

富含莫纳可林 K 燕麦红曲的快速发酵

李坚华, 徐方, 吴佩芝, 胡婷, 冯艳丽*

(1. 湖北师范大学 食用野生植物保育与利用湖北省重点实验室, 湖北 黄石 435002; 2. 湖北师范大学 生物学国家级实验教学示范中心, 湖北 黄石 435002; 3. 湖北师范大学 生命科学学院, 湖北 黄石 435002)

摘要:为获取富含莫纳可林 K(Monacolin K, MK)的燕麦红曲,以可高产 MK 不产桔霉素的丛毛红曲菌(*Monascus pilosus*)MS-1 为实验菌株,以裸燕麦(文中涉及燕麦均指裸燕麦)为发酵基质,在优化燕麦红曲固态发酵培养基配方的基础上,通过添加营养因子缩短发酵周期。结果表明,燕麦红曲的基本发酵参数为含水质量分数、粉碎度、乳酸添加量、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 添加量、装样量和接种量分别为 33.35%、20 目、0.6 mL/hg、0.007 mol/kg、75 g 和 10 mL/hg,在 30 °C 发酵 3 d 后转入 25 °C 发酵至 14 d。在上述培养基中添加质量分数 2% 大豆分离蛋白,发酵 14 d 后燕麦红曲 MK 产量比对照提高 32.63%,为 19.77 mg/g。发酵至 26 d 时 MK 的产量最高,为 41.85 mg/g。该研究可为燕麦精深加工提供新思路,对提高功能红曲的生产效率也具有借鉴意义。

关键词: 燕麦;红曲;丛毛红曲菌 MS-1;莫纳可林 K;快速发酵

中图分类号:TS 201.3 文章编号:1673-1689(2020)06-0061-07 DOI:10.3969/j.issn. 1673-1689.2020.06.009

Rapid Fermentation of Red Fermented Oats Rich in Monacolin K

LI Jianhua, XU Fang, WU Peizhi, HU Ting, FENG Yanli*

(1. Hubei Key Laboratory of Edible Wild Plants Conservation and Utilization, Hubei Normal University, Huangshi 435002, China; 2. National Demonstration Center for Experimental Biology Education, Hubei Normal University, Huangshi 435002, China; 3. College of Life Sciences, Hubei Normal University, Huangshi 435002, China)

Abstract: In order to obtain red fermented oats (RFO) rich in monacolin K (MK), the study used a high MK but non-citrinin producing strain *Monascus pilosus* MS-1 and naked oats, optimized the medium and shortened the fermentation cycle by adding nutrients. The results showed that the basic fermentation parameters of RFO were moisture content 33.35%, comminution degree 20 mesh, lactic acid 0.6 mL/hg, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.007 mol/kg, volume of sample loading 75 g and inoculum size 10 mL/hg, respectively. After fermentation at 30 °C for 3 days, the RFO were transferred to 25 °C up to 14 days. The MK yield (19.77 mg/g) was 32.63% higher than that of control when 2% soybean protein was added to the aforementioned optimized medium. The highest MK yield of 41.85 mg/g was obtained after 26 days fermentation. This study can provide a novel thinking for the deep processing of oats, and it can also be used as a reference for improving the productive efficiency of functional red yeast rice.

Keywords: oats, red fermented rice, *Monascus pilosus* MS-1, monacolin K, rapid fermentation

收稿日期: 2018-09-17

基金项目: 湖北省教育厅科研计划项目重点项目(D20192502);湖北省自然科学基金项目(2017CFB367);食用野生植物保育与利用湖北省重点实验室开放基金项目(EWPL201807);湖北师范大学科研创新团队计划项目(2019CZ07)。

* 通信作者: 冯艳丽(1981—),女,博士,副教授,硕士研究生导师,主要从事食品发酵相关的研究。E-mail: Fengyanli8314@vip.163.com

燕麦是少数同时具有营养、保健和药用价值的粮食作物之一。燕麦富含淀粉、蛋白质、膳食纤维、亚油酸、维生素 E 和多酚等物质^[1]。1997 年,美国食品药品监督管理局认定燕麦为功能性食物,它具有降低胆固醇、平稳血糖等功效^[2]。燕麦主要分为 2 种,一种是带稃型的皮燕麦,另一种是无稃型的裸燕麦。其中裸燕麦的蛋白质、脂肪、氨基酸、黄酮等营养和功能活性物质含量显著高于皮燕麦^[3]。燕麦中蛋白质、油脂和可溶性纤维素含量均居谷物之首,其淀粉含量在 50.0%~65.0%之间,比玉米和小麦等所含淀粉更易于糊化,且其含有大量膳食纤维使其具有较高的持水性和膨胀力,是良好的微生物发酵基质,可用于红曲菌等的固态发酵^[4-5]。

