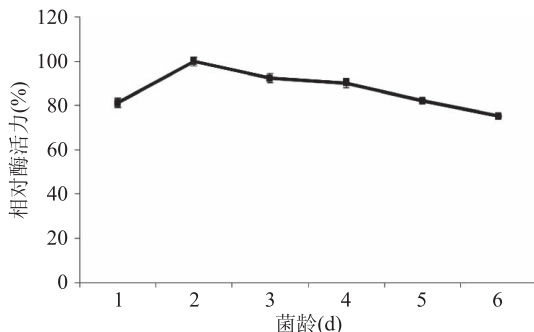


图1 接种龄对液态发酵产糖化酶的影响

Fig.1 Effect of seed age on glucoamylase production

2.2 培养基优化

2.2.1 不同碳源对液态发酵产糖化酶的影响 就曲霉而言,糖化酶是诱导酶,所以在微生物发酵过程中,作为碳源的物质除了作为微生物所需碳元素的主要来源外,又是诱导物的主要来源,所以不同的碳源对糖化酶的合成具有显著的影响^[14]。图2结果表明,不同碳源对产糖化酶的影响差异较大,碳源为大米粉时糖化酶活力最高(定义为100%),其次是玉米粉,相对酶活为91.6%。可能是因为这类碳源中含有丰富的维生素、有机酸、氨基酸、糖类等,几乎包含有微生物生长所需要的绝大部分营养要素,并且配比比较为合适。所以,选择大米粉为产糖化酶培养基中的最适碳源。

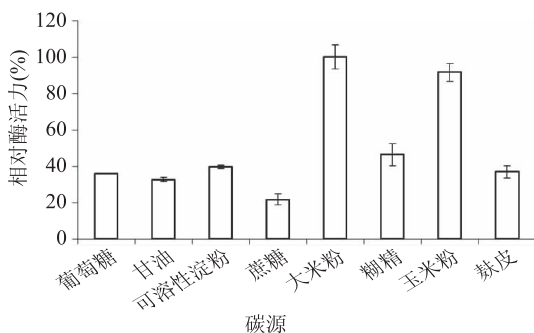


图2 不同碳源对液态发酵产糖化酶的影响

Fig.2 Effect of carbon sources on glucoamylase production

确定大米粉为最优碳源后,进一步考察不同添加量对产糖化酶的影响。由图3可知,碳源添加量为12%时糖化酶活力最高(定义为100%),当添加量从2%增加到8%时,相对酶活从33.68%提高到97.94%;随着添加量的增加,添加量8%以后,酶活力基本不变,所以,从成本方面考虑,确定大米粉的最适添加量为8%。

2.2.2 氮源对液态发酵产糖化酶的影响 在最适碳源为大米粉(添加量为8%)的基础上,研究不同氮源对紫色红曲霉 G6 产糖化酶的影响,结果如图4所示。可以看出,选用的有机氮效果优于硫酸铵和硝酸钠等无机氮。蛋白胨、黄豆饼粉、玉米浆干粉和 大米蛋白作为氮源时的产酶量相近,其中蛋白胨糖化酶活力最高(定义为100%);豆粕由于油脂含量较高,影响了菌体对氮源的利用,使其生长受到抑制,因此糖化酶活力较低。观察发酵液颜色,添加黄豆

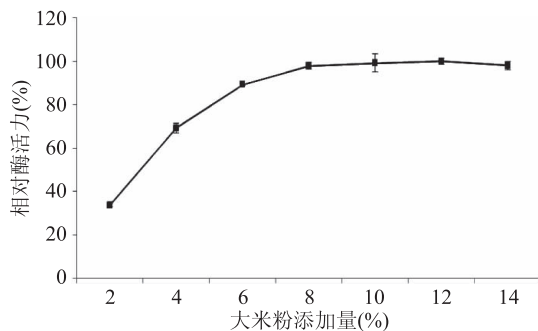


图3 大米粉添加量对液态发酵产糖化酶的影响

Fig.3 Effect of rice flour content on glucoamylase production

饼粉和玉米浆干粉的发酵液呈橙红色,添加大米蛋白的发酵液呈暗黄色,色泽不佳,可能会影响到后续糖化酶的提取和应用。在酿造福建黄酒的过程中,红曲霉发挥了提供色泽、风味和糖化等作用,所以对整体发酵液的色泽有一定的要求^[15-16]。因此确定产酶培养基中的氮源为蛋白胨。

