

# 玉米固态发酵产红曲红色素补加营养物的优化

高玉荣, 孙文红, 盛 艳

(黑龙江八一农垦大学食品学院, 大庆 163319)

**摘 要:** 为了优化玉米固态发酵生产红曲红色素的主要补加营养物, 采用析因试验设计确定了紫红曲霉 M144 固态发酵红曲红色素的主要影响因子为葡萄糖、硫酸镁和酵母膏添加量, 采用 Box-Behnken 试验设计和响应面优化分析确定了补加营养物的最佳添加量分别为葡萄糖 0.26% (w/w), 硫酸镁 0.43% (w/w), 酵母膏 0.25% (w/w), 在此条件下红曲红色素红色价为 2335.17 U/g, 色调为 1.69, 比未补加营养物时分别提高了 55.67% 和 64.08%。通过对玉米固态发酵过程中补加营养物质的系统研究, 提高了红曲红色素的产量和质量, 可为玉米固态发酵红曲红色素的生产提供技术支持。

**关键词:** 优化, 红曲红色素, 补加营养物, 紫红曲霉 M144, 响应面方法

**中图分类号:** TQ925<sup>+</sup>.7

**文献标识码:** B

**文章编号:** 1002-6819(2008)-12-0283-04

高玉荣, 孙文红, 盛 艳. 玉米固态发酵产红曲红色素补加营养物的优化[J]. 农业工程学报, 2008, 24(12): 283—286.

Gao Yurong, Sun Wenhong, Sheng Yan. Optimization of supplemented nutrients in solid fermentation of corn for producing *Monascus* red-pigment[J]. Transactions of the CSAE, 2008, 24(12): 283—286.(in Chinese with English abstract)

## 0 引 言

红曲红色素是红曲霉在生长代谢过程中产生的天然红色素, 具有安全性高、热稳定性强、对蛋白质的染着力好、质量稳定和价格低廉等优点<sup>[1]</sup>, 因此目前红曲和红曲红色素的市场需求量正日益扩大。红曲红色素是一种混合色素, 主要包括红色素和黄色素, 随着红色素与黄色素比值(色调)的增大, 色素颜色逐渐加深呈现红色, 因此, 色调对红曲红色素的质量也有重要的影响, 在前人对红曲红色素生产的研究中, 只以红色价为指标, 而未考虑色调对红曲红色素质量的影响<sup>[2-4]</sup>。

目前红曲红色素的生产方法有固态发酵和液态发酵两种方法。关于液态发酵生产红曲红色素的相关报道较多, 对液态发酵培养基的组成和发酵条件都做了系统的研究<sup>[3, 5, 6]</sup>。但由于液态发酵的发酵液中红色价较低, 后处理成本较高, 而固态发酵具有能耗低, 生产过程节水, 操作简单易行, 提取成本低等优点, 同时采用固态发酵无废水废渣产生, 不会造成二次污染<sup>[7]</sup>, 因此目前红曲红色素的工业化生产仍然主要以固态发酵为主。红曲红色素的固态发酵生产主要采用大米、麸皮、谷物纤维等为原料, 前人对影响红曲红色素生产的固态发酵条件如接种量、温度等进行了研究<sup>[8, 9]</sup>, McHan F和Johnson G T对某些营养物质对以大米为原料固态发酵生产红曲红色素的影响进行了研究, 结果表明, 以大米为原料生产红曲红色素时,  $Zn^{2+}$ 对红曲红色素的合成起着重要的促进作用,  $Mg^{2+}$ 对红曲红色素的合成起抑制作用, 流加葡萄糖和酵母膏对红曲红色素的合成起着重要的促进作用<sup>[10]</sup>。但目前在以玉米为原料固态发酵生产红曲红色素的研究中, 仅对pH值及温度等发酵条件进行了系统研究<sup>[8]</sup>, 未见有对补加营养物进行系统研究的相关报道。因此考虑到不同原料的营养成分含量不同, 有些原料甚至缺少某些营养物质, 本试验在玉米固态发酵过程中, 通过补加某些营养物质来促进红曲霉的生长, 提高红曲红色素的产量。