红曲菌(*Monascus* spp.)是我国具有传统特色的药食两用微生物资源。红曲是指将红曲菌接种于淀粉质原料发酵而成的产品,其成品的颜色多呈赤红色或紫红色。因红曲菌可发酵产生多种功能性代谢产物如莫纳可林 K (Monacolin K, MK)、红曲色素(*Monascus* pigments, MPs)、 γ -氨基丁酸、麦角甾醇等而被广泛应用于食品着色和防腐、营养保健、酿造及医药等领域^[6]。MK 可作为 HMG-CoA 还原酶的竞争性抑制剂,进而抑制胆固醇的合成^[7],在调节血压、血脂等方面得到广泛应用^[8]。MPs 是红曲菌产生的一系列色素的混合物,它不仅可用作天然着色剂,还具有多种生理功能如抗癌、调节血糖、减肥等^[6,9]。目前有关红曲发酵产 MK 的研究较多,但普遍存在产量低、周期长、质量不稳定、成本高等问题。

目前,我国燕麦的加工形式主要包括燕麦片、燕麦粉等,对燕麦的精深加工和综合利用较少。虽有部分地区如台湾等地销售红曲燕麦片等,但大都以红曲米为原料添加至燕麦片中制成,而完全利用燕麦为基质生产的功能性燕麦红曲产品极少^[10]。卢颖^[11]在燕麦培养基中添加酵母粉、甘油等,研究了燕麦红曲固态发酵中 MK、蛋白质、多糖、黄酮等物质的生物转化,在优化后的培养基参数下发酵 14 d 后 MK 产量可达 15.00 mg/g。减少发酵基质中非常规食用物质的添加,是开发新型功能红曲的努力方向。

本研究中以裸燕麦(文中涉及燕麦均指裸燕麦)为原料,以可高产 MK 且不产桔霉素的丛毛红曲菌(*Monascus pilosus*)MS-1 为实验菌株,从裸燕麦的预处理、酸度及微量元素等方面优化燕麦红曲固态培养基。在此基础上,通过添加营养因子刺激

MK 的产生。该研究拟在获得富含 MK 燕麦红曲的基础上,与已有报道相比,缩短发酵周期。该研究结果可为燕麦精深加工提供新思路,对提高功能性红曲的生产效率也具有借鉴意义。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验菌株 丛毛红曲菌(*Monascus pilosus*)MS-1(中国典型培养物保藏中心,编号 CCTCC M 2013295)是由红曲产品中分离获得的可高产 MK 不产桔霉素的红曲菌株。

1.1.2 仪器设备 Agilent 1260 高效液相色谱仪,安捷伦科技有限公司产品;UV754N 紫外分光光度计,上海仪电分析仪器有限公司产品;Anke TJL-18G-C 离心机,上海安亭有限公司产品;HZQ-F160 振荡培养箱,哈尔滨市东联电子技术开发有限公司产品;BCM-1300A 生物洁净工作台,苏净集团安泰公司产品;LRH-80 生化培养箱,武汉一恒苏净科学仪器有限公司产品;DHG-9070A 电热恒温鼓风干燥箱,武汉一恒苏净科学仪器有限公司产品。

1.1.3 试剂及溶液 MK 标准品,购于 Sigma 公司;常规试剂乙腈、磷酸、葡萄糖、琼脂、蛋白胨、无水乙醇、七水硫酸镁、氯化钙、七水硫酸锌、硫酸锰、七水硫酸亚铁、氢氧化钠、磷酸二氢铵、冰乙酸和乳酸中除乙腈为色谱纯外均为分析纯,主要购于国药集团化学试剂有限公司。

1.1.4 培养基 PDA 培养基:土豆 200 g/L(煮制成土豆汁,弃去残渣),葡萄糖 20 g/L,琼脂粉 20 g/L;pH 自然,以每瓶约 100 mL 的量分装至茄形瓶中。于 121 °C 灭菌 20 min 后摆斜面备用。此培养基用于红曲菌的传代培养。