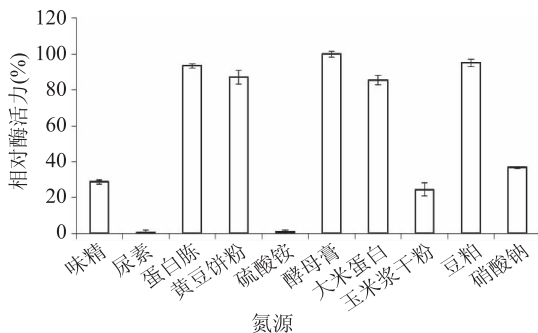


图4 不同氮源对液态发酵产糖化酶的影响

Fig.4 Effect of nitrogen sources on glucoamylase production

图5实验结果表明,添加量在1.0%~4.0%范围内,产酶水平相近,添加量1.0%时糖化酶活力最高(定义为100%)。所以后续实验以蛋白胨为氮源,添加量为1.0%。

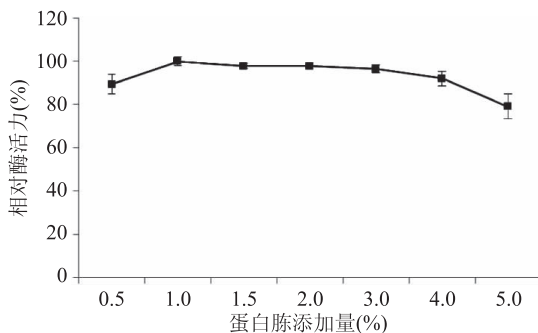


图5 蛋白胨添加量对液态发酵产糖化酶的影响

Fig.5 Effect of peptone content on glucoamylase production

2.2.3 金属离子对液态发酵产糖化酶的影响

2.2.3.1 单因素实验 不同金属离子以及其不同添加浓度对产糖化酶的影响结果见图6,无添加的对照组酶活力定义为100%。 Mn^{2+} 在实验浓度0%~0.025%范围内对产糖化酶没有多大影响,当添加量为0.025%时,酶活力略高,仅仅提高了2.4%; Fe^{2+} 添加量为0.005%时,相对于无添加时产酶提高了11.85%; Zn^{2+} 在添加量0%~0.025%范围内均对产酶