本文以玉米为原料, 以红色价和色调为指标, 采用一系列试验设计对固态发酵过程中补加的营养物进行了系统的研究和优化。首先采用析因试验设计对影响红曲红色素固态发酵的主

要补加营养物进行筛选, 对主要的影响物质采用Box-Behnken试验设计和响应面分析进行优化, 建立数学模型, 并对预测的最优条件进行验证, 确定最优的营养物的补加条件, 以提高玉米固态发酵红曲红色素的产量和质量, 为玉米固态发酵红曲红色素的生产提供技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌种

紫红曲霉 M144: 以中科院微生物研究所购买的紫红曲霉 CICC5017 为出发菌株, 通过紫外诱变获得的红色素高产菌株, 由黑龙江八一农垦大学食品学院微生物实验室保藏。

### 1.2 培养基

固体斜面培养基(PDA): 称取去皮马铃薯 200 g, 切成小块, 加 1000 mL 水, 煮沸 1 h, 双层纱布滤成清液, 加琼脂 2%, pH5.4, 121℃灭菌 20 min。

液体种子培养基: 玉米粉5%, 豆饼粉2%,  $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$  0.5%,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.1%, pH5.4。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 菌种活化

将紫红曲霉M144斜面菌种接入固体斜面培养基(PDA)中, 30℃培养7~10 d。

#### 1.3.2 紫红曲霉M144种子液的培养

取 1~2 环 M144 斜面活化菌种接入液体种子培养基中, 30℃, 180 r/min 振荡培养 48 h。

#### 1.3.3 紫红曲霉M144固体发酵

将20 g玉米渣子用自来水(料液比1:4)浸泡14 h后沥干, 装入直径 $\Phi=90$  mm的无菌平皿中, 用高压灭菌锅在0.1 MPa下蒸 30 min至半熟无白心, 冷却至40℃接种10%紫红曲霉M144种子液, 在30℃、相对湿度80%的条件下培养, 从第3天开始每天添加不同种类及浓度的营养物质, 连续添加9 d, 每天翻曲使米粒彼此分散开。发酵完毕, 将发酵产物在60℃烘干至恒质量。

#### 1.3.4 红曲红色素色价的测定方法

采用GS 15961-2005(食品添加剂红曲色素国家标准[S]<sup>[11]</sup>)的方法进行测定。称取红曲样品0.500 g, 放入带刻度的100 mL具磨口塞试管中, 加70%乙醇至50 mL, 摇匀后放入60℃水浴保温萃取2 h, 取出冷却(必要时补充定容), 用普通定性滤纸过滤入具塞试管或三角瓶中, 约滤出10 mL左右即可。吸取滤液1 mL放入25 mL刻度试管或容量瓶中, 加入70%乙醇稀释定容至

收稿日期: 2007-12-06 修订日期: 2008-11-05

作者简介: 高玉荣(1970—), 女, 黑龙江人, 教授, 硕士生导师, 博士, 主要从事微生物及发酵食品方面的教学和科研工作。大庆 黑龙江八一农垦大学食品学院。163319。Email: yurongg@yahoo.com.cn

25 mL。用1cm比色皿以70%乙醇作空白，在分光光度计上取波长505 nm，测定样品萃取稀释液的吸光度，将测得的样品平均吸光度乘以2500（稀释倍数），即作为红曲米的色价。红色价 $E_{505}=OD_{505} \times \text{稀释倍数}$ （U/g或U/mL）；黄色价 $E_{420}=OD_{420} \times \text{稀释倍数}$ 。红曲红色素色调 $=OD_{505}/OD_{420}$ 。

1.4 试验设计与数据分析

对单因素试验确定的对红曲红色素发酵有促进作用的 5 个补加营养物（乳酸、葡萄糖、硫酸镁、硫酸锌和酵母膏）进行析因试验<sup>[12]</sup>，变量因子的设计及结果见表 1，最陡爬坡试验设计及结果见表 4，对筛选得到的影响显著的因子采用 Box-Behnken 试验设计，试验设计及结果见表 5。用 SAS8.2 进行处理。