种子液培养基^[12]:葡萄糖 80 g/L,蛋白胨 10 g/L, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 2 g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g/L, 无水 CaCl_2 0.1 g/L, 土豆汁替代水溶解试剂;pH 自然,以每瓶 150 mL 的量分装至 500 mL 三角瓶中,121 °C 灭菌 20 min 冷却备用。此培养基用于制备红曲菌种子液。

固态发酵培养基:250 mL 三角瓶的装样量为 75 g(不包括酸及无机盐),燕麦干质量 50 g,蒸馏水 25 g,根据实验需要添加酸、无机盐等,在 121 °C 下灭菌 20 min,趁热打散后备用。此培养基用于燕麦红曲固态发酵。

1.2 实验方法

1.2.1 种子液的制备 以无菌水将在 30 ℃培养 10 d 的红曲菌孢子洗下,调整孢子悬液浓度为 10^6 CFU/mL,以 10 mL/hg 的接种量将上述孢子悬液接入 1.1.4 的种子液培养基中,在 30 ℃、120 r/min 培养 48 h。

1.2.2 MK 的检测 将发酵后的燕麦红曲于 55 ℃烘干 12 h,粉碎后充分混匀。准确称取 0.3 g 试样于 50 mL 离心管中,加入 10 mL 体积分数 75%乙醇。在室温下超声提取 1 h,静置 10 min,取 4 mL 上清液在 8 000 r/min 离心 10 min。取上清液过 0.22 μm 滤膜,收集滤液待测。采用 HPLC 法检测分析样品中 MK 含量,其色谱条件为:HPLC 系统为安捷伦 1260,色谱柱:Inertsil ODS-3 (5 μm,4.6 mm×250 mm)。检测波长为 238 nm,流动相为乙腈:水:体积分数 0.5%磷酸=60:37:3(体积比),流速为 1 mL/min,柱温为 25 ℃,进样量为 20 μL^[13-14]。红曲样品中 MK 质量分数的计算公式为:

$$MK/(mg/g) = \frac{(A_0 + A_1) \times 10 \times C_0 \times I}{A \times 0.3 \times 1\ 000} \quad (1)$$

式(1)中, A_0 为酸式 MK 峰面积; A_1 为内酯式 MK 峰面积; C_0 为标准品质量浓度(μg/mL); I 为稀释倍数; A 为标准品峰面积;10 为提取液总体积(mL);0.3 为称样质量(g)。

1.2.3 MPs 的检测 检测样品的预处理同 1.2.2。取上清液 1 mL 并用 75%乙醇稀释至合适的浓度后于 505 nm 处测光吸收(OD)值^[15],计算色价。色价计算公式为:

$$\text{色价}/(U/g) = \frac{OD \text{ 值} \times M \times 10}{0.3} \quad (2)$$

式(2)中, M 为稀释倍数。

1.2.4 燕麦浸泡时间对红曲菌产 MK 的影响 根据预实验得知,以蒸馏水浸泡燕麦 8、10、12 h 后,含水质量分数基本恒定。每个 250 mL 三角瓶中分装 50 g 燕麦,分别用蒸馏水浸泡燕麦 8 h 和 12 h,沥干后在 121 ℃灭菌 20 min 并趁热打散。将培养好的种子液按 10 mL/hg 的接种量接入固态培养基中,先在 30 ℃培养 3 d,再调至 25 ℃培养至 14 d^[12],分析发酵产物中 MK 的含量,其检测方法同 1.2.2。

1.2.5 燕麦粉碎处理对红曲菌产 MK 的影响 以未处理的燕麦为对照,将燕麦分别粉碎至 20 目和 10 目。燕麦红曲的接种及培养条件同 1.2.4,分析发酵产物中 MK 的含量,其检测方法同 1.2.2。

1.2.6 加水方式对红曲菌产 MK 的影响 在 1.2.5 实验结果的基础上,设置固体培养基加水方式分别为灭菌前、后各加质量分数 16.67%的水分和灭菌前一次加质量分数 33.34%的水分,燕麦红曲的接种及培养条件同 1.2.4,分析发酵产物中 MK 的含量,其检测方法同 1.2.2。

1.2.7 灭菌前加水质量分数对红曲菌产 MK 的影响 在 1.2.6 的基础上,将固体培养基灭菌前加水质量分数分别调整为 16.67%、20.00%、23.33%、26.67%、30.00%,经灭菌后将各培养基的加水质量分数补足至 33.34%。燕麦红曲的接种及培养条件同 1.2.4,分析发酵产物中 MK 的含量,其检测方法同 1.2.2。