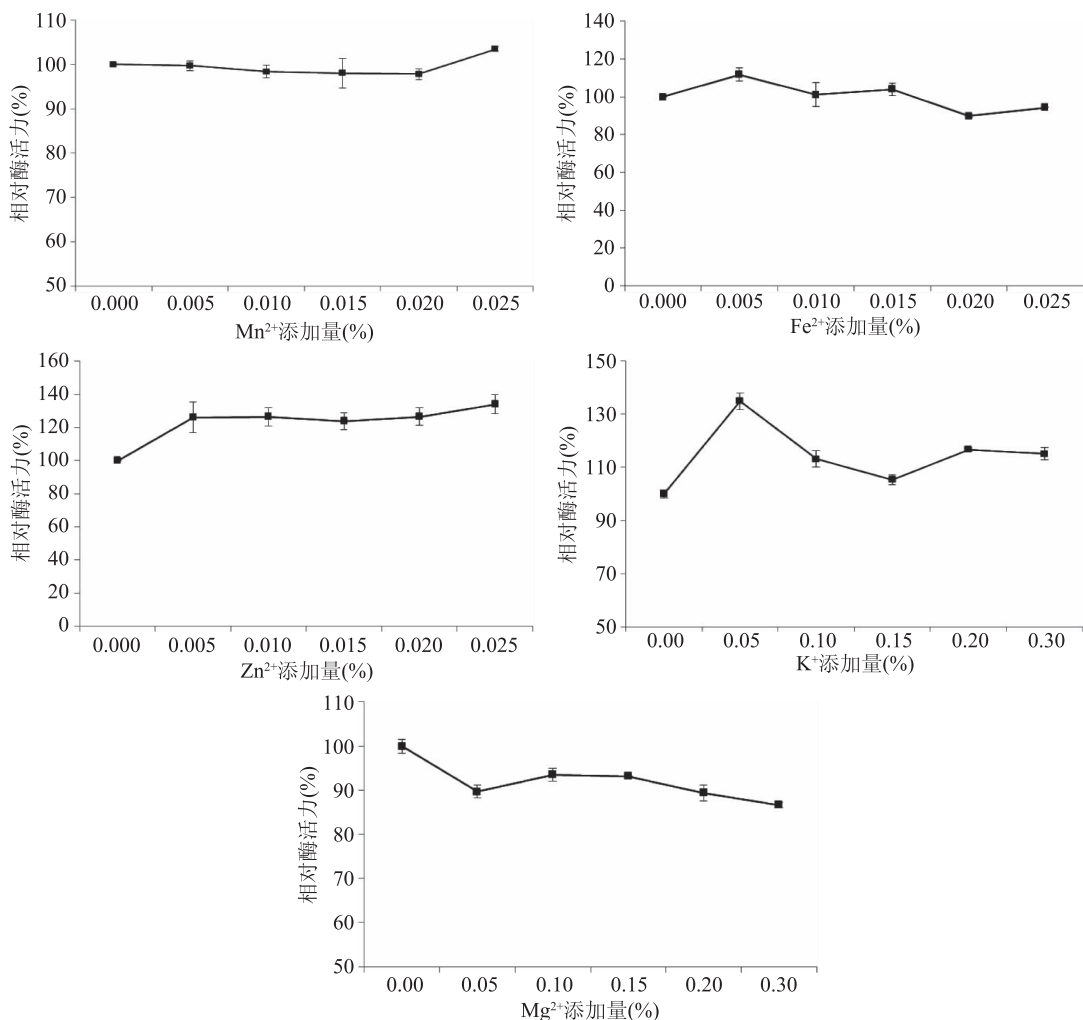


图6 不同金属离子对液态发酵产糖化酶的影响

Fig.6 Effect of different metal ions on glucoamylase production

起到了促进作用,但随着浓度的升高,促进作用提高不明显,相对酶活维持在 130% 左右; Mg^{2+} 在添加量 0%~0.3% 范围内对产酶有抑制作用,相对酶活为 90% 左右;当 K^+ 的添加量为 0.05% 时,对产酶的促进作用明显,较无添加情况下提高了 35.0%。

2.2.3.2 正交实验 为了进一步研究金属离子对产糖化酶的影响,选择对酶活有一定促进作用的 Zn^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Mn^{2+} 和 K^+ ,通过正交实验 $L_9(3^4)$ 优化这 4 种金属离子的配比,正交实验结果见表 2。由极差 R 可知,影响糖化酶合成的金属离子主次顺序为 $A > B > D > C$,最优组合为 $A_2B_1C_2D_3$ (实验号 4),即添加 Zn^{2+} 0.010%、 Mn^{2+} 0.015%、 K^+ 0.10%、 Fe^{2+} 0.005%,紫色红曲霉 G6 在该条件下发酵,糖化酶活力达到 1471.95 U/mL,较优化前 (109.54 U/mL) 提高了 13.44 倍。