表 1 析因试验设计及试验结果  
Table 1 Fractional factorial design and experimental results

| 序号 | $x_1$ （乳酸/%，V/m） | $x_2$ （葡萄糖/%） | $x_3$ （硫酸镁/%） | $x_4$ （硫酸锌/%） | $x_5$ （酵母膏/%） | $Y_1$ （红色价 $E_{505}$ ）/U·g <sup>-1</sup> | $Y_2$ （色调 $D_{505}/OD_{42}$ ） |
|----|------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|--|-------------------------------|
| 1  | -1 (0.10)        | -1 (0.20)     | -1(0.30)      | 1(0.30)       | 1(0.40)       | 1700.00                                  | 1.33                          |
| 2  | 1 (0.30)         | -1            | -1            | -1(0.10)      | -1(0.20)      | 1817.22                                  | 1.42                          |
| 3  | -1               | 1(0.40)       | -1            | 1             | -1            | 1693.51                                  | 1.32                          |
| 4  | 1                | 1             | -1            | -1            | 1             | 1638.53                                  | 1.28                          |
| 5  | -1               | -1            | 1(0.50)       | -1            | 1             | 1809.54                                  | 1.41                          |
| 6  | 1                | -1            | 1             | 1             | -1            | 2050.20                                  | 1.60                          |
| 7  | -1               | 1             | 1             | -1            | -1            | 1816.52                                  | 1.42                          |
| 8  | 1                | 1             | 1             | 1             | 1             | 1748.50                                  | 1.36                          |
| 9  | 0(0.20)          | 0(0.30)       | 0(0.40)       | 0(0.20)       | 0 (0.30)      | 1680.01                                  | 1.31                          |
| 10 | 0                | 0             | 0             | 0             | 0             | 1666.25                                  | 1.30                          |
| 11 | 0                | 0             | 0             | 0             | 0             | 1714.25                                  | 1.30                          |
| 12 | 0                | 0             | 0             | 0             | 0             | 1741.97                                  | 1.34                          |

注： $x_1$ ， $x_2$ ， $x_3$ ， $x_4$ ， $x_5$ 代表编码值，括号内代表非编码值即真实值。

从表2可以看出方程（1）显著（ $P=0.005136<0.01$ ），方程相关系数为94.51%，表明回归方程拟合较好， $x_2$ 、 $x_3$ 和 $x_5$ 的 $P$ 值都小于0.01，说明葡萄糖、硫酸镁和酵母膏在试验设计的水平上对试验结果 $Y_1$ 在99%水平上影响差异显著。

表 2  $Y_1$ 析因试验回归分析结果  
Table 2 Regressive analysis of fractional factorial design Experiment for  $Y_1$

| 方差来源  | 自由度 | 平方和      | 均方       | $F$ 值    | $Pr>F$   |
|-------|-----|----------|----------|----------|----------|
| 常数项   | 1   | 18651.72 | 18651.72 | 12.72305 | 0.016096 |
| $x_1$ | 1   | 6896.077 | 6896.077 | 4.704077 | 0.082258 |
| $x_2$ | 1   | 28788    | 28788    | 19.63739 | 0.006819 |
| $x_3$ | 1   | 41400.03 | 41400.03 | 28.24054 | 0.003155 |
| $x_4$ | 1   | 1523.52  | 1523.52  | 1.039251 | 0.354761 |
| $x_5$ | 1   | 28905.7  | 28905.7  | 19.71768 | 0.006762 |
| 模型    | 6   | 126165   | 21027.51 | 0.005136 | 0.005136 |
| 误差    | 5   | 7329.894 | 1465.979 |          |          |
| 总和    | 11  | 133494.9 |          |          |          |