1.2.8 乳酸、冰乙酸添加量对红曲菌 MK 的影响 在 1.2.7 的基础上,在固态培养基中分别加入 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL/hg 的乳酸、冰乙酸,灭菌和发酵培养方法同 1.2.4。检测红曲发酵产物中 MK 的含量,具体检测方法 1.2.2。为比较冰乙酸和乳酸的稳定性,用 pH 计测定培养基提取液的 pH,并采用酸碱滴定的方法测定培养基中乳酸、冰乙酸含量。以 0.1 g/dL 酚酞溶液为指示剂,用 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液滴定灭菌前后样品提取液。

乳酸、冰乙酸质量分数的计算公式:

$$X = \frac{C \times (V_1 - V_2) \times K}{m} \times \frac{V_3}{V_4} \times 1\ 000 \quad (3)$$

式中: X 为每千克样品中总酸的克数,g/kg; C 为氢氧化钠标准滴定溶液的浓度,mol/L; V_1 为滴定试液时消耗氢氧化钠标准滴定溶液的体积,mL; V_2 为空白试验消耗氢氧化钠标准滴定溶液的体积,mL; V_3 为样品稀释液总体积,mL; V_4 为滴定时吸取的样液体积,mL; m 为样品质量,g; K 为酸的换算系数(乳酸:0.090;冰乙酸:0.060)

1.2.9 金属离子对红曲菌产 MK 的影响 在 1.2.8 的基础上,在固态培养基中分别添加 0.007 mol/kg 的 $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 、 $MnSO_4$ 、 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 和 $CaCl_2$,燕麦红曲的接种及培养条件同 1.2.4,分析发酵产物中 MK 的含量,其检测方法同 1.2.2。

1.2.10 镁离子添加量对红曲菌产 MK 的影响 在 1.2.9 的基础上,将固体培养基中 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 的添加量分别调整为 0、0.002、0.007、0.012、0.017、0.022 mol/kg,燕麦红曲的接种及培养条件同 1.2.4,分析发酵产物中 MK 的含量,其检测方法同 1.2.2。

1.2.11 大豆分离蛋白添加量对红曲菌产 MK 的影响 在 1.2.10 的基础上,将固体培养基中的大豆分离蛋白分别调整为 0%、1%、2%、3%、4%、5% (质量分数),燕麦红曲的接种及培养条件同 1.2.4,分析发酵产物中 MK 的含量,其检测方法同 1.2.2。

1.2.12 发酵时间对红曲菌产 MK 和 MPs 的影响 在 1.2.11 优化得到的固体培养基基础上,监测发酵 32 d 内红曲菌产 MK 和 MPs 的变化趋势,以发酵 5 d 为取样起始天数,间隔 3 d 取样。燕麦红曲的接种及培养条件同 1.2.4,发酵产物中 MK 和 MPs 的检测方法同 1.2.2 和 1.2.3。

2 结果与分析

2.1 燕麦浸泡时间对红曲菌产 MK 的影响

预实验结果表明,燕麦浸泡 8、10 h 及 12 h 时,其含水质量分数为 $(32.85 \pm 0.07)\%$,说明浸泡 8 h 时燕麦的吸水量已达到饱和。因水分在燕麦组织中的分布及存在状态可随浸泡时间的长短而改变,探究燕麦含水量达到饱和后,浸泡时间对燕麦红曲 MK 产量的影响,结果如图 1 所示。

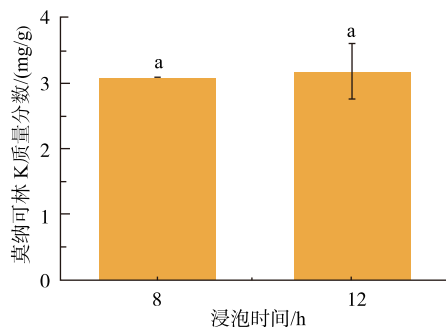


图 1 浸泡时间对红曲菌产 MK 的影响

Fig. 1 Effects of soaking time on MK production by *Monascus* spp.