2.2.4 培养基不同初始 pH 对液态发酵产糖化酶的影响 由图 7 可知,在 pH3.5~5.0 范围内,发酵产酶活力均维持在较高水平,其 pH 的适应范围较宽,以 pH 为 4.0 时的酶活力最高(定义为 100%)。因此,确定培养基初始 pH 为 4.0。

2.3 液态发酵产糖化酶条件优化

2.3.1 不同接种量对液态发酵产糖化酶的影响 由

表 2 金属离子 $L_9(3^4)$ 正交实验结果

Table 2 Results of $L_9(3^4)$ orthogonal experiment (metal ions)

实验号	A	B	C	D	糖化酶活力 (U·mL ⁻¹)
1	1	1	1	1	1318.41
2	1	2	2	2	1269.69
3	1	3	3	3	1197.34
4	2	1	2	3	1471.95
5	2	2	3	1	1418.80
6	2	3	1	2	1288.88
7	3	1	3	2	1281.50
8	3	2	1	3	1322.84
9	3	3	2	1	1253.45
K_1	3785.44	4071.86	3930.12	3990.65	
K_2	4179.63	4011.32	3995.08	3840.06	
K_3	3857.78	3739.67	3897.64	3992.13	
k_1	1261.81	1357.29	1310.04	1330.22	
k_2	1393.21	1337.11	1331.69	1280.02	
k_3	1285.93	1246.56	1299.21	1330.71	
R	131.40	110.73	32.48	50.69	

图 8 可知,在 2%~16% (v/v) 接种量范围内,糖化酶

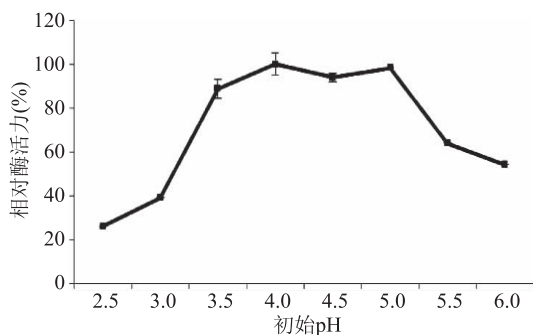


图7 初始 pH 对液态发酵产糖化酶的影响

Fig.7 Effect of initial pH on glucoamylase production

活力呈现先上升后下降的趋势,当接种量为 12% 时,发酵产酶效果最好。过高的接种量使得菌体生长旺盛,快速消耗营养物质,对发酵产酶不利,所以确定接种量为 12%。

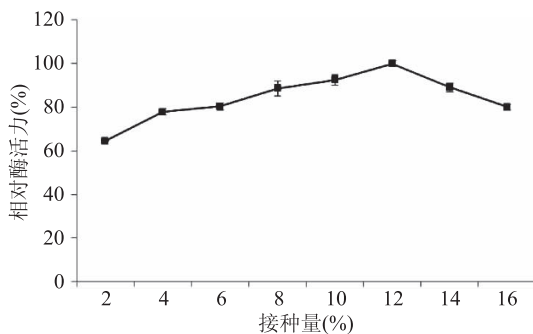


图8 接种量对液态发酵产糖化酶的影响

Fig.8 Effect of inoculation amount on glucoamylase production

2.3.2 不同装液量对液态发酵产糖化酶的影响 摇瓶装液量与转速是影响通气量的两个主要因素。装液量对产糖化酶的影响结果见图 9,装液量为 30 mL 时,糖化酶相对酶活力最高;当装液量为 50 mL 时,酶活力是装液量 30 mL 时的 91.32%,其余的装液量,酶活力都较低,考虑到投入产出比,选择摇瓶装液量为 50 mL。