从表3可以看出方程（2）显著（ $P=0.002803<0.01$ ），方程相关系数为95.72%，表明回归方程拟合较好， $x_2$ 、 $x_3$ 和 $x_5$ 的 $P$ 值都小于0.01，说明葡萄糖、硫酸镁和酵母膏在试验设计的水平上对试验结果 $Y_2$ 在99%水平上影响差异显著。因此通过析因试验设计，确定了玉米固态发酵红曲红色素过程中，色价和色调的关键补加营养物为葡萄糖、硫酸镁和酵母膏。

2 结果与分析

2.1 主要影响因素的确定

通过单因素试验确定了对红曲红色素发酵有促进作用的 5 个营养因子为乳酸、葡萄糖、硫酸镁、硫酸锌和酵母膏。对 5 个营养因子进行析因试验设计，以确定显著影响因素，试验设计及结果见表 1。

用SAS软件对表1的试验结果进行处理，变量分析结果见表2和表3，得到的线性回归方程编码为：

$$Y_1=1784.2505+29.36x_1-59.9875x_2+71.9375x_3+13.8x_4-60.11x_5 \tag{1}$$

$$Y_2=1.3925+0.0225x_1-0.0475x_2+0.055x_3+0.01x_4-0.0475x_5 \tag{2}$$

表 3  $Y_2$ 析因试验回归分析结果  
Table 3 Regressive analysis of fractional factorial design experiments for  $Y_2$

| 方差来源  | 自由度 | 平方和      | 均方       | $F$ 值    | $Pr>F$   |
|-------|-----|----------|----------|----------|----------|
| 常数项   | 1   | 0.017067 | 0.017067 | 23.21995 | 0.004804 |
| $x_1$ | 1   | 0.00405  | 0.00405  | 5.510204 | 0.065774 |
| $x_2$ | 1   | 0.01805  | 0.01805  | 24.55782 | 0.004264 |
| $x_3$ | 1   | 0.0242   | 0.0242   | 32.92517 | 0.002252 |
| $x_4$ | 1   | 0.0008   | 0.0008   | 1.088435 | 0.344611 |
| $x_5$ | 1   | 0.01805  | 0.01805  | 24.55782 | 0.004264 |
| 模型    | 6   | 0.082217 | 0.013703 | 18.64324 | 0.002803 |
| 误差    | 5   | 0.003675 | 0.000735 |          |          |
| 总和    | 11  | 0.085892 |          |          |          |

2.2 最陡爬坡试验

对于红曲红色素红色价  $Y_1$  和色调  $Y_2$ ，把  $x_1$ 、 $x_4$  固定在原点（ $x_1=0$ ， $x_4=0$ ），即添加量为乳酸 0.20%，硫酸锌 0.20%。针对关键补加营养物葡萄糖、硫酸镁和酵母膏设计最陡爬坡试验<sup>[12]</sup>；爬坡的方向和步长由线性回归方程（1）和方程（2）确定，试验设计及结果见表 4。

表4显示了随着各因子浓度的变化响应值的变化，可以看出最大值在第3组附近。

2.3 响应面法优化营养物的添加

根据最陡爬坡试验结果，采用Box-Behnken试验设计，对 $x_2$ 、 $x_3$ 和 $x_5$  3个因素进行响应面分析，试验设计及结果见表5。

表 4  $Y_1$  最陡爬坡试验设计及结果  
Table 4 Experimental plan and results of steepest ascent for  $Y_1$

| 序号 | $X_2$ 葡萄糖<br>(%) | $X_3$ 硫酸镁<br>(%) | $X_5$ 酵母膏<br>(%) | $Y_1$ 红色价<br>$E_{505}/U \cdot g^{-1}$ | $Y_2$ 色调<br>$OD_{505}/OD_{420}$ |
|----|------------------|------------------|------------------|---------------------------------------|---------------------------------|
| 1  | 0.30             | 0.40             | 0.30             | 1760.12                               | 1.36                            |
| 2  | 0.28             | 0.42             | 0.28             | 1987.02                               | 1.52                            |
| 3  | 0.26             | 0.44             | 0.26             | 2287.07                               | 1.68                            |
| 4  | 0.24             | 0.46             | 0.24             | 1821.01                               | 1.41                            |
| 5  | 0.22             | 0.48             | 0.22             | 1601.00                               | 1.35                            |
| 6  | 0.20             | 0.50             | 0.20             | 986.05                                | 1.27                            |