由图 1 可知,浸泡 8 h 与 12 h 的燕麦,经发酵 14 d 后 MK 产量无显著差异 ($p > 0.05$),表明燕麦吸水量达到饱和后,浸泡时间对红曲菌产 MK 没有影响。此外,尝试在浸泡液中添加冰乙酸、金属离子等,发现 MK 产量偏低,即 MK 的最高产量不超过 5 mg/g (数据未列出),且发酵所得的燕麦红曲米心呈乳白色。表明红曲菌只沿物料表面生长,不能充分利用粒状燕麦。故在后续实验中,将对燕麦基质进行适当的粉碎处理。

2.2 燕麦粉碎处理对红曲菌产 MK 的影响

为探究粉碎度对燕麦红曲固态发酵产 MK 的

影响,对燕麦进行不同细度的粉碎处理后进行固态发酵,结果如图 2 所示。对燕麦进行粉碎处理可显著促进红曲菌发酵产 MK ($p < 0.05$),其中粉碎度为 20 目时效果最好, MK 产量最高可达 7.95 mg/g,比对照提升了 1.59 倍。这是由于粉碎处理增大了红曲菌与物料的接触面积,同时有利于燕麦淀粉的糊化,但粉碎细度过小会使基质不易被打散(预实验中粉碎粒度小于 20 目时灭菌后培养基难以打散,数据未列出)。故选择粉碎度为 20 目的燕麦进行后续实验。

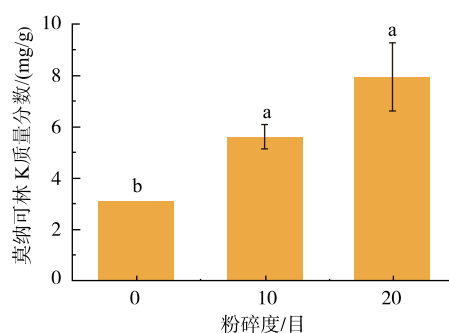


图 2 粉碎度对红曲菌产 MK 的影响

Fig. 2 Effects of crushing degree on MK production by *Monascus* spp.

2.3 加水方式对红曲菌产 MK 的影响

在 2.2 实验结果的基础上,考察固体培养基的加水方式即分 2 次加水或 1 次加水对红曲菌产 MK 的影响,结果如图 3 所示。

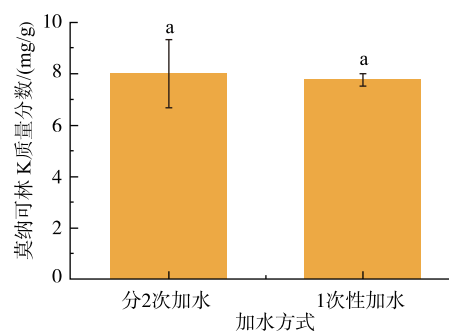


图 3 加水方式对红曲菌产 MK 的影响

Fig. 3 Effects of water adding mode on MK production by *Monascus* spp.

由图 3 可知,加水方式对 MK 产量无显著影响 ($p > 0.05$),其平均产量均为 8 mg/g 左右。但在固态发酵培养过程中发现,1 次加水的燕麦固体培养基因结块而不能被充分打散,这在一定程度上减少了基质内气体交换并导致热量积累,菌体仅在物料表

面生长,原料利用率低^[16]。2种加水方式所得MK产量相当,主要与燕麦的糊化程度有关,即1次加水的培养基含水质量分数较高使其糊化程度较好。故继续考察灭菌前加水质量分数对红曲菌产MK的影响。

2.4 灭菌前加水质量分数对红曲菌产MK的影响

根据灭菌后物料疏松或结块对红曲发酵的影响,在保证燕麦基质不结块的前提下,探究灭菌前加水质量分数对红曲菌产MK的影响,结果如图4所示。

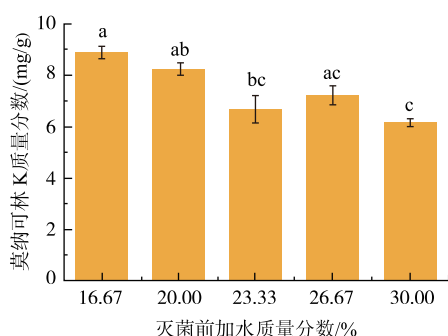


图4 灭菌前加水质量分数对红曲菌产MK的影响

Fig. 4 Effects of water addition on MK production by *Monascus* spp. before sterilization

由图4可知,在保证培养基均能被打散的前提下,当灭菌前加水质量分数从16.67%增加至30%时,燕麦红曲中MK质量分数呈现下降的趋势,加水质量分数分别为23.33%、26.67%和30%时MK产量下降最显著($p < 0.05$)。灭菌前燕麦固体培养基加水量过高,易造成培养基质结块,进而影响通氧量,不利于红曲菌的生长及MK的产生。结合2.3和2.4实验结果,分别在固体培养基灭菌前、后各加质量分数16.67%的水分进行后续实验。