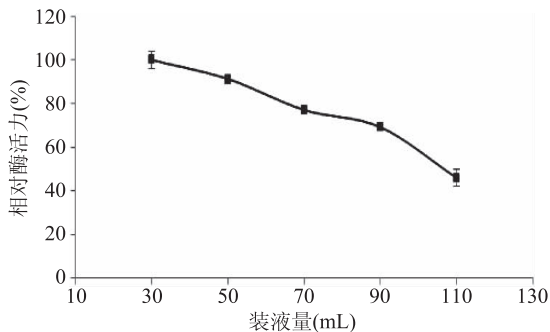


图9 装液量对液态发酵产糖化酶的影响

Fig.9 Effect of medium volume on glucoamylase production

2.3.3 不同转速对液态发酵产糖化酶的影响 在前面的基础上,摇床转速控制在 100~220 r/min 范围内,糖化酶活力先升后降,在 150 r/min 时,糖化酶相对酶活力达到最高(图 10),因此选择摇床转速为 150 r/min。

2.3.4 不同温度对液态发酵产糖化酶的影响 适宜

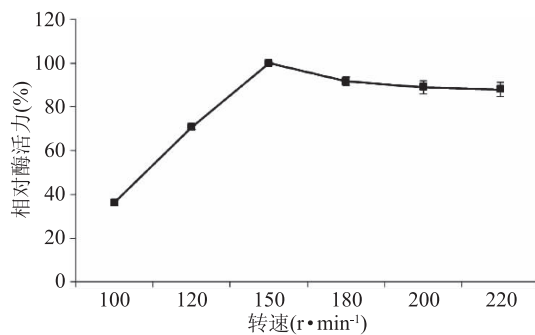


图10 转速对液态发酵产糖化酶的影响

Fig.10 Effect of rotation speed on glucoamylase production

的温度对于发酵产酶的影响较大,不同温度条件下发酵产糖化酶情况如图 11 所示,在温度为 32 °C 时糖化酶活力最高(定义为 100%),在发酵温度 28 °C 下,相对酶活为 71.30%;而在 37 °C 下,酶活力迅速下降,相对酶活仅为 41.09%,说明高温不利于红曲菌株产糖化酶。因此,确定液态发酵产糖化酶最适温度为 32 °C。

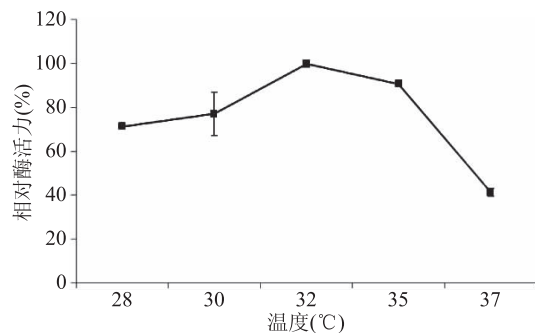


图11 发酵温度对液态发酵产糖化酶的影响

Fig.11 Effect of fermentation temperature on glucoamylase production

2.4 紫色红曲霉 G6 产酶曲线的测定

将紫色红曲霉 G6 按照优化后的液态产酶工艺进行发酵,并绘制产酶曲线,如图 12 所示,随着发酵时间的延长,糖化酶活力不断升高,在第 6 d 之后,上升变得相对平缓,直到第 10 d 达到最高(糖化酶活力为 1652.36 U/mL)。与优化前(糖化酶活力为 109.54 U/mL)相比,产酶能力提高了 14.08 倍。

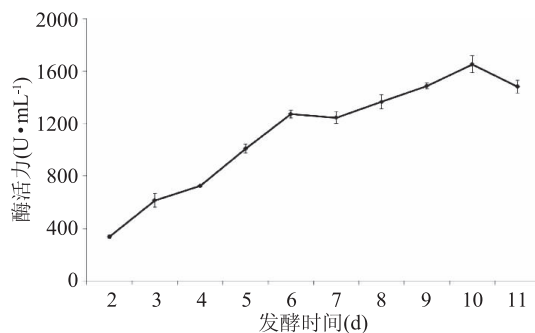


图12 发酵时间对液态发酵产糖化酶的影响

Fig.12 Effect of fermentation time on glucoamylase production

3 结论

通过对紫色红曲霉 G6 液态发酵生产糖化酶的
(下转第 155 页)

of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47(6):2496-2500.