注： $X_2$ ， $X_3$ ， $X_5$ 代表真实值。

表 5 Box-Behnken 试验设计及试验结果  
Table 5 Design and results of Box-Behnken experiment

| 序号 | $x_2$ (葡萄糖<br>(%)) | $x_3$ (硫酸镁<br>(%)) | $x_5$ (酵母膏<br>(%)) | $Y_1$ (红色价<br>$E_{505}) / U \cdot g^{-1}$ | $Y_2$ (色调<br>$OD_{505}/OD_{420}$ ) |
|----|--------------------|--------------------|--------------------|---|------------------------------------|
| 1  | -1(0.24)           | -1(0.42)           | -1(0.24)           | 2106.83                                   | 1.57                               |
| 2  | -1                 | -1                 | 1(0.28)            | 1854.55                                   | 1.36                               |
| 3  | -1                 | 1(0.46)            | -1                 | 1709.74                                   | 1.25                               |
| 4  | -1                 | 1                  | 1                  | 1644.16                                   | 1.23                               |
| 5  | 1(0.28)            | -1                 | -1                 | 1869.98                                   | 1.37                               |
| 6  | 1                  | -1                 | 1                  | 1704.23                                   | 1.29                               |
| 7  | 1                  | 1                  | -1                 | 1673.26                                   | 1.22                               |
| 8  | 1                  | 1                  | 1                  | 1527.55                                   | 1.15                               |
| 9  | -1.68 (0.23)       | 0(0.44)            | 0(0.26)            | 1914.61                                   | 1.43                               |
| 10 | 1.68 (0.29)        | 0                  | 0                  | 1533.01                                   | 1.12                               |
| 11 | 0(0.26)            | -1.68(0.41)        | 0                  | 2187.82                                   | 1.63                               |
| 12 | 0                  | 1.68(0.47)         | 0                  | 1491.15                                   | 1.12                               |
| 13 | 0                  | 0                  | -1.68(0.23)        | 2270.66                                   | 1.68                               |
| 14 | 0                  | 0                  | 1.68(0.29)         | 1753.45                                   | 1.31                               |
| 15 | 0                  | 0                  | 0                  | 2347.27                                   | 1.76                               |
| 16 | 0                  | 0                  | 0                  | 2214.30                                   | 1.63                               |
| 17 | 0                  | 0                  | 0                  | 2074.95                                   | 1.55                               |
| 18 | 0                  | 0                  | 0                  | 2328.15                                   | 1.72                               |
| 19 | 0                  | 0                  | 0                  | 2257.10                                   | 1.69                               |
| 20 | 0                  | 0                  | 0                  | 2350.00                                   | 1.76                               |

注： $x_2$ ， $x_3$ ， $x_5$ 代表编码值，括号内代表非编码值即真实值。

对表5数据进行回归分析，变量分析结果见表6和表7，得到二次回归方程编码为（3）和（4）：

$$Y_1=2264.3-86.55205x_2-157.6155x_3-109.7733x_5-29.26x_2x_3+0.8x_2x_5-164.7037x_3^2+25.8425x_3x_5-103.691x_5^2 \quad (3)$$

$$Y_2=1.676747-0.063038x_2-0.117489x_3-0.080978x_5-0.151068x_2^2+0.01875x_2x_3-0.00125x_2x_5-0.122783x_3^2+0.01625x_3x_5-0.075053x_5^2 \quad (4)$$

从表6可以看出 $P=0.000148<0.01$ ，回归方程（3）显著，分析结果表明，影响因子与响应值间关系显著，相关系数为92.69%，回归方程（3）拟合较好。

表 6  $Y_1$  模型回归方程方差分析  
Table 6 Variance analysis for regression equation of model  $Y_1$

| 方差来源 | 自由度 | 平方和      | 均方       | $F$ 值    | $Pr>F$   |
|------|-----|----------|----------|----------|----------|
| 模型   | 9   | 1602993  | 178110.3 | 14.09476 | 0.000143 |
| 误差   | 10  | 126366.4 | 12636.64 |          |          |
| 总和   | 19  | 1729359  |          |          |          |