2.5 乳酸、冰乙酸添加量对红曲菌产MK的影响

培养基的初始pH可影响红曲菌生长及代谢^[12]。在2.4实验结果的基础上,探究乳酸及冰乙酸的添加量对燕麦红曲固态发酵产MK的影响,结果如图5所示。

由图5可知,不同添加量的冰乙酸及乳酸对红曲菌产MK无显著影响($p > 0.05$)。当乳酸添加量为0.6 mL/hg时MK的产量最高,可达10.27 mg/g,比对照提高25.31%。与对照相比无显著差异,主要与实验的平行性相对较差有关。

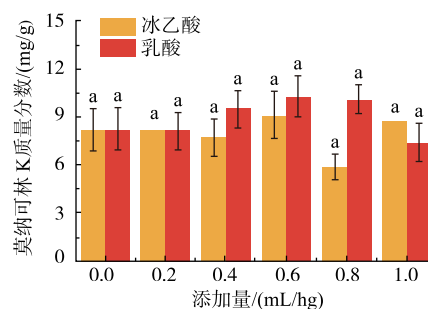


图5 冰乙酸和乳酸质量浓度对红曲菌产MK的影响

Fig. 5 Effects of acetic acid and lactic acid concentrations on MK production by *Monascus* spp.

此外,分析灭菌前后固体培养基的pH值及冰乙酸和乳酸含量的结果表明,添加冰乙酸的培养基灭菌后pH值及冰乙酸含量均降低,而灭菌对培养基中乳酸影响不大,表明乳酸稳定性比冰乙酸好。大量研究表明,红曲菌偏爱乳酸^[17],且红曲菌生长速度相对较慢,发酵初期添加酸,利于抑制杂菌生长。故选择添加0.6 mL/hg乳酸进行后续实验。

2.6 金属离子对红曲菌产MK的影响

金属离子是微生物细胞中各种酶的活性成分,在微生物生长代谢过程中具有调节并维持细胞的渗透压、保持氧化还原电位等作用。考察了金属离子对燕麦红曲固态发酵产MK的影响,结果如图6所示。

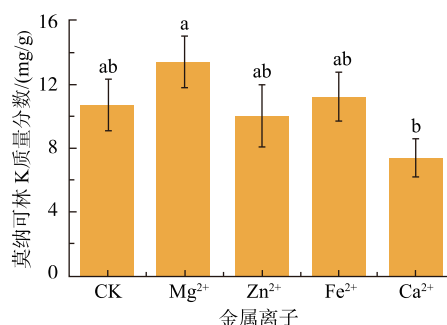


图6 金属离子对红曲菌产MK的影响

Fig. 6 Effects of metal ions on MK production by *Monascus* spp.

由图6可知,添加Mg²⁺的燕麦红曲MK产量最高,可达13.53 mg/g,比对照提高了26.06%。Mg²⁺作为微生物生长所需的微量元素,不仅是微生物细胞的成分,也是细胞内多种酶的活性激活剂^[10]。故继续探究Mg²⁺的添加量对红曲菌发酵燕麦产MK的影响。

2.7 镁离子添加量对红曲菌产 MK 的影响

在 2.6 实验结果基础上, 探究 Mg^{2+} 添加量对燕麦红曲固态发酵产 MK 的影响, 结果如图 7 所示。当 Mg^{2+} 添加量为 0.007 mol/kg 和 0.017 mol/kg 时均可显著促进红曲菌产 MK ($p < 0.05$), 而 Mg^{2+} 添加量为 0.007 mol/kg 时 MK 产量最大。故选择 0.007 mol/kg 为 Mg^{2+} 的最适添加量。

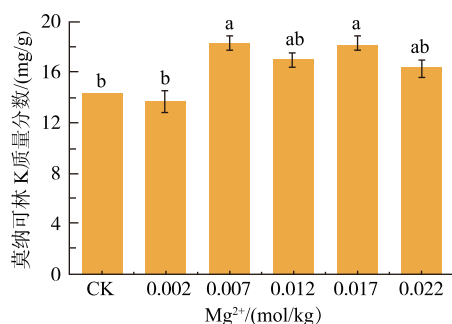


图 7 镁离子添加量对红曲菌产 MK 的影响

Fig. 7 Effects of Mg^{2+} addition on MK production by *Monascus* spp.