[6] Wang Y, Li Y, Liu Y, et al. Extraction, characterization and antioxidant activities of Se-enriched tea polysaccharides [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2015, 77: 76-84.

[7] 李丽彩, 王亚婷, 赵建宏, 等. 富硒麦芽的生产工艺研究[J]. 食品科技, 2016(1): 64-67.

[8] 林佳, 李昌发. 富硒食用菌优势与生产研究[J]. 企业技术开发, 2013, 1: 130-131.

[9] Elbayoumy K, Sinha R. Mechanisms of mammary cancer chemoprevention by organo-selenium compounds [J]. Mutat Res, 2004, 46(551): 181-197

[10] 刘春廷, 赵博, 张国财, 等. 富硒黑木耳硒多糖超声-微波提取工艺优化及其抗氧化活性[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2016, 42(4): 435-440.

[11] 李玲飞, 蔡松伟, 吴根福. 富硒食用菌及其保健功效[J]. 食药菌, 2011, 19(6): 38-43.

[12] Lintschinger et al. Selenium-enriched sprouts. A raw material for fortified cereal-based diets [J]. J Agric Food Chem, 2000, 48: 5326-5368.

[13] 龙思颖, 康德灿, 柯江, 等. 液体发酵培养富硒蛹虫草菌丝体优化条件的实验[J]. 食用菌, 2016(3): 11-13.

[14] 张国财, 赵博, 刘春廷, 等. 响应面法优化超声波-微波协同提取富硒蛹虫草硒多糖工艺[J]. 食品科学, 2016, 37(12): 33-39.

[15] 于田田, 钱和. 生物富硒对蛹虫草菌丝体化学成分的影响[J]. 食品科技, 2006, 2006(1): 133-135.

[16] 朱蕴兰, 陈宏伟, 张城. 富硒蛹虫草胞内多糖对自由基的清除作用[J]. 农业工程, 2011(3): 53-57.

[17] 钟鸣, 高丹, 胡昆, 等. 富硒蛹虫草对小鼠降血脂和抗氧

化作用的影响[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(12): 3142-3144.

[18] Das S K, Masuda M, Sakurai A, et al. Medicinal uses of the mushroom *Cordyceps militaris*: current state and prospects [J]. Fitoterapia, 2010, 81(8): 961-968.

[19] 李海洲, 陈正余, 张京国, 等. 安康富硒蛹虫草黄酒生产工艺探讨[J]. 安康学院学报, 2015, 27(6): 71-73.

[20] 张园园, 王勇, 叶岚, 等. 蛹虫草富硒研究及富硒产品开发初探[J]. 食用菌, 2014(4): 3.

[21] 孟泽彬, 文庭池, 姜金仲. 富硒虫草的研究进展[J]. 微生物学通报, 2014, 41(11): 2339-2348.

[22] 赵博, 张国财, 林连男, 等. 生物磁效应对蛹虫草活性物质含量的影响[J]. 植物研究, 2013, 33(4): 508-511.

[23] 2010, GB5009 93. 食品安全国家标准食品中硒的测定[S]. Diss. 2010.

[24] 程功. 生物磁效应对杏鲍菇液体菌种培养及胞外酶的作用[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2007.

[25] 杨淑云, 刘朝贵, 朱凯, 等. 富硒姬松茸液体培养条件的研究[J]. 微生物学通报, 2003, 30(1): 9-13.

[26] 王孟兰, 赵妍, 陈明杰, 等. 食用菌半纤维素酶系研究进展[J]. 生物学杂志, 2014, 31(1): 64-67.

[27] Wang X, Zuo Z, Zhao C, et al. Protective role of selenium in the activities of antioxidant enzymes in piglet splenic lymphocytes exposed to deoxynivalenol [J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2016, 47: 53-61.