由SAS软件进行脊岭分析，可知该模型的稳定点即为模型的最大极值点，依此模型可预测在稳定状态下的最大值，对回

归方程(3)求导，得到 $Y_1=2351.17 U/g$ ， $x_2=-0.25062$ ， $x_3=-0.54769$ ， $x_5=-0.59853$ ；即添加量为：葡萄糖 0.25%，硫酸镁 0.43%，酵母膏 0.25%。

从表 7 可以看出， $P=0.000248<0.05$ ，回归方程（4）显著，分析结果表明，影响因子与响应值间关系显著。相关系数为91.80%，回归方程（4）拟合较好。由 SAS 软件进行脊岭分析，可知该模型的稳定点即为模型的最大极值点，依此模型可预测在稳定状态下的最大值，对回归方程（4）求导，得到  $Y_2=1.75$ ， $x_2=-0.26344$ ， $x_3=-0.55956$ ， $x_5=-0.56632$ 。即添加量为：葡萄糖 0.27%，硫酸镁 0.43%，酵母膏 0.25%。

表 7  $Y_2$  模型回归方程方差分析  
Table 7 Variance analysis for regression equation of model  $Y_2$

| 方差来源 | 自由度 | 平方和      | 均方       | $F$ 值  | $Pr>F$   |
|------|-----|----------|----------|--------|----------|
| 模型   | 9   | 0.892939 | 0.099215 | 12.436 | 0.000248 |
| 误差   | 10  | 0.079781 | 0.007978 |        |          |
| 总和   | 19  | 0.97272  |          |        |          |

为了使红色价和色调同时达到最好，对方程（3）和方程（4）联立得到  $Y_1=2340.01U/g$ ， $Y_2=1.73$ ， $x_2=-0.21$ ， $x_3=-0.48$ ， $x_5=-0.537$ ；即添加量为：葡萄糖 0.26%，硫酸镁 0.43%，酵母膏 0.25%。在此条件下，玉米固态发酵获得红曲红色素的产量和质量均为最好，克服了在以往研究中仅以红曲红色素色价为指标，不考虑色调的弊端。

2.4 响应面优化结果的验证试验

以玉米为原料，将紫红曲霉 M144 在发酵过程中按优化结果补加营养物，与未补加营养物进行对比，试验结果见表 8。

表 8 响应面法优化的验证试验  
Table 8 Verification test for the results of response surface optimization

| 条件     | 平均色价/ $U \cdot g^{-1}$ | 平均色调  |
|--------|------------------------|-------|
| 补加营养物  | 2335.17                | 1.69  |
| 不补加营养物 | 1500.05                | 1.03  |
| 增加/%   | 55.67                  | 64.08 |

由表 8 可知，在响应面分析得到的最优试验条件下，红曲红色素的红色价为 2335.17 U/mL，比对照增加 55.67%；红曲红色素的色调为 1.69，比对照增加 64.08%。这充分说明了在玉米固态发酵生产红曲红色素的过程中，有针对性地补加营养物可显著提高红曲红色素的产量和质量。这个结果比 Johns 和 Stuart<sup>[13]</sup>报道的以 FW906 为出发菌株，以大米为原料固态发酵生产红曲红色素的红色价和色调分别低 37.50% 和 10.00%。但大米的价格比玉米高 40%，从生产成本考虑玉米仍然是一种有优势的生产红曲红色素的原料。可将此试验结果进行扩大规模试验，以便于在生产中推广应用。

3 结 论

1) 采用析因试验设计，Box-Behnken 试验设计和响应面优化，确定了紫红曲霉 M144 玉米固态发酵过程中的补充营养物及其最佳添加量为葡萄糖 0.26%，硫酸镁 0.43%，酵母膏 0.25%。