2.8 大豆分离蛋白对红曲菌产 MK 的影响

本课题组前期研究表明, 在以大米为基质的固体培养基中添加大豆分离蛋白可显著促进红曲菌产 MK (数据未列出)。为在相同发酵周期内获取更高的 MK 产量, 在优化后的裸燕麦培养基中添加大豆分离蛋白, 考察大豆分离蛋白添加量 (质量分数) 对红曲菌产 MK 的影响, 结果如图 8 所示。

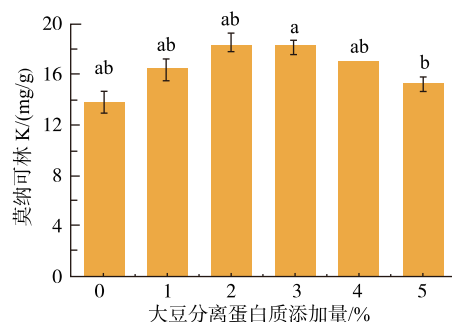


图 8 大豆分离蛋白添加量对红曲菌产 MK 的影响

Fig. 8 Effects of soybean protein isolate on MK production by *Monascus* spp.

由图 8 可知, 随着大豆分离蛋白添加量的增加, MK 的产量呈现先上升后下降的趋势。其中, 当大豆分离蛋白添加量为 2% 时 MK 产量比对照提高 32.63%。结果表明, 添加质量分数 2% 大豆分离蛋白

可促进红曲菌产 MK, 即有望通过添加大豆分离蛋白, 在较短的发酵周期获取较高的 MK 产量。

2.9 发酵时间对红曲菌产 MK 和 MPs 的影响

在优化后的燕麦固体培养基基础上, 考察发酵 32 d 内燕麦红曲中 MPs 及 MK 含量的变化趋势, 结果如图 9 所示。

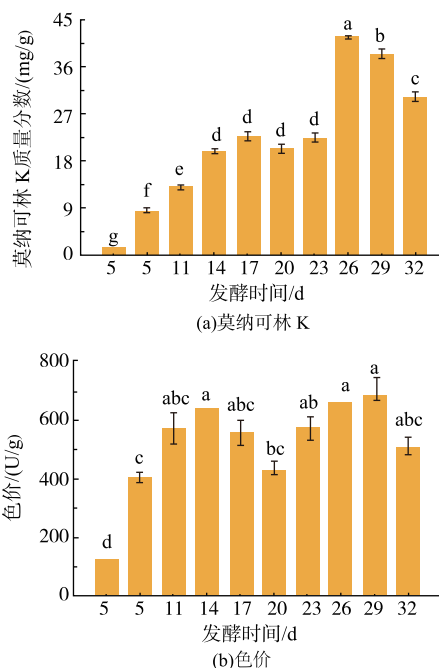


图 9 发酵时间对红曲菌产 MPs 和 MK 的影响

Fig. 9 Effects of fermentation time on MK and MP production by *Monascus* spp.

由图 9(a) 可知, 在发酵前 17 d, MK 的产量逐渐上升, 其中发酵至 11 d 与 2.8 中未添加大豆分离蛋白 (对照) 发酵 14 d 时 MK 的产量相同, 均为 13.45 mg/g, 而添加大豆分离蛋白后发酵 14 d 可达 19.77 mg/g。由此可知, 添加大豆分离蛋白, 燕麦红曲中 MK 产量达 13.45 mg/g 可比未添加时的样品缩短 3 d 发酵周期。发酵至 17~23 d, MK 产量先下降后上升, 但变化不显著 ($p > 0.05$)。发酵至 26 d 时 MK 的产量最高, 达 41.85 mg/g, 而后呈下降趋势, 发酵至 32 d 时 MK 产量为 30.53 mg/g。由图 9(b) 可知, 与 MK 的变化趋势类似, 在发酵过程中 MPs 产量呈现 2 次先升后降趋势, 推测红曲菌在发酵 32 d 过程中进行了二次发酵, 当发酵至 26 d 即 MK 产量最高时, 色价达到 664.53 U/g。

3 结 语

作者以燕麦为固体培养基,主要探究了燕麦的预处理和含水质量分数、营养因子、微量元素对燕麦红曲固态发酵产 MK 的影响。在优化后燕麦红曲固体培养基中加入质量分数 2%大豆分离蛋白,发酵 14 d 后 MK 产量可达 19.77 mg/g,发酵 26 d 后 MK 产量高达 41.85 mg/g。该研究通过向优化后燕麦培养基中添加大豆分离蛋白,在同等发酵时间内获得更高的 MK 产量,即达到某 MK 产量所需发酵时间缩短。结合已有文献,Zhang 等人^[18]以小米为发酵