[28] Adebayo O L, Adenuga G A, Sandhir R. Selenium and zinc protect brain mitochondrial antioxidants and electron transport chain enzymes following postnatal protein malnutrition [J]. Life Sciences, 2016, 152: 145-155.

[29] 赵镭. 灵芝生物富硒及富硒灵芝硒蛋白的分离纯化和抗氧化性研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2004.

(上接第 150 页)

接种菌龄、培养基配方和发酵条件的研究, 确定其最佳接种菌龄为 2 d; 最适发酵培养基成分为大米粉 8%, 蛋白胨 1%, KCl 0.1%, ZnSO₄ 0.01%, FeSO₄ 0.005%, MnSO₄ 0.015%, pH4.0; 最适发酵条件为装液量 50 mL/250 mL, 转速 150 r/min, 温度 32 ℃, 接种量 12% (v/v)。在该条件下发酵至第 10 d 糖化酶活力可达 1652.36 U/mL, 比优化前提高了 14.08 倍。

参考文献

[1] 李浩然, 冯雅丽, 伍军. 降脂红曲研究进展[J]. 北京农学院学报, 2001, 16(3): 80-85.

[2] Panda B P, Javed S, Ali M. Optimization of Fermentation Parameters for Higher Lovastatin Production in Red Mold Rice through Co-culture of *Monascus purpureus*, and *Monascus ruber* [J]. Food and Bioprocess Technology, 2010, 3(3): 373-378.

[3] 肖连冬, 王志强. 降胆固醇红曲霉菌株的分离及其降解性能研究[J]. 中国酿造, 2015, 34(5): 74-77.

[4] Pattanagul P, Pinthong R, Phianmongkhon A, et al. Mevinolin citrinin and pigments of adlay angkak fermented by *Monascus* sp. [J]. International Journal of Food Microbiology, 2008, 126(1): 20-23.

[5] 李丽, 张文学, 罗芳, 等. 红曲药曲的制备工艺及药曲清酒的研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(18): 194-198.

[6] 赵吉兴, 李耀, 李凯. 红曲霉固体发酵生产酿造增香发酵

剂的研究与应用[J]. 中国酿造, 2013, 32(3): 114-117

[7] 王雅芬, 傅月华. 红曲霉的有效生理活性物质及应用[J]. 杭州科技, 2000(5): 25-27.

[8] 杨丽娟, 余少文, YANG Li-juan, 等. 黑曲霉高产糖化酶的分子水平研究方法概论[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(8): 204-208.

[9] 龙茜萍, 王晓丹, 谭静, 等. 一株高产糖化酶菌株的筛选与鉴定[J]. 酿酒科技, 2013(8): 7-9.

[10] 武金霞, 王沛, 李晓明. 糖化酶的研究进展及趋势[J]. 自然杂志, 2003, 25(3): 161-163.

[11] 王秋辰, 王昌禄, 陈勉华, 等. 红曲霉固态发酵产糖化酶及酸性蛋白酶条件的优化[J]. 天津科技大学学报, 2014(4): 21-25.

[12] 徐美爱, 林娟, 李亮, 等. 高产红色素及糖化酶红曲菌株的诱变选育[J]. 中国食品学报, 2015, 15(12): 74-82.

[13] 刘洋, 唐芳荣, 相宏宇, 等. 小体系高通量比色测定糖化酶活力新方法[J]. 中国酿造, 2012(7): 140-143.

[14] 夏娟. 高产糖化酶菌株的诱变育种及其发酵工艺的优化[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2013.

[15] 倪莉, 吴智广, 张雯. 福建红曲中的红曲霉的生理生化特性研究[J]. 福州大学学报, 2009(6): 929-934.

[16] 韩兴林, 王建耀, 王广峰, 等. 清香型大曲糖化力的简单分析[J]. 酿酒科技, 2009(9): 68-70.