2) 在玉米固态发酵生产红曲红色素的过程中，有针对性地补加营养物可显著提高红曲红色素的产量和质量。在优化后的培养基中发酵获得的红曲红色素的红色价达到 2335.17 U/g，色调为 1.69，比未补加营养物时分别提高了 55.67%和 64.08%。

3) 以诱变后紫红曲霉 M144 为出发菌株，以玉米为原料发酵生产红曲红色素的试验结果表明，玉米是具有一定优势的生产原料。下一步通过对红色素培养条件和提取条件进行优化，

有望进一步提高以玉米为原料固态发酵生产红曲红色素的红色价和色调。

#### [参 考 文 献]

- [1] 田 莉, 程剑峰. 红曲的生产及其应用[J]. 农产品加工, 2003, (5): 24.
- [2] 夏书华, 刘 颖. 有关红曲色素的提取及提高色价的研究[J]. 北京农学院学报, 1999, 14(1): 44—48.
- [3] 李喜仙, 刘 玺. 小米液态发酵生产红曲色素技术研究[J]. 食品科技, 2002, (9): 42—44.
- [4] Wong H C, Koehler P E. Production of red water-soluble *Monascus* pigments[J]. J Food Sci, 1983, 48(4): 1200—1203.
- [5] Carels M, Shepherd D. The effect of pH and amino acid on condiation and pigment production of *Monaseus* major ATCC 16362 and *Monascus rubiginosus* ATCC 16367 in submerged shaken culture[J]. Can J Microbiol, 1978, 24: 1346—1357.
- [6] Carels M, Shepherd D. The effect of different nitrogen sources on pigment production and sporulation in *Monascus* species in submerged shaken culture[J]. Can J Microbial, 1977, 23(10): 1360—1372.
- [7] 廖春燕, 郑裕国. 固态发酵生物反应器[J]. 微生物学通报, 2005, 32: 99—103.
- [8] 康东周, 张善玉, 全仙花. 玉米中红曲色素的生产工艺研究[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(8): 1977—1978.
- [9] Babitha S, Soccol C R, Pandey A. Solid-state fermentation for the production of *Monascus* pigments from jackfruit seed [J]. Bioresource Technology, 2007, 98(8) : 1554—1560.
- [10] McHan F, Johnson G T. Some effect of zinc on the utilization of nitrogen sources by *Monascus purpureus*[J]. Mycologia, 1975, 64: 806—816.
- [11] GS 15961-2005, 食品添加剂红曲色素国家标准[S].
- [12] 刘振学, 黄仁和, 田爱民. 实验设计与数据处理[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 76—82.
- [13] Johns M R, Stuart D M. Production of pigments by *Monascus purpureus* in solid culture[J]. J Journal of industrial Microbiology, 1991, 8: 23—38.

## Optimization of supplemented nutrients in solid fermentation of corn for producing *Monascus* red-pigment

Gao Yurong, Sun Wenhong, Sheng Yan

(Food college of Heilongjiang August First Land Reclamation University, Daqing 163319, China)

**Abstract:** To optimize the main supplemented nutrients in solid fermentation of corn for producing *Monascus* red-pigment, addition amounts of  $\text{MgSO}_4$ , glucose and yeast extract were evaluated as main factors significantly influencing red value and color tone of *Monascus* red-pigment from *Monascus purpureus* M144 by fractional factorial design. By Box-Behnken experimental design and response surface methodology, the optimal addition amounts of supplemented nutrients were obtained as follows: glucose 0.26%,  $\text{MgSO}_4$  0.43% and yeast extract 0.25%. In those conditions, the red value and color tone of *Monascus* red-pigment were increased to 2335.17 U/g and 1.69, and were 55.67% and 64.08% higher than those in original conditions of no supplemented nutrients. By the systematic research on optimization of supplemented nutrients in solid fermentation using corn as raw material, the yield and quality of *Monascus* red-pigment were increased. This study can offer technology support for the industrial production of *Monascus* red-pigment in solid fermentation using corn as raw material.

**Key words:** optimization, *Monascus* red-pigments, supplemented nutrients, *Monascus purpureus* M144, response surface methodology