基质,以红色红曲菌(*Monascus ruber*)为实验菌株,在优化后的发酵条件下发酵 20 d,MK 的产量可达 19.81 mg/g。该产量与本研究发酵红曲燕麦 14 d 后 MK 产量基本一致。卢颖^[11]以燕麦为发酵基质,在优化后的工艺条件下,发酵 14 d 后 MK 产量为 15.00 mg/g,该产量低于本研究中发酵 14 d 后燕麦红曲中 MK 的产量。综上,通过优化燕麦红曲培养基组分并添加食品级营养因子,达到在较短的发酵周期获取 MK 含量较高的燕麦红曲。该研究结果可为提高功能性红曲的生产效率及燕麦精深加工提供思路和参考。

参考文献:

- [1] DAS G,JOSEPH MM,IYER P. Antimicrobial activity of fermented and non-fermented oats (*Avena sativa*) against selected food borne pathogens[J]. **International Journal of Home Science**,2017,3(1):280-282.
- [2] 车甜甜. 皮燕麦片和裸燕麦片的营养、糊化以及风味特性比较研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2015.
- [3] 李笑蕊,王世霞,么杨,等. 裸燕麦和皮燕麦的营养及功能活性成分对比分析[J]. 粮油食品科技,2015,23(5):50-54.
- [4] 张洁. 燕麦全麦粉中淀粉消化性的研究[J]. 食品与生物技术学报,2018,37(2):171-178.
- [5] DAS G,MAEIA J M. Nutrient profile of fermented oats[J]. **International Journal of Food Science and Nutrition**,2017,2(4):69-71.
- [6] CHEN W P,HE Y,ZHOU Y X,et al. Edible filamentous fungi from the species *Monascus*: early traditional fermentations, modern molecular biology, and future genomics[J]. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**,2015,14(5):555-567.
- [7] ENDO A. MONACOLIN K, a new hypocholesterolemic agent produced by a *Monascus* species[J]. **The Journal of Antibiotics**,1979,32(8):852-854.
- [8] MAZZA A,SCHIAVON L,RIGATELLI G,et al. The short-term supplementation of monacolin K improves the lipid and metabolic patterns of hypertensive and hypercholesterolemic subjects at low cardiovascular risk[J]. **Food & Function**,2018,9(7):3845-3852.
- [9] FENG Y L,SHAO Y C,CHEN F S. Monascuspigments[J]. **Applied Microbiology and Biotechnology**,2012,96(6):1421-1440.
- [10] WOLTER A,HAGER A S,ZANNINI E,et al. In vitro starch digestibility and predicted glycaemic indexes of buckwheat,oat, quinoa, sorghum, teff and commercial gluten-free bread[J]. **Journal of Cereal Science**,2013,58(3):431-436.
- [11] 卢颖. 红曲霉固态发酵燕麦功能成分的生物转化[D]. 广州:华南理工大学,2016.
- [12] FENG Y L,SHAO Y C,ZHOU Y X,et al. Production and optimization of monacolin K by citrinin-free *Monascus pilosus* MS-1 in solid-state fermentation using non-glutinous rice and soybean flours as substrate[J]. **European Food Research and Technology**,2014,239(4):629-636.
- [13] 赵光隆,张薄博,许赣荣. 降脂红曲产品中 Monacolin K 检测方法的比较[J]. 食品与生物技术学报,2017,36(1):46-50.
- [14] 冯艳丽,朱丽萍,赵薇,等. 改进的高效液相色谱法快速检测红曲中莫纳可林 K[J]. 食品工业,2017,38(1):276-280.
- [15] FENG Y L,SHAO Y C,ZHOU Y X,et al. Effects of glycerol on pigments and monacolin K production by the high-monacolin K-producing but citrinin-free strain, *Monascus pilosus* MS-1[J]. **European Food Research and Technology**,2015,240(3):635-643.
- [16] 姜冰洁. 红曲菌固态发酵高产 Monacolin K 的研究[D]. 无锡:江南大学,2015.
- [17] 朱效刚. 红曲功能性成分分析及发酵法生产的研究[D]. 无锡:江南大学,2005.
- [18] ZHANG B B,XING H B,JIANG B J,et al. Using millet as substrate for efficient production of monacolin K by solid-state fermentation of *Monascus ruber*[J]. **Journal of Bioscience and Bioengineering**,2018,125(3):333-338.